(19) **RU** (11) **2 110 274** (13) **C1**

(51) МПК[6] **A 61 K 38/00**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 96118109/14, 02.02.1995

(30) Приоритет: 04.02.1994 US 08/191,631

(46) Дата публикации: 10.05.1998

(56) Ссылки: US, 5063204 (Nordisk Gentofte A/S), 05.11.91, A 61 K 38/08. US 5043321 (Center for Innactive Technology), 27.08.91, A 61 K 38/00. WO 88/05308 (Commonwealth Scientific and Industrial Res. Organisation), 28.07.88, A 61 K 39/385.

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

(71) Заявитель:
Дзе Медикал Колледж оф Хемптон Роудс (US)

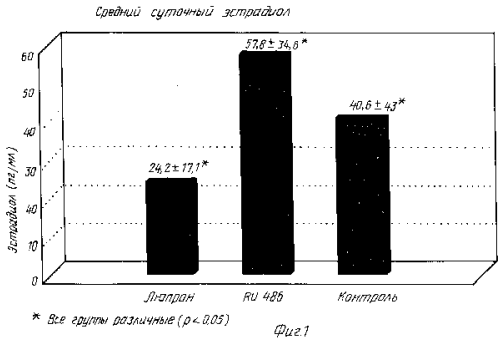
(72) Изобретатель: **Гари Д.Ходжен[US], Роберт Ф.-Вилльямс[US], Дэниел Гроу[US]**

(73) Патентообладатель:
Дзе Медикал Колледж оф Хемптон Роудс (US)

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ СОСТОЯНИЯ, ЗАВИСЯЩЕГО ОТ ЭСТРОГЕНОВ ЯИЧНИКОВ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине. Способ лечения состояния, зависящего от эстрогенов яичников, такого как эндометриоз, лейомиомы матки, предменструальный синдром или дисфункциональное маточное кровотечение, предусматривающий введение аналога релизинг-гормона гонадотропина и введение антипрогестина, которые обеспечивают долгосрочное лечение без быстрого снижения плотности кости, наблюдающегося при применени только аналогов ГНРГ в отдельности. 15 з.п.ф-лы, 3 табл., 3 ил.



Фиг.1

RU 2110274 C1

RU 2110274 C1

(19) **RU** (11) **2 110 274** (13) **C1**

(51) Int. Cl.[6] **A 61 K 38/00**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 96118109/14, 02.02.1995

(30) Priority: 04.02.1994 US 08/191,631

(46) Date of publication: 10.05.1998

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

(71) Applicant:
Dze Medikal Kolledzh of Khempton Rouds (US)

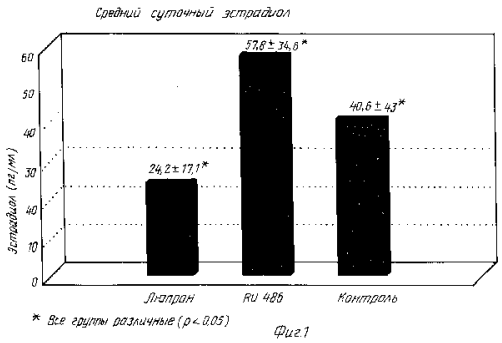
(72) Inventor: Gari D.Khodzhen[US],
Robert F.-Vill'jams[US], Dehniel Grou[US]

(73) Proprietor:
Dze Medikal Kolledzh of Khempton Rouds (US)

(54) METHOD TO TREAT BODY STATE DEPENDENT ON OVARIAN ESTROGENS

(57) Abstract:

FIELD: medicine, gynecology. SUBSTANCE: method is suggested to treat body state dependent on ovarian estrogens such as endometriosis, uterine leiomyoma, premenstrual syndrome or dysfunctional uterine bleeding. It deals with injection of analog of gonadotropin releasing hormone and antiprogestine which provide a long-term treatment free of rapid decrease of osseous density which could be observed at application of gonadotropin releasing hormone analogs only. EFFECT: higher efficiency of therapy. 16 cl, 1 tbl, 3 dwg



Фиг.1

RU 2110274 C1

RU 2110274 C1

Изобретение относится к медицине, в частности к способу лечения состояния, зависящего от эстрогенов яичников.

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 их 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- α -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 гипоэстерогенную 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 экстрогенной 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 вещества 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 "антагонистами прогестерона" или "антигестагенами"). Смотри, например, Chwalisz и др., Endocrinology, 129(1): 312, 1991; Kettel и др., Fertil. Steril., 56(3): 402, 1991; Murphy и др., J. Clin. Endocrinol. Metad., 76(2): 513, 1993. Смотри 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 проистекает 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 гипоэстрогенизма 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. Смотри 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,

RU 2110274 C1

RU 2110274 C1

а также смягчает эффекты потери 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 изобретения будут ясны специалисту из следующего подробного описания.

На фиг. 1 изображен график средних суточных уровней эстраднола; на фиг. 2 - график брюшинного эндометриоза при различных схемах лечения; на фиг. 3 - график плотности минеральных веществ в кости в результате различных схем лечения.

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 лечения 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 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 что 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 4409208, 4547370, 4565804, 4569927, и 4619914, 5198533, и WO 89/01944, описания которых включены в настоящий документ в качестве ссылок. Примеры таких антагонистов включают Антид (Antide, декапептид, представленный формулой D-Ac-D-2-Nal^1-DpClPhe^2-D-3-Pal^3-Ser^4-NiLys ^{5}-D-NicLys^6-Leu^7-ILys^8-Pro^9-D-Ala^{10}), [Ac-D4ClDPhe^1, D4ClDPhe^2, DTrp^3, DArg^6, DAla^{10}] ГНРГ, [Ac-4ClDPhe^2, D_3Pal^3, Arg^5, D_2Nal^6, DAla^{10}] ГНРГ, [Ac-D2-Nal^1, 4ClDPhe^2, DTrp^3, DArg^6, DAla^{10}] ГНРГ, [Ac-D_2Nal^1, 4FDPhe^2, DTrp^3, DArg^6] ГНРГ, [Ac-D2Nal^1, 4ClDPhe^2, DTrp^3, DhArg(Et2)^6, DAla^{10}] ГНРГ и [Ac-Nal^1, DME4ClPhe^2, DPal^3, Ser^4, Tyr^5, DArg ^{6}, Leu^7, ILys^8, Pro^9, DAla^{10}] ГНРГ.

Примеры агонистов релизинг-гормона гонадотропина включают лейпролид, нафарелин, бузерелин, [DAla^6, des-Gly-NH_2^{10}] ГНРГ, [DLya^6] ГНРГ, [DALa^6] ГНРГ, [2-Me-Ala ^{6}] ГНРГ, [D- α -аминобутироил^6, des-GlyNH_2^{10}] ГНРГ, трипорелин, лютрелин, гозерелин, гистерелин и т.п.

Анлоги релизинг-гормона гонадотропина, применяемые в изобретении, 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 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 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, лекарственная 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 0,5 - 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

RU 2110274 C1

RU 2110274 C1

определяется лечащим врачом. Введение может быть периодическим, например раз в месяц, или продолжительным, например ежедневным. Ежедневное введение предпочтительнее, 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.

Антипрогестином 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 4386085); и "онапристон" (Schering Ag, Берлин; патент США 4780461) и стероиды, описанные в следующих патентах и патентных заявках: патент США 4609651, 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 N 06/827050, 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 N 07/283632, опубликованная Европейская патентная заявка EP-A 04042831; опубликованная PCT заявка WO 91/14704; и другие антипрогестины, например патент США 4891368.

Антипрогестин можно вводить любым известным способом, который практикуется в фармакологии. Например, подходящий 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 NN 4957119 и 5088505 и т.п.).

Фармацевтические композиции, содержание 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, солюбилизирующими 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 вводиться 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 пг/мл или менее и предпочтительно для снижения уровня циркулирующего эстрогена по меньшей мере до приблизительно 10 пг/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

RU 2110274 C1

RU 2110274 C1

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 (плотность) сохраняется пли увеличивается. В случае антипрогестина RU486 это количество обычно составляет приблизительно 0,05 - 10,0 пг/кг и предпочтительно приблизительно 0,5 - 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 вводятся 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 устанавливается при использовании 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 доза-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.

Пример 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.

Тридцать шесть взрослых самок обезьян Cynomolgus (Macaca facularis) 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 радиоиммуноанализа. 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 кг 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 гонадотропина в количестве 60 мкг/кг в/м на 21 день менструального цикла второго лепаротомического 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 кетамином 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

RU 2110274 C1

RU 2110274 C1

анализа. Эстрадиол и прогестерон определяли с помощью радиоиммунного анализа (ICN Biomedical, Лос-Анджелес, 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 изменения 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 кетамином 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 пг/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 на группам, как показано на фиг. 1. Группа, получавшая аналог ГНРГ, была подавлена гораздо более однородно (24,2 $\pm$ 17 пг/мл) по сравнению с контролем, где уровни экстрогенов варьировали остаточно широко (40,6 $\pm$ 43 мг/мл), как и ожидалось. Интересно, что группа, получавшая RU486, имела более высокий средний уровень эстрадиола в крови, чем каждая из остальных групп (57,8 $\pm$ 34,6, Kruskall-Wallis, $p < 0,05$).

Площадь эктопического эндометрия, наблюдавшаяся на перитонеальных поверхностях, показана на фиг. 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 приведены в табл. 1.

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 убыть 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 фиг. 3. Очевидна значительная степень потери костной ткани после трех месяцев лечения аналогом ГНРГ. Лечение антипрогестином препятствовало этой потере, и наблюдалось повышение плотности кости на пределе значимости (парный t-критерий, $p= 0,08$) после 3 месяцев лечения антипрогестином.

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 приведена в табл. 2.

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 выростов 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, претерпевали постепенную регрессию в течение трех месяцев терапии, причем изменения эндометрия наступали гораздо быстрее при лечении аналогом релизинг-гормона гонадотропина, чем при лечении только антипрогестином. 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 гипоэстрогенизма посредством лечения аналогом ГНРГ. Было показано, что плотность кости возвращалась к

RU 2110274 C1

RU 2110274 C1

исходной после трех месяцев введения антипрогестина. В целом у приматов, леченных антипрогестином, наступало повышение на пределе статистической значимости плотности кости по сравнению с исходной. Вагинальная атрофия, проблема при лечении аналогами релизинг-гормона ганадотропина, 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 добавление к этим преимуществам в отношении кости и вагинального эпителия, эндометрий остается умеренно тонким по сравнению с контрольными нелеченными обезьянами с сохранным циклом, и это относят за счет антипролиферативного действия антипрогестина.

Примеры 2 - 10. Схема, описанная в примере 1, была повторена с комбинациями агентов, приведенными в табл. 3.

В 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, предназначаются 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 экстрогенов 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 6 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.10, 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 эстрогенов 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 маточное кровотечение.

RU 2110274 C1

RU 2110274 C1

Таблица 1

Группа	Перед лечением (среднее±СО)	После 3 месяцев	После 6 месяцев
аналог/антипрогестин	0.481±0.046	0.481±0.056	0.049±0.046
антипрогестин	0.501±0.029	0.541±0.033*	отсутств.
контроль	0.441±0.028	0.446±0.047	отсутств.

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

Таблица 2

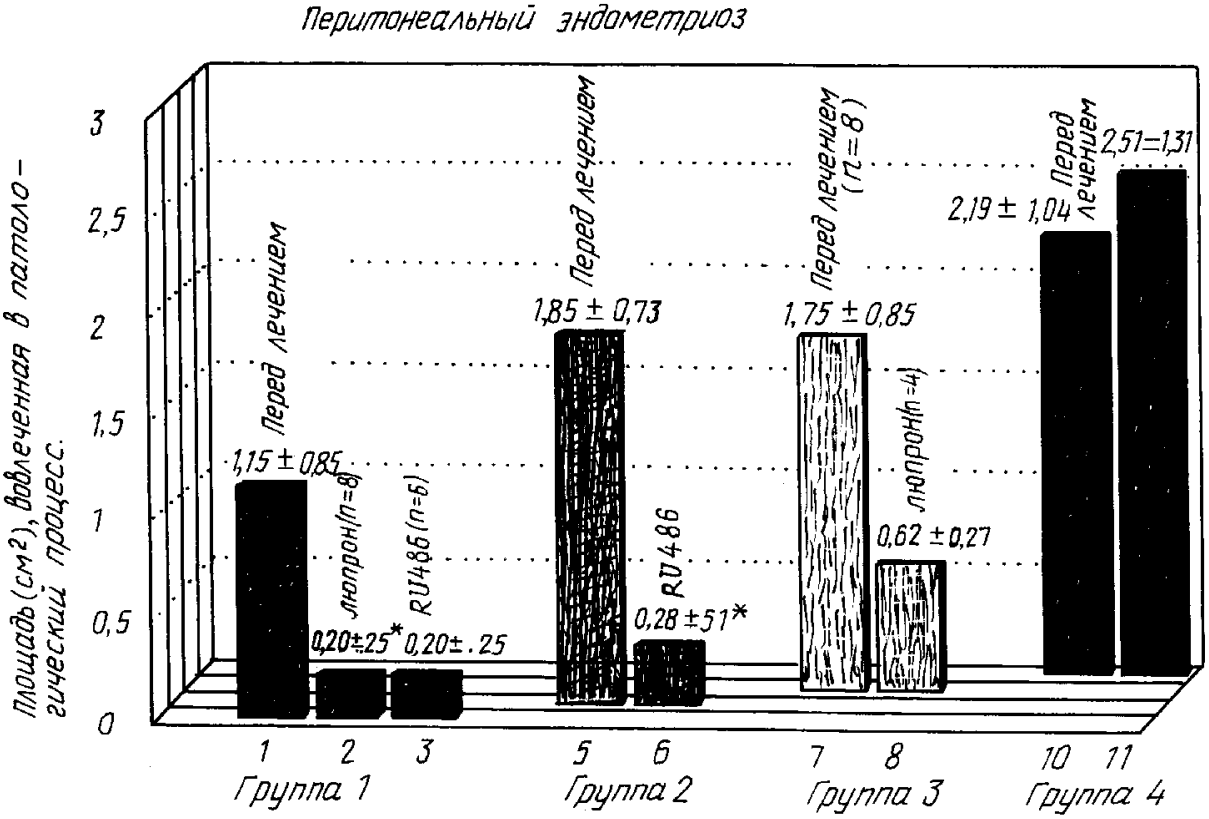
Группа	Эндометрий		Вагинальный эпителий и кератин
	Менструальная фаза	Толщины	
только аналог	неактивная ранняя пролиферативная	тонкий	тонкий
аналог/антипротестин	фаза интервала, статическая	умеренно тонкий	умеренно толстый
контроль	циклическая	умеренно толстый, вариабельный	циклический

Таблица 3

Пример	Аналог	Антипрогестин
1	2	3
2	нафарелин	онапристон
3	бузерелин	лилопристон
4	антид	11β-(4-ацетилфенил)-17β-гидрокси-17α-(1-пропинил)-4,9-эстрадиен-3-он
5	гозерелин	11β-(4- ацетилфенил)-17β-гидрокси-17α-(3-гидрокси-1(2)-пропинил)-4,9-эстрадиен-3-он
6	гистрелин	мифепристон
7	лютрелин	онапристон
8	тристорелин	лилопристон
9	Nal-Gly	мифепристон
10	азалин В	мифепристон

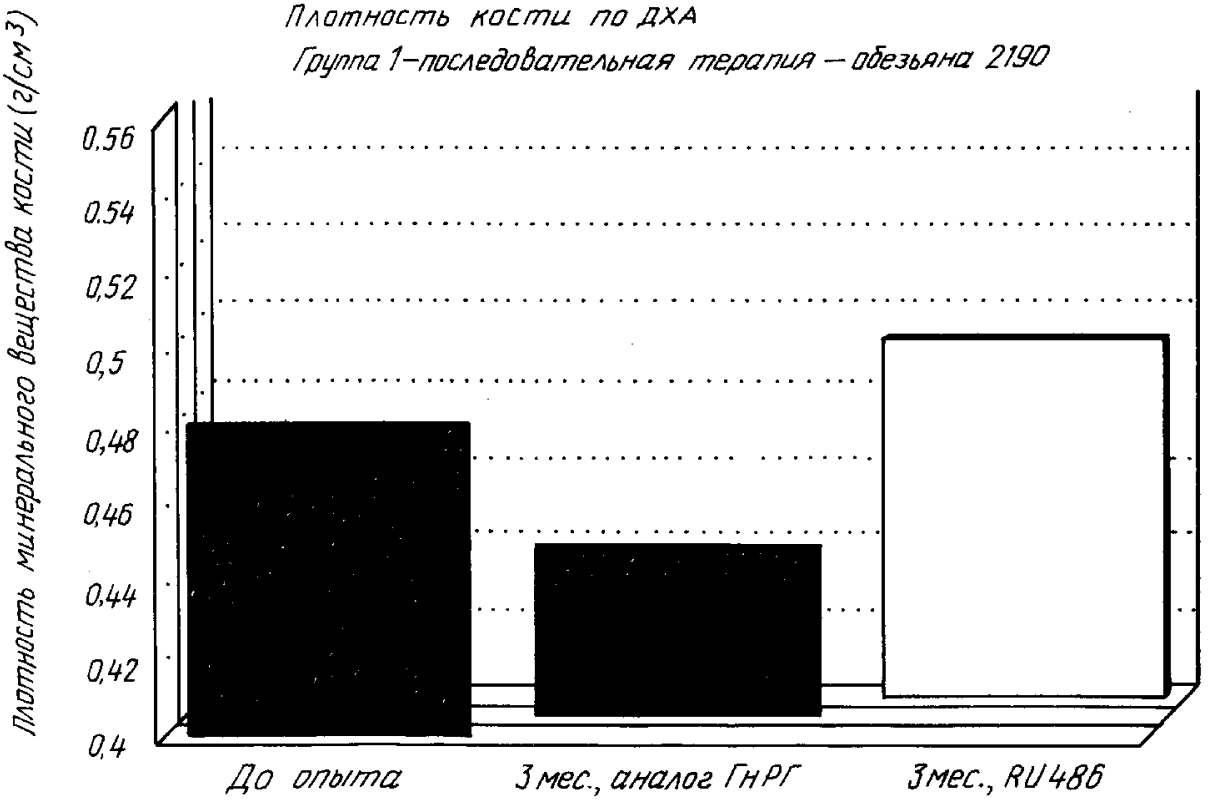
RU 2110274 C1

RU 2110274 C1



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

Фиг.2



Фиг.3

RU 2110274 C1