



Республика Таджикистан

(19)TJ (11)242

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(51) 6 A61K 38/00

(12) **Описание изобретения**
К ПАТЕНТУ

1

2

(21) 96000402

(22) 02.02.95

(31) 08/191,631

(32) 04.02.94

(33) US

(46) 24.11.99, Бюл.№3 (15)

(86) PCT/US 95/01479 (02.02.95)

(71)(73) Дзе Медикал Колледж оф Хемптон Роудс (US)

(72) Гари Д. Ходжен (US), Роберт Ф. Вил-
льямс (US), Дэниел Гроу (US)

(56) 1. Патент США, 5063204 (Nordisk
Gentofte A/S), 05.11.91, кл. А 61 К 38/08.

2. Патент США, 5043321 (Center for
Innactive Tech-nology), 27.08.91, кл. А 61 К
38/00.

3. WO 88/05308 (Commonwelth Scien-
tific and Industrial Res. Organization),
28.07.88, кл. А 61 К 39/385.

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ СОСТОЯНИЯ,
ЗАВИСЯЩЕГО ОТ ЭСТРОГЕНОВ ЯИЧ-
НИКОВ

(57) Способ лечения состояния, зависяще-
го от эстрогенов яичников, такого, как эн-
дометриоз, лейомиомы матки, предмен-
струальный синдром или дисфункцио-
нальное маточное кровотечение, преду-
сматривающий введение аналога релизинг-
гормона гонадотропина (ГнРГ) и введение
антипрогестина, которые обеспечивают
терапевтический способ для долгосрочно-
го лечения без быстрого снижения плотно-
сти кости, наблюдающегося при примене-
нии только аналогов ГнРГ в отдельности.

Эндометриоз представляет собой эктопическое наличие желез и стромы эндометриального типа в местах, находящихся вне матки. Это эктопическое наличие эндометриальной ткани часто приводит к образованию кист, содержащих измененную кровь. Это состояние вызывает изнуряющие боли у миллионов женщин во всем мире и возникает, в частности, в связи с ежемесячной пролиферацией ткани эндометрия. Эндометриоз часто является пожизненным состоянием.

Эндометриоз можно лечить медикаментозными средствами, однако ни одно из них не является достаточно эффективным при долгосрочном лечении в течение шести месяцев и более. Возможно, старейшей терапией, демонстрирующей видимый эффект, является введение прогестина инъекцией, перорально или в сочетании с оральными контрацептивами. Однако длительное введение прогестинов, особенно андрогенных, связано с рядом нежелательных побочных эффектов и не получило официального разрешения в Соединенных Штатах.

Синтетический стероид на основе этистерона, а именно 17-d-прегна-2,4-диен-20-ино[2,3-d]-изоксазол-17-ол, известный также, как даназол, и имеющийся в продаже под торговым наименованием Данокрин (Danocrine), проявил себя как эффективное лекарственное средство для лечения эндометриоза, создающее гипоэстрогенную среду. К сожалению, это лекарственное средство имеет также множество андрогенных побочных эффектов. Помимо вазомоторных расстройств, вызванных ухудшением эстрогенного фона, оно вызывает прибавку веса, длительные судороги мышц, атрофию молочных желез, горячие приливы, неустойчивое настроение, жирность кожи, депрессию, отеки, акне, утомляемость, гирсутизм, нарушения либидо, головную боль, сыпь и понижение голоса.

Одним из наиболее эффективных способов лечения эндометриоза является введение агониста релизинг-гормона гонадотропина, который подавляет секрецию гонадотропина гипофизом и, таким образом, индуцирует состояние обратимой псевдоменопаузы. Несмотря на то, что

индивидуальные реакции варьируют, эндометриоз обычно быстро регрессирует всего лишь в течение трех месяцев от начала лечения. После прекращения лечения боли часто возвращаются и эндометриоз вновь появляется спустя несколько месяцев после возвращения нормальных менструальных циклов. Это лекарственное средство может использоваться также для лечения фиброзных опухолей матки (лейомиоматозных). Главным недостатком этой терапии является ряд побочных эффектов, которые вызываются продолжительным тяжелым гипоэстрогенизмом или состоянием псевдоменопаузы, которые происходят вследствие тяжелой эстрогенной недостаточности, а именно, горячих приливов, костных дефектов и ослабления сердечно-сосудистой защиты эстрогенами. В самом деле, целью гормональной заместительной терапии является обеспечение организма эстрогеном и/или прогестином и, таким образом, предотвращение потерь костной ткани. Несмотря на то, что индивидуальные реакции также варьируют, потери костной ткани обычно становятся измеримыми спустя приблизительно 3 месяца лечения и становятся весьма значительными спустя 6 месяцев лечения у наиболее восприимчивых пациентов. Абсолютная неприемлемость этого побочного эффекта с точки зрения степени риска становится очевидной благодаря тому обстоятельству, что коэффициент летальности составляет приблизительно 3,2 года после перенесенных женщинами в постменопаузе переломов бедренных костей вследствие остеопороза. Из-за этого побочного эффекта Комиссия по продовольствию и лекарственным веществам Соединенных Штатов запрещает любое применение аналогов релизинг-гормона гонадотропина после того, как он применялся в течение шести месяцев. Другими словами, это лекарство не может повторно вводиться после перерыва, согласно требованиям этой Комиссии.

Лейомиомы и эндометриоз являются состояниями, зависящими от эстрогенов яичников. Отмечается, что эффективным при лечении эндометриоза и лейомиом матки лекарственным средством является антипрогестин (иногда его называют “ан-

тагонистами прогестерона” или “антигестагенами”). См. например, Chwalisz и др., *Endocrinology*, 129(1): 312, 1991; Kettel и др., *Fertil. Steril.*, 56(3): 402, 1991; Murphy и др., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 76(2): 513, 1993. См. также Gravanir и др., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 60: 156, 1986 и Wolf и др., *Fertil. Steril.*, 52: 1055, 1989.

Предменструальный синдром (ПМС) и дисфункциональное маточное кровотечение (ДМК) также являются состояниями, для которых общей является циклическая гормональная потребность, которая происходит из выработки эстрогенов яичниками.

Изучалось применение комбинации агониста релизинг-гормона гонадотропина (лейпролида) и прогестина (медоксипрогестерона ацетата) для лечения лейомиомы матки. При сопутствующем лечении отмечают, что прогестин реверсирует эффективность агонист-индуцированного гипозэстрогенизма по уменьшению немиоматозного объема, т.е. это лечение препятствует благоприятным эффектам лечения агонистом. При использовании по схеме add-back, прогестин уменьшает горячие приливы и потерю кальция с мочой, однако наблюдается также умеренное увеличение общего объема матки, хотя и не до исходных величин. См. Case и др., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 76: 1217, 1993.

В настоящее время установлено, что схема применения аналога релизинг-гормона гонадотропина в комбинации с антипрогестином действует таким образом, что облегчает симптомы состояний, зависящих от эстрогенов яичников, таких, как эндометриоз, лейомиомы матки, ПМС и ДМК, а также смягчает эффекты потери

Краткое описание рисунков

Рис. 1 - график средних суточных уровней эстрадиола;

Рис. 2 - график брюшинного эндометриоза при различных схемах лечения;

Рис. 3 - график плотности минеральных веществ в кости в результате различных схем лечения.

Настоящее изобретение в общих чертах касается лечения состояний, зависящих от эстрогенов яичников, таких, как эндометриоз, гладкомышечные опухоли (например, лейомиомы матки), ПМС и/или ДМК. Конкретнее, оно относится к способу лечения состояния, зависящего от эстрогенов яичников, путем введения аналога релизинг-гормона гонадотропина в течение периода времени по меньшей мере около 30 дней, достаточного для снижения уровня циркулирующего в сыворотке эстрогена до приблизительно 20 пг/мл или менее и после этого путем введения антипролиферативного в отношении эндометрия и сохраняющего вещество кости количества антипрогестина.

Женщину, страдающую состоянием, зависящим от эстрогенов яичников, таким, как эндометриоз, лейомиома матки, ПМС и/или ДМК, лечат согласно настоящему изобретению аналогом релизинг-гормона гонадотропина и антипрогестином. Неожиданно оказалось, что облегчаются не только симптомы эндометриоза, ПМС, ДМК или миомы, но также и потери костной ткани, связанные с эстрогенной недостаточностью, нейтрализуются и в некоторых случаях фактически реверсируются. В результате, толерантность к схеме лечения и продолжительности ле-

костной ткани, которые происходят вследствие снижения эстрогенов, вызванного введением аналога ГнРГ (релизинг-гормона гонадотропина). Соответственно, целью настоящего изобретения является создание такой схемы. Эта и иные цели настоящего изобретения будут ясны специалисту из следующего подробного описания.

чения может быть увеличена и представлена полезность введения антипрогестина свыше шести месяцев. Несмотря на то, что базальный уровень циркулирующего эстрогена выше во время введения антипрогестина, чем во время терапии агонистом ГнРГ, не было отмечено очевидного улучшения болезненного состояния, в то время как плотность кости сохранялась

или повышалась. Не возводя это в ранг теории, полагают, что существуют различные пороги эффекта эстрогенов, так, чтобы после первого снижения уровня эстрогенов возникает окно более высокой концентрации, при которой сниженный уровень циркулирующего эстрогена оказывает благоприятный терапевтический эффект и болезненное состояние улучшается, но эта же концентрация не индуцирует быстрой потери костного вещества, в результате чего масса кости сохраняется на прежнем уровне или повышается.

Релизинг-гормон гонадотропина представляет собой малый полипептид, который вырабатывается гипоталамусом и иногда называется гонадотропным релизинг-гормоном, релизинг-гормоном лютеинизирующего гормона, ГнРГ или ЛГРГ. Любой аналог, будь это антагонист или агонист, этого полипептида, может использоваться в настоящем изобретении.

Примеры антагониста релизинг-гормона гонадотропина могут быть найдены в патентах США 4 409 208, 4 547 370, 4 565 804, 4 569 927 и 4 619 914, 5 198 533 и WO 89/01 944, описания которых включены в настоящий документ в каче-

рении, можно вводить в форме фармацевтически приемлемых нетоксичных солей или комплексных соединений. Соли включают соли присоединения кислот, такие, как например, гидрохлорид, гидробромид, сульфат, фосфат, нитрат, оксалат, фумарат, глюконат, таннат, малеат, ацетат, бензоат, сукцинат, альгинат, малат, аскорбат, тартрат и т.п. Комплексные соединения могут образовываться с металлами, такими как, например, цинк, барий, кальций, магний, алюминий и т.п.

Аспект релизинг-гормона гонадотропина в настоящем изобретении такой же, как ранее известное применение таких аналогов для лечения эндометриоза и/или лейомиомы матки. Таким образом, можно применять не только любой известный аналог ГнРГ, но также и их дозировки и способ введения также могут применяться в практике настоящего изобретения. Таким образом, способ введения может быть любым обычным способом, при котором этот аналог активен, например, пероральным, внутривенным, подкожным, внутримышечным, сублингвальным, чрескожным, ректальным, интраназальным или интравагинальным. Подобно этому, ле-

7

8

стве ссылок. Примеры таких антагонистов включают Антид (Antide, декапептид, представленный формулой $D\text{-Ac-D-2-Nal}^1\text{-DpClPhe}^2\text{-D-3-Pal}^3\text{-Ser}^4\text{-NiLys}^5\text{-D-NicLys}^6\text{-Leu}^7\text{-ILys}^8\text{-Pro}^9\text{-D-Ala}^{10}$), $[\text{Ac-D4ClDPhe}^1, \text{D4ClDPhe}^2, \text{DTrp}^3, \text{DArg}^6, \text{DAla}^{10}]$ ГнРГ, $[\text{Ac-4ClDPhe}^2, \text{D}_3\text{Pal}^3, \text{Arg}^5, \text{D}_2\text{Nal}^6, \text{DAla}^{10}]$ ГнРГ, $[\text{Ac-D2-Nal}^1, \text{4ClDPhe}^2, \text{DTrp}^3, \text{DArg}^6, \text{DAla}^{10}]$ ГнРГ, $[\text{Ac-D}_2\text{Nal}^1, \text{4FDPh}^2, \text{DTrp}^3, \text{DArg}^6]$ ГнРГ, $[\text{Ac-D}_2\text{Nal}^1, \text{4ClDPhe}^2, \text{DTrp}^3, \text{DhArg}(\text{Et}_2)^6, \text{DAla}^{10}]$ ГнРГ и $[\text{Ac-Nal}^1, \text{DME4ClPhe}^2, \text{DPal}^3, \text{Ser}^4, \text{Tyr}^5, \text{DArg}^6, \text{Leu}^7, \text{ILys}^8, \text{Pro}^9, \text{DAla}^{10}]$ ГнРГ.

Примеры агонистов релизинг-гормона гонадотропина включают лейпролид, нафарелин, бузерелин, $[\text{DAla}^6, \text{desGly-NH}_2^{10}]$ ГнРГ, $[\text{DLys}^6]$ ГнРГ, $[\text{DAla}^6]$ ГнРГ, $[\text{2-Me-Ala}^6]$ ГнРГ, $[\text{D-}\alpha\text{-аминобутироил}^6, \text{des-GlyNH}_2^{10}]$ ГнРГ, трипорелин, лютрелин, гозерелин, гистрелин и т.п.

Аналоги релизинг-гормона гонадотропина, применяемые в настоящем изоб-

242

карственная
форма может
представлять

таблетку, драже, капсулу, пилюлю, назальный аэрозоль, аэрозоль, гранулу, имплантат (или иное депо) и т.д.

Количество аналога релизинг-гормона гонадотропина, которое вводят, должно быть достаточным для снижения уровня циркулирующих эстрогенов до приблизительно 20 пг/мл или ниже к концу периода времени около 1 - 6 месяцев и является тем же, что практикуется в настоящее время. В общих чертах, количество может варьировать приблизительно от 0.05 до 50 мг, предпочтительно приблизительно от 0.5 до 10.0 мг ежедневно. Определение эффективной дозы является обычной процедурой в области фармакологии, принимающей во внимание различные физические параметры, такие, как вес, возраст и т.п., и наилучшим образом определяется лечащим врачом. Введение может быть периодическим, например, раз в месяц, или продолжительным, например, ежедневным. Ежедневное введение предпо-

читательнее, поскольку пациенты с большей вероятностью будут придерживаться схемы приема и не будут забывать или упускать из виду схему периодического введения. Применение введения депонированных форм, таких, как коммерчески доступный под торговым знаком Lupron Depot лейпролида ацетат, также может быть удобным.

Антипрогестин для комбинирования с агонистом или антагонистом ГнРГ может быть антагонист рецепторов прогестерона или фармацевтически подходящий агент, который противодействует нормальной биологической активности прогестерона.

Предпочтительным антипрогестином является антагонист рецепторов прогестерона, как стероидный, так и нестероидный, который демонстрирует определенную способность уменьшать секрецию эстрогенов, но, более важно, блокирует эстрогенную стимуляцию тропных тканей, таких, как эндометриоз, как эктопический, так и маточный, или ткань лейомиомы. Например, RU486 является особенно подходящим в практике настоящего изобретения.

Примерами антипрогестинов, которые могут применяться в этом изобретении, являются RU486 (“мифепристон”, Roussel Uclaf, Париж; патент США 4 386 085); и “онапристон” (Schering Ag, Берлин; патент США 4 780 461) и стероиды, описанные в следующих патентах и патентных заявках: патент США 4 609 651, особенно соединение лилопристон (11 β -(4-диметиламинофенил)-17 β -гидрокси-17 α -(3-гидрокси-проп-1 -(Z) -ензил-4,9-(10) эстрадиен-3-он); патентная заявка США серийный № 06/ 827 050, особенно соединения 11 β -(4-ацетилфенил)-17 β -гидрокси-17 α -(1-пропинил)-4,9-эстрадиен-3-он и 11 β -(4-ацетилфенил)-17 β -гидрокси-17 α -(3-гидрокси-1(2)-пропенил)-4,9-эстрадиен-3-он; патентная заявка США серийный № 07/283 632; опубликованная Европейская патентная заявка EP-A 04 042 831; опубликованная РСТ заявка WO 91/14 704; и другие антипрогестины, например, патент США 4 891 368.

Антипрогестин можно вводить любым известным способом, который практикуется в фармакологии. Например, под-

ходящий антипрогестин можно помещать в формы для перорального, подкожного, внутримышечного, трансбуккального введения, в кожный пластырь для чрескожного всасывания, а также в инертный матрикс, который имплантируется в организм или в депонированные формы или интравагинально в матрикс, который медленно высвобождает антипрогестин (такой, как имплантат, описанный в патентах США №№ 4 957 119 и 5 088 505 и т.п.) .

Фармацевтические композиции, содержащие антипрогестин и подходящий носитель, могут находиться в твердых дозирующих формах, которые включают таблетки, капсулы, крахмальные капсулы, гранулы, пилюли, порошки или шарики; дозирующие формы для местного нанесения включают растворы, порошки, жидкие эмульсии, жидкие суспензии, полутвердые формы, мази, пасты, кремы, гели или желе и пены; парентеральные дозирующие формы включают растворы, суспензии, эмульсии или сухой порошок, включающие эффективное количество антипрогестина согласно настоящему изобретению. Известно, что активный ингредиент, антипрогестин, может содержаться в таких композициях вместе с фармацевтически приемлемыми разбавителями, наполнителями, дезинтегрирующими агентами, связывающими агентами, смазывающими агентами, поверхностно-активными агентами, гидрофобными носителями, водорастворимыми носителями, эмульгаторами, буферами, увлажнителями, смачивающими агентами, солюбилизующими агентами, консервантами и другими средствами, улучшающими свойства лекарственной формы. Средства и способы введения хорошо известны и специалист может обратиться для сведения к фармакологическим руководствам. Например, можно проконсультироваться в следующих источниках: “Modern Pharmaceutics”, Banker and Rhodes, Marcel Dekker, Inc. 1979; “Goodman and Gilman's The Pharmaceutical Basis of Therapeutics”, 6-е издание, MacMillan Publishing Co., Нью-Йорк, 1980.

В некоторых случаях введение аналога релизинг-гормона гонадотропина и антипрогестина может совпадать. В этом случае эти два компонента могут вводить-

ся совместно, с использованием одной и той же или разных дозированных форм или средств, например, одной таблетки. Применение компонентов, композиций и способов этого изобретения для медицинского и/или фармацевтического использования, которое описано в этом тексте, может осуществляться с помощью любого клинического, медицинского или фармацевтического способа или методики, которые известны в настоящее время или будут известны в будущем.

Аналог релизинг-гормона гонадотропина вводят в течение периода времени по меньшей мере 30 дней, что достаточно для снижения уровня циркулирующего эстрогена в крови до приблизительно 20 пикограммов на мл или менее и, предпочтительно, для снижения уровня циркули-

9

10

рующего эстрогена по меньшей мере до приблизительно 10 пикограммов на мл или менее, имитируя, таким образом, уровни эстрогена в постменопаузе. В настоящее время введение аналога прекращают после приблизительно 6 месяцев, хотя его возможно продлить, если сохраняющее кость количество антипрогестина начинают вводить вовремя. Предпочтительной продолжительностью введения агониста ГнРГ в настоящее время является период времени приблизительно три месяца.

Введение антипрогестина начинается, когда уровень циркулирующих эстрогенов падает до 20 пг/мл или менее, и, предпочтительно, до приблизительно 10 пг/мл или менее. Период введения антипрогестина может накладываться на период введения аналога релизинг-гормона гонадотропина или может начинаться по прекращении введения аналога ГнРГ или же может быть окно между интервалами введения, пока уровень циркулирующего эстрогена сохраняется не выше приблизительно 20 пг/мл. Количество антипрогестина таково, что оно ингибирует эстрогенную пролиферацию эндометрия, т.е. эффективное антипролиферативное количество, но также и является эффективным сохраняющим костную ткань количеством. В этой связи, сохранение костной ткани означает, что масса кости (плот-

ность) сохраняется или увеличивается. В случае антипрогестина RU486 это количество обычно составляет приблизительно от 0.05 до 10.0 пг/кг и предпочтительно приблизительно от 0.5 до 5.0 пг/кг ежедневно. В случае других антипрогестинов могут подходить другие миллиграммовые количества. Схемы, при которых дозировка антипрогестина (и аналога ГнРГ) периодически изменяется, также находятся в пределах объема настоящего изобретения. Также, в то время как вводится эффективное антипролиферативное количество антипрогестина, может наблюдаться малое количество периодического кровотечения или отдельные капли крови ежемесячно или ежегодно. Иными словами, состояние аменореи (отсутствия менструальноподобных кровотечений), которое устанавли-

242

вается при использовании настоящего изобретения, является существенным, но не обязательно тотальным, полным. Количество антипрогестина, как и в случае аналога релизинг-гормона гонадотропина, которое должно вводиться, определяют с помощью стандартных способов, таких, как, например, определение кривых доз-ответ на приматах, у которых врожденный менструальный цикл яичников такой же, как у женщин, и экстраполяция этих данных на человека; экстраполяция результатов подходящих систем *in vitro* или определение эффективности в клинических испытаниях. При определении подходящих дозировок лечащий врач примет во внимание вес, возраст и прочие физические и медицинские параметры.

С целью дальнейшего иллюстрирования настоящего изобретения далее приводятся специфические примеры. Следует, однако, понимать, что эти примеры служат только целям иллюстрирования и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

П Р И М Е Р 1

Для этого исследования выбрали в качестве агониста релизинг-гормона гонадотропина лейпролида ацетат, в качестве антипрогестина - RU486, которые вводили самкам обезьян *Cynomolgus*, которые, как известно, являются весьма подходящими

моделями для исследования, касающегося человека.

11

12

Тридцать шесть взрослых самок обезьян *Сynomolgus* (*Macaca fascicularis*) с регулярными менструальными циклами помещали в отдельные клетки, с потреблением корма и воды вволю.

При использовании анестезии (кетамин 20 мг/кг в/м, ксилазин, 1 мг/кг) на 3 день менструального цикла проводили диагностическую лапароскопию для исключения спаечной болезни тазовой полости или наличия эндометриоза. Обезьяны с выраженными спайками в тазовой полости из исследования исключались. На 8 - 14 дни менструального цикла брали кровь посредством венепункции (кетамин 10 мг/кг в/м) и исследовали сыворотку на эстрадиол-17 β с помощью радиоиммунного анализа. Лапаротомию выполняли (кетамин 20 мг/кг, ксилазин 1 мг/кг) на 3 - 5 день после ясно определявшегося предовуляторного пика эстрадиола. Выполняли 2 см фундальную гистеротомию и приблизительно 100 мг эндометрия удаляли путем выскабливания и измельчали в стерильном физиологическом растворе. Разрез на матке ушивали 4-0 викриловым швом. Размельченную эндометриальную ткань инъецировали субперитонеально в пять участков, а именно, в левую и правую пузырноматочные складки, левую и правую широкие связки и в слепой мешок.

В течение последующего менструального цикла выполняли лапаротомию на 3 - 5 день после выброса эстрадиола в середине цикла. Отмечали наличие эктопической эндометриальной ткани и обширные спайки; перитонеальные имплантаты тщательно измеряли. Все поражения фотографировали и слепым способом отбирали некоторое количество для дальнейшего гистологического определения стадии эндометриоза независимым исследователем. Из типичных поражений брали биопсию и ткань фиксировали в 10% формалине для гистологического исследования после окрашивания гематоксилином и эозином.

Приматов разделяли поровну на четыре экспериментальные группы (N = 8).

Группа 1 ежемесячно получала инъекции агониста релизинг-гормона гонадотропи-

242

на в количестве 80 мкг/кг в/м на 21 день менструального цикла второго лапаротомического цикла. С 28-дневными интервалами было сделано 3 такие инъекции, после чего начали еженедельные инъекции антипрогестина RU486 (5 мг/кг в/м в масле, первоначально, затем 2 мг/кг в неделю). Введение RU486 продолжали в течение 24 недель.

Группа 2 получала еженедельные инъекции только RU486 (5 мг/кг первоначально, затем 2 мг/кг в неделю), начиная с 1 дня менструального цикла после подтверждения диагноза эндометриоза. Введение продолжали в течение 36 недель. Группа 3 получала только аналог ГнРГ в течение 36 недель. Группа 4 служила контролем и получала носитель, 0.5 мл физиологического раствора в/м еженедельно в течение 36 недель.

После начала ежедневных инъекций выполняли лапаротомию для определения стадии процесса каждые 12 недель до конца лечения для оценки прогрессирования или регрессирования заболевания.

При анестезии кетаминотом брали кровь через день в каждой группе в течение 28 дней после начала лечения, вслед за подтверждением диагноза активного эндометриоза. Сыворотку замораживали для последующего анализа. После этого кровь брали еженедельно. Взятие крови продолжали до возобновления спонтанных менструаций или через два месяца после завершения инъекций, в зависимости от того, что происходило в первую очередь. Сыворотку замораживали, надписывали и хранили для последующего радиоиммунного анализа. Эстрадиол и прогестерон определяли с помощью радиоиммунного анализа (ICN Biomedical, Лос-Анжелес, США).

Вагинальный эпителий брали во время каждого хирургического вмешательства с помощью биопсийных щипцов Кеворкяна с латеральной стенки верхних двух третей влагалища.

Обезьян обследовали ежедневно во время утреннего обхода. Отмечали изме-

нения поведения. Осматривали кожу на наличие сыпи или воспалительных изменений в месте инъекции. Промежность осматривали на наличие менструации. Вес тела определяли ежемесячно и отмечали изменения аппетита.

Одновременно с каждым взятием крови брали мочу на анализ. Первый образец брали во время первой лапаротомии, второй образец - во время первой инъекции, а последующие образцы брали каждые четыре недели, начиная со времени взятия второго образца мочи. Для определения плотности минерального вещества кости в поясничном отделе позвоночника использовали двойную рентгеновскую абсорбциометрию (DXA, Norland).

Животным проводили анестезию кетаминном и удерживали, чтобы свести к минимуму связанные с движением артефакты. DXA выполняли перед началом курса инъекций и с трехмесячными интервалами после завершения исследования.

Во время каждой лапаротомии выполняли малую повторную гистеротомию с целью взятия эндометрия для гистологического исследования.

Было замечено, что как антипрогестин, так и аналог ГнРГ по отдельности приводили к подавлению овуляции. Была только одна документально зафиксированная овуляция за 24 месяца (прогестерон > 3 нг/мл) в каждой из групп, получавших лечение, против 18 очевидных овуляций за 24 месяца в контрольной 4 группе (только носитель). Средние тонические уровни эстрадиола в сыворотке различались по группам, как показано на рис.1. Группа, получавшая аналог ГнРГ, была подавлена гораздо более однородно (24.2 ± 17 пг/мл) по сравнению с контролем, где уровни эстрогенов варьировали достаточно широко (40.6 ± 43 пг/мл), как и ожидалось. Интересно, что группа, получавшая RU486, имела более высокий средний уровень эстрадиола в крови, чем каждая из остальных групп (57.8 ± 34.6 , Kruskal-Wallis, $p < 0.05$).

Площадь эктопического эндометрия, наблюдавшаяся на перитонеальных поверхностях, показана на рис.2. Площади поражения до начала лечения для всех

групп были одинаковы (ANOVA, $p > 0.1$). Площадь поражения после лечения значительно отличалась от площади до начала лечения у групп 1, 2 и 3 и от площади после лечения в группе 4 и контроле (Wilcoxon, $p < 0.05$). Это наблюдение показывает, что как аналог ГнРГ, так и антипрогестин, имели отчетливое ограничивающее влияние на размеры эндометриальных имплантатов. В группе 1, в которой животным начинали терапию RU486 через три месяца после окончания курса терапии аналогом ГнРГ, средняя площадь перитонеальных поражений оставалась без изменений.

Результаты определения плотности кости с помощью двойной рентгеновской абсорбциометрии:

группа	перед лечением (среднее $\pm$ CO)	после 3 месяцев	после 6 месяцев
аналог/анти-прогестин	0.481 $\pm$ 0.046	0.481 $\pm$ 0.056	0.049 $\pm$ 0.046
антипрогестин	0.501 $\pm$ 0.029	0.541 $\pm$ 0.033*	отсутств.
контроль	0.441 $\pm$ 0.028	0.446 $\pm$ 0.047	отсутств.

*парный t-критерий, $p = 0.08$ по сравнению с плотностью перед лечением

После трех месяцев только ГнРГ или носителя в качестве контроля плотность кости не изменилась. Это ожидалось, поскольку статистически потеря костной ткани в популяции не становится очевидной до 3 - 6 месяцев. У трех животных в группе 1 наблюдалась убыль костной ткани после 3 месяцев лечения аналогом ГнРГ, в то время как у остальных она оставалась неизменной или повышалась. Примером животного с быстрой потерей костной ткани является обезьяна 2190; относящиеся к этому случаю данные показаны на рис.3. Очевидна значительная степень потери костной ткани после трех месяцев лечения аналогом ГнРГ. Лечение антипрогестином препятствовало этой потере, и наблюдалось повышение плот-

ности кости на пределе значимости (парный t-критерий, $p = 0.08$) после 3 месяцев лечения антипрогестинном.

Ежедневная оценка самочувствия обнаружила незначительные изменения поведения животных, воспалительные изменения кожи и изменения пищевых привычек. При определении веса тела с интервалами в месяц ни в одной из групп не наблюдалось значимых изменений.

Гистологическая оценка эндометриального и вагинального эпителия при окраске гематоксилином и эозином представлено в табл.2.

Таблица 2

группа	эндометрии		вагинальный эпителий и кератин
	менструальная фаза	толщина	
только аналог	неактивная ранняя пролиферативная	тонкий	тонкий
аналог/антипрогестин	фаза интервала, статическая	умеренно тонкий	умеренно толстый
контроль	циклическая	умеренно толстый, переменный	циклический

Эндометрий под действием аналога ГнРГ был равномерно тонким и слабо пролиферативным. Эндометрий под действием антипрогестина был тоньше, чем у контрольных обезьян, но постоянно пребывал в фазе интервала, как на 17 день типичного нормального менструального цикла. У контрольных приматов был циклический эндометрий, толще во все биопсийные дни, чем в любой из остальных групп. Толщина вагинального эпителия, кератинового слоя и до основания выро-

стов сетчатого слоя была больше в группе антипрогестина, чем в группах аналога ГнРГ. В группе контроля данные различались, но кератиновый слой был толще, чем после лечения аналогом ГнРГ.

Эктопические эндометриозные поражения, такие, как эндометрий *in situ*, переносили постепенную регрессию в течение трех месяцев терапии, причем изменения эндометрия наступали гораздо быстрее при лечении аналогом релизинг-гормона гонадотропина, чем при лечении только антипрогестинном. Вышеприведенные результаты показывают, что антипрогестин был способен поддерживать сократившуюся поверхность перитонеального эндометриоза после прекращения лечения аналогом. Эндометриоз у контрольных животных спонтанно не улучшался и, на самом деле, эндометриозные поражения прогрессивно ухудшались в течение трех месяцев.

У трех приматов, участвовавших в эксперименте, происходила быстрая потеря минерального вещества кости после наступления медикаментозно индуцированного гипострогенизма посредством лечения аналогом ГнРГ. Было показано, что плотность кости возвращалась к исходной после трех месяцев введения антипрогестина. В целом, у приматов, леченных антипрогестинном, наступало повышение на пределе статистической значимости плотности кости по сравнению с исходной. Вагинальная атрофия, проблема при лечении аналогами релизинг-гормона гонадотропина, не отмечалась. Толщина вагинального эпителия и кератинового слоя была больше в группе антипрогестина, состояние, которое обычно обеспечивает более легкое осуществление полового акта, уменьшает недержание мочи и снижает дизурию. В дополнение к этим преимуществам в отношении кости и вагинального эпителия, эндометрий остается умеренно тонким по сравнению с контрольными нелечеными обезьянами с сохраненным циклом, и это относят на счет антипролиферативного действия антипрогестина.

Схема, описанная в примере 1, была повторена с различными комбинациями агентов.

Примеры 2 - 10 сведены в таблице 3

Таблица 3

при- мер	аналог	антипрогестин
-------------	--------	---------------

15

16

1	2	3
2	нафаре- лин	онапристон
3	бузере- лин	лилопристон
4	антид	11 β -(4-ацетилфенил)- 17 β -гидрокси-17 α -(1- пропинил)-4,9- эстрадиен-3-он
5	гозере- лин	11 β -(4-ацетилфенил)- 17 β -гидрокси-17 α -(3- гидрокси-1(2)- пропенил)-4,9-

6	гистре- лин	эстрадиен-3-он мифепристон
7	люотре- лин	онапристон
8	тристо- релин	лилопристон
9	Nal-Gly	мифепристон

242

10	азалин В	мифепристон
----	-------------	-------------

В настоящем изобретении могут быть сделаны различные изменения и модификации без отступления от его идеи и объема. Различные варианты осуществления настоящего изобретения, описанные и проиллюстрированные в настоящем документе, предназначены для того, чтобы служить образцом, а не ограничивать настоящее изобретение.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения состояния, зависящего от эстрогенов яичников, предусматривающий введение аналога релизинг-гормона гонадотропина в организм в течение по крайней мере 30 дней в количестве, достаточном для снижения уровня циркулирующих эстрогенов в крови до приблизительно 20 пг/мл, **отличающийся** тем, что дополнительно вводят антипрогестин в количестве, достаточном для поддержания антипролиферативной активности и сохранения костной ткани.

2. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что введение аналога и антипрогестина проводят периодически.

3. Способ по п.2, **отличающийся** тем, что введение проводят ежедневно.

4. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что введение аналога и антипрогестина совпадает.

5. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что введение аналога и антипрогестина не совпадают.

6. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что аналог вводят в течение приблизительно шести месяцев.

7. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что аналогом является агонист релизинг-гормона гонадотропина.

8. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что аналогом является антагонист релизинг-гормона гонадотропина (ГНРГ).

9. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что аналог ГНРГ вводят в течение периода времени, достаточного для снижения уровня циркулирующих эстрогенов до приблизительно 10 пг/мл.

10. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что антипрогестином является антагонист прогестиновых рецепторов.

11. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что в качестве антипрогестина используют мифепристон.

12. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что количество антипрогестина достаточно для получения состояния устойчивой аменореи.

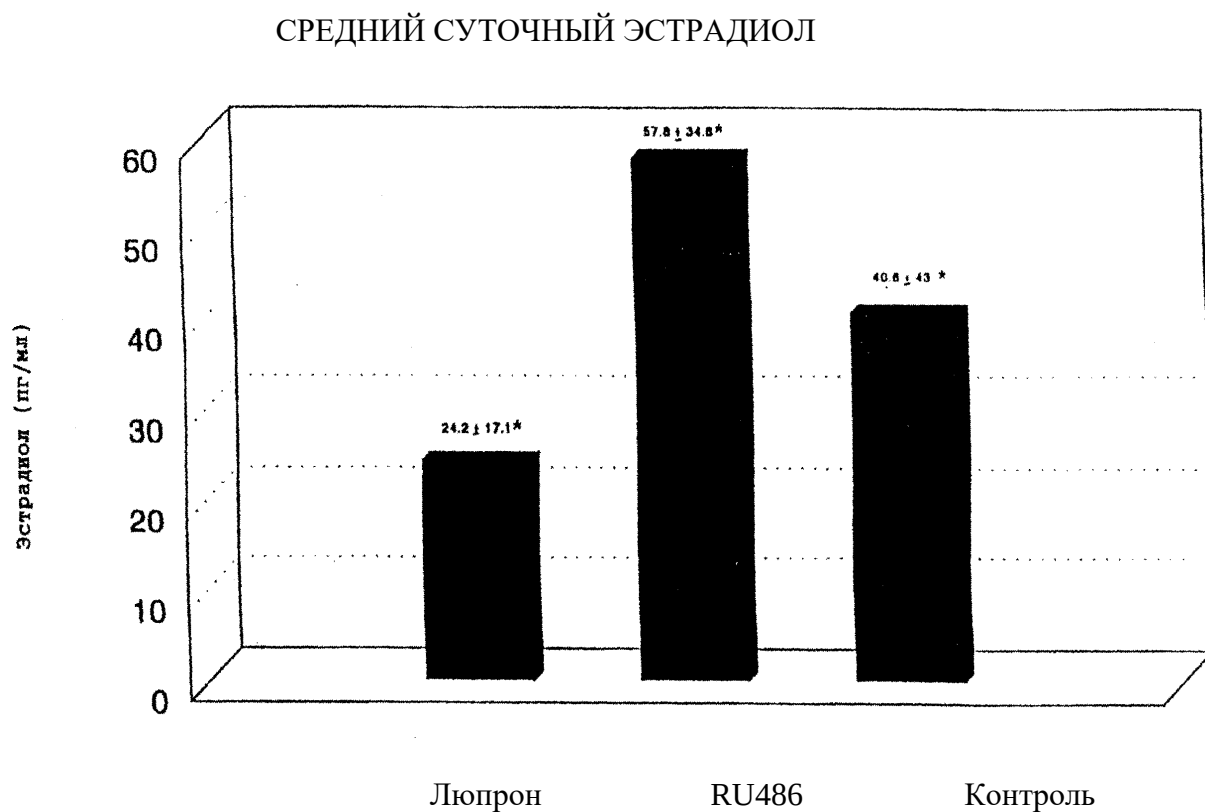
13. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что состояние, зависящее от эстрогенов яичников, является эндометриозом.

14. Способ по п.1, **отличающийся** тем, что состоянием, зависящим от эстро-

генов яичников, является лейомиома матки.

15. Способ по п.1, *отличающийся* тем, что состоянием, зависящим от эстрогенов яичников, является предменструальный синдром.

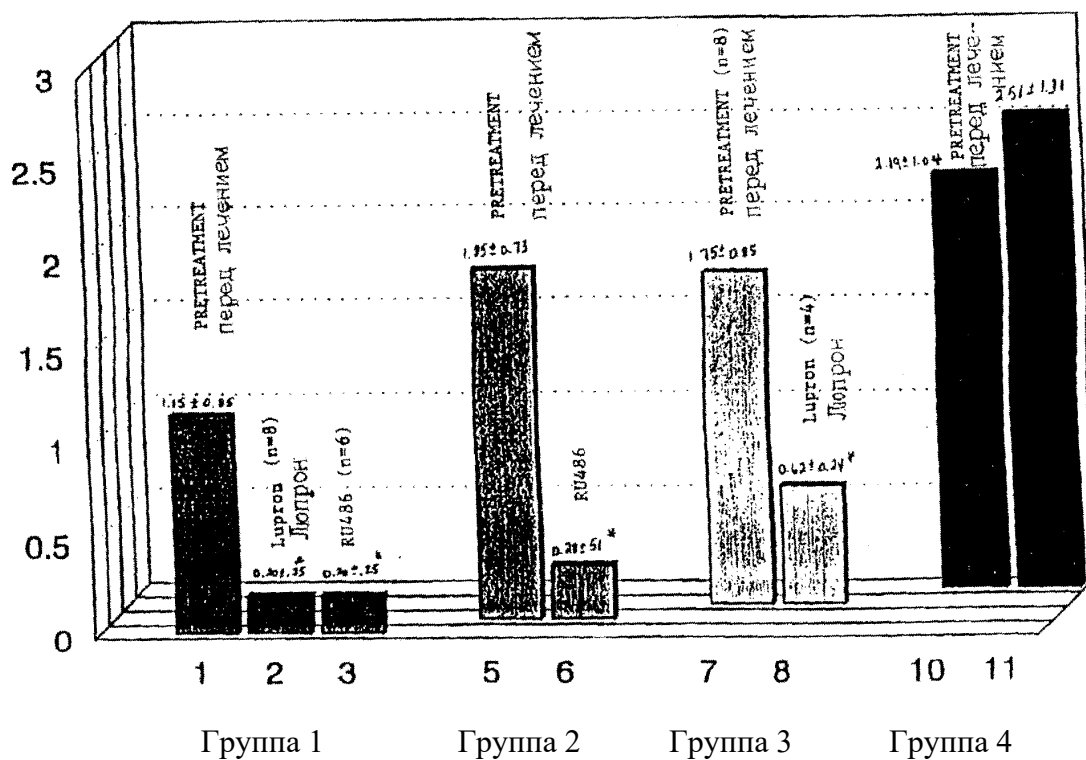
16. Способ по п.1, *отличающийся* тем, что состоянием, зависящим от эстрогенов яичников, является дисфункциональное кровотечение.



* Все группы различные ($p < 0,05$)

ФИГ.1

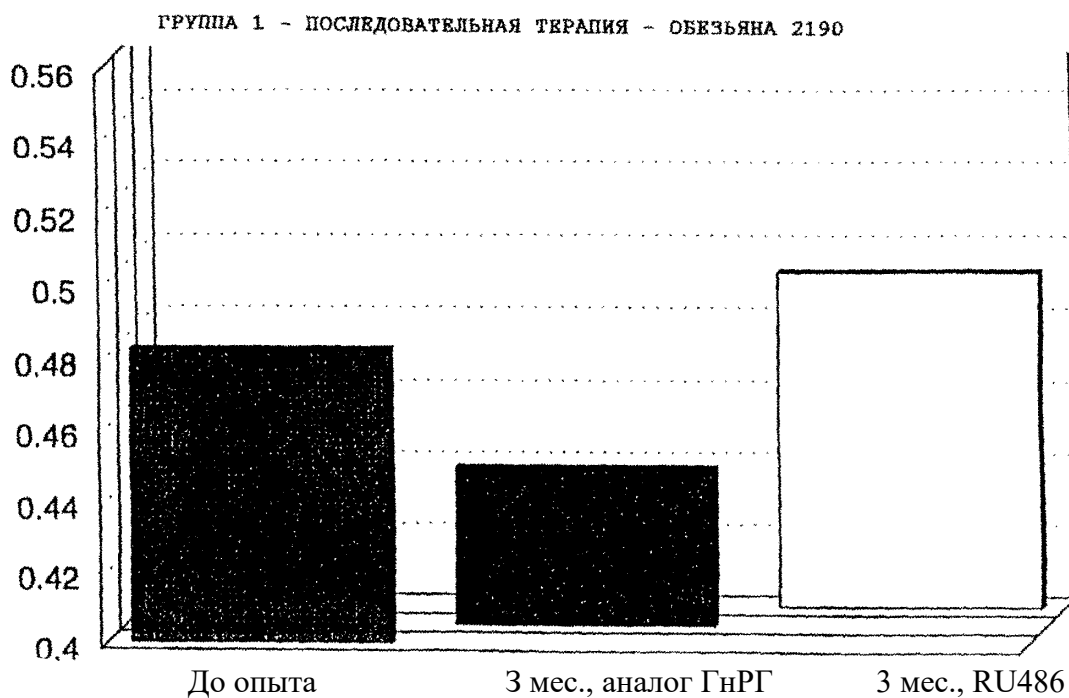
Площадь (см²), вовлеченная в патологический процесс.



*) Значимо отличается от площади до лечения ($p < 0,01$, Wilcoxin)
Площадь до лечения одинакова у всех групп ($\text{anov } p > 0,1$)

ФИГ.2

Плотность минерального вещества кости (г/см³)



ФИГ.3