

Progetto di ricerche sperimentali sugli effetti antitumorali del leuprolide: il piano ed i primi risultati

Project of experimental studies on the antitumour effects of leuprolide: the plan and early results

Fiorella Belpoggi, Franco Minardi, Morando Soffritti, Luciano Bua e Cesare Maltoni†

Centro di Ricerca sul Cancro, Fondazione Europea di Oncologia e Scienze Ambientali "B. Ramazzini", Bologna, Italia

Riassunto

Finalità. Viene studiata l'efficacia del leuprolide nella chemioprevenzione del carcinoma mammario, nell'ambito di un vasto progetto, avviato nel 1986 presso il Centro di Ricerca sul Cancro della Fondazione Europea di Oncologia e Scienze Ambientali "B. Ramazzini", per valutare l'efficacia di una serie di agenti ritenuti eligibili per la chemioprevenzione dei tumori mammari. **Materiali e metodi.** Il leuprolide è stato saggiato su ratti Sprague-Dawley femmine a tre livelli di dose (Esp. BT 11T), e su ratti Sprague-Dawley femmine previamente esposti a radiazioni (Esp. BT 7R). **Risultati.** I dati disponibili indicano che il leuprolide ha un forte effetto chemiopreventivo sui tumori mammari a tutte le dosi studiate, e determina una notevole riduzione dell'incidenza dei tumori mammari nei ratti previamente esposti a radiazioni. **Conclusioni.** Il leuprolide, come altri farmaci dotati di attività ormonale, mostra un forte effetto chemiopreventivo sui tumori mammari, ed a tal fine il suo uso andrebbe attentamente preso in considerazione. Eur. J. Oncol., 6 (4), 411-416, 2001

Parole chiave: tumori mammari, chemioprevenzione, leuprolide

Introduzione

Il leuprolide è uno degli LH-RH agonisti-antagonisti. Questi farmaci agiscono sugli stessi siti recettoriali dell'LH-RH; il loro meccanismo d'azione consiste principalmente nell'inibizione del-

Summary

Aim. The efficacy of leuprolide in the chemoprevention of mammary cancer is studied within the framework of a large project started in 1986 at the Cancer Research Centre of the European Foundation of Oncology and Environmental Sciences "B. Ramazzini", to evaluate the efficacy of a series of agents considered eligible for the chemoprevention of mammary tumours. **Materials and methods.** Leuprolide was studied on female Sprague-Dawley rats at three dose levels (Exp. BT 11T), and on female Sprague-Dawley rats previously exposed to ionizing radiation (Exp. BT 7R). **Results.** The data available indicate that leuprolide has a strong chemopreventive effect on mammary tumours at all the doses studied, and brings about an important decrease in the incidence of mammary tumours in rats previously exposed to radiation. **Conclusions.** Leuprolide, like other drugs with hormonal activity, shows a strong chemopreventive effect on mammary tumours, and its use should be carefully considered for this purpose. Eur. J. Oncol., 6 (4), 411-416, 2001

Key words: mammary tumours, chemoprevention, leuprolide

la funzione dell'ipofisi, e quindi delle gonadi maschili e femminili, provocando una rapida riduzione/inibizione del rilascio delle gonadotropine e degli ormoni sessuali steroidei (effetto antagonista). Questo effetto si verifica dopo trattamento continuato, ed è preceduto da un'intensa transitoria stimolazione dell'ipofisi con rilascio di LH ed FSH (effetto agonista). L'effetto sull'ipofisi è stato designato anche come "ipofisectomia medica selettiva" e quello sulle gonadi (ovaie e testicoli) come "castrazione medica chimica". Vari tessuti extraipofisari, inclusi la prostata e le ovaie, e molti tumori contengono recettori specifici per l'LH-RH che permettono una azione inibitoria diretta (1).

Pervenuto/Received 12.9.2001 - Accettato/Accepted 2.11.2001

Indirizzo/Address: Fiorella Belpoggi, Centro di Ricerca sul Cancro, Fondazione Europea di Oncologia e Scienze Ambientali "B. Ramazzini", Castello di Bentivoglio, 40010 Bentivoglio (BO), Italia

Tabella 1 - Studi sperimentali sugli effetti inibitori (chemiopreventivi/terapeutici) del leuprolide sui tumori, e in particolare sul carcinoma mammario

Esperimento N./Sigla	Gruppo	Animali (ratti Sprague-Dawley)			Trattamento con leuprolide			Altri trattamenti	Durata biofase	Stato dell'arte
		Sesso	Età (sett.) ^(a)	N.	Dose (mg/kg p.c.)	Via di sommini- strazione	Calendario			
1/BT11T	I	F	56	144	0,625	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28gg per 40 sett.	–	40 sett.	Esperim. terminato
	II	F	56	146	0,3125	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 40 sett.	–	40 sett.	Esperim. terminato
	III	F	56	150	0,0625	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 40 sett.	–	40 sett.	Esperim. terminato
	IV	F	56	149	0	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 40 sett.	–	40 sett.	Esperim. terminato
2/BT16T	I	F	56	130	0,0625	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 40 sett.	–	Tutta la vita	Biofase terminata
	II	F	56	133	0	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 40 sett.	–	Tutta la vita	Biofase terminata
3/BT17T	I	M	8	100	0,625	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 64 sett.	–	Tutta la vita	Biofase terminata
	II	M	8	100	0	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 64 sett.	–	Tutta la vita	Biofase terminata
4/BT17T	I	F	8	100	0,625	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 64 sett.	–	Tutta la vita	Biofase terminata
	II	F	8	100	0	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 64 sett.	–	Tutta la vita	Biofase terminata
5/BT18T	I	M	56	148	0,010	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 40 sett.	TAM 0,05 mg/kg p.c. MPA 0,3 mg/kg p.c. 6 gg/sett ^(b)	Tutta la vita	Biofase terminata
	II	M	56	149	0	–	–	–	Tutta la vita	Biofase terminata
6/BT18T	I	F	56	142	0,010	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 40 sett.	TAM 0,05 mg/kg p.c. MPA 0,3 mg/kg p.c. 6 gg/sett ^(b)	Tutta la vita	Biofase terminata
	II	F	56	146	0	–	–	–	Tutta la vita	Biofase terminata
7/BT6R	I	M	6	200	0,0625	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 96 sett.	300 R a 6 sett. di età	Tutta la vita	Biofase terminata
	II	M	6	200	0	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 96 sett.	300 R a 6 sett. di età	Tutta la vita	Biofase terminata
8/BT6R	I	F	6	200	0,0625	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 96 sett.	300 R a 6 sett. di età	Tutta la vita	Biofase terminata
	II	F	6	200	0	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 96 sett.	300 R a 6 sett. di età	Tutta la vita	Biofase terminata
9/BT7R	I	F	56	154	0,0625	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 40 sett.	300 R a 56 sett. di età	40 sett.	Esperim. terminato
	II	F	56	154	0	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 40 sett.	300 R a 56 sett. di età	40 sett.	Esperim. terminato
	III	F	56	152	0	Iniezione sottocutanea	1 iniez./28 gg per 40 sett.	–	40 sett.	Esperim. terminato

^(a) All'inizio dell'esperimento^(b) Contestuali al trattamento con leuprolide

Nell'ambito di un progetto condotto dal Centro di Ricerca sul Cancro (CRC) della Fondazione Europea di Oncologia e Scienze Ambientali "B. Ramazzini" (FR), con lo scopo di identificare farmaci eligibili per la chemioprevenzione e per la chemio-ormonoterapia del carcinoma mammario, ed anche di tumori di altre sedi, abbiamo condotto 9 studi sperimentali sul leuprolide (Tabella 1), per valutare gli effetti inibitori sui tumori e gli eventuali effetti avversi del farmaco in ratti Sprague-Dawley maschi e femmine, di varie età, non trattati in alcun modo o previamente sottoposti ad un trattamento cancerogeno multipotente (irradiazione *total body* con raggi gamma alla dose di 300 rad erogati *una tantum*). Con questo resoconto vengono riferiti i risultati di due esperimenti relativi agli effetti antineoplastici del leuprolide su ratte non trattate e ratte esposte a radiazioni.

Materiali e metodi

L'efficacia chemiopreventiva del leuprolide (Enantone®) è stata saggiata su ratti Sprague-Dawley femmine della colonia del CRC/FR, utilizzata presso i nostri laboratori da circa 35 anni. Queste ratte sviluppano spontaneamente tumori di vario tipo, e in particolare carcinomi mammari che per incidenza, distribuzione per età, e caratteristiche cliniche ed istopatologiche sono assimilabili a quelli della donna: questo modello sperimentale va pertanto ritenuto donna-equivalente (2, 3).

L'irradiazione *total body* è stata effettuata in condizioni sperimentali controllate, immediatamente prima dell'inizio del tratta-

mento con leuprolide. Il leuprolide è stato somministrato a varie dosi mediante iniezione sottocutanea, ogni 4 settimane.

I piani sperimentali dei due esperimenti qui riferiti sono esposti nelle Tabelle 2 e 3.

Nel corso degli esperimenti gli animali sono stati sottoposti a controlli clinici periodici. Tutti gli animali, deceduti durante gli esperimenti o sacrificati al termine degli stessi, sono stati sottoposti a necropsia completa e ad esame istopatologico sistematico su oltre 60 campioni dei vari tessuti ed organi, apparentemente normali o patologici. L'esperimento è stato condotto secondo le Buone Pratiche di Laboratorio (Good Laboratory Practices = GLP).

Risultati

Nelle ratte non sottoposte ad alcun trattamento cancerogeno, la somministrazione di leuprolide inibisce l'insorgenza: 1) dei tumori mammari benigni (Tabella 4), soprattutto nei due gruppi trattati con le dosi più alte; 2) dei tumori mammari maligni a tutte e tre le dosi saggiate (Tabella 5); e 3) dei sarcomi dell'utero (Tabella 6).

Nelle ratte esposte a radiazioni gamma all'età di 56 settimane e tenute sotto osservazione per 40 settimane, non si è registrato l'aumento di tumori mammari che abbiamo rilevato quando gli animali erano stati irradiati con la stessa dose a 6-8 settimane di età e tenuti sotto osservazione per tutta la vita (4). In queste ratte è stato comunque confermato che il leuprolide inibisce l'insorgenza: 1) dei tumori mammari benigni (Tabella 7), 2) dei tumori

Tabella 2 - Studi sperimentali sugli effetti del leuprolide sui tumori spontanei in ratti Sprague-Dawley femmine (Esp. BT 11T). Piano sperimentale

Gruppo	Animali			Dose		Via di somministrazione	Veicolo	Calendario del trattamento	Durata (sett.)	
	Sesso	Età all'inizio (sett.)	N.	mg/kg p.c.	Donna equivalenza				Trattamento	Esperimento
I	F	56	144	0,6250	10x	Iniezione sottocutanea	Acqua	1 ogni 4 sett.	40	40
II	F	56	146	0,3125	5x	Iniezione sottocutanea	Acqua	1 ogni 4 sett.	40	40
III	F	56	150	0,0625	1x	Iniezione sottocutanea	Acqua	1 ogni 4 sett.	40	40
IV	F	56	149	0	–	Iniezione sottocutanea	Acqua	1 ogni 4 sett.	40	40
Totale			589							

Tabella 3 - Studi sperimentali sugli effetti del leuprolide sui tumori in ratti Sprague-Dawley femmine irradiati *una tantum* con radiazioni gamma (⁶⁰Co) a 300 rad, all'età di 56 settimane (Esp. BT 7R). Piano sperimentale

Gruppo	Animali (trattati con 300 rad)			Dose di leuprolide		Via di somministrazione	Veicolo	Calendario del trattamento	Durata (sett.)	
	Sesso	Età all'inizio (sett.)	N.	mg/kg p.c.	Donna equivalenza				Trattamento	Esperimento
I	F	56	154	0,0625	1x	Iniezione sottocutanea	Acqua	1 ogni 4 sett.	40	40
II	F	56	154	0	–	Iniezione sottocutanea	Acqua	1 ogni 4 sett.	40	40
Totale			308							

Tabella 4 - Studi sperimentali sugli effetti del leuprolide sui tumori spontanei in ratti Sprague-Dawley femmine (Esp. BT 11T). Risultati: tumori mammari benigni

Gruppo	Dose		Animali		Tumori mammari benigni ^(a)				
	mg/kg p.c.	Donna equivalenza	Sesso	N.	Animali con tumore		Tumori		
					N.	%	N. ^(b)	Per 100 animali	Indice di protezione ^(c)
I	0,6250	10x	F	144	10	6,9	12	8,3	87,1
II	0,3125	5x	F	146	7	4,8	7	4,8	92,5
III	0,0625	1x	F	150	37	24,7	39	26,0	59,6
IV	0	–	F	149	66	44,3	96	64,4	

^(a) Fibroadenomi, fibromi, lipomi, fibrolipomi^(b) Un animale può essere portatore di più di un tumore^(c) Riduzione percentuale dell'incidenza tumorale (riferita ai tumori per 100 animali)**Tabella 5** - Studi sperimentali sugli effetti del leuprolide sui tumori spontanei in ratti Sprague-Dawley femmine (Esp. BT 11T). Risultati: tumori mammari maligni

Gruppo	Dose		Animali		Tumori mammari maligni ^(a)				
	mg/kg p.c.	Donna equivalenza	Sesso	N.	Animali con tumore		Tumori		
					N.	%	N. ^(b)	Per 100 animali	Indice di protezione ^(c)
I	0,6250	10x	F	144	1	0,7	1	0,7	94,5
II	0,3125	5x	F	146	0	–	0	–	100,0
III	0,0625	1x	F	150	1 ^(d)	0,7	1 ^(e)	0,7	94,5
IV	0	–	F	149	18	12,1	19	12,8	

^(a) Carcinomi^(b) Un animale può essere portatore di più di un tumore^(c) Riduzione percentuale dell'incidenza tumorale (riferita ai tumori per 100 animali)^(d) Più uno con liposarcoma^(e) Più un liposarcoma**Tabella 6** - Studi sperimentali sugli effetti del leuprolide sui tumori spontanei in ratti Sprague-Dawley femmine (Esp. BT 11T). Risultati: sarcomi dell'utero

Gruppo	Dose		Animali		Animali con tumore			Indice di protezione ^(a)
	mg/kg p.c.	Donna equivalenza	Sesso	N.	N.	%		
I	0,6250	10x	F	144	0	–	100,0	
II	0,3125	5x	F	146	1	0,7	75,0	
III	0,0625	1x	F	150	2	1,3	50,0	
IV	0	–	F	149	4	2,7		

^(a) Riduzione percentuale dell'incidenza tumorale

mammari maligni (Tabella 8), e 3) dei sarcomi dell'utero (Tabella 9). E' stata notata anche un'interessante inibizione degli osteosarcomi che, nella colonia di ratti usata, si sviluppano soprattutto a livello del cranio (Tabella 10).

Discussione

I nostri dati sperimentali indicano che il leuprolide inibisce l'insorgenza dei tumori benigni e maligni della mammella, dei sarcomi dell'utero e degli osteosarcomi. Nel caso dei tumori della

mammella e dei sarcomi dell'utero il meccanismo d'azione può essere ricondotto alla riduzione/inibizione del rilascio di gonadotropine e degli ormoni steroidei femminili, pur senza escludere altri meccanismi biologici. Nel caso degli osteosarcomi, va ipoteticamente considerato anche un possibile effetto inibitorio sulla secrezione dell'ormone somatotropo. Coerenti con i nostri dati relativi ai tumori della mammella sono i risultati di ricerche sperimentali condotte in altri laboratori sugli effetti inibitori del leuprolide sui tumori mammari provocati da DMBA in ratte (5-8). In ambito clinico gli effetti inibitori del leuprolide sono da tempo conosciuti per quanto riguarda il carcinoma prostatico (9,10), e

Tabella 7 - Studi sperimentali sugli effetti del leuprolide sui tumori in ratti Sprague-Dawley femmine irradiati *una tantum* con radiazioni gamma (^{60}Co) a 300 rad, all'età di 56 settimane (Esp. BT 7R). Risultati: tumori mammari benigni

Gruppo	Dose di leuprolide		Animali (trattati con 300 rad)			Tumori mammari benigni ^(a)				
	mg/kg p.c.	Donna equivalenza	Sesso	Età all'inizio (sett.)	N.	Animali con tumore		N. ^(b)	Tumori Per 100 animali	Indice di protezione ^(c)
I	0,0625	1x	F	56	154	38	24,7	57	37,0	54,8
II	0	–	F	56	154	82	53,2	126	81,8	

^(a) Fibroadenomi, fibromi, fibrolipomi^(b) Un animale può essere portatore di più di un tumore^(c) Riduzione percentuale dell'incidenza tumorale (riferita ai tumori per 100 animali)**Tabella 8** - Studi sperimentali sugli effetti del leuprolide sui tumori in ratti Sprague-Dawley femmine irradiati *una tantum* con radiazioni gamma (^{60}Co) a 300 rad, all'età di 56 settimane (Esp. BT 7R). Risultati: tumori mammari maligni

Gruppo	Dose di leuprolide		Animali (trattati con 300 rad)			Tumori mammari maligni ^(a)				
	mg/kg p.c.	Donna equivalenza	Sesso	Età all'inizio (sett.)	N.	Animali con tumore		N. ^(b)	Tumori Per 100 animali	Indice di protezione ^(c)
I	0,0625	1x	F	56	154	8	5,2	9	5,8	61,1
II	0	–	F	56	154	20	13,0	23	14,9	

^(a) Carcinomi^(b) Un animale può essere portatore di più di un tumore^(c) Riduzione percentuale dell'incidenza tumorale (riferita ai tumori per 100 animali)**Tabella 9** - Studi sperimentali sugli effetti del leuprolide sui tumori in ratti Sprague-Dawley femmine irradiati *una tantum* con radiazioni gamma (^{60}Co) a 300 rad, all'età di 56 settimane (Esp. BR 7R). Risultati: sarcomi dell'utero

Gruppo	Dose di leuprolide		Animali (trattati con 300 rad)			Animali con tumore		
	mg/kg p.c.	Donna equivalenza	Sesso	Età all'inizio (sett.)	N.	N.	%	Indice di protezione ^(a)
I	0,0625	1x	F	56	154	2	1,3	75,0
II	0	–	F	56	154	8	5,2	

^(a) Riduzione percentuale dell'incidenza tumorale**Tabella 10** - Studi sperimentali sugli effetti del leuprolide sui tumori in ratti Sprague-Dawley femmine irradiati *una tantum* con radiazioni gamma (^{60}Co) a 300 rad, all'età di 56 settimane (Esp. BT 7R). Risultati: osteosarcomi del cranio

Gruppo	Dose di leuprolide		Animali (trattati con 300 rad)			Animali con tumore		
	mg/kg p.c.	Donna equivalenza	Sesso	Età all'inizio (sett.)	N.	N.	%	Indice di protezione ^(a)
I	0,0625	1x	F	56	154	1	0,6	80,0
II	0	–	F	56	154	5	3,2	

^(a) Riduzione percentuale dell'incidenza tumorale

l'uso del farmaco è entrato nel trattamento medico routinario di questa forma tumorale. Per quanto riguarda altri tumori, la situazione è diversa. Studi clinici pilota di fase II e III indicano un effetto inibitorio del leuprolide sul carcinoma mammario (11-13),

ma mancano studi adeguati per valutare in modo definitivo l'efficacia del farmaco su questo tipo di tumore. Mancano completamente studi clinici controllati sugli effetti del leuprolide sui sarcomi dell'utero, anche se a questo proposito sono interessanti al-

cuni resoconti sull'effetto inibitorio del leuprolide sui leiomiomi uterini (14-16). Mancano ancora, a nostra conoscenza, informazioni sull'effetto del leuprolide su altre patologie neoplastiche. Sulla base dei dati presentati, stiamo rapidamente procedendo a concludere l'intero nostro progetto su questo farmaco. Riteniamo anche che gli studi clinici sul leuprolide vadano estesi. In particolare, reputiamo prioritario promuovere studi di maggiore portata sull'efficacia del leuprolide nel trattamento medico del cancro mammario, e studi di fase III sugli effetti terapeutici del leuprolide sui sarcomi dell'utero e sugli osteosarcomi localmente avanzati e/o metastatici.

Bibliografia

1. Schally AV, Comaru-Schally AM. Hypothalamic and other peptide hormones. In Holland JF, Bast RC Jr, Morton DL, *et al.* Cancer Medicine, IV Ed., Vol. 1. Baltimore: Williams and Wilkins, 1997, 1067-85.
2. Maltoni C. Il contributo della cancerogenesi sperimentale alle conoscenze degli agenti causali, della storia naturale e del controllo della crescita del carcinoma mammario. *Acta Oncol* 1982; 3: 97-112.
3. Maltoni C, Pinto C, Paladini G. Project of experimental bioassays on chemoprevention agents performed at the Bologna Institute of Oncology: report on tamoxifen control of spontaneous mammary tumors on Sprague-Dawley rats. *Cancer Invest* 1988; 6: 643-58.
4. Soffritti M, Belpoggi F, Minardi F, *et al.* Mega-experiments to identify and assess diffuse carcinogenic risks. In Bailar AJ, Maltoni C, Bailar JC III, *et al.* Uncertainty in the risk assessment of environmental and occupational hazards. *Ann NY Acad Sci* 1999; 895: 34-55.
5. Okada H, Sakura Y, Kawaji H, *et al.* Regression of rat mammary tumors by a potent luteinizing hormone – releasing hormone analogue (leuprolide) administered vaginally. *Cancer Res* 1983; 43 (4): 1869-74.
6. Inada K, Tominaga T, Toi M, *et al.* Protective effect of leuprolide acetate on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) – induced mammary carcinogenesis in rats. *Eur J Surg Oncol* 1996; 22 (6): 583-7.
7. Hollingsworth AB, Lerner MR, Lightfoot SA, *et al.* Prevention of DMBA-induced rat mammary carcinomas comparing leuprolide, oophorectomy, and tamoxifen. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 47 (1): 63-70.
8. Jett EA, Lerner MR, Lightfoot SA, *et al.* Prevention of mammary carcinoma utilizing leuprolide as an equivalent to oophorectomy. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 58 (2): 131-6.
9. Labrie F, Dupont A, Belanger A, *et al.* New hormonal therapy in prostatic carcinoma: combined treatment with an LHRH agonist and an antiandrogen. *Clin Invest Med* 1982; 5: 267-75.
10. Leuprolide Study Group. Leuprolide versus diethylstilbestrol for metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 1984; 311: 1281.
11. Manni A, Santen R, Harvey H, *et al.* Treatment of breast cancer with gonadotropin-releasing hormone. *Endocr Rev* 1986; 7 (1): 89-94.
12. Gazet JC, Coombes RC, Ford HT, *et al.* Assessment of the effect of pre-treatment with neoadjuvant therapy on primary breast cancer. *Br J Cancer* 1996; 73 (6): 758-62.
13. Untch M. Primary endocrine therapy in pre- and perimenopausal metastatic breast carcinoma with leuprorelin acetate depot. German Leuprorelin Study Group. *Zentralbl Gynakol* 1998; 120 (6): 284-92.
14. Stolz W, Pfitzenreuter N. Treatment of uterine leiomyoma with depot leuprorelin acetate (Enantone – Gyn monthly depot). Effect on leiomyoma volume and operability. German Leuprorelin Study Group. *Zentralbl Gynakol* 1997; 119 (10): 468-75.
15. Zullo F, Pellicano M, De Stefano R, *et al.* A prospective randomized study to evaluate leuprolide acetate treatment study before laparoscopic myomectomy: efficacy and ultrasonographic predictors. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 108-12.
16. Verspyck E, Marpean L, Lucas C. Leuprorelin depot 3.75 mg versus lynestrenol in the preoperative treatment of symptomatic uterine myomas: a multicentre randomized trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 89 (1): 7-13.