

GONADOLIBERIN (GONADOTROPIN UVOLŇUJÍCÍ HORMON), JEHO AGONISTÉ A ANTAGONISTÉ

MARTINA HOLICKÁ, JAKUB VYSLOUŽIL,
KATEŘINA KUBOVÁ, JAN MUSELÍK a DAVID
VETCHÝ

Ústav farmaceutické technologie, Farmaceutická fakulta,
Masarykova Univerzita, Palackého třída 1946/1 Brno
vyslouzilj@pharm.muni.cz

Došlo 22.9.20, přepracováno 28.6.21, přijato 12.7.21.

Klíčová slova: analogy GnRH, GnRH agonista, GnRH antagonistista, hormony, terapie

Obsah

1. Úvod
2. Gonadotropin uvolňující hormon
 - 2.1. Role gonadotropin uvolňujícího hormonu u člověka
3. Analogy gonadotropin uvolňujícího hormonu
 - 3.1. Agonisté
 - 3.2. Antagonisté
4. Závěr

1. Úvod

Řada léčiv, která ovlivňují regulační kaskády lidského organismu, má strukturální původ v nativních působících. To je také případ agonistů a antagonistů gonadotropin uvolňujícího hormonu (GnRH), známého též jako lutropin uvolňující hormon (LHRH) či gonadoliberin. Jedná se o hypothalamem produkovaný lineární dekapeptid^{1,2}. Hlavní funkcí GnRH je regulace reprodukčních procesů vlivem stimulace uvolnění folikuly stimulujícího hormonu (FSH) a luteinizačního hormonu (LH) z hypofýzy³. Jeho agonisté působí obdobným způsobem, ale s mnohem vyšší potencí, přičemž však následuje snížení odpovědi na další stimulaci. Antagonisté pak reprodukční kaskádu blokují přímo formou kompetitivní inhibice. Vývoj analogů GnRH znamenal pro medicínu jednoznačný pokrok v léčbě různých gynekologických, andrologických, pediatrických a onkologických diagnóz, či jiných chorobných hormonálně závislých stavů⁴. Využívají se také při asistované reprodukci, či ve veterinární medicíně k reverzibilnímu oddálení pohlavního zrání nebo k vyvolání plodnosti. Vzhledem k jejich peptidové povaze a z ní vyplývající degradaci v gastrointestinálním traktu (GIT), nejsou při podání per-

orální cestou dostatečně účinné a vyžadují proto parenterální aplikaci. Kvůli krátkému biologickému poločasu jsou vhodnými kandidáty pro formulace do moderních lékových forem, jako jsou implantáty s řízeným uvolňováním či mikročásticové lékové formy na bázi kopolymerů kyseliny mléčné a glykolové (PLGA)⁵. Některé lze aplikovat také ve formě nosního spreje.

Tento přehledový článek v úvodu pojednává o struktuře, funkci a regulaci v těle přirozeně se vyskytujícího GnRH. Hlavní část se pak věnuje syntetickým analogům – agonistům i antagonistům, a to jak z hlediska vztahu struktury a účinku, tak jejich farmakologie i medicínského uplatnění.

2. Gonadotropin uvolňující hormon

GnRH má za sebou více než 500 milionů let evolučního vývoje⁶, přičemž dnes u obratlovců napříč druhy rozeznáváme nejméně 14 molekulárních forem, které se navzájem liší zastoupením aminokyselin v peptidovém řetězci⁷. Jedenáct z nich je zařazeno do tří paralogních skupin genů označených GnRH1-3, zatímco tři molekulární formy zůstávají nezařazeny. V rámci jednoho druhu se obvykle setkáváme s přítomností dvou až tří paralogních skupin. U většiny druhů funguje GnRH1 jako hlavní stimulator gonadotropinů, zatímco GnRH2/3 fungují jako neuromodulátory. Existuje však řada výjimek včetně ztráty GnRH1 nebo silencingu (utlumení genové exprese) některého z paralogních genů. V takových případech zbylé paralogní geny přebírají úlohu těch zaniklých. U člověka plní funkci hlavního stimulatoru gonadotropinů tzv. savčí forma GnRH (GnRH1), která byla také první úspěšně izolovanou GnRH strukturou (tab. I; izolace a popis byl součástí práce, za kterou Andrew Schally a Robert Guillemin obdrželi v roce 1977 Nobelovu cenu)³. Jeho syntéza probíhá v neuronech rozprostřených na linii čichový bulbus – septální jádra – hypothalamus⁷. Funkci neuromodulátoru pak u člověka plní GnRH2, tzv. kuřecí GnRH, nazvaný podle prvního organismu, ve kterém byl identifikován. Obecně platí, že si všechny molekulární formy zachovaly délku o deseti aminokyselinách s identickými aminokyselinami v polohách 1, 4, 9 a 10. Molekula lidského GnRH1 zaujímá β II' konformaci, což usnadňuje přítomnost achirálního glycinu v poloze 6, který je i pomyslným vrcholem otáčky. Za vazbu na příslušný receptor jsou zodpovědné trojice aminokyselin v N-koncové (poloha 1–3) i C-koncové pozici (poloha 8–10), přičemž na aktivaci receptoru se podílí pouze trojice aminokyselin na N-konci řetězce.

2.1. Role gonadotropin uvolňujícího hormonu u člověka

Syntéza a uvolňování GnRH probíhá v lidském těle již během pozdního vývoje plodu, avšak do prvního roku po narození je tento systém utlumen a aktivován je znovu až krátce před dovršením puberty, aby se mohl začít uplatňovat při regulaci reprodukční kaskády⁸. U dospělých jedinců je reprodukční systém regulován procesem, který vyžaduje působení hormonů a komplexní souhru procesů na úrovni hypothalamicko-hypofyzární-gonadální osy. Hypothalamus vylučuje GnRH (cit.⁹), který pak primárně působí v hypofýze v tzv. gonadotropích, tedy v buňkách produkujících gonadoliberinové receptory (GnRH-R)¹⁰. GnRH-R patří do rodiny receptorů spřažených s G-proteiny, které aktivují intracelulární mitogenem aktivovanou proteinkinazovou kaskádu. Tato kaskáda stimuluje biosyntézu a sekreci jednotlivých gonadotropinů (FSH a LH) z přední hypofýzy^{3,11}. Tyto hormony jsou pak dále zodpovědné za kontrolu rozmnožovacích funkcí, tvorbu pohlavních hormonů, zrání pohlavních buněk apod⁹. Avšak hypofyzární sekrece FSH a LH je podporována hypothalamickým gonadoliberinem jen tehdy, pokud jeho sekrece probíhá v pulzech. Kontinuálně zvýšená hladina GnRH sice podmiňuje počáteční vzestup produkce gonadotropinů, dlouhodobá stimulace hypofýzy však posléze způsobí snížení počtu a desenzitizaci GnRH-R receptorů a následný pokles tvorby gonadotropních hormonů (FSH a LH)^{12,13}.

GnRH se spolu se svými receptory může vyskytovat i mimo oblast hypofýzy (trávicí trakt¹⁴, štítná žláza¹⁵ či placenta¹⁶). Z tohoto důvodu bývá GnRH rovněž někdy řazen mezi hormony osy mozek-střevo¹⁷. Míra produkce GnRH-R se společně s GnRH podílí na regulaci buněčného růstu a proliferace¹¹. GnRH se jako modulátor zapojuje do řady různých dějů nejen v mnoha druzích zdravých tkání, ale i v hormonálně závislých rakovinových buňkách. Nadměrná produkce membránových GnRH-R pak byla

pozorována např. u hormonálně závislých karcinomů prostaty¹⁸, adenokarcinomů endometria a vaječnicků¹⁹, adenomů hypofýzy²⁰, vaječnicků, prsou, varlat nebo prostaty¹⁰.

3. Analogy gonadotropin uvolňujícího hormonu

Skupinu látek nazývaných analogy gonadoliberinu tvoří společně agonisté a antagonisté GnRH (cit.⁴) a podle odhadů jich bylo dosud syntetizováno přes 2000 (cit.⁶). Ve srovnání s GnRH je ke klinickému použití předurčuje násobně vyšší vazebná afinita ke GnRH-R, vyšší stabilita a delší biologický poločas²¹, čehož lze dosáhnout úpravou řetězce původního GnRH. Pro analogy obecně platí, že výměna achirálního glycinu v poloze 6 za D-amino-kyselinu posílí β II' konformaci, což vede ke zvýšení vazebné afinity k receptoru a ke zvýšení odolnosti molekuly vůči peptidasám. V případě, že má použitá aminokyselina ve své molekule hydrofobní postranní řetězec, zvyšuje se také vazebná afinita k plasmatickým proteinům. Avšak žádná z těchto úprav neumožní perorální podání těchto analogů, a proto jsou tyto látky podávány parenterálně či intranazálně.

Zatímco původní molekula GnRH se pod mezinárodním nechráněným názvem (INN) gonadorelin využívá ke stimulaci reprodukční kaskády (při neplodnosti, opožděné pubertě apod.), analogy GnRH se obvykle používají k inhibici této kaskády. Agonisté působí snížením počtu GnRH-R a jejich desenzitizací, antagonisté pak kompetitivní inhibicí²². Mezi indikace se pak řadí onkologická onemocnění, endometrióza, syndrom polycystických vaječnicků, předčasná puberta či v kombinaci s gonadotropiny také neplodnost. Léčba těmito léčivy by však neměla být dlouhodobá, jelikož už šestiměsíční terapie může vést k nežádoucímu úbytku kostní denzity, který je způsoben vyvolaným hypogonadismem²³. Následující kapitoly uvádí jednotlivé zástupce agonistů a antagonistů, jejichž konkrétní struktury jsou obsahem tabulky I a tabulky II. Seznam

Tabulka I
Přehled struktur GnRH a jeho agonistů

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
GnRH I	L-pGlu	L-His	L-Trp	L-Ser	L-Tyr	Gly	L-Leu	L-Arg	L-Pro	Gly-NH ₂
GnRH II	L-pGlu	L-His	L-Trp	L-Ser	L-His	Gly	L-Trp	L-Tyr	L-Pro	Gly-NH ₂
GnRH III	L-pGlu	L-His	L-Trp	L-Ser	L-Tyr	Gly	L-Trp	L-Leu	L-Pro	Gly-NH ₂
Alarelin	L-pGlu	L-His	L-Trp	L-Ser	L-Tyr	D-Ala	L-Leu	L-Arg	L-Pro	NH ₂ Et
Leuprorelin	L-pGlu	L-His	L-Trp	L-Ser	L-Tyr	D-Leu	L-Leu	L-Arg	L-Pro	NH ₂ Et
Triptorelin	L-pGlu	L-His	L-Trp	L-Ser	L-Tyr	D-Trp	L-Leu	L-Arg	L-Pro	Gly-NH ₂
Goserelin	L-pGlu	L-His	L-Trp	L-Ser	L-Tyr	D-Ser(tBu)	L-Leu	L-Arg	L-Pro	AzaGly-NH ₂
Buserelin	L-pGlu	L-His	L-Trp	L-Ser	L-Tyr	D-Ser(tBu)	L-Leu	L-Arg	L-Pro	NH ₂ Et
Nafarelin	L-pGlu	L-His	L-Trp	L-Ser	L-Tyr	D-2-NAla	L-Leu	L-Arg	L-Pro	Gly-NH ₂
Deslorelin	L-pGlu	L-His	L-Trp	L-Ser	L-Tyr	D-Trp	L-Leu	L-Arg	L-Pro	NH ₂ Et

Zpracováno dle^{7,54,72}

Tabulka II
Přehled struktur antagonistů GnRH

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
GnRH I	L-pGlu	L-His	L-Trp	L-Ser	L-Tyr	L-Gly	L-Leu	L-Arg	L-Pro	Gly-NH ₂
Cetorelix	Ac-D-2-NAla	D-CPhe	D-PAla	L-Ser	L-Tyr	D-Cit	L-Leu	L-Arg	L-Pro	D-Ala-NH ₂
Ganirelix	Ac-D-2-NAla	D-CPhe	D-PAla	L-Ser	L-Tyr	D-hArg (diEt)	L-Leu	D-hArg(diEt)	L-Pro	D-Ala-NH ₂
Abarelix	Ac-D-2-NAla	D-CPhe	D-PAla	L-Ser	L-(Me)Tyr	D-Asp	L-Leu	L-Lys(iPr)	L-Pro	D-Ala-NH ₂
Degarelix	Ac-D-2-NAla	D-CPhe	D-PAla	L-Ser	L-Phe(Hor)	D-Phe(U)	L-Leu	L-Lys(iPr)	L-Pro	D-Ala-NH ₂

Zpracováno dle^{54,72}; Ac-D-2-NAla: acetyl-(2-naftyl)-D-alanin, D-PAla: pyridinyl-D-alanin, D-Cit: D-citrullyl, D-CPhe: chlor-D-fenylalanin, D-Phe(U): ureido-D-fenylalanin, D-hArg(diEt): *N,N'*-diethyl-D-homoarginin, L-Lys(iPr): isopropyl-L-lysin, L-Phe(Hor): dihydroorotamido-L-fenylalanin

v České republice registrovaných humánních přípravků pak uvádí tabulka IIIa, seznam registrovaných veterinárních přípravků pak tabulka IIIb.

3.1. Agonisté

U agonistů GnRH se uplatňuje již zmíněná záměna achirálního glycinu v poloze 6, neboť D-aminokyseliny s objemnějšími postranními řetězci poskytují výhodnější farmakokinetický profil (např. přítomnost aromatické aminokyseliny D-tryptofanu (D-Trp) v molekule triptorelinu či deslorelinu zvýší účinnost analogů více než náhrada alifatickou aminokyselinou, např. D-alaninem v molekule alarelinu)^{4,6}. Druhou, a pro agonisty typickou, modifikací řetězce je úprava polohy 10 záměnou za *N*-ethylamid (alarelin, leuprorelin, buserelin, deslorelin), v důsledku čehož fakticky vzniká nonapeptid, nebo za aza-glycin (goserelin)³. Výsledný efekt pak vychází z funkce C-koncové pozice, tzn. zvyšuje se vaznost na receptor a odolnost proti peptidasám. Aza-glycin lze považovat za silnější náhradu (goserelin), neboť jeho inkorporaci do molekuly lze několikanásobně zvýšit účinnost v porovnání s identickou molekulou, ale přítomným *N*-ethylamidem (buserelin)⁶. V terapii se agonisté používají výhradně ve formě solí (acetátů), které zvyšují hydrofilii daného analogu²⁴.

Mechanismus působení agonistů GnRH je částečně založen na stejném principu jako působení fyziologického GnRH, avšak, jak již bylo zmíněno výše, jejich účinnost je násobně vyšší. Agonisté aktivují GnRH-R, čímž nastává počáteční agonistická aktivita označovaná jako „flare-up“ efekt (1–3 týdny), při kterém se masivně vyplavují již dříve produkované gonadotropiny (FSH a LH) a zároveň se zvyšuje počet GnRH-R (up-regulace). Při dlouhodobém podávání pak ale dochází ke snížení počtu GnRH-R a jejich desenzitizaci, a hladiny FSH a LH proto klesají. Tím se následně utlumí sekrece steroidních hormonů a množství cirkulujících působků se tak významně sníží^{25,26}. Přechodnému nárůstu hladin gonadotropinů vlivem agonistů lze zabránit současným podáváním antiandrogenických látek, čímž dojde k maximální androgenní blokáde. Kombinovanou terapií se současně zvýší efektivita léčby

a zlepší celkový stav pacientů. Náhly vzestup testosteronu způsobený podáním agonisty může být totiž nebezpečný zejména v pokročilejších stádiích onkologických onemocnění a mohl by mít za následek exacerbaci klinických symptomů, jako je bolestivost kostí, obstrukce močových cest až renální selhání, a vážné kardiovaskulární příhody související s příslušnými metastázami^{27,28}.

Míra účinku je závislá na konkrétní molekule, dávce a způsobu aplikace. Agonisté GnRH bývají předepisováni k léčbě reprodukčních dysfunkcí, hormonálně závislých karcinomů prostaty, vaječnicků, prsu a endometria²⁹. Inhibují vývoj gonád a potlačují tvorbu pohlavních hormonů, což vede k potenciálnímu kontracepčnímu účinku³⁰. Ve veterinární medicíně se používají k reverzibilnímu oddělení pohlavního zrání, ale také k vyvolání plodnosti³¹.

Zástupci

Nonapeptid **alarelin** patří k ethylamidovým derivátům GnRH. Aplikuje se subkutánně i intramuskulárně³². Při subkutánním podání králíkům vykázal 15krát silnější interakci s GnRH-R než samotná nativní látka³³. Při subkutánním podání krysám se pak uvolnilo 7krát více LH a 13krát více FSH v porovnání s molekulou GnRH³⁴. Plasmatická hladina alarelinu poměrně rychle klesá: do 30 min po podání intramuskulární dávky velikosti 13,5 µg/kg (množství léčiva na jednotku živé váhy) už není v krvi potkanů detekovatelný³⁵. Uplatňuje se při úpravě reprodukce zejména ve veterinární medicíně³².

K ethylamidovým derivátům GnRH patří také **leuprorelin** (leuprolid). Při jeho subkutánní aplikaci potkanům uvádí různé zdroje 15krát³⁴, 50krát³⁶, ale i 80–100krát vyšší účinnost³⁷ než u nativního GnRH vztaženou na množství uvolněného LH, což může způsobit inhibiči ekvivalentní chirurgickému odstranění gonád³⁸. Biologický poločas se odvíjí od způsobu podání: u intravenózního bolusu s 1 mg leuprorelinu se pohybuje okolo 3 h, z biodegradovatelného implantátu se pak 5 mg leuprorelinu uvolňuje až 26 týdnů³⁹. Při subkutánním podání 1 mg dosahuje jeho biologická dostupnost 94 % (cit.³⁸). V měsíční dávce 7,5 mg je v terapii karcinomu prostaty považován za standard léčby⁴⁰.

Tabulka IIIa
Přehled humánních registrovaných léčivých přípravků v České republice

Účinná látka	Registrovaný název v ČR	Indikace	Léková forma	Poznámky – síla, jednotka
Leuprorelin	Eligard	karcinom prostaty	inj. suspenze ^a	7,5 mg, 22,5 mg a 45 mg
	Lutrate Depot Leptoprol	karcinom prostaty karcinom prostaty	inj. suspenze implantát	3,75 mg a 22,5 mg 5 mg
Triptorelin	Decapeptyl	pokročilý karcinom prostaty, asistovaná reprodukce	inj. roztok	0,1 mg
	Decapeptyl Depot	pokročilý karcinom prostaty, děložní myomy, endometrióza, předčasná puberta, asistovaná reprodukce	inj. suspenze	3,75 mg
	Diphereline	asistovaná reprodukce	inj. roztok	0,1 mg v jedné dávce
	Diphereline S.R.	karcinom prostaty, endometrióza, předčasná puberta, fibromyomy dělohy, doplňková léčba infertility, karcinom prsu	inj. suspenze	3 mg a 11,25 mg ^b
Goserelin	Reseligo	karcinom prostaty, karcinom prsu, endometrióza, děložní myomy, asistovaná reprodukce	implantát	3,6 a 10,8 mg ^c
	Zoladex depot	karcinom prostaty, karcinom prsu, ztenčení endometria, děložní myomy, asistovaná reprodukce	implantát	3,6 a 10,8 mg ^d
Nafarelin	Synarel	endometrióza, děložní myomy, předčasná puberta, asistovaná reprodukce	nosní sprej, roztok	0,2 mg v jedné sprejové dávce
Cetrorelix	Cetrotide	asistovaná reprodukce	inj. roztok	0,25 mg
Ganirelix	Orgalutran	asistovaná reprodukce	inj. roztok	0,25 mg
Degarelix	Firmagon	pokročilý karcinom prostaty	inj. roztok	80 a 120 mg

Zpracováno dle³⁹; ^a souhrnný údaj o přípravku uvádí inj. roztok, ale přítomná pomocná látka polyglaktin značí depotní inj. suspenzi, ^b karcinom prostaty, endometrióza, předčasná puberta, ^c karcinom prostaty, ^d karcinom prostaty, endometrióza, děložní myomy

Molekula **triptorelinu** zvyšuje po subkutánním podání ve srovnání s nativním GnRH hladinu LH 13krát a hladinu FSH 21krát³⁴. Biologický poločas po subkutánní injekci 0,1 mg triptorelinu dosahuje průměrně 7,6 h, zatímco po intravenózní aplikaci dávky 0,5 mg přibližně 2,8 h (cit.³⁹). Užívá se zejména během adjuvantní kombinované léčby při diagnóze časného stadia karcinomu prsu u žen s rizikem recidivy a po ukončení chemoterapie⁴¹.

Goserelin je azaglycinovým derivátem GnRH, u kterého byla potvrzena přibližně 100krát vyšší účinnost než u endogenního GnRH, přičemž konkrétně při snižování hladin FSH a supresi vaječnicků byla prokázána nižší účinnost tohoto analogu ve srovnání s leuprorelinem⁴², triptorelinem i buserelinem. Obvykle se v injekčních depotních formách podává subkutánně⁴², ale lze jej podat i vaginálně⁴³. Biologický poločas goserelinu se v humánním preparátu pro subkutánní podání pohybuje kolem 2–4 h a biologická dostupnost je téměř 100 % (cit.³⁹).

Buserelin je ethylamidovým derivátem GnRH, který

po intramuskulární aplikaci u skotu dosahuje 50krát vyšší účinnosti než samotný GnRH⁴⁴. Buserelin bývá běžně aplikován intranazálně nebo depotně ve formě subkutánního implantátu, nebo také formou infuze, přičemž biologický poločas dosahuje přibližně 80 min bez ohledu na způsob podání. Intranazálně aplikovaný buserelin má biologickou dostupnost pouhých 3 % (cit.³⁰), zatímco u biodegradovatelných implantátů se jeho biologická dostupnost pohybuje kolem 80 % (cit.⁴⁵). V zahraničí našel uplatnění při léčbě neplodnosti spojené se syndromem polycystických vaječníků či oplodnění *in vitro*³⁰. V České republice je registrován pro veterinární použití³¹.

Nafarelin je neúčinnější látkou ze skupiny agonistů, až 200krát silnější než nativní hormon. Kromě vysoké účinnosti je výsledkem dané substituce také větší odolnost vůči proteolýze a delší biologický poločas⁴⁶. Biologický poločas komerčně dostupného intranazálního přípravku je $4,4 \pm 1,8$ h (cit.⁴⁷), jiný zdroj pak uvádí 3 h (cit.⁴⁸). Tyto vlastnosti umožňují podání 1krát až 2krát denně formou

Tabulka IIIb

Přehled veterinárních registrovaných léčivých přípravků v České republice

Účinná látka	Registrovaný název v ČR	Indikace	Léková forma	Poznámky – síla, jednotka
Triptorelin	Ovugel	asistovaná reprodukce	vaginální gel	0,2 mg v jedné dávce
Buserelin	Busol	asistovaná reprodukce	inj. roztok	0,8–40 µg v jedné dávce
	Fertigest	asistovaná reprodukce	inj. roztok	0,84–42 µg v jedné dávce
	Porceptal	asistovaná reprodukce	inj. roztok	10 µg v jedné dávce
	Receptal	asistovaná reprodukce	inj. roztok	0,8–40 µg v jedné dávce
Deslorelin	Suprelorin	kontracepce	implantát	4,7 a 9,8 mg

Zpracováno dle³¹

nosního spreje. Klinické studie navzdory značně variabilní a nízké systémové biologické dostupnosti intranazálně podaného nafarelinu (4–21 % (cit.⁴⁶); 2,6–4,6 % (cit.⁴⁸)) potvrzují dlouhodobý a dostatečný účinek.

Po subkutánní aplikaci **deslorelinu** je detekována až 7krát vyšší hladina LH a 6krát větší množství vyplaveného FSH oproti GnRH (cit.³⁴). Deslorelin s biologickým poločasem 18 min je eliminován třikrát pomaleji než samotný GnRH (cit.⁴⁹). Podává se subkutánně³¹, ale může být také zpracován do PLGA mikročástic nebo cykloextrinových komplexů pro inhalační podání⁵⁰. Deslorelin našel uplatnění především ve veterinární medicíně⁵¹.

3.2. Antagonisté

Antagonisté GnRH jsou deka-peptidy přímo odvozené od GnRH, liší se však od původního řetězce na více místech, minimálně v polohách 1, 2, 3, 6 a 10 (viz tab. II). U všech moderních zástupců antagonistů se setkáváme se záměnou všech tří aminokyselin N-konce za D-aminokyseliny s objemnějším postranním řetězcem. Částečně pak dochází k úpravám i v C-koncové části řetězce, u všech zástupců záměnou v poloze 10 za D-Ala-NH₂, a někdy také úpravou aminokyseliny na pozici 8. Cílem všech těchto změn je výrazně zvýšit vazebnou afinitu a účinnost^{7,52}, což vede ke vzniku molekul, které se v organismu chovají jako kompetitivní inhibitory původního působku. Účinek je navíc podpořen pro všechny analogy společnou záměnou achirálního glycinu v poloze 6 (cit.⁵³). U antagonistů GnRH je možné vysledovat zajímavý vývoj této úpravy. U původních molekul se do polohy 6 vkládal D-Arg. Ukázalo se však, že tato úprava vyvolává významné uvolnění histaminu, což mělo za následek vážné edémy a anafylaktické reakce. To vedlo k následnému vývoji současné generace. Náhrada D-Arg za N,N'-diethyl-D-homoargininový zbytek (ganirelix) snížila riziko uvolňování histaminu až o polovinu^{6,34}, přítomnost ureido D-aminokyseliny (např. D-citrulinu u cetrorelixu, či ureido-D-fenylalaninu u degarelixu) nejen, že toto riziko ještě více snížila^{55,56}, ale zároveň zvýšila vazebnou afinitu analogu⁵⁷.

Antagonisté GnRH se vyznačují dlouhým biologickým poločasem a vysokou afinitou vazby na GnRH-R, aniž by jej aktivovaly⁶. Pokud je dosaženo dostatečného množství antagonistů v krevním řečišti, vytlačí tyto látky nativní GnRH z vazby na receptoru, čímž okamžitě zastaví uvolňování gonadotropinů i pohlavních hormonů. Jejich hladina pozvolna klesá a terapeutického efektu je dosaženo v průběhu 24 až 72 h (cit.⁴). Výhodou antagonistů je rychlost a účinnost suprese, která je navíc reverzibilní. Významně se tak zkracuje doba trvání léčby (jednotky vs. desítky dní u agonistů), snižují se podané dávky a zvyšuje se míra dodržování doporučených léčebných postupů pacientem⁵⁸. Tato léčiva jsou schopná za krátký časový úsek a v dostatečné míře vyvolat dlouhodobě udržitelný pokles hladiny testosteronu bez nutnosti současného podávání antiandrogenů²⁷. Dále na rozdíl od agonistů výrazněji potlačují hladinu LH než hladinu FSH (v rámci 8–24 hodin od první dávky je koncentrace LH snížena o 51 až 84 % a FSH pak o 17 až 42 %)^{59,60}, přičemž i hladina FSH klesá v porovnání s agonisty rychleji⁴⁰. Antagonisté GnRH se používají k terapii karcinomu prostaty²⁸ či v rámci technik asistované reprodukce⁶¹.

Kromě zvýšeného uvolňování histaminu lze mezi hlavní nevýhody antagonistů zařadit nedostatečnou délku účinku a/nebo nižší rozpustnost léčiva⁵⁶. Objevují se nežádoucí účinky spíše mírné intenzity, jako např. bolesti hlavy, únava či lokální reakce v místě vpichu injekce (erytém, bolest, otok apod.), převážně po první aplikaci^{40,62}. Podávány jsou tyto látky stejně jako agonisté ve formě acetátů⁵⁴. Na následujících řádcích jsou uvedeni jednotliví zástupci novější generace bez výskytu anafylaktických nežádoucích reakcí.

Zástupci

Cetrorelix je s pěti identickými aminokyselinami antagonisty se strukturou nejbližší původní struktury GnRH. Vykazuje vysoký supresivní účinek, vyšší inhibiční aktivitu i vazebnou afinitu k receptoru než např. ganirelix či abarelix⁵⁵. Cetrorelix se podává subkutánně⁵⁹ i intramuskulárně⁶³. Jako nejnižší efektivní se ukázala

dávka 0,25 mg/den (cit.⁶⁴): po 6 h od jejího podání dochází v maximální možné míře k potlačení hladiny FSH i LH a po 12 h pak i hladin steroidních hormonů⁵⁹. Průměrný biologický poločas jednorázové subkutánní dávky o velikosti 0,25; 0,5 nebo 1 mg se pohybuje kolem 5 až 10 h, a až 20–80 h po několika následných dávkách injeztovaných dospělým ženám. Cetrorelix byl ve vyšší úvodní dávce 5 mg následované denní udržovací dávkou 0,5 mg podáván k léčbě pokročilého karcinomu prostaty⁶⁵.

Ganirelix je dekapeptid, pro který je typická vysoká biologická dostupnost (> 90 %) a biologický poločas kolem 13 h (po intravenózní i subkutánní jednorázové aplikaci během klinické studie humánního léčivého přípravku). Hladinu LH v maximální možné míře potlačuje už 4 h po inječním podání a hladinu FSH po 16 h (cit.⁶²).

Abarelix spolu s výše uvedenými cetrorelixem a ganirelixem patří ke krátkodobě účinkujícím antagonistům zároveň dostupným i jako déle působící depotní formulace⁶⁶. U subkutánně podávaného abarelixu bylo zjištěno, že pro 100% biodostupnost je žádoucí dávka 105 mg/měsíc (cit.⁶⁶), zatímco biologický poločas intramuskulární injekce (15 µg/kg) po podání dospělým mužům je pouhých 5 h a u depotní formulace (100 mg) s 52% biologickou dostupností se pak zvýší až na 13 dní (cit.⁶⁷). Depotní abarelix (výjimečně ve formě báze) byl sice prvním antagonistou schváleným Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA)²⁷, ale kvůli život ohrožujícím alergickým reakcím byl výrobcem z amerického trhu stažen⁶⁸. V České republice není přípravek s obsahem abarelixu registrován^{31,39}.

Degarelix se od původní molekuly GnRH1 liší nejvíce, má pouze tři stejně obsazené pozice, přičemž D-Arg v poloze 6 je nahrazen ureido-D-fenylalaninovým zbytkem, který je zodpovědný za nejnižší riziko uvolnění histaminu napříč všemi antagonisty³⁴. Také jej zvýhodňuje vysoká afinita k GnRH-R, hydrofilní charakter a delší biologický poločas^{56,69} daný jedinečnou vlastností: v místě vpichu subkutánní depotní injekce tvoří *in situ* gelový rezervoár, ze kterého se léčivo pomalu absorbuje do cirkulace a v pulzech distribuuje po celém těle. V oběhu se váže na plasmatické proteiny a dochází jen k pomalému vylučování z organismu⁷⁰. Důsledkem toho je biologický poločas humánního preparátu při udržovací dávce 80 mg a podkožní aplikaci 29 dnů (cit.³⁹). V krvi je degarelix po jednorázovém subkutánním podání detekovatelný až 60 dní, zatímco po intravenózním přibližně 4 dny. Farmakokinetické chování léku je ovlivňováno jeho koncentrací v inječním roztoku a celkovým objemem. Biologická dostupnost klesá s rostoucí koncentrací léčiva za současného prodloužení poločasu, přičemž vyšší koncentrace léčiva zabraňuje jeho uvolnění a degarelix je degradován dříve, než dosáhne systémové cirkulace. Menší aplikovaný objem vede k rychlejšímu uvolňování, příliš velký objem dávky pak způsobí uvolnění velkého množství léčiva ještě před vytvořením depa⁷¹.

4. Závěr

Nové pokroky ve znalostech mechanismů účinků GnRH a jeho analogů a nové poznatky o účinnosti, délce

léčebného efektu a žádoucích i nežádoucích účincích otevírají další možnosti klinického využití. Volba konkrétní terapie závisí obvykle na stádiu a typu onemocnění. Cílem současného zkoumání je dlouhodobé sledování pacientů, důsledků terapie těmito analogy a také hledání důvodů, proč u některých pacientů terapie selhala. V neposlední řadě je aktuální i další vývoj dostatečně účinných molekul pro perorální podání. V budoucnu by se rovněž mohly dávky analogů GnRH v lékových formách více individualizovat na základě konkrétních hladin gonadotropinů a hmotnosti pacienta tak, aby se během terapie zabránilo nežádoucímu úbytku kostní hmoty nebo jiným vedlejším účinkům spojeným s jejich dlouhodobým užíváním.

Práce vznikla za podpory projektu Ministerstva zemědělství ČR č. QK1810221.

Seznam zkratk

Ac-D-2-NAla	acetyl-(2-naftyl)-D-alanin
D-Cit	D-citrullyl
D-CPhe	chlor-D-fenylalanin
D-hArg(diEt)	<i>N,N'</i> -diethyl-D-homoarginin
D-PAla	pyridinyl-D-alanin
D-Phe(U)	ureido-D-fenylalanin
D-Ser(tBu)	<i>O-terc</i> -butyl-D-serin
GIT	gastrointestinální trakt
Gly-NH ₂	glycinamid
GnRH	gonadotropin uvolňující hormon
GnRH-R	receptor pro gonadotropin uvolňující hormon
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration)
FSH	folikuly stimulující hormon, folitropin
INN	mezinárodní nechráněný název (International Nonproprietary Name)
LH	luteinizační hormon, lutropin
LHRH	lutropin uvolňující hormon
L-Lys(iPr)	isopropyl-L-lysin
L-(Me)Tyr	methyl-L-tyrosin
NHEt	ethylamin
L-Phe(Hor)	dihydroorotamido-L-fenylalanin
pGlu	pyroglutamová kyselina
PLA	polymléčná kyselina
PLGA	kopolymer kyseliny mléčné a glykolové

LITERATURA

- Sealfon S. C., Weinstein H., Millar R. P.: *Endocr. Rev.* 18, 180 (1997).
- Novák J., Havlíček V.: *Chem. Listy* 114, 200 (2020).
- Cappa M., Cianfarani S., Ghizzoni L., Loche S., Maghnie M. (ed.): *Advanced Therapies in Pediatric Endocrinology and Diabetology*. Karger Publishers, Basel 2016.
- Magon N.: *Indian J. Endocrinol. Metab.* 15, 261 (2011).
- Šnejdrová E., Dittrich M.: *Chem. Listy* 105, 27 (2011).

6. Karten M. J., Rivier J. E.: *Endocr. Rev.* 7, 44 (1986).
7. Millar R. P., Tello J. A., v knize: *Endocrinology: Adult and Pediatric* (Jameson J. L., De Groot L. J., de Kretser D. M., Giudice L. C., Grossman A. B., Melmed S., Potts Jr J. T., Weir G. C., ed.), 7. vyd., kap. 115, str. 2004–2011. Elsevier, Amsterdam 2016.
8. Brunton L. L., Lazo J. S., Parker K. L. (ed.): *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw-Hill, New York 2006.
9. Schally A. V.: *Hum. Reprod.* 15, 2059 (2000).
10. Kakar S. S., Musgrove L. C., Devor D. C., Sellers J. C., Neill J. D.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 189, 289 (1992).
11. Naor Z., Benard O., Seger R.: *Trends Endocrinol. Metab.* 11, 91 (2000).
12. Hayes F. J., Hall J. E., Boepple P. A., Crowley Jr W. F.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 1835 (1998).
13. Trávník P.: *Prakt. Léčár. 11*, 123 (2015).
14. WeiQuan H., Bing Y., Lan S., RuoLei P., Lei W., RongQing Z.: *Life Sci.* 68, 1727 (2001).
15. Zhou J., Huang W., Ji Q.: *Acta Anat. Sinica* 33, 511 (2002).
16. Currie W. D., Setoyama T., Lee P. S., Baimbridge K. G., Church J., Yuen B. H., Leung P. C.: *Endocrinology* 133, 2220 (1993).
17. Chen L., He H. X., Sun X. D., Zhao J., Liu L. H., Huang W. Q., Zhang R. Q.: *World J. Gastroenterol.* 10, 1780 (2004).
18. Halmos G., Arencibia J. M., Schally A. V., Davis R., Bostwick D. G.: *J. Urol.* 163, 623 (2000).
19. Gründker C., Völker P., Emons G.: *Endocrinology* 142, 2369 (2001).
20. Alexander J. M., Klibanski A.: *J. Clin. Invest.* 93, 2332 (1994).
21. Conn P. M., Crowley Jr W. F.: *N. Engl. J. Med.* 324, 93 (1991).
22. Kovacs M., Schally A. V.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 12197 (2001).
23. Huirne J. A., Lambalk C. B.: *Lancet* 358, 1793 (2001).
24. Adjei A., Love S., Johnson E., Diaz G., Greer J., Haviv F., Bush E.: *J. Drug Targeting* 1, 251 (1993).
25. Toporcerová S., Hredzák R., Ostró A., Ždílová V., Adam J., Potočková D.: *Čes. Gynek.* 70, 247 (2005).
26. Tarlatzis B. C., Kolibianakis E. M.: *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 21, 57 (2007).
27. Mongiat-Artus P., Teillac P.: *Expert Opin. Pharmacother.* 5, 2171 (2004).
28. Kirby R. S., Fitzpatrick J. M., Clarke N.: *BJU Int.* 104, 1580 (2009).
29. Blumenfeld Z.: *Expert Opin. Invest. Drugs* 26, 661 (2017).
30. Brogden R. N., Buckley M. M.-T., Ward A.: *Drugs* 39, 399 (1990).
31. <http://www.uskvbl.cz/cs/registrace-a-schvalovani/registrace-vlp/seznam-vlp/aktualne-registrovane-vlp>, staženo 22. 6. 2020.
32. Yang H., Huang G., Lv M., Lin Y., Wang R., Zeng L., Ma H., Hu T.: *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 19, 289 (2019).
33. Wei S., Gong Z., Min W. E. I.: *Agric. Sci. China* 10, 1630 (2011).
34. Coy D. H., Vilchez-Martinez J. A., Coy E. J., Schally A. V.: *J. Med. Chem.* 19, 423 (1976).
35. Zhang Z., Li R., Liu S., Yin L., Xu T., Fawcett J. P., Gu J.: *J. Sep. Sci.* 42, 3033 (2019).
36. Vilchez-Martinez J. A., Coy D. H., Arimura A., Coy E. J., Hirotsu Y., Schally A. V.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 59, 1226 (1974).
37. Chrisp P., Sorkin E. M.: *Drugs Aging* 1, 487 (1991).
38. Plosker G. L., Brogden R. N.: *Drugs* 48, 930 (1994).
39. <http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php>, staženo 22. 6. 2020.
40. Klotz L., Boccon-Gibod L., Shore N. D., Andreou C., Persson B. E., Cantor P., Jensen J. K., Olesen T. K., Schröder F. H.: *BJU Int.* 102, 1531 (2008).
41. Frampton J. E.: *Drugs* 77, 2037 (2017).
42. Perry C. M., Brogden R. N.: *Drugs* 51, 319 (1996).
43. Okada H., Yamazaki I., Ogawa Y., Hirai S., Yashiki T., Mima H.: *J. Pharm. Sci.* 71, 1367 (1982).
44. Chenault J. R., Kratzer D. D., Rzepkowski R. A., Goodwin M. C.: *Theriogenology* 34, 81 (1990).
45. Schliecker G., Schmidt C., Fuchs S., Ehinger A., Sandow J., Kissel T.: *J. Controlled Release* 94, 25 (2004).
46. Chrisp P., Goa K. L.: *Drugs* 39, 523 (1990).
47. Chaplin M. D.: *Am. J. Obstet. Gynecol.* 166, 762 (1992).
48. Chan R. L., Henzl M. R., LePage M. E., LaFargue J., Nerenberg C. A., Anik S., Chaplin M. D.: *Clin. Pharmacol. Ther.* 44, 275 (1988).
49. Barron J. L., Millar R. P., Searle D. I.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 54, 1169 (1982).
50. Koushik K., Dhanda D. S., Cheruvu N. P., Kompella U. B.: *Pharm. Res.* 21, 1119 (2004).
51. <https://www.drugs.com/vet/ovuplant-can.html>, staženo 14. 10. 2019.
52. Schally A. V., Kastin A. J., Coy D. H.: *Int. J. Fertil.* 21, 1 (1976).
53. Rivier J. E., Porter J., Rivier C. L., Perrin M., Corrigan A., Hook W. A., Siraganian R. P., Vale W. W.: *J. Med. Chem.* 29, 1846 (1986).
54. Nestor Jr J. J., Tahilramani R., Ho T. L., Goodpasture J. C., Vickery B. H., Ferrandon P.: *J. Med. Chem.* 35, 3942 (1992).
55. Schally A. V.: *Peptides* 20, 1247 (1999).
56. Jiang G. a 15 spoluaautorů.: *J. Med. Chem.* 44, 453 (2001).
57. Millar R. P., Flanagan C. A., Milton R. D., King J. A.: *J. Biol. Chem.* 264, 21007 (1989).
58. Copperman A. B., Benadiva C.: *Reprod. Biol. Endocrinol.* 1, 20 (2013).
59. Duijkers I. J., Klipping C., Willemsen W. N., Krone D., Schneider E., Niebch G., Hermann R.: *Hum. Reprod.* 13, 2392 (1998).
60. Weckermann D., Harzmann R.: *Eur. Urol.* 46, 279 (2004).
61. Behre H. M., Kliesch S., Pühse G., Reissmann T.,

- Nieschlag E.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 1403 (1997).
62. Oberyé J. J., Mannaerts B. M., Huisman J. A., Timme C. J.: *Fertil. Steril.* 72, 1006 (1999).
 63. Pinski J., Lamharzi N., Halmos G., Groot K., Jungwirth A., Vadillo-Buenfil M., Kakar S. S., Schally A. V.: *Endocrinology* 137, 3430 (1996).
 64. Albano C., Smitz J., Camus M., Riethmüller-Winzen H., Van Steirteghem A., Devroey P.: *Fertil. Steril.* 67, 917 (1997).
 65. Gonzalez-Barcena D., Vadillo-Buenfil M., Cortez-Morales A., Fuentes-Garcia M., Cardenas-Cornejo I., Comaru-Schally A. M., Schally A. V.: *Urology* 45, 275 (1995).
 66. Wong S. L., Lau D. T.-W., Baughman S. A., Menchaca D., Garnick M. B.: *Clin. Pharmacol. Ther.* 73, 304 (2003).
 67. Wong S. L., Lau D. T. W., Baughman S. A., Fotheringham N., Menchaca D., Garnick M. B.: *J. Clin. Pharmacol.* 44, 495 (2004).
 68. Hegde S., Schmidt M., v knize: *Annual Reports in Medicinal Chemistry* (Macor J. E., ed.), kap. 28, str. 490–491. Academic Press, Salt Lake City 2010.
 69. Sorbera L. A., Bolos J., Serradell N., Bayes H.: *Drug Future* 31, 755 (2006).
 70. Broqua P., Riviere P. J. M., Conn P. M., Rivier J. E., Aubert M. L., Junien J. L.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 301, 95 (2002).
 71. Tornøe C. W., Agersø H., Nielsen H. A., Madsen H., Jonsson E. N.: *Pharm. Res.* 21, 574 (2004).
 72. Khazeni S., Varamini P., v knize: *Reference Module in Biomedical Sciences*, kap. Gonadotropin Releasing Hormone, str. 10. Elsevier, Amsterdam 2018.

M. Holická, J. Vysloužil, K. Kubová, J. Muselík, and D. Vetchý (*Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Masaryk University Brno*): **Gonadoliberin (Gonadotropin-Releasing Hormone), Its Agonists and Antagonists**

Nowadays, analogues of gonadotropin-releasing hormone are among the standard drugs in several indications, often using modern dosage forms. Globally, their market is estimated at billions of \$ annually. This review article summarizes basic information on the relationship between structure and effect, pharmacology, and application of gonadotropin-releasing hormone and its synthetic analogues. Due to their properties, namely a higher efficiency and a higher binding affinity for the gonadotropin-releasing hormone receptor compared to native gonadotropin releasing hormone, the analogues have found applications in the treatment of many diseases, where it is necessary to suppress the secretion of gonadotropins and sex hormones. They are usually indicated for the treatment of cancers of various origins, premature puberty or artificial insemination. Due to their peptide nature, they are not administered orally, but require injection or intranasal administration. Compared to agonists, antagonists show faster onset of action and the absence of the so-called flare-up phenomenon, i.e., temporarily increased serum levels of lutropin, follitropin and, consequently, of testosterone and estradiol.

Keywords: GnRH analogues, GnRH agonist, GnRH antagonist, hormones, therapy

Acknowledgements

This work was supported by grant from the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Grant number: QK1810221).