

**УКРАЇНА****(19) UA****(11) 100701****(13) C2****(51) МПК****A61K 31/5685** (2006.01)**A61K 31/56** (2006.01)**A61K 31/453** (2006.01)**A61P 15/12** (2006.01)

**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ**

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки:	<b>а 2010 02703</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и):	<b>Лабрі Фернан (CA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки:	<b>08.08.2008</b>	<b>(73)</b> Власник(и):	<b>ЕНДОРЕШЕРШ, ІНК.,</b> 2989, de la Promenade Quebec City, Quebec G1W 2J5, Canada (CA)
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід:	<b>25.01.2013</b>	<b>(74)</b> Представник:	<b>Слободянюк Алла Василівна, реєстр. №25</b>
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>60/964,270, 60/964,673</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	CA 1320132 A1, 13.07.1993 CA 2154161 A, 04.08.1994 CA 2334577 A, 16.12.1999 WO 2006/042409 A1, 27.04.2006 EP 1623712 A2, 08.02.2006 US 2005/0181057 A1, 18.08.2005
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>10.08.2007, 13.08.2007</b>		
<b>(33)</b> Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	<b>US, US</b>		
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку:	<b>25.06.2010, Бюл.№ 12</b>		
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>25.01.2013, Бюл.№ 2</b>		
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	<b>РСТ/CA2008/001444, 08.08.2008</b>		

**(54) КОМПОЗИЦІЇ ДНЕА ДЛЯ ЛІКУВАННЯ МЕНОПАУЗИ****(57) Реферат:**

Винахід стосується застосування попередника статевого стероїдного гормону, вибраного із групи, яка складається з дегідроепіандростерону, сульфату дегідроепіандростерону, андрост-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діолу й 4-андростен-3,17-діону, для лікування та/або зменшення вірогідності набутих вагінальних симптомів або захворювань, вибраних з нетримання сечі, вагінальної атрофії, атрофічного вагініту, вагінальної сухості, диспареунії та сексуальної дисфункції у постменопаузних жінок, шляхом інтравагінального введення жінкам зазначеного попередника статевого стероїдного гормону у терапевтичній кількості 13 мг/день або менше.

**UA 100701 C2**



Галузь техніки, до якої відноситься винахід

Даний винахід пропонує нові способи введення та дозування дегідроепіандростерону (DHEA) для досягнення позитивного андрогенного впливу (наприклад, у вагінальних шарах lamina propria (власній пластинці слизової оболонки) і/або шарі muscularis (м'язовій пластинці слизової оболонки), без спричинення небажаних системних естрогенних ефектів. Крім DHEA, можуть бути використані інші попередники статевих стероїдних гормонів (наприклад, сульфат дегідроепіандростерону, андрост-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діол і 4-андростен-3,17-діон).

Рівень техніки

Відомо багато видів терапії пов'язаних з гормонами. Наприклад, багато хто застосовує введення статевих стероїдних гормонів естрогену або андрогену системно та/або до органу - мішені. Крім прямого введення андрогенів і/або естрогенів, попередники статевих стероїдних гормонів, які можуть перетворюватися на естроген і/або андроген у конкретній тканині, також були використані для лікування багатьох станів. Як андрогени, так і естрогени можуть бути корисними в деяких контекстах і шкідливими в інших. Це залежить серед іншого від тканини-мішені, конкретних потреб, представлених пацієнтом, і того ступеню, у якому можуть зачіпатись інші тканини, які не є мішенню. Деякі терапії, хоча вони і є націленими, усе ще можуть мати небажану активність щодо інших органів і систем в організмі (наприклад, навіть локальне введення такого фармацевтичного агента призводить в результаті, до збільшеної системної присутності або самої фармацевтичної речовини, або одного з її метаболітів). Механізм дії також не завжди є повністю зрозумілим, особливо щодо андрогенів і естрогенів.

Сутність винаходу

Таким чином, метою даного винаходу є використання конкретних доз, композицій і способів введення для кращого досягнення корисних ефектів статевих стероїдних гормонів і кращої елімінації їх небажаних побічних ефектів.

В одному аспекті, цей винахід пропонує спосіб лікування й/або зменшення ймовірності розвитку вагінальних захворювань або станів, пов'язаних з гормональним дисбалансом у постменопаузальних (постклімактеричних) жінок, причому зазначений спосіб пропонує введення попередника статевих стероїдних гормонів, обраного із групи, яка складається з дегідроепіандростерону, сульфату дегідроепіандростерону, андростен-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діолу й 4-андростен-3,17-діону, пацієнтові, який потребує зазначеного лікування, де цей зазначений попередник статевих стероїдних гормонів вводять у терапевтичній кількості, що збільшує рівень циркулюючих метаболітів андрогену без збільшення рівня естрадіолу вище від тих величин, які виявляються у здорових постменопаузальних жінок.

В іншому аспекті, цей винахід пропонує спосіб лікування й/або зменшення ймовірності розвитку симптомів або захворювань, обумовлених менопаузою (клімаксом), у постменопаузальних жінок, причому зазначений спосіб пропонує введення попередника статевих стероїдних гормонів, обраного із групи, яка складається з дегідроепіандростерону, сульфату дегідроепіандростерону, андростен-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діолу й 4-андростен-3,17-діону, пацієнтові, який потребує зазначеного лікування, де цей зазначений попередник статевих стероїдних гормонів вводять у терапевтичній кількості, що збільшує рівень циркулюючих метаболітів андрогену без збільшення рівня естрадіолу вище від тих величин, які виявляються у здорових постменопаузальних жінок, щоб уникнути ризику рака молочної залози й рака матки.

В іншому аспекті, цей винахід пропонує спосіб лікування й/або зменшення ймовірності розвитку симптомів або захворювань, обумовлених менопаузою (клімаксом), у постменопаузальних жінок, причому зазначений спосіб пропонує введення попередника статевих стероїдних гормонів, обраного із групи, яка складається з дегідроепіандростерону, сульфату дегідроепіандростерону, андростен-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діолу й 4-андростен-3,17-діону, пацієнтові, який потребує зазначеного лікування, де цей зазначений попередник статевих стероїдних гормонів вводять у терапевтичній кількості, яка збільшує рівень циркулюючих метаболітів андрогену, і додатково передбачає, як частину комбінаторної терапії, введення терапевтично ефективної кількості селективного модулятора рецептора естрогену з метою зменшення ризику захворювання на рак молочної залози й рак матки, який, звичайно, існує для постменопаузальних жінок, і для запобігання розрідження кістки (остеопорозу), накопичення жиру й діабету типу 2.

В іншому аспекті, цей винахід пропонує спосіб лікування вагінальних станів шару lamina propria або шару muscularis, що передбачає вагінальне введення в добовій дозі 3-13 мг.

В іншому аспекті, цей винахід пропонує фармацевтичну композицію, яка містить попередник статевих стероїдних гормонів, обраний із групи, яка складається з дегідроепіандростерону, сульфату дегідроепіандростерону, андростен-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діолу й 4-андростен-3,17-діону, і яка додатково містить фармацевтично прийнятний ексципієнт, розріджувач або носій, обрані із

групи, яка складається із тригліцеридів насичених кислот C12-C18 із частинами, які варіюються, відповідних неповних гліцеридів (твердого жиру, Witepsol), олій, змішаних тригліцеридів олеїнової, пальмітинової й стеаринової кислот (какао-олії), частково гідрогенізованої бавовняної олії (Cotomar), гідрогенізованих жирних спиртів і ефірів (Dehydag Base I, Base II або Base III, можуть також містити гліцериди насичених жирних кислот (C12-C16), тригліцеридів з пальми, пальмоядрового олії й кокосових олій із самоемульгованим гліцерилмоностеаратом і поліоксилстеаратом (Fattibase), Hexaride Base 95, високоплавких фракцій кокосової й пальмоядрової олії (Hydrokote), перегрупованих гідрогенізованих рослинних олій (S-70-XX95 і S-070-XXA), евтектичних сумішей моно-, ди-, тригліцеридів, отриманих із природних рослинних олій (Suprocire), Tegester-тригліцеридів, Твіну 61, тригліцеридів, отриманих з кокосової олії (Wecobee), масло-какао, напівсинтетичних гліцеридів (Japocire, Ovucire), сумішей три-, ди- і моногліцеридів насичених жирних кислот (Massa Estarinum) і комбінації вищевказаних компонентів (див. Allen et al. 2008). Будь-який носій, у тому числі рідина, у якій DHEA і інші попередники є розчинними, включені до даного винаходу.

В іншому аспекті, цей винахід пропонує вагінальний супозиторій, який містить 0,25-2,00 мас. %, більш конкретно, 0,5 мас. % DHEA, у відношенні до загальної маси супозиторію, і який додатково містить ліпофільний ексципієнт. Найбільш придатним ексципієнтом є witepsol H-15.

За допомогою забезпечення бажаних андрогенних ефектів без естрогенних системних ефектів, можна уникнути системних побічних дій естрогену, таких як збільшений ризик раку молочної залози та ендометрію, які існують при використанні існуючих заснованих на естрогені локальних і системних естроген-заміщувальних терапій (Labrie, Cusan et al. Menopause, in press).

Поряд з іншими формами введення попередників, цей винахід пропонує вагінальні супозиторії й вагінальні креми, приготовлені із кращими ексципієнтами й кращими концентраціями попередника.

Вагінальне введення є кращим, тому що локальна дія може забезпечувати бажаний андрогенний вплив на бажані вагінальні шари при набагато більш низьких дозах, ніж при введенні іншими способами. Застосування інших способів введення доз також є допустимим зі зміною попередніх доз і концентрацій для відомої варіації між цими способами введення. Лікар повинен змінювати дози у відповідності до реакції індивідуального пацієнта.

У кращих варіантах здійснення, попередником статевого стероїдного гормону є DHEA.

Короткий опис фігур

Фігура 1 показує рівні в сироватці DHEA і 5-діолу в день 1 або день 7 в 40-75-літніх постменопаузальних жінок після щоденного введення вагінальних супозиторіїв, які містять 0 %, 0,5 %, 1,0 % або 1,8 % DHEA. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM (n=9 або 10).

Фігура 2 показує рівні в сироватці Тесто(тестостерону) й DHT у день 1 або день 7 в 40-75-літніх постменопаузальних жінок після щоденного введення вагінальних супозиторіїв, які містять 0 %, 0,5 %, 1,0 % або 1,8 % DHEA (n=8). Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM (n=8-9). Рівні Тесто одного пацієнта в групі плацебо виключали внаслідок незрозуміло високих рівнів Тесто, які не є відповідними для випадку будь-якого іншого стероїду.

Фігура 3 показує рівні в сироватці E<sub>1</sub> і E<sub>2</sub> у день 1 або день 7 в 40-75-літніх постменопаузальних жінок після щоденного введення вагінальних супозиторіїв, які містять 0 %, 0,5 %, 1,0 % або 1,8 % DHEA. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM (n=9 або 10).

Фігура 4 показує рівні в сироватці E<sub>1</sub>-S і DHEA-S у день 1 або день 7 в 40-75-літніх постменопаузальних жінок після щоденного введення вагінальних супозиторіїв, які містять 0 %, 0,5 %, 1,0 % або 1,8 % DHEA. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM (n=9 або 10).

Фігура 5 показує рівні в сироватці 4-діону й ADT-G у день 1 або день 7 в 40-75-літніх постменопаузальних жінок після щоденного введення вагінальних супозиторіїв, які містять 0 %, 0,5 %, 1,0 % або 1,8 % DHEA. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM (n=9 або 10).

Фігура 6 показує рівні в сироватці 3 $\alpha$ -діол-3G і 3 $\alpha$ -діол-17G у день 1 або день 7 в 40-75-літніх постменопаузальних жінок після щоденного введення вагінальних супозиторіїв, які містять 0 %, 0,5 %, 1,0 % або 1,8 % DHEA (n=8). Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM (n=8-10).

Фігура 7 показує середню 24-годинну концентрацію в сироватці (AUC<sub>0-24год</sub>/24) DHEA, 5-діолу, DHEA-S, 4-діону, Тесто й DHT, визначену в день 1 або день 7 в 40-75-літніх постменопаузальних жінок після щоденного введення вагінальних супозиторіїв, які містять 0 %, 0,5 %, 1,0 % або 1,8 % DHEA. Дані виражали у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM (n=8-10). Рівні Тесто у одного з пацієнтів в групі плацебо виключали (n=8 у цій групі). Концентрації стероїдних гормонів у сироватці, визначені в 30-35-літніх постменопаузальних жінок, додавали як посилення. Дані виражали у вигляді середнього (n=47) із вказівкою 5-го й 95-го процентилей

(пунктирні лінії). \*,  $p < 0,05$ , \*\*,  $p < 0,01$ , експериментальних даних (день 7) проти плацебо (день 7).

Фігура 8 показує середню 24-годинну концентрацію в сироватці ( $AUC_{0-24\text{год}}/24$ ) ADT-G,  $3\alpha$ -діол-3G,  $3\alpha$ -діол-17G,  $E_1$ ,  $E_2$  і  $E_1$ -S, визначену в день 1 або день 7 в 40-75-літніх постменопаузальних жінок після щоденного введення вагінальних супозиторіїв, які містять 0 %, 0,5 %, 1,0 % або 1,8 % DHEA. Дані виражали у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM ( $n=9$  або 10). Концентрації стероїдних гормонів у сироватці, визначені в 30-35-літніх постменопаузальних жінок, додавали як посилення. Дані виражали у вигляді середнього ( $n=47$ ) із позначенням 5-го й 95-го процентилей (пунктирні лінії). \*,  $p < 0,05$ , \*\*,  $p < 0,01$ , експериментальних даних (день 7) проти плацебо (день 7).

Фігура 9 показує зміни рівнів у сироватці суми андрогенних метаболітів ADT-G,  $3\alpha$ -діол-17G у постменопаузальних жінок з вагінальною атрофією після інтравагінального введення зростаючих доз DHEA. Ці дані виражені у вигляді відсотка рівнів у сироватці тих самих стероїдних метаболітів, які спостерігаються у молодих дорослих (30-35-літніх) передменопаузальних жінок, які мають менструальний цикл. Рівень перетворення одержують розподілом суми рівнів у сироватці ADT-G,  $3\alpha$ -діол-3G і  $3\alpha$ -діол-17G у жінок, які одержували дози 0,5 %, 1,0 % і 1,8 % DHEA, на величини, що виявляють у передменопаузальних жінок (дані з Labrie et al., 2006). Зміни DHEA у сироватці в порівнянні зі здоровими передменопаузальними жінками показано також як порівняння для демонстрації ефективності перетворення (0----0), і фонових рівнів андрогенних метаболітів і DHEA, відповідно.

Фігура 10 показує індекс зрілості (A) вагінальний pH (B), визначені в день 1 і день 2 в 40-75-літніх постменопаузальних жінок після щоденного введення вагінальних супозиторіїв, які містять 0 %, 0,5 %, 1,0 % або 1,8 % DHEA. Дані виражали у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM ( $n=9$  або 10). \*,  $p < 0,05$ , \*\*,  $p < 0,01$ , даних у день 7 проти даних у день 1.

Фігура 11 показує часовий хід у сироватці дегідроепіандростерону (DHEA) (A) і андрост-5-ен- $3\beta$ , $17\beta$ -діолу (5-діолу) (B) після єдиного перорального введення двох капсул по 50 мг DHEA або застосування 4 г 10 %-ного крему або гелю DHEA для постменопаузальних жінок.

Фігура 12 показує часовий хід у сироватці андростендіону (4-діону) (A) і тестостерону (B) після єдиного перорального введення двох капсул по 50 мг DHEA або застосування 4 г 10 %-ного крему або гелю DHEA для постменопаузальних жінок.

Фігура 13 показує часовий хід у сироватці естрону ( $E_1$ ) (A) і  $17\beta$ -естрадіолу ( $E_2$ ) (B) після єдиного перорального введення двох капсул по 50 мг DHEA або застосування 4 г 10 %-ного крему або гелю DHEA для постменопаузальних жінок.

Фігура 14 показує часовий хід у сироватці сульфату дегідроепіандростерону (DHEA-S) (A) і сульфату естрону ( $E_1$ -S) (B) після єдиного перорального введення двох капсул по 50 мг DHEA або застосування 4 г 10 %-ного крему або гелю DHEA для постменопаузальних жінок.

Фігура 15 показує часовий хід у сироватці андростеронглюкуронида (ADT-G) (A) і андростон- $3\alpha$ , $17\beta$ -діолглюкуронида ( $3\alpha$ -діол-G) (B) після щоденного перорального введення двох капсул по 50 мг DHEA або застосування 4 г 10 %-ного крему або гелю DHEA для постменопаузальних жінок.

Фігура 16 показує часовий хід у сироватці дегідроепіандростерону (DHEA) (A) і андрост-5-ен- $3\beta$ , $17\beta$ -діолу (5-діолу) (B) після щоденного перорального введення двох капсул по 50 мг DHEA або застосування 4 г 10 %-ного крему або гелю DHEA для постменопаузальних жінок. Вимірювання виконували на 14 день введення доз.

Фігура 17 показує часовий хід у сироватці андростендіону (4-діону) (A) і тестостерону (B) після щоденного перорального введення двох капсул по 50 мг DHEA або застосування 4 г 10 %-ного крему або гелю DHEA для постменопаузальних жінок. Вимірювання виконували на 14 день введення доз.

Фігура 18 показує часовий хід у сироватці естрону ( $E_1$ ) (A) і естрадіолу ( $E_2$ ) після щоденного перорального введення двох капсул по 50 мг DHEA або застосування 4 г 10 %-ного крему або гелю DHEA для постменопаузальних жінок. Вимірювання виконували на 14 день введення доз.

Фігура 19 показує часовий хід у сироватці сульфату дегідроепіандростерону (DHEA-S) (A) і сульфату естрону ( $E_1$ -S) (B) після щоденного перорального введення двох капсул по 50 мг DHEA або застосування 4 г 10 %-ного крему або гелю DHEA для постменопаузальних жінок. Вимірювання виконували на 14 день введення доз.

Фігура 20 показує часовий хід у сироватці андростеронглюкуроніду (ADT-G) (A) і андрост-5-ен- $3\beta$ , $17\beta$ -діол-G ( $3\alpha$ -діол-G) (B) після щоденного перорального введення двох капсул по 50 мг DHEA або застосування 4 г 10 %-ного крему або гелю DHEA для постменопаузальних жінок. Вимірювання виконували на 14 день введення доз.

Фігура 21 показує відношення величин  $AUC_{0-24\text{год}}$  DHEA і його метаболітів на 14 день введення доз у порівнянні з фоновими величинами перед обробкою. Відповідні чисельні величини можна знайти в таблиці 5.

5 Фігура 22 показує дію щоденного інтравагінального застосування 0,0 %, 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA (Prasterone) протягом 2, 4, 8 і 12 тижнів на відсоток вагінальних парабазальних клітин у постменопаузальних жінок. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM.

Фігура 23 показує дію щоденного інтравагінального застосування 0,0 %, 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA (Prasterone) протягом 2, 4, 8 і 12 тижнів на відсоток вагінальних поверхневих клітин у постменопаузальних жінок. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM.

10 Фігура 24 показує дію щоденного інтравагінального застосування 0,0 %, 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA (Prasterone) протягом 2, 4, 8 і 12 тижнів на вагінальний pH у постменопаузальних жінок. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM.

15 Фігура 25 показує дію щоденного інтравагінального застосування 0,0 %, 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA (Prasterone) протягом 2, 4, 8 і 12 тижнів на зміну важкості симптому вагінальної атрофії, який оцінюється самими жінками як такий, що найбільш турбує. Величини порівнюють з 1 днем і виражають у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM.

Фігура 26 показує дію щоденного інтравагінального застосування 0,0 %, 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA (Prasterone) протягом 2, 4, 8 і 12 тижнів на зміну вагінальних секретів, оцінюване при вагінальному обстеженні. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM.

20 Фігура 27 показує дію щоденного інтравагінального застосування 0,0 %, 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA (Prasterone) протягом 2, 4, 8 і 12 тижнів на зміну кольорів вагіни, оцінюване при вагінальному обстеженні. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM.

25 Фігура 28 показує дію щоденного інтравагінального застосування 0,0 %, 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA (Prasterone) протягом 2, 4, 8 і 12 тижнів на зміну цілісності вагінального епітелію, оцінюване при вагінальному обстеженні. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM.

Фігура 29 показує дію щоденного інтравагінального застосування 0,0 %, 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA (Prasterone) протягом 2, 4, 8 і 12 тижнів на зміну товщини вагінального епітелію, оцінюване при вагінальному обстеженні. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM.

30 Фігура 30 показує середні 24-годинні концентрації в сироватці ( $AUC_{0-24\text{год}}/24$ ) DHEA, 5-діолу, DHEA-S, E1, E2 і E1-S, вимірювані в дні 1 і 7 після введення один раз на день піхвової овули (лікарської форми), що містить 0,5 % DHEA. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM ( $n=10$ ). Концентрації в сироватці стероїдних гормонів, визначені в 30-35-літніх передменопаузальних жінок ( $n=47$ ), а також в 55-65-літніх постменопаузальних жінок ( $n=369$ ), додавали в якості посилювальних даних, які виражали у вигляді середніх величин і 5-го й 95-го процентилей (пунктирні лінії). \*,  $p < 0,05$ , \*\*,  $p < 0.01$ , експериментальних даних проти тла. (Дані з Labrie, Cusan et al. 2008).

35 Фігура 31 показує середні 24-годинні концентрації в сироватці ( $AUC_{0-24\text{год}}/24$ ) 4-діону, тестостерону, DHT ADT-G, 3 $\alpha$ -діол-3G і 3 $\alpha$ -діол-17G, визначені в дні 1 і 7 після введення один раз на день піхвової овули (лікарської форми), що містить 0,5 % DHEA. Дані виражені у вигляді середніх величин  $\pm$  SEM ( $n=10$ ). Концентрації в сироватці стероїдних гормонів, визначені в 30-35-літніх передменопаузальних жінок ( $n=47$ ) і в 55-65-літніх постменопаузальних жінок ( $n=369$ ), додавали як посилювальні дані, які виражали у вигляді середніх величин і 5-го й 95-го процентилей (пунктирні лінії). \*,  $p < 0,05$ , \*\*,  $p < 0.01$ , експериментальних даних проти тла. (Дані з Labrie, Cusan et al. 2008).

45 Докладний опис винаходу

Нижче представлений перелік статей, обговорюваних тут у вигляді цитування в короткій формі:

Allen, Loyd V Jr, Worthen Dennis B, and Mink Bill, in Suppositories, Chapter 3 pages 27-49, Published by the Pharmaceutical Press, London, UK, 2008.

50 Archer, D. F. (2007). "Drospirenone-containing hormone therapy for postmenopausal women. Perspective on current data." J Reprod Med 52(2 Suppl): 159-64.

Ayton, R. A., G. M. Darling, et al. (1996). "A comparative study of safety and efficacy of continuous low dose oestradiol released from a vaginal ring compared with conjugated equine oestrogen vaginal cream in the treatment of postmenopausal urogenital atrophy." Br J Obstet Gynaecol 103(4): 351-8.

55 Bachmann, G., R. A. Lobo, et al. (2008). "Efficacy of low-dose estradiol vaginal tablets in the treatment of atrophic vaginitis: a randomized controlled trial." Obstet Gynecol 111(1): 67-76.

Bachmann, G. A., M. Notelovitz, et al. (1992). "Long-term non-hormonal treatment of vagina dryness." J Clin Pract Sex 8.

- Baker, V. L. and R. B. Jaffe (1996). "Clinical uses of antiestrogens." *Obstet Gynecol Surv* 51: 45-59.
- E. E. Baulieu, G. Thomas, S. Legrain, N. Lahlou, M. Roger, B. Debuire, V. Faucounau, L. Girard, M.P. Hervy, F. Latour, M.C. Leaud, A. Mokrane, H. Pitti-Ferrandi, C. Trivalle, O. de Lacharriere, S. Nouveau, B. Rakoto-Arison, J.C. Souberbielle, J. Raison, Y. Le Bouc, A. Raynaud, X. Girerd and F. Forette, Dehydroepiandrosterone (DHEA), DHEA sulfate, and aging: contribution of the DHEAge Study to a sociobiomedical issue, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97 (2000), pp. 4279-4284.
- Baxendale, P. M., M. J. Reed, et al. (1981). "Inability of human endometrium or myometrium to aromatize androstenedione." *J Steroid Biochem* 14(3): 305-6.
- Belanger, B. Candas, A. Dupont, L. Cusan, P. Diamond, J.L. Gomez and F. Labrie, Changes in serum concentrations of conjugated and unconjugated steroids in 40-to 80-year-old men, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 79 (1994), pp. 1086-1090.
- Belanger, G. Pelletier, F. Labrie, O. Barbier and S. Chouinard, Inactivation of androgens by UDP-glucuronosyltransferase enzymes in humans, *Trends Endocrinol. Metab.* 14 (2003), pp. 473-479.
- Beral, V. (2003). "Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study." *Lancet* 362(9382): 419-27.
- Beral, V., D. Bull, et al. (2005). "Endometrial cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study." *Lancet* 365(9470): 1543-51.
- Berger, L., M. El-Alfy, et al. (2005). "Effects of dehydroepiandrosterone, Premarin and Acolbifene on histomorphology and sex steroid receptors in the rat vagina." *J Steroid Biochem Mol Biol* 96(2): 201-15.
- Bulun, S. E., Z. Lin, et al. (2005). "Regulation of aromatase expression in estrogen-responsive breast and uterine disease: from bench to treatment." *Pharmacol Rev* 57(3): 359-83.
- J.E. Buster, P.R. Casson, A. B. Straughn, D. Dale, E. S. Umstot, N. Chiamori and G. E. Abraham, Postmenopausal steroid replacement with micronized dehydroepiandrosterone: preliminary oral bioavailability and dose proportionality studies, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 166 (1992), pp. 1163-1168 discussion 1168-1170.
- Chlebowski, R. T., S. L. Hendrix, et al. (2003). "Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women: the Women's Health Initiative Randomized Trial." *Jama* 289(24): 3243-53.
- D. L. Coleman, E.H. Leiter and R.W. Schwizer, Therapeutic effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) in diabetic mice, *Diabetes* 31 (1982), pp. 830-833.
- Colditz, G. A., K. M. Egn, et al. (1993). "Hormone replacement therapy and risk of breast cancer: results from epidemiologic studies." *Am. J. Obstet. Gynecol.* 168: 1473-1480.
- Colditz, G. A., S. E. Hankinson, et al. (1995). "The use of estrogens and progestins and the risk of breast cancer in postmenopausal women." *N. Engl. J. Med.* 332: 1589-1593.
- Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer (1997). "Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108411 women without breast cancer." *Lancet* 350(9084): 1047-59.
- Corrao, G., A. Zambon, et al. (2008). "Menopause hormone replacement therapy and cancer risk: an Italian record linkage investigation." *Ann Oncol* 19(1): 150-5.
- Coughlin, S. S., A. Giustozzi, et al. (2000). "A meta-analysis of estrogen replacement therapy and risk of epithelial ovarian cancer." *J Clin Epidemiol* 53(4): 367-75.
- Deutsch, S., R. Ossowski, et al. (1981). "Comparison between degree of systemic absorption of vaginally and orally administered estrogens at different dose levels in postmenopausal women." *Am J Obstet Gynecol* 139(8): 967-8.
- Dew, J. E., B. G. Wren, et al. (2003). "A cohort study of topical vaginal estrogen therapy in women previously treated for breast cancer." *Climacteric* 6(1): 45-52.
- P. Diamond, L. Cusan, J.L. Gomez, A. Belanger and F. Labrie, Metabolic effects of 12-month percutaneous DHEA replacement therapy in postmenopausal women, *J. Endocrinol.* 150 (1996), pp. S43-S50.
- Dugal, R., K. Hesla, et al. (2000). "Comparison of usefulness of estradiol vaginal tablets and estriol vagitories for treatment of vaginal atrophy." *Acta Obstet Gynecol Scand* 79(4): 293-7.
- Englund, D. E. and E. D. Johansson (1978). "Plasma levels of oestrone, oestradiol and gonadotrophins in postmenopausal women after oral and vaginal administration of conjugated equine oestrogens (Premarin)." *Br J Obstet Gynaecol* 85(12): 957-64.
- Fallowfield, L., D. Cella, et al. (2004). "Quality of life of postmenopausal women in the Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination (ATAC) Adjuvant Breast Cancer Trial." *J Clin Oncol* 22(21): 4261-71.

- Feeley, K. M. and M. Wells (2001). "Hormone replacement therapy and the endometrium." *J Clin Pathol* 54(6): 435-40.
- Furuhjelm, M., E. Karlgren, et al. (1980). "Intravaginal administration of conjugated estrogens in premenopausal and postmenopausal women." *Int J Gynaecol Obstet* 17(4): 335-9.
- 5 Galhardo, C. L., J. M. Soares, Jr., et al. (2006). "Estrogen effects on the vaginal p, flora and cytology in late postmenopause after a long period without hormone therapy." *Clin Exp Obstet Gynecol* 33(2): 85-9.
- Gambrell, R. D., Jr., F. M. Massey, et al. (1980). "Use of the progestogen challenge test to reduce the risk of endometrial cancer." *Obstet Gynecol* 55(6): 732-8.
- 10 Garg, P. P., K. Kerlikowske, et al. (1998). "Hormone replacement therapy and the risk of epithelial ovarian carcinoma: a meta-analysis." *Obstet Gynecol* 92(3): 472-9.
- Grady, D., T. Gebretsadik, et al. (1995). "Hormone replacement therapy and endometrial cancer risk: a meta-analysis." *Obstet Gynecol* 85(2): 304-13.
- Gupta, P., B. Ozel, et al. (2008). "The effect of transdermal and vaginal estrogen therapy on markers of postmenopausal estrogen status." *Menopause* 15(1): 94-7.
- 15 Holmberg, L. and H. Anderson (2004). "HABITS (hormonal replacement therapy after breast cancer-is it safe?), a randomised comparison: trial stopped." *Lancet* 363(9407): 453-5.
- Holmberg, L., O. E. Iversen, et al. (2008). "Increased risk of recurrence after hormone replacement therapy in breast cancer survivors." *J Natl Cancer Inst* 100(7): 475-82.
- 20 Holmgren, P. A., M. Lindskog, et al. (1989). "Vaginal rings for continuous low-dose release of oestradiol in the treatment of urogenital atrophy." *Maturitas* 11(1): 55-63.
- Hulley, S. B. (2002). "Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and estrogen/progestin replacement study follow-up (HERS H)." *JAMA* 288: 58-66.
- Jick, S. S., A. M. Walker, et al. (1993). "Estrogens, progesterone, and endometrial cancer." *Epidemiology* 4(1): 20-4.
- 25 C.C. Johnston Jr., S.L. Hui, R.M. Witt, R. Appledorn, R.S. Baker and C. Longcope, Early menopausal changes in bone mass and sex steroids, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 61 (1985), pp. 905-911.
- D. W. Hum, A. Belanger, E. Levesque, O. Barbier, M. Beaulieu, C. Albert, M. Vallee, C. Guillemette, A. Tchernof, D. Turgeon and S. Dubois, Characterization of UDP-glucuronosyltransferases active on steroid hormones, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 69 (1999), pp. 413-423.
- H. Kawano, H. Yasue, A. Kitagawa, N. Hirai, T. Yoshida, H. Soejima, S. Miyamoto, M. Nakano and H. Ogawa, Dehydroepiandrosterone supplementation improves endothelial function and insulin sensitivity in men, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88 (2003), pp. 3190-3195.
- 35 Kendall, A., M. Dowsett, et al. (2006). "Caution: Vaginal estradiol appears to be contraindicated in postmenopausal women on adjuvant aromatase inhibitors." *Ann Oncol* 17(4): 584-7.
- Kvornig, J. D. N. and H. K. Jensen (1986). Pharmaceutical development of low-dose estradiol vagitories. International Workshop, Copenhagen.
- 40 Labrie, C. A. Belanger, et al. (1988). "Androgenic activity of dehydroepiandrosterone and androstenedione in the rat ventral prostate." *Endocrinology* 123: 1412-1417.
- Labrie, F. (1991). "Intracrinology." *Mol. Cell. Endocrinol.* 78: C113-C118.
- F. Labrie, Future perspectives of SERMs used alone and in combination with DHEA, *Endocr. Relat. Cancer* 13 (2006), pp. 335-355.
- 45 Labrie, F. (2007). "Drug Insight: breast cancer prevention and tissue-targeted hormone replacement therapy." *Nature Clinical Practice, Endocrinology & Metabolism* 3(8): 584-593.
- F. Labrie, A. Belanger, J. Simard, V. Luu-The and C. Labrie, DHEA and peripheral androgen and estrogen formation: intracrinology, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 774 (1995), pp. 16-28.
- Labrie, F., A. Belanger, et al. (2007). "Metabolism of DHEA in postmenopausal women following percutaneous administration." *J Steroid Biochem Mol Biol* 103(2): 178-88.
- 50 Labrie, F., A. Belanger, et al. (2007) "Bioavailability and metabolism of oral and percutaneous dehydroepiandrosterone in postmenopausal women" *J Steroid Biochem Mol Biol.* Oct; 107(1-2):57-69.
- Labrie, F., A. Belanger, et al. (2006). "Androgen glucuronides, instead of testosterone, as the new markers of androgenic activity in women." *Journal Ster Biochem & Mol Biol* 99: 182-188.
- 55 Labrie, F., A. Belanger, et al. (2005). "GnRH agonists in the treatment of prostate cancer." *Endocrine Reviews* 26(3): 361-379.
- Labrie, F., A. Belanger, et al. (1997). "Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgen metabolites during aging." *J Clin Endocrinol Metab* 82: 2396-2402.



- Labrie, F., A. Belanger, et al. (2007a). "Bioavailability and metabolism of oral and percutaneous dehydroepiandrosterone in postmenopausal women." *J Steroid Biochem Mol Biol* 107(1-2): 57-69.
- F. Labrie, A. Belanger, P. Belanger, R. Berube, C. Martel, L. Cusan, J. Gomez, B. Candas, V. Chaussade, I. Castiel, C. Deloche and J. Leclaire, Metabolism of DHEA in postmenopausal women following percutaneous administration, *J. Steroid Biochem. Mol Biol.* 103 (2) (2007b), pp. 178-188.
- Labrie, F., L. Cusan, et al. (2008). "Effect of Intravaginal DHEA on Serum DHEA and Eleven of its Metabolites in Postmenopausal Women." *Journal Ster Biochem & Mol Biol*: In press.
- Labrie, F., L. Cusan, et al. (2008). "Effect of One-Week Treatment with Vaginal Estrogen Preparations on Serum Estrogen Levels in Postmenopausal Women." *Menopause* In press.
- Labrie, F., L. Cusan, et al. (2008). "Changes in serum DHEA and eleven of its metabolites during 12-month percutaneous administration of DHEA." *J Steroid Biochem Mol Biol* 110(1-2): 1-9.
- Labrie, F., P. Diamond, et al. (1997). "Effect of 12-month dehydroepiandrosterone replacement therapy on bone, vagina, and endometrium in postmenopausal women." *J Clin Endocrinol Metab* 82(10): 3498-505.
- Labrie, F., A. Dupont, et al. (1985). Complete androgen blockade for the treatment of prostate cancer. Important Advances in Oncology. V. T. de Vita, S. Hellman and S. A. Rosenberg. Philadelphia, J.B. Lippincott: 193-217.
- F. Labrie, V. Luu-The, S.X. Lin, C. Labrie, T. Simard, R. Breton and A. Belanger, The key role of 17 $\beta$ -HSDs in sex steroid biology, *Steroids* 62 (1997), pp. 148-158.
- Labrie, V. Luu-The, S.-X. Lin, J. Simard, C. Labrie, M. El-Alfy, G. Pelletier and A. Belanger, Intracrinology: role of the family of 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases in human physiology and disease, *J. Mol. Endocrinol.* 25 (2000), pp. 1-16.
- Labrie, F., V. Luu-The, et al. (2005). "Is DHEA a hormone? Starling Review." *J Endocrinol* 187: 169-196.
- Labrie, F., V. Luu-The, et al. (2003). "Endocrine and intracrine sources of androgens in women: inhibition of breast cancer and other roles of androgens and their precursor dehydroepiandrosterone." *Endocrine Reviews* 24(2): 152-182.
- Labrie, F., V. Luu-The, et al. (2006). "Dehydroepiandrosterone (DHEA) is an anabolic steroid like dihydrotestosterone (DHT), the most potent natural androgen, and tetrahydrogestrinone (THG)." *J Steroid Biochem Mol Biol* 100(1-3): 52-8.
- F. Labrie, J. Simard, V. Luu-The, A. Belanger, G. Pelletier, Y. Morel, F. Mebarki, R. Sanchez, F. Durocher, C. Turgeon, Y. Labrie, E. Rheume, C. Labrie and Y. Lachance, The 3 $\beta$ -hydroxy steroid dehydrogenase/isomerase gene family: lessons from type II 3 $\beta$ -HSD congenital deficiency. In: V. Hansson, F.O. Levy and K. Tasken, Editors, *Signal Transduction in Testicular Cells*. Ernst Schering Research Foundation Workshop, vol Suppl. 2, Springer-Verlag, Berlin (1996), pp. 185-218.
- Labrie, J. Simard, V. Luu-The, A. Belanger and G. Pelletier, Structure, function and tissue-specific gene expression of 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase/5-ene-4-ene isomerase enzymes in classical and peripheral intracrine steroidogenic tissues, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 43 (1992), pp. 805-826.
- F. Labrie, R. Poulin, J. Simard, V. Luu-The, C. Labrie and A. Belanger, Androgens, DHEA and breast cancer. In: T. Gelf and, Editor, *Androgens and Reproductive Aging*, Taylor and Francis, Oxfordshire, UK (2006), pp. 113-135.
- Labrie, Y. Sugimoto, V. Luu-The, J. Simard, Y. Lachance, D. Bachvarov, G. Leblanc, F. Durocher and N. Paquet, Structure of human type II 5 $\alpha$ -reductase, *Endocrinology* 131 (1992), pp. 1571-1573.
- Y. Labrie, F. Durocher, Y. Lachance, C. Turgeon, J. Simard, C. Labrie and F. Labrie, The human type II 17 $\beta$ -hydroxy steroid dehydrogenase gene encodes two alternatively-spliced messenger RNA species, *DNA Cell Biol.* 14 (1995), pp. 849-861.
- Lacey, J. V., P. J. Mink, et al. (2002). "Menopausal hormone replacement therapy and risk of ovarian cancer." *JAMA* 288: 334-341.
- Li, L., S. J. Plummer, et al. (2008). "A common 8q24 variant and the risk of colon cancer: a population-based case-control study." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 17(2): 339-42.
- C.H. Liu, G.A. Laughlin, U.G. Fischer and S.S. Yen, Marked attenuation of ultradian and circadian rhythms of dehydroepiandrosterone in postmenopausal women: evidence for a reduced 17,20-desmolase enzymatic activity, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 71 (1990), pp. 900-906.
- Long, C. Y., C. M. Liu, et al. (2006). "A randomized comparative study of the effects of oral and topical estrogen therapy on the vaginal vascularization and sexual function in hysterectomized postmenopausal women." *Menopause* 13(5): 737-43.
- V. Luu-The, I. Dufort, N. Paquet, G. Reimnitz and F. Labrie, Structural characterization and expression of the human dehydroepiandrosterone sulfotransferase gene, *DNA Cell Biol.* 14 (1995), pp. 511-518.

V. Luu-The, Y. Zhang, D. Poirier and F. Labrie, Characteristics of human types 1, 2 and 3 17 $\beta$ -hydroxy steroid dehydrogenase activities: oxidation-reduction and inhibition, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 55 (1995), pp. 581-58.

Lyytinen, H., E. Pukkala, et al. (2006). "Breast cancer risk in postmenopausal women using estrogen-only therapy." *Obstet Gynecol* 108(6): 1354-60.

E.G. MacEwen and I.D. Kurzman, Obesity in the dog: role of the adrenal steroid dehydroepiandrosterone (DHEA), *J. Nutr.* 121 (1991), pp. S51-S55.

Mandel, F. P., F. L. Geola, et al. (1983). "Biological effects of various doses of vaginally administered conjugated equine estrogens in postmenopausal women." *J Clin Endocrinol Metab* 57(1): 133-9.

Manonai, J., U. Theppisai, et al. (2001). "The effect of estradiol vaginal tablet and conjugated estrogen cream on urogenital symptoms in postmenopausal women: a comparative study." *J Obstet Gynaecol Res* 27(5): 255-60.

Martin, P. L., S. S. Yen, et al. (1979). "Systemic absorption and sustained effects of vaginal estrogen creams." *Jama* 242(24): 2699-700.

Marx, P., G. Schade, et al. (2004). "Low-dose (0.3 mg) synthetic conjugated estrogens A is effective for managing atrophic vaginitis." *Maturitas* 47(1): 47-54.

Mattson, L. A., G. Culberg, et al. (1989). "Vaginal administration of low dose estradiol-effects on endometrium and vaginal cytology." *Maturitas* 11: 217-222.

R.B. Mazess, On aging bone loss, *Clin. Orthop.* 165 (1982), pp. 239-252.

Meisels, A. (1967). "The maturation value." *Acta Cytol* 11: 249.

Mertens, H. J., M. J. Heineman, et al. (1996). "Androgen receptor content in human endometrium." *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 70(1): 11-3.

Mettler, L. and P. G. Olsen (1991). "Long-term treatment of atrophic vaginitis with low-dose oestradiol vaginal tablets." *Maturitas* 14(1): 23-31.

CJ. Migeon, A. R. Keller, B. Lawrence and T.H. Shepart IL, Dehydroepiandrosterone and androsterone levels in human plasma. Effect of age and sex: day-to-day and diurnal variations, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 17 (1957), pp. 1051-1062.

A.J. Morales, J.J. Nolan, J.C. Nelson and S.S. Yen, Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 78 (1994), pp. 1360-1367.

Morales, L., P. Neven, et al. (2004). "Acute effects of tamoxifen and third-generation aromatase inhibitors on menopausal symptoms of breast cancer patients." *Anticancer Drugs* 15(8): 753-60.

N.A.M.S. (2007). "Position Statement of the North American Menopause Society." *Menopause* 14: 357-69.

Nachtigall, L. E. (1995). "Clinical trial of the estradiol vaginal ring in the U.S." *Maturitas* 22 Suppl: S43-7.

Naessen, T., K. Rodriguez-Macias, et al. (2001). "Serum lipid profile improved by ultra-low doses of 17-beta-estradiol in elderly women." *J Clin Endocrinol Metab* 86(6): 2757-62.

Nelson, H. D., K. K. Vesco, et al. (2006). "Nonhormonal therapies for menopausal hot flashes: systematic review and meta-analysis." *Jama* 295(17): 2057-71.

J.E. Nestler, CO. Barlascini, J.N. Clore and W.G. Blackard, Dehydroepiandrosterone reduces serum low density lipoprotein levels and body fat but does not alter insulin sensitivity in normal men, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 66 (1988), pp. 57-61.

Nilsson, K. and G. Heimer (1992). "Low-dose oestradiol in the treatment of urogenital oestrogen deficiency--a pharmacokinetic and pharmacodynamic study." *Maturitas* 15(2): 121-7.

Notelovitz, M., S. Funk, et al. (2002). "Estradiol absorption from vaginal tablets in postmenopausal women." *Obstet Gynecol* 99(4): 556-62.

Orentreich, N., J. L. Brind, et al. (1984). "Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood." *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 59: 551-555.

Pandit, L. and J. G. Ouslander (1997). "Postmenopausal vaginal atrophy and atrophic vaginitis." *Am J Med Sci* 314(4): 228-31.

Persson, L, H. O. Adami, et al. (1989). "Risk of endometrial cancer after treatment with oestrogens alone or in conjunction with progestogens: results of a prospective study." *Bmj* 298(6667): 147-51.

Ponzone, R., N. Biglia, et al. (2005). "Vaginal oestrogen therapy after breast cancer: is it safe?" *Eur J Cancer* 41(17): 2673-81.

Rigg, L. A., H. Hermann, et al. (1978). "Absorption of estrogens from vaginal creams." *N Engl J Med* 298(4): 195-7.

B.L. Riggs, H.W. Wahner, W.L. Dunn, R.B. Mazess, K.P. Offord and L.J. Melton, Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging: relationship to spinal osteoporosis, *J. Clin. Invest.* 67 (1981), pp. 328-335.

5 Riman, T., P. W. Dickman, et al. (2002). "Hormone replacement therapy and the risk of invasive epithelial ovarian cancer in Swedish women." *J Natl Cancer Inst* 94: 497-504.

Rinaldi, S., H. Dechaud, et al. (2001). "Reliability and validity of commercially available, direct radioimmunoassays for measurement of blood androgens and estrogens in postmenopausal women." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10(7): 757-65.

10 Rioux, J. E., C. Devlin, et al. (2000). "17beta-estradiol vaginal tablet versus conjugated equine estrogen vaginal cream to relieve menopausal atrophic vaginitis." *Menopause* 7(3): 156-61.

Rodriguez, C, A. V. Patel, et al. (2002). "Estrogen replacement therapy and ovarian cancer mortality in a large prospective study of US women." *JAMA* 285: 1460-1465.

15 Rosenberg, L. U., C. Magnusson, et al. (2006). "Menopausal hormone therapy and other breast cancer risk factors in relation to the risk of different histological subtypes of breast cancer: a case-control study." *Breast Cancer Res* 8(1): R11.

Rossouw, J. E., G. L. Anderson, et al. (2002). "Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial." *Jama* 288(3): 321-33.

20 Salminen, H. S., M. E. Saaf, et al. (2007). "The effect of transvaginal estradiol on bone in aged women: a randomised controlled trial." *Maturitas* 57(4): 370-81.

Schiff, L, D. Tulchinsky, et al. (1977). "Vaginal absorption of estrone and 17beta-estradiol." *Fertil Steril* 28(10): 1063-6.

Schmidt, G., S. B. Andersson, et al. (1994). "Release of 17-beta-oestradiol from a vaginal ring in postmenopausal women: pharmacokinetic evaluation." *Gynecol Obstet Invest* 38(4): 253-60.

25 E.D. Schriock, CK. Buffington, G.D. Hubert, B.R. Kurtz, A.E. Kitabchi, J.E. Buster and J. R. Givens, Divergent correlations of circulating dehydroepiandrosterone sulfate and testosterone with insulin levels and insulin receptor binding, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 66 (1988), pp. 1329-1331.

Sillero-Arenas, M., M. Delgado-Rodriguez, et al. (1992). "Menopausal hormone replacement therapy and breast cancer: a meta-analysis." *Obstet. Gynecol.* 79: 286-294.

30 Simon, J. A., K. Z. Reape, et al. (2007). "Randomized, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial to evaluate the efficacy and safety of synthetic conjugated estrogens B for the treatment of vulvovaginal atrophy in healthy postmenopausal women." *Fertil Steril* In press.

E.R. Simpson, Role of aromatase in sex steroid action, *J. Mol. Endocrinol.* 25 (2000), pp. 149-156.

35 Simunic, V., I. Banovic, et al. (2003). "Local estrogen treatment in patients with urogenital symptoms." *Int J Gynaecol Obstet* 82(2): 187-97.

Smith, D. C, R. Prentice, et al. (1975). "Association of exogenous estrogen and endometrial carcinoma." *N. Engl. J. Med.* 293: 1164-1167.

Smith, P., G. Heimer, et al. (1993). "Oestradiol-releasing vaginal ring for treatment of postmenopausal urogenital atrophy." *Maturitas* 16(2): 145-54.

40 Sourla, A., M. Flamand, et al. (1998). "Effect of dehydroepiandrosterone on vaginal and uterine histomorphology in the rat." *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 66(3): 137-149.

Steinberg, K. K., S. B. Thacker, et al. (1991). "A meta-analysis of the effect of estrogen replacement therapy on the risk of breast cancer." *JAMA* 265: 1985-1990.

45 K.K. Steinberg, L.W. Freni-Titulaer, E.G. DePuey, D.T. Miller, D.S. Sgoutas, C.H. Coralli, D. L. Phillips, T.N. Rogers and R.V. Clark, Sex steroids and bone density in premenopausal and perimenopausal women, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 69 (1989), pp. 533-539.

Suckling, J., A. Lethaby, et al. (2006). "Local oestrogen for vaginal atrophy in postmenopausal women." *Cochrane Database System Rev* 18(4): CD001500.

50 Swanson, M. Lorentzon, L. Vandenput, D. Mellstrom, F. Labrie, A. Rane, J. Jakobsson, C. Ohlsson, UGT2B7 H268Y polymorphism is associated with serum sex steroid levels and cortical bone size in young adult men, *JCEM* (2007), in press.

Tchernof, J.P. Despres, A. Belanger, A. Dupont, D. Prud'homme, S. Moorjani, P.J. Lupien and F. Labrie, Reduced testosterone and adrenal C19 steroid levels in obese men, *Metabolism* 44 (1995), pp. 513-519.

55 Turgeon, J.S. Carrier, E. Levesque, D.W. Hum and A. Belanger, Relative enzymatic activity, protein stability, and tissue distribution of human steroid-metabolizing UGT2B subfamily members, *Endocrinology* 142 (2001), pp. 778-787.

60 Utian, W. H., D. Shoupe, et al. (2001). "Relief of vasomotor symptoms and vaginal atrophy with lower doses of conjugated equine estrogens and medroxyprogesterone acetate." *Fertil Steril* 75(6): 1065-79.

Vermeulen and L. Verdonck, Radioimmunoassays of 17 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstane-3-one, 4-androstene-3,17-dione, dehydroepiandrosterone, 17 $\beta$ -hydroxyprogesterone and progesterone and its application to human male plasma, *J. Steroid Biochem.* 7 (1976), pp. 1-10.

5 D.T. Villareal and J.O. Holloszy, Effect of DHEA on abdominal fat and insulin action in elderly women and men: a randomized controlled trial, *JAMA* 292 (2004), pp. 2243-2248.

Voigt, L. F., N. S. Weiss, et al. (1991). "Progestagen supplementation of exogenous oestrogens and risk of endometrial cancer." *Lancet* 338(8762): 274-7.

Weisberg, E., R. Ayton, et al. (2005). "Endometrial and vaginal effects of low-dose estradiol delivered by vaginal ring or vaginal tablet." *Climacteric* 8(1): 83-92.

10 Wied, G. L. (1993). "Industrial developments in automated cytology as submitted by their developers." *Anal Quant Cytol Histol* 15(5): 358-70.

Wines, N. and E. Willstead (2001). "Menopause and the skin." *Australas J Dermatol* 42(3): 149-8; quiz 159.

15 Zang, H., L. Sahlin, et al. (2007). "Effects of testosterone treatment on endometrial proliferation in postmenopausal women." *J Clin Endocrinol Metab* 92(6): 2169-75.

B. Zumoff, G.W. Strain, L.K. Miller and W. Rosner, Twenty-four-hour mean plasma testosterone concentration declines with age in normal premenopausal women, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 80 (1995), pp. 1429-1430.

20 Вагінальна сухість виявляється в 75 % постменопаузальних жінок (Wines and Willstead 2001; N.A.M.S. 2007). Внаслідок різних причин, зокрема, небезпеки ускладнень, спричинених естрогенами, тільки 20-25 % жінок з симптомами вагінальної атрофії прагнуть медичного лікування (Pandit and Ouslander 1997; N.A.M.S. 2007). Таким чином, існує явна медична потреба й сприятлива можливість поліпшення якості життя великої кількості жінок, які страждають від вагінальної атрофії протягом тривалої частини їхнього життя. Можна згадати про те, що, хоча відчуття жару ("припливи"), які мають характер нападів, згодом зменшуються самостійно, сила симптомів вагінальної атрофії, а саме, вагінальна сухість, вульвовагінальне подразнення/сверблячка й диспареунія згодом збільшується за відсутності лікування.

На основі добре відомого факту, що секреція естрогену яєчниками припиняється під час менопаузи, системні й локальні естрогени були дотепер єдиним підходом для лікування вагінальної атрофії. Однак, було показано, що системні естрогени + прогестин (HRT) і тільки естрогени (ERT) збільшують ризик раку молочної залози (Steinberg, Thacker et al. 1991; Sillero-Arenas, Delgado-Rodriguez et al. 1992; Colditz, Egn et al. 1993; Colditz, Hankinson et al. 1995; Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer 1997; Hulley 2002; Beral 2003; Chlebowski, Hendrix et al. 2003; Holmberg and Anderson 2004; Lyytinen, Pukkala et al. 2006; Corrao, Zamboni et al. 2008; Holmberg, Iversen et al. 2008; Li, Plummer et al. 2008), рака яєчника (Garg, Kerlikowske et al. 1998; Coughlin, Giustozzi et al. 2000; Lacey, Mink et al. 2002; Riman, Dickman et al. 2002; Rodriguez, Patel et al. 2002; Rossouw, Anderson et al. 2002; Lyytinen, Pukkala et al. 2006), а також ендометріального рака (тільки естрогени) (Gambrell, Massey et al. 1980; Persson, Adami et al. 1989; Voigt, Weiss et al. 1991; Jick, Walker et al. 1993; Grady, Gebretsadik et al. 1995; Beral, Bu et al. 2005). Гласність із наступним ініціативним дослідженням здоров'я жінки (Rossouw, Anderson et al. 2002) зробили найсильніша дія, поставивши під сумнів безпеку доступних способів лікування менопаузальних симптомів (Archer 2007).

Хоча були розроблені інтравагінальні препарати для усунення системного піддавання дії естрогенів, тривалий ряд досліджень одногласно продемонстрував, що всі інтравагінальні препарати естрогенів приводять до відносно високих рівнів естрогенів, вимірюваним безпосередньо або за допомогою їхніх системних ефектів (Englund and Johansson 1978; Rigg, Hermann et al. 1978; Martin, Yen et al. 1979; Furuholm, Karlgren et al. 1980; Deutsch, Ossowski et al. 1981; Mandel, Geola et al. 1983; Nilsson and Heimer 1992; Nachtigall 1995; Ayton, Darling et al. 1996; Dugal, Hesla et al. 2000; Rioux, Devlin et al. 2000; Manonai, Theppisai et al. 2001; Notelovitz, Funk et al. 2002; Ponzzone, Biglia et al. 2005; Weisberg, Ayton et al. 2005; Galhardo, Soares et al. 2006; Kendall, Dowsett et al. 2006; Long, Liu et al. 2006; Bachmann, Lobo et al. 2008). Ці дані, що показують значне збільшення рівнів естрогену, ясно вказують на те, що застосування інтравагінальних препаратів естрогену також потенційно асоційовано зі збільшеним ризиком раку молочної залози й рака матки (Kvornig and Jensen 1986; Mattson, Culberg et al. 1989; Rosenberg, Magnusson et al. 2006; N.A.M.S. 2007). Фактично була офіційно висловлена стурбованість відносно стимулюючих ефектів вагінальних препаратів естрогену на ендометрій ((N.A.M.S. 2007).

60 Найбільш ранні виміри рівнів естрадіолу (E<sub>2</sub>) сироватки після інтравагінального введення естрогенів використали радіоімунаналізи, технологію, позбавлену специфічності, точності, вірогідності й чутливості (Rinaldi, Dechaud et al. 2001). Автори даного винаходу вимірювали

естрогени сироватки з використанням GLP (Good Laboratory Practice)-валідизованих мас-спектрометричних аналізів після інтравагінального введення двох найбільш звичайних препаратів естрогенів (Labrie, Cusan et al. 2008). Це дослідження змогло остаточно показати, що як пігулка  $E_2$  (25 мкг  $E_2$ /день), так і крем кон'югованих естрогенів (1 г 0,625 мг-кон'югованих естрогенів/день), після одного тижня обробки один раз на день, викликали приблизно 5-кратне збільшення сироваткового  $E_2$  у постменопаузальних жінок. Такі дані вказують на те, що дії естрогенів, що вносяться локально у вагіну, навряд чи обмежуються цією вагіною і очікується системна дія, як передбачалося раніше (Englund and Johansson 1978; Rigg, Hermann et al. 1978; Martin, Yen et al. 1979; Furuhielm, Karlgren et al. 1980; Deutsch, Ossowski et al. 1981; Mandel, Geola et al. 1983; Nilsson and Heimer 1992; Nachtigall 1995; Ayton, Darling et al. 1996; Dugal, Hesla et al. 2000; Rioux, Devlin et al. 2000; Manonai, Theppisai et al. 2001; Notelovitz, Funk et al. 2002; Ponzzone, Biglia et al. 2005; Weisberg, Ayton et al. 2005; Galhardo, Soares et al. 2006; Kendall, Dowsett et al. 2006; Long, Liu et al. 2006; Bachmann, Lobo et al. 2008).

Крім вищевказаних проблем щодо безпеки естрогенів, які вводяться як системно, так і локально, недавні дані ясно продемонстрували, що жінки не тільки мають дефіцит естрогенів під час менопаузи, але що вони також були прогресуючим чином, починаючи із тридцяти років, позбавлені андрогенів, вироблених у специфічних периферійних тканинах-мішенях за допомогою інтракринного перетворення дегідроепіандростерону (DHEA) на андрогени й/або естрогени (Labrie, Belanger et al. 1988; Labrie 1991; Labrie, Luu-The et al. 2003; Labrie, Luu-The et al. 2005). Дійсно, DHEA і DHEA-сульфат сироватки прогресуючим чином зменшуються від максимуму, що спостерігається у віці 30 років (Orentreich, Brind et al. 1984; Labrie, Belanger et al. 1997; Labrie, Luu-The et al. 2003), до величини на 60 % більш низької під час менопаузи (Labrie, Belanger et al. 2006).

Що стосується ролі андрогенів у жінок, важливо згадати, що жінки секретують 50 % андрогенів у порівнянні зі рівнем, який спостерігається у чоловіків (Labrie, Belanger et al. 1997; Labrie, Luu-The et al. 2005). Оскільки DHEA сироватки є переважним джерелом андрогенів, які виконують ряд фізіологічних функцій у жінок (Labrie, Luu-The et al. 2003; Labrie 2007), 60 % зменшення циркулюючого DHEA, що виявляється вже під час менопаузи, приводить до подібного 60 % збільшення загального пулу андрогенів (Labrie, Belanger et al. 2006) з одержанням потенційних ознак і симптомів гіпоандрогенності в кістках, м'язах, молочній залозі, вагіні, головному мозку, а також у метаболізмі глюкози, інсуліну й ліпідів (Labrie, Luu-The et al. 2003; Labrie 2007). Недавні дані показали, що серед цих андрогенних тканин-мішеней, вагіна є чутливою до андрогенів після введення DHEA паціюкам сприятливо діючи не тільки на поверхневий епітеліальний шар вагіни, але також на колагенові волокна в lamina propria (власній пластинці слизової оболонки) і на muscularis (м'язову пластинку слизової оболонки) (Berger, El-Alfy et al. 2005).

На підставі результатів преклінічних досліджень авторів (Sourla, Flamand et al. 1998; Berger, El-Alfy et al. 2005) і клінічних досліджень авторів (Labrie, Diamond et al. 1997; Labrie, Cusan et al. 2008), що показують сприятливі дії на вагіну DHEA, що вводиться підшкірно або локально, дане клінічне дослідження є пошуковим (перспективним) рандомізованим і плацебоконтрольованим дослідженням дії трьох доз інтравагінального DHEA, що вводиться один раз на день протягом 12 тижнів, на зміни поверхневих і парабазальних клітин, pH і симптом вагінальної атрофії, який найбільш турбує, як головна мета. Ці результати ясно показують, що вводи локально DHEA є дуже ефективним і швидким у корекції всіх ознак і симптомів вагінальної атрофії, причому майже максимальна дія досягається вже при 2 тижнях при дозі DHEA, не зухвалої значимої зміни в естрогенах або андрогенах, тоді як всі інші стероїдні гормони залишаються незмінними або, що перебувають цілком у межах діапазону, що виявляє в здорових постменопаузальних жінок.

При введенні DHEA локально у вагіну, корисні дії естрогенів і андрогенів, вироблених локально у вагіні, досягаються без якого-небудь значимого вивільнення естрадіолу або тестостерону в кров (Labrie, Cusan et al. J. Ster. Biochem. Mo. Biol. In press). В утворенні андрогенів і/або естрогенів з DHEA за допомогою процесу інтракринології, будь-яка тканина є непередбаченої, тому що ця реакція залежить від активності ферментативного апарата, конкретно присутнього в кожній клітці кожної тканини. Таким чином, неможливо пророчити, з андрогенів і естрогенів, які продукуються з DHEA в одній тканині, ступінь, до якої подібні андрогени й естрогени можуть продукуватися в іншій тканині.

Результати клінічного дослідження ERC-210 (приклад 3) ясно демонструють уперше, що локальне введення DHEA як замісна терапія з попередником гормону (HPRT) є високоефективним і швидким у корекції всіх симптомів і ознак вагінальної атрофії в постменопаузальних жінок. Найбільше важливо, що це досягається при дозі (0,5 %) DHEA, що

не збільшує рівні в сироватці активних естрогенів і андрогенів, і без змін або з мінімальними змінами сироваткового DHEA і яких-небудь його метаболітів, усе з яких залишаються цілком у межах діапазону величин, що виявляють у здорових постменопаузальних жінок (Labrie, Cusan et al. 2008).

Хоча 75 % постменопаузальних жінок страждають від вагінальної атрофії (Wines and Willstead 2001; N.A.M.S. 2007), що впливає, отже, на якість їхнього життя під час великої частини їхньої тривалості життя, тільки 20 % звертаються за лікуванням. (Pandit and Ouslander 1997). Острах раку молочної залози, пов'язаного зі збільшеними рівнями естрогенів у крові, є основною передбачуваною причиною. Оскільки секреція естрогену в системний кровообіг відбувається винятково з яєчників і припиняється при менопаузі, введення естрогенів постменопаузальним жінкам, очевидно, не є фізіологічним. Після WHI, науковою проблемою є дослідження альтернативних типів і препаратів гормональної терапії, які могли б забезпечити всі постменопаузальні переваги естрогенів з поліпшенням якості життя жінок, мінімізацією ризиків і максимізацією користі (Archer 2007). Оскільки терапії на основі не-естрогенів не показали перекожливої ефективності (Nelson, Vesco et al. 2006; Suckling, Lethaby et al. 2006), жінки і їхні лікарі залишилися без безпечного способу лікування вагінальної атрофії.

Різні форми естрогенів є ефективними в лікуванні вульвовагінальної атрофії (Pandit and Ouslander 1997; Utian, Shoupe et al. 2001). Дійсно, вагінальна таблетка  $E_2$  показала ефективність, подібну ефективності вагінального кільця  $E_2$  (Weisberg, Ayton et al. 2005), а також крему кон'югованого естрогену (Rioux, Devlin et al. 2000; Manonai, Theppisai et al. 2001).

Ця нова HPRT перебуває в помітному контрасті з 5-кратним збільшенням у сироватці  $E_2$ , вимірюваного мас-спектрометрією після лікування інтравагінальним  $E_2$  або кон'югованими естрогенами (Labrie, Cusan et al. 2008). Ці недавні результати у відношенні сироваткових естрогенів підтверджують довгий ряд досліджень, що показують, що всі препарати інтравагінального естрогену приводять до підвищених концентрацій сироваткового естрогену, вимірюваного безпосередньо радіоімунаналізами або через їхні системні ефекти (Englund and Johansson 1978; Rigg, Hermann et al. 1978; Martin, Yen et al. 1979; Furuholm, Karlgren et al. 1980; Deutsch, Ossowski et al. 1981; Mandel, Geola et al. 1983; Nilsson and Heimer 1992; Nachtigall 1995; Ayton, Darling et al. 1996; Dugal, Hesla et al. 2000; Rioux, Devlin et al. 2000; Manonai, Theppisai et al. 2001; Notelovitz, Funk et al. 2002; Ponzzone, Biglia et al. 2005; Weisberg, Ayton et al. 2005; Galhardo, Soares et al. 2006; Kendall, Dowsett et al. 2006; Long, Liu et al. 2006; Bachmann, Lobo et al. 2008).

Найбільш звичайними шкідливими подіями, повідомленими при використанні вагінальних естрогенів, є вагінальна кровотеча та біль у молочних залозах, обое з яких є вторинними щодо збільшених сироваткових естрогенів (Suckling, Lethaby et al. 2006). Ці побічні ефекти повідомлялися для  $E_2$ -кільця, крему кон'югованих естрогенів, а також таблетки  $E_2$  (Ayton, Darling et al. 1996; Weisberg, Ayton et al. 2005). Як згадувалося вище, існує також заклопотаність відносно стимулюючих дій вагінальних естрогенів на ендометрій (N.A.M.S. 2007). Маткова кровотеча, біль у молочних залозах і перинеальний біль повідомлялися в 9 % жінок, які приймали вагінальну таблетку протягом 24 тижнів, тоді як 34 % скаржилися на ці ж симптоми в групі з вагінальним кремом кон'югованого естрогену (Rioux, Devlin et al. 2000). Suckling, Lethaby et al. 2006 повідомляли про відсутність розходження між різними вагінальними препаратами естрогенів.

Добре відомо, що атрофічний вагініт у постменопаузальних жінок міг бути погіршений або індукований застосуванням інгібіторів ароматази для лікування раку молочної залози. Дійсно, ці лікарські засоби виявляють їхньої переваги у випадку раку молочної залози зменшенням біосинтезу  $E_2$  у всіх тканинах зі збільшенням за допомогою цього частоти й ваги клімактеричних симптомів (Fallowfield, Cella et al. 2004; Morales, Neven et al. 2004). У недавньому дослідженні, де сім пацієнток з раком молочної залози, яких лікували інгібіторами ароматази, одержували Вагіфем при добовій дозі 25 мкг протягом 2 тижнів і потім, після цього, два рази в тиждень, сироватковий  $E_2$  збільшувався з медіани 3 пмоль/л до 72 пмоль/л, при 2 тижнях (діапазон 3-232) (Kendall, Dowsett et al. 2006). Сироваткові рівні  $E_2$  звичайно зменшувалися після цього до величин 40 пмоль/л або менш, хоча при тижнях 7-10 були виявлені величини 137 і 219 пмоль/л. Пацієнтка, що одержувала крем Премарин, мала сироваткові рівні  $E_2$  83 пмоль/л при 2 тижнях. Варто згадати, що узяття проб крові для вимірювання  $E_2$  виконували під час візиту пацієнтки, так що таймінг, імовірно, не відповідав найвищим сироватковим рівням  $E_2$  після введення Вагіфема. Отже, більш імовірно, що величини, повідомлені в статті Kendall, Dowsett et al. 2006, недооцінюють, до невідомого ступеня, щире підвищення сироваткового  $E_2$  після введення інтравагінальної пігулки Вагіфема або крему Премарина. Ці автори зробили висновок, що застосування Вагіфема з інгібіторами ароматази є протипоказаним. Ці відкриття, отримані на

жінок, що лікувалися інгібіторами ароматази, піднімають серйозну проблему відносно застосування будь-якого вагінального, а також будь-якого перорального або трансдермального препарату естрогену в постменопаузальних жінок.

Відносно високе підвищення сироваткового  $E_2$  після лікування різними вагінальними препаратами естрогенів, що приводить до збільшеного ризику раку молочної залози, є широко визнаною проблемою (Rosenberg, Magnusson et al. 2006). Хоча дослідження, що має мале число подій і короткий моніторинг (підгрупа 4,7 % серед 1472 жінок), не виявило статистично значимого розходження в періоді ремісії в підгрупі жінок, які використали вагінальний естроген (Dew, Wren et al. 2003), не здається розумним або прийнятним збільшення сироваткових рівнів  $E_2$  під час терапії рака молочної залози, коли метою лікування інгібіторами ароматази є саме досягнення максимального інгібування біосинтезу  $E_2$ .

В одному раннім дослідженні з Вагіфемом, таблетка  $E_2$ , при введенні в дозі 25 мкг, приводила до сироваткових рівнів  $E_2$  80 пмоль/л з величинами, меншими 50 пмоль/л при 14 год. і пізніше (Kvorning and Jensen 1986). У більше недавнє дослідженні з Вагіфемом, максимальні й середні сироваткові концентрації  $E_2$  при 24 год. при вимірі були рівні  $180 \pm 99$  пмоль/л і 84 пмоль/л для дози 25 мкг, тоді як величини  $81 \pm 62$  пмоль/л і 40 пмоль/л, відповідно, були виявлені для дози 10 мкг (Notelovitz, Funk et al. 2002). Інші вагінальні таблетки й креми естрогенів приводили навіть до більше високих рівнів сироваткових естрогенів (Schiff, Tulchinsky et al. 1977; Rioux, Devlin et al. 2000).

З вагінальними таблетками 10 мкг і 25 мкг  $E_2$  було виявлено, що сироватковий  $E_2$  збільшувався до максимальних величин приблизно 90 і 160 пмоль/л, відповідно, від фонових величин приблизно 35 пмоль/л (Nilsson and Heimer 1992). Повідомлявся сироватковий  $E_2$  з Вагіфемом при  $C_{\text{макс}}$   $51 \pm 34$  пг/мл у день 1, причому ця величина є практично незмінною в дні 14 ( $47 \pm 21$  пг/мл) і 84 ( $49 \pm 27$  пг/мл) (Vagifem, Physician Package Insert 1999).

В іншій дослідженні, повідомлялося, що після 52 тижнів лікування 25 мкг Вагіфема сироваткові рівні  $E_2$  залишалися незмінними від  $10,3 \pm 21,5$  пг/мл – 9,9 пг/мл (Bachmann, Lobo et al. 2008). Такі результати можуть пояснюватися тим фактом, що узяття проб крові виконували, найбільше імовірно, через 3 або 4 дні після застосування Вагіфема. Важливо також згадати, що підвищені сироваткові рівні  $E_2$  у цьому дослідженні, найбільше імовірно, пов'язані з відсутністю специфічності використовуваних імуноаналізів, тому що нормальні сироваткові рівні  $E_2$ , вимірювані мас-спектрометрією в постменопаузальних жінок, є у два-три рази більш низькими (Labrie, Belanger et al. 2006).

В одному ранньому дослідженні, пероральне та вагінальне введення 1,25 мг Премарина приводило до сироваткових рівнів  $E_2$  і естрогену щонайменше до 100 пг/мл і 1000 пг/мл, відповідно, під час 24 год. після введення, причому ці рівні є дещо більше високими після вагінального введення. Сироваткові рівні гонадотропіну зменшувалися в більшості суб'єктів (Englund and Johansson 1978). Подібні результати повідомлялися (Rigg, Hermann et al. 1978). В одному недавньому дослідженні, після 3 місяців щоденного перорального або інтравагінального введення 0,625 мг Премарина, сироваткові рівні  $E_2$  збільшувалися до 83,1 і 58,6 пг/мл, відповідно (Long, Liu et al. 2006), ілюструючи за допомогою цього дуже важливий системний вплив як після інтравагінального, так і після перорального введення естрогену, тому що сироватковий  $E_2$  був тільки на 36 % більше низьким послі інтравагінального введення в порівнянні з пероральним введенням кон'югованих естрогенів. В 12-тижневому дослідженні з вагінальним кремом Премарином при добовій дозі 2 м, три рази в тиждень, 21 % жінок випробовували кровотечу після тесту прогестогену (Nachtigall 1995). Крім того, із цих жінок, 12 % показали збільшення товщини ендометрію при ехографії.

При застосуванні вагінального кільця не повідомлялося збільшення сироваткових рівнів  $E_1$ ,  $E_2$  або  $E_3$  (Nachtigall 1995; Gupta, Ozel et al. 2008), хоча значимі збільшення  $E_1$ -S і  $E_2$  спостерігали в жінок у віці більше 60 років (Naessen, Rodriguez-Macias et al. 2001). У групі EST-кільця недавнього дослідження, сироватковий  $E_2$  збільшувався від  $16 \pm 22$  пмоль/л до  $49 \pm 64$  пмоль/л при тижні 24 (Weisberg, Ayton et al. 2005). У групі Вагіфема, з іншого боку, сироватковий  $E_2$  збільшувався від  $15 \pm 33$  пмоль/л до  $36 \pm 51$  пмоль/л. Проте, ці автори повідомляли, що сироватковий  $E_2$  залишався в межах або поблизу величин, що виявляють у здорових постменопаузальних жінок. При 48 тижнях лікування з використанням EST-кільця або Vagifem, 30-32 % скаржилися на частоту сечовипускання й 18-33 % скаржилися на диспареунію (Weisberg, Ayton et al. 2005).

Три дослідження документували, що вагінальне кільце  $E_2$  уможливорює низький сироватковий  $E_2$  під час 90-денного періоду, за винятком "спалаху" сироваткового естрогену, що досягає більше низької області спалахів, які спостерігаються у жінок з нормальним менструальним циклом, або 100-200 пмоль/л під час перших 0,5-8 год. після вставлення кільця

(Holmgren, Lindskog et al. 1989; Schmidt, Andersson et al. 1994) (Baker and Jaffe 1996). Те, що добова доставка 7,5 мкг  $E_2$  інтравагінальним способом, має системні дії, показано спостереженням значимого збільшення щільності мінеральних речовин у костях усього стегна й поперекової області хребта після 2 років лікування такою інтравагінальною дозою  $E_2$  (Salminen, Saaf et al. 2007).

Як згадувалося вище, існує заклопотаність у відношенні стимуляторних дій вагінальних естрогенів на ендометрій (N.A.M.S. 2007). Після 12 тижнів лікування 32 жінок 25 мкг інтравагінального  $E_2$  (Вагіфема), одна пацієнтка мала просту гіперплазію без атипії (Bachmann, Lobo et al. 2008). В 24-тижневому дослідженні, що включає в себе 80 жінок, був виявлений один випадок проліферативного ендометрію (Rioux, Devlin et al. 2000), а в іншому 52-тижневому дослідженні з 31 жінкою дві мали проліферативний ендометрій (Mettler and Olsen 1991).

В 12-тижневому дослідженні з вагінальним кремом Премарином у дозі 2 м, три рази в тиждень, 21 % жінок випробовували кровотечу після тесту із прогестагеном (Nachtigall 1995). З них, 12 % виявляли збільшення товщини ендометрію згідно ехографії. Застосування дози 0,3 мг кон'югованих естрогенів, що вводять інтравагінально, три рази на тиждень, може індукувати проліферацію ендометрію, хоча й рідко, тому що проліферацію ендометрію спостерігали тільки в одному із двадцяти випадків (Nachtigall 1995).

Кільце естрадіолу із пролонгованим вивільненням (EST-кільце) індукувало проліферацію ендометрію, подібну до викликану 0,625 мг крему Премарина (Ayton, Darling et al. 1996), але меншу, чим 1,25 мг крему Премарина (Nachtigall 1995). Фактично було показано, що як вагінальне кільце (EST-кільце), так і крем з кон'югованими естрогенами (крем Premarin) індукують проліферацію ендометрію (Nachtigall 1995; Ayton, Darling et al. 1996). Два випадки помірної проліферації або гіперплазії ендометрію в ендометріальному поліпі були виявлені з кільцем  $E_2$  (Nachtigall 1995), тоді як два випадки гіперплазії (один простий і один складний, без атипії) були виявлені із кремом кон'югованих естрогенів у випробуванні крему кон'югованих естрогенів у порівнянні з таблеткою  $E_2$  (Rioux, Devlin et al. 2000). Вагінальна таблетка  $E_2$  була асоційована з ендометріальною гіперплазією, подібно вагінальній таблетці естрадіолу (Dugal, Hesla et al. 2000; Manonai, Theppisai et al. 2001), але в меншому ступені, чим крем кон'югованих естрадіолів (Manonai, Theppisai et al. 2001).

Хоча рівні естрогену в сироватці збільшуються до більш низького ступеня після локального інтравагінального застосування в порівнянні з пероральний або підшкірної HRT або ERT, ризик раку молочної залози залишається проблемою, і безпека інтравагінальних естрогенів є сумнівною (Suckling, Lethaby et al. 2006; N.A.M.S. 2007). Дійсно, хоча збільшення сироваткових естрогенів є більше низьким після інтравагінального способу введення в порівнянні з пероральним або черезшкірним способом введення, воно значимо підвищується вище нормальних постменопаузальних рівнів для всіх інтравагінальних препаратів естрогенів (Ponzzone, Biglia et al. 2005).

Крім збільшеного ризику раку молочної залози, асоційованого із введенням естрогенів, важливо пам'ятати про те, що щире гормональне розходження між постменопаузальними жінками, які не страждають від вагінальної атрофії (оцінюваної при 25 % постменопаузальної популяції), і іншими 75 % постменопаузальних жінок, які страждають від вагінальної атрофії (Wines and Willstead 2001; N.A.M.S. 2007), не пов'язане із секрецією естрогенів у системний кровообіг, тому що секреція естрогенів яєчниками припиняється у всіх жінок під час менопаузи (клімаксу). Внаслідок цього, дефіцит секреції естрогенів не є достовірним поясненням наявності симптомів вагінальної атрофії в більшості постменопаузальних жінок.

Однак утворення статевих стероїдних гормонів не зупиняється із припиненням функції яєчників у менопаузі. Недавній прогрес у розумінні ендокринної фізіології в жінок показує, що після менопаузи, DHEA, секретований наднирковими залозами, є єдиним джерелом статевих стероїдних гормонів, які виробляються винятково в тканинах-мішенях (Labrie 1991). На відміну від естрогенів яєчничового походження, які секретуються в загальний кровообіг, де вони можуть бути визначені, DHEA є неактивним попередником, що перетворюється в периферійних тканинах при різних швидкостях відповідно до рівня експресії стероїдогенних ферментів у кожній тканині. Цей процес інтракринології уможливорює локальне внутрішньотканинне утворення активних статевих стероїдних гормонів без істотного вивільнення цих активних стероїдів у кровообіг (Labrie, Dupont et al. 1985; Labrie, Belanger et al. 1988; Labrie 1991; Labrie, Luu-The et al. 2005).

Однак секреція DHEA, зменшується з віком, причому 60 % зменшення спостерігається вже до моменту менопаузи (Labrie, Luu-The et al. 2003; Labrie, Belanger et al. 2005; Labrie, Luu-The et al. 2005; Labrie, Belanger et al. 2006; Labrie, Luu-The et al. 2006; Labrie 2007). Єдиним розходженням між симптоматичними й асимптоматичними жінками є кількість DHEA,



секретована наднирковими залозами, або чутливість вагінальної тканини до DHEA. Це розходження чутливості різних жінок, пов'язане, очевидно, до певної міри, з рівнем активності ферментативного апарата, специфічного для кожного типу тканини, у кожній тканині (Labrie 1991; Labrie, Belanger et al. 2005). Виходячи із цього ясно, що саме DHEA, а не естрогени є

5 фізіологічною гормональною замісною терапією для постменопаузальних жінок.

Як добре продемонстровано в попередніх дослідженнях авторів цього винаходу (Labrie 1991; Labrie, Luu-The et al. 2003; Labrie, Luu-The et al. 2005; Labrie, Belanger et al. 2007), доповнення фізіологічними кількостями екзогенного DHEA уможливорює біосинтез андрогенів і/або естрогенів тільки в придатних тканинах-мішенях, які містять необхідні стероїдогенні ферменти інтракринології (Labrie, Luu-The et al. 2005). Активні андрогени й естрогени, синтезовані локально з DHEA у периферійних тканинах-мішенях, проявляють їхню дію в тих же самих клітинах, у яких відбувається їхнє утворення. Найбільше важливо, що має місце дуже невеликий витік цих активних статевих стероїдних гормонів у кровообіг, що пояснює помітні корисні ефекти, які спостерігаються у вагіні, без значимої зміни в циркулюючих естрогенах або андрогенах (Labrie, Cusan et al. 2008). Цей локальний біосинтез, дія й інактивація естрогенів і андрогенів у тканинах-мішенях елімінує піддавання інших тканин дії надлишку статевих стероїдів і, отже, елімінує збільшені ризики небажаних побічних дій від підвищеного впливу естрогенів, у тому числі раку молочної залози, рака яєчників і рака матки (Gambrell, Massey et al. 1980; Persson, Adami et al. 1989; Steinberg, Thacker et al. 1991; Voigt, Weiss et al. 1991; Sillero-Arenas, Delgado-Rodriguez et al. 1992; Colditz, Egn et al. 1993; Jick, Walker et al. 1993; Colditz, Hankinson et al. 1995; Grady, Gebretsadik et al. 1995; Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer 1997; Garg, Kerlikowske et al. 1998; Coughlin, Giustozzi et al. 2000; Hulley 2002; Lacey, Mink et al. 2002; Riman, Dickman et al. 2002; Rodriguez, Patel et al. 2002; Rossouw, Anderson et al. 2002; Beral 2003; Chlebowski, Hendrix et al. 2003; Holmberg and Anderson 2004; Beral, Bull et al. 2005; Lyytinen, Pukkala et al. 2006; Corrao, Zambon et al. 2008; Holmberg, Iversen et al. 2008; Li, Plummer et al. 2008).

Зміна pH зізнається тепер валідним (достовірним) параметром, що відображає корисну дію терапії вагінальної атрофії. Після 12 тижнів інтравагінального лікування 25 мкг  $E_2$ , відсоток пацієнтів, що мають pH менш 5,0, був дорівнює 51 % у порівнянні з 21 % у групі плацебо (Bachmann, Lobo et al. 2008). Однак при тлі 11,2 % і 13 % жінок мали р нижче 5,0 у цих двох відповідних групах. У клінічному дослідженні ERC-210 (приклад 3), жоден пацієнт не мав pH нижче 5,0 на початку терапії й 12 %, 36 %, 46 % і 48 % мали величини р нижче 5,0 при 12 тижнях у групах 0 %, 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA, відповідно.

У клінічному дослідженні ERC-210 (приклад 3), ця дія DHEA на дозрівання вагінальних епітеліальних клітин було особливо швидким: з піхвою овулою 0,5 % DHEA, 79 % максимальної дії на парабазальні клітини спостерігали вже при 2 тижнях, тоді як 48 % максимальної стимуляторної дії проявлялися на поверхневих клітинах при тому ж самому часовому інтервалі. З іншого боку, 85 % максимальна стимуляторна дія 0,5 % DHEA на відсоток поверхневих клітин досягалася при 4 тижнях. Подібним чином, 63 % максимальної дії 0,5 % DHEA на симптом, який найбільш турбує спостерігали при 2 тижнях і 87 % досягали при 4 тижнях. Крім того, тільки 17,8 % жінок повідомляли про відсутність змін симптомів які їх найбільш турбують і протягом 12 тижнів у групі 0,5 % DHEA у порівнянні з 48,8 % у групі плацебо.

Дія DHEA на парабазальних клітинах є швидким, тому що % парабазальних клітин зменшувався до менш 20 % при одному місяці із трьома використовуваними дозами DHEA. Дія на % поверхневих клітин є також дуже швидким з 100 % ефектом, спостережуваним при 2 тижнях з високої (1 %) дозою DHEA. У дослідженні з вагінальним кремом або таблеткою естрогену приблизно 50 % ефекту, визначеного при 12 тижнях, спостерігали при 2 тижнях (Rioux, Devlin et al. 2000). Такі результати показують, що швидкість ефекту DHEA не є гіршою, а є, можливо, кращою щодо ефекту вагінальних препаратів  $E_2$  і кон'югованих естрогенів.

В одному дослідженні дії пероральних естрогенів в 71 постклімактеричній жінці, добове введення 0,3 мг пероральних синтетичних кон'югованих естрогенів зменшувало парабазальні клітини від 23 % до 2,3 %, у той час як поверхневі клітини збільшувалися в кількості від 2,1 % до 15,9 %. (Marx, Schade et al. 2004). В одному дослідженні, що порівнює дози 0,3 мг і 0,625 мг кон'югованих кінських естрогенів (Utian, Shoupe et al. 2001), доза 0,625 мг показала більшу дію на % поверхневих клітин.

В одному недавньому дослідженні, вагінальна величина зрілості (VMV) збільшувалася з 27,45 при тлі до 56,85 ( $p < 0,0001$ ) в обробленій естрогеном групі (Simon, Reape et al. 2007). Відсоток поверхневих клітин збільшувався на 17,15 від тла, тоді як відсоток парабазальних клітин зменшувався на 41,66 % в обробленій естрогеном групі. У тім же самім дослідженні,

вагінальний pH зменшувався від 6,64 при тлі до 5,05 (зменшення 1,69 або 24 %) у групі естрогену). Важкість симптомів, які найбільш турбують зменшувалася від 2,58 до 1,04 (-1,54) у групі естрогену в порівнянні зі зменшенням від 2,59 до 1,84 (-0,75) у групі плацебо. Такі результати, які спостерігаються з естрогенами, порівнянні зі зменшенням 1,56 важкості симптомів, які найбільш турбують протягом 12 тижнів у групі 0,5 % DHEA і зменшенням 0,67 у групі плацебо, спостерігались в клінічному дослідженні ERC-210 (приклад 3).

При тижні 12, 11 % суб'єктів групи EST-кільця й 24 % суб'єктів групи Вагіфема мали стійкий атрофічний епітелій. При тижні 48, що відповідають величини були рівні 8 % і 14 % (Weisberg, Ayton et al. 2005). При 48 тижнях лікування з використанням Вагіфема або EST-кільця, сухість вагіни усе ще була присутня в 33 % жінок (Weisberg, Ayton et al. 2005). З іншого боку, сверблячка вульви, була присутньою в 15 % і 20 % жінок після лікування з використанням EST-кільця й Вагіфема, відповідно, у той час як 33 % і 28 % жінок усе ще мали диспареунію після лікування з використанням EST-кільця й Вагіфема, відповідно. Кровотеча після тесту прогестагену становила 7 % у групі Вагіфема й 0 % у групі EST-кільця.

Після 3 місяців щоденного введення 0,625 мг Премарину перорально або інтравагінально (у вигляді крему), спостерігали 70,6 % і 75 % поліпшення диспареунії (Long, Liu et al. 2006). У цьому дослідженні був зроблений висновок, що 1 г 0,625 мг Премарина був мінімальною дозою для лікування статевої дисфункції.

У жінок, які одержували 25 мкг  $E_2$  інтравагінально, диспареунія зберігалася в 12,4 % випадків після 12 місяців лікування (Simunic, Banovic et al. 2003). Ступінь успіху терапії локальними таблетками  $E_2$  84,5 %, відповідно до оцінювання пацієнтами, і 86,1 %, відповідно до оцінювання лікарями (Simunic, Banovic et al. 2003). Bachman et al, 1992 (Bachmann, Notelovitz et al. 1992) повідомляли, що 40-50 % жінок, що одержують пероральну замісну терапію з використанням естрогену, мали постійні скарги на сухість вагіни.

Як повідомлялося раніше, після 12 місяців лікування DHEA (Labrie, Diamond et al. 1997), клінічне дослідження ERC-210 (приклад 3) не виявляє дії на гістологію ендометрію після 3 місяців інтравагінального введення попередника гормону DHEA, як показано гістопатологічним обстеженням ендометріальних біопсій, отриманих до й після 12 тижнів лікування. Ці відкриття перебувають згідно з відсутністю ароматазної активності в ендометрії людини (Baxendale, Reed et al. 1981; Bulun, Lin et al. 2005). Ці відкриття в сильному ступені підтримуються широко визнаним клінічним спостереженням, що ендометріальна атрофія є характеристикою постменопаузи, незважаючи на безперервну секрецію DHEA протягом життя (Labrie, Luu-The et al. 2005; Labrie, Belanger et al. 2006). Відсутність в ендометрії людини стероїдогенних ферментів, необхідних для перетворення DHEA в естрогени, перебуває згідно з фізіологічною роллю ендометрію, що є активним винятково під час репродуктивного років, коли його функція по суті контролюється гормонами, що відбуваються з яєчників і плаценти. Після настання менопаузи немає фізіологічної ролі ендометрію, що могла б коректувати будь-яка триваюча дія естрогенів після припинення секреції естрогенів яєчниками. Таким чином, ферменти, необхідні для синтезу естрогенів з DHEA, не експресуються в ендометрії, що є тканиною, повністю залежною від естрогенів, які походять з яєчників.

Давно було відомо, що естрогени, що вводять окремо, стимулюють проліферацію ендометрію (Smith, Prentice et al. 1975), тоді як прогестини, що вводять у комбінації з естрогенами, інгібують стимулюючу дію естрогенів (Feeley and Wells 2001). Оскільки рецептори андрогенів експресуються в ендометрії та стромі людини (Mertens, Heineman et al. 1996), цікаво згадати, що клінічне дослідження, що досліджувало дію андрогенів, не показало дії на ендометрій щодо високої дози тестостерону в постменопаузальних жінок (ундеканоата тестостерону, 40 мг кожний другий день) (Zang, Sahlin et al. 2007). У жінок, які одержували валерат естрадіолу (2 мг/день), Кі-мічення збільшувалося на 50 % при 3 місяцях лікування, тоді як одночасне введення тестостерону зменшувало проліферацію до 28 %. Кі67-мічення збільшувалося тільки у двох групах, що одержують естроген, але зменшувалося додаванням тестостерону в строму. Хоча й не було стимулюючої дії на проліферацію ендометрію в жінок, тестостерон, очевидно, проявляє деяку антиестрогенну дію в ендометрії.

Хоча керівництво FDA заохочує спонсорів відносно розробки найнижчих доз і впливів як для естрогенів, так і для прогестинів, на думку авторів цього винаходу, варто визнати, що, хоча естрогени є ефективними в корекції симптомів вагінальної атрофії та вазомоторних симптомів, системні естрогени не є фізіологічними гормонами, які дозволяють 25 % постменопаузальним жінкам уникнути помірних - важких симптомів вагінальної атрофії. Ці жінки залишаються відносно бессимптомними протягом всіх їх менопаузальних років, оскільки єдиним джерелом статевих стероїдних гормонів у постменопаузальних жінок, як симптоматичних, так і асимптоматичних, є локальний біосинтез естрогену та андрогену з DHEA надниркових залоз, за

допомогою механізмів інтракринології. Замісна терапія з використанням DHEA є єдиним фізіологічним підходом, що дозволяє забезпечувати жінок, що страждають від постменопаузальних симптомів, недостаючою кількістю DHEA, відповідальним за їхні симптоми. З використанням цього підходу, називаного замісною терапією з використанням попередника

гормону (HPRT), вагінальна атрофія й вазомоторні симптоми повинні коректуватися з ризиком, що не перевищує ризик таких же постменопаузальних жінок, які не мають симптомів вагінальної атрофії, внаслідок більш високого піддавання дії DHEA і статевих стероїдних гормонів, вироблених внутрішньоклітинно процесом інтракринології.

Попередники статевих стероїдних гормонів, що вводять відповідно до цього винаходу, переважно вводять у діапазоні доз (1) 0,5-100 мг на день (переважно 3-50 мг на день і найбільше переважно 3-13 мг на день), при інтравагінальному введенні; (2) у діапазоні доз 15-200 мг на день (переважно 30 мг-100 мг на день) при введенні на шкіру; (3) у діапазоні доз 1-200 мг на день (переважно 25 мг-100 мг на день), наприклад, 75 мг на день, при пероральному введенні; або (4) у діапазоні доз 1,0-25 мг на день (переважно 3,25-20 мг на день) при парентеральному введенні (тобто внутрім'язовому або підшкірному).

У фармацевтичній композиції для вагінального введення, DHEA або інший попередник переважно присутній у концентрації 0,1-10 мас. % у відношенні до загальної маси цієї композиції, більш переважно 0,2-3,0 %, зокрема, 0,25-2,0 %. Наприклад, 1,3 мілілітра (мл) вагінального супозиторію, що має 0,5 мас. % DHEA (відносно до маси всієї композиції), що вводять один раз на день, забезпечують бажано 6,5 мг/день DHEA. Можуть бути використані більші або менші супозиторії, так само як і концентрації, що відрізняються, при збереженні дози в цьому бажаному діапазоні.

У фармацевтичній композиції для введення на шкіру, DHEA або інший попередник переважно присутній у концентрації 0,1-10 мас. % у відношенні до загальної маси цієї композиції, більш переважно 0,2-2,0 відсотків, зокрема, 0,3-1,5 відсотків.

У фармацевтичній композиції для перорального введення, DHEA або інший попередник переважно присутній у концентрації 5-98 мас. % у відношенні до загальної маси цієї композиції, більш переважно 10-50 відсотків, зокрема, 15-40 відсотків.

У фармацевтичній композиції для парентерального введення (тобто внутрім'язовий або підшкірний), DHEA або інший попередник переважно присутній у концентрації 0,2 мг/мл - 25 мг/мл, більш переважно 0,65 мг/мл - 15 мг/мл, зокрема, 2 мг/мл - 10 мг/мл.

Приклад ефективності винаходу

Приклад 1

Клінічне дослідження ERC-213

Біодоступність DHEA після введення вагінальних супозиторіїв у постменопаузальних жінок з вагінальною атрофією в рандомізованому, плацебоконтрольованому дослідженні фази I

Фармакокінетика та локальна дія щоденного введення вагінальних супозиторіїв DHEA протягом одного тижня

Первинною метою цього винаходу було оцінювання системної біодоступності DHEA і його метаболітів після щоденного інтравагінального введення супозиторіїв при чотирьох різних концентраціях DHEA. Це дослідження було рандомізованим, плацебоконтрольованим і подвійним сліпим дослідженням з 10 суб'єктами на одну галузь дослідження. Таким чином, сорок постменопаузальних жінок рандомізували для одержання добової дози одного супозиторію наступних концентрацій DHEA: 0,0 %, 0,5 % (6,5 мг DHEA/супозиторій), 1,0 % (13 мг DHEA/супозиторій) або 1,8 % (23,4 мг DHEA/супозиторій).

Індекс зрілості, а також вагінальний pH вимірювали при передобробці, а також після 7 днів лікування для одержання вказівки на локальну дію DHEA під час короткого періоду часу.

Як ілюструється на фігурі 1B, у таблиці 1 і таблиці 2, щоденне інтравагінальне введення 1,3 мл супозиторію, що містить 0,5 %, 1,0 % і 1,8 % DHEA, приводило до прогресуючого збільшення сироваткового DHEA з величинами  $AUC_{0-24\text{год}}$   $24,8 \pm 4,8$  р. ч/мл,  $56,2 \pm 8,9$  р. ч/мл ( $p < 0,05$ ),  $76,2 \pm 10,3$  р. ч/мл ( $p < 0,01$ ) і  $114,3 \pm 9,97$  р. ч/мл ( $p < 0,01$ ), відповідно. Таким чином, були збільшення 127 %, 207 % і 361 % над контролем при дозах 0,5 %, 1,0 % і 1,8 % DHEA, відповідно. Як спостерігалось для всіх інших стероїдів, подібні величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  у дні 1 і 7.

Дійсно, середня величина  $4,76 \pm 0,42$  нг/мл DHEA після лікування найвищою дозою (таблиця 2) є подібною з величиною  $4,47 \pm 2,19$  нг/мл, виявленої в сорока семи (47) 30-35-літніх передменопаузальних здорових жінок (Labrie, Belanger et al. 2006). Цей сироватковий DHEA після кожної з використаних доз DHEA залишається в межах границь здорових передменопаузальних жінок, як добре ілюстровано на фігурі 7A.

Як спостерігалось раніше після перорального або підшкірного введення DHEA (Labrie, Belanger et al. 2007), сироватковий 5-діол виявляє картину, яка майже збігається з картоною

DHEA, хоча спостерігаються набагато більш низькі концентрації. Дійсно, величина  $AUC_{0-24\text{год}}$  збільшується від  $5,60 \pm 0,60$  р. ч/мл у групі плацебо в день 7 до  $9,83 \pm 1,14$  ( $p < 0,05$ ),  $13,8 \pm 1,87$  ( $p < 0,01$ ) і  $21,0 \pm 1,66$  ( $p < 0,01$ ) при дозах 0,5 %, 1,0 % і 1,8 % DHEA, відповідно (1D, таблиця 1). Такі зміни відповідають 75 %, 147 % і 276 % збільшенням над контролем. Тільки доза 1,8 % DHEA викликає збільшення сироваткового 5-діолу, що перевищують величини, виявлені в здорових передменопаузальних жінок (Фігура 7B) під час 24 годин після щоденного інтравагінального введення DHEA на день 7.

Величина  $AUC_{0-24\text{год}}$  сироваткового тестостерону (Тесто) не виявляла значимої зміни при дозі 0,5 % ( $2,79 \pm 0,30$  р. ч/мл проти  $2,58 \pm 0,33$  р. ч/мл у групі плацебо) (Фігура 2B). При дозах 1,0 % і 1,8 %, були виявлені величини  $AUC_{0-24\text{год}}$   $4,54 \pm 0,91$  р. ч/мл ( $p < 0,05$ ) і  $5,97 \pm 0,69$  р. ч/мл ( $p < 0,01$ ) (таблиця 1). Ці величини відповідають середнім сироватковим рівням Тесто  $0,11 \pm 0,01$  (N.S.),  $0,12 \pm 0,01$  (N.S.),  $0,19 \pm 0,04$  ( $p < 0,05$ ) і  $0,25 \pm 0,03$  ( $p < 0,01$ ) нг/мл, відповідно. Навіть при найвищій використаній дозі 1,8 % DHEA, рівні сироваткового Тесто залишалися в межах нормального діапазону передменопаузальних жінок, визначеного при  $0,18 \pm 0,07$  нг/мл (0,06-0,31, 5-ий - 95-ий проценти) (Labrie, Belanger et al. 2006) (Фігура 7E). З іншого боку, доза 1,0 % ( $0,18 \pm 0,07$  нг/мл) відповідає точно величинам, виявленим у здорових передменопаузальних жінок, а саме  $0,19 \pm 0,4$  (Фігура 7E).

На Фігурі 2C і D, сироватковий DHT збільшувався від величини  $AUC_{0-24\text{год}}$   $0,58 \pm 0,07$  р. ч/мл у групі плацебо в день 7 до  $0,93 \pm 0,11$  (N.S.),  $1,31 \pm 0,26$  ( $p < 0,05$ ) і  $1,93 \pm 0,23$  ( $p < 0,01$ ) р.ч/мл у групах 0,5 %, 1,0 % і 1,8 % DHEA, відповідно (таблиця 2). Ці величини відповідають середнім сироватковим рівням DHT  $0,02 \pm 0,01$ ,  $0,04 \pm 0,01$ ,  $0,05 \pm 0,01$  і  $0,08 \pm 0,01$  нг/мл (таблиця 2), досягаючи, отже, при найвищій дозі DHEA, нормальних рівнів сироваткового DHT  $0,07 \pm 0,03$  нг/мл, які спостерігаються у передменопаузальних жінок (Labrie, Belanger et al. 2006) (Фігура 7F).

Середні рівні сироваткового  $E_1$  вимірювали при  $12,6 \pm 1,41$  нг/мл у групі плацебо в день 7 (таблиця 2), у той час як при дозі 0,5 % DHEA не було значимої зміни ( $15,4 \pm 2,04$  нг/мл). Збільшення до  $24,1 \pm 3,54$  нг/мл ( $p < 0,01$ ) і  $25,0 \pm 2,85$  нг/мл ( $p < 0,01$ ) спостерігали при дозах 1,0 % і 1,5 % DHEA, відповідно. Відповідні величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  показані на Фігурі 3B і зазначені в таблиці 1.

Середні рівні сироваткового  $E_2$  вимірювали при  $2,77 \pm 0,29$  пг/мл і  $4,04 \pm 0,69$  пг/мл (N.S.) у групах плацебо й 0,5 % DHEA, відповідно (таблиця 2). Середні сироваткові концентрації  $E_2$   $6,01 \pm 1,31$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) і  $5,68 \pm 0,84$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) виявляли в день 7 у жінок, які одержували дози 1,0 % і 1,8 % DHEA, з абсолютними збільшеннями 3,18 і 2,85 пг/мл над плацебо, відповідно. Порівнянні відкриття спостерігали для середніх сироваткових рівнів  $E_1$ -S із середніми сироватковими рівнями  $0,12 \pm 0,02$  нг/мл і  $0,13$  нг/мл (N.S.) у групі плацебо й групі 0,5 % DHEA, відповідно (таблиця 2). Величини  $0,18 \pm 0,03$  нг/мл і  $0,25 \pm 0,25$  нг/мл вимірювали в групах 1,0 % і 1,8 % DHEA, відповідно. Тільки група 1,8 % DHEA виявляє статистичне розходження ( $p < 0,01$ ) із групою плацебо.

Як можна бачити в 4У і D, порівнянню картину спостерігали як для  $E_1$ -S, так і для DHEA-S. Величину  $AUC_{0-24\text{год}}$  сироваткового DHEA-S вимірювали при  $8,35 \pm 2,22$  р. ч/мл у групі плацебо й  $13,3 \pm 3,16$  р. ч/мл у групі 0,5 % DHEA group (N.S.). Із двома більше високими дозами DHEA, величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  вимірювали при  $16,5 \pm 2,71$  р. ч/мл (N.S.) і  $19,3 \pm 3,59$  р.ч/мл ( $p < 0,05$ ), відповідно (Фігура 4D, таблиця 1). Ці величини DHEA-S при всіх дозах DHEA залишаються нижче рівнів сироваткового DHEA-S, які спостерігаються у передменопаузальних жінок, які виявляють середнє  $1,27 \pm 0,62$  р.ч/мл (7C).

Як ілюстровано на Фігурі 5B, величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  сироваткового 4-діону після введення DHEA у день 7 вимірювали при  $6,34 \pm 0,80$  і  $8,71 \pm 0,84$  р. ч/мл (N.S.) у групі плацебо й групі 0,5 % DHEA, відповідно. При цих двох більше високих дозах DHEA, величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  4-діону злегка збільшувалися до  $11,1 \pm 1,51$  ( $p < 0,01$ ) і  $11,9 \pm 0,81$  ( $p < 0,01$ ) р. ч/мл, відповідно. Як можна бачити в 7D і таблиці 2, всі ці величини сироваткового 4-діону залишалися набагато більше низькими, чим середні концентрації сироваткового 4-діону, які спостерігаються в здорових передменопаузальних жінок. Дійсно, найвища доза DHEA приводила до середніх концентрацій сироваткового 4-діону  $0,50 \pm 0,03$  нг/мл, тоді як середня величина в 30-35-літніх жінок, що мають менструальний цикл, дорівнює  $0,96 \pm 0,35$  нг/мл (Labrie, Belanger et al. 2006) (Appendix T), досягаючи, отже, тільки 50 % рівнів сироваткового 4-діону, які спостерігаються у передменопаузальних жінок.

З урахуванням вирішальної ролі вимірів сироваткових рівнів ADT-G, 3 $\alpha$ -діол-3G і 3 $\alpha$ -діол-17G (Labrie, Belanger et al. 2006) цікаво відзначити, що в 5D і таблиці 2 сироваткові рівні ADT-G збільшувалися від середньої величини  $6,97 \pm 1,20$  нг/мл у групі плацебо до  $19,2 \pm 3,99$  р.ч/мл у групі 0,5 % DHEA ( $p < 0,01$ ). Величини  $19,7 \pm 2,48$  і  $25,7 \pm 2,88$  р.ч/мл були визначені в групах 1,0 % і 1,8 % DHEA, відповідно ( $p < 0,01$  проти груп плацебо для обох DHEA-оброблених груп). Подібні

зміни можна бачити для мінорних метаболітів андрогену 3 $\alpha$ -діол-3G і 3 $\alpha$ -діол-17G (6B, 6D, 8B і 8C, таблиця 1 і таблиця 2). Важливо вказати на те, що, як показано на Фігурі 8, навіть при найвищій використаній дозі DHEA середні сироваткові рівні ADT-G, 3 $\alpha$ -діол-3G і 3 $\alpha$ -діол-17G залишалися 36 %, 11 % і 6 % нижче середніх сироваткових рівнів, виявлених у передменопаузальних жінок.

Як показано в таблиці 2, сума глюкуронідів метаболітів андрогену, визначена протягом 24-годинного періоду в день 7 введення 1,3 мл супозиторію, що містить 1,8 % DHEA (23,4 мг DHEA), дорівнює тільки 28,2 нг/мл, тоді як середня сироваткова концентрація того ж самого метаболіту в 30-35-літніх передменопаузальних жінок дорівнює 42,8 нг/мл (Labrie, Belanger et al. 2006) (Додаток 2). Таким чином, найвища використана доза DHEA приводить тільки до 65,7 % величини, що відповідає загальним метаболітам андрогенів, що виявляє в здорових жінок, що мають менструальний цикл. З іншого боку, дози 0,5 % і 1,0 % DHEA приводять до сум метаболітів андрогенів 21,02 нг/мл і 21,53 нг/мл, відповідно, що відповідає, отже, тільки 49,0 % і 50,2 % величин, які спостерігаються у передменопаузальних жінок (Фігура 9). Автори цього винаходу виявили раніше, що щоденне пероральне введення 100 мг DHEA приводить до 74 % рівнів, що виявляють у передменопаузальних жінок (Labrie, Belanger et al. 2007).

Автори цього винаходу спостерігали, що після перорального або підшкірного введення DHEA, зміни в сироватковому DHEA є приблизно на 100 % завищеною оцінкою змін в утворенні стероїдів, відбиваних змінами в сироваткових ADT-G, 3 $\alpha$ -діол-3G і 3 $\alpha$ -діол-17G (Labrie, Belanger et al. 2007). Як можна бачити на Фігурі 9, середні рівні сироваткового DHEA мінялися від 23 % величини, спостережуваної в передменопаузальних жінок групи плацебо, до 52 %, 71 % і 106 % у жінок, які одержували дози 0,5 %, 1,0 % і 1,8 % DHEA, відповідно. Дані Фігури 9 показують, що зміни в сироватковому DHEA після інтравагінального введення DHEA, також є завищеною оцінкою змін в утворенні андрогенів і, можливо, навіть більше в утворенні естрогенів, як ілюструється навіть ще більш низькими кількостями сироваткового E<sub>1</sub>-S (таблиця 1). Дійсно, при дозі 1,0 %, сироваткові метаболіти андрогенів збільшувалися на 31,6 % величини, що виявляє в передменопаузальних жінок, тоді як сироватковий DHEA збільшувався на 49,1 % (перевищення на 55 %). При найвищій дозі DHEA сироваткові метаболіти андрогенів збільшувалися на 47,1 %, тоді як сироватковий DHEA збільшувався на 83,5 (перевищення 77 %).

Таблиця 1

Величини площ під кривою (AUC<sub>0-24год</sub>) DHEA і одинадцяти його метаболітів у дні 1 і 7 щоденного введення інтравагінальних супозиторіїв 40-75-літнім постменопаузальним жінкам з вагінальною атрофією.

Група	Величина	DHEA		5-ДИОЛ		TESTO		DHT		E1		E2	
		День 1 нг.ч/мл	День 7 нг.ч/мл	День 1 нг.ч/мл	День 7 нг.ч/мл	День 1 нг.ч/мл	День 7 нг.ч/мл	День 1 нг.ч/мл	День 7 нг.ч/мл	День 1 нг.ч/мл	День 7 нг.ч/мл	День 1 нг.ч/мл	День 7 нг.ч/мл
Плацебо	Середнє SEM	24,47 4,80	24,82 4,77	5,55 0,59	5,60 0,60	2,71 <sup>a</sup> 0,34	2,58 <sup>a</sup> 0,33	0,61 0,08	0,58 0,07	305,58 34,56	301,92 33,77	69,51 7,63	66,49 6,90
DHEA 0.5 %	Середнє SEM	65,49 7,80	56,17 8,94	10,91 1,03	9,83 1,14	2,79 0,29	2,79 0,30	0,91 0,10	0,93 0,11	336,52 37,96	369,69 48,86	87,79 11,34	96,93 16,46
DHEA 1.0 %	Середнє SEM	74,82 6,71	76,22 10,28	12,09 1,66	13,84 1,87	3,79 0,70	4,54 0,91	1,11 0,23	1,31 0,26	418,08 70,91	578,59 84,90	101,57 22,97	144,34 31,47
DHEA 1.8 %	Середнє SEM	123,52 9,43	114,30 9,96	18,98 1,05	21,04 1,66	5,13 0,72	5,97 0,69	1,62 0,19	1,93 0,23	433,74 37,68	600,93 68,35	89,76 11,65	136,28 20,27

Продовження таблиці 1

Група	E1-S		DHEA-S		4-DIONE		ADT-G		3α-ДІОЛ-3G		3α-ДІОЛ-17G	
	День 1 нг. ч/мл	День 7 пг. ч/мл	День 1 мкг. ч/мл	День 7 мкг. ч/мл	День 1 нг. ч/мл	День 7 пг. ч/мл	День 1 нг. ч/мл	День 7 пг. ч/мл	День 1 нг. ч/мл	День 7 пг. ч/мл	День 1 нг. ч/мл	День 7 пг. ч/мл
Плаце- бо	3,15 0,62	2,93 0,47	8,71 2,41	8,35 2,22	6,23 0,71	6,34 0,80	176,53 30,86	167,39 28,87	12,00 0,00	12,00 0,00	12,53 0,53	12,20 0,20
DHEA 0.5 %	3,19 0,60	3,24 0,63	13,59 3,42	13,29 3,16	9,03 0,98	8,71 0,84	474,10 126,99	461,15 95,77	16,01 2,02	16,73 1,97	24,68 4,70	26,74 5,02
DHEA 1.0 %	3,14 0,44	4,37 0,60	14,42 3,07	16,49 2,71	10,28 1,35	11,06 1,51	417,73 66,09	471,54 59,54	17,12 2,28	20,14 3,26	20,88 4,42	24,94 4,75
DHEA 1.8 %	4,23 0,76	5,93 1,11	14,99 2,62	19,33 3,59	10,61 0,63	11,94 0,81	510,77 52,78	617,73 69,01	20,36 2,31	26,02 3,38	22,00 2,68	32,23 4,35

а: Дані одного пацієнта виключені

Таблиця 2. Середні рівні сироваткових стероїдів DHEA і одинадцяти його метаболітів у дні 1 і 7 щоденного введення інтравагінальних супозиторіїв 40-75-літнім постменопаузальним жінкам з вагінальною атрофією.

Ці величини одержували розподілом величин  $AUC_{0-24\text{год}}$ , визначених у дні 1 і 7, на 24, з одержанням за допомогою цього середньої сироваткової концентрації кожного стероїду протягом 24-годинного періоду. Концентрації сироваткових стероїдів, визначені в 30-35-літніх передменопаузальних жінок додавали як посилення.

Таблиця 2

Група	Величина	DHEA		5-ДИОЛ		TESTO		DHT		E1		E2	
		День 1 нг. ч/мл	День 7 пг. ч/мл	День 1 нг. ч/мл	День 7 пг. ч/мл	День 1 нг. ч/мл	День 7 пг. ч/мл	День 1 нг. ч/мл	День 7 пг. ч/мл	День 1 нг. ч/мл	День 7 пг. ч/мл	День 1 нг. ч/мл	День 7 пг. ч/мл
Плацебо	Середнє SEM	1,02 0,20	1,03 0,20	0,23 0,02	0,23 0,02	0,11 <sup>a</sup> 0,01	0,11 0,01	0,026 0,003	0,024 0,003	12,73 1,44	12,58 1,41	2,90 0,32	2,77 0,29
DHEA 0.5 %	Середнє SEM	2,73 0,33	2,34 0,37	0,45 0,04	0,41 0,05	0,12 0,01	0,12 0,01	0,038 0,004	0,039 0,004	14,02 1,58	15,40 2,04	3,66 0,47	4,04 0,69
DHEA 1.0 %	Середнє SEM	3,12 0,28	3,18 0,43	0,50 0,07	0,58 0,08	0,16 0,03	0,19 0,04	0,046 0,010	0,055 0,011	17,42 2,95	24,11 3,54	4,23 0,96	6,01 1,31
DHEA 1.8 %	Середнє SEM	5,15 0,39	4,76 0,42	0,79 0,04	0,88 0,07	0,21 0,03	0,25 0,03	0,068 0,008	0,081 0,010	18,07 1,57	25,04 2,85	3,74 0,49	5,68 0,84
30-35-літні Передменопаузальні жінки (n=7)	Середнє SD Медіана (мін.-макс)	4,47 2,19 4,14 1,53-9,14 (1,41-10,37)		0,49 0,20 0,44 0,25-0,84 (0,25-0,96)		0,18 0,07 0,17 0,06-0,31 (0,09-0,32)		0,07 0,03 0,07 0,03-0,14 (0,03-0,17)		53,96 23,28 49,47 23,74-87,46 (79,23-123,50)		82,05 42,19 71,38 22,0-159,97 (17,71-181,14)	

Продовження таблиці 2

Група	Величина	E1-S		DHEA-S		4-DIONE		ADT-G		3α-ДІОЛ-3G		3α-ДІОЛ-17G	
		День 1 нг.ч/мл	День 7 пг.ч/мл	День 1 мкгч/мл	День 7 мкгч/мл	День 1 нг.ч/мл	День 7 пг.ч/мл	День 1 нг.ч/мл	День 7 пг.ч/мл	День 1 нг.ч/мл	День 7 пг.ч/мл	День 1 нг.ч/мл	День 7 пг.ч/мл
Плацебо	Середнє SEM	0,13 0,03	0,12 0,02	0,36 0,10	0,35 0,09	0,26 0,03	0,26 0,03	7,66 1,29	6,97 1,20	0,50 0,00	0,50 0,00	0,52 0,02	0,51 0,01
DHEA 0.5 %	Середнє SEM	0,13 0,02	0,13 0,03	0,57 0,14	0,55 0,13	0,38 0,04	0,36 0,03	19,75 5,29	19,21 3,99	0,67 0,08	0,70 0,08	1,03 0,20	1,11 0,21
DHEA 1.0 %	Середнє SEM	0,13 0,02	0,18 0,03	0,60 0,13	0,69 0,11	0,43 0,06	0,46 0,06	17,41 2,76	19,65 2,48	0,71 0,10	0,84 0,14	0,87 0,18	1,04 0,20
DHEA 1.8 %	Середнє SEM	0,18 0,03	0,25 0,05	0,62 0,11	0,81 0,15	0,44 0,03	0,50 0,03	21,28 2,20	25,74 2,80	0,85 0,10	1,08 0,14	0,92 0,11	1,34 0,18
30-35-літні передменопаузальні жінки (n=7)	Середнє SD Медіана (мін.-макс)	1,19 0,93 0,87 0,31-3,50 (0,21-4,40)		1,27 0,62 1,04 0,56-2,65 (0,45-2,71)		0,96 0,35 0,92 0,45-1,64 (0,31-1,77)		40,21 29,31 31,62 12,17-118,2 (6,86-132,6)		1,21 0,83 1,06 0,25-7,78 (0,25-4,33)		1,43 0,93 1,35 0,25-2,56 (0,25-5,71)	

а: Дані одного пацієнта були виключені

(Labrie, Belanger et al. 2006)

- Однак варто згадати, що, як показано в таблиці 3, спостерігали сильну тенденцію відносно
- 5 більше низьких величин перед лікуванням багатьох стероїдів у групі плацебо. Це ставиться, зокрема, до низьких величин у групі плацебо для DHEA, DHEA-S, 4-діону, Тесто (тестостерону), DHT, E<sub>2</sub>, ADT-G і 3α-діол-17G. Оскільки всі середні величини сироваткових стероїдів, які спостерігаються після введення доз 0,5 % і 1,0 % DHEA, залишаються в межах або явно нижче
- 10 величин, що виявляють у здорових передменопаузальних жінок, спроби корекції цього явного відхилення не вживали. Цікаво згадати, що середні 24-wartові сироваткові рівні всіх стероїдів, визначені в день 7 щоденного введення супозиторію з 0,5 % DHEA, відповідають майже точно величинам, визначеним у здорових 55-65-літніх жінок, тоді як супозиторій з 1,0 % DHEA приводить до величин у межах діапазону, що спостерігається в 55-65-літніх здорових жінок (Labrie, Belanger et al. 2006).

- 15 Оскільки метаболіти андрогенів є найбільш надійним критерієм перетворення екзогенного DHEA в активні андрогени, представлені результати показують, що навіть найвища доза DHEA, використана в даному винаході, задовольняє вимогам FDA відносно сироваткових рівнів стероїдів, які залишаються в межах нормального діапазону, що виявляє в здорових передменопаузальних жінок.

Таблиця 3

Фонові сироваткові рівні стероїдів у дні 1 і 7 щоденного введення інтравагінальних доз, що збільшуються, DHEA виражені в нг/мл, за винятком E<sub>1</sub> і E<sub>2</sub> (пг/мл) і DHEA-S (мкг/мл)

Стероїд	Плацебо	DHEA 0.5 %	DHEA 1.0 %	DHEA 1.8 %
DHEA	День 1	0,72±0,14	1,09±0,24	0,94±0,19
	День 7	0,69±0,14	1,29±0,26	1,43±0,19
5-діол	День 1	0,22±0,02	0,26±0,03	0,26±0,05
	День 7	0,22±0,02	0,31±0,05	0,36±0,05
DHEA-S	День 1	0,372±0,102	0,543±0,157	0,572±0,144
	День 7	0,368±0,100	0,592±0,160	0,717±0,125
4-діон	День 1	0,18±0,02	0,21±0,03	0,23±0,04
	День 7	0,16±0,02	0,25±0,03	0,34±0,06
Testo	День 1	0,10±0,01	0,09±0,01	0,12±0,03
	День 7	0,09±0,01	0,10±0,01	0,18±0,03
DHT	День 1	0,024±0,003	0,026±0,003	0,037±0,010
	День 7	0,023±0,002	0,035±0,004	0,047±0,010
E <sub>1</sub>	День 1	11,98±1,65	11,83±1,28	14,72±2,79
	День 7	11,71±1,19	13,53±1,66	22,15±3,21
E <sub>2</sub>	День 1	3,00±0,44	3,13±0,37	4,30±1,38
	День 7	2,75±0,28	3,94±0,65	5,98±1,26
E <sub>1</sub> S	День 1	0,137±0,024	0,133±0,029	0,117±0,016
	День 7	0,143±0,025	0,151±0,034	0,203±0,016
ADT-G	День 1	7,42±1,48	13,65±3,71	11,49±2,10
	День 7	6,72±1,17	17,02±4,39	16,34±2,30
3α-діол-3G	День 1	0,50 <sup>a</sup>	0,61±0,07	0,71±0,14
	День 7	0,50 <sup>a</sup>	0,75±0,11	0,96±0,25
3α-діол-17G	День 1	0,50 <sup>a</sup>	0,84±0,16	0,85±0,22
	День 7	0,50 <sup>a</sup>	0,95±0,16	1,18±0,30

a: Рівні стероїдів перебувають нижче межі кількісного визначення для всіх суб'єктів (межа кількісного визначення=0,50 нг/мл)

Після всього лише одного тижня щоденного введення супозиторіїв DHEA, індекс зрілості збільшувався на 107 % (p < 0,01), 75 % (p < 0,05) і 150 % (p < 0,1) у групах 0,5 %, 1,0 % і 1,8 % DHEA, відповідно (Фігура 10A). Змін не спостерігали в групі плацебо між удень 1 і вдень 7. З іншого боку, вагінальний pH зменшувався від 6,29±0,21 до 5,75 (0,27 (p < 0,05), від 6,47 (0,23 до 5,76±0,22 (p < 0,01) і від 6,53±0,25 до 5,86±0,28 (p < 0,05), відповідно, у групах 0,5 %, 1,0 % і 1,8 % DHEA (Фігура 10B). У групі плацебо не спостерігали зміни вагінального pH.

#### Приклад 2

Біодоступність і метаболізм перорального й підшкірного дегідроепіандростерону в постменопаузальних жінок

##### 1. Введення

Люди, разом з іншими приматами, є унікальними серед видів тварин у тім відношенні, що вони мають надниркові залози, які секретують більші кількості неактивних попередників стероїдів DHEA і, зокрема, DHEA-S, які перетворюються в активні андрогени й/або естрогени в периферійних тканинах (Labrie, 1991; Labrie, Belanger et al., 1995; Labrie, Luu-The et al., 1997; Labrie, Simard et al., 1996; Labrie, Luu-The et al., 2005; Labrie, Poulin et al., 2006 and Simpson 2000). Дійсно, рівні DHEA-S у плазмі в дорослих чоловіках і жінок є в 100-500 разів більше високими, чим рівні тестостерону, і в 1000-10000 разів більше високими, чим рівні естрадіолу, що забезпечує великий запас субстрату для перетворення в андрогени й/або естрогени в периферійних інтракринних тканинах, які мають ферментативний апарат, необхідний для перетворення DHEA в активні статеві стероїдні гормони (Labrie 1991 і Labrie, Luu-The et al., 2005). Дійсно, термін інтракринологія був уперше придуманий в 1988 році (Labrie, Belanger et al., 1988) для опису синтезу активних стероїдів, вироблених у тих же самих клітинах, у яких вони проявляють їхню дію, з відсутністю вивільнення або з мінімальним вивільненням у позаклітинний простір і загальний кровообіг перед їхньою інактивацією (Labrie, 1991).



Помітне зменшення утворення DHEA-S наднирковими залозами під час старіння (Belanger et al., 1994; Vermeulen and Verdonck, 1976; and Migeon et al., 1957) приводить до істотного зниження утворення андрогенів і естрогенів у периферійних тканинах-мішенях, до ситуації, потенційно асоційованої з пов'язаними з віком захворюваннями, такими як інсулінорезистентність (Schriock et al. 1988 and Coleman et al. 1982) і ожиріння (Nestler et al. 1988; MacEwen and Kurman, 1991, and Tchernof et al. 1995). Крім того, велика увага приділялася перевагам DHEA, що вводить постменопаузальним жінкам, особливо у відношенні кісток, шкіри, вагіни, метаболізму глюкози й інсуліну, маси жиру, а також самопочуття після перорального (Villareal and Holloszy, 2004; Baulieu et al., 2000; Morales, et al. 1994; і Kawano et al. 2003) і підшкірного (Diamond et al., 1996 і Labrie Diamond et al. 1997) введення. Таким чином, ставало особливо важливим одержання більше точного знання про біодоступності, фармакокінетиці й метаболізмі DHEA після цих двох способів введення.

Оскільки автори цього винаходу вже показали, з використанням фармакологічної дози DHEA, що вводить інтрадермально протягом 2 тижнів, що вимірювання рівнів сироваткового тестостерону (тесто) і естрадіолу ( $E_2$ ) не забезпечують надійної оцінки щирого внутрішньоклітинного пула андрогенів і естрогенів (Labrie, Belanger et al., 1997; Labrie, Belanger et al., 2006 і Labrie, Belanger, et al, 2007b), автори цього винаходу зрівняли сироваткові рівні DHEA і дев'яти стероїдів, про які відомо, що вони найбільше тісно асоційовані з активними андрогенами й естрогенами і їхніми метаболітами. Докладний аналіз 24-годинних змін сироваткових рівнів стероїдів виконували в перший день і після 2 тижнів щоденного введення DHEA пероральним способом, а також інтрадермально з використанням крему або гелю DHEA.

## 2. Суб'єкти й способи

Тридцять шість здорових 60-70-літніх постменопаузальних жінок брали участь у цьому дослідженні після схвалення IRB і надання їх письмового інформованої згоди. Маса тіла була в межах  $\pm 20$  % нормальної маси тіла відповідно до Metropolitan Life Tables.

Жоден суб'єкт не страждав від істотного метаболічного або ендокринного порушення, коронарної хвороби або гіпертензії. Жодна жінка не лікувалася андрогенами або анаболічними стероїдами в межах 6 місяців перед візитом для участі в скринінгу. Всі учасники мали медичну історію, повне фізичне обстеження й біохімічний профіль сироватки, що включає в себе ліпіди, клінічний аналіз крові, аналіз сечі й докладні визначення сироваткових гормонів під час фази скринінгу цього протоколу.

## 3. Програма дослідження, лікування й виміри

Це дослідження було рандомізованим, відкритим дослідженням з 12 суб'єктів на галузь дослідження. Після одержання письмового інформованої згоди й установа, що жінки є придатними для дослідження, кожного суб'єкта рандомізували для одержання DHEA за допомогою крему, гелю або перорально. Щодня, перед сніданком, протягом 14 днів, суб'єкти одержували, у цій дослідницькій клініці, або 4 г 10 % DHEA-крему, який наносили на загальну площу 30 см x 30 см стегна, або дві капсули по 50 мг DHEA перорально перед сніданком.

Узяття проб крові виконували при 08:00-09:00 год. при скринінгу й перед застосуванням DHEA, у перший день прийняття доз, а також у дні 2, 4, 7, 10 і 14. У перший і 14-ий дні, проби крові одержували при 0,5 ч, 1 ч, 1,5 ч, 2 ч, 3 ч, 4 ч, 5 ч, 6 ч, 7 ч, 8 ч, 12 год. і 24 год. після введення DHEA.

## 4. Аналіз сироваткових стероїдів

DHEA, DHEA-S, андрост-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діол (5-діол), тестостерон, андростендіон (4-діон), 17 $\beta$ -естрадіол ( $E_2$ ), естрон ( $E_1$ ), сульфат естрону ( $E_1$ -S), глюкуронід андростерону (ADT-G) і глюкуронід андростан-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діолу (3 $\alpha$ -діол-G) вимірювали газовою хроматографією/мас-спектрометрією (DHEA, 5-діол, 4-діон, тестостерон,  $E_1$  і  $E_2$ ) з використанням електронної іонізації (удару електронів) або хімічної іонізації й рідинної хроматографії/тандемної мас-спектрометрії з використанням турбоіонспрею (DHEA-S,  $E_1$ -S, ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G), як описано (Labrie, Belanger et al., 2006; Labrie, Belanger, et al, 2007b і Swanson et al. 2007).

## 5. Розрахунки та статистичний аналіз

У дні 1 і 14, вимірювали площу під кривою концентрації в сироватці кожного стероїду між 0 год. і 24 год. ( $AUC_{0-24\text{год}}$ ). Ці площі під кривими розраховували лінійним трапецидальним способом (незалежним від моделі). Відносну біодоступність гелю DHEA, крему DHEA і капсул DHEA розраховували на основі середнього розходження в log-трансформованих величинах AUC. Всі розрахунки виконували з використанням програми SAS (SAS Institute, Cary, NC USA).

## 6. Результати

Пероральне введення двох капсул 50 мг DHEA приводило до збільшення сироваткового DHEA від  $2,3 \pm 0,3$  нг/мл до максимальної величини  $15,6 \pm 2,5$  нг/мл при 1 год. із прогресуючим зменшенням після цього до  $5,7 \pm 0,5$  нг/мл при 6 год. із наступним плато до 24 год. (Фіг. 11A). При

нанесенні 4 г 10 % гелю або крему DHEA на площу 30 див x 30 див шкіри стегон, сироваткові рівні DHEA починали збільшуватися тільки при 12 ч, досягаючи величин  $8,2 \pm 2,0$  і  $8,0 \pm 1,2$  нмоль/л, відповідно, при 24 год. (Фіг. 11A). Не було значимого розходження між кремом або гелем у сироваткових рівнях DHEA при кожному з досліджених часових інтервалів до 24 год.

5 послу першого нанесення цього стероїду-попередника на шкіру.

При вимірі сироваткового 5-діолу після перорального введення DHEA, концентрація 5-діолу збільшувалася від концентрації перед лікуванням  $0,31 \pm 0,03$  нг/мл до максимальної величини  $1,19 \pm 0,13$  нг/мл при 1 год. із наступним прогресуючим зменшенням після цього з досягненням  $0,79 \pm 0,05$  нг/мл при 24 год. (Фіг. 11B). На тій же самій фігурі можна бачити, що сироваткові рівні 5-діолу збільшувалися набагато більш повільно після введення DHEA інтрадермально за допомогою крему або гелю з досягненням перших статистично різних величин  $1,00 \pm 0,14$  нг/мл для крему й  $0,72 \pm 0,14$  нг/мл для гелю при 24 ч.

Після перорально уведеного DHEA, сироватковий 4-діон збільшувався від  $0,6 \pm 0,1$  нг/мл до максимальної величини  $9,5 \pm 2,2$  нг/мл при 1 год. із наступним швидким зменшенням до величин, які залишалися на плато приблизно  $1,2$  нг/мл між 8 год. і 24 год. (Фіг. 12A). З іншого боку, після введення DHEA за допомогою крему або гелю, перше значиме збільшення сироваткового 4-діону спостерігали тільки протягом 24 год. при величинах  $0,9 \pm 0,1$  і  $0,8 \pm 0,1$  нг/мл для крему й гелю, відповідно.

Порівнянню картину спостерігали для сироваткового тестостерону. Дійсно, після перорального введення двох капсул по 50 мг DHEA, сироватковий тестостерон збільшувався від  $0,38 \pm 0,03$  нг/мл до максимальної величини  $0,79 \pm 0,14$  нг/мл при 1 ч. Після цього збільшення впливало швидке зменшення до  $0,30 \pm 0,08$  нг/мл при 6 год. із наступним плато після цього до 24 год. (Фіг. 12B). При нанесенні DHEA у вигляді крему або гелю, перше збільшення спостерігали при 24 год. при величині приблизно  $0,45$  нг/мл. Як можна бачити на Фіг. 13A і B, перше введення DHEA пероральним або черезшкірним способом не мало статистично значимої дії на сироваткові рівні E1 або E2 під час перших 24 годин.

З іншого боку, сироватковий DHEA-S мав картину, хоча злегка затриману, порівнянню з DHEA і 5-діолом після перорального введення двох капсул по 50 мг (Фіг. 14A). Таким чином, сироватковий DHEA-S збільшувався від  $0,4$  ( $0,1$  мкг/мл до  $7,7$  ( $1,0$  мкг/мл при 1 год. і до максимальної величини  $8,4 \pm 0,6$  мкг/мл при 2 год. із прогресуючим зменшенням до  $2,7 \pm 0,3$  мкг/мл при 24 ч. Не спостерігали значимої зміни сироваткового DHEA-S під час перших 24 год. після введення DHEA у вигляді крему або гелю. З іншого боку, сироватковий E1-S не змінювався значимо під час перших 24 год. після першого ... (?)

Сироватковий ADT-G, основний метаболіт андрогенів, збільшувався від  $14$  ( $3$  нг/мл до  $760 \pm 150$  нг/мл при 1 год. і  $790 \pm 140$  нг/мл при 2 год. із наступним прогресуючим зменшенням до  $92$  ( $5$  нг/мл при 12 год. і до  $70$  ( $5$  нг/мл при 24 год. (Фіг. 15A). З іншого боку, сироватковий 3 $\alpha$ -діол-G збільшувався від  $2,2 \pm 0,5$  нг/мл до  $14,5$  ( $2,0$  нг/мл при 2 год. (Фіг. 15B). Однак, спостережуване після цього зменшення для 3 $\alpha$ -діол-G було набагато більше повільним, чим зменшення ADT-G, причому спостерігається зменшення тільки приблизне 40 % між 2 год. і 24 год. послі перорального введення DHEA. Після нанесення 4 г 10 % DHEA на шкіру, не було значимої зміни сироваткового ADT-G або 3 $\alpha$ -діол-G до 24 год. (Фіг. 15B).

При повторенні вимірів тих же самих кінетичних параметрів на 14-ий день щоденного введення доз можна було бачити, що введення двох капсул по 50 мг DHEA приводило, від величини перед введенням доз  $4,2$  ( $0,4$  нг/мл до максимальної концентрації  $14,8 \pm 4,4$  нг/мл DHEA при 1 год. із наступним прогресуючим зменшенням після цього до  $4,5 \pm 0,4$  нг/мл при 24 год. (Фіг. 16A). З іншого боку, при введенні DHEA за допомогою крему або гелю, не спостерігали значимої зміни під час 24-годинного періоду, і сироватковий DHEA залишався між  $10$  нг/мл і  $15$  нг/мл послі нанесення крему й між  $7$  нг/мл і  $11$  нг/мл послі нанесення гелю.

Подібним чином, при вимірі сироваткового 5-діолу на 14-ий день лікування, сироваткова концентрація цього стероїду збільшувалася від  $0,46 \pm 0,04$  нг/мл до  $1,37 \pm 0,21$  нг/мл при 1 год. із повільним зменшенням після цього до досягнення  $0,64$  ( $0,06$  нг/мл при 24 год. (Фіг. 16B). Як спостерігали для DHEA, сироватковий 5-діол залишався більш постійним під час 24-годинного періоду при приблизно  $1,5$ - $1,9$  нг/мл після нанесення крему й  $1,0$ - $1,3$  нг/мл після нанесення гелю.

При вимірі сироваткового 4-діону на 14-ий день введення доз, сироваткова концентрація цього стероїду збільшувалася від  $1,3 \pm 0,2$  нг/мл до максимальної величини  $9,8 \pm 1,7$  нг/мл при 1 год. із наступним швидким зменшенням до  $1,5 \pm 0,1$  нг/мл при 6 год. із величиною  $1,2 \pm 0,1$  нг/мл, визначеної при 24 год. (Фіг. 17A). Після нанесення DHEA на шкіру у вигляді крему або гелю, було незначуще збільшення сироваткового 4-діону до приблизно  $2,5$  нг/мл при 2 год. із величинами, після цього, що залишаються на плато при  $1,0$ - $1,6$  нг/мл до 24 годин (Фіг. 17A).

Сироватковий тестостерон збільшувався на 14-ий день введення доз після перорального введення 100 мг DHEA від  $0,31 \pm 0,04$  нг/мл до максимальної величини 0,83 ( $0,11$  нг/мл при 1 годині з наступним прогресуючим зменшенням до величини  $0,37 \pm 0,04$  нг/мл при 24 год. (Фіг. 17B). Після нанесення DHEA у вигляді крему або гелю, сироваткові рівні тестостерону

5

залишалися незмінними під час 24-годинного періоду при приблизно 0,3 нг/мл, причому ця величина не відрізнялася значимо від величини перед лікуванням. Як спостерігали в перший день, не було значимої зміни в сироваткових рівнях  $E_1$  (Фіг. 18A) або  $E_2$  (Фіг. 18B) під час 24 год. після 14-денного введення DHEA пероральним або черезшкірним способом.

10

Сироватковий DHEA-S збільшувався від рівня перед введенням доз  $1,95 \pm 0,15$  мкг/мл до  $8,3 \pm 0,4$  мкг/мл при 1 год. із наступним прогресуючим зменшенням до  $2,6 \pm 0,3$  мкг/мл при 24 год. (Фіг. 19A). Не спостерігали значимої зміни сироваткового DHEA-S після нанесення DHEA на шкіру. З іншого боку, сироватковий  $E_1$ -S, не змінювався під час 24 год. після 14-денного введення DHEA пероральним або черезшкірним способом.

15

При вихідному більше високому рівні в день 14, чим у день 1, сироватковий ADT-G

20

збільшувався швидко від  $66 \pm 1$  нг/мл до 996 ( $105$  нг/мл при 1 год. зі швидким зменшенням після цього до 116 нг/мл при 12 год. і 91 ( $15$  нг/мл при 24 год. (Фіг. 20A). Після нанесення DHEA на шкіру не спостерігали значимої зміни сироваткових рівнів ADT-G. З іншого боку, сироватковий  $3\alpha$ -діол-G збільшувався від  $12 \pm 2,5$  нг/мл до  $29,4 \pm 5,5$  нг/мл при 2 год. із повільним зменшенням після цього до досягнення  $13 \pm 3,0$  нг/мл при 24 год. після 14-денного перорального введення 100 мг DHEA. Після інтрадермального введення DHEA не спостерігали значимої зміни сироваткового  $3\alpha$ -діол-G (Фіг. 20B).

25

Потім, для одержання більше точного критерію накопичення DHEA і його метаболітів, автори цього винаходу порівнювали площі під кривими концентрацій сироваткових стероїдів (величини  $AUC_{0-24\text{год}}$ ), визначених в 1-ий і 14-ий дні введення доз. Як може бути передвіщене з Фіг. 11, Фіг. 12, Фіг. 13, Фіг. 14, Фіг. 15, Фіг. 16, Фіг. 17, Фіг. 18, Фіг. 19 і Фіг. 20, ці величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  всіх стероїдів, за винятком метаболітів естрогенів ( $E_1$ -S) і андрогенів (ADT-G і  $3\alpha$ -діол-G), внаслідок деякого накопичення цих стероїдів, є подібними в 1-ий і 14-ий дні введення DHEA пероральним способом (таблиця 4). З іншого боку, після інтрадермального введення, внаслідок більше повільної абсорбції DHEA після введення у вигляді крему або гелю, на 155 % і 86 %

30

більше високі величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  DHEA спостерігаються на 14-ий день у порівнянні з першим днем введення доз, відповідно. Більше високі величини спостерігаються також для всіх інших стероїдів, за винятком величин для  $E_1$ ,  $E_2$  і тестостерону, які не виявляли ... (?).

Таблиця 4

Величини  $AUC_{0-24\text{год}}$ , визначені в 1-ий і 14-ий дні введення доз, а також їхнє відношення

Стероїд	DHEA (нг./мл)	5-діол (нг. ч/мл)	4-діол (нг. ч/мл)	Тестостерон (нг.ч/мл)	$E_1$ (нг. ч/мл)	$E_2$ (нг. ч/мл)	DHEA-S (мкг. ч/мл)	$E_1$ -S (нг. ч/мл)	ADT-G (нг. ч/мл)	$3\alpha$ -діол-G (нг. ч/мл)
2 капсули по 50 мг										
1-й день введення доз	153 (19)	19,0 (20)	40,2 (39)	9,47 (31)	745 (30)	136 (20)	108 (20)	4,81 (39)	4112 (24)	259 (44)
14-ий день введення доз	144 (26)	20,4 (25)	43,6 (27)	9,72 (23)	910 (23)	165 (25)	95,0 (16)	7,44 (36)	5607 (28)	453 (41)
14-ий день/1-ий день	0,94	1,07	1,08	1,03	1,22	1,21	0,88	1,55	1,36	1,75
4 г 10 % крему										
1-й день введення доз	107 (33)	13,7 (31)	12,3 (43)	8,35 (16)	680 (48)	147 (50)	10,7 (45)	4,83 (58)	404 (62)	50,6 (93)
14-ий день введення доз	273 (36)	39,7 (31)	22,8 (33)	8,77 (16)	847 (22)	175 (27)	19,9 (34)	7,96 (39)	977 (66)	114 (104)
14-ий день/1-ий день	2,55	2,90	1,85	1,00	1,24	1,19	1,86	1,65	2,42	2,25
4 г 10 % гелю										
1-й день введення доз	101 (49)	10,3 (55)	13,3 (45)	8,76 (16)	620 (31)	214 (137)	11,2 (35)	5,53 (84)	254 (30)	38,3 (86)
14-ий день введення доз	188 (30)	27,2 (32)	21,3 (51)	8,04 (22)	785 (40)	152 (24)	18,6 (34)	9,11 (106)	455 (23)	60,3 (85)
14-ий день/1-ий день	1,86	2,64	1,60	0,96	1,27	0,71	1,66	1,65	1,79	1,57

Величини в дужках позначають %-ний коефіцієнт варіації. DHEA вводили пероральним способом (2 капсули по 50 мг) або нанесенням на шкіру 4 г 10 % крему або гелю DHEA.

5 Як можна ясно бачити в таблиці 5 і на Фігурі 21, не було значимої зміни величин  $AUC_{0-24\text{год}}$  сироваткових  $E_1$ ,  $E_2$  або тестостерони, визначених в 14-ий день введення доз у порівнянні з рівнями перед введенням доз. Однак, значимі збільшення спостерігали для двох інших стероїдів. Так, після щоденного перорального введення 100 мг DHEA протягом 2 тижнів площа під кривою концентрації DHEA, визначена під час 24 годин після введення цього стероїду, збільшувалася на 167 % щодо величини перед лікуванням, тоді як для 5-діолу, 4-діону, DHEA-S,  $E_1$ -S, ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G спостерігали відповідні збільшення 138 %, 238 %, 873 %, 60 %, 1820 % і 874 %.

Таблиця 5

Величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  DHEA і його метаболітів перед лікуванням і в 14-ий день

Стероїд	DHEA (нг.ч/мл)	5-діол (нг.ч/мл)	4-діон (нг.ч/мл)	Тесто- стерон (нг.ч/мл)	$E_1$ (пг.ч/мл)	$E_2$ (пг.ч/мл)	DHEA-S (мкг.ч/мл)	$E_1$ -S (пг.ч/мл)	ADT-G (нг.ч/мл)	3 $\alpha$ -діол- G (нг.ч/мл)
Тло (перед обробкою)	53,9	8,56	12,9	8,72	717	135	9,76	4,64	292	46,6
(A) 2 капсули по 50 мг										
14-й день введення доз	144	20,4	43,6	9,72	910	165	95,0	7,44	5607	453
14-ий день/ 1-ий день	2,67	2,38	3,38	1,11	1,27	1,22	9,73	1,60	19,2	9,74
(B) 4 г 10 % крему										
14-й день введення доз	5,06	4,63	1,77	1,01	1,18	1,30	2,04	1,72	3,34	2,45
14-ий день/ 1-ий день	1,86	2,64	1,60	0,96	1,27	0,71	1,66	1,65	1,79	1,57
(C) 4 г 10 % гелю										
14-й день введення доз	188	27,2	21,3	8,04	785	152	18,6	9,11	455	60,3
14-ий день/ 1-ий день	3,49	3,18	1,65	0,92	1,09	1,13	1,91	1,96	1,56	1,30

15 DHEA вводили пероральним способом або інтрадермально за допомогою крему або гелю. Фонові величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  розраховували множенням рівнів сироваткових стероїдів перед обробкою, що включає в себе скринінг, на 24 ч.

20 За винятком DHEA і 5-діолу, більше низькі збільшення спостерігали після введення крему або гелю DHEA. Дійсно, після нанесення крему DHEA, величина  $AUC_{0-24\text{год}}$  DHEA-S збільшувалася тільки на 104 %, у той час як величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  4-діону,  $E_1$ -S, ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G збільшувалися на 77 %, 72 %, 234 % і 145 % вище контролю, відповідно. З іншого боку, величини  $AUC$  для DHEA і 5-діолу збільшувалися на 406 % і 363 %, відповідно (таблиця 5, Фіг. 21). Порівнянні, але дещо більше низькі збільшення спостерігали з гелем DHEA, де величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  сироваткових 4-діону, DHEA-S,  $E_1$ -S, ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G збільшувалися на 65 %, 91 %, 96 %, 56 % і 30 % вище контролю, тоді як величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  для DHEA і 5-діолу збільшувалися на 249 % і 238 %, відповідно.

Недавні відкриття авторів цього винаходу (Labrie, Belanger et al., 2007b) показали, що зміни сироваткового DHEA, які спостерігаються після введення екзогенного DHEA, є завищеною

щонайменше на 100 % оцінкою щирих змін в утворенні статевих стероїдних гормонів. У підтримку цих даних, Фіг. 21 показує, що після введення DHEA за допомогою крему або гелю зміни сироваткового DHEA є помітним завищенням змін сироваткових рівнів всіх визначених стероїдів, за винятком 5-діолу, безпосереднього метаболіту DHEA. Для крему DHEA, зміни

5 величин  $AUC_{0-24\text{год}}$  сироваткових 4-діону, DHEA-S, E<sub>1</sub>-S, ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G становлять тільки 77 %, 104 %, 72 %, 234 % і 145 % у порівнянні зі збільшенням 406 % щодо рівнів перед обробкою, які спостерігаються для сироваткового DHEA.

Для андрогенів, тепер добре встановлено, що уридин-глюкуронозилтрансфераза 2B7 (UGT 2B7), UGT 2B15 і UGT 2B17 є трьома ферментами, відповідальними за глюкуронідування всіх андрогенів і їхніх метаболітів у людині (Belanger et al. 2003). Це недавнє завершення ідентифікації та характеристики всіх UDT-глюкуронозилтрансфераз уможливило застосування глюкуронідних похідних андрогенів як маркери загальної андрогенної активності як у жінок, так і у чоловіків (Labrie, Belanger et al., 2006; Labrie, Belanger, et al, 2007b і Swanson et al. 2007). Таким чином, оскільки всі андрогени метаболізуються в ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G, ця оцінка відсотка

15 ефективності інтрадермального DHEA відносно перетворення в активні андрогени оцінюється, отже, як 52 % при додаванні змін в ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G (зважена величина 211 % у порівнянні зі змінами DHEA 406 %). Подібним чином, після введення гелю DHEA, збільшення 249 % сироваткового DHEA переводиться в збільшення тільки 65 %, 91 %, 96 %, 56 % і 30 % у величинах  $AUC_{0-24\text{год}}$  сироваткового 4-діону, DHEA-S, E<sub>1</sub>-S, ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G, відповідно.

20 Оскільки високий рівень глюкуронідування в кишечнику й печінці пояснює високий сироватковий рівень ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G (Belanger et al. 2003) після перорального введення DHEA, відносно мале збільшення сироваткового E<sub>1</sub>-S (60 %) у порівнянні зі збільшенням 167 % сироваткового DHEA після введення перорального DHEA указує на 36 % відносну ефективність перетворення в естрогени. Як показано раніше (Labrie, Belanger et al., 1997; Labrie, Belanger et al., 2006; Labrie, Belanger, et al, 2007b), ці результати вказують на те, що DHEA, що вводиться

25 постменопаузальним жінкам, перетворюється переважно в андрогени, а не в естрогени.

#### Обговорення

Представлені результати ясно показують, що під час тривалого лікування з використанням DHEA у вигляді крему або гелю концентрація всіх стероїдів швидко досягає плато без

30 детектуємої зміни сироваткової концентрації кожного зі стероїдів, визначеної під час щоденного нанесення DHEA на шкіру. Таким чином, від 24 годин після першого введення DHEA інтрадермально, концентрація всіх стероїдів залишається на тому самому рівні, свідчаючи про те, що щоденне нанесення DHEA на шкіру підтримує постійні сироваткові рівні DHEA і всіх його метаболітів. У постменопаузальних жінок, як уже відомо, циркадне варіювання сироваткового

35 DHEA є відносно малим у порівнянні із ситуацією в передменопаузальних жінок, які мають нормальний менструальний цикл (Lui and Laughlin, 1990).

Представлені результати показують також, що після щоденного перорального введення DHEA, немає значимого накопичення DHEA або його метаболітів. Крім того, метаболізм DHEA після його введення пероральним або черезшкірним способом є кількісно подібним, причому

40 якісні розходження пояснюються печінковим-кишково-печіночним метаболізмом після перорального введення.

Більше високі величини  $AUC_{0-24\text{год}}$  сироваткових DHEA-S, ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G, об'єднані з більше низькими величинами  $AUC_{0-24\text{год}}$  DHEA і 5-діолу після перорального введення на

45 протизагу інтрадермальному введенню, показують, що метаболізм через шлунково-кишковий тракт і/або перше проходження через печінку приводить не тільки до більше високого рівня перетворення DHEA в DHEA-S внаслідок активності DHEA-сульфотрансферази (Luu-The et al., 1995), але також до збільшеного метаболізму DHEA в андрогени і їхні інактивації внаслідок активності печіночних глюкуронозилтрансфераз (Belanger et al. 2003; Turgeon et al., 2001 і Hum et al., 1999). Дійсно, як показано в таблиці 1, піддавання дії DHEA 144 р. ч/мл ( $AUC_{0-24\text{год}}$ ) на 14-

50 ий день перорального введення 100 мг DHEA приводить до величин  $AUC_{0-24\text{год}}$  5607 р. ч/мл і 453 р. ч/мл для ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G, відповідно. З іншого боку, після інтрадермального введення 10 % крему DHEA, величини  $AUC$  для DHEA, ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G рівні 273 р. ч/мл, 977 р. ч/мл і 114 р. ч/мл, відповідно. Таким чином, після перорального введення, 1 р. ч/мл DHEA відповідає величині  $AUC$  42,1 р. ч/мл для комбінації двох метаболітів андрогенів (ADT-G+3 $\alpha$ -діол-G), тоді

55 як після нанесення крему, піддавання 1 р. ч/мл DHEA відповідає 4,0 р. ч/мл для цієї суми двох метаболітів андрогену. Такі дані показують, що введення DHEA пероральним способом приводить до приблизно в 10 разів більше високому рівню перетворення DHEA в ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G, чим після інтрадермального введення, щонайменше при використовуваних дозах. При виконанні тих же самих розрахунків для результатів, отриманих після введення DHEA за

60 допомогою гелю, піддавання 1 р. ч/мл DHEA супроводжується величиною  $AUC_{0-24\text{год}}$  2,7 р. ч/мл

для ADT-G+3 $\alpha$ -діол-G, що вказує навіть на більше високе співвідношення між пероральним і черезшкірним введенням DHEA.

Як показано в таблиці 4, у той час як величина AUC<sub>0-24год</sub> DHEA 1 р. ч/мл приводить до величини AUC<sub>0-24год</sub> 660 р. ч/мл для DHEA-S після перорального введення DHEA, що відповідають величини 73 р. ч/л і 99 р. ч/л спостерігаються після нанесення стероїду-попередника за допомогою крему або гелю. Таким чином, є в 6,7-9,0 разів більше висока кількість DHEA-S у кровообігу після того ж самого піддавання дії циркулюючого DHEA (сироваткова величина AUC<sub>0-24год</sub>) після перорального введення в порівнянні зі черезшкірним введенням DHEA при випробуваннях умовах. Ці результати показують порівняльний вплив проходження DHEA через шлунково-кишковий тракт і печінку на сироваткові рівні DHEA-S, ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G.

Хоча можна бачити більше низьке розходження, відносно більше високі рівні сироваткового 4-діону спостерігаються після перорального введення DHEA у порівнянні зі черезшкірним введенням стероїду-попередника. Так, після перорального введення DHEA, величина AUC<sub>0-24год</sub> 1 р. ч/мл приводить до величини AUC<sub>0-24год</sub> 0,3 р. ч/мл 4-діону, у той час як величини 0,08 р. ч/мл і 0,11 р. ч/мл спостерігаються після введення DHEA за допомогою крему й гелю, відповідно. Як визначено в кровообігу, перетворення DHEA в 4-діон є, отже, в 2,70-3,76 разів більше високим після перорального введення в порівнянні із черезшкірним введенням DHEA.

Результати таблиці 5 показують, що величина AUC<sub>0-24год</sub> DHEA збільшується на 167 % над контролем після щоденного перорального введення 100 мг DHEA у порівнянні з фоновими рівнями перед обробкою, тоді як щоденне інтрадермальне введення 4 г 10 % крему й гелю DHEA збільшує сироваткові рівні DHEA на 406 % і 249 %, відповідно. Оскільки на шкіру наносили 400 мг DHEA у порівнянні з 100 мг у випадку перорального способу, і при припущенні лінійності, представлені дані вказують на те, що пероральний спосіб є в 2,9 і в 4,8 рази більше ефективним у порівнянні із препаратом, використовуваним для крему або гелю DHEA, відповідно.

В одному дослідженні, також виконуваному на постменопаузальних жінок, пероральне введення 150 мг і 300 мг здрібненого на мікронному колоїдному млині DHEA приводило до максимальних сироваткових рівнів DHEA-S, DHEA і тестостерону приблизно 1,5 мг/мл, 15 нг/мл і 2,75 нг/мл після дози 300 мг і 10 мкг/мл, 12 мкг/мл і 1,6 нг/мл після дози 150 мг DHEA, відповідно (Buster et al. 1992). Дослідження цих ранніх результатів показує, що 20-кратне збільшення сироваткового DHEA-S приводило лише до 6,9-кратному збільшенню сироваткового тестостерону, у той час як сироватковий DHEA збільшувався 11,6-кратно. Крім того, корекції визначених величин сироваткового тестостерону до однієї третини з обліком двох третин неспецифічного зв'язування в радіоімунаналізі, ці сироваткові рівні тестостерону залишаються в межах фізіологічних рівнів протягом 12 год. після введення дози 150 мг DHEA (Buster et al. 1992).

Подібні розходження, які спостерігаються між пероральним і черезшкірним способами введення для сироваткового DHEA, спостерігаються для 5-діолу, що перетворюється безпосередньо з DHEA 17 $\beta$ -гідроксистероїддегідрогеназою (Labrie, Luu-The, et al. 2000). Дійсно, величина AUC<sub>0-24год</sub> 5-діолу збільшується на приблизно 138 % вище контролю після перорального введення 100 мг DHEA, і збільшення 363 % і 218 % визначені після нанесення 400 мг крему й гелю DHEA, відповідно.

Як згадувалося вище, людина є унікальним, з деякими іншими приматами, у тім, що він має надниркові залози, які секретують більші кількості стероїдів-попередників DHEA і DHEA-S, які перетворюються в 4-діон і потім в активні андрогени й/або естрогени в периферійних інтракринних тканинах (Labrie, 1991; Labrie, Belanger, et al. 1995; Labrie et al. 1996; Labrie, Luu-The, et al. 1997; Simpson, 2000; Labrie, Luu-the, et al. 2005; Labrie, Poulin, et al., 2006 and Labrie, Belanger, et al., 1998). Дивно також, що людина, поряд з наявністю в ньому дуже складних ендокринної та паракринної систем, щедро наділений утворенням статевих стероїдних гормонів у периферійних тканинах (Labrie, 1991) і (Belanger, et al., 1998). Дійсно, у той час як яєчники і яєчка є єдиними джерелами андрогенів і естрогенів у нижчих ссавцях, ситуація дуже відрізняється в людині й вищих приматах, де активні статеві стероїдні гормони синтезуються в значній частині або повністю локально в периферійних тканинах, забезпечуючи тим самим мішень<sup>^</sup>-мішені-тканини-мішені контролю, які коректують утворення й метаболізм статевих стероїдних гормонів для локальних потреб.

Секреція наднирковими залозами DHEA і DHEA-S збільшується під час фізіологічного статевого дозрівання дітей у віці 6-8 років, і максимальні величини циркулюючого DHEA-S досягаються у віці між 20 років і 30 років. Після цього, сироваткові рівні DHEA і DHEA-S помітно зменшуються (Belanger et al. 1994). Фактично, при віці 70 років сироваткові рівні DHEA-S

зменшуються до приблизно 20 % їхніх максимальних величин, у той час як вони можуть мати зменшення на 95 % у віці 85-90 років (Belanger et al. 1994) і (Migeon et al., 1957). Це 70-95 % зменшення в утворенні DHEA і DHEA-S наднирковими залозами під час старіння приводить до істотного зменшення утворення андрогенів і естрогенів у периферійних тканинах-мішенях (Labrie, Belanger et al., 2006). Таке яскраво виражене зменшення в утворенні статевих стероїдних гормонів у периферійних тканинах може, імовірно, брати участь у патогенезі ряду асоційованих зі старінням захворювань.

Як згадувалося раніше, трансформація (перетворення) DHEA і DHEA-S в активні андрогени й/або естрогени в периферійних тканинах-мішенях залежить від рівня експресії різних стероїдогенних і метаболізуючих ферментів у кожному типі клітин (Labrie, 1991). З'ясування структури більшості цих тканеспецифічних генів, які кодують стероїдогенні ферменти, відповідальні за перетворення DHEA і DHEA-S на андрогени й/або естрогени, дозволило досягти швидкого прогресу в цій галузі (Labrie, Belanger et al. 1995; Labrie, Luu-The et al., 1997; Labrie, Simard et al., 1996; Labrie, Luu-The et al., 2005; Labrie, Poulin et al., Labrie, Luu-The, et al. 2000, Labrie, Sugimoto, et al. 1992, Labrie, Simard et al. 1992; Luu-The, et al. 1995; і Labrie, Durocher et al. 1995).

Результати, що показують присутність щодо високих рівнів метаболітів андрогенів у здорових жінок (Labrie, Belanger, et al. 1997; Labrie, Belanger et al., 2006; Labrie, and Belanger, et al. 2007b), у сильному ступені гадають, що андрогени грають головну фізіологічну, але усе ще недооцінювану роль у жінок. 44,5 %-не зменшення, що має місце в сироватковому DHEA у віці від 20-30 років до віку 40-50 років у жінок (Belanger et al., 2006) могло б цілком прийнятно пояснити розрідження кісток, що передують менопаузі. Дійсно, повідомлялося, що пов'язане з віком розрідження кісток (остеопороз) починається на четвертому десятку, і зміни в метаболізмі кісткової тканини були виявлені задовго перед менопаузою (Mazess 1982; Riggs, et al. 1981, and Johnston et al. 1985). Відповідно до цих відкриттів, щільність кісткової тканини була більш низькою при всіх ділянках, випробуваних у жінок, які класифікують як перименопаузальні (околоклімактеричні) (Steinberg, et al., 1989). Відповідно до цих відкриттів, зміни секреції попередника андрогену наднирковими залозами передують на 10-20 років зменшенню секреції естрогену яєчників, що різко припиняється при менопаузі (Labrie, Belanger, et al. 2006).

Важливо зрозуміти, що відбувається зменшення не тільки сироваткових DHEA і DHEA-S на 50 % між віком 21 рік і віком 50 років, але й подібне зменшення сироваткового тестостерону (Zumoff et al. 1995). Такі дані могли б цілком припускати, що гормональна замісна терапія з використанням андрогенів або їхнього попередника (попередників) повинна починатися рано в менопаузі для компенсації цього раннього зменшення секреції попередників андрогенів наднирковими залозами й паралельного зменшення в сироватковому тестостероні (Labrie, 2006).

Активні андрогени й естрогени, синтезовані в периферійних тканинах, проявляють їхню активність у клітинах їхнього походження, і відбувається дуже мала дифузія цих активних статевих стероїдних гормонів, що приводить до дуже низьких рівнів у кровообігу (кровообігу). Дійсно, як спостерігалось раніше (Labrie, Belanger et al., 1997) і підтверджується в даному винаході, найбільш разючі дії введення DHEA спостерігаються на циркулюючих рівнях глюкоронідних похідних метаболітів DHT, а саме, ADT-G і 3 $\alpha$ -діол-G, у той час як не спостерігаються значимі зміни або спостерігаються тільки мінорні зміни в сироваткових рівнях тестостерону, E1 або E2. Ці активні стероїди продукуються локально в периферійних інтракринних тканинах, які мають придатні стероїдогенні ферменти для синтезу DHT із присутніх у надниркових залозах DHEA і DHEA-S, а також ферменти, які перетворюють DHT у неактивні метаболіти ADT і 3 $\alpha$ -діол, які додатково модифікуються глюкоронідуванням (Belanger et al. 2003).

В одному недавньому дослідженні, щоденне пероральне введення 50 мг DHEA не робило значимої дії на сироватковий тестостерон або DHT, тоді як DHEA і ADT-G збільшувалися до подібного ступеня (80-90 %) (Arlt et al. 2001). В іншому дослідженні, сироваткові рівні DHEA-S перед введенням доз у постменопаузальних жінок збільшувалися від 0,55 мкг/мл до приблизно 1,4 мкг/мл (Casson et al. 1998) після перорального введення 25 мг DHEA протягом 6 місяців. Однак, сироваткові рівні DHEA і тестостерону, визначені через 23 години після останнього введення DHEA, не змінювалися значимо. Інше дослідження показало, що щоденна доза 50 мг DHEA приводить до сироваткових рівнів андрогену в передменопаузальному діапазоні (Buster et al. 1992).

Представлені дані ясно демонструють, що DHEA і DHEA-S перетворюються в специфічних периферійних інтракринних тканинах в активні андрогени й/або естрогени, які можуть проявляти їхні біологічні дії в місці їхнього синтезу без вивільнення або тільки з малим вивільненням

активних стероїдів у кровообіг. Таким чином, зміни сироваткових рівнів тестостерону, E1 або E2 не можуть бути використані як параметри перетворення DHEA в андрогени або естрогени (Labrie, Belanger et al., 2006). Дійсно, активні стероїди метаболізуються в тих же самих клітинах, у яких вони були синтезовані, і проявляють їхню дію в неактивних глюкуронідованих і сульфатованих метаболітах, які в остаточному підсумку дифундують у позаклітинний простір і можуть бути визначені в кровообігу (Labrie, Belanger et al., 2006; Labrie, Belanger et al., 1997 і Labrie, Belanger et al. 2007). Вимір кон'югованих метаболітів андрогенів є єдиним підходом, що дозволяє точно оцінити загальний пул андрогенів у жінок. Найбільше імовірно, що подібна ситуація існує й для естрогенів, хоча точна оцінка фармакокінетики метаболізму естрогенів і ідентифікація їхніх метаболітів ще вимагають установлення.

### Приклад 3

Клінічне дослідження ERC-210

Інтравагінальний DHEA, фізіологічне лікування вагінальної атрофії

Об'єкти та способи

Це дослідження є дослідженням фази III, проспективним (перспективним), багатоцентровим, рандомізованим, плацебоконтрольованим і подвійним сліпим дослідженням з 50 суб'єктами на кожну галузь дослідження (усього 200 суб'єктів). Таким чином, двісті постменопаузальних жінок рандомізували для одержання щоденної піхвової овули наступних концентрацій DHEA: 0,0 %, 0,25 % (3,25 мг DHEA), 0,5 % (6,5 мг DHEA) або 1,0 % (13 мг DHEA), що вводиться інтравагінально за допомогою інструмента для локального застосування лікарського засобу. Це дослідження ділили на дві фази, а саме, скринінг із наступним періодом лікування (обробки) із тривалістю 12 тижнів.

Критерії включення (у дослідження) були наступними:

- Постменопаузальні жінки, які задовольняють а або b або c:

- а. Відсутність менструальних циклів протягом щонайменше одного року; або

- b. Рівні FSH > 40 mIU/мл (у межах 60 днів перед удень 1) у жінок без менструального циклу протягом >6 місяців, але < 12 місяців, або жінок, підданих гістеректомії, які були передменопаузальними в момент гістеректомії; або

- c. Шість тижнів або більше (візит у скринінгу) після білатеральної оофороектомії.

- Жінки, які самі виявили щонайменше один помірний – важкий симптом з наступних симптомів:

- Вагінальної сухості (відсутньої, легкої, помірної або важкої).

- Вагінального й/або вульварного подразнення/сверблячки (відсутнього, легкого, помірного або важкого).

- Вагінального болю, асоційованого зі статевою активністю (відсутньої, легкої, помірної або важкої).

Жінки повинні ідентифікувати, який симптом їх найбільш турбує перед початком лікування. Зміна цього симптому буде простежуватися й буде служити для оцінювання ефекту лікування.

- Жінки у віці між 40 і 75 роками.

- Готові брати участь і що підписали інформовану згоду.

- Жінки, що мають низький індекс зрілості (не більш, ніж 5 % поверхневих клітин на вагінальному мазку).

- Жінки, що мають вагінальний pH вище 5.

- Нормальна маммографія в межах 9 місяців від початку дослідження.

- Нормальне дослідження молочної залози.

- Нормальний мазок PAP (який містить у собі запальні зміни) у межах останніх 12 місяців (день 1). Для жінок, підданих гістеректомії, мазок буде складатися щонайменше з одного предметного скла.

- Відсутність колишніх або наявних до даного моменту наркотичної адикції або алкоголізму.

- Маса тіла в межах 18,5-35 ідеальної маси тіла відповідно до індексу маси тіла (BMI) (WHO).

- Відсутність гепатичного або ренального порушення або стану, про який відомо, що він впливає на метаболізм лікарських засобів або стероїдів.

- Нормальні фонові гематологія, клінічна хімія й аналіз сечі.

- Негативна серологія на ВІЧ1/ВІЧ2 і гепатит В і С.

Критеріями виключення були:

- Недіагностована атипова генітальна кровотеча.

- Колишня діагностика раку, за винятком раку шкіри (не меланоми).

- Ендометріальна гіперплазія при біопсії, виконаної при скринінгу, або рак ендометрію.

- Активне або анамнестичне тромбоемболічне захворювання.

- Істотне метаболічне або ендокринне захворювання.



- Клінічно значиме шлунково-кишкове захворювання захворювання печінки або жовчного міхура.
  - Рекурентний головний біль (мігрень), не контрольований загальноприйнятою терапією.
  - Цукровий діабет, не контрольований загальноприйнятою терапією.
  - 5 - Істотне ускладнення при попередній гормональній терапії.
  - Застосування тільки естрогена в якості ін'єкційної лікарської терапії або імплантату прогестину в межах 3 місяців перед вступом у дослідження (візит у скринінгу).
  - Застосування кульки естрогена або ін'єктуємого прогестинового лікарського в межах 6 місяців перед вступом у дослідження.
  - 10 - Піддавання пероральному введенню естрогену, прогестину або піддавання дії DHEA або внутріматкової прогестинової терапії протягом восьми тижнів перед оцінюваннями тла.
  - Вагінальні гормональні продукти (кільця, креми або гелі) або трансдермальний естроген один або продукти естроген/прогестин у межах 4 тижнів перед оцінюваннями тла. Пацієнти можуть бути піддані вимиванню в такий спосіб, але після необхідного періоду вимивання вони повинні відповісти на питання опросника по вагінальної атрофії:
  - 15 - Щонайменше восьмитижневий період вимивання для колишньої пероральної терапії з використанням естрогену, DHEA і/або прогестину.
  - Щонайменше чотиритижневий період вимивання для колишньої трансдермальної гормональної терапії.
  - 20 - Щонайменше чотиритижневий період вимивання для гормональної замісної терапії вагінальної сухості, що доставляється локально.
  - Щонайменше 6 місяців для колишньої терапії ін'єкційної лікарської терапії з використанням кульки естрогену або прогестину.
  - Вісім тижнів або більше для колишньої внутріматкової терапії з використанням прогестину.
  - 25 - Шість місяців або більше для колишніх імплантатів прогестину та ін'єкційної лікарської терапії з використанням тільки естрогену.
  - Колишнє лікування андрогенами або анаболічними стероїдами в межах 3 місяців перед візитом для скринінгу.
  - Пероральне лікування кортикостероїдами в межах шести тижнів від початку дослідження.
  - 30 - Не дозволяється тривале застосування кортикостероїдів (дозволяється періодичний назальний спрей або місцеве нанесення на шкіру, в очі або вуха).
  - Серцева недостатність або прояви коронарної хвороби серця.
  - Гіпертензія, рівна або перевищуюча 160/95 мм рт. стовпа або не контрольована стандартною терапією.
  - 35 - Підтверджена клінічно значима депресія або підтверджена історія важкого психіатричного розладу.
  - Введення будь-якого досліджуваного лікарського засобу в межах 30 днів візиту в скринінгу.
  - Клінічно релевантна атипічна біохімія сироватки або гематологія.
  - Фонова цервикальна цитологія, що показує ушкодження плоскоклітинного епітелію низького ступеня (LGISIL) або гіршу картину.
  - 40 - Паління більш, ніж 10 цигарок на день.
  - Лікарські засоби, які заважають метаболізму естрогенів (наприклад, кетоконазол, інгібітори утворення або дії стероїдів).
  - SERM або лікарський засіб, взаємодіючий з рецепторами стероїдів.
  - 45 - Відома або пальпується присутність фіброми матки при гінекологічному обстеженні.
  - Порушення згортання крові або антикоагулянтна лікарська терапія.
- Лабораторні тести
- Звичайні лабораторні тести, а саме, гематологія (у тому числі клінічний аналіз крові й коагуляцію), хімію крові й аналіз сечі виконували при всіх візитах. Сироватковий FSH повинен
- 50 був вимірятися тільки в жінок, які не мали менструального циклу протягом  $\geq 6$  місяців, але  $\leq 12$  місяців, або які були передменопаузальними в момент гістеректомії. Сироваткові рівні стероїдів DHEA, DHEA-S, андрост-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діолу (5-діолу), дигідротестостерону (DHT), тестостерону (тесто), андростендіону (4-діону), естрогену (E<sub>1</sub>), естрадіолу (E<sub>2</sub>), E<sub>1</sub>-S, глюкуроніду андростерону (ADT-G), андростан-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -діол-3G (3 $\alpha$ -діол-3G) і 3 $\alpha$ -діол-17G вимірювали в Лабораторії Молекулярної Ендокринології, Дослідницького Центра CHUL мас-спектрометрією, як описано (Labrie, Belanger et al. 2006; Labrie, Belanger et al. 2007; Labrie, Cusan et al. 2008).
- 55 Рівень вагінального pH і вагінальна цитологія
- Для індексу зрілості й мазка Папаніколау (PAP), всі проби були досліджені цитопатологоанатомом (Dr. Robert Dube, Department of cytology-pathology, Enfant-Jesus Hospital, Quebec City, Canada), якому не були відомі схеми лікування. Рахунок 100 клітин виконували для
- 60

класифікації клітин як поверхневі (S), проміжні (I) і парабазальні (P) типи клітин плоского епітелію (Meisels 1967; Wied 1993).

Вагінальні мазки одержували зіскрібком середньої третини бічної стінки вагіни округленим кінцем шпателя Ayre. Потім цей матеріал наносили на скляне предметне скло й негайно фіксували Spray-Cyte. Ці проби відсилали в центральну лабораторію для визначення індексу зрілості.

Вагінальний pH вимірювали прикладанням індикаторної смужки pH безпосередньо до бічної стінки вагіни пінцетом. Для мазка Папніколау - якщо його не виконували протягом останніх 12 місяців, зразки одержували з ендocerвіксу (слизової оболонки каналу шийки матки), екзоцервіксу та склепіння піхви й негайно фіксували цитоспреєм. Ці зразки збирали шпателем Ayre.

Ендоетріальна біопсія

Ендоетріальну біопсію виконували в скринінгу й на 3 місяці наприкінці дослідження. Всі біопсії обстежувалися тим самим патологоанатомом у центральній лабораторії (Dr. Robert Dube, Department of cytology-pathology, Infant-Jesus Hospital, Quebec City, Canada).

Вагінальне обстеження

У тих же самих часових інтервалах 2, 4, 8 і 12 тижнів, гінеколог або лікар, відповідальний за це дослідження в кожній ділянці, виконували обстеження вагіни для того, щоб оцінити ступінь важкості (відсутньої, легкої, помірної або важкої, проаналізованої з використанням величин 0, 1, 2 і 3, відповідно) на основні симптоми вагінальної атрофії, а саме, вагінальні секрети, кольори вагіни, цілісність вагінального епітелію й товщина поверхні вагінального епітелію. Як можна бачити на Фігурах 26-29, спостерігалось залежне від часу, залежне від дози й статистично значиме поліпшення всіх чотирьох ознак вагінальної атрофії. Дійсно, сприятливі ефекти, які спостерігаються гінекологом і/або лікарем, поєднують з ефектами, які повідомляються жінками у відношенні симптомів, які їх найбільш турбують.

Вагінальне обстеження виконували в скринінгу й потім у день 1 і в тижні 2, 4, 8 і 12. Вагінальні секрети, кольори вагіни, цілісність вагінального епітелію й товщину поверхні вагінального епітелію оцінювали у відповідності з наступними ступенями важкості: відсутня, легка, помірна або важка. Ці визначення важкості були наступними:

а) Вагінальні секрети

Відсутність атрофії: нормальні прозорі секрети, відзначені на вагінальних стінках.

Легка: Поверхнєве покриття секретів, труднощі вставляння дзеркала.

Помірна: Недостатній секрет, що не покриває весь звід вагіни, може вимагатися змазування при вставлянні дзеркала для запобігання болю.

Важка: Відсутність секрету, збуджена вагіна з помітною виразкою, потрібне змазування при вставлянні дзеркала для запобігання болю.

б) Цілісність вагінального епітелію

Відсутність атрофії: Нормальна.

Легка: Вагінальна поверхня кровоточить при зіскрібку.

Помірна: Вагінальна поверхня кровоточить при легкому контакті.

Важка: Вагінальна поверхня має капілярні крововиливи (петехії) перед контактом і кровоточить при легкому контакті.

с) Товщина вагінальної епітеліальної поверхні

Відсутність атрофії: Складчастість і еластичність зводу вагіни.

М'яка: Слабка складчастість із відзначеною деякою еластичністю зводу вагіни.

Помірна: Гладка, деяка еластичність зводу вагіни.

Важка: Гладка, з відсутністю еластичності, стиску верхньої 1/3 вагіни або втрата вагінального тону (грижа сечового міхура й ректоцеле (випадання прямої кишки)).

д) Кольори вагіни

Відсутність атрофії: Рожевий.

Легка: Світліше по кольорах.

Помірна: Блідше по кольорах.

Важка: Прозора, або безбарвна, або збуджена.

Статистика

Будуть вироблятися сумарні табулювання (відомості в таблиці), які представляють ряд спостережень, середнє або геометричне середнє, як буде доцільно, стандартне відхилення, стандартну помилку середнього, 95 % двосторонній довірчий інтервал (CI), медіану, мінімум і максимум для безперервних змінних і кількості і відсоток на категорію для категоричних даних. Статистичні аналізи виконують при двосторонньому рівні значимості 0,05, якщо немає іншої

вказівки. Ці категорії для підсумовування будуть в основному складатися з рівнів доз DHEA-обробок, 0 % плацебо, 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA.

Первинні кінцеві точки для аналізу будуть складатися з наступні:

Статистично значимого поліпшення помірного - важкого симптому, ідентифікованого жінкою-суб'єктом як такого, що найбільш її турбує. Ця важкість симптомів заснована на симптомах важкості, що збільшується: відсутньої, легкої, помірної або важкої. Ці оцінки будуть аналізуватися з використанням величин 0, 1, 2 і 3, відповідно; всі суб'єкти повинні мати щонайменше один фоновий симптом, що класифікується як 2 або 3. Симптомами, що представляють інтерес, є сухість вагіни, вагінальне й/або вульварне подразнення/сверблячка й вагінальний біль, асоційований зі статевою активністю.

Статистично значиме зменшення кількості парабазальних клітин і статистично значиме збільшення кількості поверхневих клітин. Ці дані вимірюють у відсотках. Буде також розраховуватися величина зрілості.

Статистично значиме зниження вагінального pH.

Аналіз популяцій

Призначена для лікування (Intent-to-Treat (ITT)) популяція буде складатися із суб'єктів, що піддають лікуванню, з оцінюванням тла й щонайменше одним оцінюванням ефективності після тла. Суб'єкти, які одержували неправильне лікування, будуть аналізуватися як рандомізовані. Цей аналіз популяції повинен розглядатися як первинний аналіз популяції. Суб'єкти в цій популяції, які позбавлені спостережень після тла, будуть мати цю останню величину, просунуту для аналізів ефективності.

Популяція на протокол (PP) складається із субпопуляції цієї обробленої популяції, що завершує це дослідження через часову точку 12 тижнів без порушень основного протоколу, які, як вважається, порушують дані ефективності. Головні порушення протоколу будуть визначатися перед розкриттям сліпого дослідження, на основі огляду переліків даних і моніторингу повідомлень про відхилення від протоколу. Суб'єкти в Рр-популяції повинні одержувати щонайменше 90 % необхідної кількості застосувань обробки дослідження в зазначеній протоколом тривалості для цього суб'єкта, на основі даних щоденника цього суб'єкта. Суб'єкти в Рр-популяції повинні точно дотримувати схеми вікон візитів: (3 дні для дня 14 і (7 днів для тижнів 4, 8 і 12. Суб'єкти, які одержували неправильне лікування, але для яких це одержуване лікування може бути недвозначно підтверджено, будуть аналізуватися в Рр-популяції, що як лікувалися, за умови, що вони не мають інших порушень, які компрометують ці дані. Рр-популяція буде підтримуючою популяцією для аналізу даних ефективності.

Популяція надійності буде визначатися як всі суб'єкти, які одержують введення будь-якого тест-виробу (DHEA у будь-якій дозі або плацебо) і які мають доступну інформацію надійності. Всі аналізи даних надійності будуть ґрунтуватися на цій популяції. Аналіз буде ґрунтуватися на фактично отриманому лікуванні.

Оцінювання ефективності

Аналізи ефективності будуть виконуватися первинно на популяції ITT, і популяція Per-Protocol буде забезпечувати підтримуючі аналізи ефективності. Метою цього первинного дослідження є оцінювання реакції доза-відповідь параметрів слизової оболонки вагіни для локальної дії DHEA у постменопаузальних жінок, що страждають від вагінальної атрофії, зокрема, визначенням мінімальної дози DHEA, що робить максимальну дію на слизову оболонку вагіни. Цими до-первинними кінцевими точками для досягнення цієї мети є зменшення парабазальних клітин, зменшення вагінального pH, збільшення поверхневих клітин (разом, ці кінцеві точки будуть називатися фізіологічними параметрами) і повідомлений самим суб'єктом симптом, який їх найбільш турбує, що включає в себе вагінальну сухість, вагінальний і/або вульварний сверблячка/подразнення й вагінальну біль, асоційований з статевою активністю (разом, ці кінцеві точки будуть називатися параметрами-балами симптому). Крім цих первинних кінцевих крапок, буде також розраховуватися величина зрілості. Повідомлювані суб'єктом оцінки симптому будуть наступними величинами: відсутність симптому, легка, помірний або важкий, з використанням при аналізі величин 0, 1, 2 або 3, відповідно. Всі кінцеві точки повинні демонструвати статистично значимі ефекти відносно плацебо, і, отже, для множинних кінцевих крапок не потрібна статистична корекція.

Первинною часовою точкою для аналізу буде 12-тижневе оцінювання, з додатковими поданнями даних для 2, 4 і 8 тижнів. Зміна від тла до оцінки після тла буде використатися для аналізу, так само як це розходження із плацебо.

Результати

Оскільки парабазальні клітини є звичайно переважною категорією у вагінальному мазку постменопаузальних жінок, що страждають щонайменше від одного помірного - важкого

симптому вагінальної атрофії, на Фігурі 22 і в таблиці 6 можна бачити, що вже при 2 тижнях лікування найнижча доза DHEA (0,25 %) зменшувала % парабазальних клітин на  $29,5 \pm 0,51$  % від 56,0 до 26,5 %, тоді як зменшення  $37,8 \pm 0,46$  % і 36,6 % спостерігали, відповідно, з дозами 0,5 % і 1,0 % DHEA при тім же самому часовому інтервалі. При стандартній тривалості 12 тижнів лікування спостерігали зменшення  $39,5 \pm 0,57$  % ( $p < 0,000001$ ),  $45,6 \pm 0,55$  % ( $p < 0,000001$ ) і  $45,2 \pm 0,53$  % ( $p < 0,000001$ ) з дозами DHEA 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA, відповідно, у той час як не спостерігали значимої дії в групі плацебо при будь-якому часовому інтервалі.

У той час як у групі плацебо не спостерігали значимої дії протягом 12 тижнів на %-ву зміну поверхневих клітин (таблиця 6), були визначені збільшення  $3,96$  (0,10 % ( $p = 0,0002$ ),  $6,71$  (0,14 % ( $p = 0,00001$ ) і  $5,92 \pm 0,12$  % ( $p = 0,00001$ ) у групах 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % DHEA, відповідно. Можна також бачити, що при дозі 0,5 % DHEA, 48,0 % максимальний ефект досягався при 2 тижнях, у той час як при 4 і 8 тижнях досягався максимальний ефект 84,8 % і 99,0 %. При дозі 1,0 % DHEA максимальний ефект досягався вже при 2 тижнях. Фіг. 23 ілюструє абсолютні величини % поверхневих клітин при різних дозах DHEA і часових інтервалах.

Вагінальний pH зменшувався при 12 тижнях на  $0,47 \pm 0,11$  від  $6,52$  (0,13 одиниць pH у групі плацебо (таблиця 6, Фіг. 24), у той час як спостерігали зменшення  $1,12 \pm 0,11$  ( $p = 0,0005$ ) від  $6,49 \pm 0,12$ ,  $1,35 \pm 0,3$  від  $6,56 \pm 0,13$ ,  $1,35 \pm 0,13$  від одиниць pH  $6,56 \pm 0,13$  одиниць pH і  $1,39$  (0,14 від  $6,34 \pm 0,3$  одиниць pH в оброблених 0,25 %, 0,50 % і 1,0 % DHEA групах, відповідно (таблиця 7). У тій же самій таблиці можна бачити, що при дозі 0,5 % DHEA, максимальна дія на pH  $70,6$  % і  $94,1$  % (зменшення 1,36 одиниць pH) досягалося при 2 і 4 тижнях лікування, відповідно. З іншого боку, низька доза 0,25 % DHEA давала тільки 83,0 % максимальної дії дози 0,5 % DHEA при 12 тижнях. Не спостерігали значимого розходження в зміні pH між дозами 0,50 % і 1,0 % DHEA при 4, 8 і 12 тижнях (таблиця 7). Фіг. 24 ілюструє абсолютні величини pH при різних дозах DHEA і часових інтервалах.

Усе жінки повинні були при вступі в дослідження мати один або декілька з наступних симптомів вагінальної атрофії, оцінюваних ними самими як помірні - важкі: сухість вагіни, вагінальне або вульварне подразнення/сверблячка або вагінальний біль при статевій активності. Самостійно ідентифіковані жінками симптоми, повідомлювані як відсутній, помірні або важкі, аналізували з використанням величин 0, 1, 2 і 3, відповідно. Як показано в таблиці 8, при 12-тижневому інтервалі важкість симптому, який найбільш турбує зменшувалася на  $0,67 \pm 0,15$  у групі плацебо,  $1,27 \pm 0,16$  у групі 0,25 % DHEA ( $p = 0,004$  проти плацебо),  $1,56 \pm 0,15$  у групі, що одержує 0,5 % DHEA ( $p < 0,0001$  проти плацебо) і  $1,37 \pm 0,14$  у групі, що одержує більше високу 1,0 % дозу DHEA ( $p = 0,0008$  проти плацебо). Фіг. 25 ілюструє ступінь участі симптому, який найбільш турбує при різних дозах DHEA і часових інтервалах. Вагінальна сухість, біль, пов'язаний з статевою активністю й вагінальне й/або вульварне подразнення/сверблячка були ідентифіковані як симптом, який найбільш турбує. У групі плацебо вагінальна сухість становила % поліпшень, відмічених учасниками.

Як показано на Фіг. 25, поліпшення цього симптому, який найбільш турбує, було вже з високою значимістю яка становила ( $p = 0,004$ ) при дозі 0,25 % DHEA. Відсоток жінок з відсутністю зміни або з погіршенням оцінки (у балах) 1 при 12 тижнях змінювався від 53,5 % у групі плацебо до 27,5 %, 17,8 % і 19,6 % у групах 0,25 %, 0,5 % і 1,0 %, відповідно (таблиця 9). Поліпшення на 2 або 3 категорії важкості спостерігали в 21,8 % жінок, оброблених плацебо, тоді як 50,0 %, 53,3 % і 47,9 % жінок, які одержували 0,25 %, 0,5 % і 1,0 % препарати DHEA, повідомляли таке важливе поліпшення. Тільки 4,6 % жінок виявляли зменшення від важкого до відсутнього в групі плацебо в порівнянні з 7,5 %, 20 % і 10,9 % у тих же самих оброблених DHEA групах.

При тих же самих часових інтервалах 2, 4, 8 і 12 тижнів, гінеколог або лікар, відповідальні за це клінічне дослідження, у кожній крапці дослідження виконували вагінальне обстеження для того, щоб оцінити ступінь важкості (відсутньої, легкої, помірної або важкої, аналізованої з використанням величин 0, 1, 2 і 3, відповідно) на основні ознаки вагінальної атрофії, а саме, вагінальні секрети, кольори вагіни, цілісність епітелію вагіни й товщину епітеліальної поверхні вагіни. Як можна бачити на Фігурах 26-29, спостерігали залежне від часу й залежне від дози, а також високо статистично значиме поліпшення всіх чотирьох симптомів вагінальної атрофії. Дійсно, сприятливі дії, які спостерігаються гінекологом або лікарем, майже співпадають із діями на ті симптоми самостійно повідомлені жінками, які їх найбільш турбують, а також з діями на вагінальні парабазальні й поверхневі клітини й pH, які є об'єктивними параметрами дії DHEA.

Фігури 30 і 31 ілюструють середні 24-вартові (розраховані з величин  $AUC_{0-24\text{год}}$ , визначених у дні 1 і 7 лікування) рівні сироваткових стероїдів DHEA і одинадцяти його метаболітів, узяті з недавнього дослідження (Labrie, Cusan et al. 2008). Можна бачити, що тільки сироваткові DHEA і 5-діол (і 4-діон у день 1) збільшуються значимо, але в межах границь величин, що виявляють у

постменопаузальних жінок (Labrie, Belanger et al. 2006). Відсутнє значима дія на сироваткові естрогени ( $E_1$ ,  $E_2$  і  $E_1$ ), а також на сироваткові андрогени (тестостерон і DHT).

Таблиця 6

Зміна від дня 1 в % парабазальних і поверхневих клітин під час локального лікування дозами, що збільшуються, DHEA\*

	2 тижні	4 тижні	8 тижнів	12 тижнів
<b>Парабазальні клітини</b>				
0.0 % DHEA	+ 3,6±0,32	+0,02±0,32	-1,17±0,37	+ 1,04±0,35
0.25 % "	-29,5±0,51	-38,4±0,51	-40,3±0,55	-39,5±0,57
0.50 % "	-37,8±0,46	-43,4±0,50	-47,8±0,49	-45,6±0,55
1.0 %	-36,6±0,50	-42,5±0,51	-43,7±0,50	-45,2±0,53
<b>Поверхневі клітини</b>				
0.0 % DHEA	0,10±0,03	0,37±0,03	0,40±0,03	0,53±0,05
0.25 % "	2,32±0,07	3,38±0,08	3,42±0,09	3,96±0,10
0.50 % "	3,22±0,05	5,69±0,09	6,64±0,11	6,71±0,14
1.0 %	6,26±0,16	6,64±0,14	6,88±0,16	5,92±0,12

\* середнє ± SEM

Таблиця 7

Зміна від дня 1 вагінального pH під час локального лікування дозами DHEA\*, що збільшуються

Доза DHEA	2 тижні	4 тижні	8 тижнів	12 тижнів
0.0 % DHEA	-0,23±0,08	-0,37±0,09	-0,51±0,10	-0,47±0,11
0.25 % "	-0,76±0,12	-0,93±0,12	-1,09±0,10	-1,12±0,11
0.50 % "	-0,96±0,14	-1,28±0,12	-1,36±0,12	-1,35±0,13
1.0 %	-1,13±0,12	-1,30±0,12	-1,41±0,12	-1,39±0,14

\* середнє ± SEM

5

Таблиця 8

Зміна симптомів вагінальної атрофії, які найбільш турбують від 1 дня під час локального лікування дозами DHEA\*, що збільшуються

Доза DHEA	2 тижні	4 тижні	8 тижнів	12 тижнів
0.0 % DHEA	-0,49±0,16	-0,79±0,16	-0,61±0,16	-0,67±0,15
0.25 % "	-0,70±0,17	-1,11±0,16	-1,19±0,16	-1,27±0,16
0.50 % "	-0,98±0,15	-1,36±0,15	-1,37±0,17	-1,56±0,15
1.0 %	-1,00±0,15	-1,29±0,14	-1,38±0,17	-1,37±0,14

\* середнє ± SEM

Зміна симптомів, які найбільш турбують від 1 дня протягом 12 тижнів лікування 0 % (плацебо), 0,25 %, 0,50 % і 1,0 % DHEA. Зміна від однієї категорії (важка (помірна (легка (відсутня) береться за -1, тоді як зміна на 2 категорії дорівнює -2, і т.ін.

Таблиця 9

Зміна категорії	-3	-2	-1	0	+ 1
Дози	% жінок				
0.0 % DHEA	4,65	16,3	25,6	48,8	4,65
0.25 % "	7,50	42,5	22,5	25,0	2,50
0.50 % "	20,0	33,3	28,9	17,8	0,0
1.0 % "	10,9	37,0	32,6	17,4	2,17

\* середнє  $\pm$  SEM

#### ПРИКЛАДИ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ КОМПОЗИЦІЙ

- 5 Нижче представлені, як приклад, а не як обмеження, кілька фармацевтичних композицій, що використовують кращий попередник активних статевих стероїдних гормонів DHEA. Концентрація активного інгредієнта може варіюватися протягом великого діапазону, як обговорювалося тут. Кількості й типи інших інгредієнтів, які можуть бути включені, добре відомі в даній галузі.

Приклад А

Вагінальна або пероральна таблетка

10

Інгредієнт	Маса в % (розраховуючи на масу всієї композиції)
DHEA	5,0
Желатин	6,5
Лактоза	70,5
Крохмаль	18,0

Приклад В

1,3 мл-вагінальний супозиторій

Інгредієнт	Маса в % (розраховуючи на масу всієї композиції)
DHEA	0,50
Whitepsol H-15 base	99,50

15

Супозиторії DHEA готували з використанням як основу Whitepsol H-15 base (доступного з Medisca, Montreal, Canada). Може бути використана будь-яка інша ліпофільна основа, така як, але не тільки, масло, масло-какао, Cotomarg, Dehydarg Base, Fattibase, HexaDne Base 95, Hydrokote, Suppocire, Wecobee, масло какао, Japocire, Ovucire, Massa Estarinum або інші комбінації попередніх компонентів.

20

Приклад С

Вагінальний або крем, який наноситься локально

Інгредієнт	Маса в % (розраховуючи на масу всієї композиції)
DHEA	1,0
Емульгуючий віск	18,0
Легка мінеральна олія	12,0
Бензиловий спирт	1,0
Етанол 95 % USP	34,0
Очищена вода, USP	34,0

25

Вагінальна або пероральна желатинова капсула

Інші попередники статевих стероїдних гормонів можуть бути використані замість DHEA у вищевказаних препаратах. Можуть бути включені декілька попередників, причому в цьому випадку комбінованим мас. % є переважно мас. % для окремого попередника, зазначений у наведених вище прикладах.

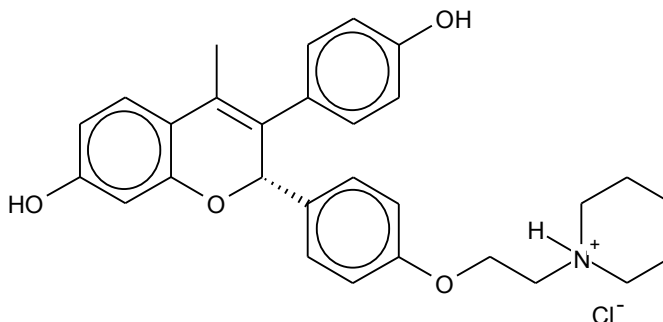
Цей винахід був описаний у вигляді кращих варіантів здійснення й прикладів, але не обмежується ними. Кваліфікованим у даній галузі фахівцям будуть зрозумілі більше широка застосовність і обсяг цього винаходу, що обмежується тільки наведеною далі формулою винаходу.

5

# ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Застосування попередника статевого стероїдного гормону, вибраного із групи, яка складається з дегідроепіандростерону, сульфату дегідроепіандростерону, андрост-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діолу й 4-андростен-3,17-діону, для лікування та/або зменшення вірогідності набутих вагінальних симптомів або захворювань, вибраних з нетримання сечі, вагінальної атрофії, атрофічного вагініту, вагінальної сухості, диспареунії та сексуальної дисфункції у постменопаузних жінок, шляхом інтравагінального введення жінкам зазначеного попередника статевого стероїдного гормону у терапевтичній кількості 13 мг/день або менше.
2. Застосування за п. 1, яке **відрізняється** тим, що зазначена терапевтична кількість збільшує рівень циркулюючих у кровотоці метаболітів андрогенів без збільшення циркулюючого рівня естрадіолу вище за величини, які виявляються у здорових постменопаузальних жінок, для уникнення ризику раку молочної залози та раку матки.
3. Застосування за п. 1 або 2, яке **відрізняється** тим, що зазначена терапевтична кількість попередника статевого стероїдного гормону становить 6,5 мг/день або менше.
4. Застосування за пп. 1, 2 або 3, яке **відрізняється** тим, що середній рівень циркулюючого естрадіолу протягом 24 годин знаходиться нижче 10 пг/мл.
5. Застосування за будь-яким з пп. 1-4, яке **відрізняється** тим, що попередник статевого стероїдного гормону вводять через препарат для інтравагінального введення, вибраний з групи, яка складається з крему, лосьйону, гелю, мазі, піхвової овули, супозиторія, кільця, пластиру пролонгованого вивільнення і т. ін.
6. Застосування за п. 1, яке **відрізняється** тим, що попередник статевого стероїдного гормону складений для роздільного, послідовного або спільного введення жінкам терапевтично ефективної кількості селективного модулятора естрогенного рецептора (SERM) як частини комбінаторної терапії.
7. Застосування (а) попередника статевого стероїдного гормону, вибраного із групи, яка складається з дегідроепіандростерону, сульфату дегідроепіандростерону, андрост-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діолу й 4-андростен-3,17-діону, і (b) SERM, для зменшення ризику раку молочної залози та раку матки, який зазвичай існує для постменопаузальних жінок, і для запобігання розрідженню кісток, накопичення жиру й діабету типу 2, для виробництва лікарського засобу для лікування та/або зменшення вірогідності набутих симптомів або захворювань у постменопаузальних жінок, вибраних з нетримання сечі, вагінальної атрофії, атрофічного вагініту, вагінальної сухості, диспареунії та сексуальної дисфункції, причому зазначений лікарський засіб адаптований для інтравагінального введення жінкам зазначеного попередника статевого стероїдного гормону у терапевтичній кількості 13 мг/день або менше та зазначений лікарський засіб застосовний для роздільного, послідовного або спільного введення попередника стероїдного статевого гормону та SERM як частини комбінаторної терапії.
8. Застосування за п. 6 або 7, яке **відрізняється** тим, що SERM має наступну хімічну структуру:

Аколбіфен (ЕМ-652; НС1; ЕМ-1538)



45

9. Застосування за п. 6 або 7, яке **відрізняється** тим, що зазначена терапевтична кількість попередника статевого стероїдного гормону дорівнює 6,5 мг на день або менше.
10. Застосування за будь-яким з пп. 6-9, яке **відрізняється** тим, що середній рівень циркулюючого естрадіолу протягом 24 годин є нижчим 10 пг/мл.
11. Застосування за будь-яким з пп. 6-10, яке **відрізняється** тим, що попередник статевого стероїдного гормону вводять через препарат для інтравагінального введення, вибраний з групи,

50

яка складається з крему, лосьйону, гелю, мазі, піхвової овули, супозиторія, кільця, пластиру пролонгованого вивільнення і т. д.

12. Застосування за будь-яким з пп. 1-11, яке **відрізняється** тим, що попередником статевого стероїдного гормону є дегідроепіандростерон.

5 13. Застосування за будь-яким з пп. 1-12, яке **відрізняється** тим, що зазначена терапевтична кількість попередника статевого стероїдного гормону дорівнює 3,25 мг на день або менше.

14. Застосування за п. 1, яке **відрізняється** тим, що зазначений попередник стероїдних гормонів являє собою дегідроепіандростерон.

10 15. Застосування за будь-яким з пп. 1-14, яке **відрізняється** тим, що попередник статевого стероїдного гормону вводять у формі одиничної дози.

16. Застосування за п. 15, яке **відрізняється** тим, що разова доза містить порцію крему, лосьйону, гелю, мазі і т. п.

15 17. Фармацевтична композиція для інтравагінального введення жінкам, яка містить 13 мг або менше попередника статевого стероїдного гормону, вибраного з групи, яка складається з дегідроепіандростерону, сульфату дегідроепіандростерону, андрост-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діолу й 4-андростен-3,17-діолу, та фармацевтично-прийнятний експіцієнт, розріджувач або носій.

18. Фармацевтична композиція за п. 17, яка **відрізняється** тим, що містить 3-13 мг попередника статевого стероїдного гормону.

20 19. Фармацевтична композиція за п. 17 або 18, яка **відрізняється** тим, що експіцієнт, дилуент або носій вибрані з групи, яка складається з чистих або змішаних природних або напівсинтетичних три-, ди- або моногліцеридів насичених, ненасичених або гідрогенізованих жирних кислот; олій, пальмової, пальмоядрової олій, частково гідрогенізованої бавовняної та кокосової олій та їх тригліцеридних похідних; гідрогенізованих жирних спиртів та ефірів; поліоксистеарату; перегрупованих гідрогенізованих рослинних олій; складних тригліцеридних ефірів; Твіну 61; масла какао та комбінації цих компонентів.

25 20. Фармацевтична композиція за пп. 17-19, яка **відрізняється** тим, що є у формі крему, розчину, лосьйону, гелю, мазі і т. п. та яка розділена на одну або більше порцій, що містяться в одиничній дозі.

30 21. Фармацевтична композиція за п. 20, яка **відрізняється** тим, що одинична доза містить 13 мг або менше попередника статевого стероїдного гормону.

22. Фармацевтична композиція за п. 20, яка **відрізняється** тим, що одинична доза містить 3-13 мг попередника статевого стероїдного гормону.

35 23. Вагінальний супозиторій, який містить попередник стероїдного гормону відносно загальної ваги супозиторію, вибраний з групи, яка складається з дегідроепіандростерону, сульфату дегідроепіандростерону, андростен-5-ен-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -діолу та 4-андростен-3,17-діолу, та фармацевтично прийнятний експіцієнт, прийнятний для вагінального введення жінкам, в якому попередник статевого стероїдного гормону присутній у кількості не більше 13 мг.

24. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 6,5 мг попередника стероїдного гормону.

40 25. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 3,25 мг попередника стероїдного гормону.

26. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 3-13 мг попередника стероїдного гормону.

45 27. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 3-13 мг зазначеного попередника стероїдного гормону та додатково ліпофільний експіцієнт.

28. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 3-13 мг зазначеного попередника стероїдного гормону та експіцієнт, що містить складні ефіри насичених жирних кислот.

50 29. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 3-13 мг зазначеного попередника стероїдного гормону та експіцієнт, що містить суміш моногліцеридів, дигліцеридів та тригліцеридів C<sub>10-18</sub> насичених жирних кислот, в якій головним компонентом за вагою є лаурилтригліцерид.

30. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 13 мг зазначеного попередника стероїдного гормону та ліпофільний експіцієнт.

55 31. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 13 мг зазначеного попередника стероїдного гормону та експіцієнт, що містить складні ефіри насичених жирних кислот.

32. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 13 мг зазначеного попередника стероїдного гормону та експіцієнт, що містить суміш моногліцеридів, дигліцеридів



та тригліцеридів C<sub>10-18</sub> насичених жирних кислот, в якій головним компонентом за вагою є лаурилтригліцерид.

33. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 6,5 мг зазначеного попередника стероїдного гормону та ексципієнт, що містить складні ефіри насичених жирних кислот.

34. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 6,5 мг зазначеного попередника стероїдного гормону та ексципієнт, що містить суміш моногліцеридів, дигліцеридів та тригліцеридів  $C_{10-18}$  насичених жирних кислот, в якій головним компонентом за вагою є лаурилтригліцерид.

10 35. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 3,25 мг зазначеного попередника стероїдного гормону та ексципієнт, що містить складні ефіри насичених жирних кислот.

36. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 3,25 мг зазначеного попередника стероїдного гормону та ексципієнт, що містить суміш моногліцеридів, дигліцеридів та тригліцеридів C<sub>10-18</sub> насичених жирних кислот, в якій головним компонентом за вагою є лаурилтригліцерид.

37. Вагінальний супозиторій за будь-яким з пп. 23-36, який **відрізняється** тим, що ексципієнтом є Witepsol H-15.

38. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що містить 6,5 мг попередника  
20 стероїдного гормону та Witepsol H-15.

39. Вагінальний супозиторій за п. 23, який **відрізняється** тим, що попередником стероїдних гормонів є дегідроепіандростерон.

40. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що кількість дегідроепіандростерону становить 6,5 мг.

25 41. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що кількість дегідроепіандростерону становить 3,25 мг.

42. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що кількість дегідроепіандростерону становить 3-13 мг.

43. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 3-13 мг

44. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 3-13 мг дегідроепіандростерону та ексципієнт, що містить складні ефіри насичених жирних кислот.

45. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 3-13 мг дегідроепіандростерону та ексципієнт, що містить суміш моногліцеридів, дигліцеридів та

35 тригліцеридів C<sub>10-18</sub> насичених жирних кислот, в якій головним компонентом за вагою є лаурилтригліцерид.

46. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 13 мг або менше дегідроеніандростерону та ліпофільний ексципієнт.

47. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 13 мг або менше дегідроепіандростерону та ексципієнт, що містить складні ефіри насичених жирних кислот.

48. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 13 мг або менше дегідроепіандростерону та ексципієнт, що містить суміш моногліцеридів, дигліцеридів та тригліцеридів  $C_{10-18}$  насичених жирних кислот, в якій головним компонентом за вагою є лаурилтригліцерид.

45 49. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 6,5 мг дегідроепіандростерону або менше та ексципієнт, що містить складні ефіри насичених жирних кислот.

50. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 6,5 мг дегідроепіандростерону та ексципієнт, що містить суміш моногліцеридів, дигліцеридів та

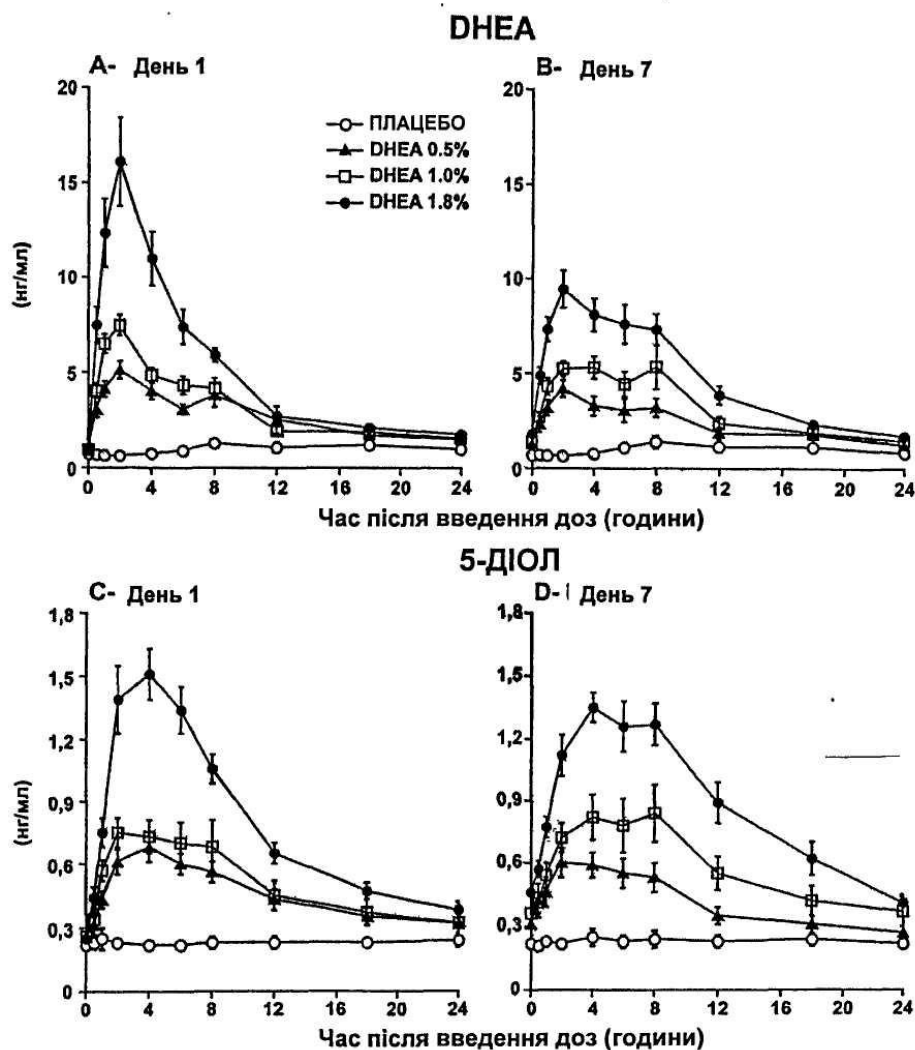
50 тригліцеридів  $C_{10-18}$  насичених жирних кислот, в якій головним компонентом за вагою є лаурилтригліцерид.

51. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 3,25 мг дегідроепіандростерону або менше та ексципієнт, що містить складні ефіри насичених жирних кислот.

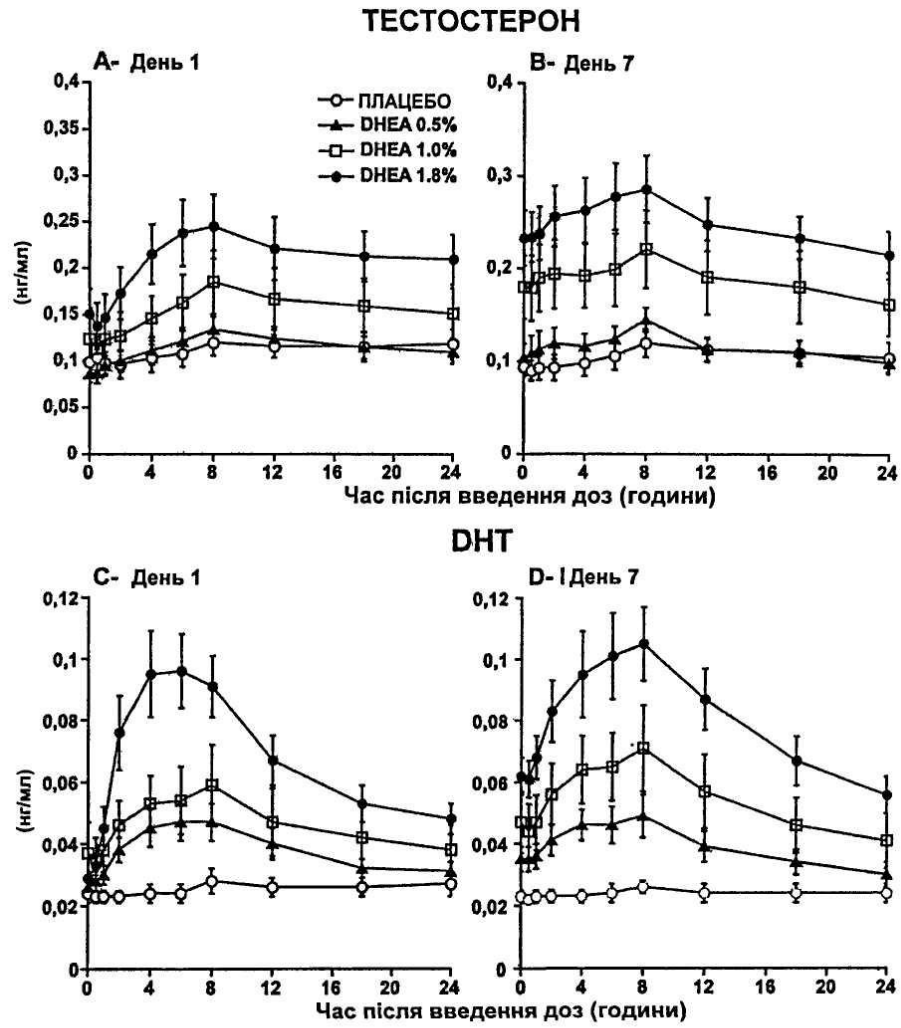
55 52. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 3,25 мг дегідроепіандростерону та ексципієнт, що містить суміш моногліцеридів, дигліцеридів та тригліцеридів C<sub>10-18</sub> насичених жирних кислот, в якій головним компонентом за вагою є лаурилтригліцерид.

53. Вагінальний супозиторій за будь-яким з пп. 39-52, який **відрізняється** тим, що ексципієнтом є Witepsol H-15.

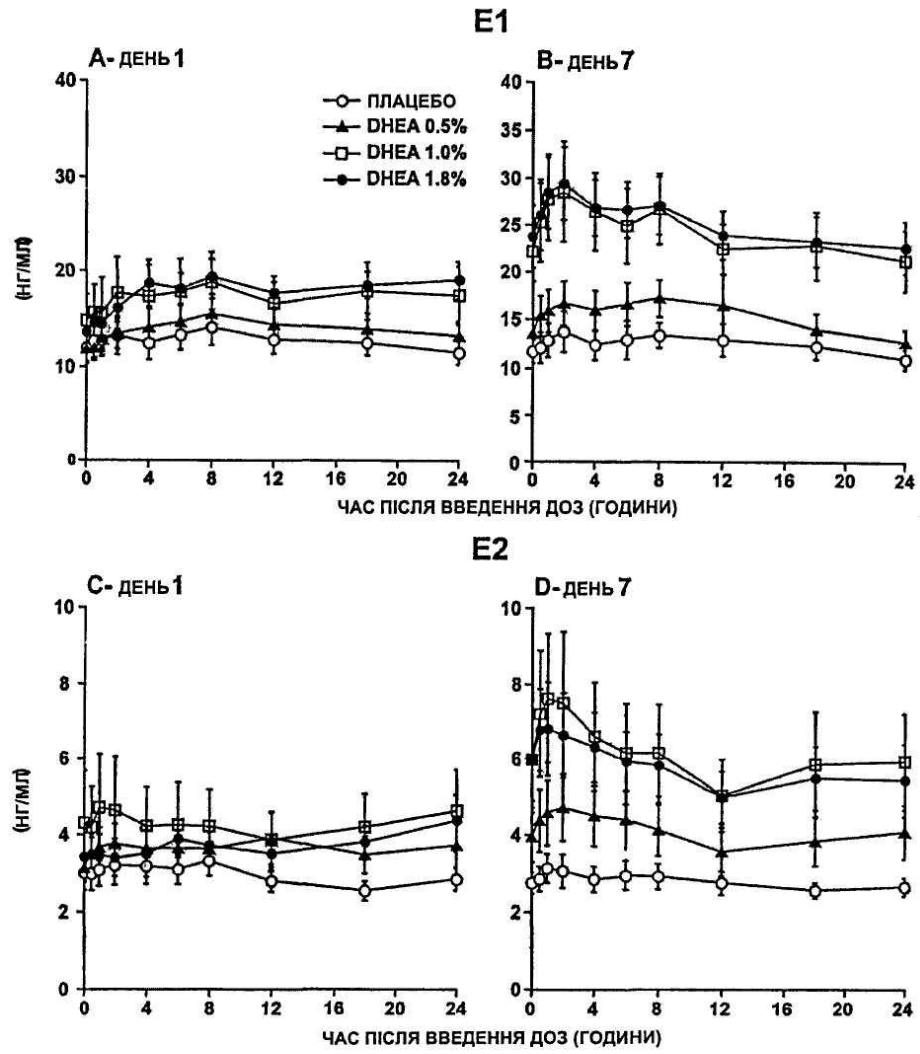
54. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 6,5 мг дегідроепіандростерону і Witepsol H-15.
55. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить в 1,3 мл 6,5 мг дегідроепіандростерону і Witepsol H-15.
- 5 56. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 3,25 мг дегідроепіандростерону і Witepsol H-15.
57. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить в 1,3 мл 3,25 мг дегідроепіандростерону і Witepsol H-15.
- 10 58. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 3-13 мг дегідроепіандростерону і Witepsol H-15.
59. Вагінальний супозиторій за п. 39, який **відрізняється** тим, що містить 13 мг дегідроепіандростерону і Witepsol H-15.



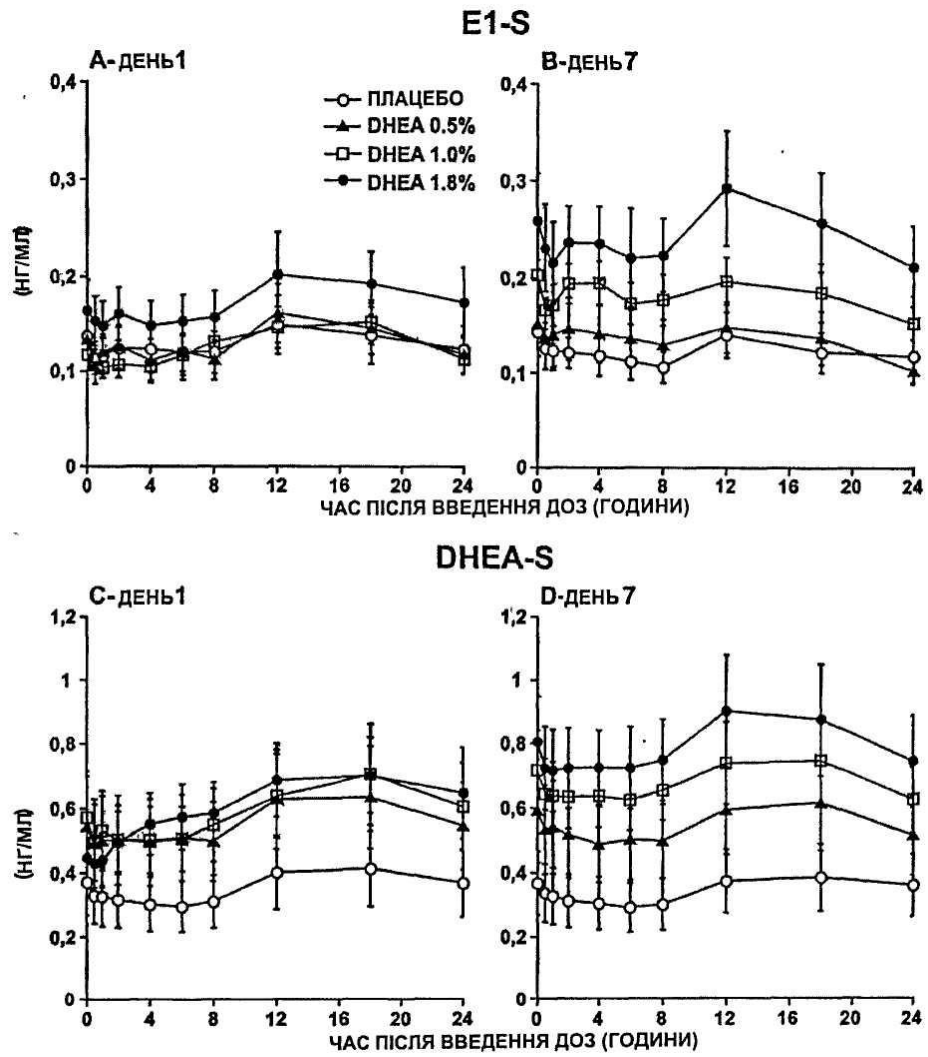
Фіг. 1



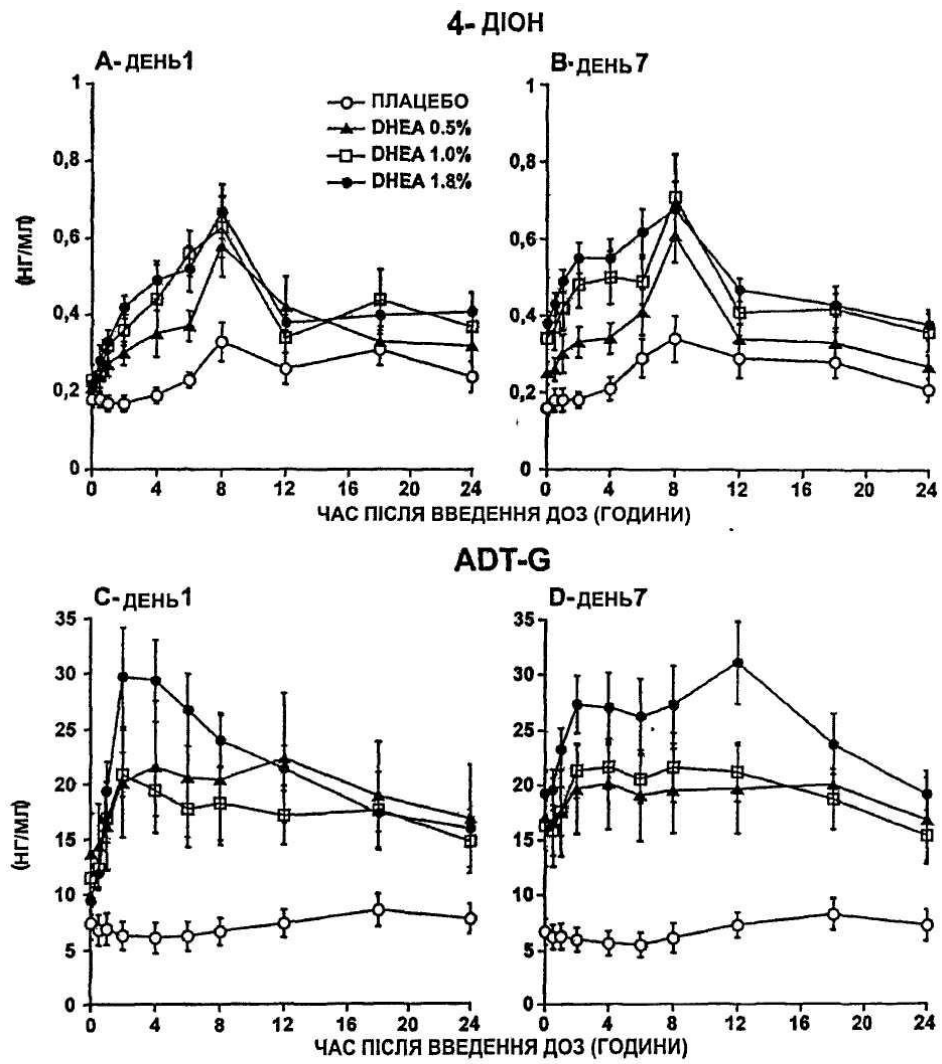
Фіг. 2



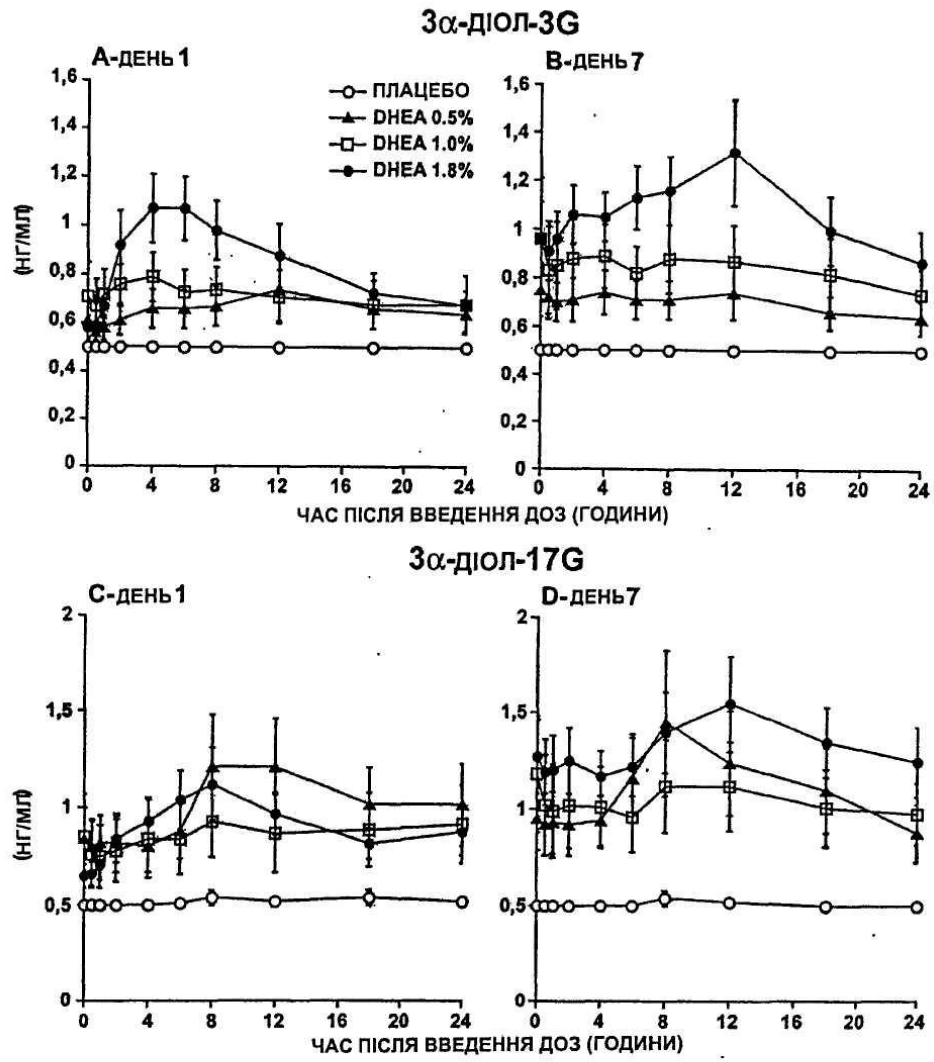
Фіг. 3



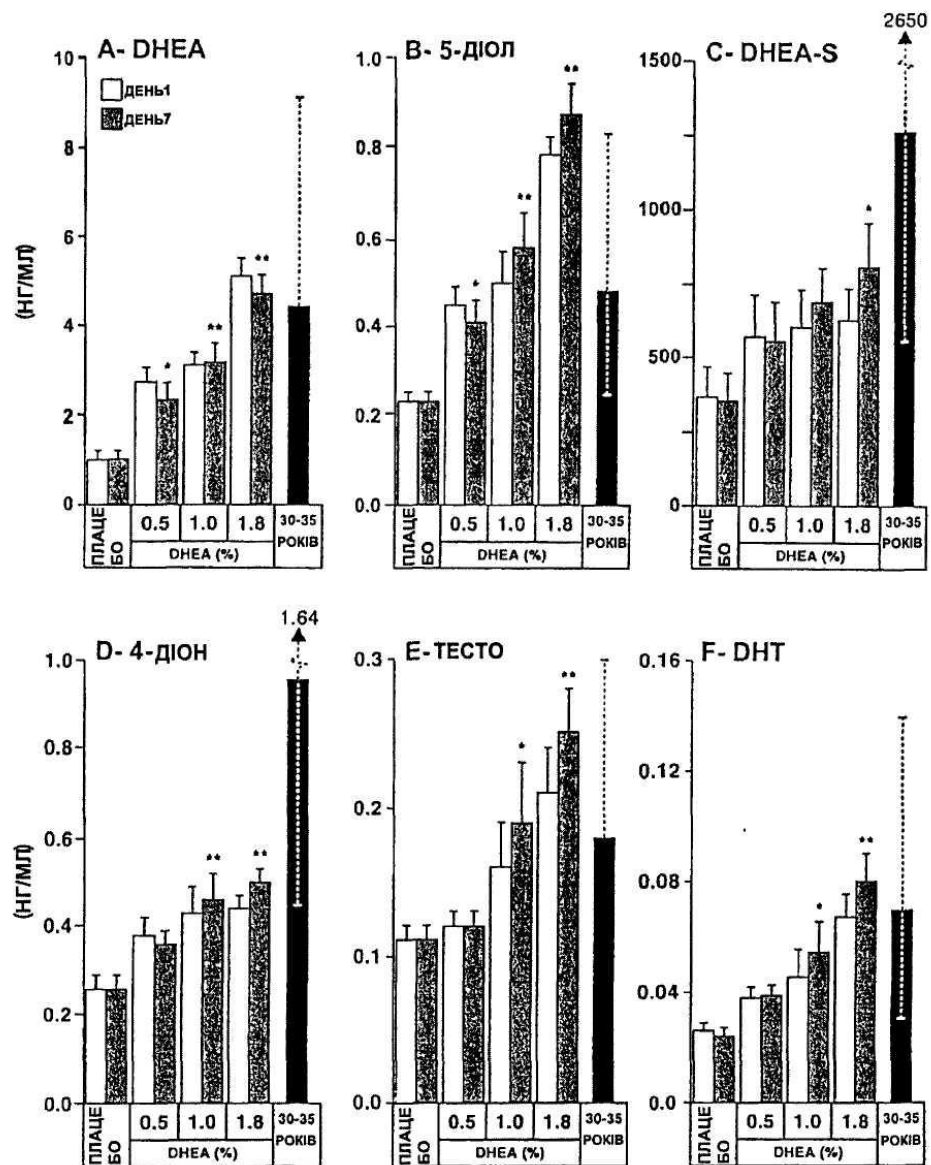
Фіг. 4



Фіг. 5

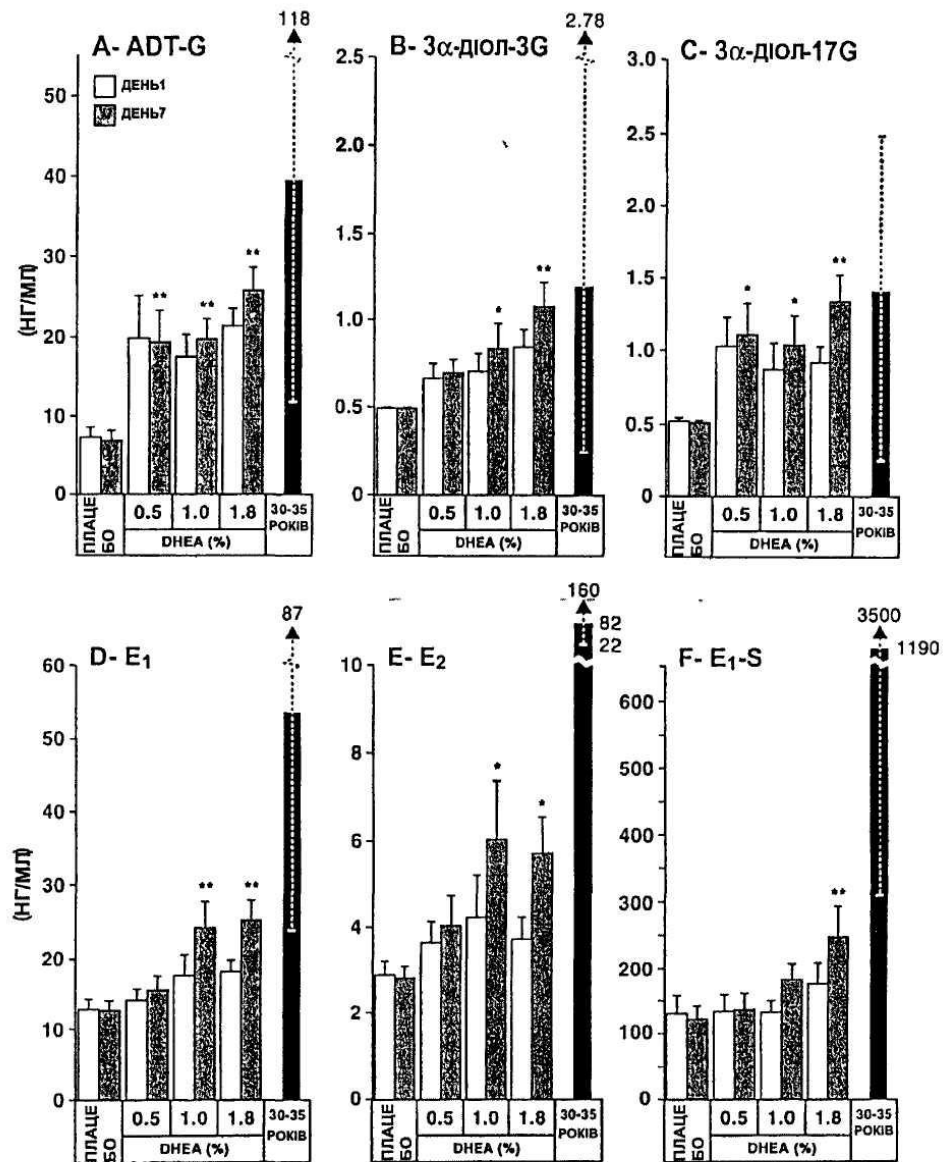


Фіг. 6

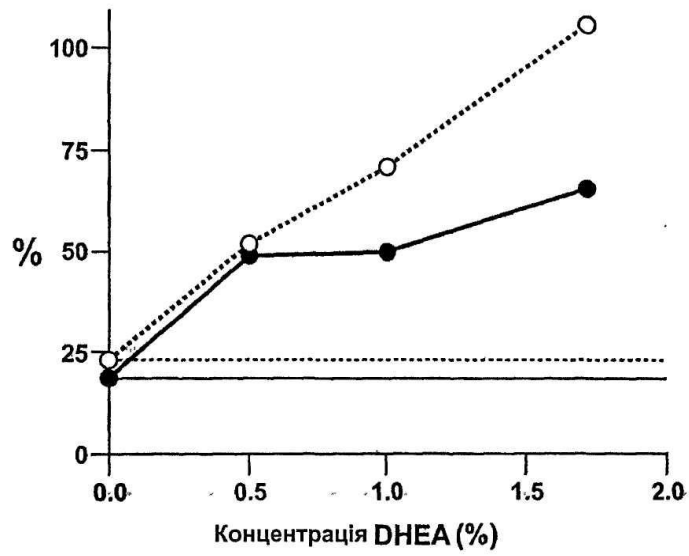


Фіг. 7

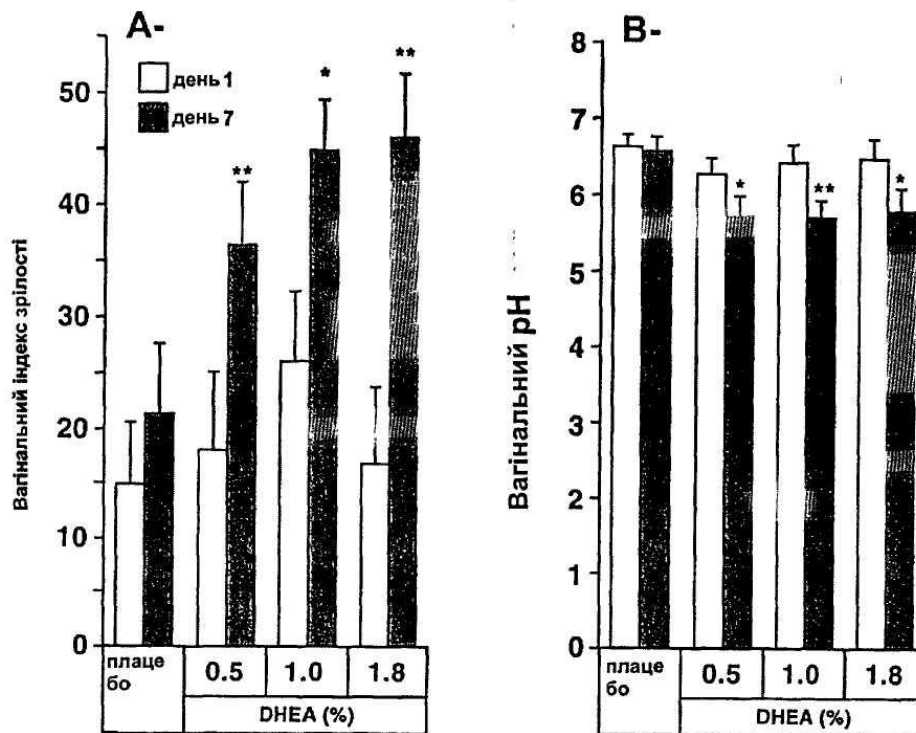




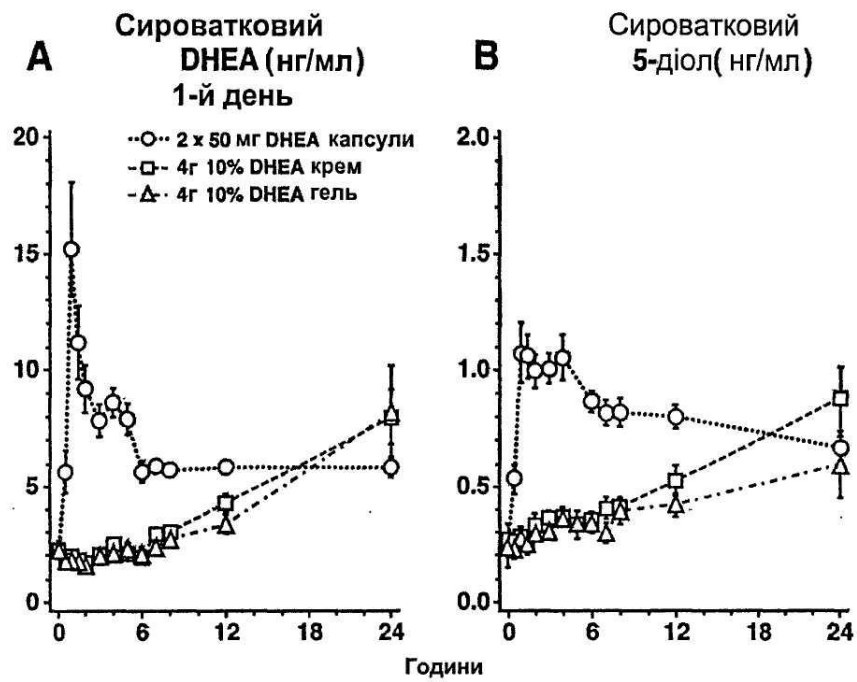
Фіг. 8



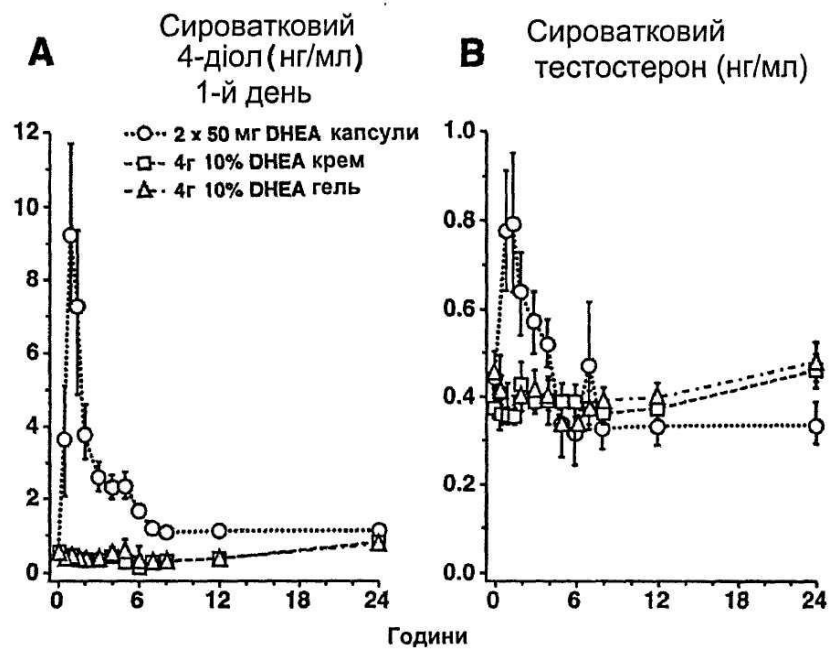
Фіг. 9



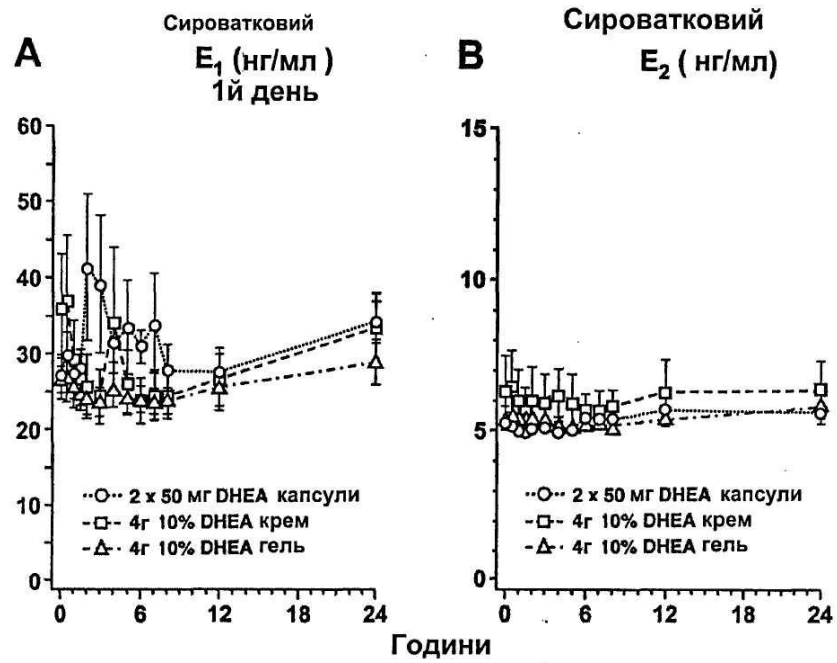
Фіг. 10



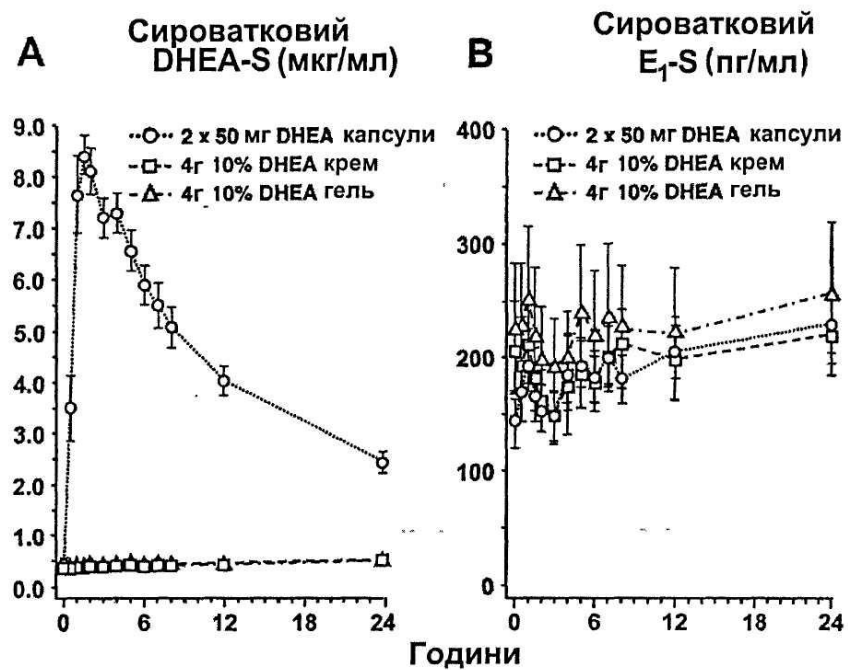
Фіг. 11



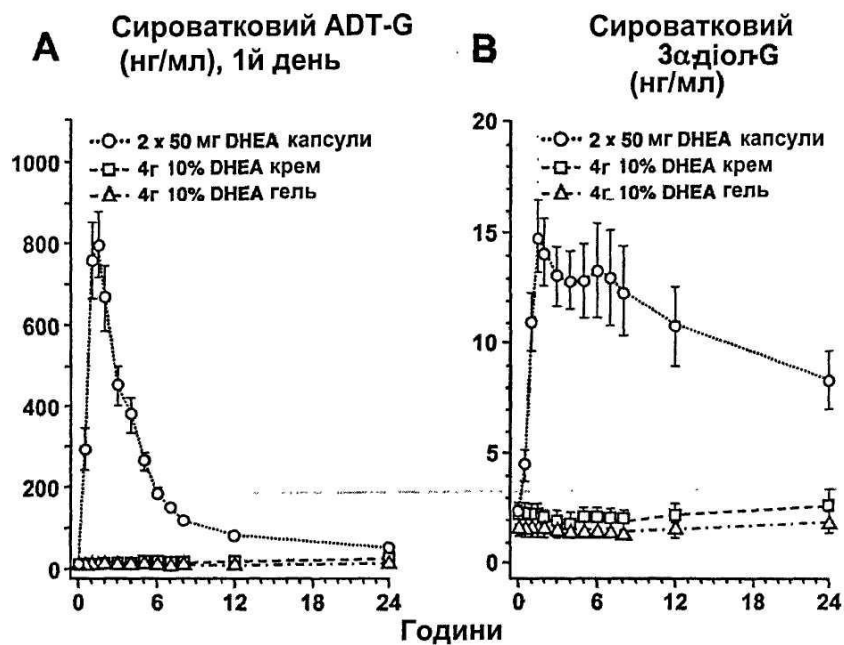
Фіг. 12



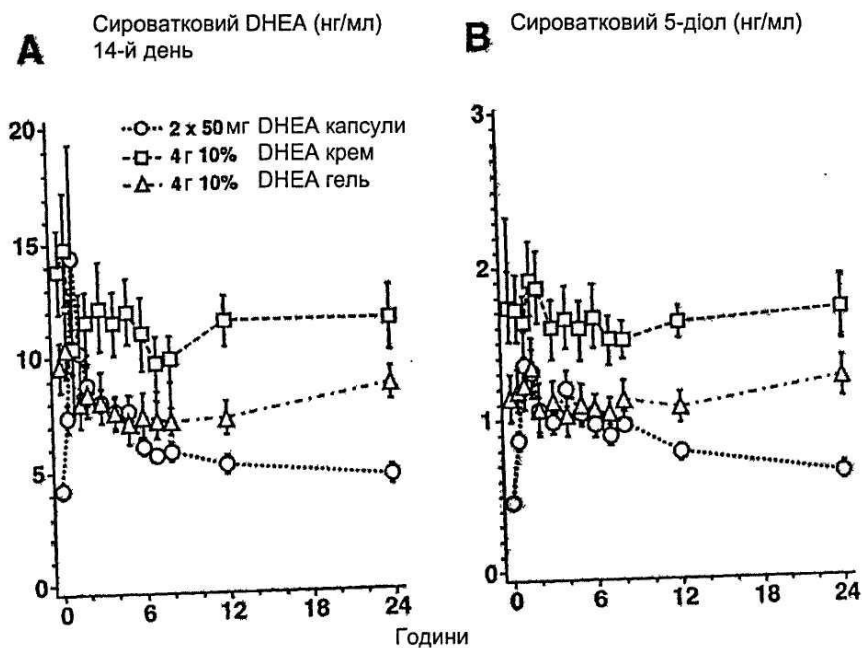
Фіг. 13



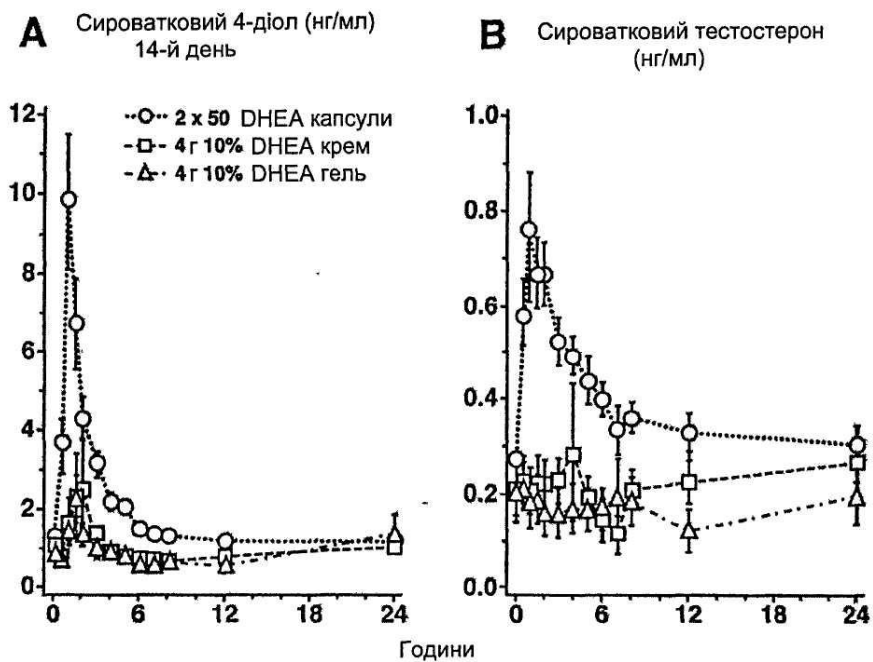
Фіг. 14



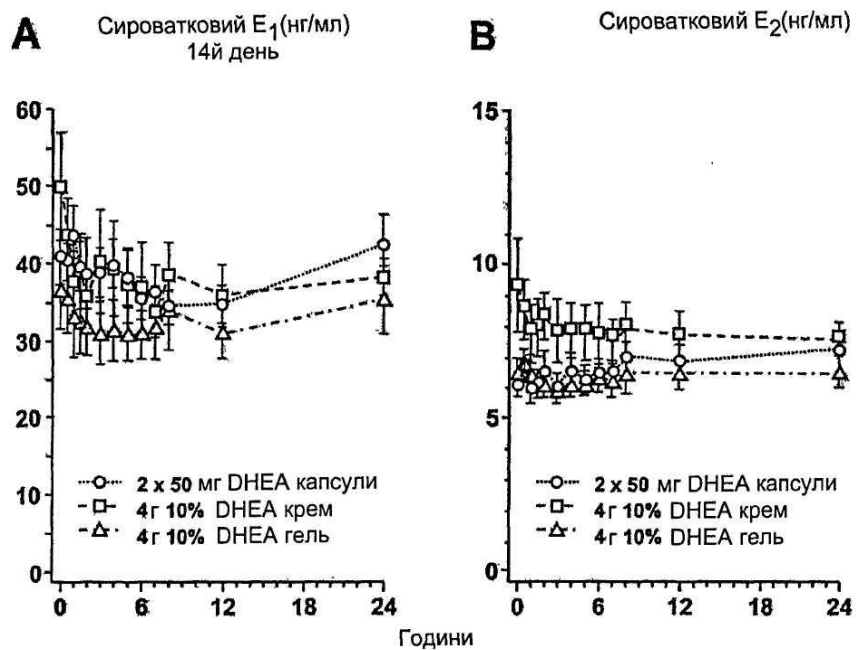
Фіг. 15



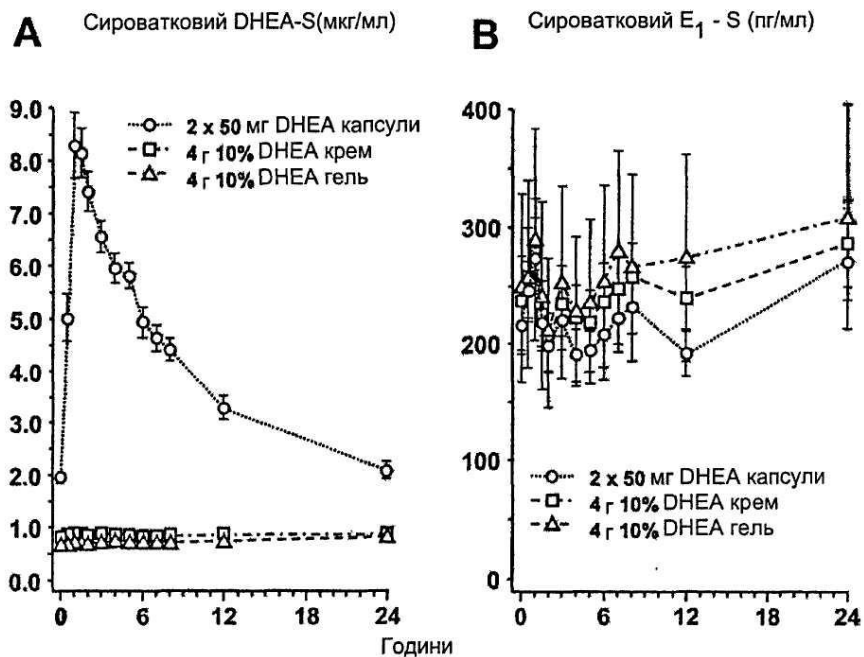
Фіг. 16



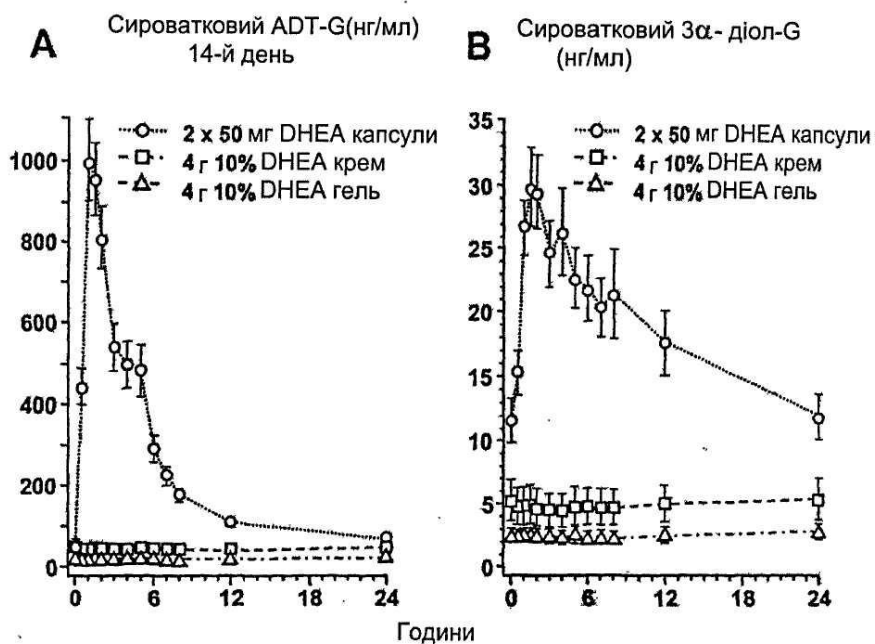
Фіг. 17



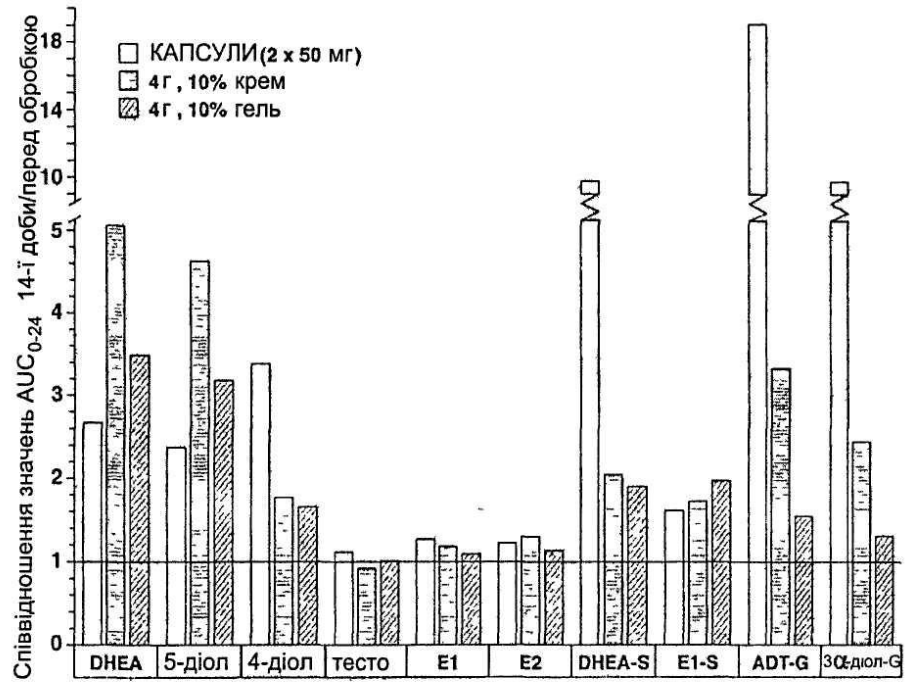
Фіг. 18



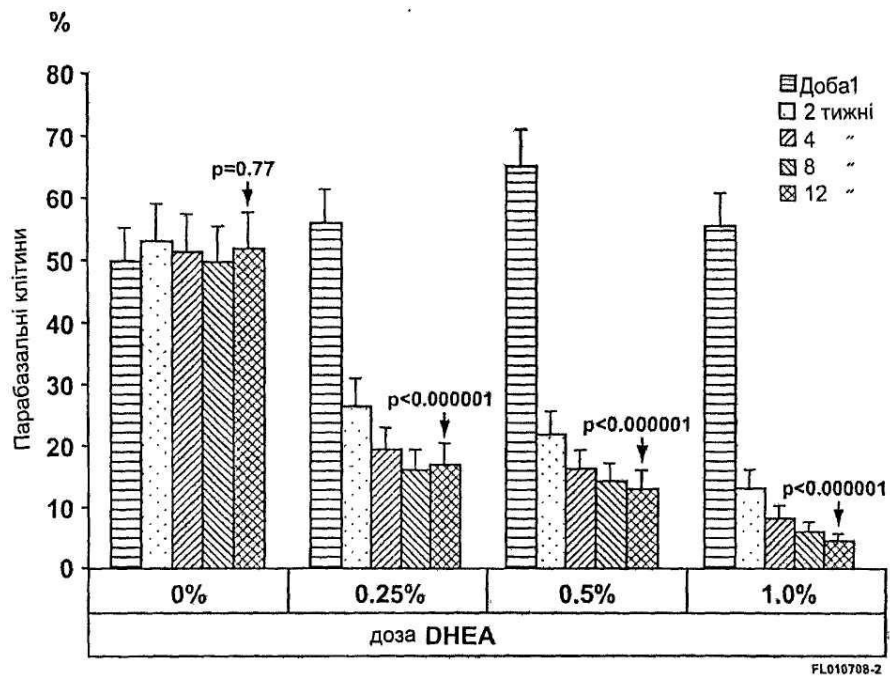
Фіг. 19



Фіг. 20

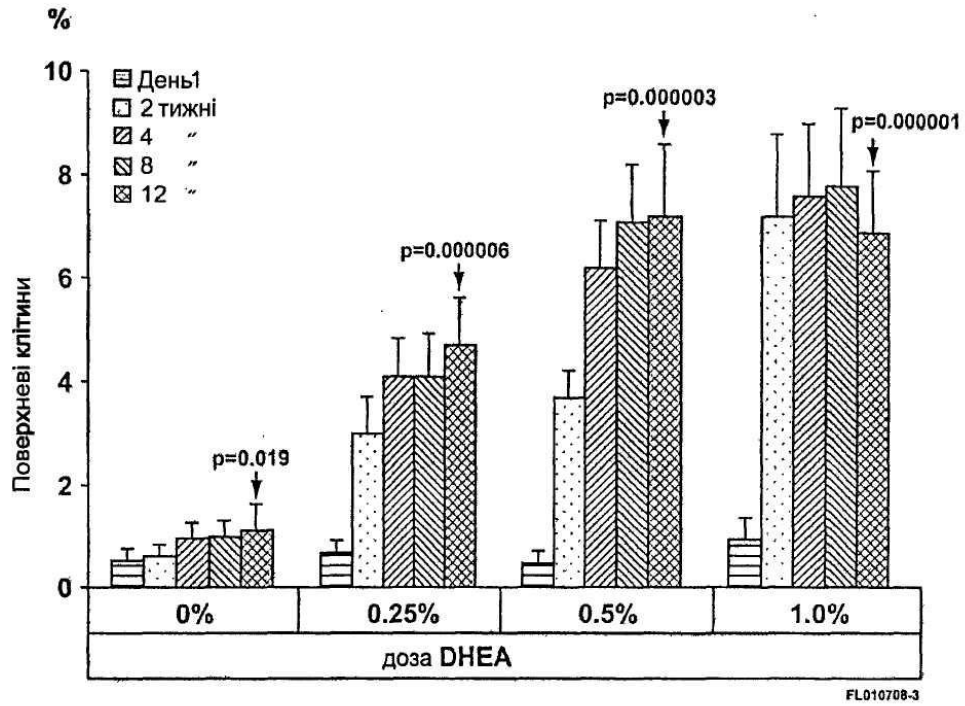


Фіг. 21

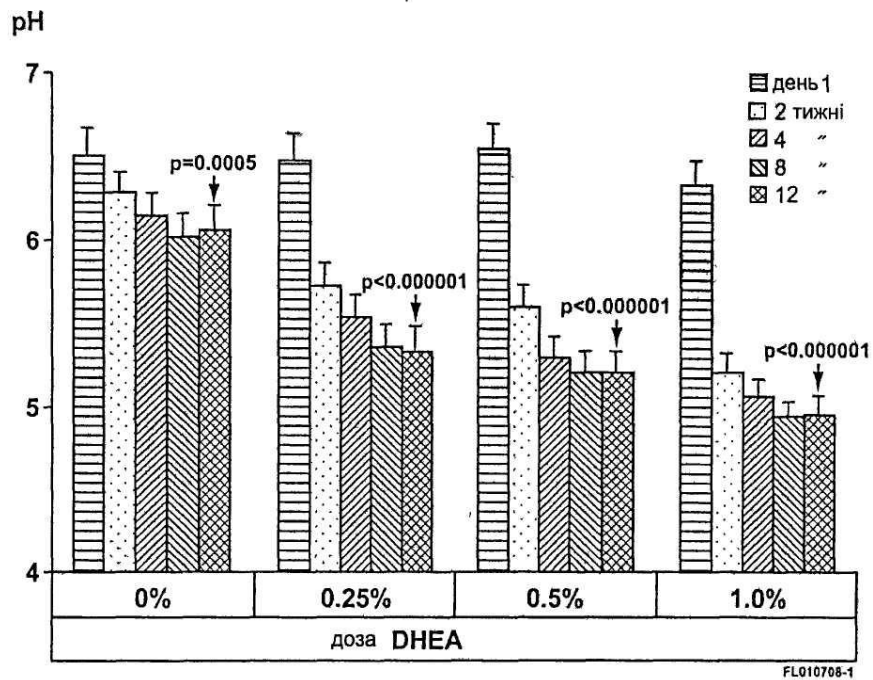


Фіг. 22

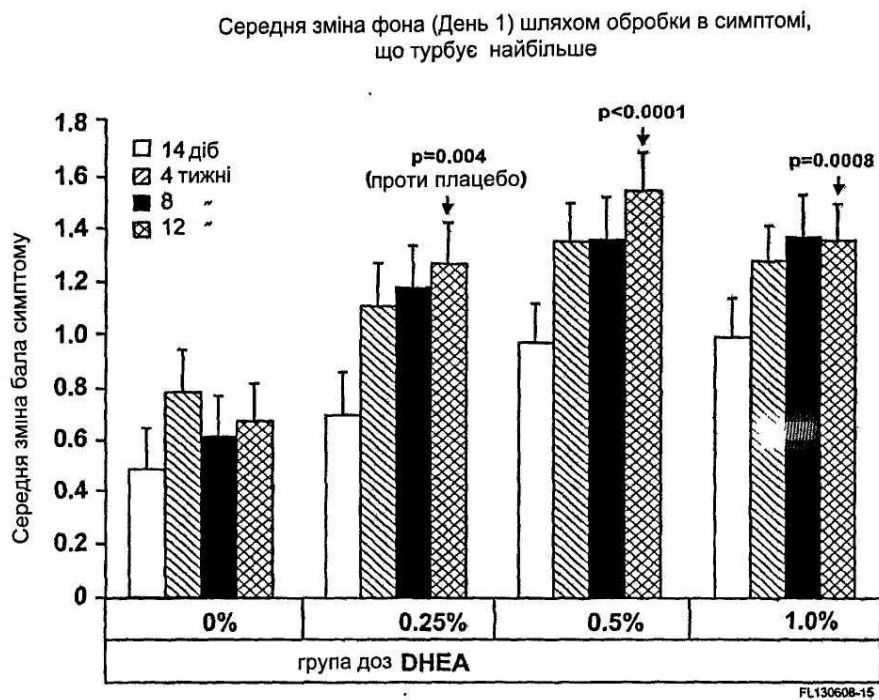




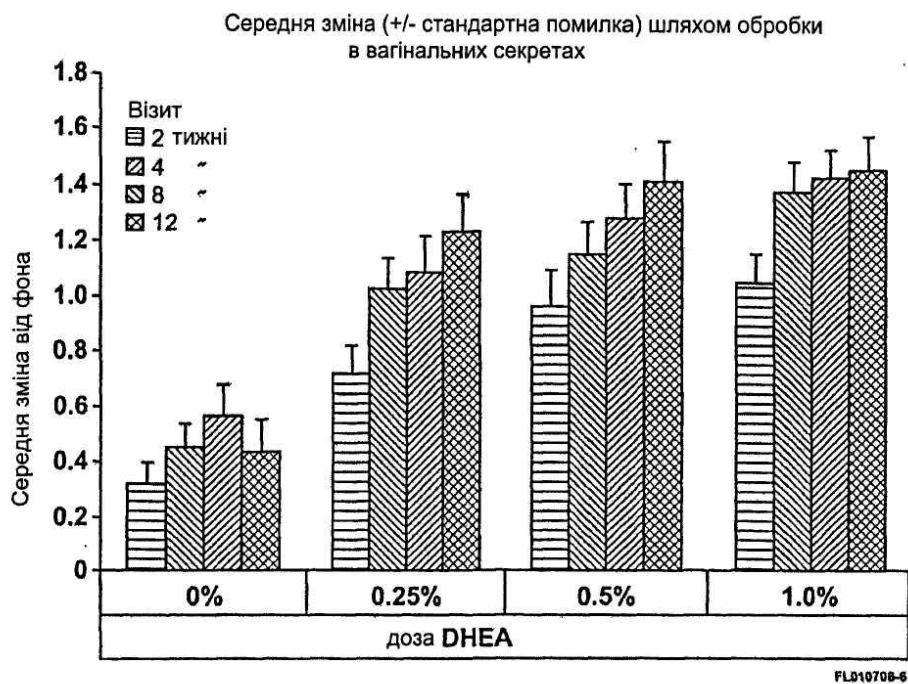
Фіг. 23



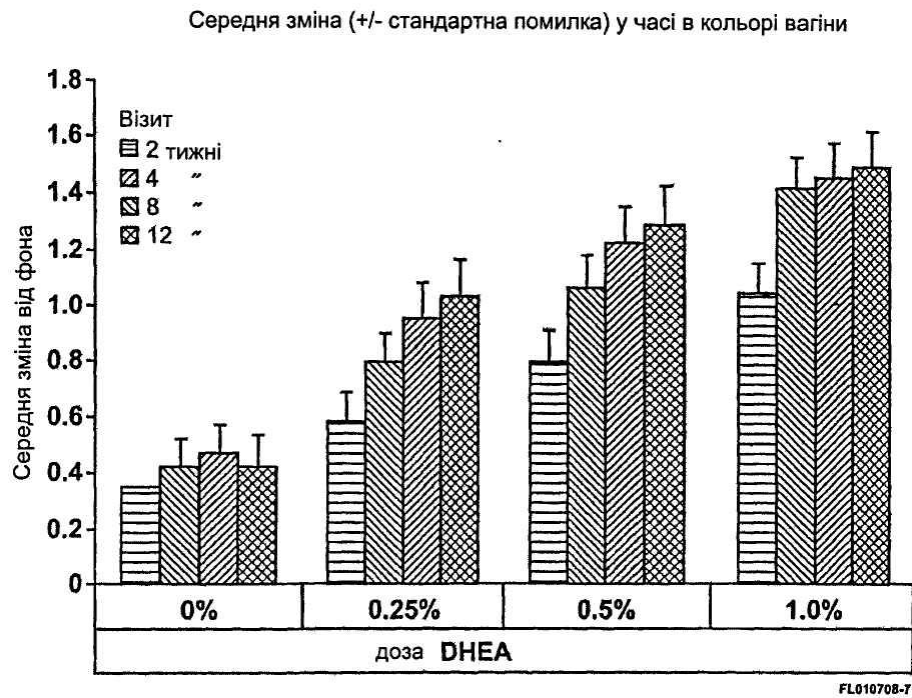
Фіг. 24



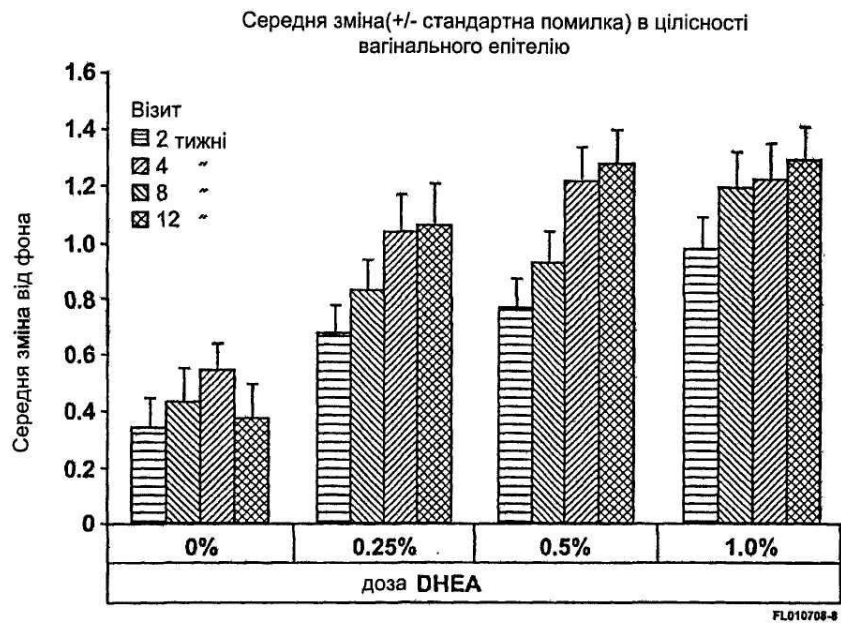
Фіг. 25



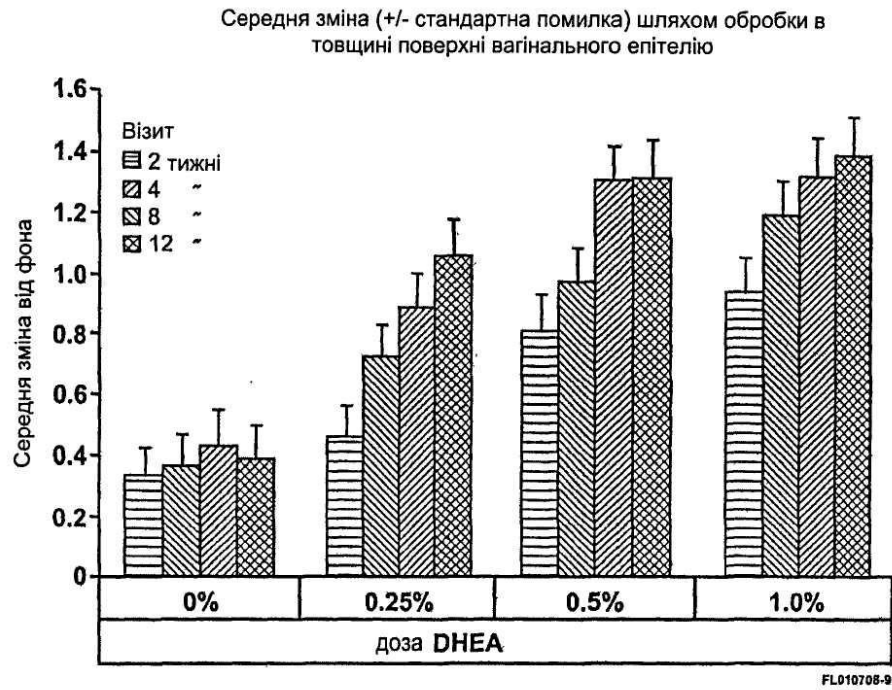
Фіг. 26



Фіг. 27

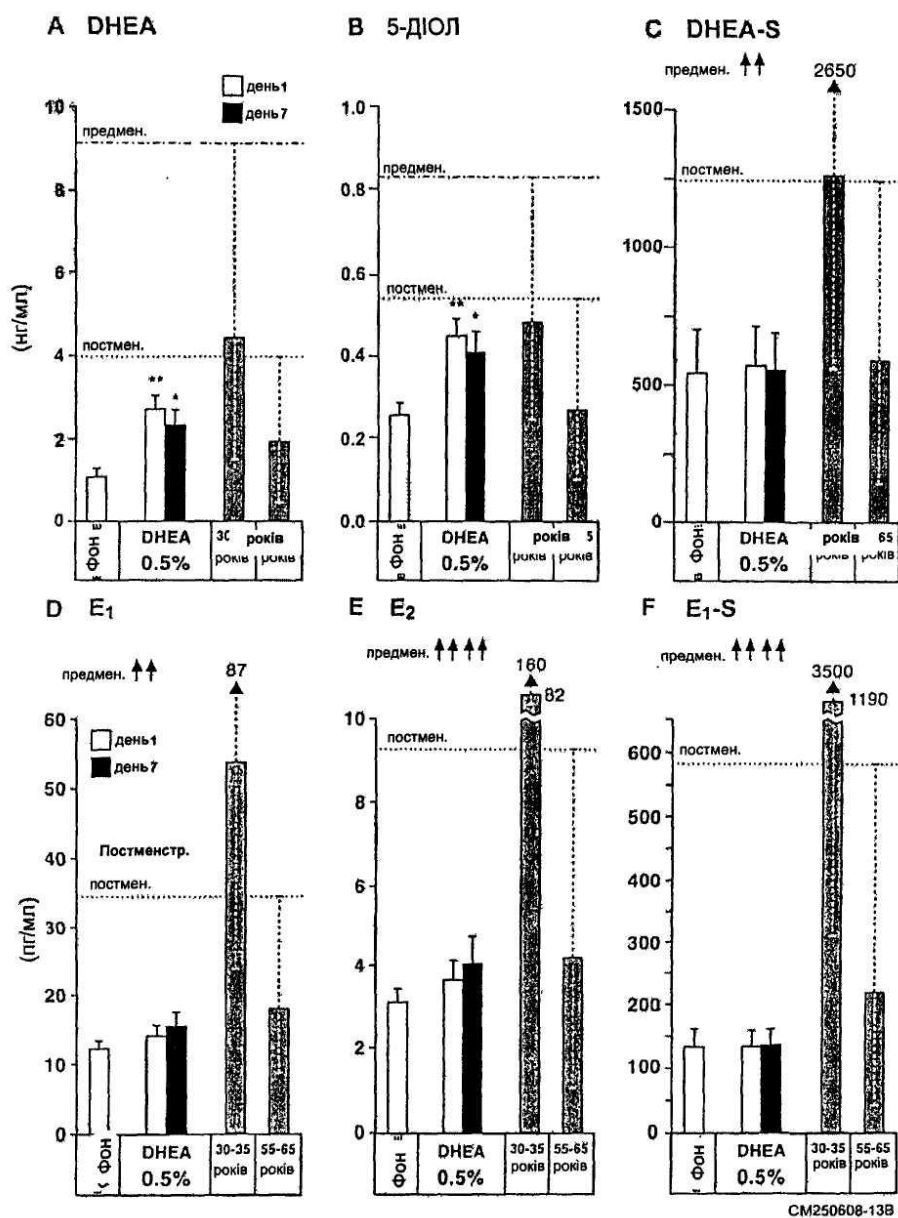


Фіг. 28

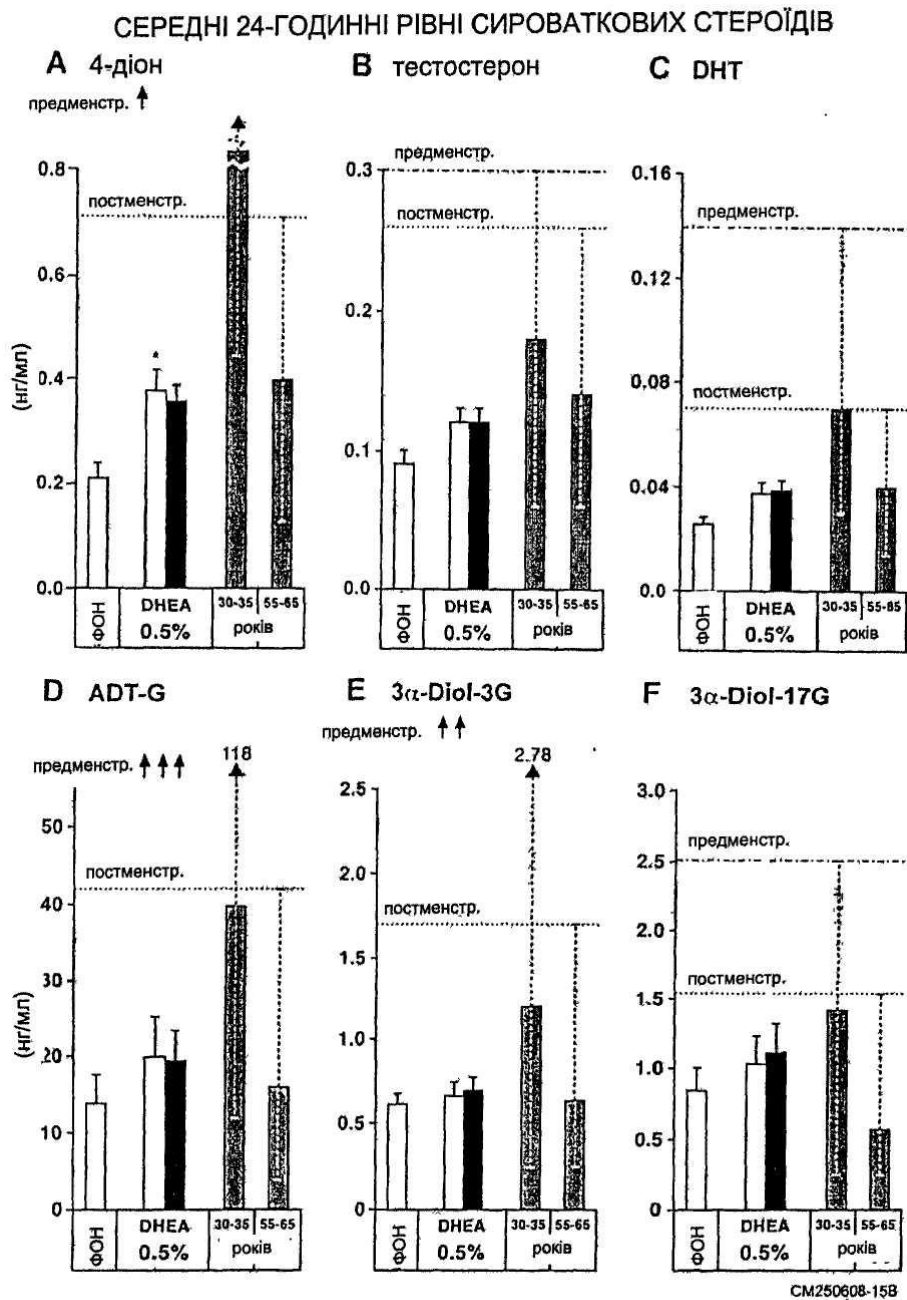


Фіг. 29

СЕРЕДНІ 24-ГОДИННІ РІВНІ СИРОВАТКОВИХ СТЕРОЇДІВ



Фіг. 30



Фіг. 31

Комп'ютерна верстка М. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601