38

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCIÓN

21. **EXPEDIENTE Nº** 10-25622

54. **TÍTULO** **COMPOSICIONES DE DHEA PARA EL TRATAMIENTO DE LA MENOPAUSIA.**

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** A61K 31/5685

71. **SOLICITANTE** **ENDORECHERCHE, INC.**

DOMICILIO Sainte-Foy, Québec, Canadá.

74. **APODERADO** DILIA MARIA RODRIGUEZ D´ALEMAN

22. **BOGOTÁ, D.C.**

10-03-2010

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-025622- -00000-0000
Fecha: 2010-03-04 14:39:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACIOII Folios: 204

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE REGISTRO DE:

1

[X] **Patente de Invención** [ ] **Patente Modelo de Utilidad.**

[ ] **Capítulo I** [X] **Capítulo II**

2 **SOLICITANTE (71)**	**Nombre: ENDORECHERCHE, INC.** **Dirección:** 2989 de la Promenade, Sainte-Foy, Québec G1W 2J5 Canadá **Nacionalidad o domicilio:** Sainte-Foy, Québec, Canadá. **Lugar de Constitución:** Canadá.	**IDENTIFICACIÓN** C.C. [X] NIT [ ] C.E. [ ] Otro [ ] Cual _____ Número _____
3 **REPRESENTANTE O APODERADO (74)**	Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D´ALEMAN Dirección: Carrera 11 No. 86-53, piso 6 Teléfono: 6 181088 Fax: 6350824 E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co	**IDENTIFICACIÓN** C.C. [X] NIT [ ] C.E. [ ] Otro [ ] Cual _____ Número 41.654.882 TP 20824 CSJ
4 **INVENTOR(ES) (72)**	Nombre: **LABRIE, Fernand** Dirección: 2989, de la Promenade, Québec City, Québec G1W 2J5, Canadá. Nacionalidad o domicilio: Canadiense	

5 **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/CA2008/001444 **Fecha** 8 de agosto de 2008 .

Publicación Internacional No. WO 2009/021323 A1 **Fecha** 19 de febrero de 2009 .

6 **Título (54)** COMPOSICIONES DE DHEA PARA EL TRATAMIENTO DE LA MENOPAUSIA.
(Folio 208)

7 **Clasificación Internacional (51)** A61K 31/5685

8 **Prioridad**

SI [X] NO [ ]

(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	10 de agosto de 2007	60/964,270
ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	13 de agosto de 2007	60/964,673

9 **Comprobante de pago No.** 10–10,894 // 10-6,981 // 10/11,050 // 10-7,139 .
Fecha 10/02/10 // 29/01/10 // 10/02/10 // 29/01/10 .

10 ANEXOS

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- [x] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- [x] Poderes si fuese el caso
- [ ] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- [ ] Declaraciones
- [x] Copia de la solicitud internacional (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- [x] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- [x] Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de examen preliminar (IPER)
- [ ] Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- [ ] De ser el caso copia de contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- [ ] De ser el caso certificado de deposito del material biológico
- [ ] Arte final 12x12.
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [ ] De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- [x] Otros Opinión escrita

11 FIGURA CARACTERISTICA

12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE : DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D´ALEMAN

FIRMA:

C.C. 41.654.882 T.P. 20824

As. P-2461

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 10,894
FECHA : FEBRERO 10 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 10-025622- -00000-0000

Fecha: 2010-03-04 14:39:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 204

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754307	175684132	10/02/2010	68,215,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	3 PROC. REGISTRO DE MARCAS Y LEMAS	706,000.00
		TOTAL : $	706,000.00

SON: SETECIENTOS SEIS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

2

P-2461

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 6,981
FECHA : ENERO 29 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-025622- -00000-0000
Fecha: 2010-03-04 14:39:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 204

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	111710620	28/01/2010	66,939,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
		TOTAL : $	554,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

3

[illegible]

[illegible]

[illegible]

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 11,050
FECHA : FEBRERO 10 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-025622- -00000-0000
Fecha: 2010-03-04 14:39:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 204

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	175684132	10/02/2010	68,215,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO		CONCEPTO		TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99	OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	20,000.00
				TOTAL : $	20,000.00

SON: VEINTE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 7,139
FECHA : ENERO 29 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-025622- -00000-0000
Fecha: 2010-03-04 14:39:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 204

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	RECIBO DE CAJA			7006	29/01/2010	12,105,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	2,000.00
		TOTAL : $	2,000.00

SON: DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

5

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 07/381 de un documento escrito en inglés, el cual para su identificación se sella con el sello del traductor al tiempo con la presente. Esta traducción ha sido preparada por Juan Pablo Piedrahita Aguilera, Traductor e Intérprete Oficial debidamente reconocido de conformidad con el Certificado de Idoneidad Profesional No. 0045 expedido por la Universidad Nacional de Colombia, por el *Ministerio de Relaciones Exteriores y autorizado por el Ministerio del Interior y de Justicia, por resolución* número 718 de 2003.

(Se traduce un poder otorgado por la compañía Endorecherche, Inc., firmado por Fernand Labrie, con fecha 13 de Junio, 2007, certificación notarial y legalización, escritas en inglés, adjuntos a la *autenticación por el Consulado de Colombia en Montreal, Canadá No. 4104 y la legalización No. 665645* por el Jefe de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia, escritos en español, y a certificado de existencia de la compañía, escrito en francés.)

COLOMBIA

(Dirección en español)

PODER

Yo (*nosotros*), Fernand Labrie, *representante(s) legal(es)* de Endorecherche, Inc., sociedad constituida y existente bajo las leyes de Canadá y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en 2989, de la Promenade, Sainte-Foy, Québec G1W 2J5, Canadá, por el presente confiero (conferimos) poder especial a favor de a DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMÁN, identificada con cédula de ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá y Tarjeta Profesional 20824 y CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, identificada con Tarjeta Profesional 36448 y cédula de ciudadanía No 40.017.374 de Tunja, con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre de la otorgante la representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a la siguiente:

1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualesquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: Patentes de Invención, Modelos de Utilidad; Diseños Industriales, variedades vegetales, Marcas, Lemas, Nombres y

Bogotá, D.C. hago constar que la FOTOCOPIA coincide con su Original que he tenido a la vista
02 MAR 2010
Guillermo ... NOTARIA ONCE
NOTARIA
TRADUCCION OFICIAL No. 07/381
JUAN PABLO PIEDRAHITA AGUILERA
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
Res. 718 DE MAYO 2003
DEL MIN. INTERIOR Y DE JUSTICIA

6

Enseñas Comerciales y Denominaciones de Origen; así como sus renovaciones, prórrogas, traspasos, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.

2) Solicitar, tramitar, obtener, y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.

3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, cesiones, traspasos, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.

4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reivindicaciones, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrán intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; acciones o juicios promovidos por el mandante o contra él.

5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.

6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, aceptar cláusulas compromisorias, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y

Como Notario Onsó del Círculo de Bogotá, hago constar que esta FOTOCOPIA coincide con su Original que he tenido a la vista.
02 MAR 2010
NOTARIA ONCE BOGOTA D.C.

TRADUCCION OFICIAL No. 07/381
JUAN PABLO PIED ... TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
RES. 718 DE MAYO 2003
DEL MIN. INTERIOR Y DE JUSTICIA

renunciar o desistir derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.

7) Ratificar o no la agencia oficiosa.

8) Así mismo facultamos a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en Québec, hoy día 13 de Junio, 2007.

Por: (Firmado)

CERTIFICADO NOTARIAL (Cuando el solicitante es una SOCIEDAD)

(Poderes otorgados en El Salvador, México, Estados Unidos de América y Venezuela)

Expedido hoy día 13 de Junio, 2007, el suscrito Notario CERTIFICA que:

1). Fernand Labrie, (nombre de quien firma el poder), mayor de edad y domiciliado en Québec, CO, suscribió el anterior documento.

2) El otorgante le es conocido personalmente y tiene capacidad para firmar el documento.

3) El otorgante ha suscrito el anterior documento en su calidad de Presidente de la persona jurídica ENDORECHERCHE, INC.

4) La mencionada persona jurídica con domicilio comercial en 2989, de la Promenade, Sainte-Foy, Québec G1W 2J5, Canadá, está debidamente constituida, tiene actualmente existencia legal y el fin para el cual se otorga

TRADUCCION OFICIAL No. 07/381
JUAN PABLO
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
DEL MIN. INTERIOR Y DE JUSTICIA

este poder se encuentra dentro de su objeto social.

5) El otorgante tiene en efecto la capacidad referida y su representación es legal y está autorizado para otorgar este poder.

6) Fundamento las certificaciones 3), 4) y 5) en los documentos auténticos que para tal fin me fueron exhibidos.

(Firmado) Anick Cotoure, Notario.

(Sello Notarial redondo en relieve)

Nota: El Consulado de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

Para todos los demás países el Señor Cónsul de Colombia o ante quien se otorgue, debe expedir una certificación dejando constancia de: 1) la existencia legal de la sociedad, 2) que cumple actualmente con su objeto social, y 3) que la persona o personas que otorgan este poder están facultadas para hacerlo. El Cónsul también certificará que los tuvo a la vista los documentos que prueban y acreditan tales circunstancias.

LEGALIZACIÓN POR EL CÓNSUL DE COLOMBIA A O POR APOSTILLA

(En francés, certificado de existencia, y registro mercantil, nueve (9) páginas)

(logo) Cámara de Notarios de Québec

CANADA

PROVINCIA DE QUEBEC

Yo, el suscrito, Michel Poulin, Secretario de la Cámara de Notarios de Québec, de orden profesional debidamente constituida en virtud de la *Ley Notarial* y del *Código Profesional*, con Oficina Principal en la Ciudad de Montreal, por el presente certifico bajo juramento oficial:

Como Notario ... FOTOCOPIA coincide con su Original que he tenido a la vista
02 MAR 2010
NOTARIO ... BOGOTA ... NOTARIA 11

9

TRADUCCION OFICIAL No. 027381
JUAN PABLO PIED ARITA AGUILERA
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
RES. 718 DE MAYO 2003
DEL MIN. INTERIOR Y DE JUSTICIA

QUE el Sr. Annick Couture, Notario de Québec, es miembro del Circulo de Notarios de Québec desde el 1 de Febrero de 2007, fecha de su registro en dicho Círculo Notarial.

QUE desde esa fecha, el Sr. Annick Couture siempre ha estado registrado en los Registros de la Cámara de Notarios de Québec.

QUE la firma estampada en el documento anexo corresponde a aquella que se encuentra registrada en los archivos de mi oficina conforme a la Ley Notarial.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, estampo mi firma en este certificado en Montreal, hoy día Miércoles 4 de Julio, 2007.

(Firma Mecánica) MICHEL POULIN

Secretario

(Sello en relieve)

(Sello impreso con direcciones y teléfonos) 86003

En español, Certificado por el Consulado de Colombia en Montreal Canadá No. 4104, con fecha 14 de Septiembre, 2007. Pagados los Derechos Consulares e Impuesto de Timbre por US$ 59.oo.

En español, legalización de la firma anterior por el Jefe de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores de la República de Colombia No. **665645** con fecha Octubre 2, 2007.

ES TRADUCCIÓN FIEL Y COMPLETA de la cual se deja copia en los archivos de esta oficina para su confrontación y a la cual me remito.

Bogotá, Octubre 3, 2007.

Como Notario Once del Círculo de Bogotá, D.C. hago constar que esta FOTOCOPIA coincide con su Original que he tenido a la vista.

02 MAR 2010

NOTARIA ONCE
BOGOTA D.C.

TRADUCCION OFICIAL No. 07 3 a 1

JUAN PABLO PIEDRAHITA AGUILERA
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
RES. 718 DE MAYO 2003
DEL MIN. INTERIOR Y DE JUSTICIA

10

MINISTERIO
RELACIONES EXTERIORES

2001 OCT -3 A 11:27

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

REGISTRO
DEL TEXTO

666362

Juan Predianito

CUYA FIRMA HA SUCEDIDO EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

Como Notario Once del Círculo de Bogotá, D.C., hago constar que ésta FOTOCOPIA coincide con su Original que he tenido a la vista

02 MAR 2010

Guillermo Chávez Sanchez
NOTARIO ONCE
BOGOTÁ, D.C.
NOTARIA
11

P 733

Consulado General de Colombia

CERTIFICACION DE UN PODER DE ABOGADO

No. 4104

LA SUSCRITA CONSUL GENERAL DE COLOMBIA
EN LA CIUDAD DE MONTREAL, CANADA

VISTOS LOS DOCUMENTOS PRESENTADOS POR LOS INTERESADOS CERTIFICA QUE:

Que ***Annick Couture****, quien autentica la firma del señor* ***FERNAND LABRIE*** *signatario del poder anexo, ejerce como Notaria Pública de la Provincia de Québec según lo certifica el señor* ***MICHEL POULIN, SECRETARIO DE LA CÁMARA DE NOTARIOS DE LA PROVINCIA DE QUEBEC*** *cuya firma corresponde a la registrada en este Consulado General.*

Que de acuerdo con el documento ***Certificat de Conformité****, de la compañía* ***ENDORECHERCHE INC. / ENDORESEARCH INC,*** *expedido por la Oficina de Registro de Empresas de Québec con fecha 13 de agosto del 2007, el cual se anexa, la mencionada compañía es una sociedad constituida de acuerdo con las leyes de Canadá y se encuentra debidamente registrada no habiendo sido disuelta, según consta en el Certificat d'Attestation emitido por la misma entidad, con fecha 6 de agosto del 2007, también adjunto.*

Que de acuerdo con el formulario ***État de reinseigments*** *anexo con el Certificat de Conformité, el señor* ***FERNANDO LABRIE*** *se encuentra inscrito como representante legal de ENDORECHERCHE INC. / ENDORESEARCH INC. y en tal condición suscribe el poder especial, amplio y suficiente, que confiere a las doctoras DILLA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN y CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ.*

La Cónsul General de Colombia no asume responsabilidad alguna por el contenido del documento.

Se expide en la ciudad de Montreal, Canadá a los catorce (14) días del mes de septiembre del año dos mil siete (2007).

MARTHA LUCÍA PIÑEROS DE CAMACHO
Cónsul General de Colombia

Derechos :	US$39.00
Fondo Rotatorio	US$ 50.00
Impuesto de Timbre	US$ 9.00

11

1010 Sherbrooke Street West, Suite 920, Montreal, Quebec, Canada, H3A 2R7
Tel.: (514) 849-4852 Fax : (514) 849-4324 E-mail : concolmt@videotron.ca

Chambre
des notaires
du Québec

CANADA
PROVINCE OF QUEBEC

I, the undersigned, Michel Poulin, Secretary of the *Chambre des notaires du Québec*, a professional order duly constituted in virtue of the *Notarial Act* and the *Professional Code*, having its Head Office at Montreal, do hereby certify under my oath of office:

THAT Mtre Annick Couture, Notary at Quebec, is a member of the *Ordre des notaires du Québec* since the 1st day of February 2007, date of her entry on the Roll of the Order ;

That since that date, Mtre Annick Couture has always been entered on the Roll of the Chambre des notaires du Québec ;

THAT her signature affixed to the attached document corresponds to that filed in my office in accordance with the *Notarial Act*.

IN WITNESS WHEREOF, I have signed the present certificate at Montreal, on this Wednesday, July 4, 2007.

Michel Poulin, Notary
Secretary

02 MAR 2010

TRADUCCION OFICIAL No._____
JUAN PABLO PIEDRAHITA AGUILERA
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
RES. 715 DE MAYO 2003
DEL MIN. INTERIOR Y DE JUSTICIA

12

600-1801, avenue McGill College
Montréal QC H3A 0A7
Tél.: 514 879-1793 Téléc.: 514 879-1923
www.cdnq.org

86003

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA MONTREAL

CERTIFICADO NOTARIAL

(Cuando el solicitante es SOCIEDAD)

(Poderes otorgados en: El Salvador, Estados Unidos, México y Venezuela)

A los días del mes de de , el Notario que suscribe DA FE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)

mayor de edad y domiciliado _____ _____ firmó de su puño y letra el documento que antecede.

2. Conoce al (a la) otorgante y que este (a) está legalmente capacitado para el otorgamiento.

3. El otorgante ha firmado el referido documento en su carácter de _____ de la persona jurídica _____ _____

4. La citada persona jurídica con sede en _____ _____ está legalmente constituida, que tiene actualmente existencia legal y que el acto para el cual se ha otorgado este poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.

5. El otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta, que esta es legítima y que está facultado para otorgar este poder.

6. las anteriores certificaciones de los puntos 3, 4 y 5, me constan porque he tenido a la vista los documentos auténticos.

_____
Notario Público

NOTA: A continuación de lo anterior, el Cónsul de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

CERTIFICADO NOTARIAL (Cuando el solicitante es INDIVIDUO)

A los días del mes de de , el Notario que suscribe DA FE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)

mayor de edad y domiciliado en _____ _____ firmó en su presencia el documento que antecede, conoce al otorgante y que este está legalmente capacitado para el otorgamiento.

_____
Notario Público

NOTA: A continuación de lo anterior, el Cónsul de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

Para todos los demás países el Señor Cónsul de Colombia o ante quien se otorgue, debe expedir una certificación dejando constancia 1) de la existencia legal de la sociedad, 2) de que esta ejerce actualmente su objeto social, y 3) de que la persona o personas que otorgan el poder están facultadas para hacerlo, dejando constancia así mismo de que tuvo a la vista las pruebas que acrediten tales circunstancias.

LEGALIZACIÓN POR EL CONSUL DE COLOMBIA O POR APOSTILLA

NOTARIAL CERTIFICATE

(When the applicant is a CORPORATION)

(Powers of attorney granted in: El Salvador, Mexico, U.S.A. and Venezuela)

This 13 day of June 2007 the undersigned Notary CERTIFIES that:

1. Fernando Labrie
(name of the person who signs the power of attorney)

of legal age and domiciled in Quebec set his hand on the foregoing document.

2. The grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.

3. The grantor has executed the foregoing document in his capacity of President of the juridical person ENDORECHERCHE, INC.

4. The mentioned juridical person with place of business in 2989, DE LA PROMENADE, SAINTE-FOY, QUEBEC G1W 2J5, CANADA is duly organized, has actual legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

5. The grantor has in fact the referred quality and that his/her representation is legal and that he/she is empowered to grant this power of attorney.

6. I have based the above certifications 3, 4 and 5, on the authentic documents which for such purpose were exhibited to me.

[signature]
Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

NOTARIAL CERTIFICATE (When the applicant is an INDIVIDUALS) Déclaré solennellement devant moi à Québec ce 13 juin 2007

On this day of the undersigned Notary CERTIFIES that:

1. Fernando Labrie
(name of the person who signs the Power of Attorney)

of legal age and domiciled at Quebec _____ signed in his presence the foregoing document, the grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.

13

_____
Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

For all other countries the Colombian Consul or before who it is granted must issue a certification stating 1) the legal existence of the corporation, 2) that the corporate purposes are actually being accomplished , 3) that the person or persons who grant this Power of Attorney are empowered to do it. The Consul will certify also that the documents evidencing those circumstances were exhibited to him.

LEGALIZATION BY THE COLOMBIAN CONSUL OR BY APOSTILLE

NOTARIO ONCE BOGOTA D.C.

TRADUCCION OFICIAL No. 10
JUAN PABLO PIEDRAHITA AGUILERA
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
RES. 718 DE MAYO 2003
DEL MIN. INTERIOR Y DE JUSTICIA

CONSULADO GENERAL COLOMBIA MONTREAL

COLOMBIA

Carrera 11 11° 86-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 Fax: (57 1) 6350824 Email: info@clarkemodet.com.co

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de
ENDORECHERCHE, INC.

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de

y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en
2989, DE LA PROMENADE, SAINTE-FOY, QUEBEC G1W 2J5, CANADA

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y CLAUDIA LUCIA CAPO RAMIREZ, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36448, con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
8) Así mismo faculto (facultamos) a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en

a los días de

Firma / signature

POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned

legal representative(s) of
ENDORECHERCHE, INC.

an organization existing under the laws of Canada

and in present execution of its business activity domiciled at
2989, DE LA PROMENADE, SAINTE-FOY, QUEBEC G1W 2J5, CANADA

do hereby grant POWER OF ATTORNEY to DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and CLAUDIA LUCIA CAPO RAMIREZ, tp. 36448, identification card No. 40.017.374 of Tunja, residing in Bogotá, Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above- mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.
5) To register domain names before the competent entity.
6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related objet and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
7) To ratify or not the officious agency.
8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such sustitutions.

Grantor signature

on this of 2007

14

Notaría Once del Círculo de Bogotá D.C. hago constar que esta fotocopia coincide con su original que he tenido a la vista.
02 MAR 2010
NOTARIO ONCE
BOGOTÁ D.C.

TRADUCCIÓN OFICIAL No.
JUAN PABLO PIEDRAHITA AGUILERA
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
RES. 718 DE MAYO 2003
DEL MIN. INTERIOR Y DE JUSTICIA

RESUMEN DE LA INVENCION

Se describen métodos novedosos para el tratamiento o reducción de la probabilidad de adquirir síntomas o enfermedades debidas a la menopausia, en mujeres post-menopáusicas, particularmente osteoporosis, atrofia y sequedad vaginal, hipogonadismo, líbido disminuida, atrofia de la piel, enfermedad del tejido conectivo, incontinencia urinaria, cánceres de mama, del endometrio, ovárico y uterino, sofocos, pérdida de masa muscular, resistencia a la insulina, fatiga, pérdida de energía, envejecimiento, síntomas físicos de la menopausia, en animales susceptibles de sangre caliente incluyendo humanos, que involucra la administración de un precursor esteroide del sexo. Dicho método comprende formas novedosas de administración y dosificación de dehidroepiandrosterona (DHEA) con objeto de aprovechar los efectos androgénicos positivos en la lámina propia de las capas vaginales y/o la capa muscular, sin provocar de forma indeseable efectos estrogénicos sistémicos con objeto de evitar el riesgo de cáncer de mama y uterino. Se describen composiciones farmacéuticas para el suministro de ingredientes activos útiles para la invención.

COMPOSICIONES DE DHEA PARA EL TRATAMIENTO DE LA MENOPAUSIA

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona formas novedosas de administración y dosificación de dehidroepiandrosterona (DHEA) con objeto de tomar ventaja de efectos androgénicos positivo (por ejemplo en la lámina propia de capas vaginales y/o la capa muscular), sin causar indeseablemente efectos estrogénicos sistémicos. Además de la DHEA, otros precursores de esteroides sexuales se pueden usar (por ejemplo, dehidroepiandrosterona-sulfato, androst-5-eno-3β,17β-diol, y 4-androsteno-3,17-diona).

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Se conocen muchas terapias relacionadas con las hormonas. Por ejemplo, muchas proporcionan sistémicamente y/o a tejido objetivo el andrógeno o estrógeno de esteroides sexuales. Además de la administración directa de andrógenos y/o estrógenos, precursores de esteroides sexuales que se pueden convertir a estrógeno y/o andrógeno en un determinado tejido se han usado también para muchas condiciones. Tanto los andrógenos como los estrógenos pueden ser benéficos en algunos contextos y perjudiciales en otros. Eso depende entre otras cosas del tejido al que se dirige, las necesidades

16

específicas presentadas por un paciente, y en la medida en que el tejido no dirigido se puede afectar. Algunas terapias, aunque dirigidas, pueden tener todavía actividad indeseable en otras partes del cuerpo (por ejemplo, donde la administración local del agente farmacéutico sin embargo resulta en un incremento de la presencia sistémica de ya sea el producto farmacéutico o uno de sus metabolitos. También, el mecanismo de acción no siempre se ha comprendido completamente, especialmente las contribuciones relativas de andrógenos y estrógenos.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

Por lo tanto es un objeto de la presente invención utilizar dosificaciones específicas, formulaciones y modos de administración para alcanzar mejor los efectos benéficos de esteroides sexuales y para evitar mejor sus efectos secundarios no deseados.

En un aspecto, la invención proporciona un método para tratar y/o reducir la probabilidad de adquirir enfermedades vaginales o condiciones relacionadas con el desequilibrio hormonal en mujeres postmenopáusicas, el método comprende administrar un precursor de esteroide sexual seleccionado del grupo que consiste de dehidroepiandrosterona, dehidroepiandrosterona-sulfato, androst-5-eno-3β,17β-diol, y

17

4-androsten-3,17-diona a un paciente que necesita del tratamiento en donde el precursor de esteroide sexual se administra en una cantidad terapéutica que incrementa el nivel de metabolitos de andrógeno circulante sin incrementar el nivel de estradiol por encima de los valores encontrados en mujeres postmenopáusicas normales.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar y/o reducir la probabilidad de adquirir síntomas o enfermedades debido a la menopausia, en mujeres postmenopáusicas, el método comprende administrar un precursor de esteroide sexual seleccionado del grupo que consiste de dehidroepiandrosterona, dehidroepiandrosterona-sulfato, androst-5-eno-3β,17β-diol, y 4-androsten-3,17-diona a un paciente que necesita del tratamiento en donde el precursor de esteroide sexual se administra en una cantidad terapéutica que incrementa el nivel de metabolitos de andrógeno circulante sin incrementar el nivel circulante de estradiol por encima de los valores encontrados en mujeres postmenopáusicas normales con objeto de evitar el riesgo de cáncer de mama y uterino.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar y/o reducir la probabilidad de adquirir síntomas o enfermedades debido a la menopausia, en mujeres postmenopáusicas, el método comprende administrar un

precursor de esteroide sexual seleccionado del grupo que consiste de dehidroepiandrosterona, dehidroepiandrosterona-sulfato, androst-5-eno-3β,17β-diol, y 4-androsten-3,17-diona a un paciente que necesita del tratamiento en donde el precursor de esteroide sexual se administra en una cantidad terapéutica que incrementa el nivel de metabolitos de andrógeno circulante y además comprende administrar como parte de una terapia de combinación, una cantidad terapéuticamente efectiva de un Modulador de Receptor de Estrógeno Selectivo con objeto de evitar el riesgo de cáncer de mama y uterino normalmente presente en mujeres postmenopáusicas y para prevenir pérdida ósea, acumulación de grasa y diabetes tipo 2.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar condiciones vaginales de la lámina propia de capa o capa muscular que comprende administración vaginal de DHEA en una dosis diaria de 3-13 mg.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un precursor de esteroide sexual seleccionado del grupo que consiste de dehidroepiandrosterona, dehidroepiandrosterona-sulfato, androst-5-eno-3β,17β-diol, y 4-androsteno-3,17-diona y además comprende un excipiente, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable seleccionado del grupo que

19

consiste de triglicéridos de ácidos grasos saturados C12-C18 con porciones variadas de los correspondientes glicéridos parciales (grasa dura, Witepsol), manteca, triglicéridos mezclados de ácidos oleico, palmítico, y esteárico (manteca de cacao), aceite de semilla de algodón parcialmente hidrogenado (Cotomar), ésteres y alcoholes grasos hidrogenados (Dehydag Base I, Base II o Base III, puede también contener glicéridos de ácidos grasos saturados C12-C16), triglicéridos de palma, núcleo de palma,, y aceites de coco con monoestearato de glicerilo auto-emulsificante y estearato de polioxilo (Fattibase), Hexaride Base 95, fracciones de fusión más altas de aceite de núcleo de palma y coco (Hidrobote), Aceites vegetales hidrogenados reconfigurados (S-70-XX95 y S-070-XXA), mezcla eutéctica de mono-, di-, triglicéridos derivados de aceites vegetales naturales (Suppocire), Triglicéridos Tegester, Tween 61, triglicéridos derivados de aceite de coco (Wecobee), aceite de theobroma, glicéridos semi-sintéticos (Japocire, Ovucire), mezcla de tri- di- y monoglicéridos de ácidos grasos saturados (Massa Estarinum) y una combinación de lo anterior (ver Allen et al. 2008). Cualquier vehículo que incluye líquido en el cual DHEA y otros precursores se cubren solubles por esta invención.

En otro aspecto, la invención proporciona un supositorio vaginal que comprende 0.25-2.00 por ciento, más especialmente 0.5 por ciento DHEA, por peso en relación con el peso total del supositorio, de DHEA, y además comprende un excipiente lipofílico. Particularmente el excipiente adecuado es witepsol H-15.

Al proporcionar los efectos androgénicos deseados sin efectos sistémicos estrogénicos, se pueden evitar los efectos secundarios sistémicos de estrógeno tales como el aumento del riesgo de cánceres de mama y endometrio encontrados con terapias de reemplazo de estrógeno sistémico y locales basadas en estrógeno actuales (Labrie, Cusan et al. Menopause, en prensa).

Además de otras formas de administración de precursores, la invención proporciona supositorios vaginales y cremas vaginales formuladas con excipientes preferidos y concentraciones preferidas de precursor.

La administración vaginal se prefiere ya que la acción local puede proporcionar los efectos androgénicos deseados en capas vaginales deseadas en dosificaciones mucho más bajas que cuando se administra de otra manera. La dosificación por otros medios de administración se pueden utilizar también al alterar las dosis y concentraciones anteriores por variación conocida entre los métodos de administración. El médico que

21

atiende debe alterar la dosis apropiadamente de acuerdo con la respuesta de cada paciente.

En modalidades preferidas, el precursor de esteroide sexual es DHEA.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

Las Figuras 1A-D muestran niveles de Suero de DHEA y 5-Diol en el Día 1 o Día 7 en Mujeres Postmenopáusicas de 40-75 Años de Edad Después de la Administración Diaria de Supositorios Vaginales Que contienen DHEA al 0%, 0.5%, 1.0% o 1.8%. Los datos se expresan como medias ± SEM (n=9 ó 10).

Las Figuras 2A-D muestran Niveles de Suero de Testo y DHT en el Día 1 o Día 7 en Mujeres Postmenopáusicas de 40-75 Años de Edad Después de la Administración Diaria de Supositorios Vaginales Que contienen DHEA al 0%, 0.5%, 1.0% o 1.8% (n=8). Los datos se expresan como medias ± SEM (n=8 hasta 9). Los niveles de Testo de un paciente en el grupo placebo se excluyeron debido a que los altos niveles inexplicables de Testo no se reflejan en ningún otro esteroide.

Las Figura 3A-D muestran Niveles de Suero de E_1 y E_2 en el Día 1 o Día 7 en Mujeres Postmenopáusicas de 40-75 Años de Edad Después de la Administración Diaria de Supositorios

Vaginales Que contienen DHEA al 0%, 0.5%, 1.0% o 1.8%. Los datos se expresan como medias ± SEM (n=9 ó 10).

Las Figuras 4A-D muestran Niveles de Suero de E_1-S y DHEA-S en el Día 1 o Día 7 en Mujeres Postmenopáusicas de 40-75 Años de Edad Después de la Administración Diaria de Supositorios Vaginales Que contienen DHEA al 0%, 0.5%, 1.0% o 1.8%. Los datos se expresan como medias ± SEM (n=9 ó 10).

Las Figuras 5A-D muestran Niveles de Suero de 4-Diona y ADT-G en el Día 1 o Día 7 en Mujeres Postmenopáusicas de 40-75 Años de Edad Después de la Administración Diaria de Supositorios Vaginales Que contienen DHEA al 0%, 0.5%, 1.0% ó 1.8%. Los datos se expresan como medias ± SEM (n=9 ó 10).

Las Figuras 6A-D muestra Niveles de Suero de 3α-Diol-3G y 3α-Diol-17G en el Día 1 o Día 7 en Mujeres Postmenopáusicas de 40-75 Años de Edad Después de una Administración de Una vez al Día de Supositorios Vaginales Que contienen DHEA al 0%, 0.5%, 1.0% ó 1.8%. Los datos se expresan como medias ± SEM (n=9 ó 10).

Las Figuras 7A-F muestran Concentración de Suero de 24 Horas Promedio ($AUC_{0-24h}/24$) de DHEA, 5-Diol, DHEA-S, 4-Diona, Testo y DHT Medida en el Día 1 o Día 7 Después de una Administración de Una Vez al Día de Supositorios Vaginales Que contienen DHEA al 0%, 0.5%, 1.0% ó 1.8%. Los datos se expresan como medias ± SEM (n=8 hasta 10). Los niveles de

Testo de un paciente en el grupo placebo se excluyeron (n=8 en ese grupo). Las concentraciones de esteroide de suero medidas en mujeres premenopáusicas de 30-35 años de edad se agregan como referencia. Los datos se expresan como media (n = 47) mientras que los 5^{tos} y 95os percentiles se indican (líneas discontinuas). *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$, experimental (Día 7) contra placebo (Día 7).

Las Figuras 8A-F muestra Concentración de Suero de 24 Horas Promedio (AUC0-24h/24) de ADT-G, 3α-Diol-3G, 3α-Diol-17G, E_1, E_2 y E_1-S Medida en el Día 1 o Día 7 Después de la Administración Diaria de Supositorios Vaginales Que contienen DHEA al 0%, 0.5%, 1.0% ó 1.8%. Los datos se expresan como medias ± SEM (n=9 ó 10). Las concentraciones de esteroide de suero medidas en mujeres premenopáusicas de 30-35 años de edad se agregan como referencia. Los datos se expresan como media (n = 47) mientras que los 5^{tos} y 95os percentiles se indican (líneas discontinuas). *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$, experimental (Día 7) contra placebo (Día 7).

La Figura 9 muestra Cambios de los Niveles de Suero de la Suma de los Metabolitos de Andrógeno ADT-G, 3α-Diol-17G en Mujeres Postmenopáusicas con Atrofia Vaginal Después de Administración Intravaginal de Incremento de Dosis de DHEA. Los datos se expresan como porcentaje de los niveles de suero de los mismos metabolitos de esteroide observados en mujeres

premenopáusicas de ciclo adultos jóvenes (30-35 años de edad). El nivel de transformación se obtiene al dividir la suma de los niveles de suero de ADT-G, 3α-diol-3G y 3α-diol-17G en mujeres que recibieron la dosis de DHEA al 0.5%, 1.0% y 1.8% por los valores encontrados en mujeres premenopáusicas (datos de Labrie et al., 2006). Los cambios de DHEA en suero comparados con mujeres premenopáusicas normales se indican también como comparación para indicar la eficiencia de la transformación (0 – 0). .....; y _____ niveles basales de metabolitos de andrógeno y DHEA, respectivamente.

La Figura 10A muestra el Índice de Maduración y la Figura 10B muestra el pH Vaginal, Medidos en el Día 1 y Día 7 en Mujeres Postmenopáusicas de 40-75 Años de Edad Después de la Administración Diaria de Supositorios Vaginales Que contienen DHEA al 0%, 0.5%, 1.0% o 1.8%. Los datos se expresan como medias ± SEM (n=9 ó 10). *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$, los Datos en el Día 7 contra Datos en el Día 1.

La Figura 11A muestra un curso de tiempo de dehidroepiandrosterona de suero (DHEA) y la Figura 11B androst-5-eno-3β,17β-diol (5-diol) después de la administración oral sencilla de dos cápsulas 50-mg de DHEA o la aplicación de 4 g de crema o gel DHEA 10% a mujeres postmenopáusicas.

La Figura 12A muestra un curso de tiempo de androstenodiona de suero (4-diona) y la Figura 12B muestra testosterona después de la administración oral sencilla de dos cápsulas 50-mg de DHEA o la aplicación de 4 g de crema o gel DHEA 10% a mujeres postmenopáusicas.

La Figura 13A muestra un curso de tiempo de estrona de suero (E_1) y la Figura 13B muestra 17β-estradiol (E_2) después de la administración oral sencilla de dos cápsulas 50-mg de DHEA o la aplicación de 4 g de crema o gel DHEA 10% a mujeres postmenopáusicas.

La Figura 14A muestra un curso de tiempo de sulfato de dehidroepiandrosterona de suero (DHEA-S) y la Figura 14B muestra sulfato de estrona (E_1-S) después de la administración oral sencilla de dos cápsulas 50-mg de DHEA o la aplicación de 4 g de crema o gel DHEA al 10% a mujeres postmenopáusicas.

La Figura 15A muestra un curso de tiempo de glucorónido de androesterona de suero (ADT-G) y la Figura 15B muestra 3α,17β-diol-glucorónido de androstona (3α-diol-G) después de la administración oral diaria de dos cápsulas 50-mg de DHEA o la aplicación de 4 g de crema o gel DHEA al 10% a mujeres postmenopáusicas.

La Figura 16A muestra un curso de tiempo de dehidroepiandrosterona de suero (DHEA) y la Figura 16B

muestra andros-5-eno-3β,17β-diol (5-diol) después de la administración oral diaria de dos cápsulas 50-mg de DHEA o la aplicación de 4 g de crema o gel DHEA al 10% a mujeres postmenopáusicas. Las mediciones se hicieron en el día 14 de dosificación.

La Figura 17A muestra un curso de tiempo de androstenodiona de suero (4-diona) y la Figura 17B muestra testosterona después de la administración oral diaria de dos cápsulas 50-mg de DHEA o la aplicación de 4 g de crema o gel DHEA al 10% a mujeres postmenopáusicas. Las mediciones se hicieron en el día 14 de dosificación.

La Figura 18A muestra un curso de tiempo de estrona de suero (E_1) y la Figura 18B muestra estradiol (E_2) después de la administración oral diaria de dos cápsulas 50-mg de DHEA o la aplicación de 4 g de crema o gel DHEA al 10% a mujeres postmenopáusicas. Las mediciones se hicieron en el día 14 de dosificación.

La Figura 19A muestra un curso de tiempo de sulfato de dehidroepiandrosterona de suero (DHEA-S) y la Figura 19B muestra sulfato de estrona (E_1-S) después de la administración oral diaria de dos cápsulas 50-mg de DHEA o la aplicación de 4 g de crema o gel DHEA al 10% a mujeres postmenopáusicas. Las mediciones se hicieron en el día 14 de dosificación.

La Figura 20A muestra un curso de tiempo de glucorónido de androesterona de suero (ADT-G) y la Figura 20B muestra androsteno-3α,17β-diol-G (3α-diol-G) después de la administración oral diaria de dos cápsulas 50-mg de DHEA o la aplicación de 4 g de crema o gel DHEA al 10% a mujeres postmenopáusicas. Las mediciones se hicieron en el día 14 de dosificación.

La Figura 21 muestra las relaciones de los valores $AUC_{0-24\,h}$ de DHEA y sus metabolitos en el día 14 de la dosificación comparados con los valores basales de pretratamiento. Los valores numéricos correspondientes se pueden encontrar en la Tabla 5.

La Figura 22 muestra el efecto de aplicación intravaginal diaria de DHEA al 0.0%, 0.25%, 0.5% y 1.0% (Prasterona) durante 2, 4, 8 y 12 semanas en el porcentaje de células parabasales vaginales en mujeres postmenopáusicas. Los datos se expresan como medias ± SEM.

La Figura 23 muestra el efecto de aplicación intravaginal diaria de DHEA al 0.0%, 0.25%, 0.5% y 1.0% (Prasterona) durante 2, 4, 8 y 12 semanas en el porcentaje de células superficiales vaginales en mujeres postmenopáusicas. Los datos se expresan como medias ± SEM.

La Figura 24 muestra el efecto de aplicación intravaginal diaria de DHEA al 0.0%, 0.25%, 0.5% y 1.0%

(Prasterona) durante 2, 4, 8 y 12 semanas en pH vaginal en mujeres postmenopáusicas. Los datos se expresan como medias ± SEM.

La Figura 25 muestra el efecto de aplicación intravaginal diaria de DHEA al 0.0%, 0.25%, 0.5% y 1.0% (Prasterona) durante 2, 4, 8 y 12 semanas en el cambio en la severidad del síntoma de atrofia vaginal juzgado por las propias mujeres como los más molestos. Los valores se comparan con el día 1 y se expresan como medias ± SEM.

La Figura 26 muestra el efecto de aplicación intravaginal diaria de DHEA al 0.0%, 0.25%, 0.5% y 1.0% (Prasterona) durante 2, 4, 8 y 12 semanas en el cambio en secreciones vaginales evaluadas en examen vaginal. Los datos se expresan como medias ± SEM.

La Figura 27 muestra el efecto de aplicación intravaginal diaria de DHEA al 0.0%, 0.25%, 0.5% y 1.0% (Prasterona) durante 2, 4, 8 y 12 semanas en el cambio en color vaginal evaluado en examen vaginal. Los datos se expresan como medias ± SEM.

La Figura 28 muestra el efecto de aplicación intravaginal diaria de DHEA al 0.0%, 0.25%, 0.5% y 1.0% (Prasterona) durante 2, 4, 8 y 12 semanas en el cambio en integridad epitelial vaginal evaluada en examen vaginal. Los datos se expresan como medias ± SEM.

La Figura 29 muestra el efecto de aplicación intravaginal diaria de DHEA al 0.0%, 0.25%, 0.5% y 1.0% (Prasterona) durante 2, 4, 8 y 12 semanas en el cambio en espesor epitelial vaginal evaluado en examen vaginal. Los datos se expresan como medias ± SEM.

La Figura 30A-F muestran las concentraciones de suero de 24 horas promedio ($AUC_{0-24}/24$); Fig. 30A para DHEA, Fig. 30B para 5-Diol, Fig. 30C para DHEA-S, Fig. 30D para E1, Fig. 30E para E2 y Fig. 30F para E1-S medidas en días 1 y 7 después de una administración de una vez al día de óvulo vaginal que contiene DHEA al 0.5%. Los datos se expresan como medias ± SEM (n=10). Las concentraciones de esteroide de suero medidas en premenopáusicas de 30-35 años de edad (n=47) así como en mujeres premenopáusicas de 55-65 años de edad (n=369) se agregan como datos de referencia que se expresan como medias y percentiles 5 y 95 (líneas discontinuas). *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$, experimental contra línea de base. (Los datos son de Labrie, Cusan et al. 2008).

La Figura 31A-F muestra las concentraciones de suero de 24 horas promedio ($AUC_{0-24h}/24$), Fig. 31A para 4-Diona, Fig. 31B para testosterona, Fig. 31C para DHT, Fig. 31D para ADT-G, Fig. 31E para 3α-Diol-3G y Fig. 31F para 3α-Diol-17G medidas en los días 1 y 7 después de una administración de una vez al día de óvulo vaginal que contiene DHEA al 0.5%.

Los datos se expresan como medias ± SEM (n=10). Las concentraciones de esteroide de suero medidas en mujeres premenopáusicas de 30-35 años de edad (n=47) y premenopáusicas de 55-65 años de edad (n=369) se agregan como datos de referencia que se expresan como medias y percentiles 5 y 95 (líneas discontinuas). *, $p < 0.05$, experimental contra línea base. (Los datos son de Labrie, Cusan et al. 2008).

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Se expone a continuación una lista de artículos discutidos en la presente en citas de forma corta:

Allen, Loyd V Jr, Worthen Dennis B, and Mink Bill, in Suppositories, Capítulo 3 páginas 27-49, Publicado por el Pharmaceutical Press, London, RU, 2008

Archer, D.F. (2007). "Drospirenone-containing hormone therapy for postmenopausal women. Perspective on current data." T 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.

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.

Barendale, P. M., M. J. Read, 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. Metnb. 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." T 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 thrapy and riks 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 108,411 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.

Galhardo, C. L., J. M. Soares, Jr., et al. (2006). "Estrogen effects on the vaginal pH, 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.

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.

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.

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.

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.

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.

Kvorning, J.D.N. and H. K. Jensen (1986). Pharmaceutical development of lose-dose estradiol vagitories. International Workshop, Copenhagen.

Labrie, C, A. Bélanger, 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.

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. Bélanger, J. Simard, V. Luu-The and C. Labrie, DHEA and peripheral androgen and estrogen formation: intracrinology, Ann. N. Y. Acad. Sd. 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.

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. Bélanger, 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.

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. Bélanger, P. Bélanger, R. Bérubé, 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. Bélanger, The key role of 17β-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. Bélanger, Intracrinology: role of the family of 17β-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. Bélanger, G. Pelletier, Y. Morel, F. Mebarki, R. Sanchez, F. Durocher, C. Turgeon, Y. Labrie, E. Rhéaume, C. Labrie and Y. Lachance, The 3β-hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase gene family: lessons from type II 3β-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. Bélanger and G. Pelletier, Structure, function and tissue-specific gene expression of 3β-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. Gelfand, Editor, Androgens and Reproductive Aging, Taylor and Francis, Oxsfordshire, UK (2006), pp. 113-135.

42

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*-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 17β-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 17β-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 T 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.

C.J. Migeon, A. R. Keller, B. Lawrence and T.H. Shepart II, 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 y 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, I, 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.

Riman, T., P. W. Dickman, et al. (2002). "Hormone replacement therapy and the risk of invasive epithelial ovarian cacner 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.

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.

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.

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.

E.D. Schriock, C.K. 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.

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 healty postmenopausal women." Fertil Steril In press.

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

Simunic, V., I. Banovic, et al. (2003). "Local estrogen treatment in patients with urogenital symptoms." Int T 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.

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.

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.

Swanson, M. Lorentzon, L. Vandenput, D. Mellström, 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. Bélanger, 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.

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.

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 17β-hydroxy-5*-androstan-3-one, 4-androstene-3,17-dione, dehydroepiandrosterone, 17β-hydroxyprogesterone and progesterone and its application to human male plasma, J. Steroid Biochem. 7 (1976), pp. 1-10.

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.

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. Willsteed (2001). "Menopause and the skin." Australas T Dermatol 42(3): 149-8; quiz 159.

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.

La resequedad vaginal se encuentra en 75% de las mujeres postmenopáusicas (Wines and Willsteed 2001; N.A.M.S. 2007). Por varias razones, especialmente el miedo de complicaciones por estrógenos, solamente 20 hasta 25% de mujeres sintomáticas con atrofia vaginal buscan tratamiento médico (Pandit and Ouslander 1997; N.A.M.S. 2007). Hay así una clara necesidad médica y una gran oportunidad para mejorar la calidad de vida de una población grande de mujeres que dejan de padecer de atrofia vaginal para una gran parte de su vida útil. Se puede mencionar que mientras que los sofocos se reducen espontáneamente con el tiempo, los síntomas de atrofia vaginal, es decir resequedad vaginal, irritación vulvovaginal/comezón y dispareunia usualmente aumenta en severidad con el tiempo en la ausencia del tratamiento.

Con base en el hecho bien conocido de que la secreción de estrógeno por los ovarios cesa en la menopausia, los estrógenos sistémicos y locales tienen lo que ahora ha sido

53

el enfoque exclusivo para el tratamiento de atrofia vaginal. Sin embargo, los estrógenos sistémicos + progestina (HRT) y los estrógenos solos (ERT) se han mostrado para incrementar el riesgo de cáncer de mama (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 Breas Cancer 1997; Hulley 2002; Beral 2003; Chlebowski, Hendrix et al. 2003; Holmberg and Anderson 2004; Lyytinen, Pukkala et al. 2006; Corrao, Zambon et al. 2008; Holmberg, Iversen et al. 2008; Li, Plummer et al. 2008), ovarian cancer (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) así como cáncer endometrial (estrógenos solos) (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, Bull et al. 2005). La publicidad que siguió el Estudio Preliminar de la Salud de las Mujeres (Rossouw, Anderson et al. 2002) tuvo el mayor impacto, poniendo así en duda la seguridad de los tratamientos disponibles de síntomas de menopausia (Archer 2007).

Aunque las formulaciones intravaginales se desarrollaron para evitar exposición sistémica a estrógenos, una larga

serie de estudios han demostrado unánimemente que todas las formulaciones de estrógeno intravaginales llevan a niveles de estrógeno de suero relativamente altos medidos directamente o a través de sus efectos sistémicos (Englund and Johansson 1978; Rigg, Hermann et al. 1978; Martin, Yen et al. 1979; Furuhjelm, 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; Ponzone, 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). Estos datos muestran un incremento significativo en niveles de estrógeno de suero, claramente indican que el uso de formulaciones de estrógeno intravaginales se asocia también potencialmente con un riesgo incrementado de cáncer de mama y uterino (Kvorning and Jensen 1986; Mattson, Culberg et al. 1989; Rosenberg, Magnusson et al. 2006; N.A.M.S. 2007). Las preocupaciones han sido, de hecho oficialmente planteadas alrededor de los efectos estimulantes de formulaciones de estrógeno vaginales en el endometrio ((N.A.M.S. 2007).

La mayoría de las mediciones anteriores de los niveles de estradiol de suero (E_2) después de la administración

55

intravaginal de estrógenos usa radioinmunoanálisis, una tecnología carece de especificidad, exactitud, confiabilidad y sensibilidad (Rinaldi, Dechaud et al. 2001). Se ha medido los estrógenos de suero usando ensayos de espectrometría de masa validados GLP (Good Laboratory Practice) después de administración intravaginal de las dos más comúnmente usadas formulaciones de estrógeno (Labrie, Cusan et al. 2008). Este estudio podría definitivamente mostrar que tanto la píldora E_2 (25 µg E_2/día) y crema de estrógenos conjugados (1 g de 0.625 mg estrógenos conjugados/día), después de una semana de tratamiento diario, causa un incremento de aproximadamente 5 veces en E_2 de suero en mujeres postmenopáusicas. Tales datos indican que los efectos de estrógenos aplicados localmente en la vagina es poco probable que se limiten a la vagina y que la acción sistémica se espera como previamente se sugirió (Englund and Johansson 1978; Rigg, Hermann et al. 1978; Martin, Yen et al. 1979; Furuhjelm, 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; Ponzone, 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).

56

Además de las preocupaciones de seguridad indicadas anteriormente de estrógenos administrados tanto sistémicamente como localmente, los datos recientes han demostrado claramente que las mujeres no solo son deficientes en estrógenos en tiempo de la menopausia sino que también han sido progresivamente privadas, a partir de los años treinta, de los andrógenos hechos en tejidos objetivos periféricos específicos por la transformación de intracrina de dehidroepiandrosterona (DHEA) en andrógenos y/o estrógenos (Labrie, Belanger et al. 1988; Labrie 1991; Labrie, Luu-The et al. 2003; Labrie, Luu-The et al. 2005). De hecho, la DHEA en suero y DHEA-sulfato disminuyen progresivamente desde el pico observado en la edad de 30 años (Orentreich, Brind et al. 1984; Labrie, Belanger et al. 1997; Labrie, Luu-The et al. 2003) a un valor 60% menor en tiempo de la menopausia (Labrie, Belanger et al. 2006).

En cuanto al papel de los andrógenos en las mujeres, es importante mencionar que las mujeres secretan el 50% tanto andrógenos como lo observado en hombres (Labrie, Belanger et al. 1997; Labrie, Luu-The et al. 2005). Ya que la DHEA en suero es la fuente predominante de andrógenos que juegan una serie de funciones fisiológicas en las mujeres (Labrie, Luu-The et al. 2003; Labrie 2007), la disminución del 60% en la DHEA circulante encontrada ya en tiempo de la menopausia

lleva a una disminución de 60% similar en la mezcla de andrógeno total (Labrie, Belanger et al. 2006) con los signos potenciales resultantes y los síntomas de hipoandrogenicidad en el hueso, músculo, piel, glándula mamaria, vagina, cerebro así como en glucosa, insulina y metabolismo del lípido (Labrie, Luu-The et al. 2003; Labrie 2007). Entre los tejidos objetivos de andrógeno, los datos recientes han mostrado que la vagina es sensible a los andrógenos después de la administración de DHEA en la rata con efectos benéficos, no solamente en la capa epitelial superficial de la vagina sino también en fibras de colágeno en la lamina propia y en la capa muscular (Berger, El-Alfy et al. 2005).

Con base en los datos de nuestros estudios preclínicos (Sourla, Flamand et al. 1998; Berger, El-Alfy et al. 2005) y clínicos (Labrie, Diamond et al. 1997; Labrie, Cusan et al. 2008) que muestran efectos benéficos de la vagina de DHEA administrada percutáneamente o localmente, el presente ensayo clínico es un estudio prospectivo, aleatorizado y controlado con placebo del efecto de las tres dosis de la DHEA intravaginal administrada diariamente durante 12 semanas en los cambios en las células superficiales y parabasales, el pH vaginal y el síntoma más molesto de la atrofia vaginal como objetivos primordiales. Los datos claramente muestran que la DHEA administrada localmente es muy eficiente y rápida en

corregir todos los signos y síntomas de la atrofia vaginal, un efecto máximo cerca de alcanzarse en 2 semanas en una dosis de DHEA que no provoca un cambio significativo en los estrógenos de suero o andrógenos mientras que todos los otros esteroides permanecen sin cambios o bien dentro del rango encontrado en mujeres postmenopáusicas normales.

Cuando la DHEA se administra localmente en la vagina, los efectos benéficos de estrógenos y andrógenos hechos localmente en la vagina se alcanzan sin ninguna liberación significativa de estradiol o testosterona en la sangre (Labrie, Cusan et al. J. Ster. Biochem. Mol. Biol. In press). En la formación de andrógenos y/o estrógenos de DHEA por el proceso de intracrinología, cualquier tejido es impredecible ya que la respuesta depende sobre la actividad de la maquinaria enzimática específicamente presente en cada célula de cada tejido. Así, no es posible predecir, a partir de los andrógenos y estrógenos que se producen de DHEA en un tejido, en la medida en que los andrógenos y estrógenos similares se puedan producir en otro tejido.

Los resultados del ensayo clínico EPC-210 (Ejemplo 3) demuestran claramente para la primera vez que la administración local de DHEA como terapia de reemplazo precursora de la hormona (HPRT) es altamente eficiente y rápida en corregir todos los síntomas y signos de atrofia

vaginal en mujeres postmenopáusicas. Más importante, esto se alcanza en una dosis (0.5%) de DHEA que no incrementa los niveles de suero de estrógenos o andrógenos activos y sin o mínimos cambios en la DHEA en suero y cualquiera de sus metabolitos los cuales todos siguen permaneciendo dentro del rango de valores encontrados en mujeres postmenopáusicas normales (Labrie, Cusan et al. 2008).

Mientras el 75% de las mujeres postmenopáusicas padecen de atrofia vaginal (Wines and Willsteed 2001; N.A.M.S. 2007), afectando así su calidad de vida durante una mayor parte de su vida útil, solamente el 20% buscan tratamiento (Pandit and Ouslander 1997). El temor de cáncer de mama relacionado con el incremento de los niveles en la sangre de estrógenos es la razón principal implicada. Ya que la secreción de estrógeno en la circulación sistémica es exclusivamente de origen de ovario y cesa en la menopausia, la administración de estrógenos a mujeres postmenopáusicas no parece ser fisiológica. En las consecuencias de WHI, el reto científico es explorar los tipos de terapia hormonal alternativa y las formulaciones que proporcionarían todas las ventajas de la menopausia de los estrógenos mientras mejora la calidad de vida de las mujeres, minimizando los riesgos y maximizando los beneficios (Archer 2007). Ya que los tratamientos basados sin estrógeno no han mostrado eficacia convincente (Nelson,

Vesco et al. 2006; Suckling, Lethaby et al. 2006), las mujeres y sus médicos se quedan sin tratamiento seguro para atrofia vaginal.

Diversas formas de estrógenos son un tratamiento eficiente para atrofia vulvovaginal (Pandit and Ouslander 1997; Utian, Shoupe et al. 2001). De hecho, el comprimido E_2 vaginal ha mostrado una eficacia similar a la del anillo E_2 (Weisberg, Ayton et al. 2005) así como a la crema de estrógeno conjugado (Rioux, Devlin et al. 2000; Manonai, Theppisai et al. 2001).

Este HPRT novedoso está en marcado contraste con el incremento de 5 veces en E_2 de suero medido por espectrometría de masa después del tratamiento con E_2 intravaginal o estrógenos conjugados (Labrie, Cusan et al. 2008). Estos datos recientes en los cambios en estrógenos de suero confirman una larga serie de estudios que muestran que todas las formulaciones de estrógeno intravaginales llevan a elevadas concentraciones de estrógeno de suero medidas directamente por radioinmunoanálisis o a través de sus efectos sistémicos (Englund and Johansson 1978; Rigg, Hermann et al. 1978; Martin, Yen et al. 1979; Furuhjelm, 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, Thappisai et al. 2001; Notelovitz, Funk et al. 2002; Ponzone, 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).

Los eventos adversos más comunes reportados con estrógenos vaginales son sangrado vaginal y dolor en las mamas, ambos secundarios a incremento de estrógenos de suero (Suckling, Lethaby et al. 2006). Estos efectos secundarios se han reportado para el anillo E_2, crema de estrógenos conjugados así como comprimido E_2 (Ayton, Darling et al. 1996; Weisberg, Ayton et al. 2005). Como se menciona arriba, también existen preocupaciones alrededor de los efectos estimulantes de estrógenos vaginales en el endometrio (N.A.M.S. 2007). El sangrado uterino, dolor en las mamas y dolor perineal se reportaron en 9% de las mujeres que tomó el comprimido vaginal durante 24 semanas mientras que el 34% se quejó de los mismos síntomas en el grupo de crema de estrógeno conjugado vaginal (Rioux, Devlin et al. 2000). (Suckling, Lethaby et al. 2006) que no reportó diferencia entre las diferentes preparaciones de estrógeno vaginal.

Es bien conocido que la vaginitis atrófica en mujeres postmenopáusicas se puede empeorar o inducir por el uso de inhibidores de aromatasa para el tratamiento de cáncer de mama. De hecho, estos fármacos ejercen sus beneficios en

cáncer de mama al disminuir biosíntesis E_2 en todos los tejidos, incrementando así la frecuencia y severidad de síntomas de menopausia (Fallowfield, Cella et al. 2004; Morales, Neven et al. 2004). En un estudio reciente donde siete paciente con cáncer de mama tratados con inhibidores de aromatasa recibieron Vagifem en una dosis diaria de 25 µg durante 2 semanas y luego, después de eso, dos veces por semana, el E_2 de suero aumentó de un promedio de 3 pmol/1 hasta 72 pmol/1, en 2 semanas (rango de 3 hasta 232) (Kendall, Dowsett et al. 2006). Los niveles de E_2 de suero generalmente disminuyen después de eso a valores de 40 pmol/l o menos aunque los valores de 137 y 219 pmol/l se encontraron en las semanas 7-10. Un paciente que recibió crema de Premarin tuvo niveles E_2 de suero de 83 pmol/l en 2 semanas. Se debe mencionar que la muestra de sangre para medir E_2 se realizó en el momento de la visita del paciente, una medición de tiempo probablemente no corresponde a los niveles de E_2 de suero más altos después de la administración de Vagifem. Por lo tanto es más que probable que los valores reportados en (Kendall, Dowsett et al. 2006) la infravaloración, hasta un grado desconocido, la elevación verdadera de E_2 de suero después de la administración de píldora de Vagifem intravaginal o crema de Premarin. Los autores concluyeron que el uso de Vagifem con inhibidores de aromatasa está

63

contraindicado. Estos resultados obtenidos en mujeres con cáncer de mama tratadas con inhibidores de aromatasa plantean una cuestión seria alrededor del uso de cualquier preparación de estrógeno vaginal así como cualquiera oral o transdérmica en mujeres postmenopáusicas.

La elevación relativamente alta de E_2 en suero después del tratamiento con diversas preparaciones de estrógeno vaginal que lleva a un mayor riesgo de cáncer de mama es una cuestión bien conocida (Rosenberg, Magnusson et al. 2006). Aunque un estudio que tiene un pequeño número de eventos y un seguimiento corto (un subgrupo 4.7% entre 1472 mujeres) no encontró una diferencia estadísticamente significativa en sobrevivencia libre de enfermedad en el subgrupo de mujeres que usaron estrógeno vaginal (Dew, Wren et al. 2003), no parece razonable o aceptable incrementar los niveles de E_2 de suero durante terapia de cáncer de mama cuando el objetivo de tratamiento con inhibidores de aromatasa es precisamente alcanzar la inhibición máxima de biosíntesis de E_2.

En un estudio inicial con Vagifem, un comprimido de E_2, cuando se administra en la dosis 25 µg, lleva a niveles E_2 de suero de 80 pmol/l con valores por debajo de 50 pmol/l en 14h y más tarde (Ivorning and Jensen 1986). En en un estudio más reciente con Vagifem, se midieron concentraciones de E_2 de suero máxima y media durante 24 h en 180 ± 99 pmol/l y 84

pmol/l para la dosis 25 µg mientras que los valores de 81 ± 62 pmol/l y 40 pmol/l, respectivamente, se encontraron para la dosis 10 µg (Notelovitz, Funk et al. 2002). Otros comprimidos de estrógeno vaginal y cremas han llevado a aún niveles de estrógeno de suero más altos (Schiff, Tulchinsky et al. 1977; Rioux, Devlin et al. 2000).

Con los comprimidos vaginales de E_2 10 µg y 25 µg, el E_2 de suero se encontró para incrementar a valores máximos de aproximadamente 90 y 160 pmol/l, respectivamente, de los valores basales de aproximadamente 35 pmol/l (Nilsson and Heimer 1992). El E_2 de suero con Vagifem se ha reportado en un Cmax de 51 ± 34 pg/ml en el día 1, este valor está prácticamente sin cambios en los días 14 (47 ± 21 pg/ml) y 84 (49 ± 27 pg/ml) (Vagifem, Physician Package Insert 1999).

En otro estudio, después de 52 semanas de tratamiento con Vagifem 25 µg, los niveles de suero de E_2 se reportaron que han permanecido sin cambios desde 10.3 ± 21.5 pg/ml hasta 9.9 pg/ml (Bachmann, Lobo et al. 2008). Tales datos se pueden explicar por el hecho de que la muestra de sangre se realizó más probablemente 3 ó 4 días después de la aplicación de Vagifem. También es importante mencionar que los niveles E_2 de suero elevados del pretratamiento en tal estudio más probablemente se refieren a la falta de especificidad de los ensayos inmuno-basados usados ya que los niveles de suero E_2

normales medidos por espectrometría de masa en mujeres postmenopáusicas son dos hasta tres veces menor (Labrie, Belanger et al. 2006).

En un estudio temprano, la administración oral y vaginal de 1.25 mg Premarin lleva a niveles de suero de E_2 y estrona hasta al menos 100 pg/ml y 1000 pg/ml respectivamente, durante las 24h después de la administración, los niveles que son algo más elevados después de la aplicación vaginal. Los niveles de gonadotropina de suero se disminuyeron en la mayoría de los sujetos (Englund and Johansson 1978). Los datos similares se reportaron por (Rigg, Hermann et al. 1978). En un estudio reciente, después de 3 meses de administración oral o intravaginal diaria de Premarin 0.625 mg, los niveles E_2 de suero incrementaron a 83.1 y 58.6 pg/ml respectivamente (Long, Liu et al. 2006), ilustrando así la muy importante exposición sistémica después de tanto la administración de estrógeno intravaginal y oral ya que E_2 de suero fue solamente 36% menor después de administración intravaginal comparado con administración oral de estrógenos conjugados. En un estudio de 12 semanas con crema vaginal Premarin en la dosis diaria de 2 g, tres veces por semana, 21% de las mujeres experimentaron sangrado después de una prueba de progestógeno (Nachtigall 1995). Por otra parte, de

estas mujeres, el 12% mostró un incremento en grosor endometrial en la ecografía.

Ningún incremento en los niveles de suero E_1, E_2 o E_1S se ha reportado con el uso del anillo vaginal (Nachtigall 1995; Gupta, Ozel et al. 2008) aunque se han observado incrementos importantes en E_1S y E_2 en mujeres mayores de 60 años (Naessen, Rodriguez-Macias et al. 2001). En el grupo ESTring de un estudio reciente, el E_2 de suero incrementó desde 16 ± 22 pmol/l hasta 49 ± 64 pmol/l en la semana 24 (Weisberg, Ayton et al. 2005). En el grupo Vagifem, por otra parte, el E_2 de suero incrementa desde 15 ± 33 pmol/l hasta 36 ± 51 pmol/l. Estos autores, sin embargo, reportan que el E_2 de suero permanece dentro o cerca de los valores encontrados en las mujeres postmenopáusicas normales. En 48 semanas de tratamiento con ESTring o Vagifem, 30-32% de las mujeres tuvieron quejas de frecuencia urinaria, 36-39% de urgencia urinaria y 18-33% se quejó de dispareunia (Weisberg, Ayton et al. 2005).

Tres estudios han documentado que el anillo vaginal E_2 permite bajo E_2 de suero durante el periodo de 90 días excepto por la ruptura en estrógeno de suero que alcanza la región inferior de aquellos vistos en mujeres de ciclo normal o 100 hasta 200 pmoles/l durante las primeras 0.5 - 8h después de la inserción del anillo (Holmgren, Lindskog et al.

1989; Schmidt, Andersson et al. 1994) (Baker and Jaffe 1996). El suministro diario de 7.5 µg de E_2 por la vía intravaginal tiene efectos sistémicos, se muestra por la observación de un incremento importante en densidad mineral ósea de columna total de cadera y lumbar después de 2 años de tratamiento con tal dosis intravaginal de E_2 (Salminen, Saaf et al. 2007).

Como se menciona arriba, existe la preocupación alrededor de los efectos estimulantes de estrógenos vaginales en el endometrio (N.A.M.S. 2007). Después de 12 semanas de tratamiento de 32 mujeres con 25 µg de E_2 intravaginal (Vagifem), un paciente tenía hiperplasia simple sin atipia (Bachmann, Lobo et al. 2008). En un estudio de 24 semanas que participan 80 mujeres, se encontró un caso de endometrio proliferativo (Rioux, Devlin et al. 2000) y en otro estudio de 52 semanas de 31 mujeres, dos tuvieron un endometrio proliferativo (Mettler and Olsen 1991).

E un estudio de 12 semanas con crema vaginal Premarin en la dosis de 2 g, tres veces por semana, 21% de mujeres experimentaron sangrado después de una prueba de progestógeno (Nachtigall 1995). De estos, 12% mostraron un incremento en grosor endometrial por ecografía. El uso de una dosis de 0.3 mg de estrógenos conjugados administrados intravaginalmente, tres veces por semana, puede inducir proliferación endometrial, aunque raramente, ya que la proliferación

endometrial se observó en solamente uno de veinte casos (Nachtigall 1995).

El anillo de estradiol de liberación sostenida (ESTring) induce la proliferación endometrial similar a la crema de Premarin 0.625 mg (Ayton, Darling et al. 1996) pero menor que la crema de Premarin 1.25 mg (Nachtigall 1995). De hecho, tanto el anillo vaginal (ESTring) y la crema de estrógeno conjugado (crema Premarin) se han mostrado para inducir proliferación endometrial (Nachtigall 1995; Ayton, Darling et al. 1996). Dos casos de proliferación endometrial moderada o hiperplasia en un pólipo endometrial se encontraron con el anillo E_2 (Nachtigall 1995), mientras que dos casos de hiperplasia (uno simple y uno complejo, sin atipia) se encontraron con la crema de estrógeno conjugado en un ensayo de crema de estrógeno conjugado contra comprimido E_2 (Pioux, Devlin et al. 2000). El comprimido vaginal E_2 se ha asociado con hiperplasia endometrial similar al comprimido vaginal de estriol (Dugal, Hesla et al. 2000; Manonai, Theppisai et al. 2001) pero menos que la crema de estrógenos conjugados (Manonai, Theppisai et al. 2001).

Aunque los niveles de estrógeno de suero se incrementan a un grado menor después de la aplicación intravaginal local comparado con HRT o ERT oral o percutáneo, el riesgo de cáncer de mama sigue siendo un problema y la seguridad de los

estrógenos intravaginales está en duda (Suckling, Lethaby et al. 2006; N.A.M.S. 2007). De hecho, aunque el incremento en estrógenos de suero es menor después de la vía de administración intravaginal comparada con la oral o percutánea, es significativamente elevado por encima de los niveles de premenopáusicas normales para todas las formulaciones de estrógeno intravaginales (Poncone, Biglia et al. 2005).

Además del riesgo de cáncer de mama incrementado asociado con la administración de estrógenos, es importante recordar que la verdadera diferencia hormonal entre las mujeres postmenopáusicas que no padecen de atrofia vaginal (estimado en 25% de la población de premenopáusicas) y el 75% restante de mujeres postmenopáusicas que padecen de atrofia vaginal (Wines and Willsteed 2001; N.A.M.S. 2007), no se relaciona con la secreción de estrógenos en la circulación sistémica ya que la secreción de estrógeno de ovario ha cesado en todas las mujeres en el momento de la menopausia. Consecuentemente, un déficit en la secreción de estrógeno no es una explicación válida para la presencia de síntomas de atrofia vaginal en la mayoría de mujeres postmenopáusicas.

La formación de esteroide sexual, sin embargo, no termina con el cese de la función del ovario en la menopausia. El progreso reciente en nuestra comprensión de la

70

fisiología endocrina en las mujeres mostró que después de la menopausia, el DHEA secretado por los suprarrenales es la única fuente de esteroides sexuales hechos exclusivamente en tejidos objetivo (Labrie 1991). Contrario a los estrógenos de origen de ovario que se secretan en la circulación general donde se pueden medir, DHEA es un precursor inactivo que se transforma en los tejidos periféricos en diferentes relaciones de acuerdo en el nivel de expresión de las encimas esteroidogénicas en cada tejido. El proceso de intracrinología permite la formación intratejido local de esteroides sexuales activos sin liberación importante de los esteroides activos en la circulación (Labrie, Dupont et al. 1985; Labrie, Belanger et al. 1988; Labrie 1991; Labrie, Luu-The et al. 2005).

La secreción de DHEA, sin embargo, disminuye con la edad, una disminución de 60% que ya se ha observado en tiempo de la menopausia (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). La única diferencia entre las mujeres postmenopáusicas sintomáticas y las asintomáticas es la cantidad de DHEA secretado por los suprarrenales o la sensibilidad del tejido vaginal a DHEA. La diferencia de sensibilidad de diferentes mujeres es probable que se relacione arriba, en un grado

desconocido, al nivel de actividad de la maquinaria enzimática específica para cada tipo de célula en cada tejido (Labrie 1991; Labrie, Belanger et al. 2005). Con este conocimiento, DHEA y sin estrógenos es una terapia de reemplazo hormonal fisiológica para mujeres postmenopáusicas.

Como bien se demostró en nuestros estudios previos (Labrie 1991; Labrie, Luu-The et al. 2003; Labrie, Luu-The et al. 2005; Labrie, Belanger et al. 2007), la complementación con cantidades fisiológicas de DHEA exógeno permite la biosíntesis de andrógenos y/o estrógenos únicamente en los tejidos objetivo apropiados que contienen las enzimas esteroidogénicas requeridas de intracrinología (Labrie, Luu-The et al. 2005). Los andrógenos y estrógenos activos sintetizados localmente a partir de DHEA en tejidos objetivo periféricos ejercen su acción en las mismas células donde su formación toma lugar. Más importantemente, muy poca fuga de los esteroides sexuales activos en la circulación se lleva a cabo, explicando así los marcados efectos benéficos observados en la vagina sin ningún cambio importante en la circulación de estrógenos o andrógenos (Labrie, Cusan et al. 2008). Esta biosíntesis local, acción e inactivación de los estrógenos y andrógenos en los tejidos objetivos elimina la exposición de otros tejidos a exceso de esteroides sexuales y así elimina el riesgo incrementado de efectos secundarios

indeseables de elevada exposición a estrógeno, incluyendo cáncer de mama, ovario y uterino (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).

El cambio en el pH se reconoce ahora como un parámetro válido que refleja el efecto benéfico de la terapia de atrofia vaginal. Después de 12 semanas de tratamiento intravaginal con E_2 25 µg, el porcentaje de pacientes que tienen un pH menor que 5.0 fue 51% comparado a 21% en el grupo placebo (Bachmann, Lobo et al. 2008). En la línea base, sin embargo, 11.2% y 13% de las mujeres tuvieron un pH por debajo de 5.0 en los dos grupos correspondientes. En el ensayo clínico EPC-210 (Ejemplo 3), ningún paciente tuvo un

pH por debajo de 5.0 al inicio de la terapia y 12%, 36%, 46% y 48% tuvo valores de pH por debajo de 5.0 en las 12 semanas en los grupos de DHEA al 0%, 0.25%, 0.5% y 1.0%, respectivamente.

En el ensayo clínico ERC-210 (Ejemplo 3), el efecto de DHEA en la maduración de las células epiteliales vaginales es particularmente rápido: con el ovulo DHEA al 0.5%, 79% del efecto máximo en células parabasales ya se observó en 2 semanas mientras que el 48% del efecto estimulador máximo ejercido en células superficiales se observó en el mismo intervalo de tiempo. Por otro lado, el 85% del efecto máximo de DHEA al 0.5% en el porcentaje de células superficiales se alcanzó en 4 semanas. Similarmente, 63% del efecto máximo de DHEA al 0.5% en el síntoma más molesto se observó en 2 semanas y 87% se alcanzó en 4 semanas. Por otra parte, solamente 17.8% de las mujeres no reportó cambio en su síntoma más molesto en 12 semanas en el grupo de DHEA al 0.5% comparado con 48.8% en el grupo de placebo.

El efecto de DHEA en células parabasales es rápido ya que el % de las células parabasales se disminuyó a menos de 20% en un mes con las tres dosis de DHEA usadas. El efecto en el % de células superficiales también es muy rápido con 100% del efecto que se observa a las 2 semanas con la dosis de DHEA alta (1%). En un estudio con crema o comprimido de

estrógeno vaginal, aproximadamente 50% del efecto medido en 12 semanas se observó en 2 semanas (Pioux, Devlin et al. 2000). Tales datos indican que la rapidez del efecto de DHEA no es inferior y posiblemente superior al efecto del E_2 vaginal y formulaciones de estrógeno conjugado.

En un estudio del efecto de estrógenos orales en 71 mujeres postmenopáusicas, la administración diaria de estrógenos conjugados sintéticos orales 0.3 mg disminuyó las células parabasales desde 23% hasta 2.3% mientras que las células superficiales incrementaron desde 2.1% hasta 15.9% (Marx, Schade et al. 2004). En un estudio que compara las dosis de 0.3 mg y 0.625 mg de los estrógenos de equino conjugados (Utian, Shoupe et al. 2001), la dosis de 0.625 mg ha mostrado un efecto mayor en el % de las células superficiales.

En un estudio reciente, el valor de maduración vaginal (VMV) incrementó desde 27.45 en línea base hasta 56.85 ($p<0.0001$) en el grupo tratado con estrógeno (Simon, Reape et al. 2007). El porcentaje de células superficiales incrementó por 17.15 de línea base mientras que el porcentaje de células parabasales disminuyó por 41.66% en el grupo tratado con estrógeno. En el mismo estudio, el pH vaginal disminuyó desde 6.74 en la línea base hasta 5.05 (disminución de 1.69 o 24%) en el grupo de estrógeno). La severidad de los síntomas más

molestos disminuyó desde 2.58 hasta 1.04 (-1.54) en el grupo de estrógeno comparado con una disminución desde 2.59 hasta 1.84 (-0.75) en el grupo de placebo. Tales datos observados con estrógenos son comparables con la diminución de 1.56 en severidad de los síntomas más molestos en 12 semanas en el grupo de DHEA al 0.5% y el 0.67 disminuyó en el grupo placebo observado en el ensayo clínico ERC-210 (Ejemplo 3).

En la semana 12, 11% de sujetos ESTring y 24% de sujetos Vagifem tuvieron epitelio atrófico persistente. En la semana 48, los valores respectivos fueron 8% y 14% (Weisberg, Ayton et al. 2005). En 48 semanas de tratamiento con Vagifem o ESTring, la resequedad vaginal todavía estaba presente en 33% de las mujeres (Weisberg, Ayton et al. 2005). El prurito vulvar, por otra parte, permanece presente en 15% y 20% de las mujeres después del tratamiento con ESTring y Vagifem, respectivamente mientras que 33% y 28% de las mujeres todavía tuvieron dispareunia después del tratamiento con ESTring y Vagifem, respectivamente. El sangrado después de la prueba de progestógeno fue 7% en el grupo de Vagifem y 0% en el grupo ESTring.

Después de 3 meses de administración diaria de Premarin 0.625 mg oralmente o intravaginalmente (crema), se observaron el respectivo 70.6% y 75% de mejoras de dispareunia (Long, Liu et al. 2006). Se concluyó en este estudio que 1 g de

Premarin 0.625 mg fue la dosis mínima para el tratamiento de la disfunción sexual.

En las mujeres que recibieron E_2 25 µg intravaginalmente, la dispareunia persiste en 12.4% de los casos después de 12 meses de tratamiento (Simunic, Banovic et al. 2003). La proporción de éxito de la terapia de comprimidos E_2 local fue 84.5% como se juzga por los pacientes y 86.1% como se juzga por los doctores (Simunic, Banovic et al. 2003). Bachman et al, 1992 (Bachmann, Notelovitz et al. 1992) ha reportado que el 40-50% de las mujeres en terapia de reemplazo de estrógeno oral tuvieron quejas persistentes de resequedad vaginal.

Como se reportó previamente después de 12 meses de tratamiento con DHEA (Labrie, Diamond et al. 1997), el ensayo clínico ERC-210 (Ejemplo 3) no muestra ningún efecto en histología endometrial después de 3 meses de administración intravaginal del precursor de hormona DHEA como se muestra por el examen histopatológico de la biopsia endometrial obtenido antes y después de 12 semanas de tratamiento. Estos resultados están de acuerdo con la ausencia de actividad de aromatasa en el endometrio humano (Barendale, Reed et al. 1981; Bulun, Lin et al. 2005). Estos resultados también se apoyan firmemente por la observación clínica bien reconocida que la atrofia endometrial es característica de la

postmenopausia a pesar de la secreción continua de DHEA por toda la vida (Labrie, Luu-The et al. 2005; Labrie, Belanger et al. 2006). La ausencia en el endometrio humano de las enzimas esteroidogénicas necesarias para transformar DHEA en estrógenos es de acuerdo con el papel fisiológico del endometrio que está exclusivamente activo durante los años reproductivos cuando su función es esencialmente controlada por hormonas de origen de ovario y placenta. No hay papel fisiológico del endometrio después de la menopausia que justificaría cualquier acción continua de los estrógenos después de la suspensión de la secreción de estrógeno por los ovarios. En consecuencia, las enzimas requeridas para la síntesis de estrógenos de DHEA no se expresan en el endometrio el cual un tejido depende completamente de estrógenos de origen de ovario.

Los estrógenos administrados solos se conocen desde hace mucho para estimular la proliferación endometrial (Smith, Prentice et al. 1975) mientras que las progestinas administradas en combinación con los estrógenos inhiben el efecto estimulador de estrógenos (Feeley and Wells 2001). Ya que los receptores de andrógeno se expresan en el endometrio humano y el estroma (Mertens, Heineman et al. 1996), es de interés mencionar que un estudio clínico el cual investiga el efecto de andrógenos no mostró ningún efecto en el endometrio

de una dosis relativamente alta de testosterona en mujeres postmenopáusicas (undecanoato de testosterona, 40 mg cada segundo día) (Zang, Sahlin et al. 2007). En mujeres que recibieron valerato de estradiol (2 mg/día), el etiquetado Ki incrementó por 50% en 3 meses de tratamiento mientras que la administración simultánea de testosterona disminuyó la proliferación de 28%. El etiquetado Ki67 se incrementó únicamente en los dos grupos que recibieron estrógeno pero esto se disminuyó por la adición de testosterona en el estroma. Aunque no tiene efecto estimulante en la proliferación endometrial en las mujeres, la testosterona parece ejercer algún efecto antiestrogénico en el endometrio.

Mientras que la orientación de FDA alienta a promotores a desarrollar las dosis más bajas y las exposiciones tanto para los estrógenos y las progestinas, debemos reconocer que aunque los estrógenos son eficaces en corregir los síntomas de atrofia vaginal y síntomas vasomotores, los estrógenos sistémicos no son las hormonas fisiológicas que permiten al 25% de las mujeres postmenopáusicas evitar los síntomas de moderado a grave de atrofia vaginal. Estas mujeres permanecen relativamente asintomáticas a través de todos sus años premenopáusicos. Ya que la única fuente de esteroides sexuales en las mujeres postmenopáusicas, tanto sintomáticas como asintomáticas, es la biosíntesis de estrógeno y

andrógeno local de la DHEA suprarrenal, por los mecanismos de intracrinología. El reemplazo con DHEA es el único enfoque fisiológico que permite proporcionar a las mujeres que padecen de síntomas premenopáusicos la cantidad faltante de DHEA responsables de sus síntomas. Con el enfoque llamado terapia de reemplazo de precursor de hormona (HPRT), la atrofia vaginal y los síntomas vasomotores se deben corregir sin más riesgo que la de los compañeros de mujeres postmenopáusicas que no tienen síntomas de atrofia vaginal debido a una mayor exposición a DHEA y los esteroides sexuales hechos intracelularmente por el proceso de intracrinología.

Los precursores de esteroides sexuales administrados de acuerdo con la invención se administran preferiblemente en un rango de dosificación (1) entre 0.5 hasta 100 mg por día, (preferiblemente 3 hasta 50 mg por día, y más preferiblemente entre 3 y 13 mg por día), cuando se administran intravaginalmente; (2) en un rango de dosificación entre 15 hasta 200 mg por día (preferiblemente 30 mg hasta 100 mg por día), cuando se administra en la piel; (3) en un rango de dosificación entre 10 hasta 200 mg por día (preferiblemente 25 mg hasta 100 mg por día), por ejemplo, 75 mg por día, cuando se administra oralmente; o (4) en un rango de dosificación entre 1.0 hasta 25 mg por día (preferiblemente

3.25 hasta 20 mg por día), cuando se administra parenteralmente (esto es, intramuscular, o subcutánea).

En una composición farmacéutica para administración vaginal, la DHEA u otro precursor está preferiblemente presente en una concentración entre 0.1 y 10% por peso en relación con peso total de la composición más preferiblemente entre 0.2 y 3.0 por ciento, especialmente entre 0.25 y 2.0 por ciento. Por ejemplo, un supositorio vaginal de 1.3 mililitro (mL) que tiene un DHEA al 0.5% (por el peso de la composición total), administrado una vez al día, deseablemente proporciona 6.5 mg/día de DHEA. Los supositorios mayores o menores se pueden usar, como pueden concentraciones diferentes, mientras que se mantienen dosificaciones en el rango deseado.

En una composición farmacéutica para la administración en la piel, DHEA u otro precursor está preferiblemente presente en una concentración entre 0.1 y 10% por peso en relación con peso total de la composición más preferiblemente entre 0.2 y 2.0 por ciento, especialmente entre 0.3 y 1.5 por ciento.

En una composición farmacéutica para administración oral, DHEA u otro precursor está preferiblemente presente en una concentración entre 5 y 98% por peso en relación con el

peso total de la composición más preferiblemente entre 10 y 50 por ciento, especialmente entre 15 y 40 por ciento.

En una composición farmacéutica para administración parenteral (esto es, intramuscular, o subcutánea), DHEA u otro precursor está preferiblemente presente en una concentración entre 0.2 mg/mL y 25 mg/mL, más preferiblemente entre 0.65 y 15 mg/mL, especialmente entre 2 mg/mL y 10 mg/mL.

EJEMPLO DE EFICACIA DE LA INVENCION

Ejemplo 1

Ensayo Clínico ERC-213

Biodisponibildad de DHEA después de la administración de Supositorios Vaginales en Mujeres Post Menopáusicas con atrofia vaginal de Fase I aleatorizada, controlada con Placebo

Farmacocinética y Acción Local de la Administración Diaria de Supositorios de DHEA durante una semana

El objetivo primario de este estudio fue la evaluación de la biodisponibilidad sistémica de DHEA y sus metabolitos después de la aplicación intravaginal diaria de supositorios en cuatro diferentes concentraciones de DHEA. Este estudio fue un ensayo aleatorizado, controlado por placebo y de doble

ciego de 10 sujetos por ramificación. Cuarenta mujeres postmenopáusicas se aleatorizaron así para recibir una dosis diaria de un supositorio de las siguientes concentraciones de DHEA: 0.0%, 0.5% (6.5 mg de DHEA/supositorio), 1.0% (13 mg de DHEA/supositorio) o 1.8% (23.4 mg de DHEA/supositorio).

El índice de maduración así como el pH vaginal se midieron en pretratamiento así como después de 7 días de tratamiento con objeto de obtener una indicación del efecto local de DHEA durante ese periodo de corto tiempo.

Como se ilustra en la Figura 1B, Tabla 1 y Tabla 2, la aplicación intravaginal diaria de un supositorio de 1.3 ml que contiene DHEA al 0.5%, 1.0% y 1.8% lleva a un incremento progresivo de DHEA en suero con valores AUC_{0-24} de 24.8 ± 4.8 ng.h/ml, 56.2 ± 8.9 ng.h/ml ($p < 0.05$), 76.2 ± 10.3 ng.h/ml ($p < 0.01$) y 114.3 ± 9.97 ng.h/ml ($p < 0.01$), respectivamente. Había así 127%, 207% y 361% incremento sobre el control en las dosis 0.5%, 1.0% y 1.8% de la DHEA, respectivamente. Como se observa para todos los otros esteroides, los valores similares del $AUC_{0-24\ h}$ se observaron en los días 1 y 7.

De hecho, el valor de suero promedio de 4.76 ± 0.42 ng/ml de DHEA después del tratamiento con la dosis más alta (Tabla 2) es similar al valor de 4.47 ± 2.19 ng/ml encontrado en cuarenta y siete (47) mujeres premenopáusicas normales de

30-35 años de edad (Labrie, Belanger et al. 2006). Tal DHEA en suero después de cualquiera de las dosis de DHEA usadas permanece dentro de los límites de mujeres premenopáusicas normales está bien ilustrado en la Figura 7A.

Como se observó previamente después de la administración oral o percutánea de DHEA (Labrie, Belanger et al. 2007), 5-diol de suero sigue un patrón casi superpuesto al de la DHEA, aunque se ven contracciones mucho más bajas. De hecho, el valor $AUC_{0-24\ h}$ va desde 5.60 ± 0.60 ng.h/ml en el grupo placebo en el Día 7 hasta 9.83 ± 1.14 ($p < 0.05$), 13.8 ± 1.87 ($p < 0.01$) y 21.0 ± 1.66 ($p < 0.01$) en las dosis de DHEA al 0.5%, 1.0% y 1.8%, respectivamente (ID, Tabla 1). Tales cambios corresponden a 75%, 147% y 276% de incremento sobre el control. Solamente la dosis de DHEA al 1.8% causa incremento en 5-diol de suero que excede los valores encontrados en mujeres premenopáusicas normales (Figura 7B) durante las 24 h posteriores a la administración intravaginal diaria de DHEA en el Día 7.

El valor AUC0-24 h de Testo de suero no mostró cambio significativo en la dosis 0.5% (2.79 ± 0.30 ng.h/ml contra 2.58 ± 0.33 ng.h/ml en el grupo de placebo) (Figura 2B). En las dosis 1.0% y 1.8%, los valores AUC 0-24h de 4.54 ± 0.91 ng.h/ml ($p < 0.05$) y 5.97 ± 0.69 ng.h/ml ($p < 0.01$) se encontraron (Tabla 1). Estos valores se traducen en niveles

84

de Testo de suero promedio de 0.11 ± 0.01 (N.S.), 0.12 ± 0.01 (N.S.), 0.19 ± 0.04 ($p < 0.05$) y 0.25 ± 0.03 ($p < 0.01$) ng/ml, respectivamente. Aún en la dosis de DHEA al 1.8% más alta usada, Los niveles de Testo de suero permanecen dentro del rango normal de mujeres premenopáusicas medidos en 0.18 ± 0.07 ng/ml (0.06 - 0.31, 5th - 95th percentiles) (Labrie, Belanger et al. 2006) (Figura 7E). La dosis al 1.0% (0.18 ± 0.07 ng/ml), por otra parte, corresponde exactamente a los valores encontrados en mujeres premenopáusicas normales, particularmente 0.19 ± 0.4 (Figura 7E).

La Figura 2C y D, el DHT de suero incrementa desde un valor $AUC_{0-24\ h}$ de 0.58 ± 0.07 ng.h/ml en el grupo placebo en el Día 7 hasta 0.93 ± 0.11 (N.S.), 1.31 ± 0.26 ($p < 0.05$) y 1.93 ± 0.23 ($p < 0.01$) ng.h/ml en los grupos de DHEA al 0.5%, 1.0% y 1.8%, respectivamente (Tabla 2). Estos valores corresponden a niveles de DHT de suero promedio de 0.02 ± 0.01, 0.04 ± 0.01, 0.05 ± 0.01 y 0.08 ± 0.01 ng/ml (Tabla 2), alcanzando así, en la dosis de DHEA máxima, los niveles de DHT de suero normales de 0.07 ± 0.03 ng/ml observados en mujeres premenopáusicas (Labrie, Belanger et al. 2006) (Figura 7F).

Los niveles E1 de suero promedio se midieron en 12.6 ± 1.41 ng/ml en el grupo placebo en el Día 7 (Tabla 2) mientras que no hubo cambios significativos en la dosis de DHEA al

85

0.5% (15.4 ± 2.04 ng/ml). Un incremento hasta 24.1 ± 3.54 ng/ml ($p < 0.01$) y 25.0 ± 2.85 ng/ml ($p < 0.01$) se observó en las dosis de DHEA al 1.0% y 1.5%, respectivamente. Los valores AUC 0-24 h correspondientes se ilustran en la Figura 3B y se indican en la Tabla 1.

Los niveles E_2 de suero promedio se midieron en 2.77 ± 0.29 pg/ml y 4.04 ± 0.69 pg/ml (N.S.) en los grupos de DHEA al 0.5% y placebo, respectivamente (Tabla 2). Concentraciones E_2 de suero promedio de 6.01 ± 1.31 pg/ml ($p < 0.05$) y 5.68 ± 0.84 pg/ml ($p < 0.05$) se encontraron en el Día 7 en mujeres que recibieron las dosis de DHEA al 1.0% y 1.8% para incrementos absolutos de 3.18 y 2.85 pg/ml sobre placebo, respectivamente. Se observaron resultados comparables para suero E_1-S con niveles de suero promedio de 0.12 ± 0.02 ng/ml y 0.13 ng/ml (N.S.) en los grupos de DHEA al 0.5% y placebo, respectivamente (Tabla 2). Los valores de 0.18 ± 0.03 ng/ml y 0.25 + 0.25 ng/ml se midieron en los grupos DHEA al 1.0% y 1.8%, respectivamente. Solamente el grupo de DHEA al 1.8% muestra una diferencia estadística ($p < 0.01$) con el grupo de placebo.

Como se ve en la 4B y 4D, un patrón comparable se ve para tanto E_1-S como DHEA-S. El valor AUC 0-24 de DHEA-S de suero se midió en 8.35 ± 2.22 ng.h/ml en el grupo placebo y 13.3 ± 3.16 ng.h/ml en el grupo de DHEA al 0.5% (N.S.). Don

86

las dos dosis DHEA más altas, los valores $AUC_{0-24\ h}$ se midieron en 16.5 ± 2.71 ng.h/ml (N.S.) y 19.3 ± 3.59 ng.h/ml ($p < 0.05$), respectivamente (Figura 4D, Tabla 1). Estos valores de DHEA-S en todas las dosis de DHEA permanecen por debajo de los niveles de DHEA-S de suero observados en las mujeres premenopáusicas que muestran un promedio de 1.27 ± 0.62 ng/ml (7C).

Como se ilustra en la Figura 5B, los valores $AUC_{0-24\ h}$ de 4-diona de suero después de la administración de DHEA en el Día 7 se midieron en 6.34 ± 0.80 y 8.71 ± 0.84 ng.h/ml (N.S.) en los grupos de DHEA al 0.5% y placebo, respectivamente. En las dos dosis DHEA más altas, los valores $AUC_{0-24\ h}$ de 4-diona incrementaron ligeramente a 11.1 ± 1.51 ($p < 0.01$) y 11.9 ± 0.81 ($p < 0.01$) ng.h/ml, respectivamente. Como se puede ver en 7D y la Tabla 2, todos estos valores de 4-diona de suero permanecen bien por debajo de las concentraciones de 4-diona de suero promedio observadas en mujeres premenopáusicas normales. De hecho, la dosis de DHEA máxima lleva a concentraciones de 4-diona de suero promedio de 0.50 ± 0.03 ng/ml mientras que el valor promedio en mujeres de ciclo de 30-35 años de edad es 0.96 ± 0.35 ng/ml (Labrie, Belanger et al. 2006) (Apéndice T), alcanzando así solamente 50% de los niveles de 4-diona de suero observados en mujeres premenopáusicas.

Considerando el papel crucial de las mediciones de los niveles de suero de ADT-G, 3α-diol-3G y 3α-diol-17G (Labrie, Belanger et al. 2006) es de interés ver en 5D y la Tabla 2 que niveles de suero de ADT-G incrementan desde un valor promedio de 6.97 ± 1.20 ng/ml en el grupo placebo hasta 19.2 ± 3.99 ng.h/ml en el grupo de DHEA al 0.5% ($p < 0.01$). Los valores de 19.7 ± 2.48 y 25.7 ± 2.88 ng.h/ml se midieron en los grupos de DHEA al 1.0% y 1.8%, respectivamente ($p < 0.01$ vs placebo para ambos grupos tratados con DHEA). Se pueden ver cambios similares para los metabolitos de andrógeno menores 3α-diol-3G y 3α-diol-17G (6B, 6D, 8B y 8C, Tabla 1 y Tabla 2). Es importante indicar, como se ilustra en la Figura 8, que aún en la dosis más alta de DHEA usada, los niveles de suero de promedio ADT-G 3α-diol-3G y 3α-diol-17G permanecen 36%, 11% y 6% por debajo de los niveles de suero promedio encontrados en mujeres premenopáusicas.

Como se muestra en la Tabla 2, la suma de los glucorónidos de metabolito de andrógeno medidos durante un periodo de 24 h en el Día 7 de la administración de un supositorio de 1.3 ml que contiene DHEA al 1.8% (23.4 mg DHEA) es solamente 28.2 ng/ml mientras que la concentración de suero media del mismo metabolito en mujeres premenopáusicas 30-35 años de edad es 42.8 ng/ml (Labrie, Belanger et al. 2006) (Apéndice 2). En consecuencia, la dosis

de DHEA máxima usada lleva a solamente 65.7% del valor correspondiente a los metabolitos de andrógeno totales encontrados en normal mujeres jóvenes de ciclo. Las dosis de DHEA al 0.5% y 1.0%, por otra parte, llevan a la suma de metabolitos de andrógeno de 21.02 ng y 21.53 ng/ml, respectivamente, que corresponde así a solamente 49.0% y 50.2% de los valores observados en mujeres premenopáusicas (Figura 9). Hemos encontrado previamente que la administración oral diaria de 100 mg de DHEA lleva a 74% de los niveles encontrados en mujeres premenopáusicas (Labrie, Belanger et al. 2007).

Hemos observado previamente que después de la administración oral o percutánea de DHEA, los cambios en suero de DHEA son aproximadamente un 100% de sobre estimación de los cambios en formación de esteroide reflejada por los cambios en ADT-G de suero, 3α-diol-3G y 3α-diol-17G (Labrie, Belanger et al. 2007). Como se puede ver en la Figura 9, los niveles de DHEA en suero promedio van desde 23% del valor observado en mujeres premenopáusicas del grupo placebo hasta 52%, 71% y 106% en mujeres que recibieron las dosis de DHEA al 0.5%, 1.0% y 1.8%, respectivamente. Los datos de la Figura 9 indican que los cambios en DHEA en suero después de administración de DHEA intravaginal son también una sobre estimación de los cambios en formación de andrógeno y

probablemente aún más en formación de estrógeno como se ilustra por las cambios aún más pequeños en E_1-S de suero (Tabla 1). De hecho, en la dosis 1.0%, los metabolitos de andrógeno de suero incrementaron por 31.6% del valor encontrado en mujeres premenopáusicas mientras que el DHEA en suero incrementado por 49.1% (55% sobre estimación). En la dosis de DHEA máxima, los metabolitos de andrógeno de suero incrementaron por 47.1% mientras que DHEA en suero incrementó por 83.5% (77% sobre estimación).

Tabla 1: Valores de Áreas Bajo la Curva (AUC_{0-24h}) de DHEA y Once de sus Metabolitos en los Días 1 y 7 de Administración Diaria de Supositorios Intravaginales de DHEA a Mujeres Postmenopáusicas de 40-75 Años de Edad con Atrofia Vaginal.

		DHEA		5-DIOL		TESTO		DHT		E1		E2	
GRUPO	VALOR	Día 1 ng.h/mL	Día 7 ng.h/mL	Día 1 ng.h/mL	Día 7 ng.h/mL	Día 1 ng.h/mL	Día 7 ng.h/mL	Día 1 ng.h/mL	Día 7 ng.h/mL	Día 1 pg.h/mL	Día 7 pg.h/mL	Día 1 pg.h/mL	Día 7 pg.h/mL
PLACEBO	MEDIA	24,47	24,82	5,55	5,60	2,71*	2,58*	0,61	0,58	305,58	301,92	69,51	66,49
	SEM	4,00	4,77	0,59	0,60	0,34	0,33	0,08	0,07	24,55	33,77	7,63	6,90
DHEA 0.5%	MEDIA	65,49	58,17	10,91	9,83	2,79	2,79	0,91	0,93	336,52	369,69	87,79	96,93
	SEM	7,00	9,94	1,03	1,14	0,29	0,30	0,10	0,11	37,90	43,86	11,24	10,46
DHEA 1.0%	MEDIA	74,82	76,22	12,09	13,04	3,79	4,54	1,11	1,31	418,08	578,59	101,57	144,34
	SEM	6,71	10,28	1,66	1,87	0,76	0,91	0,25	0,28	70,31	84,59	22,97	31,47
DHEA 1.8%	MEDIA	123,52	114,30	18,98	21,04	5,13	5,97	1,62	1,93	433,74	600,93	89,76	136,28
	SEM	9,40	9,96	1,05	1,63	0,72	0,69	0,19	0,23	37,66	68,35	11,65	20,27

GRUPO	E1-S		DHEA-S		4-DIONA		ADT-G		3α-DIOL-3G		3α-DIOL-17G	
	Día 1 ng.h/mL	Día 7 ng.h/mL	Día 1 µg.h/mL	Día 7 µg.h/mL	Día 1 ng.h/mL	Día 7 ng.h/mL	Día 1 ng.h/mL	Día 7 ng.h/mL	Día 1 ng.h/mL	Día 7 ng.h/mL	Día 1 ng.h/mL	Día 7 ng.h/mL
PLACEBO	**3,15** 0,62	**2,93** 0,47	**8,71** 2,41	**8,35** 2,22	**6,23** 0,71	**6,34** 0,30	**176,53** 30,08	**167,39** 29,67	**12,00** 0,00	**12,00** 0,00	**12,53** 0,53	**12,20** 0,20
DHEA 0.5%	**3,19** 0,66	**3,24** 0,63	**13,59** 3,42	**13,29** 3,16	**9,03** 0,98	**8,71** 0,34	**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** 1,56	**11,06** 1,51	**417,73** 66,69	**471,54** 59,54	**17,12** 2,28	**20,14** 2,26	**20,98** 4,42	**24,94** 4,75
DHEA 1.8%	**4,23** 0,76	**5,93** 1,11	**14,99** 2,62	**19,23** 3,59	**10,61** 0,63	**11,94** 0,31	**510,77** 52,70	**617,73** 69,61	**20,36** 2,31	**26,02** 3,30	**22,00** 2,68	**32,23** 4,35

a: Se excluyeron datos de un paciente

Tabla 2: Niveles de Esteroide de Suero Promedio de DHEA y Once de sus Metabolitos en el Día 1 y 7 de Administración Diaria de Supositorios Intravaginales de DHEA a Mujeres Postmenopáusicas de 40-75 Años de Edad con Atrofia Vaginal.

Los valores se obtuvieron al dividir los valores $AUC_{0-24\ h}$ medidos en los días 1 y 7 por 24 proporcionando así la concentración de suero promedio de cada esteroide durante un periodo de 24 h. Las concentraciones de esteroide de suero medidas en mujeres premenopáusicas de 30-35 años de edad se agregan como referencia.

GRUPO	VALOR	DHEA		5-DIOL		TESTO		DHT		E1		E2	
		Día 1	Día 7	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7
		ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	pg/ml	pg/ml	pg/ml	pg/ml
PLACEBO	MEDIA	**1,02**	**1,03**	**0,23**	**0,23**	**0,11***	**0,11**	**0,026**	**0,024**	**12,73**	**12,58**	**2,90**	**2,77**
	SEM	0.20	0.20	0.02	0.02	0.01	0.01	0.003	0.003	1.44	1.41	0.32	0.29
DHEA 0.5%	MEDIA	**2,73**	**2,34**	**0,45**	**0,41**	**0,12**	**0,12**	**0,038**	**0,039**	**14,02**	**15,40**	**3,66**	**4,04**
	SEM	0.33	0.37	0.04	0.05	0.01	0.01	0.004	0.004	1.50	2.04	0.47	0.69
DHEA 1.0%	MEDIA	**3,12**	**3,18**	**0,50**	**0,58**	**0,16**	**0,19**	**0,046**	**0,055**	**17,42**	**24,11**	**4,23**	**6,01**
	SEM	0.22	0.43	0.07	0.05	0.03	0.04	0.010	0.011	2.95	3.54	0.56	1.31
DHEA 1.8%	MEDIA	**5,15**	**4,76**	**0,79**	**0,88**	**0,21**	**0,25**	**0,060**	**0,061**	**18,07**	**25,04**	**3,74**	**5,68**
	SEM	0.39	0.42	0.04	0.07	0.03	0.05	0.009	0.010	1.57	2.85	0.49	0.84
Mujeres Pre menopáusicas de 30-35 años de edad (n= 47)	MEDIA	**4,47**		**0,49**		**0,18**		**0,07**		**53,96**		**82,05**	
	SD	2.19		0.20		0.07		0.03		23.26		42.19	
	Media	4.14		0.44		0.17		0.07		49.47		71.38	
	5^{tos}-95os percentiles	1.53 - 9.14		0.25 - 0.84		0.06 - 0.31		0.03 - 0.14		23.74 - 97.45		22.00 - 159.97	
	(MIN MAX)	(1.41 - 10.37)		(0.25 - 0.98)		(0.05 - 0.32)		(0.03 - 0.17)		(19.27 - 123.50)		(17.71 - 181.14)	

GRUPO	VALOR	E1-S		DHEA-S		4-DIONA		ADT-G		3α-DIOL-3G		3α-DIOL-17G	
		Día 1	Día 7	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7
		ng/ml	ng/ml	µg/mL	µg/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL
PLACEBO	MEDIA	**0,13**	**0,12**	**0,36**	**0,35**	**0,26**	**0,26**	**7,36**	**6,97**	**0,50**	**0,50**	**0,52**	**0,51**
	SEM	0.02	0.02	0.10	0.09	0.03	0.02	1.25	1.20	0.06	0.06	0.02	0.01
DHEA 0.5%	MEDIA	**0,13**	**0,13**	**0,57**	**0,55**	**0,38**	**0,36**	**19,75**	**19,21**	**0,67**	**0,70**	**1,03**	**1,11**
	SEM	0.02	0.03	0.14	0.13	0.04	0.03	5.25	3.98	0.08	0.06	0.20	0.21
DHEA 1.0%	MEDIA	**0,13**	**0,18**	**0,60**	**0,69**	**0,43**	**0,46**	**17,41**	**19,65**	**0,71**	**0,84**	**0,87**	**1,04**
	SEM	0.02	0.05	0.13	0.11	0.06	0.06	2.76	2.48	0.10	0.14	0.15	0.20
DHEA 1.8%	MEDIA	**0,18**	**0,25**	**0,62**	**0,81**	**0,44**	**0,50**	**21,28**	**25,74**	**0,85**	**1,08**	**0,92**	**1,34**
	SEM	0.03	0.05	0.11	0.15	0.03	0.03	2.20	2.68	0.10	0.14	0.11	0.10
Mujeres Pre menopáusicas de 30-35 años de edad (n= 47)	MEDIA	**1,19**		**1,27**		**0,96**		**40,21**		**1,21**		**1,43**	
	SD	0.03		0.62		0.25		20.31		0.93		0.93	
	Media	0.87		1.04		0.92		31.62		1.06		1.35	
	5^{tos}-95os percentiles	0.21 - 2.59		0.56 - 2.65		0.45 - 1.64		12.17 - 118.2		0.25 - 2.79		0.25 - 2.55	
	(MIN MAX)	(0.21 - 2.40)		(0.45 - 2.71)		(0.21 - 1.77)		(0.89 - 132.6)		(0.25 - 4.32)		(0.25 - 5.71)	

* Un paciente excluido del grupo

(Labrie, Belanger et al. 2006)

Se debe mencionar, sin embargo, como se muestra en la Tabla 3, que había una fuerte tendencia para valores de pre-tratamiento inferiores de muchos esteroides en el grupo de placebo. Esto se relaciona a valores particularmente bajos en el grupo placebo por DHEA, DHEA-S, 4-diona, Testo, DHT, E_2, ADT-G y 3α-diol-17G. Ya que todos los valores de esteroide de suero promedio observados después de la administración de las dosis 0.5% y 1.0% de DHEA permanecen dentro o bien por debajo de los valores encontrados en mujeres premenopáusicas normales, no se ha tratado de corregir este error aparente. Es de interés mencionar que los niveles de suero 24 h promedio de todos los esteroides medidos en el Día 7 de administración diaria de un supositorio de DHEA al 0.5%, corresponde al menos exactamente a los valores medidos en mujeres de 55 hasta 65 años de edad normales mientras que el supositorio de DHEA al 1.0% lleva a valores dentro del rango observado en mujeres de 55 hasta 65 años de edad (Labrie, Belanger et al. 2006).

Ya que los metabolitos de andrógeno son la medida más fiable de transformación de DHEA exógeno en andrógenos activos, los datos presentes indican que aún la dosis más alta de DHEA usadas en el presente estudio cumple los requisitos de FDA de niveles de esteroide de suero que

permanecen dentro del rango normal encontrado en normal mujeres premenopáusicas.

Tabla 3: Niveles de Esteroide de Suero Basales en los Días 1 y 7 de Administración Diaria de Incremento de Dosis Intravaginal de Datos DHEA se Expresan en ng/ml Excepto para E_1 y E_2 (pg/ml) y DHEA-S (µg/ml).

Esteroide		Placebo	DHEA 0.5%	DHEA 1.0%	DHEA 1.8%
DHEA	Día 1	0.72 ± 0.14	1.09 ± 0.24	0.94 ± 0.19	0.99 ± 0.15
	Día 7	0.69 ± 0.14	1.29 ± 0.26	1.43 ± 0.19	1.83 ± 0.13
5-diol	Día 1	0.22 ± 0.02	0.26 ± 0.03	0.26 ± 0.05	0.25 ± 0.02
	Día 7	0.22 ± 0.02	0.31 ± 0.05	0.36 ± 0.05	0.46 ± 0.04
DHEA-S	Día 1	0.372 ± 0.102	0.543 ± 0.157	0.572 ± 0.144	0.447 ± 0.094
	Día 7	0.368 ± 0.100	0.592 ± 0.160	0.717 ± 0.125	0.805 ± 0.143
4-Diona	Día 1	0.18 ± 0.02	0.21 ± 0.03	0.23 ± 0.04	0.22 ± 0.03
	Día 7	0.16 ± 0.02	0.25 ± 0.03	0.34 ± 0.06	0.38 ± 0.03
Testo	Día 1	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.12 ± 0.03	0.15 ± 0.03
	Día 7	0.09 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.18 ± 0.03	0.23 ± 0.03
DHT	Día 1	0.024 ± 0.003	0.026 ± 0.003	0.037 ± 0.010	0.029 ± 0.002
	Día 7	0.023 ± 0.002	0.035 ± 0.004	0.047 ± 0.010	0.062 ± 0.006
E_1	Día 1	11.98 ± 1.65	11.83 ± 1.28	14.72 ± 2.79	13.59± 1.88
	Día 7	11.71 ± 1.19	13.53 ± 1.66	22.15 ± 3.21	23.77 ± 3.35
E_2	Día 1	3.00 ± 0.44	3.13 ± 0.37	4.30 ± 1.38	3.42 ± 0.62
	Día 7	2.75 ± 0.28	3.94 ± 0.65	5.98 ± 1.26	6.00 ± 1.10
E_1-S	Día 1	0.137 ± 0.024	0.133 ± 0.029	0.117 ± 0.016	0.164 ± 0.033
	Día 7	0.143 ± 0.025	0.151 ± 0.034	0.203 ± 0.016	0.259 ± 0.049
ADT-G	Día 1	7.42 ± 1.48	13.65 ± 3.71	11.49 ± 2.10	9.44 ± 1.23
	Día 7	6.72 ± 1.17	17.02 ± 4.39	16.34 ± 2.30	19.26 ± 1.96
3α-diol-3G	Día 1	0.50 [a]	0.61 ± 0.07	0.71 ± 0.14	0.58 ± 0.05
	Día 7	0.50 [a]	0.75 ± 0.11	0.96 ± 0.25	0.96 ± 0.15
3α-diol-17G	Día 1	0.50 [a]	0.84 ± 0.16	0.85 ± 0.22	0.65 ± 0.06
	Día 7	0.50 [a]	0.95 ± 0.16	1.18 ± 0.30	1.27 ± 0.19

a: Niveles de esteroide están por debajo del límite de cuantificación para todos los sujetos (limite de cuantificación = 050 ng/mL).

Después de solamente una semana de administración diaria de los Supositorios de DHEA, el índice de maduración incrementado por 107% ($p < 001$), 75% ($p < 005$) y 150% ($p < 001$) en los grupos de DHEA al 0.5%, 1.0% y 1.8%, respectivamente (Figura 10A). No se observó cambio en el grupo placebo entre el día 1 y el día 7. El pH vaginal, por otra parte, disminuyó desde 6.29 ± 0.21 hasta 5.75 ± 0.27 ($p < 0.05$), 6.47 ± 0.23 hasta 5.76 ± 0.22 ($p < 0.01$) y 6.53 ± 0.25 hasta 5.86 ± 0.28 ($p < 0.05$), respectivamente en los grupos de DHEA al 0.5%, 1.0% y 1.8% (Figura 10B). No se observó cambio de pH vaginal en el grupo de placebo.

Ejemplo 2

Biodisponibilidad y metabolismo de dehidroepiandrosterona oral y percutánea en mujeres postmenopáusicas

1. Introducción

Los seres humanos, junto con los otros primates, son únicos entre especies animales en que tienen suprarrenales que secretan grandes cantidades de los esteroides precursores inactivos DHEA y especialmente DHEA-S, que se convierten en andrógenos y/o estrógenos activos en tejidos periféricos

(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). De hecho, los niveles de DHEA-S de plasma en hombres y mujeres adultos son 100-500 veces mayor que aquellos de testosterona y 1000-10,000 veces mayor que aquellos de estradiol, proporcionando así una gran reserva de substrato para conversión en andrógenos y/o estrógenos en los tejidos de intracrina periféricos que posee la maquinaria enzimática necesaria para transformar DHEA en esteroides sexuales activos (Labrie 1991, and Labrie, Luu-The et al., 2005). De hecho, el término intracrinología se forjó primero en 1988 (Labrie, Belanger et al., 1988) para describir la síntesis de los esteroides activos hechos en las mismas células donde ejercen su acción sin o mínima liberación en el espacio extracelular y circulación general antes de que se inactiven (Labrie, 1991).

La reducción marcada en la formación de DHEA-S por las suprarrenales durante el envejecimiento (Belanger et al., 1994; Vermeulen and Verdonck, 1976; and Migeon et al., 1957) resulta en una caída dramática en la formación de andrógenos y estrógenos en tejidos objetivo periféricos, una situación potencialmente asociada con enfermedades relacionadas con la edad tal como resistencia a la insulina (Schriock et al. 1988

and Coleman et al. 1982) y obesidad (Nestler et al. 1988; MacEwen and Kurman, 1991, and Tchernof et al. 1995). Por otra parte, se ha dado mucha atención a los beneficios de DHEA administrado a mujeres postmenopáusicas, especialmente en el hueso, piel, vagina, glucosa y metabolismo de insulina, masa grasa, así como bienestar después de administración oral (Villareal and Holloszy, 2004; Baulieu et al., 2000; Morales, et al. 1994; y Kawano et al. 2003) y percutánea (Diamond et al., 1996 y Labrie Diamond et al. 1997). Por lo tanto se convierte de particular importancia obtener conocimiento más preciso acerca de la biodisponibilidad, farmacocinética y metabolismo de DHEA después de estas dos vías de administración.

Como ya hemos mostrado, usando una dosis farmacológica de DHEA administrada percutáneamente durante 2 semanas, medidas de niveles de testosterona (testo) y estradiol (E_2) de suero no proporcionan una evaluación confiable de la verdadera combinación intracelular de andrógenos y estrógenos (Labrie, Belanger et al., 1997; Labrie, Belanger et al., 2006 y Labrie, Belanger, et al, 2007b) hemos comparado los niveles de suero de DHEA y nueve esteroides conocidos para ser más cercanamente asociados con andrógenos y estrógenos activos y sus metabolitos. Se realizó un análisis detallado de los cambios de 24 h de niveles de esteroide de suero en el primer

día y después de 2 semanas de administración diaria de DHEA por la vía oral así como percutáneamente usando una crema o gel de DHEA.

2. Sujetos y métodos

Treinta y seis mujeres postmenopáusicas de 60-70 años de edad saludables participaron en el estudio después de la aprobación de la IRB y dando su consentimiento informado por escrito. El peso corporal fue de ±20% de peso corporal normal de acuerdo con Tablas de Vida Metropolitana.

Ningún sujeto padeció de un trastorno metabólico o endocrino significativo, enfermedad coronaria o hipertensión. Ninguna de las mujeres tenía tratamiento con andrógenos o esteroides anabólicos dentro de 6 meses antes de la visita de separación por exclusión. Todos los participantes tenían un historial médico, examen físico completo y perfil bioquímico de suero que incluye lípidos, recuento sanguíneo completo, análisis de orina y determinaciones de hormona de suero detalladas durante la fase de separación por exclusión del protocolo.

3. Diseño de estudio, tratamiento y mediciones

Este estudio fue un ensayo de etiqueta abierta aleatorizada de 12 sujetos por ramificación. Después de que se obtuvo el consentimiento informado por escrito y las

mujeres se encontraron elegibles, cada sujeto se seleccionó al azar para recibir DHEA por crema, gel u oralmente. Diariamente, antes del desayuno, durante 14 días, los sujetos recibieron, en la clínica de investigación, ya sea 4 g de gel de DHEA al 10% o 4 g de crema de DHEA al 10% aplicado en un área total de 30 cm x 30 cm de los muslos o dos cápsulas 50 mg de DHEA oralmente antes del desayuno.

La toma de muestras de sangre se realizó en 08:00-09:00 h en separación por exclusión y antes de la aplicación de DHEA, en el primer día de dosificación, así como en los días 2, 4, 7, 10 y 14. En los 1^{ros} y 14^{tos} días, las muestras de sangre se obtuvieron en 0.5 h, 1 h, 1.5 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h, 12 h y 24 h después de la administración de DHEA.

4. Análisis de esteroide de suero

DHEA, DHEA-S, androst-5-eno-3β,17β-diol (5-diol), testosterona, androstenodiona (4-diona), 17β-estradiol (E_2), estrona (E_1), sulfato de estrona (E_1-S), androsterona glucorónido (ADT-G), y androstano-3*,17β-diol glucorónido (3 α-diol-G) se midieron por cromatografía de gas/espectrometría de masa (DHEA, 5-diol, 4-diona, testosterona, E_1 y E_2) usando impacto de electrones o ionización química y por cromatografía líquida/espectrometría de masa tándem usando

rocío turbo de iones (DHEA-S, E_1-S, ADT-G y 3 α-diol-G) como describe (Labrie, Belanger et al., 2006; Labrie, Belanger, et al, 2007b and Swanson et al. 2007).

5. Cálculos y Análisis Estadístico

En los días 1 y 14, el área bajo la curva de la concentración de suero de cada esteroide se midió entre 0 h y 24 h ($AUC_{0-24\ h}$). Las áreas bajo las curvas se calcularon por un método trapezoidal lineal (modelo independiente). La biodisponibilidad relativa del gel DHEA, crema DHEA y cápsulas DHEA se basó en la diferencia media en los valores AUC transformados de logaritmo. Todos los cálculos se realizaron con el software SAS (SAS Institute, Cary, NQ USA).

6. Resultados

La administración oral de dos cápsulas de 50 mg de DHEA lleva a un incrementó de DHEA en suero desde 2.3 ± 0.3 ng/ml hasta un valor máximo de 15.6 ± 2.5 ng/ml en 1 h con una disminución progresiva después de eso hasta 5.7 ± 0.5 ng/ml en 6 h seguido por una meseta hasta 24 h (Fig. 11A). Cuando 4 g de un gel o crema de DHEA al 10% se aplicaron en un área 30 cm x 30 cm de la piel de los muslos, los niveles de DHEA en suero solamente comienzan a incrementar en 12 h para alcanzar valores de 8.2 ± 2.0 y 8.0 ± 1.2 nmol/l, respectivamente, en 24 h (Fig. 11A). No había diferencia significativa entre la

crema o gel en los niveles de suero de DHEA en ninguno de los intervalos de tiempo estudiados hasta 24 h después de la primera aplicación del esteroide precursor en la piel.

Cuando se midió 5-diol de suero después de la primera administración oral de DHEA, la concentración de 5-diol incrementó desde una concentración de pre-tratamiento de 0.31 ± 0.03 ng/ml a un valor máximo de 1.19 ± 0.13 ng/ml en 1 h con una disminución lenta y progresiva después de eso para alcanzar 0.79 ± 0.05 ng/ml en 24 h (Fig. 11B). Se puede ver en la misma figura que los niveles de suero de 5-diol incrementaron mucho más lentamente después de la administración de DHEA percutáneamente por crema o gel para alcanzar los primeros valores diferentes estadísticamente significativos de 1.00 ± 0.14 ng/ml para la crema y 0.72 ± 0.14 ng/ml para el gel en 24 h.

Después de DHEA oral, 4-diona de suero incrementó desde 0.6 ± 0.1 ng/ml hasta un valor máximo de 9.5 ± 2.2 ng/ml en 1 h seguido por una disminución rápida después de eso a valores que permanecieron en una meseta de alrededor de 1.2 ng/ml entre 8 h y 24 h (Fig. 12A). Después de la administración de DHEA por crema o gel, por otra parte, el primer incremento significativo de 4-diona de suero se observó solamente en 24 h en valores de 0.9 ± 0.1 y 0.8 ± 0.1 ng/ml para la crema y gel, respectivamente.

101

Se observó un patrón comparable para testosterona en suero. De hecho, después de la administración oral de dos cápsulas 50 mg de DHEA, la testosterona en suero se incrementa desde 0.38 ± 0.03 ng/ml hasta un valor máximo de 0.79 ± 0.14 ng/ml en 1 h. Esta elevación fue seguida por una disminución rápida a 0.30 ± 0.08 ng/ml en 6 h seguido por una meseta después de eso hasta 24 h (Fig. 12B). Cuando DHEA se aplicó como crema o gel, el primer incrementó se observó en 24 h en un valor de aproximadamente 0.45 ng/ml. Como se puede ver en la Fig. 13A y B, la primera administración de DHEA por la vía oral o percutánea no tuvo efecto estadísticamente significativo en los niveles de suero de E_1 o E_2 durante las primeras 24 h.

El DHEA-S de suero por otro lado siguió un patrón similar, aunque ligeramente retrasado, comparado con DHEA y 5-diol después de la administración oral de dos cápsulas de DHEA 50 mg (Fig. 14A). Así, el DHEA-S de suero incrementó desde 0.4 ± 0.1 µg/ml hasta 7.7 ± 1.0 µg/ml en 1 h hasta un valor máximo de 8.4 ± 0.6 µg/ml en 2 h con una disminución progresiva hasta 2.7 ± 0.3 µg/ml en 24 h. No se observó cambio significativo de DHEA-S de suero durante las primeras 24 h después de la administración de DHEA en una crema o gel. El E1-S de suero, por otra parte, no cambió

significativamente durante las primeras 24 h después de los primero

El ADT-G de suero, el principal metabolito de andrógenos, incrementó desde 14 ± 3 ng/ml hasta 760 ± 150 ng/ml en 1 h y 790 ± 140 ng/ml en 2 h para luego disminuir progresivamente hasta 92 ± 5 ng/ml en 12 h y 70 ± 5 ng/ml en 24 h (Fig. 15A). El 3 α-diol-G de suero, por otra parte, incrementó desde 2.2 ± 0.5 ng/ml hasta 14.5 ± 2.0 ng/ml en 2 h (Fig. 15B). La disminución observada después de eso por 3 α-diol-G fue sin embargo mucho más lenta que la de ADT-G, una disminución de solamente alrededor de 40% que se observa entre 2 h y 24 h después de la administración oral de DHEA. Después de la aplicación de 4 g de DHEA al 10% en la piel, no había cambio significativo de ADT-G o 3 α-diol-G de suero hasta 24 h (Fig. 15B).

Cuando las mediciones de los mismos parámetros cinéticos se repitieron en el día 14 de dosificación diaria, se podía ver que la administración de dos cápsulas de 50 mg de DHEA lleva, desde un valor de predosificación de 4.2 ± 0.4 ng/ml, hasta una concentración máxima de 14.8 ± 4.4 ng DHEA/ml en 1 h seguido por una disminución progresiva después de eso hasta 4.5 ± 0.4 ng/ml en 24 h (Fig. 16A). Por otro lado, cuando DHEA se administró por crema o gel, no se observó cambio significativo durante el periodo de 24 h y DHEA en suero

permanece entre 10 ng/ml y 15 ng/ml después de la aplicación de la crema y entre 7 ng/ml y 11 ng/ml después de la aplicación del gel.

Similarmente, cuando 5-diol de suero se midió en el día 14 de tratamiento, la concentración de suero de este esteroide se incrementó desde 0.46 ± 0.04 ng/ml hasta 1.37 ± 0.21 ng/ml en 1 h con un disminución lenta después de eso para alcanzar 0.64 ± 0.06 ng/ml en 24 h (Fig. 16B). Como se observó para DHEA, 5-diol de suero permanece aproximadamente constante durante el periodo de 24 h en alrededor de 1.5-1.9 ng/ml después de la aplicación de la crema y 1.0-1.3 ng/ml después de la aplicación del gel.

Cuando 4-diona de suero se midió en el día 14 de dosificación, la concentración de suero de este esteroide incrementó desde 1.3 ± 0.2 ng/ml hasta un valor máximo de 9.8 ± 1.7 ng/ml en 1 h seguido por una disminución rápida hasta 1.5 ± 0.1 ng/ml en 6 h con un valor de 1.2 ± 0.1 ng/ml medido en 24 h (Fig. 17A). Después de la aplicación de DHEA en la piel como una crema o gel, hubo un aumento no significativo de 4-diona de suero hasta aproximadamente 2.5 ng/ml en 2 h con valores, después de eso, permanece en una meseta en 1.0-1.6 ng/ml hasta 24 h (Fig. 17A).

La testosterona en suero incrementó en el día 14 de dosificación después de administración oral de 100 mg de DHEA

desde 0.31 ± 0.04 ng/ml hasta un valor máximo de 0.83 ± 0.11 ng/ml en 1 h seguido por una disminución progresiva a un valor de 0.37 ± 0.04 ng/ml en 24 h (Fig. 17B). Después de la aplicación de DHEA como una crema o un gel, los niveles de suero de testosterona permanecen sin cambios durante el periodo de 24 h en aproximadamente 0.3 ng/ml, este valor que no difiere significativamente del pretratamiento. Como se observó en el primer día, no había cambio significativo en los niveles de suero de E1 (Fig. 18A) o E2 (Fig. 18B) durante las 24 h que siguió la 14ta administración diaria de DHEA por la vía oral o percutánea.

De un nivel de predosificación de 1.95 ± 0.15 µg/ml, DHEA-S de suero incrementó hasta 8.3 ± 0.4 µg/ml en 1 h hasta disminuir progresivamente hasta 2.6 ± 0.3 µg/ml en 24 h (Fig. 19A). No se observó cambio significativo en DHEA-S de suero después de la aplicación de DHEA en la piel. El E_1-S de suero, por otra parte, no cambió durante las 24 h después de la administración diaria 14 de DHEA por la vía oral o percutánea (Fig. 19B).

Mientras que comienza en un nivel más alto en el Día 14 que en el Día 1, el ADT-G de suero incrementó rápidamente desde 66 ± 1 ng/ml hasta 996 ± 105 ng/ml en 1 h para disminuir progresivamente después de eso hasta 116 ng/ml en 12 h y 91 ± 15 ng/ml en 24 h (Fig. 20A). No ocurrió cambio

significativo en niveles de ADT-G de suero después de la aplicación de DHEA en la piel. El 3 α-diol-G de suero, por otra parte, incrementó desde 12 ± 2.5 ng/ml hasta 29.4 ± 5.5 ng/ml en 2 h para disminuir lentamente después de eso para alcanzar 13 ± 3.0 ng/ml en 24 h después de la administración oral diaria de 100 mg de DHEA. No se observó cambio significativo en 3 α-diol-G de suero después de la administración percutánea de DHEA (Fig. 20B).

Con objeto de obtener una medición más precisa de la acumulación de DHEA y sus metabolitos, comparamos después las áreas bajo las curvas de las concentraciones de esteroide de suero (valores $AUC_{0-24\ h}$) medidas en los días 1 y 14 de dosificación. Como se puede predecir a partir de la Fig. 11, Fig. 12, Fig. 13, Fig. 14, Fig. 15, Fig. 16, Fig. 17, Fig. 18, Fig. 19 y Fig. 20, los valores $AUC_{0-24\ h}$ de todos los esteroides, excepto los metabolitos de estrógenos (E_1-S) y andrógenos (ADT-G y 3 α-diol-G), debido a alguna acumulación de estos esteroides, son similares en los días de administración 1 y 14 de DHEA por la vía oral (Tabla 4). Después de la administración percutánea de DHEA, por otra parte, debido a la absorción más lenta de DHEA después de la administración en una crema o gel, se observaron 155% y 86% valores más altos de los valores AUC_{0-24h} de DHEA en el día 14 comparado con el primer día de dosificación, respectivamente.

Se observaron también valores más altos para todos los otros esteroides, excepto para E_1, E_2 y testosterona que no mostró la Tabla 4.

Valores $AUC_{0-24\ h}$ medidos en los días 1 y 14 de dosificación así como su relación

Esteroide	DHEA (ng h/ml)	5-Diol (ng h/ml)	4-Diona (ng h/ml)	Testosterona (ng h/ml)	E1 (pg h/ml)	E2 (pg h/ml)	DHEA-S (ng h/ml)	E1-S (pg h/ml)	ADT-G (ng h/ml)	3 α-Diol-G (ng h/ml)
2× 50 mg cápsulas										
Dosis 1	155 (19)	19.0 (20)	40.2 (39)	9.47 (31)	745 (30)	136 (20)	108 (20)	4.81 (39)	4112 (24)	259 (44)
Dosis 14	144 (26)	20.4 (25)	43.6 (27)	9.72 (23)	910 (23)	165 (25)	95.0 (16)	7.44 (33)	5607 (28)	453 (41)
14/1	0.94	1.07	1.08	1.03	1.22	1.21	0.88	1.55	1.36	1.75
4 g 10% crema										
Dosis 1	107 (33)	13.7 (31)	12.3 (43)	8.35 (16)	620 (48)	147 (50)	10.7 (45)	4.83 (58)	404 (62)	50.6 (93)
Dosis 14	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)
14/1	2.55	2.90	1.85	1.00	1.24	1.19	1.86	1.65	2.42	2.25
4 g 10% gel										
Dosis 1	101 (49)	10.3 (55)	13.3 (45)	8.76 (11)	620 (31)	214 (137)	11.2 (35)	5.52 (84)	254 (30)	38.3 (66)
Dosis 14	188 (30)	27.2 (32)	21.5 (51)	8.04 (22)	785 (40)	152 (24)	18.6 (34)	9.11 (106)	455 (23)	60.3 (85)

Esteroide	DHEA (ng h/ml)	5-Diol (ng h/ml)	4-Diona (ng h/ml)	Testosterona (ng h/ml)	E1 (pg h/ml)	E2 (pg h/ml)	DHEA-S (pg h/ml)	E1-S (pg h/ml)	ADT-G (ng h/ml)	3 α-Diol-G (ng h/ml)
14/1	1.86	2.64	1.60	0.96	1.27	0.71	1.66	1.65	1.79	1.57

Los valores dentro del paréntesis representan % de coeficiente de variación. La DHEA se administró por la vía oral (2 x 50 mg cápsulas) o después de aplicación en la piel de 4 g de crema DHEA al 10% o 4 g de gel al 10%.

Como puede verse claramente en la Tabla 5 y la Fig.21, no hubo cambio significativo en los valores AUC_{0-24h} de E_1, E_2 o testosterona en suero medidos en el día 14 de dosificación comparado con los niveles de predosificación. Los incrementos significativos, sin embargo, se observaron para todos los otros dos esteroides. Así, después de la dosificación oral diaria con 100 mg de DHEA durante 2 semanas, el área bajo la curva de concentración de DHEA medida durante las 24 h después de la administración del esteroide incrementó 167% sobre el valor de pretratamiento mientras que para el 5-diol, 4-diona, DHEA-S, E_1-S, ADT-G y 3 α-diol-G, se observaron los incrementos respectivos de 138%, 238%, 873%, 60%, 1820% y 874%.

Tabla 5

Pretratamiento y valores $AUC_{0-24\ h}$ del día 14 de DHEA y sus metabolitos

Esteroide	DHEA (ng h/ml)	5-Diol (ng h/ml)	4-Diona (ng h/ml)	Testosterona (ng h/ml)	E1 (pg h/ml)	E2 (pg h/ml)	DHEA-S (µg h/ml)	E1-S (µg h/ml)	ADT-G (ng h/ml)	3 α-Diol-G (ng h/ml)
Basal (pretratamiento)	53.9	8.56	12.9	8.72	717	135	9.76	4.64	292	46.6
(A) 2× 50 mg cápsulas										
Día 14	144	20.4	43.8	9.72	910	165	95.0	7.44	5607	453
14/basal	2.67	2.38	3.38	1.11	1.27	1.22	9.73	1.60	19.2	9.74
(B) 4 g 10% crema										
Día 14	273	39.7	22.8	8.77	847	175	19.9	7.96	977	114
14/basal	5.06	4.63	1.77	1.01	1.18	1.30	2.04	1.72	3.34	2.45
(C) 4 g 10% gel										
Día 14	188	27.2	21.3	8.04	785	152	18.6	9.11	455	60.3
14/basal	3.49	3.18	1.65	0.92	1.09	1.13	1.91	1.96	1.56	1.30

DHEA se administró por la vía oral o percutáneamente por crema o gel. Los valores $AUC_{0-24\ h}$ basales se calcularon al multiplicar los niveles de esteroide de suero basales de pretratamiento incluyendo separación por exclusión por 24 h.

Excepto para DHEA y 5-diol, se observaron menores incrementos después de la administración de crema o gel de DHEA. De hecho, después de la aplicación de la crema DHEA, el valor $AUC_{0-24\ h}$ DHEA-S incrementó por solamente 104% mientras

que los valores $AUC_{0-24\ h}$ de 4-diona, E_1-S, ADT-G y 3 α-diol-G incrementaron por 77%, 72%, 234% y 145% sobre el control, respectivamente. Los valores AUC para DHEA y 5-diol, por otra parte, incrementaron por 406% y 363%, respectivamente (Tabla 5, Fig. 21). Se observaron los incrementos comparables pero algo menores con el gel DHEA donde los valores $AUC_{0-24\ h}$ de 4-diona, DHEA-S, E1-S, ADT-G y 3 α-diol-G de suero incrementaron por 65%, 91%, 96%, 56% y 30% sobre el control mientras que los valores AUC_{0-24h} para DHEA y 5-diol incrementaron por 249% y 238%, respectivamente.

Nuestros resultados recientes (Labrie, Belanger et al., 2007b) han mostrado que los cambios de DHEA en suero observados después de la administración de DHEA exógeno son al menos un 100% sobre estimación de los cambios verdaderos en la formación de esteroide sexual. En apoyo de estos datos, la Fig. 21 mostró que después de la administración de DHEA por crema o gel, los cambios en suero DHEA son una sobre estimación marcada de los cambios en niveles en suero de todos los esteroides medido excepto para 5-diol, el metabolito inmediato de DHEA. Para la crema DHEA, los cambios en los valores $AUC_{0-24\ h}$ de 4-diona, DHEA-S, E1-S, ADT-G y 3 α-diol-G de suero son solamente 77%, 104%, 72%, 234% y 145% comparado con el incremento de 406% sobre los niveles de pretratamiento observados para DHEA en suero.

Para los andrógenos, está ahora bien establecido que uridina glucuronosilo transferasa 2B7 (UGT 2B7), UGT 2B15 y UGT 2B17 son las tres enzimas responsables para la glucuronidación de todos los andrógenos y sus metabolitos en el humano (Belanger et al. 2003). Esta reciente finalización de la identificación y caracterización de todas las transferasas de UDT-glucuronosilo humanas hace posible el uso de los derivados de glucorónido de andrógenos como marcadores de actividad androgénica total en tanto mujeres como hombres (Labrie, Belanger et al., 2006; Labrie, Belanger, et al, 2007b and Swanson et al. 2007). En consecuencia, ya que todos los andrógenos se metabolizan en ADT-G y 3 α-diol-G, la estimación del porcentaje de eficacia de DHEA percutánea para la transformación en andrógenos activos se estima así en 52% cuando se agregan los cambios en ADT-G y 3 α-διολ-Γ (un valor 211% pesado comparado con los cambios DHEA de 406%). Similarmente, después de la administración de gel de DHEA, el incremento de 249% en DHEA en suero se traduce en solamente incrementos de 65%, 91%, 96%, 56% y 30% en los valores AUC_{0-24h} de 4-diona, DHEA-S, E1-S1, ADT-G y 3 α -diol-G, de suero respectivamente.

Ya que el alto nivel de glucuronidación en el intestino y el hígado explica el alto nivel de suero de ADT-G y 3 α-diol-G (Belanger et al. 2003) después de la administración

111

oral de DHEA, el incremento relativamente pequeño en E1-S de suero (60%) comparado con el incremento de 167% en DHEA en suero después DHEA oral indica un 36% de relativa eficacia de transformación en estrógenos. Como se muestra anteriormente (Labrie, Belanger et al., 1997; Labrie, Belanger et al., 2006; Labrie, Belanger, et al, 2007b), los datos presentes indican que DHEA administrado a mujeres postmenopáusicas se transforma predominantemente en andrógenos en lugar de estrógenos.

Discusión

Los datos actuales muestran claramente que durante el tratamiento crónico con DHEA por crema o gel, la concentración de todos los esteroides alcanza rápidamente una meseta sin cambio detectable en la concentración de suero de cualquiera de los esteroides medidos durante la aplicación diaria de DHEA en la piel. En consecuencia, desde 24 h después de la primera administración de DHEA percutáneamente, la concentración de todos los esteroides permanece en el mismo nivel, mostrando así que la aplicación diaria de DHEA en la piel mantiene niveles de suero constantes de DHEA y todos sus metabolitos. En mujeres postmenopáusicas, ya se conoce que la variación circadiana de DHEA en suero es

relativamente pequeña comparada con la situación en mujeres premenopáusicas de ciclo normal (Lui and Laughlin, 1990).

Los datos presentes también muestran que después de la administración oral diaria de DHEA, no hay una acumulación significativa de DHEA o de sus metabolitos. Por otra parte, el metabolismo de DHEA después de su administración por la vía oral o percutánea es similar cuantitativamente, las diferencias cuantitativas que se explican por el mecanismo entero-hepático después de administración oral.

Los valores $AUC_{0-24\ h}$ más altos de DHEA-S, ADT-G y 3 α-diol-G de suero combinados con los valores $AUC_{0-24\ h}$ más bajos de DHEA y 5-diol después de administración oral contra percutánea indican que el metabolismo a través del tracto gastrointestinal y/o primer paso a través del hígado no lleva solamente a un nivel mayor de transformación de DHEA en DHEA-S a través de la actividad de DHEA-sulfotransferasa (Luu-The et al., 1995) pero también a un incremento del metabolismo de DHEA en andrógenos y su inactivación a través de la actividad de glucuronosiltransferasas de hígado (Belanger et al. 2003; Turgeon et al., 2001 and Hum et al., 1999). De hecho, como se muestra en la Tabla 1, la exposición a DHEA de 144 ng h/ml ($AUC_{0-24\ h}$) en el día 14 de administración oral de 100 mg de DHEA lleva a valores $AUC_{0-24\ h}$ de 5607 ng h/ml y 453 ng h/ml para ADT-G y 3α-diol-G, respectivamente. Por otro lado,

después de administración percutánea con la crema DHEA al 10%, los valores AUC para DHEA, ADT-G y 3 α-diol-G son 273 ng h/ml, 977 ng h/ml y 114 ng h/ml, respectivamente. Así, después de la administración oral, 1 ng h/ml de DHEA corresponde a un valor AUC de 42.1 ng h/ml para la combinación de los dos metabolitos de andrógenos (ADT-G + 3α-diol-G) mientras que después de la aplicación de la crema de DHEA, 1 ng h/ml de exposición de DHEA corresponde a 4.0 ng h/ml para la suma de los dos metabolitos de andrógeno. Tales datos indican que la administración de DHEA por la vía oral lleva a un nivel aproximadamente 10 veces mayor de transformación de DHEA en ADT-G y 3 α-diol-G que después de la administración percutánea, al menos en las dosis usadas. Cuando los mismos cálculos se hicieron para los datos obtenidos después de la administración de DHEA por gel, una exposición a DHEA de 1 ng h/ml se acompaña por un valor $AUC_{0-24\ h}$ de 2.7 ng h/ml para ADT-G + 3 α-diol-G, indicando así una relación aún mayor entre administración de DHEA oral y percutánea.

Como se muestra en la Tabla 4 mientras un valor $AUC_{0-24\ h}$ de DHEA de 1 ng h/ml lleva a un valor $AUC_{0-24\ h}$ de 660 ng h/ml para DHEA-S después de la administración oral de DHEA, se observaron valores correspondientes de 73 ng h/l y 99 ng h/l después de aplicación del esteroide precursor por crema o

gel. Hay así una cantidad 6.7-9.0 veces mayor de DHEA-S en la circulación después de la misma exposición a DHEA circulante (valor $AUC_{0-24\ h}$ de suero) después de administración de DHEA oral comparada con percutánea bajo las condiciones probadas. Los datos presentes muestran una influencia comparable del paso de DHEA a través del tracto gastrointestinal y el hígado en niveles de DHEA-S, ADT-G y 3 α-diol-G de suero.

Aunque se ve una diferencia menor, los niveles relativamente mayores de 4-diona de suero se observaron después de la administración oral de DHEA comparado con la administración percutánea del esteroide precursor. Así, después de la administración oral de DHEA, un valor 1 ng h/ml de los $AUC_{0-24\ h}$ de DHEA lleva a un valor $AUC_{0-24\ h}$ de 4-diona de 0.3 ng h/ml mientras que los valores de 0.08 ng h/ml y 0.11 ng h/ml se observaron después de administración de DHEA por crema y gel, respectivamente. Como se midió en la circulación, la transformación de DHEA en 4-diona es así 2.70-3.76 veces mayor después de la administración oral comparada con percutánea de DHEA.

Los datos de la Tabla 5 muestran que el valor AUC_{0-24h} de DHEA se incrementa por 167% sobre control después de la administración oral diaria de 100 mg de DHEA comparada con los niveles basales de pretratamiento mientras que la administración percucánea diaria de 4 g de crema y gel de

DHEA al 10% incrementa los niveles de DHEA en suero por 406% y 249%, respectivamente. Ya que 400 mg de DHEA se aplicaron en la piel comparado con 100 mg por la vía oral, y claridad asumida, los datos presentes indican que la vía oral es 2.9 y 4.8 veces más eficiente comparada con la formulación usada para la crema y gel de DHEA, respectivamente.

En un estudio también realizado en mujeres postmenopáusicas, la administración oral de 150 mg y 300 mg de DHEA micronizada resulta en DHEA-S de suero máximo, DHEA y testosterona de aproximadamente 1.5 mg/ml, 15 ng/ml y 2.75 ng/ ml después de la dosis 300 mg y 10 µg/ml, 12 µg/ml y 1.6 ng/ml después de la dosis de DHEA 150 mg, respectivamente (Buster et al. 1992). El examen de estos primeros resultados muestra que un incremento de 20 veces en DHEA-S de suero lleva a solamente un incremento de 6.9 veces en testosterona en suero mientras que DHEA en suero se incrementó hasta 11.6 veces. Por otra parte, cuando los valores de testosterona en suero medidos se ajustan a un tercio para tener en cuenta los dos tercios de enlace no específico en el radioinmunoensayo, los niveles de testosterona en suero permanecen dentro de los niveles fisiológicos durante las 12 h que siguen la administración de la dosis de DHEA 150 mg (Buster et al. 1992).

Las diferencias similares observadas entre las vías oral y percutánea para DHEA en suero se observan para 5-diol que se transforma directamente a partir de DHEA por dehidrogenasa de 17β-hidroxiesteroide (Labrie, Luu-The, et al. 2000). De hecho, mientras que el valor $AUC_{0-2\ h}$ de 5-diol se incrementa por aproximadamente 138% sobre control después de la administración oral de 100 mg de DHEA, los incrementos de 363% y 218% se miden después de la aplicación de 400 mg de crema y gel de DHEA, respectivamente.

Como se menciona arriba, el hombre es único, con algunos otros primates, que tiene suprarrenales que secretan grandes cantidades de los esteroides precursores DHEA y DHEA-S, que se convierten en 4-diona y luego en andrógenos y/o estrógenos potentes en tejidos intracrino periféricos (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). Por lo tanto es remarcable que el hombre, además de poseer los sistemas endocrinos y paracrinos muy sofisticados, ha conferido en gran parte en la formación de esteroide sexual en tejidos periféricos (Labrie, 1991) y (Belanger, et al., 1998). De hecho, mientras que los ovarios y los testículos son las fuentes exclusivas de andrógenos y estrógenos en mamíferos inferiores, la situación es muy

diferente en los hombres y primates superiores, donde los esteroides sexuales activos son en gran parte o totalmente sintetizados localmente en tejidos periféricos, proporcionando así tejidos objetivo con controles que ajustan la formación y metabolismo de esteroides sexuales a necesidades locales.

La secreción suprarrenal de DHEA y DHEA-S incrementa durante la adrenarquia en niños en la edad de 6-8 años, y los valores máximos de DHEA-S circulante se alcancan entre las edades de 20 y 30 años. Después de eso, los niveles de DHEA y DHEA-S de suero disminuyeron notablemente (Belanger et al. 1994). De hecho, en los 70 años de edad, los niveles de DHEA-S de suero disminuyen a aproximadamente 20% de sus valores máximos, mientras que pueden disminuir en un 95% por la edad de 85-90 años (Belanger et al. 1994) y (Migeon et al., 1957). El 70-95% de reducción en la formación de DHEA y DHEA-S por los suprarrenales durante el envejecimiento resulta en una reducción dramática en la formación de andrógenos y estrógenos en los tejidos objetivo periféricos (Labrie, Belanger et al., 2006). Tal disminución marcada en la formación de esteroides sexuales en tejidos periféricos podría estar bien involucrada en la patogenia de una serie de enfermedades asociadas con envejecimiento.

Como se mencionó anteriormente, la transformación de DHEA y DHEA-S en andrógenos y/o estrógenos activos en tejidos objetivos periféricos depende sobre el nivel de expresión de las diversas enzimas esteroidogénicas y metabolizantes en cada tipo de célula (Labrie, 1991). La elucidación de la estructura de más de los genes de tejido específico que codifica las enzimas esteroidogénicas responsables de la transformación de DHEA y DHEA-S en andrógenos y/o estrógenos ha permitido un progreso rápido en esta área (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; and Labrie, Durocher et al. 1995).

Los datos que muestran la presencia de niveles relativamente altos de metabolitos de andrógeno en mujeres normales (Labrie, Belanger, et al. 1997; Labrie, Belanger et al., 2006; Labrie, and Belanger, et al, 2007b) sugieren fuertemente que los andrógenos juegan un principal papel fisiológico pero todavía subestimado en mujeres. La caída de 44.5% que se presenta en la DHEA en suero de 20 hasta 30 años de edad a la edad de 40-50 años en mujeres (Belanger et al., 2006) podría explicar la pérdida ósea que precede a la menopausia. De hecho, la pérdida ósea relacionada con la edad

se ha reportado que comenzará en la cuarta década y los cambios en renovación ósea se han encontrado bien antes de la menopausia (Mazess 1982; Riggs, et al. 1981, and Johnston et al. 1985). De acuerdo con estos resultados, la densidad ósea fue inferior en todos los sitios examinados en mujeres clasificadas como perimenopáusicas comparada con premenopáusicas (Steinberg, et al., 1989). De acuerdo con estos resultados, los cambios en secreción de andrógeno precursor por los suprarrenales precede por 10-20 años la disminución en la secreción de estrógeno de ovario que se detiene abruptamente en la menopausia (Labrie, Belanger, et al. 2006).

Es importante darse cuenta que no solamente la DHEA y DHEA-S de suero disminuye por 50% entre la edad de 21 años y 50 años pero que una disminución similar se observa para testosterona en suero (Zumoff et al. 1995). Tales datos podrían sugerir que la terapia de reemplazo hormonal con andrógenos o sus precursores debe comenzar tempranamente en la menopausia con objeto de compensar esta caída temprana en la secreción de precursores de andrógeno por los suprarrenales y la disminución paralela en testosterona en suero (Labrie, 2006).

Los andrógenos y estrógenos activos sintetizados en tejidos objetivo periféricos ejercen su actividad en las

células de origen y muy poca difusión de los esteroides sexuales activos se presenta, resultando así en muy bajos niveles en la circulación. De hecho, como se observó previamente (Labrie, Belanger et al., 1997) y confirma en el presente estudio, los efectos más notables de la administración de DHEA se ven en los niveles circulantes de los derivados de glucorónido de los metabolitos de DHT, es decir ADT-G y 3 α-diol-G mientras que no se observan cambios significativos o solamente de menor importancia en los niveles de suero de testosterona, E1 o E2. Estos esteroides activos se producen localmente en los tejidos de intracrina periféricos que poseen las enzimas esteroidogénicas adecuadas para sintetizar DHT de los precursores suprarrenales DHEA y DHEA-S así como las enzimas que transforman DHT en los metabolitos inactivos ADT y 3α-diol que se modifican además por glucuronidación (Belanger et al. 2003).

En un estudio reciente, la administración oral diaria de 50 mg de DHEA no tuvo efecto importante en la testosterona en suero o DHT mientras que DHEA y ADT-G se incrementaron a un grado similar (80-90%) (Arlt et al. 2001). En otro estudio, los niveles de suero de predosificación de DHEA-S en mujeres postmenopáusicas se incrementaron desde 0.55 µg/ml hasta alrededor de 1.4 µg/ml (Casson et al. 1998), después de la administración oral diaria de 25 mg de DHEA durante 6 meses.

Los niveles de DHEA y testosterona en suero, sin embargo, medidos 23 h después de la última administración de DHEA, no cambiaron significativamente. Otro estudio ha indicado que la dosis oral diaria de 50 mg de DHEA lleva a niveles de andrógeno de suero en el rango de premenopáusicas (Buster et al. 1992).

Los datos presentes demuestran claramente que DHEA y DHEA-S se convierten en tejidos de intracrina periféricos específicos en andrógenos y/o estrógenos actives que pueden ejercer sus efectos biológicos en su sitio de síntesis sin o solamente pequeña liberación de esteroides activos en la circulación. En consecuencia, los cambios en los niveles de suero de testosterona, E1 o E2 no se pueden usar como parámetros de la transformación de DHEA en andrógenos o estrógenos (Labrie, Belanger et al., 2006). De hecho, los esteroides activos se metabolizan en las mismas células donde se han sintetizado y ejercido su acción en metabolitos glucuronidados y sulfatados inactivos que finalmente propaga en el compartimiento extracelular y se puede medir en la circulación (Labrie, Belanger et al., 2006; Labrie, Belanger et al., 1997 and Labrie, Belanger et al. 2007). La medición de los metabolitos conjugados de andrógenos es el enfoque que solamente permite una estimación precisa de la mezcla de andrógeno total en las mujeres. Es más probable que una situación similar exista para estrógenos, aunque una evaluación precisa de la farmacocinética del metabolismo

de estrógenos e identificación de sus metabolitos aún está por establecerse.

Ejemplo 3

Ensayo clínico ERC-210 DHEA Intravaginal, el tratamiento fisiológico de atrofia vaginal

Objetivos y Métodos

Este estudio es un ensayo de fase III, prospectivo, de centro múltiple, aleatorio, controlado con placebo, y de doble ciego de 50 sujetos por extremidad (para un total de 200 sujetos). Doscientas mujeres postmenopáusicas se aleatorizaron así para recibir un ovulo diariamente de las siguientes concentraciones de DHEA: 0.0%, 0.25% (3.25 mg DHEA), 0.5% (6.5 mg DHEA) ó 1.0% (13 mg DHEA) aplicadas intravaginalmente con un aplicador. El estudio se dividió en dos fases, particularmente la detección seguida por un periodo de tratamiento de duración de 12 semanas.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

- Mujeres postmenopáusicas quienes están satisfechas ya sea con a o b o c:

a. Sin menstruaciones durante al menos un año, o;

b. niveles FSH ≥ 40 mlU/mL (dentro de 60 días antes del Día 1) en mujeres sin menstruaciones ≥6 meses pero < 12

meses, o mujeres histerectomizadas quienes fueron premenopáusicas al momento de la histerectomía o;

c. Seis semanas o más (de la consulta de detección) siguiendo la ovariectomía bilateral.

- Las mujeres quienes han auto-identificado al menos un síntoma moderado hasta severo de los siguientes síntomas:

• Resequedad vaginal (ninguna, suave, moderada o severa).

• Irritación/prurito vaginal y/o vulvar (ninguna, suave, moderada o severa).

• Dolor vaginal asociado con actividad sexual (ninguno, suave, moderado o severo).

Las mujeres deben identificar cual síntoma es el más molesto para ella al comienzo del tratamiento. El cambio de este síntoma se seguirá y servirá para evaluar el efecto del tratamiento.

- Mujeres entre 40 y 75 años de edad.

- Están dispuestas a participar en el estudio y firmar un consentimiento informado.

- Mujeres que tienen un índice de maduración bajo (ninguna parte mayor de la orientación que 5% de células superficiales en citología vaginal).

- Mujeres que tienen un pH vaginal arriba de 5.

- Mamografía normal dentro de 9 meses del inicio del estudio.

- Examen de mama normal.

- Citología PAP normal (la cual incluye cambios inflamatorios) dentro de los últimos 12 meses (del Día 1). Para mujeres histerectomizadas, la citología PAP consistirá de al menos una muestra.

- Sin adicción a narcóticos o alcoholismo presente o anterior.

- Peso corporal dentro del intervalo de 18.5 hasta 35 de peso corporal ideal de acuerdo con el índice de masa corporal (BMI) (WHO).

- Sin deterioro o afección hepática o renal conocida para afectar el fármaco o metabolismo de esteroide.

- Hematología de línea basal, química clínica, y análisis de orina normal.

- Serología negativa para VIH1/VIH2 y hepatitis B y C.

Los criterios de exclusión fueron:

- Sangrado genital anormal no diagnosticado.

- Diagnóstico previo de cáncer, excepto cáncer de piel (sin melanoma).

- Hiperplasia endometrial en biopsia realizada en la detección o cáncer endometrial.

- Enfermedad tromboembólica activa o con antecedentes.

- Enfermedad metabólica o endocrina importante.

- Enfermedad gastrointestinal, del hígado o vesícula biliar clínicamente importante.

- Migraña recurrente no controlada por terapia convencional.

- Diabetes mellitus no controlada por terapia convencional.

- Complicación importante en la terapia hormonal previa.

- Uso de terapia de fármaco inyectable solo con estrógeno o progestina implantada dentro de 3 meses antes de la entrada al estudio (consulta de detección).

- Uso de gránulos de estrógeno o fármaco inyectable con progestina dentro de seis meses antes de la entrada al estudio.

- Exposición a estrógeno oral, progestina o DHEA o terapia de progestina intrauterina en las ocho semanas antes de las evaluaciones de la línea basal.

- Productos hormonales vaginales (anillos, cremas o geles) o estrógeno transdérmico solo o productos con estrógeno/progestina en las 4 semanas antes de las evaluaciones de la línea basal. Las pacientes pueden lavarse como sigue, pero el cuestionario en atrofia vaginal debe contestarse después del periodo de lavado requerido:

- Al menos un periodo de lavado en la semana ocho para terapia de estrógeno oral, DHEA y/o progestina previa.

- Al menos un periodo de lavado en la semana cuatro para terapia de hormona transdérmica previa.

- Al menos un periodo de lavado en la semana cuatro para terapia de reemplazo de hormona suministrada localmente para resequedad vaginal.

- Al menos 6 meses para terapia de gránulos de estrógeno previa o terapia de fármaco inyectable con progestina.

• Ocho semanas o más tiempo para la terapia de progestina intrauterina previa.

• Seis meses o más tiempo para los implantes de progestina previos y terapia de fármaco inyectable solo con estrógeno.

- Tratamiento previo con andrógenos o esteroides anabólicos dentro de 3 meses antes de la consulta de detección.

- Tratamiento con corticosteroide oral dentro de seis semanas del inicio del estudio.

- Uso no crónico de corticosteroide permitido (se permite rocío nasal intermitente o tópico en la piel, ojos u oídos).

- Insuficiencia cardiaca o enfermedad cardiaca coronaria manifestada.

- Hipertensión igual a o arriba de 160/95 mm Hg o no controlada por terapia estándar.

- Depresión clínicamente importante confirmada o antecedentes confirmados de alteración psiquiátrica severa.

- La administración de cualquier fármaco de investigación dentro de 30 días de la consulta de detección.

- Bioquímica o hematología de suero anormal clínicamente relevante.

- Citología cervical de la línea basal que muestra lesión intraepitelial escamosa de grado bajo (LGISIL, por sus siglas en inglés) o peor.

- Fumar más de 10 cigarrillos al día.

- Fármacos que interfieren con el metabolismo de estrógenos (por ejemplo, quetoconazol, formación de esteroide o inhibidores de acción).

- SERMs o fármaco que interactúa con los receptores de esteroide.

- Presencia conocida de fibroma uterina o palpable en el examen ginecológico.

- Trastornos de coagulación o en terapia de fármaco anticoagulante.

Pruebas de laboratorio

Las pruebas de laboratorio usuales, particularmente hematología (incluyendo recuento sanguíneo completo y coagulación), química sanguínea y análisis de orina se realizaron en todas las consultas. El FSH de suero se ha medido únicamente en mujeres quienes no han menstruado durante ≥ 6 meses pero < 12 meses o quienes fueron premenopáusicas al momento de la histerectomía. Los niveles de esteroide en el suero de DHEA, DHEA-S, androst-5-eno-3β, 17β-diol (5-diol), dihidrotestosterona (DHT), testosterona (testo), androstenodiona (4-diona), estrona (Ei), estradiol (E_2), E_1-S, glucorónido de androsterona (ADT-G), androstano-3α, 17β-diol-3G (3α-diol-3G) y 3α-diol-17G se midieron en el Laboratory of Molecular Endocrinology, CHUL Research Center por espectrometría de masa como se describe (Labrie, Belanger et al. 2006; Labrie, Belanger et al. 2007; Labrie, Cusan et al. 2008).

pH vaginal y citología

Para el índice de maduración y citología de Papanicolaou (PAP), todas las muestras se examinaron por el mismo citopatólogo (Dr. Robert Dube, Departamento de citología-patología, Enfant-Jésus Hospital, Ciudad de Quebec, Canadá) ciego a los regímenes de tratamiento. Un conteo de 100 células se realizó para clasificar células como tipos de

célula escamosa superficial (S), intermedia (I) y parabasal (P) (Meisels 1967; Wied 1993).

Las citologías vaginales se obtuvieron al raspar el tercer medio de la pared lateral de la vagina con el extremo rodeado de una espátula Ayre. El material luego se aplicó a un portaobjetos de vidrio y se fijo inmediatamente con Spray-Cyte. Estas muestras se enviaron al laboratorio central para la determinación del índice de maduración.

El pH vaginal se midió al aplicar una cinta indicadora de pH directamente a la pared lateral de la vagina con un fórceps. Para la citología de Papanicolaou - si no se hace en los últimos 12 meses, se obtuvieron especímenes del endocervical, exocervical y cavidad vaginal y se fija inmediatamente con citorocío. Los especímenes se recolectaron con una espátula Ayre.

Biopsia Endometrial

La biopsia endometrial se realizó en la detección y en el mes 3 al final del estudio. Todas las biopsias se examinaron por el mismo patólogo en el laboratorio central (Dr. Robert Dubé, Departamento de citología-patología, Enfant-Jésus Hospital, Quebec City, Canadá).

Examen vaginal

En los mismos intervalos de tiempo de 2, 4, 8 y 12 semanas, el ginecólogo o médico a cargo del estudio en cada

sitio realizado en el examen vaginal para evaluar el grado de severidad (ninguno, suave, moderado o severo, analizado usando valores de 0, 1, 2 y 3, respectivamente) para los signos principales de atrofia vaginal, particularmente secreciones vaginales, color vaginal, integridad epitelial vaginal y grosor de la superficie epitelial vaginal. Como se puede ver en las Figs 26 hasta 29, se observó una mejora importante estadísticamente y relacionada con la dosis dependiente del tiempo de todos los cuatro signos de atrofia vaginal. De hecho, los efectos benéficos observados por el ginecólogo y/o medico son casi superpuestos para aquellos auto-reportados por mujeres en su síntomas más molestos.

Se realizó el examen vaginal en la detección y luego en el día 1 y en 2, 4, 8 y 12 semanas. Las secreciones vaginales, color vaginal, integridad epitelial vaginal y grosor de la superficie epitelial vaginal se evaluaron de acuerdo con los siguientes grados de severidad: ninguna, suave, moderada o severa. Las definiciones de la severidad fueron como sigue:

a) Secreciones vaginales

Sin atrofia: Secreciones claras normales notadas en las paredes vaginales.

Suaves: Recubrimiento superficial de las secreciones, dificultad con la inserción del especulo.

Moderadas: Escasas que no cubren la cavidad vaginal completa, puede necesitar lubricación con inserción de especulo para prevenir el dolor.

Severas: Ninguna, inflamadas, se nota ulceración, lubricaciones necesarias con inserción de especulo para prevenir el dolor.

b) Integridad epitelial vaginal

Sin atrofia: Normal.

Suave: Sangrados en la superficie vaginal con raspado.

Moderada: Sangrados en la superficie vaginal con contacto ligero.

Severa: La superficie vaginal tiene peteguia antes del contacto y sangrados con contacto ligero.

c) Grosor de la superficie epitelial vaginal

Sin atrofia: Formación alterada de bordes y elasticidad de la cavidad.

Suave: Formación alterada de bordes pobre con algo de elasticidad notada de la cavidad vaginal.

Moderada: Lisa, con algo de elasticidad de la cavidad vaginal.

Severa: Lisa, sin elasticidad, encogida de la parte superior 1/3 de la vagina o pérdida de tono vaginal (cistocele y rectocele).

d) Color Vaginal

Sin atrofia: Rosa.

Suave: Más claro en color.

Moderado: Pálido en color.

Severo: Transparente, ya sin color o inflamado.

ESTADISTICA

El resumen de las tabulaciones se preparará que mostrará el número de observaciones, medias o medias geométricas como sean apropiadas, desviación estándar, erro estándar de la media, 95% del intervalo de confidencia (CI, por sus siglas en inglés) de dos lados, mediana, mínima, y máxima para variables continuas, y el número y por ciento por categoría para los datos categóricos. Los análisis estadísticos se realizarán en el nivel de importancia de dos lados de 0.05 a menos que se establezca de otra manera. Las categorías para el resumen en general consistirán de los niveles de dosis de los tratamientos DHEA, 0% (placebo), 0.25%, 0.5% y 1.0% de DHEA.

Los puntos finales primarios para análisis consistirán de lo siguiente:

Mejora estadísticamente importante en el síntoma moderado hasta severo identificado por el sujeto como más molesto para ella. La severidad del síntoma es con base en

los síntomas de la severidad incrementada: ninguna, suave, moderada o severa. Estos intervalos se analizarán usando los valores 0, 1, 2 y 3, respectivamente; todos los sujetos deben tener al menos un síntoma de la línea basal que está graduado como 2 ó 3. Los síntomas de interés son resequedad vaginal, irritación/prurito vaginal y/o vulvar, y dolor vaginal asociado con la actividad sexual.

La disminución estadísticamente importante en células parabasales y un incremento estadísticamente importante en células superficiales. Los datos se miden en porcentaje. El valor de maduración también se calculará.

Disminución estadísticamente importante del pH vaginal.

Poblaciones del Análisis

La Población con Intento para Tratarla (ITT, por sus siglas en inglés) consistirá de los sujetos tratados con una línea basal y al menos una evaluación de eficacia post-línea basal. Los sujetos quienes pueden recibir el tratamiento equivocado se analizarán como aleatorizados. Esta población de análisis es para considerarse la población de análisis primaria. Los sujetos en esta población quienes se pierden de las observaciones post-línea basal tendrán el último valor portado hacia adelante para los análisis de eficacia.

La Población Por Protocolo (PP, por sus siglas en inglés) consiste del subconjunto de la población tratada que completa el estudio a través del punto de tiempo de 12 semanas sin violaciones al protocolo principal consideradas para comprometer los datos de eficacia. Las violaciones del protocolo principal se determinarán antes de que estudio ciego se rompa, con base en la revisión de los datos enlistados y reportes monitoreados de las desviaciones del protocolo. Los sujetos en la población PP deben recibir al menos 90% del número requerido de aplicaciones del tratamiento de estudio en la duración especificada en el protocolo para tal sujeto, con base en los datos diarios del sujeto. Los sujetos en la población PP deben ser obedientes con el programa de ventana de consulta: ± 3 días para el Día 14, y ± 7 días para las Semanas 4, 8 y 12. Los sujetos quienes reciben el tratamiento equivocado, pero para quienes recibieron el tratamiento pueden confirmarse inequívocamente, se analizarán en la población PP como tratados, proporcionados que no tienen otras violaciones que comprometan sus datos. La población PP será una población de apoyo para el análisis de los datos de eficacia.

La población de seguridad se definirá como todos los sujetos quienes reciben una administración de ya sea el artículo de prueba (DHEA en cualquier dosis o Placebo), y

quienes tienen cualquier información de seguridad disponible. Los análisis de los datos de seguridad AU serán con base en esta población. El análisis será con base en el tratamiento actualmente recibido.

Evaluación de eficacia

Los análisis de eficacia se realizarán primariamente en la población ITT, y la población Por Protocolo proporcionará los análisis de eficacia de apoyo. El objetivo del estudio primario es evaluar la respuesta de dosis de los parámetros de la mucosa vaginal para la acción local de DHEA en mujeres postmenopáusicas que padecen de atrofia vaginal, específicamente por la determinación de la dosis mínima de DHEA que produce efecto máximo en la mucosa vaginal. Los puntos finales de eficacia co-primarios para dirigir este objetivo se disminuyen en las células parabasales, disminuyen en el pH vaginal, incrementan en las células superficiales (colectivamente, estos puntos finales se denotarán como parámetros fisiológicos) y se sometieron a auto-reporte del síntoma más molesto incluyendo resequedad vaginal, prurito/irritación vaginal y/o vulvar, y dolor vaginal asociado con la actividad sexual (colectivamente, estos puntos finales se denotarán como parámetros de registro del síntoma). Además para estos puntos finales primarios, el

valor de madurez también se calculará. Los registros del síntoma auto-reportado toman los siguientes valores: ninguno, suave, moderado o severo para analizarse usando valores de 0, 1, 2 ó 3, respectivamente. Todos los puntos finales deben demostrar efectos estadísticamente importantes relacionados con placebo, por ello no se requiere ajuste estadístico para los puntos finales múltiples.

El punto de tiempo primario para el análisis será la evaluación en la semana 12, con presentaciones adicionales de los datos para 2, 4 y 8 semanas. El cambio de la línea basal para la evaluación post-línea basal se usará para análisis así como la diferencia con placebo.

RESULTADOS

Ya que las células parabasales son usualmente la categoría predominante en la citología vaginal de mujeres postmenopáusicas que padecen de al menos un síntoma moderado hasta severo de atrofia vaginal, puede apreciarse en la Fig. 22 y Tabla 6 que ya en 2 semanas de tratamiento, la dos más baja de DHEA (0.25%) disminuye el % de células parabasales por 29.5 ± 0.51% desde 56.0 hasta 26.5% mientras que se observaron disminuciones de 37.8 ± 0.46% y 36.6%, respectivamente, con las dosis DHEA al 0.5% y 1.0% en el mismo intervalo de tiempo.

En la duración estándar de 12 semanas de tratamiento, las disminuciones de 39.5 ± 0.57% ($p<0.000001$), 45.6 ± 0.55% ($p<0.000001$) y 45.2 ± 0.53% ($p<0.000001$) se observaron con las dosis DHEA al 0.25%, 0.5% y 1.0%, respectivamente, mientras que no se observó efecto importantes en el grupo placebo en ningún intervalo de tiempo.

Mientras que no se observó efecto importante en 12 semanas en el grupo placebo en el % de cambio en las células superficiales (Tabla 6), los incrementos de 3.96 + 0.10% ($p=0.0002$), 6.71 + 0.14% ($p=0.00001$) y 5.92 ± 0.12% ($p=0.00001$) se midieron en los grupos DHEA al 0.25%, 0.5% y 1.0%, respectivamente. También puede apreciarse que en la dosis de DHEA al 0.5%, 48.0% del efecto máximo se alcanzó en 2 semanas mientras que en 4 y 8 semanas, 84.8% y 99.0% del efecto máximo se alcanzaron. En la dosis DHEA al 1.0%, el efecto máximo ya se alcanzó en 2 semanas. La Fig. 23 ilustra los valores absolutos del % de las células superficiales en las dosis DHEA diferentes e intervalos de tiempo.

Se disminuyó el pH vaginal en 12 semanas por 0.47 ± 0.11 desde 6.52 + 0.13 unidades en el grupo placebo (Tabla 6, Fig. 24) mientras que las disminuciones de 1.12 ± 0.11 ($p=0.0005$) desde 6.49 ± 0.12 unidades, 1.35 ± 0.3 desde 6.56 ± 0.13 pH unidades, 1.35 ± 0.13 desde 6.56 ± 0.13 unidades de pH y de 1.39 + 0.14 desde 6.34 ± 0.3 unidades de pH se observaron en

los grupos tratados con DHEA 0.25%, 0.50% y 1.0%, respectivamente (Tabla 7). Puede apreciarse en la misma tabla que en la dosis de DHEA al 0.5%, 70.6% y 94.1% del efecto máximo en pH (reducción de 1.36 unidades de pH) se alcanzó en 2 y 4 semanas de tratamiento, respectivamente. La dosis DHEA al 0.25% baja, por otra parte, alcanza solamente 83.0% del efecto máximo de 0.5% de DHEA en 12 semanas. No se observó diferencia importante en el cambio de pH entre las dosis de DHEA al 0.50% y 1.0% en 4, 8 y 12 semanas (Tabla 7). La Fig. 24 ilustra los valores del pH absolutos en las dosis DHEA diferentes e intervalos de tiempo.

Todas las mujeres necesitan tener de entrada uno o más de los siguientes síntomas de atrofia vaginal evaluados por ellas mismas como moderados hasta severos: resequedad, irritación/prurito vaginal o vulvar o dolor vaginal en la actividad sexual. Los síntomas auto-identificados reportados como ninguno, suave, moderado o severo se analizaron usando valores de 0, 1, 2 y 3, respectivamente. Como se ilustra en la Tabla 8, en el intervalo de la semana 12, la severidad de el síntoma más molesto se redujo por 0.67 ± 0.15 en el grupo de placebo, 1.27 ± 0.16 en el grupo DHEA al 0.25% ($p=0.004$ contra placebo), 1.56 ± 0.15 en el grupo que recibe DHEA al 0.5% ($p<0.0001$ contra placebo) y 1.37 ± 0.14 en el grupo que recibe la dosis DHEA 1.0 más alta ($p=0.0008$ contra placebo).

La Fig. 25 ilustra el grado de mejora del síntoma más molesto en las dosis DHEA diferentes e intervalos de tiempo. La resequedad vaginal, dolor asociado con actividad sexual e irritación/prurito vaginal y/o vulvar se identificaron en la línea basal como el síntoma más molesto. En el grupo de placebo, la resequedad vaginal representada por el % de las mejoras anotadas por las participantes.

Como se ilustra en la Fig. 25, la mejora del síntoma más molesto ya fue diferentes de manera significativa altamente (p=0.004) en la dosis DHEA al 0.25%. El porcentaje de mujeres sin cambio o un empeoramiento de un registro de 1 en 12 semanas fue desde 53.5% en el grupo placebo hasta 27.5%, 17.8% y 19.6% en los grupos 0.25%, 0.5% y 1.0%, respectivamente (Tabla 9). Las mejoras por 2 ó 3 categorías de severidad se observaron en 21.8% de mujeres tratadas con placebo mientras que el 50.0%, 53.3% y 47.9% de mujeres quienes reciben las formulaciones DHEA al 0.25%, 0.5% y 1.0% reportan tal mejora importante. Solamente 4.6% de mujeres indican una disminución de severa hasta ninguna en el grupo placebo comparadas con 7.5%, 20% y 10.9% en los mismos grupos tratados con DHEA.

En los mismos intervalos de tiempo de 2, 4, 8 y 12 semanas, el ginecólogo o medico a cargo del ensayo clínico en cada sitio de estudio realiza un examen vaginal para evaluar

el grado de severidad (ninguno, suave, moderado o severo analizado usando valores de 0, 1, 2, y 3, respectivamente) para los signos medios de atrofia vaginal, particularmente secreciones vaginales, color vaginal, integridad epitelial vaginal y grosor de la superficie epitelial vaginal. Como se puede apreciar en las Figs 26 hasta 29, se observó una mejora dependiente del tiempo y relacionada con la dosis así como altamente importantes estadísticamente de todos los cuatro signos de atrofia vaginal. De hecho, los efectos benéficos observados por el ginecólogo o medico son casi superpuestos para aquellos auto-reportados por mujeres en sus síntomas más molestos así como para los efectos en parabasal vaginal y células superficiales y pH los cuales son parámetros objetivos de la acción DHEA.

Las Figs 30 y 31 ilustran los niveles de esteroide de suero promedio 24h (calculados de los valores AUC_{0-24h} medidos en los días 1 y 7 de tratamiento) de DHEA y once de sus metabolitos se toman de un estudio reciente (Labrie, Cusan et al. 2008). Puede apreciarse que solamente DHEA en el suero y 5-diol (y 4-diona en el día 1) se incrementan significativamente pero también dentro de los límites de los valores encontrados en mujeres postmenopáusicas (Labrie, Belanger et al. 2006). Los estrógenos en el suero (E_1, E_2 y

E_1S) así como andrógenos en el suero (testo y DHT) no se afectan significativamente.

Tabla 6

Cambio del día 1 en % parabasal y células superficiales durante el tratamiento local con incremento de dosis de DHEA*

	2 semanas	4 semanas	8 semanas	12 semanas
Células parabasales				
0.0% DHEA	+ 2.6 ± 0.32	+ 0.02 ± 0.32	- 1.17 ± 0.27	+ 1.04 ± 0.35
0.25% "	- 29.5 ± 0.51	- 35.4 ± 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
Células superficiales				
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

* media ± SEM

Tabla 7

Cambio del día 1 en pH vaginal durante el tratamiento local con incremento de dosis de DHEA*

Dosis DHEA	2 semanas	4 semanas	8 semanas	12 semanas
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	-0.92 ± 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

* media + SEM

Tabla 8

Cambio del día 1 en los síntomas más molestos de atrofia vaginal durante el tratamiento local con incremento de dosis de DHEA*

Dosis DHEA	2 semanas	4 semanas	8 semanas	12 semanas
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

* media ± SEM

Tabla 9

Cambio del día 1 en los síntomas más molestos en 12 semanas de tratamiento con 0% (placebo), 0.25%, 0.50% y 1.0% de DHEA. Cambio de una categoría (Severa → moderada → suave → ninguna) se tomó como -1 aunque un cambio de 2 categorías fue -2, etc...

Cambio de categoría	- 3	- 2	- 1	0	+ 1
Dosis	% de mujeres				
0.0% DHEA	4.65	16.3	25.6	48.0	4.65
0.25% "	7.50	42.5	22.5	25.0	2.50
0.50% "	20.0	33.3	26.9	17.8	0.0
1.0% "	10.9	37.0	32.6	17.4	2.17

EJEMPLOS DE COMPOSICION FARMACEUTICA

Se establecen a continuación, a manera de ejemplo y no de limitación, que existen diversas composiciones

farmacéuticas preferidas que utilizan DHEA precursor de esteroide para activar el sexo. La concentración del ingrediente activo puede variarse sobre un intervalo amplio como se discute en la presente. Las cantidades y tipos de otros ingredientes que pueden incluirse son bien conocidos en la técnica.

Ejemplo A

Comprimidos vaginal u oral

Ingrediente	**% en peso (en peso de la composición total)**
DHEA	5.0
Gelatina	6.5
Lactosa	70.5
Almidón	18.0

Ejemplo B

1.3 ml de supositorio vaginal

Ingrediente	**% en peso (en peso de la composición total)**
DHEA	0.50
Base Whitepsol H-15	99.50

Los supositorios de DHEA se prepararon usando base Whitepsol H-15 (disponible de Medisca, Montreal, Canadá). Cualquier otra base lipofílica tal como pero no limitada a manteca, manteca de cacao, Cotomar, Base Dehydag, Fattibase, Base Hexaride Base 95, Hidrokote, Suppocire, Wecobee, aceite

de teobroma, Japocire, Ovucire, Massa Estarinum u otras combinaciones de los anteriores pueden usarse.

Ejemplo C

Crema vaginal o tópica

Ingrediente	**% en peso (en peso de la composición total)**
DHEA	1.0
Cera emulsificante, NF	18.0
Aceite mineral ligero, NF	12.0
Alcohol bencílico	1.0
Etanol al 95% USP	34.0
Agua purificada, USP	34.0

Cápsula de gelatina vaginal u oral

Otros precursores de esteroides sexuales pueden sustituirse para DHEA en las formulaciones anteriores. Más de un precursor puede incluirse en cuyo caso el porcentaje en peso combinado es preferiblemente que del porcentaje en peso para el precursor sencillo dado en los ejemplos anteriores.

La invención se ha descrito en términos de modalidades y ejemplos preferidos, pero no se limita por ello. Aquellos de experiencia en la técnica reconocerán fácilmente la aplicabilidad más amplia y alcance de la invención la cual se limita solamente por las reivindicaciones de la patente en la presente.

NOVEDAD DE LA INVENCIÓN

Habiendo descrito la presente invención, se considera como novedad, y por lo tanto se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes:

REIVINDICACIONES

1. Un método para tratar y/o reducir la probabilidad de adquirir síntomas o enfermedades debido a la menopausia, en mujeres postmenopáusicas, caracterizado porque el método comprende administrar un precursor de esteroide sexual seleccionado del grupo que consiste de deshidroepiandrosterona, deshidroepiandrosterona-sulfato, androst-5-eno-3β,17β-diol, y 4-androsten-3,17-diona a una paciente que necesita del tratamiento en donde el precursor de esteroide sexual se administra en una cantidad terapéutica que incrementa el nivel de metabolitos de andrógeno circulante sin incrementar el nivel circulante de estradiol por encima de los valores encontrados en mujeres postmenopáusicas normales con objeto de evitar el riesgo de cáncer de mama y uterino.

2. El método de conformidad con la reivindicación 1 caracterizado porque el precursor de esteroide sexual se administra en la piel.

3. El método de conformidad con la reivindicación 1 caracterizado porque el precursor de esteroide sexual se administra intravaginalmente.

4. El método de conformidad con la reivindicación 1 caracterizado porque el precursor de esteroide sexual se administra oralmente.

5. El método de conformidad con la reivindicación 2 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 200 mg por día o menos.

6. El método de conformidad con la reivindicación 2 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 100 mg por día o menos.

7. El método de conformidad con la reivindicación 2 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 30 mg por día o menos.

8. El método de conformidad con la reivindicación 2 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 15 mg por día o menos.

9. El método de conformidad con la reivindicación 3 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 50 mg por día o menos.

10. El método de conformidad con la reivindicación 3 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 25 mg por día o menos.

11. El método de conformidad con la reivindicación 3 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 13 mg por día o menos.

12. El método de conformidad con la reivindicación 3 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 6.5 mg por día o menos.

13. El método de conformidad con la reivindicación 4 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 200 mg por día o menos.

14. El método de conformidad con la reivindicación 4 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 100 mg por día o menos.

15. El método de conformidad con la reivindicación 4 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 50 mg por día o menos.

16. El método de conformidad con las reivindicaciones 1, 2, 3, y 4 caracterizado porque el nivel de 24h promedio de estradiol circulante es por debajo de 10 pg/mL.

17. El método de conformidad con la reivindicación 2 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual se administra por medio de una formulación tópica seleccionada del grupo que consiste de crema, loción, gel, ungüento, parche de liberación sostenida, y los

similares, y en donde la formulación contiene 10% del precursor de esteroide sexual o menos.

18. El método de conformidad con la reivindicación 2 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual se administra por medio de una formulación tópica seleccionada del grupo que consiste de crema, loción, gel, ungüento, parche de liberación sostenida, y los similares, y en donde la formulación contiene 2.0% del precursor de esteroide sexual o menos.

19. El método de conformidad con la reivindicación 3 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual se administra por medio de una formulación intravaginal seleccionada del grupo que consiste de crema, loción, gel, ungüento, ovulo, supositorio, anillo, y los similares, y en donde la formulación contiene 10% del precursor de esteroide sexual o menos.

20. El método de conformidad con la reivindicación 3 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual se administra por medio de una formulación intravaginal seleccionada del grupo que consiste de crema, loción, gel, ungüento, ovulo, supositorio, anillo, y los similares, y en donde la formulación contiene 2.0% del precursor de esteroide sexual o menos.

21. El método de conformidad con la reivindicación 4 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual se administra por medio de una formulación oral seleccionada del grupo que consiste de cápsulas, más cápsulas, píldoras, comprimidos, jarabes.

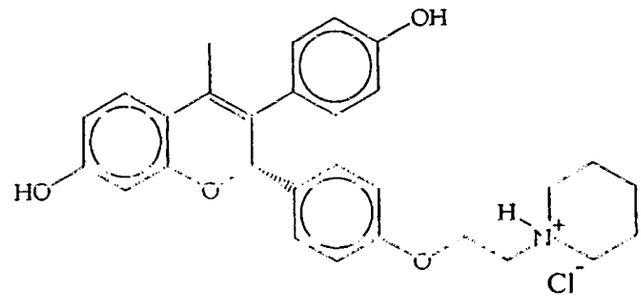
22. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende además administrar como parte de una terapia de combinación, una cantidad terapéuticamente efectiva de un Modulador de Receptor de Estrógeno Selectivo.

23. Un método para tratar y/o reducir la probabilidad de adquirir síntomas o enfermedades debido a la menopausia, en mujeres postmenopáusicas, caracterizado porque el método comprende administrar un precursor de esteroide sexual seleccionado del grupo que consiste de deshidroepiandrosterona, deshidroepiandrosterona-sulfato, androst-5-eno-3β,17β-diol, y 4-androsten-3,17-diona a una paciente que necesita del tratamiento en donde el precursor de esteroide sexual se administra en una cantidad terapéutica que incrementa el nivel de metabolitos de andrógeno circulante y comprende además administrar como parte de una terapia de combinación, una cantidad terapéuticamente efectiva de un Modulador de Receptor de Estrógeno Selectivo con objeto de disminuir el riesgo de cáncer de mama y uterino normalmente presente en mujeres postmenopáusicas y para

prevenir pérdida ósea, acumulación de grasa y diabetes tipo 2.

24. El método de conformidad con las reivindicaciones 21 y 22 caracterizado porque el Modulador de Receptor de Estrógeno Selectivo tiene la siguiente estructura química.

Acolbifeno (EM-652.HCl; EM-1538)



25. El método de conformidad con las reivindicaciones 1 y 23 caracterizado porque los síntomas o enfermedades debido a la menopausia se seleccionan del grupo de enfermedades que consisten de Osteoporosis, atrofia vaginal, resequedad vulvo-vaginal, hipogonadismo, líbido disminuida, atrofia de la piel, enfermedad del tejido conectivo, incontinencia urinaria, cánceres de mama, del endometrio, ovarios y uterino, sofocos, pérdida de masa muscular, resistencia a la insulina, fatiga, pérdida de energía, envejecimiento, y síntomas físicos y signos de la menopausia.

26. Un método para tratar y/o reducir la probabilidad de adquirir enfermedades vaginales o problemas en mujeres postmenopáusicas, caracterizado porque el método comprende administrar un precursor de esteroide sexual seleccionado del

151

grupo que consiste de deshidroepiandrosterona, deshidroepiandrosterona-sulfato, androst-5-eno-3β,17β-diol, y 4-androsten-3,17-diona a una paciente que necesita del tratamiento en donde el precursor de esteroide sexual se administra en una cantidad terapéutica que incrementa el nivel de metabolitos de andrógeno circulante sin incrementar el nivel de estradiol por encima de los valores encontrados en mujeres postmenopáusicas normales.

27. El método de conformidad con la reivindicación 26 caracterizado porque el precursor de esteroide sexual se administra intra-vaginalmente.

28. El método de conformidad con la reivindicación 27 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 25 mg por día o menos.

29. El método de conformidad con la reivindicación 27 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 13 mg por día o menos.

30. El método de conformidad con la reivindicación 27 caracterizado porque la cantidad terapéutica del precursor de esteroide sexual es 6.5 mg por día o menos.

31. El método de conformidad con la reivindicación 26 caracterizado porque las enfermedades vaginales se seleccionan del grupo de enfermedades que consisten de resequedad vaginal, resequedad vulvo-vaginal, prurito

152

vaginal, atrofia vaginal, vaginitis atrófica, dispareunia, sangrado vaginal en la actividad sexual, disfunción sexual, pérdida de líbido, pérdida de compactación de fibras de colágeno de la pared vaginal, y grosor muscular bajo de la pared vaginal.

32. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende un precursor de esteroide sexual seleccionado del grupo que consiste de deshidroepiandrosterona, deshidroepiandrosterona-sulfato, androst-5-eno-3β, 17β-diol, y 4-androsteno-3,17-diona y comprende además un excipiente, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable seleccionado del grupo que consiste de tri, di, o monoglicéridos semi-sintéticos o naturales puros o mezclados de ácidos grasos saturados, no saturados o hidrogenados; mantequilla; palma, núcleo de palma, semilla de algodón parcialmente hidrogenada, y aceites de coco y sus derivados triglicéridos; ésteres y alcoholes grasos hidrogenados; estearato de polioxilo; aceites vegetales hidrogenados reconfigurados; mezcla eutéctica de mono-, di-, triglicéridos derivada de aceites vegetales naturales; ésteres de triglicérido; Tween 61; aceite de teobroma; y una combinación de lo anterior.

33. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 31 caracterizada porque la composición farmacéutica es un supositorio o un óvulo y en donde el

excipiente, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable es Witepsol H-15.

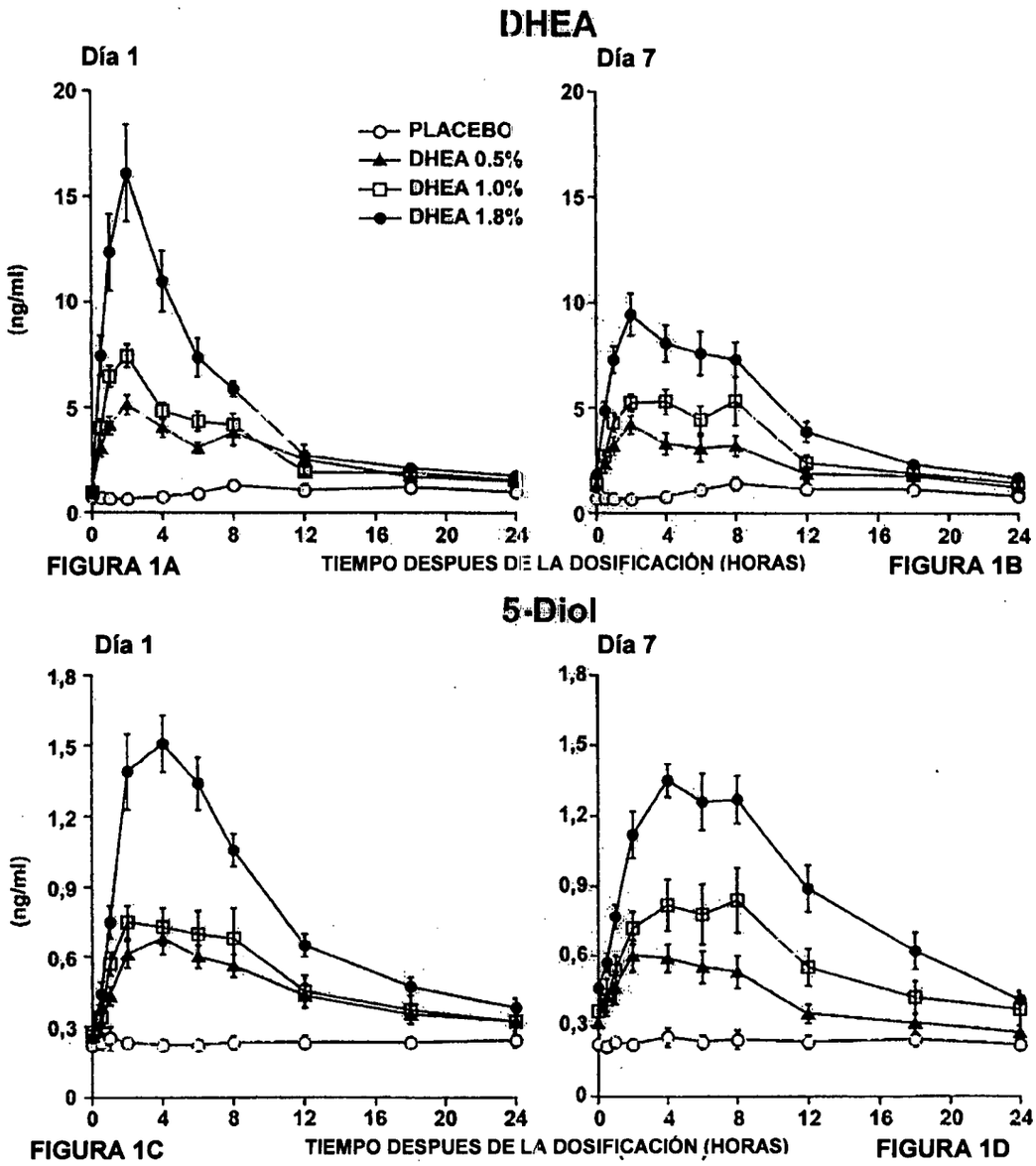
34. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 33 caracterizada porque el precursor es DHEA.

35. Un método para tratar condiciones vaginales de la lámina propia de capa o capa muscular caracterizado porque comprende la administración vaginal de DHEA en una dosis diaria de 3-13 mg.

36. Un supositorio vaginal caracterizado porque comprende 0.25-2.00 por ciento, en peso en relación con el peso total del supositorio, de DHEA, y comprende además un excipiente lipofílico.

37. Un supositorio vaginal caracterizado porque comprende alrededor de 0.5 por ciento DHEA (en peso en relación con el peso total del supositorio) y comprende además ésteres de ácido graso saturado.

38. Un supositorio vaginal caracterizado porque comprende 0.5 por ciento de DHEA (en peso en relación con el peso total del supositorio, y witepsol H-15).


DHEA
Día 1
Día 7
PLACEBO
DHEA 0.5%
DHEA 1.0%
DHEA 1.8%
(ng/ml)
20
15
10
5
0
0
4
8
12
16
20
24
FIGURA 1A
TIEMPO DESPUES DE LA DOSIFICACIÓN (HORAS)
FIGURA 1B
5-Diol
Día 1
Día 7
(ng/ml)
1,8
1,5
1,2
0,9
0,6
0,3
0
FIGURA 1C
TIEMPO DESPUES DE LA DOSIFICACIÓN (HORAS)
FIGURA 1D

155

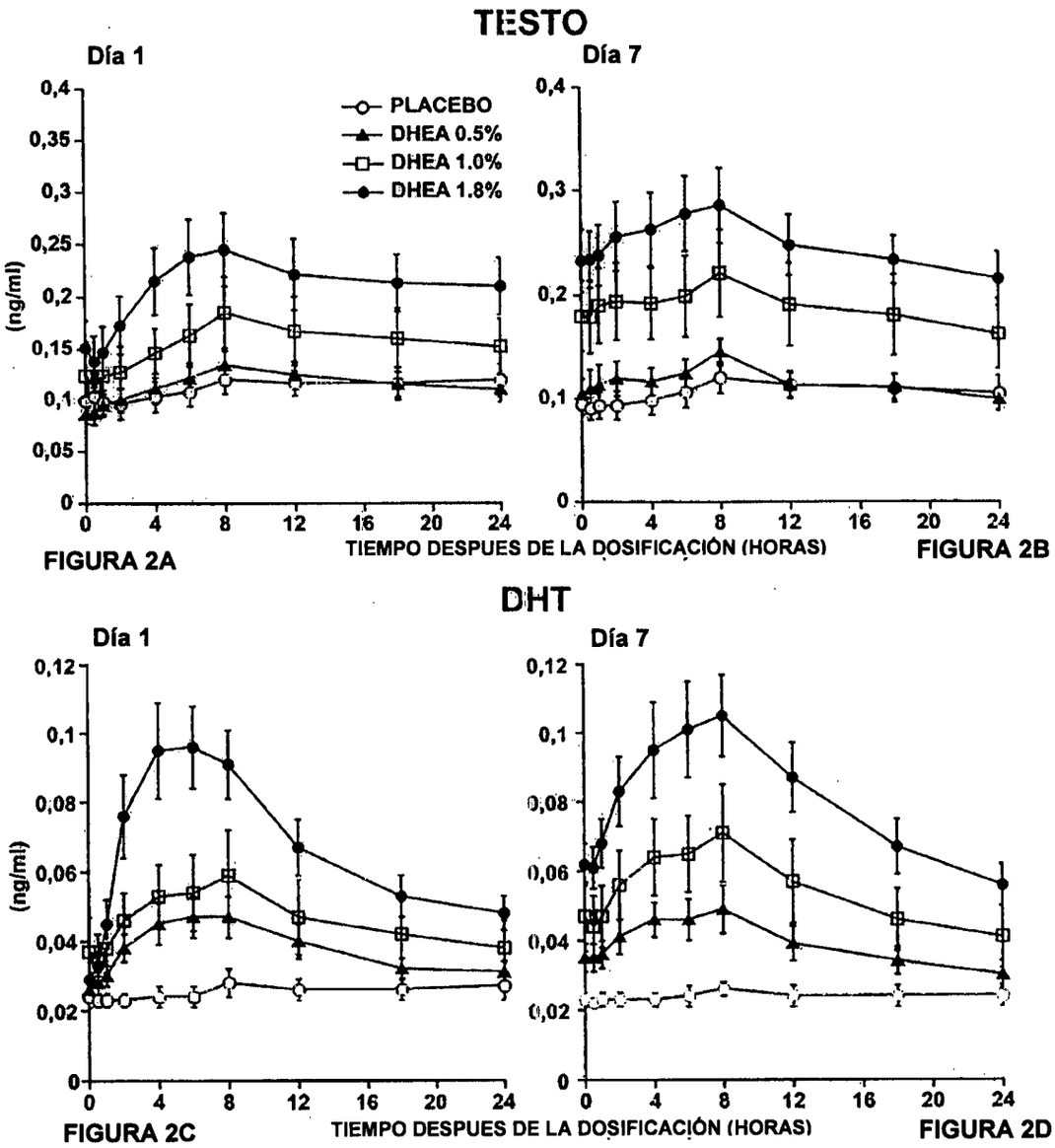


FIGURA 2A

FIGURA 2B

FIGURA 2C

FIGURA 2D

156

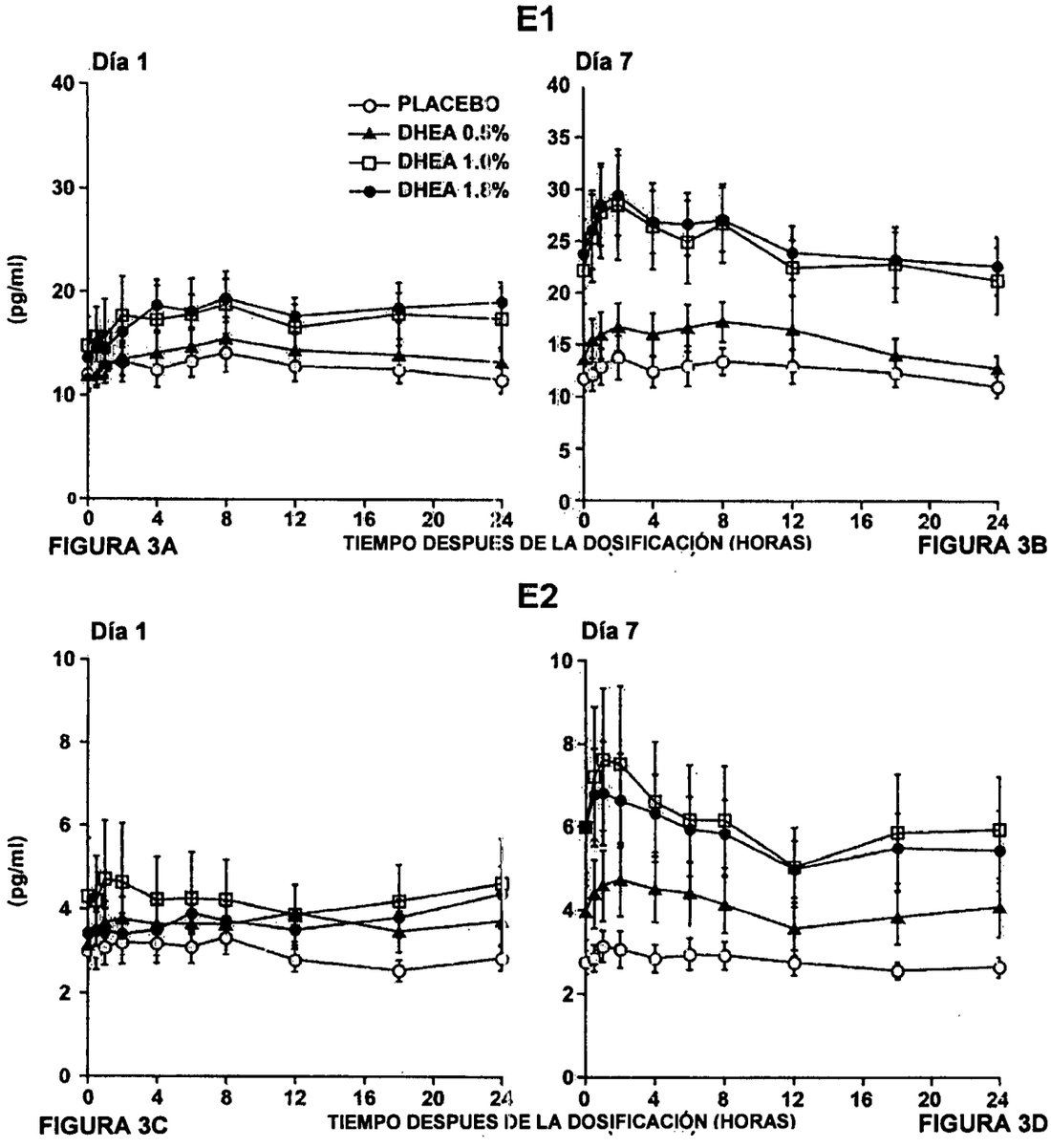


FIGURA 3A FIGURA 3B

FIGURA 3C FIGURA 3D

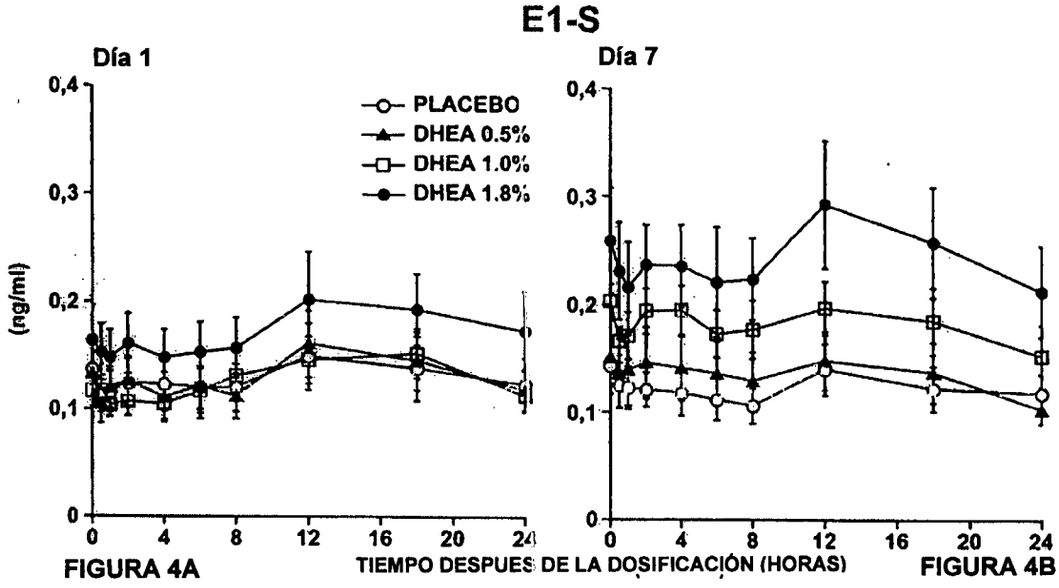


FIGURA 4A

FIGURA 4B

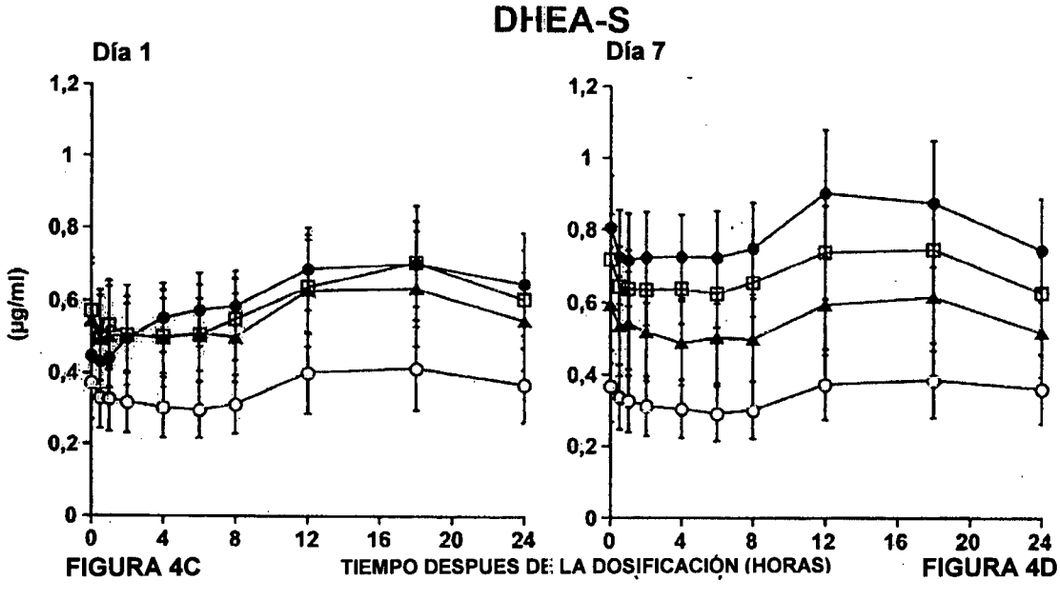


FIGURA 4C

FIGURA 4D

158

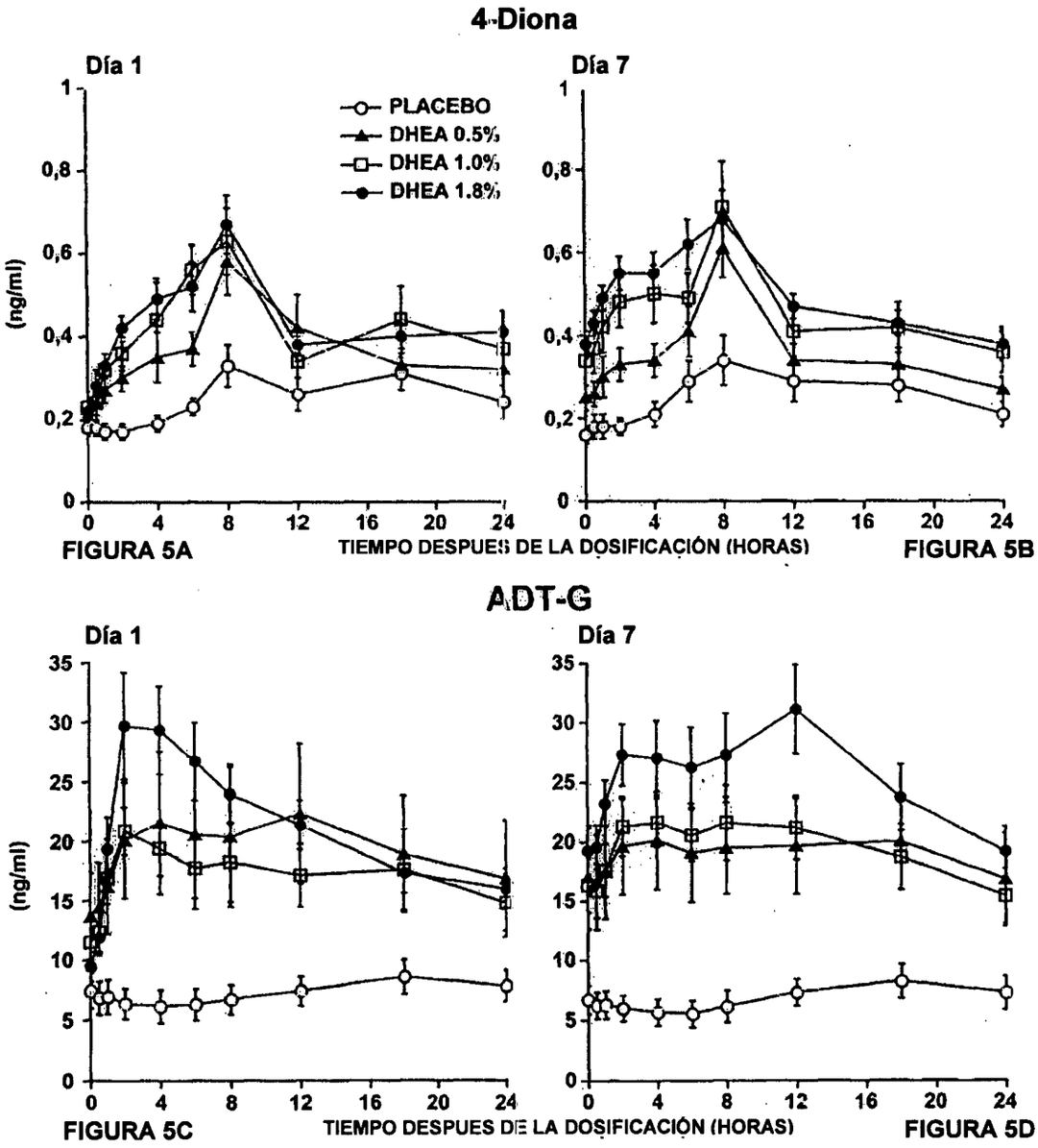


FIGURA 5A FIGURA 5B

FIGURA 5C FIGURA 5D

159

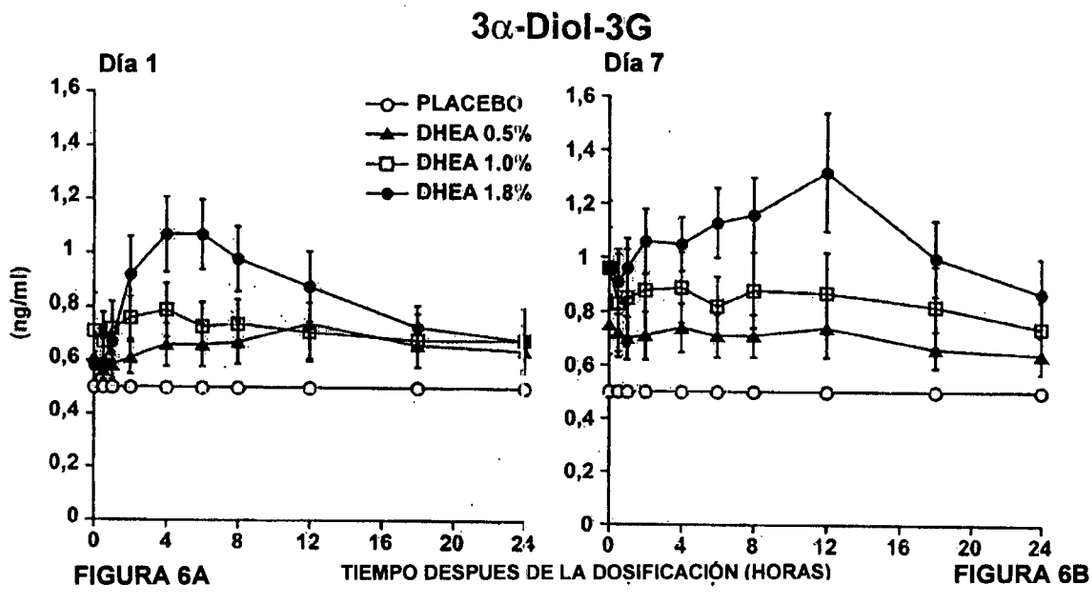


FIGURA 6A

FIGURA 6B

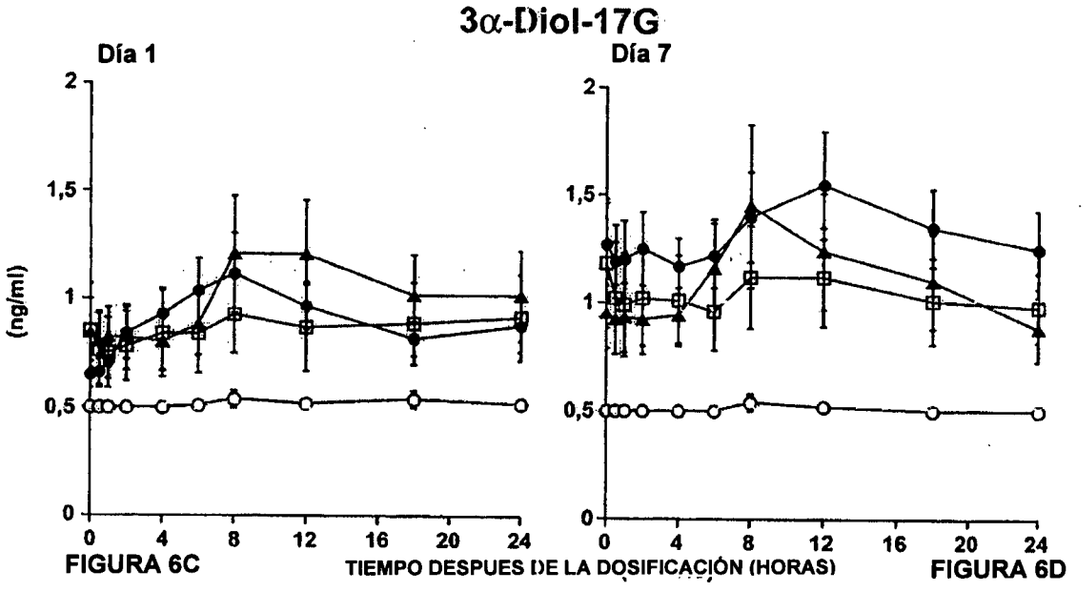


FIGURA 6C

FIGURA 6D

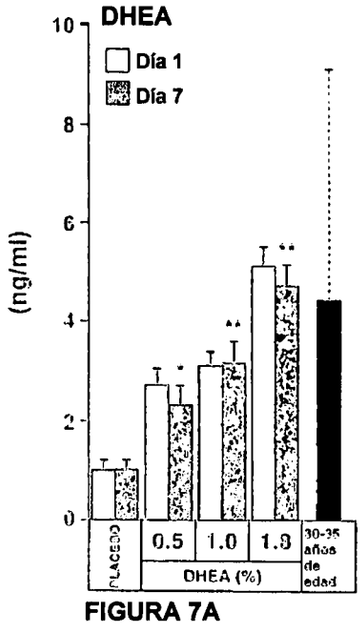


FIGURA 7A

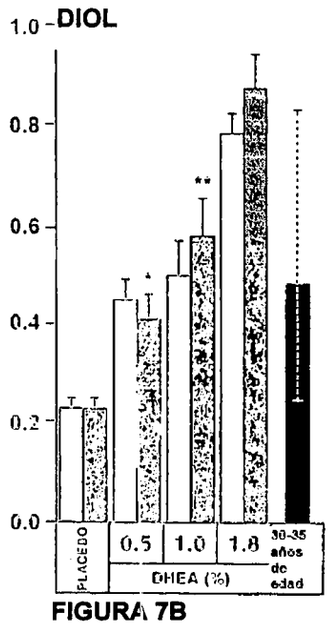


FIGURA 7B

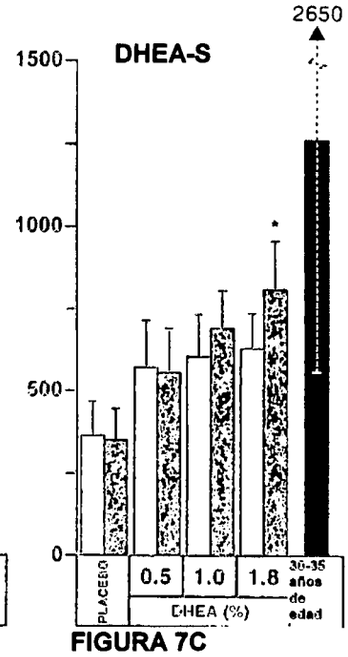


FIGURA 7C

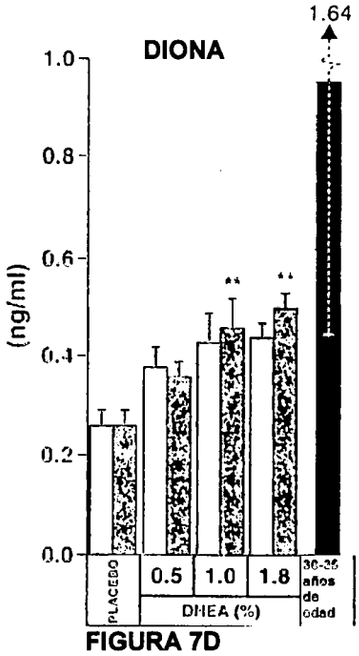


FIGURA 7D

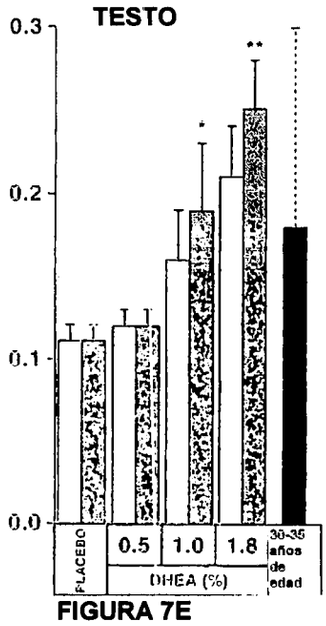


FIGURA 7E

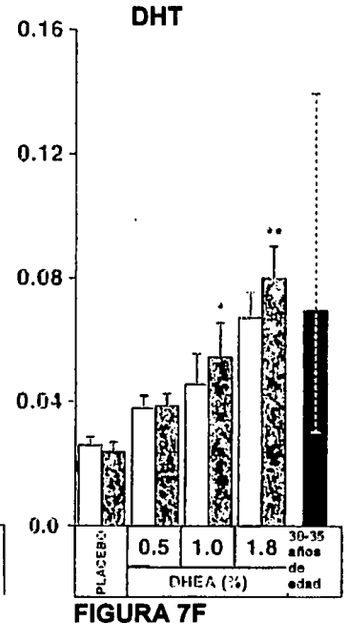


FIGURA 7F

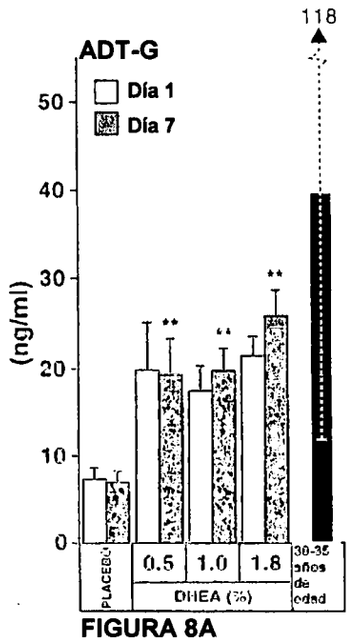


FIGURA 8A

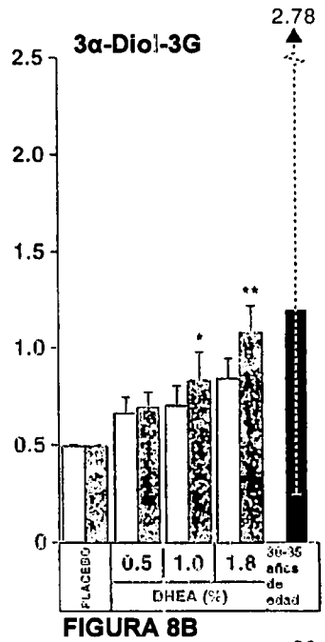


FIGURA 8B

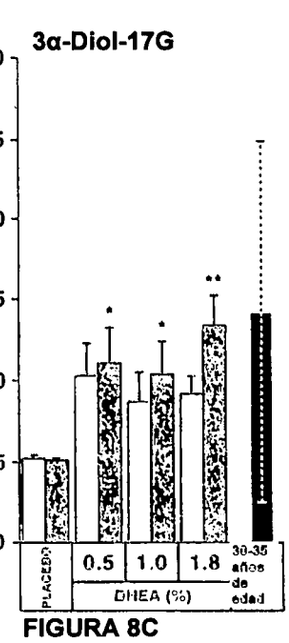


FIGURA 8C

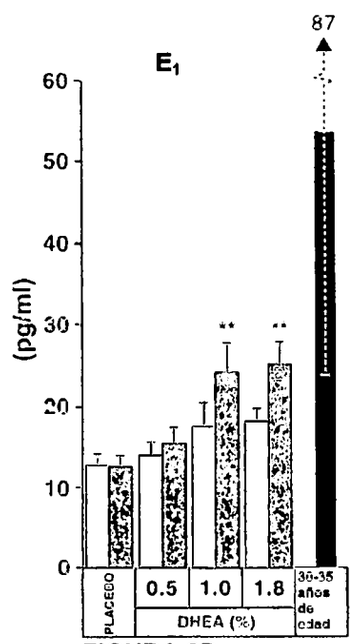


FIGURA 8D

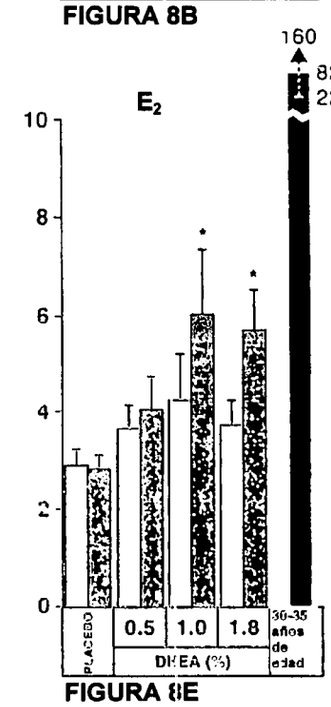


FIGURA 8E

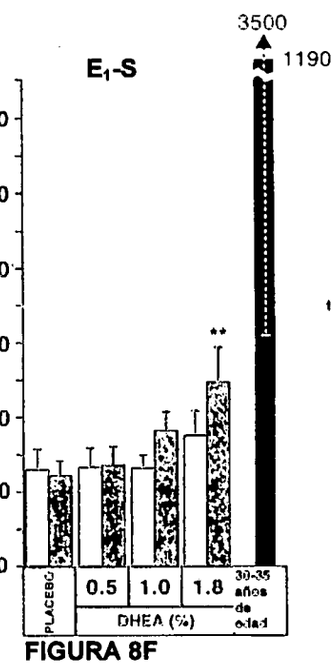
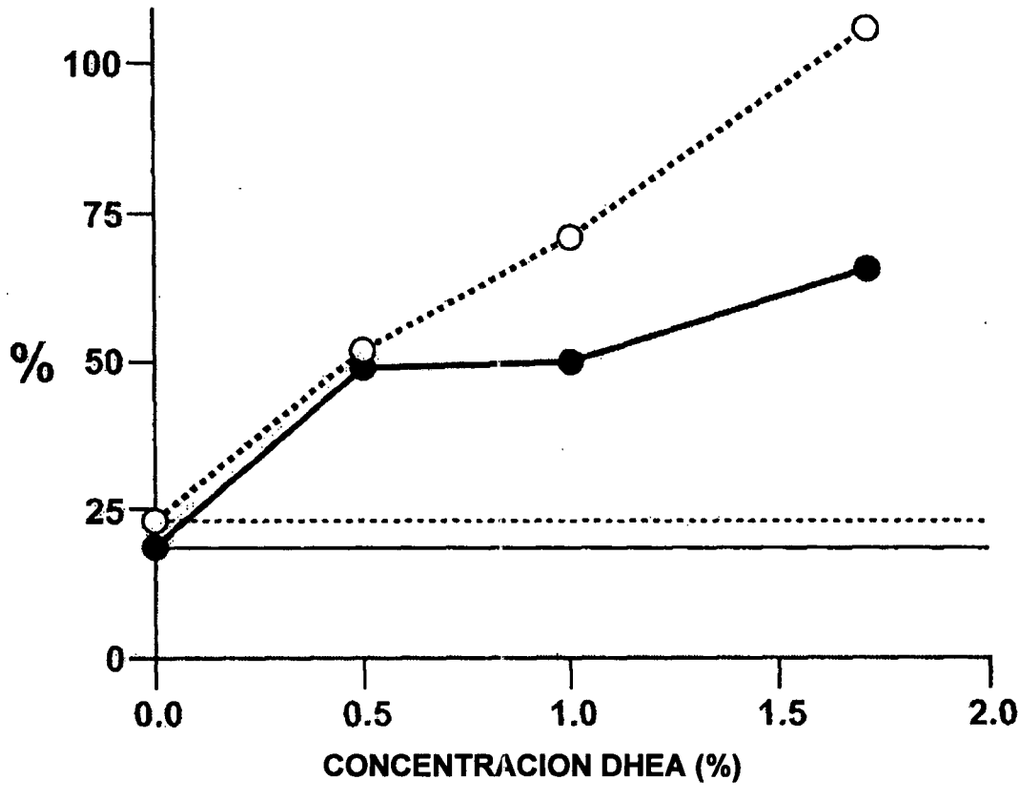


FIGURA 8F

FIGURA 9



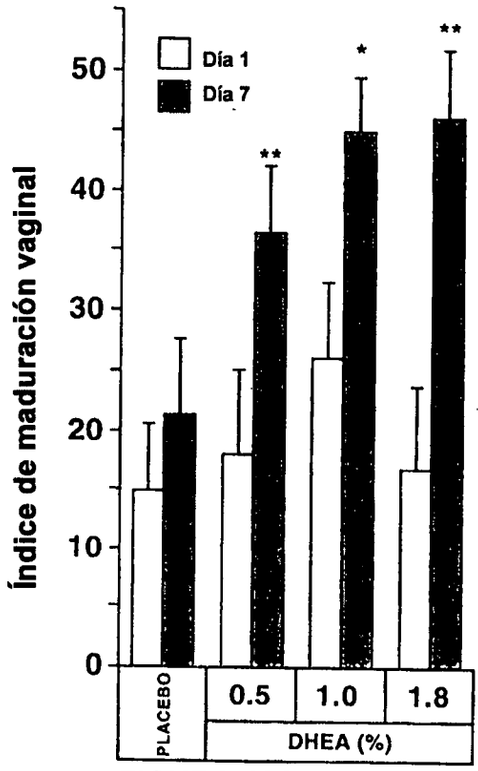


FIGURA 10A

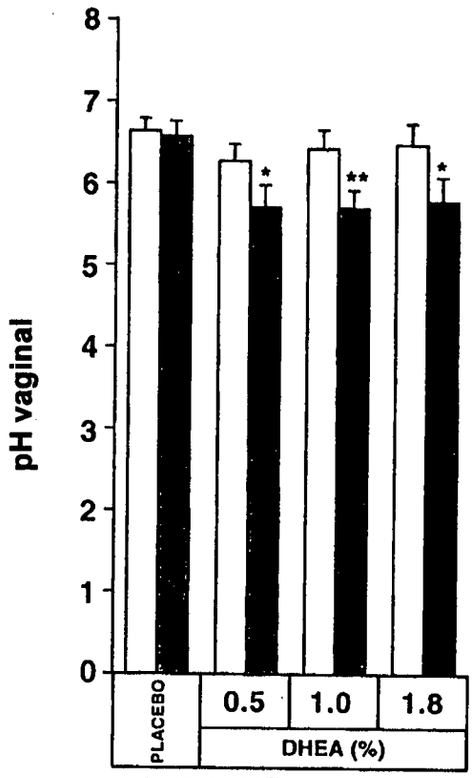


FIGURA 10B

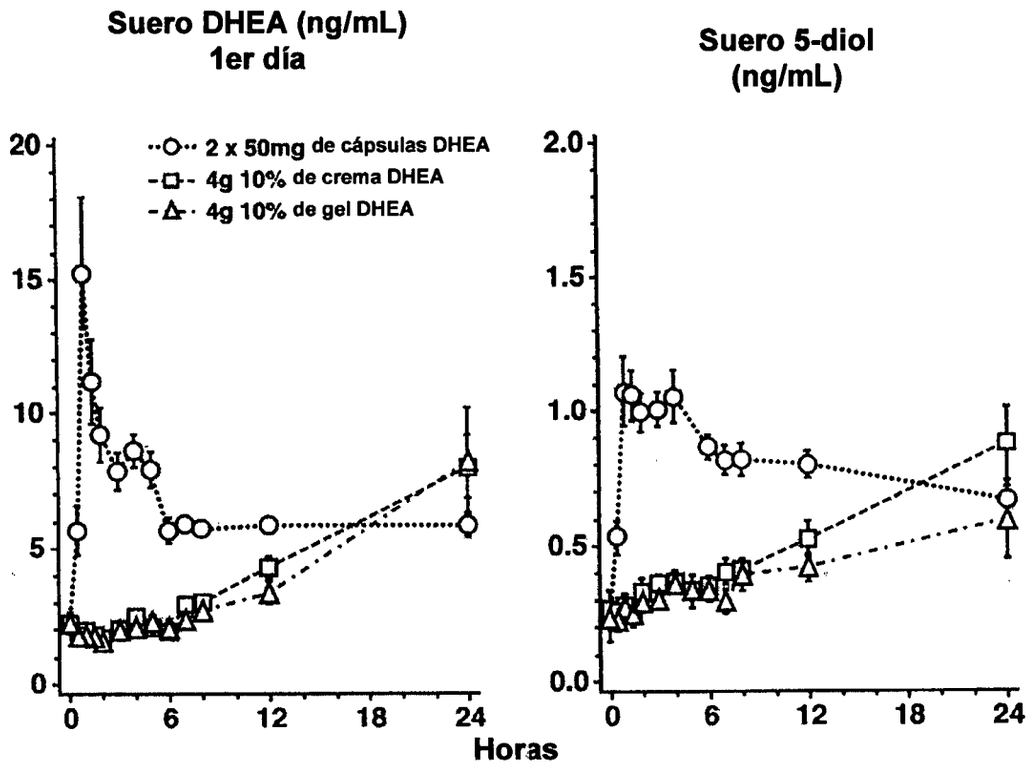


FIGURA 11A

FIGURA 11B

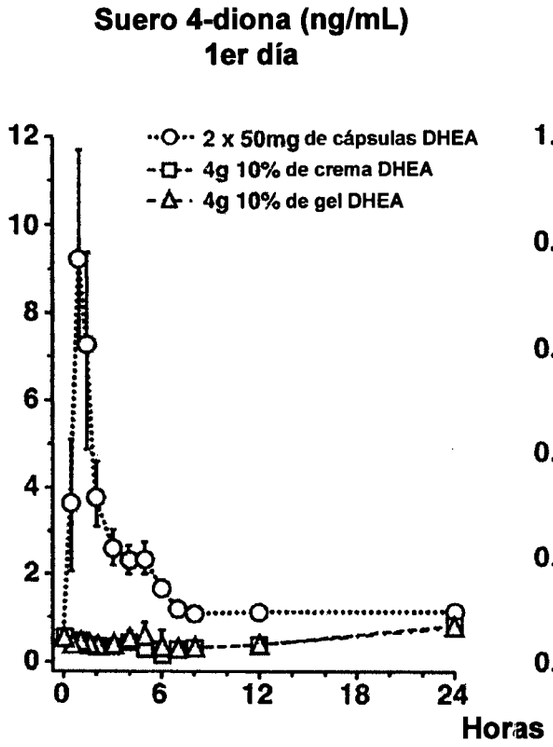


FIGURA 12A

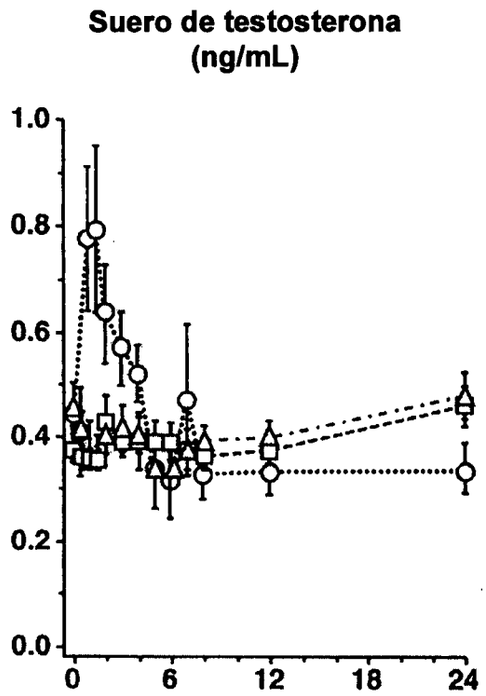


FIGURA 12B

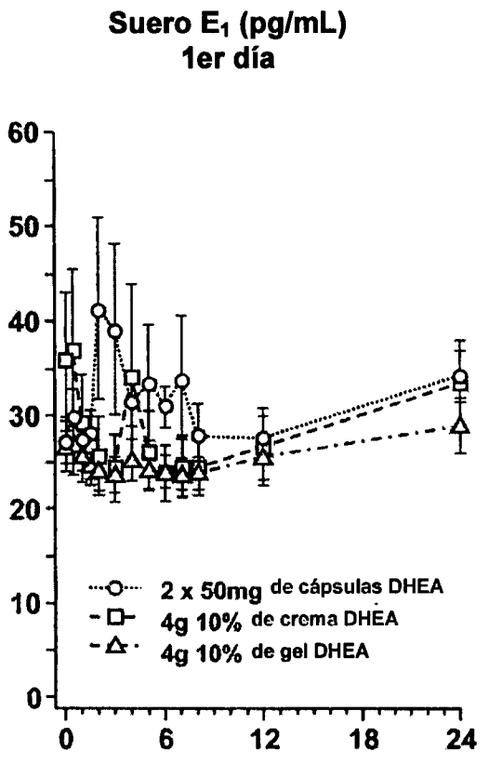


FIGURA 13A

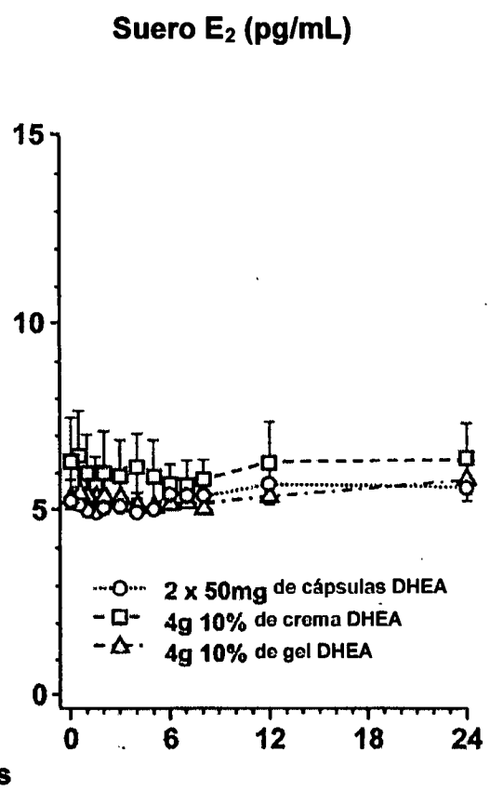


FIGURA 13B

167

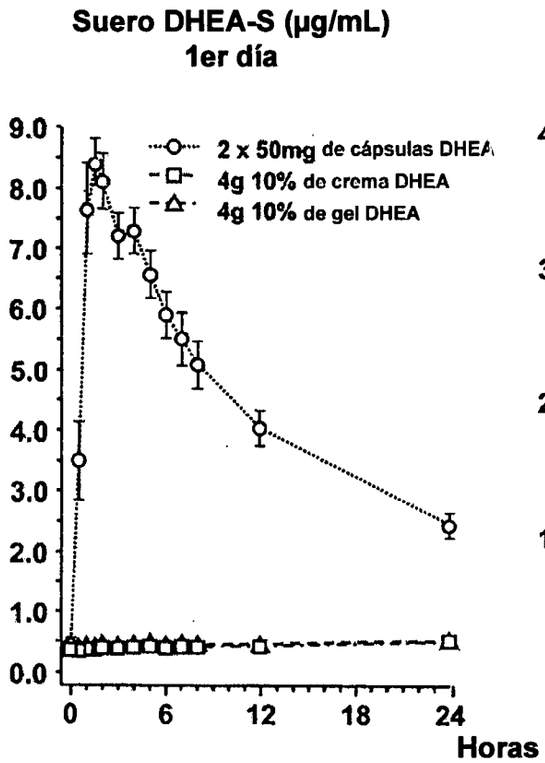


FIGURA 14A

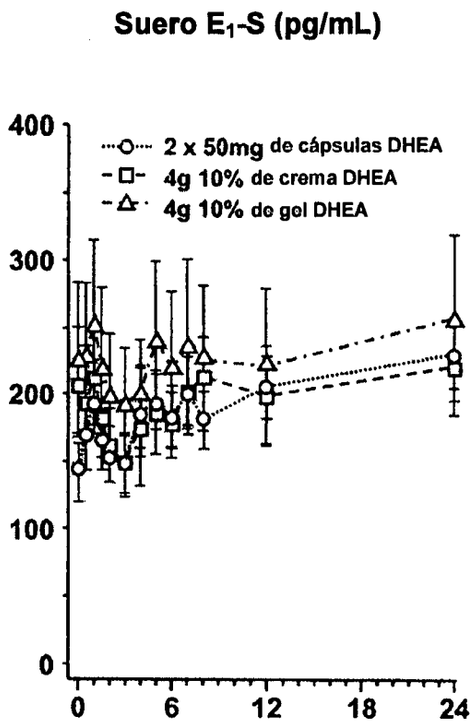


FIGURA 14B

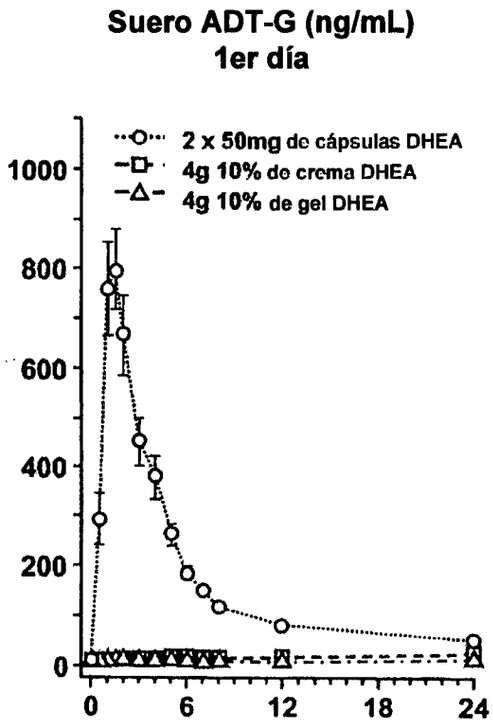
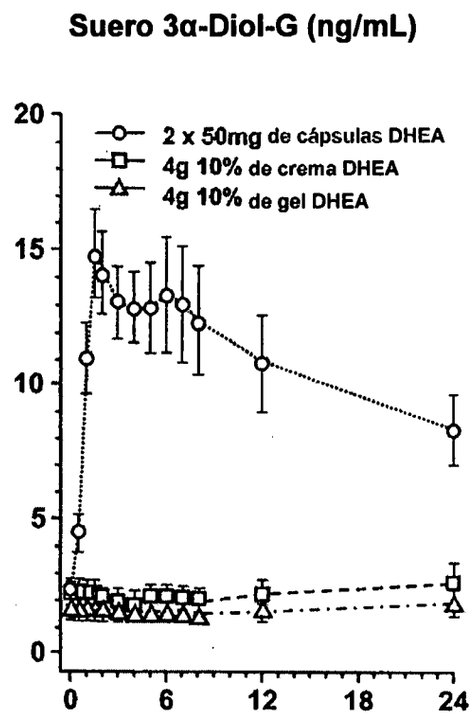


FIGURA 15A



Horas

FIGURA 15B

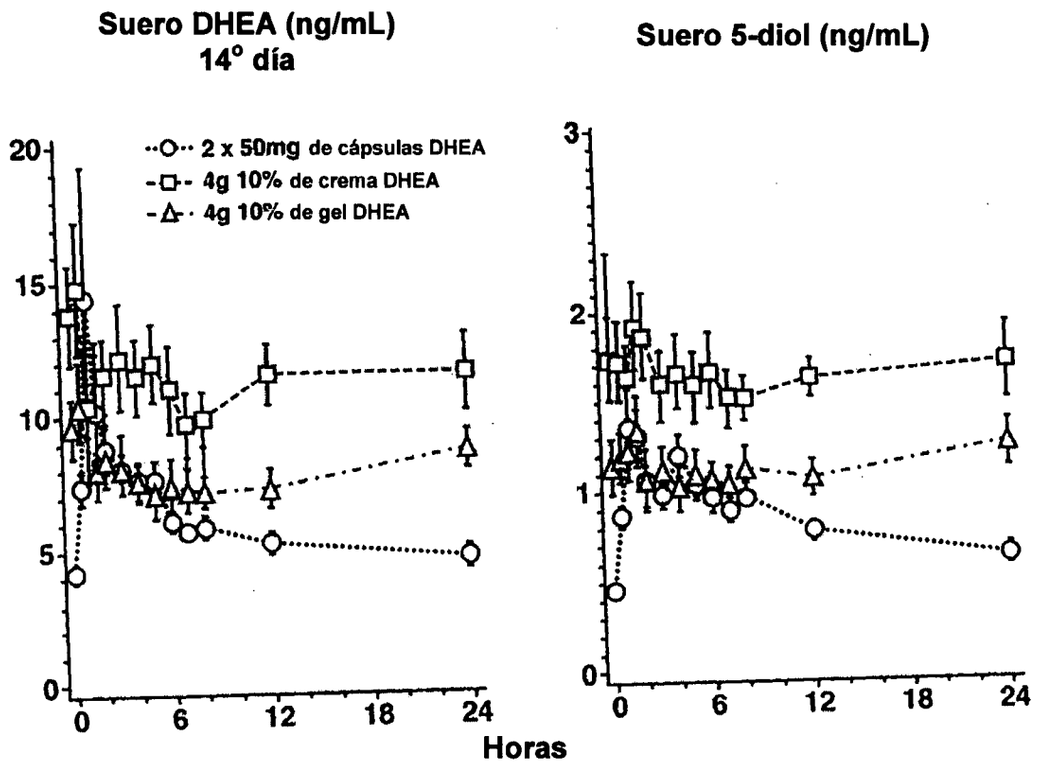


FIGURA 16A

FIGURA 16B

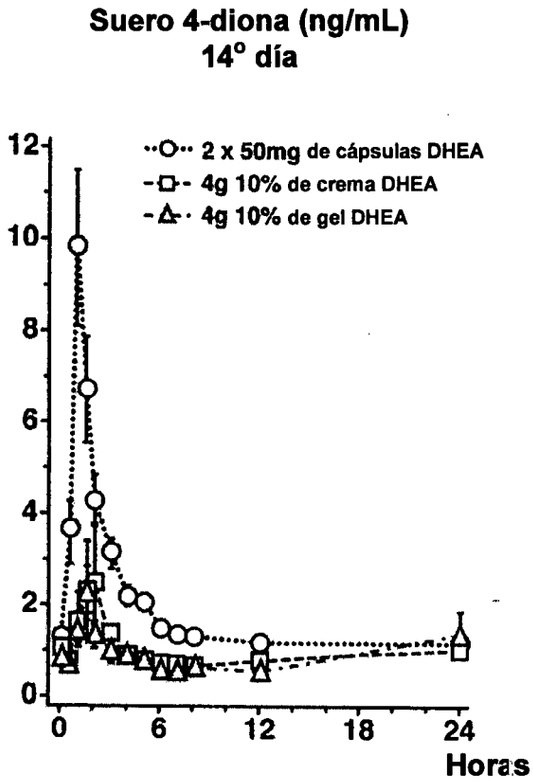


FIGURA 17A

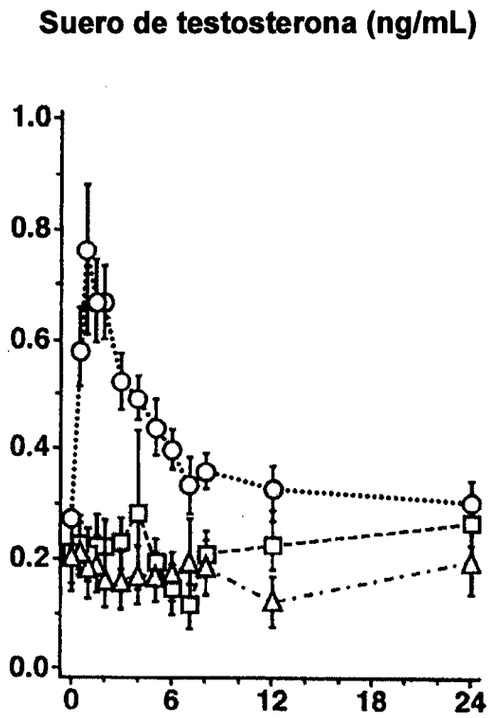


FIGURA 17B

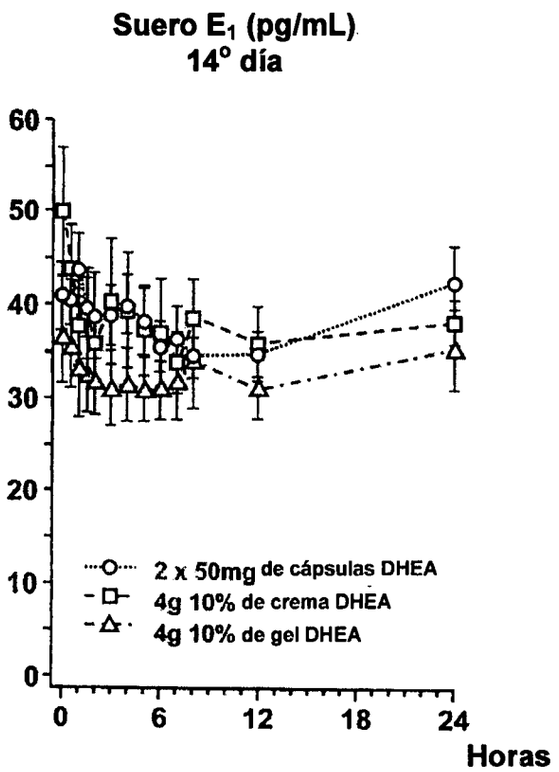


FIGURA 18A

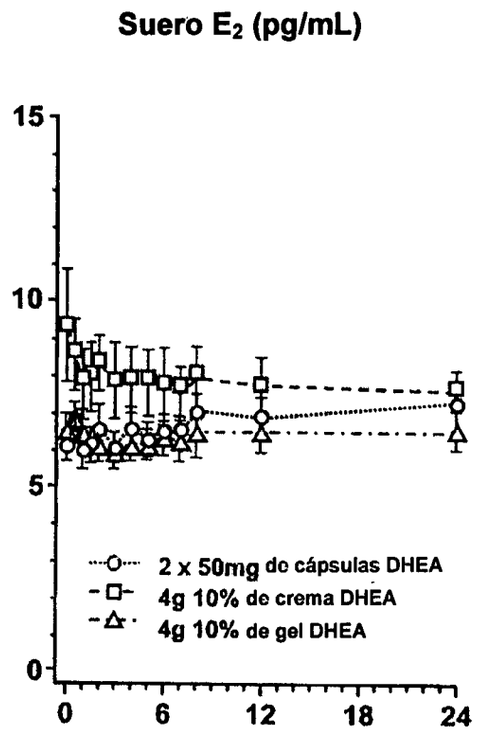


FIGURA 18B

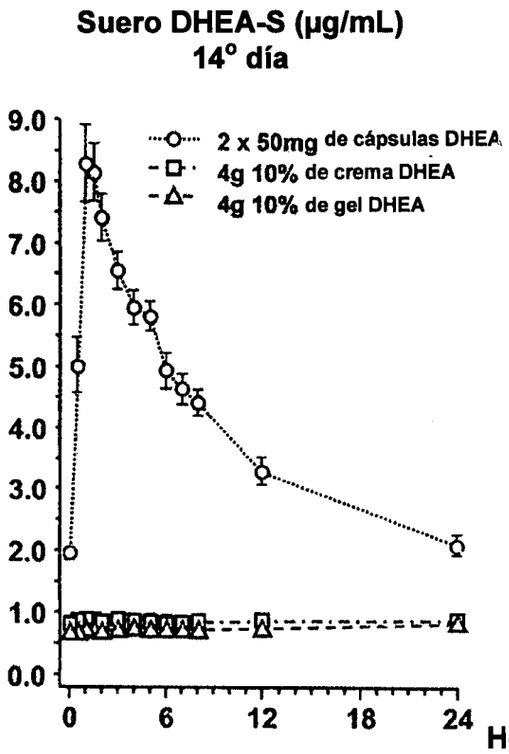


FIGURA 19A

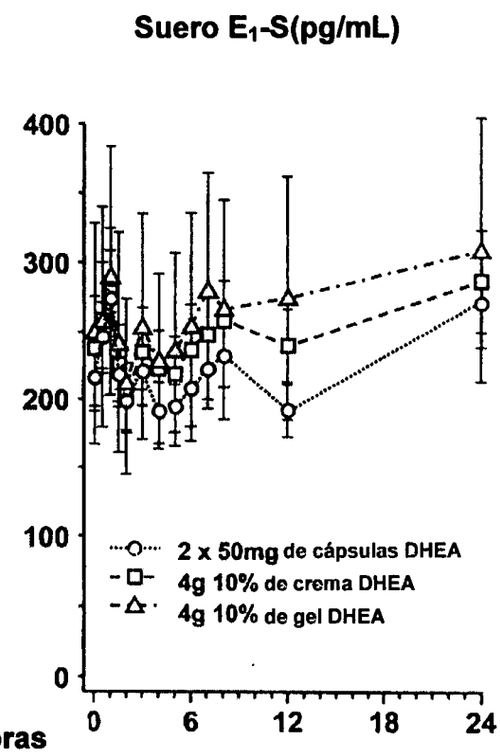


FIGURA 19B

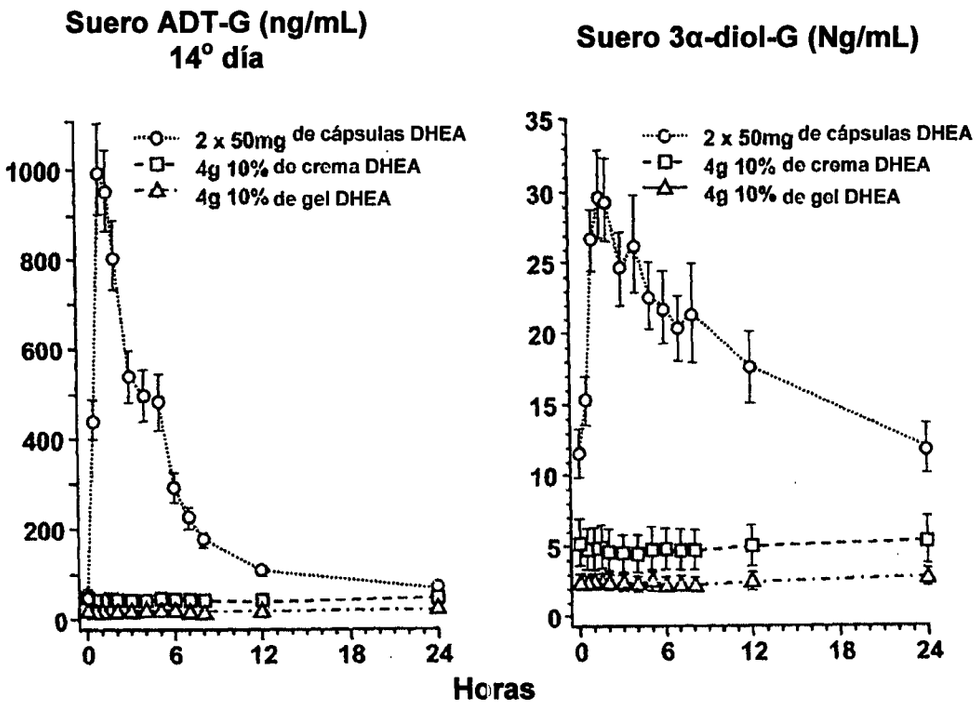


FIGURA 20A

FIGURA 20B

FIGURA 21

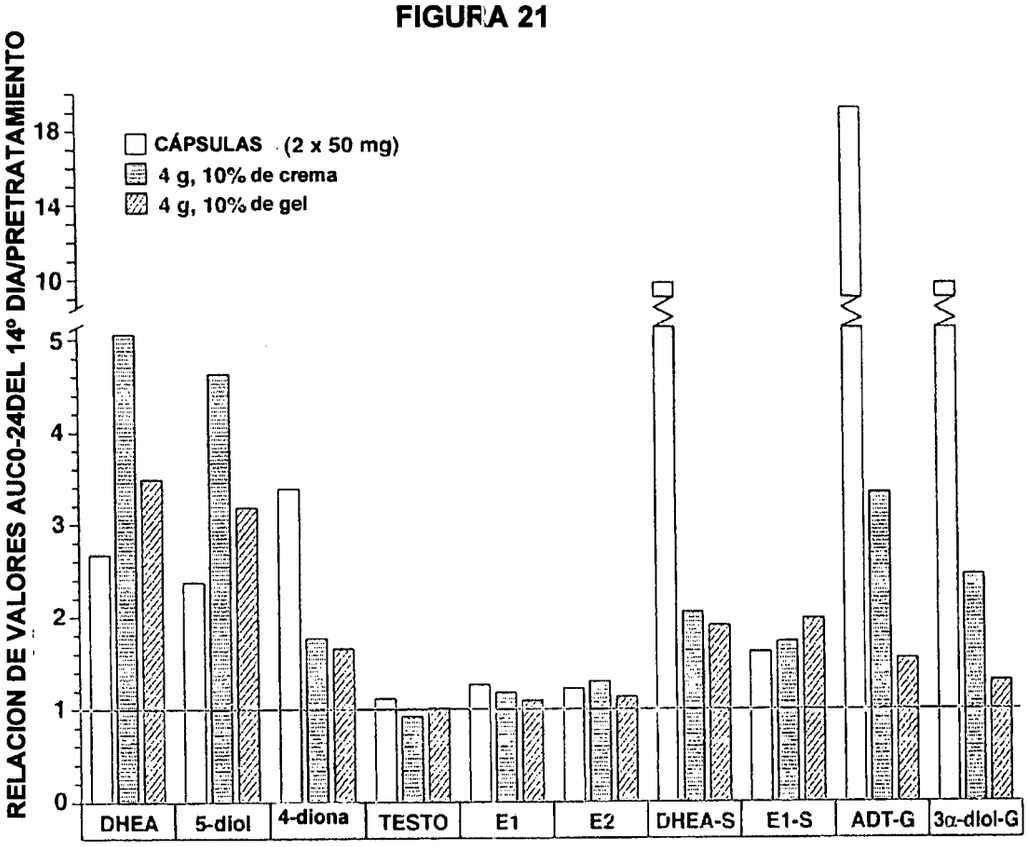

RELACION DE VALORES AUC0-24DEL 14º DIA/PRETRATAMIENTO
CÁPSULAS (2 x 50 mg)
4 g, 10% de crema
4 g, 10% de gel
0
1
2
3
4
5
10
14
18
DHEA
5-diol
4-diona
TESTO
E1
E2
DHEA-S
E1-S
ADT-G
3α-diol-G

FIGURA 22

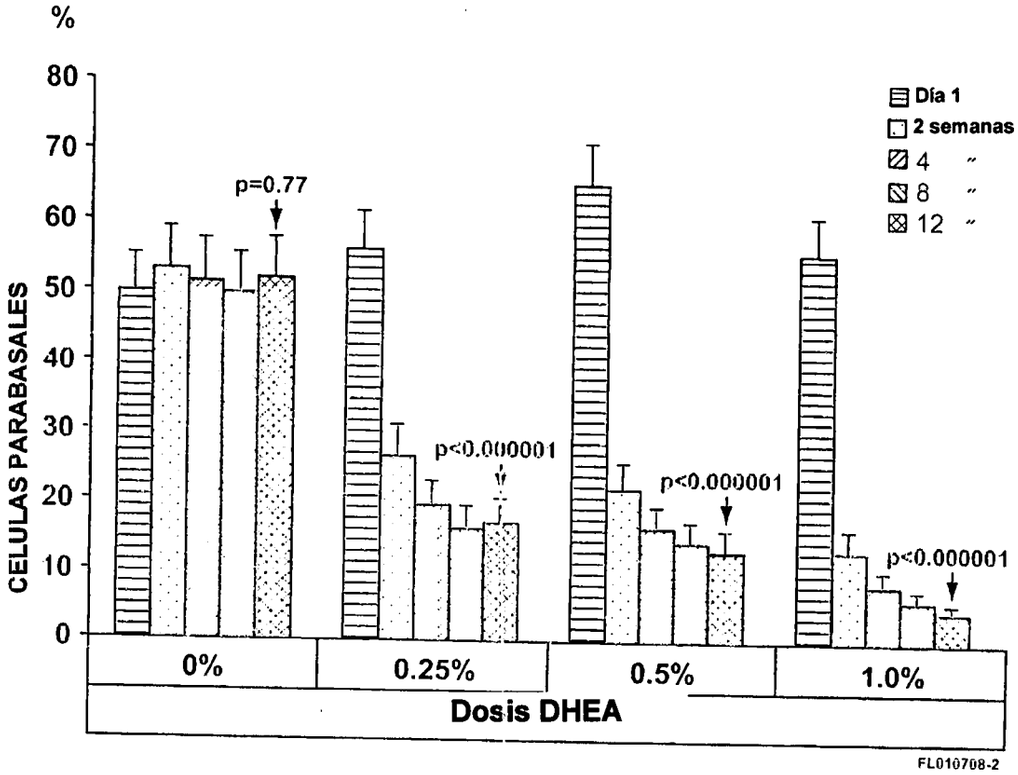

%
80
70
60
50
40
30
20
10
0
CELULAS PARABASALES
Día 1
2 semanas
4 "
8 "
12 "
p=0.77
p<0.000001
p<0.000001
p<0.000001
0%
0.25%
0.5%
1.0%
Dosis DHEA
FL010708-2

FIGURA 23

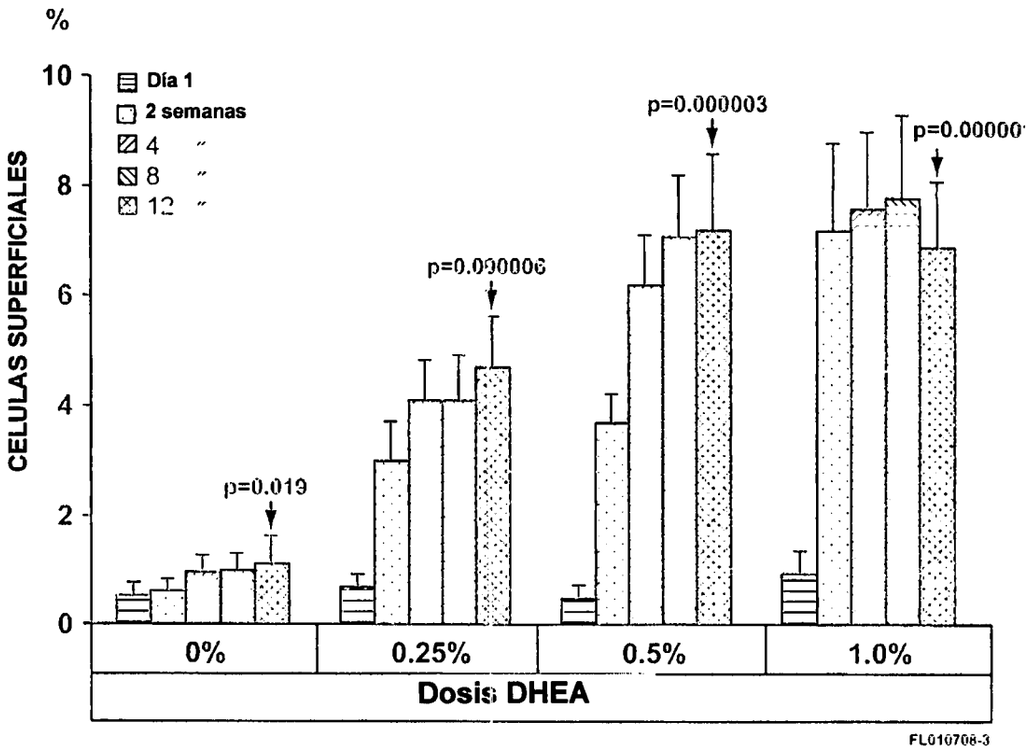

%
10
8
6
4
2
0
CELULAS SUPERFICIALES
Día 1
2 semanas
4 "
8 "
12 "
p=0.019
p=0.000006
p=0.000003
p=0.00000
0%
0.25%
0.5%
1.0%
Dosis DHEA
FL010708-3

FIGURA 24

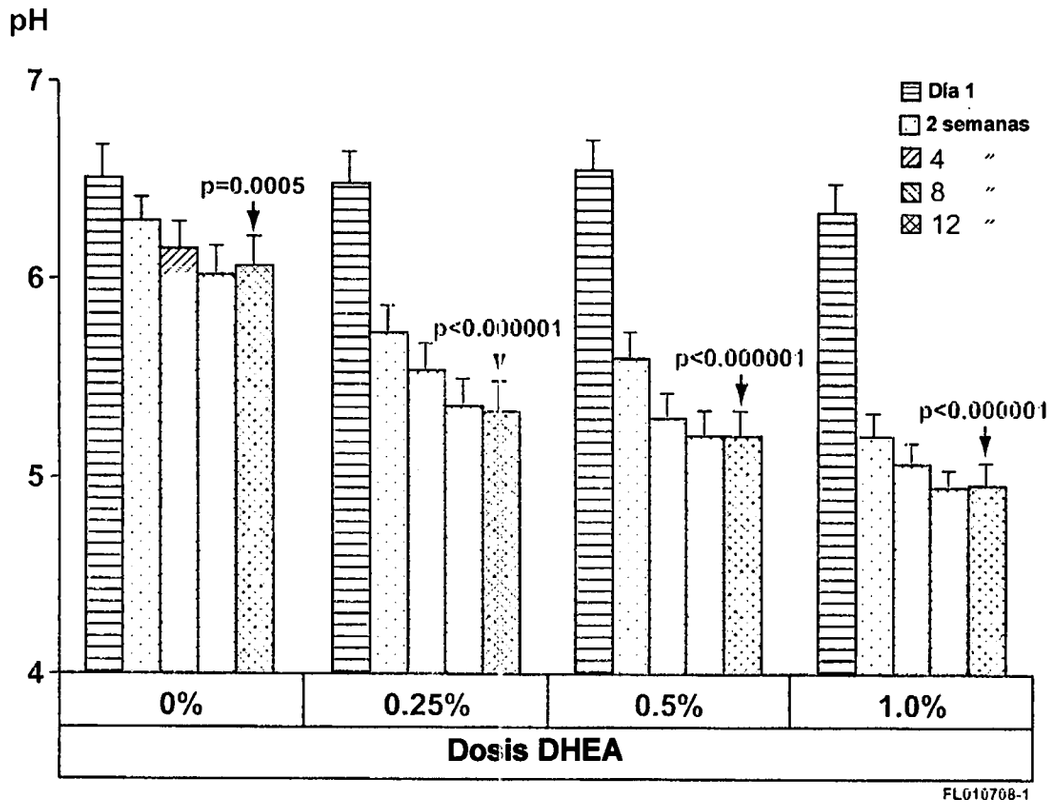

pH
7
6
5
4
Día 1
2 semanas
4 "
8 "
12 "
p=0.0005
p<0.000001
p<0.000001
p<0.000001
0%
0.25%
0.5%
1.0%
Dosis DHEA
FL010708-1

FIGURA 25

Cambio Medio de la línea base (Día 1) por Tratamiento en más Síntomas Molestos

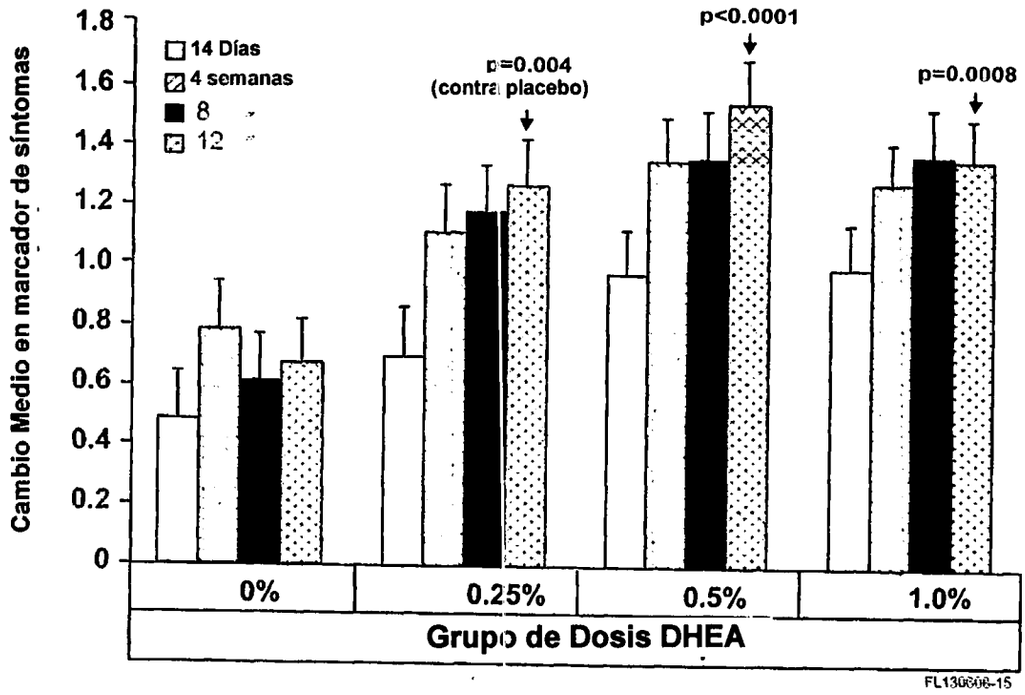


FIGURA 26

Cambio Medio (+/- error estándar) por tratamiento en secreciones vaginales

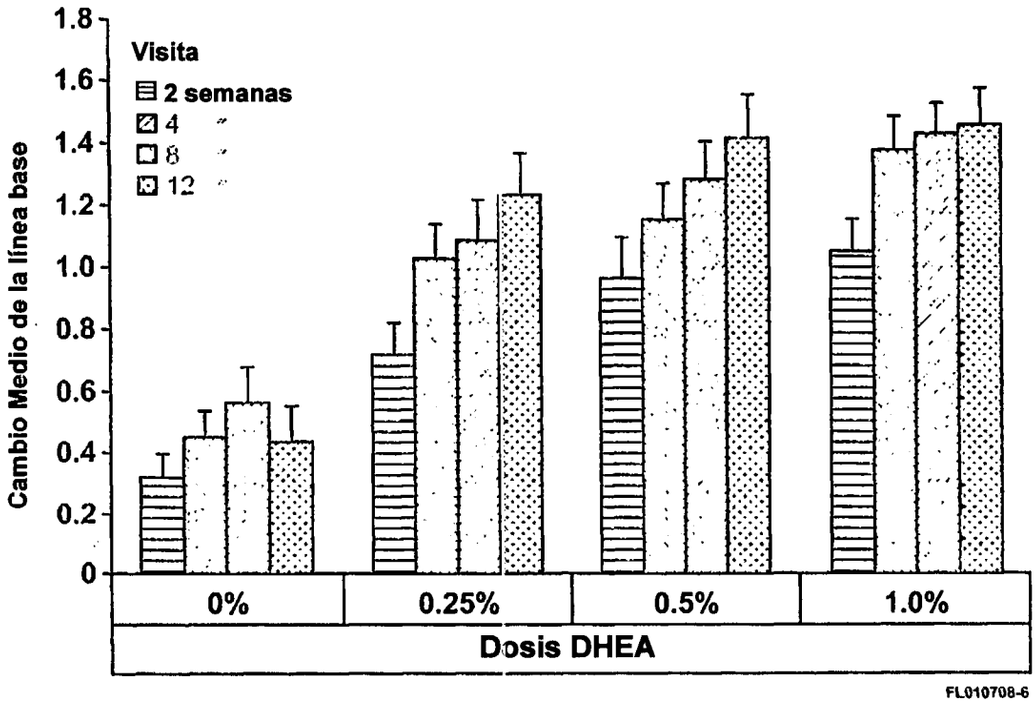


FIGURA 27

Cambio Medio (+/- error estándar) con el tiempo en el color vaginal

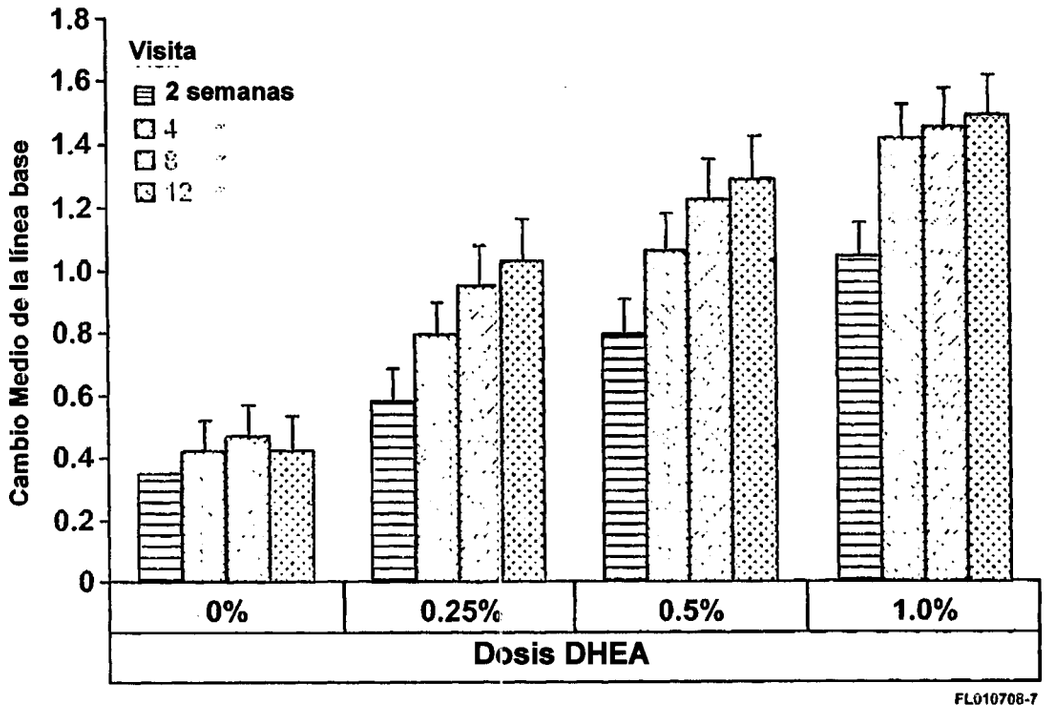


FIGURA 28

Cambio Medio (+/- error estándar) por tratamiento en la integridad epitelial vaginal

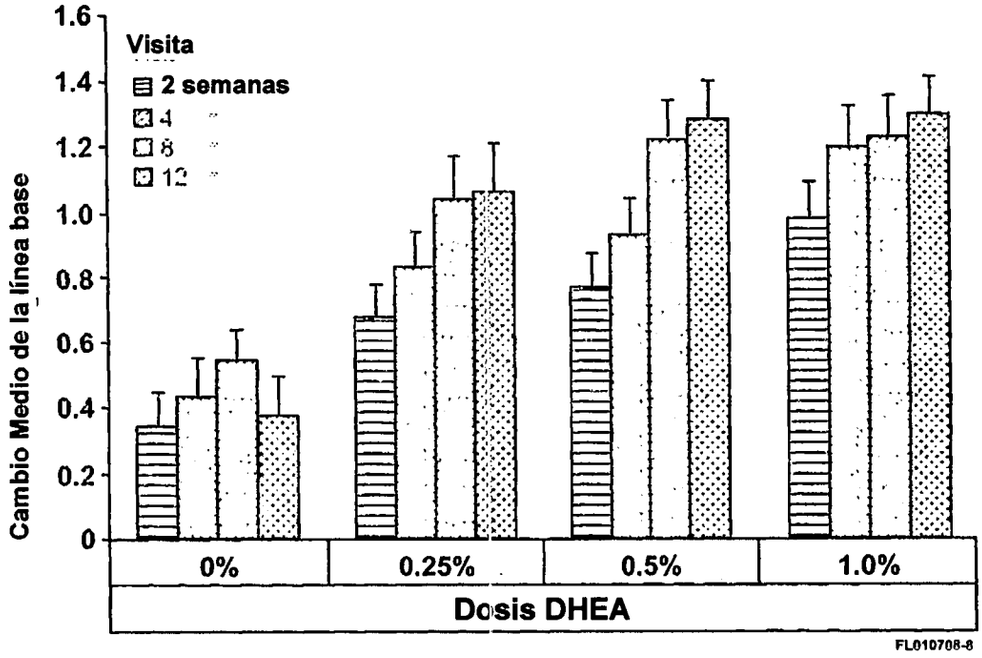
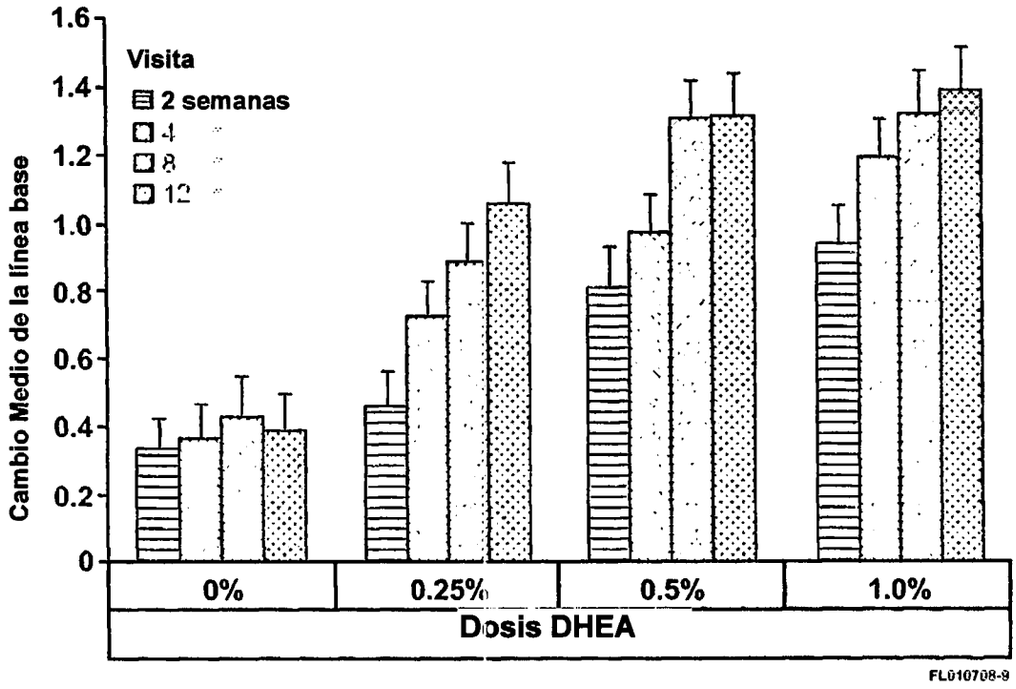
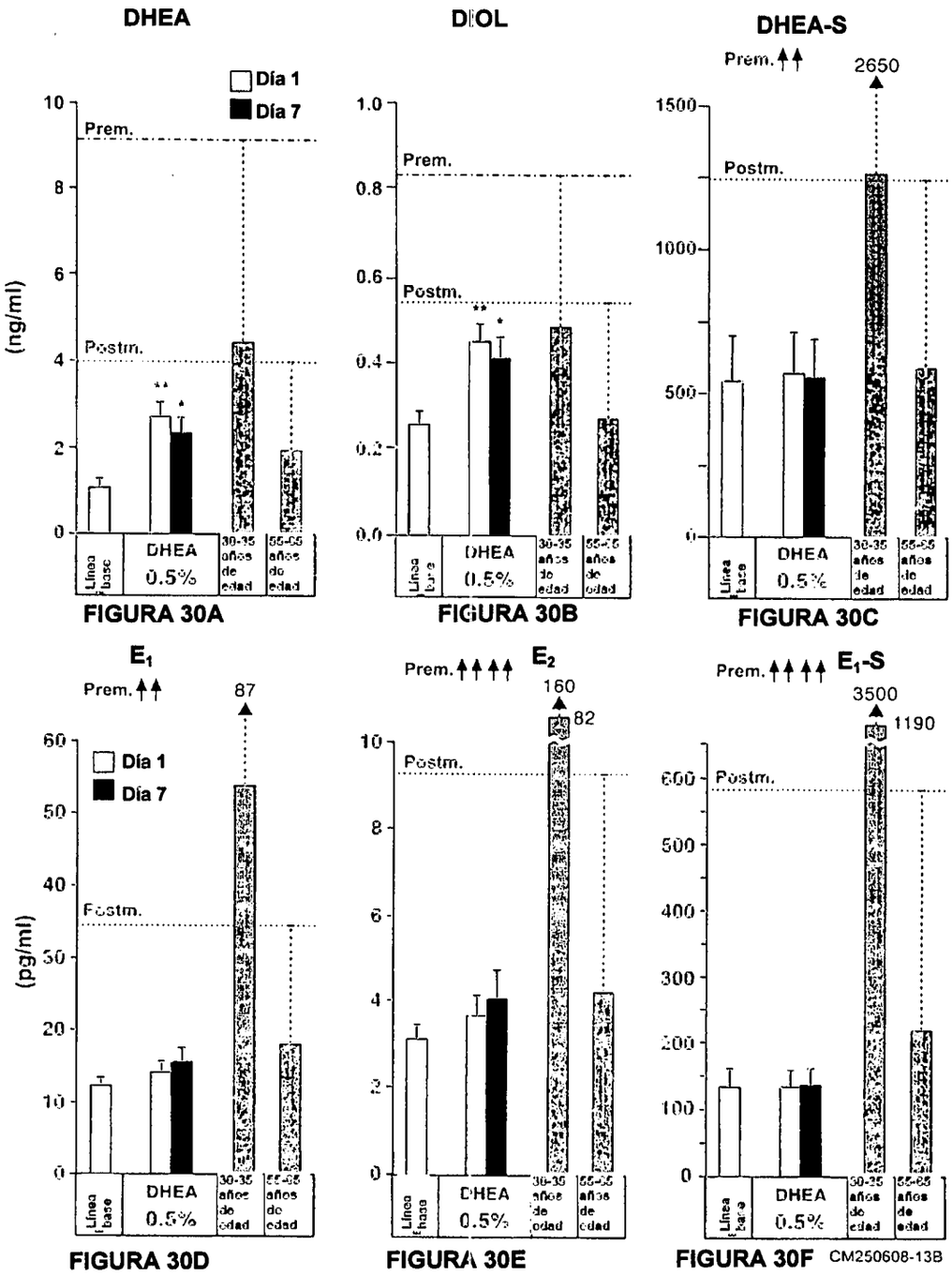


FIGURA 29

Cambio Medio (+/- error estándar) por tratamiento en el espesor de la superficie epitelial vaginal



PROMEDIO DE NIVELES DE SUERO DE ESTEROIDES DE 24 HORAS



PROMEDIO DE NIVELES DE SUERO DE ESTEROIDES DE 24 HORAS

4-DIONA

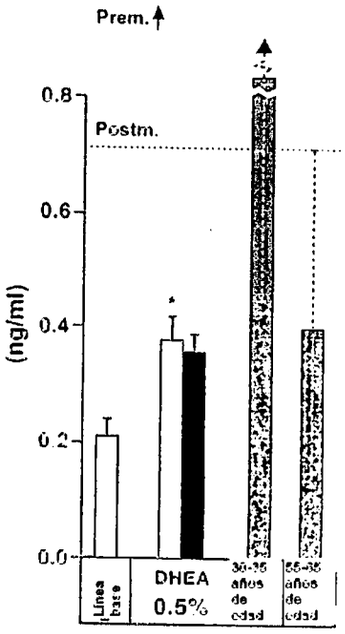


FIGURA 31A

TESTO

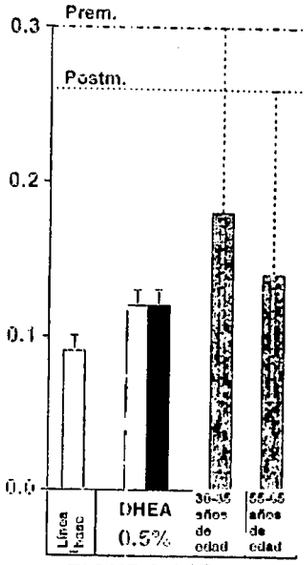


FIGURA 31B

DHT

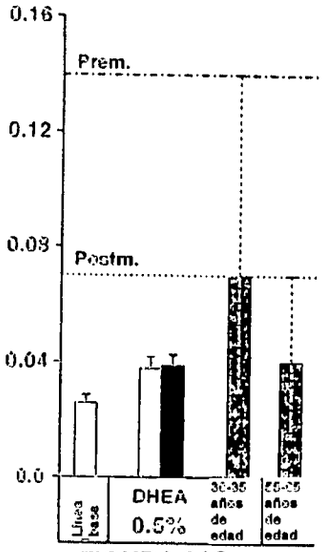


FIGURA 31C

ADT-G

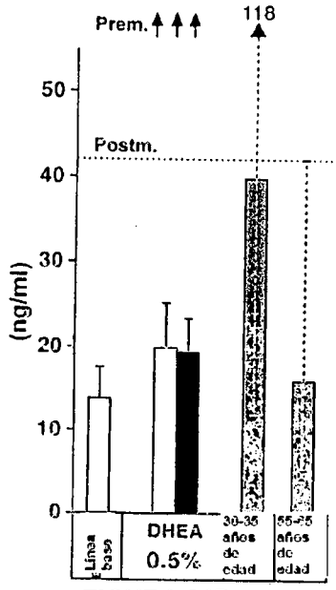


FIGURA 31D

3α-Diol-3G

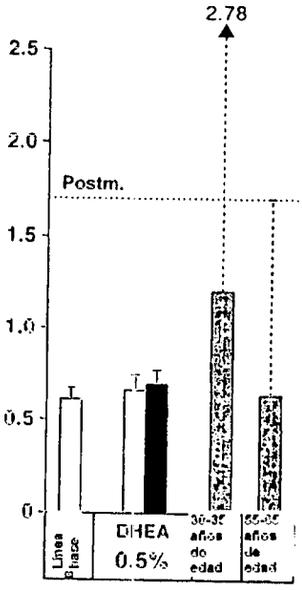


FIGURA 31E

3α-Diol-17G

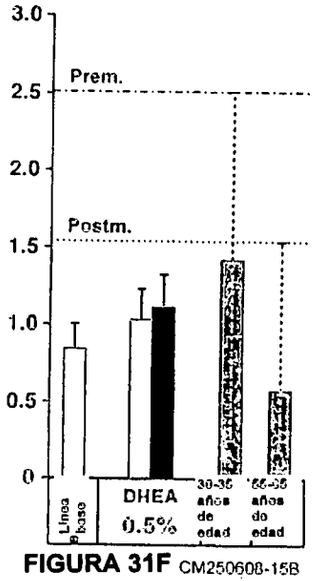


FIGURA 31F CM250608-15B

22534-7-PCT

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

0	**For receiving Office use only**	
0-1	International Application No.	PCT/CA2008/001444
0-2	International Filing Date	08 August 2008 (08.08.2008)
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	RO/CA

0-4	**Form PCT/RO/101 PCT Request**	
0-4-1	Prepared Using	PCT-SAFE [EASY mode] Version 3.51.029.204 MT/FOP 20080701/0.20.5.12
0-5	**Petition** The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	**Receiving Office (specified by the applicant)**	Canadian Intellectual Property Office (RO/CA)
0-7	**Applicant's or agent's file reference**	22534-7-PCT
I	**Title of Invention**	PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS
II	**Applicant**	
II-1	This person is	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States except US
II-4	Name	ENDORECHERCHE, INC.
II-5	Address	2989, de la Promenade Québec City, Québec G1W 2J5 Canada
II-6	State of nationality	CA
II-7	State of residence	CA
II-8	Telephone No.	n/a
II-9	Facsimile No.	n/a
II-10	e-mail	n/a
III-1	**Applicant and/or inventor**	
III-1-1	This person is	applicant and inventor
III-1-2	Applicant for	US only
III-1-4	Name (LAST, First)	LABRIE, Fernand
III-1-5	Address	2989, de la Promenade Québec City, Québec G1W 2J5 Canada
III-1-6	State of nationality	CA
III-1-7	State of residence	CA

22534-7-PCT

PCT REQUEST

Original (for **SUBMISSION**)

IV-1	**Agent or common representative; or address for correspondence** The person identified below is hereby/ has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	agent
IV-1-1	Name (LAST, First)	BUDD, Mark
IV-1-2	Address	Marks & Clerk P.O. Box 957, Station B Ottawa, Ontario K1P 1C2 Canada
IV-1-3	Telephone No.	613-236-9561
IV-1-4	Facsimile No.	613-230-8821
IV-1-5	e-mail	mbudd@markclerk.com
IV-1-5(a)	E-mail authorization The receiving Office, the International Searching Authority, the International Bureau and the International Preliminary Examining Authority are authorized to use this e-mail address to send, if the Office or Authority so wishes, advance copies of notifications in respect of this international application.	Yes
IV-2	**Additional agent(s)**	additional agent(s) with same address as first named agent
IV-2-1	Name(s)	MITCHELL,Richard; CLARK,Ian D.; KUSHWAHA,Hetal
V	**DESIGNATIONS**	
V-1	**The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a), the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.**	
VI-1	**Priority claim of earlier national application**	
VI-1-1	Filing date	10 August 2007 (10.08.2007)
VI-1-2	Number	60/964,270
VI-1-3	Country	US
VI-2	**Priority claim of earlier national application**	
VI-2-1	Filing date	13 August 2007 (13.08.2007)
VI-2-2	Number	60/964,673
VI-2-3	Country	US

22534-7-PCT

PCT REQUEST

Original (for **SUBMISSION**)

VI-3	**Incorporation by reference :** where an element of the international application referred to in Article 11(1)(iii)(d) or (e) or a part of the description, claims or drawings referred to in Rule 20.5(a) is not otherwise contained in this international application but is completely contained in an earlier application whose priority is claimed on the date on which one or more elements referred to in Article 11(1)(iii) were first received by the receiving Office, that element or part is, subject to confirmation under Rule 20.6, incorporated by reference in this international application for the purposes of Rule 20.6.		
VII-1	**International Searching Authority Chosen**	Canadian Intellectual Property Office (ISA/CA)	
VIII	**Declarations**	Number of declarations	
VIII-1	Declaration as to the identity of the inventor	-	
VIII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	-	
VIII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	-	
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	-	
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	-	
IX	**Check list**	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	4	✓
IX-2	Description	90	-
IX-3	Claims	7	-
IX-4	Abstract	1	✓
IX-5	Drawings	31	-
IX-7	TOTAL	133	
	Accompanying items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	✓	-
IX-18	PCT-SAFE physical media	-	✓
IX-20	**Figure of the drawings which should accompany the abstract**		
IX-21	**Language of filing of the international application**	English	

22534-7-PCT

PCT REQUEST

Original (for **SUBMISSION**)

X-1	**Signature of applicant, agent or common representative**	
X-1-1	Name (LAST, First)	BUDD, Mark
X-1-2	Name of signatory	Mark Budd
X-1-3	Capacity	

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	**Date of actual receipt of the purported international application**	08 August 2008 (08.08.2008)
10-2	**Drawings:**	x
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	**Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application**	
10-4	**Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)**	
10-5	**International Searching Authority**	ISA/CA
10-6	**Transmittal of search copy delayed until search fee is paid**	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	**Date of receipt of the record copy by the International Bureau**	

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
19 February 2009 (19.02.2009)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2009/021323 A1

(51) International Patent Classification:
A61K 31/5685 (2006.01) *A61P 15/12* (2006.01)
A61K 31/453 (2006.01) *A61P 5/26* (2006.01)
A61K 31/56 (2006.01) *A61P 5/32* (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/CA2008/001444

(22) International Filing Date: 8 August 2008 (08.08.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/964,270 10 August 2007 (10.08.2007) US
60/964,673 13 August 2007 (13.08.2007) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **ENDORECHERCHE, INC.** [CA/CA]; 2989, de la Promenade, Québec City, Québec G1W 2J5 (CA).

(72) Inventor; and
(75) Inventor/Applicant *(for US only)*: **LABRIE, Fernand** [CA/CA]; 2989, de la Promenade, Québec City, Québec G1W 2J5 (CA).

(74) Agents: **BUDD, Mark** et al.; Marks & Clerk, P.O. Box 957, Station B, Ottawa, Ontario K1P 1C2 (CA).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BF, BW, BY, BZ, CA, CH, CH, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report*

(54) Title: DHEA COMPOSITIONS FOR TREATING MENOPAUSE

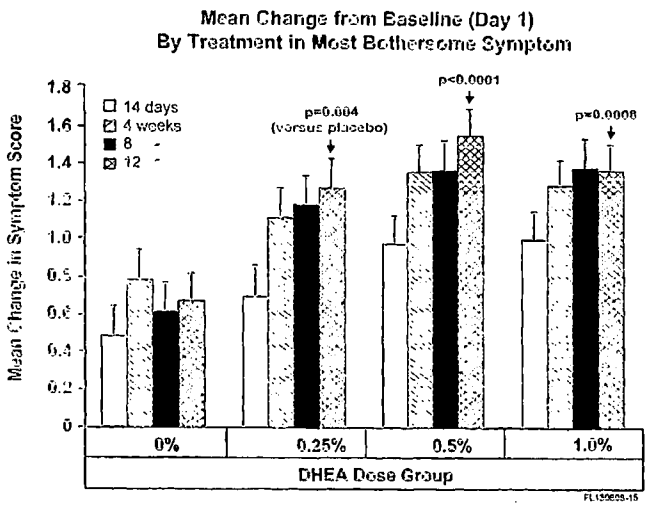


FIGURE 25

(57) Abstract: Novel methods for treating or reducing the likelihood of acquiring symptoms or diseases due to the menopause, in postmenopausal women, particularly osteoporosis, vaginal atrophy and dryness, hypogonadism, diminished libido, skin atrophy, connective tissue disease, urinary incontinence, breast, endometrial, ovarian and uterine cancers, hot flashes, loss of muscle mass, insulin resistance, fatigue, loss of energy, aging, physical symptoms of menopause, in susceptible warm-blooded animals including humans involving administration of a sex steroid precursor are disclosed. Said method comprising novel ways of administering and dosing dehydroepiandrosterone (DHEA) in order to take advantage of positive androgenic effects in the vaginal layers lamina propia and/or the layer muscularis, without undesirably causing systemic estrogenic effects in order to avoid the risk of breast and uterine cancer. Pharmaceutical compositions for delivery of active ingredient(s) useful to the invention are disclosed.

WO 2009/021323 A1

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
BUDD, STUART MARK
c/o Marks & Clerk
P.O. Box 957, Station B
OTTAWA, Ontario
Canada, K1P 5S7

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing *(day/month/year)* 24 October 2008 (24-10-2008)

Applicant's or agent's file reference
22534-7-PCT

FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below

International application No.
PCT/CA2008/001444

International filing date *(day/month/year)* 03 August 2008 (03-08-2008)

Applicant
ENDORECHERCHE, INC. ET AL

1. [X] The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

   Filing of amendments and statement under Article 19 :
   The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46) :

   When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the international search report.

   Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: +41 22 338 82 70

   For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. [ ] The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.

3. [ ] **With regard to the protest** against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that :

   [ ] the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.

   [ ] no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. **Reminders**

   Shortly after the expiration of **18 months** from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90*bis*.1 and 90*bis*.3, respectively, before the completion of the technical preparations for the international publication.

   The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

   Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase **until 30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, **within 20 months** from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

   In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

   See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the ISA/CA
Canadian Intellectual Property Office
Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT
50 Victoria Street
Gatineau, Quebec K1A 0C9
Facsimile No.: 001-819-953-2476

Authorized officer
Donna Daly 819-953-8972

NOTES TO FROM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give instructions concerning the filing of amendments under Article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article," "Rule" and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When? Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How? Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)) :

The amendments must be submitted with a letter.
The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").
The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

NOTES TO FORM PCT/ISA/220 (continued)

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

(i) the claim is unchanged;
(ii) the claim is cancelled;
(iii) the claim is new;
(iv) the claim replaces one or more claims as filed;
(v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter :

1. [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 33 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added."

2. [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11."

3. [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added." or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."

4. [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under Article 19(1)" (Rule 46.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 19(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 19(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. Reference to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequence if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments and any accompanying statement, under Article 19, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the time of filing the amendments (and any statement) with the International Bureau, also file with the International Preliminary Examining Authority a copy of such amendments (and of any statement) and, where required, a translation of such amendments for the procedure before that Authority (see Rules 55.3(a) and 62.2, first sentence). For further information, see the Notes to the demand form (PCT/IPEA/401).

If a demand for international preliminary examination is made, the written opinion of the International Searching Authority will, except in certain cases where the International Preliminary Examining Authority did not act as International Searching Authority and where it has notified the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b), be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority. If a demand is made, the applicant may submit to the International Preliminary Examining Authority a reply to the written opinion together, where appropriate, with amendments before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later (Rule 43*bis*.1(c)).

Consequence with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 19 may have to furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/elected Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 22534-7-PCT	**FOR FURTHER ACTION**	See Form PCT/IPEA/416
International application No. PCT/CA2008/001444	International filing date *(day/month/year)* 08 August 2008 (08-08-2008)	Priority date *(day/month/year)* 10 August 2007 (10-08-2007)

International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC
IPC: ***A61K 31/5685*** (2006.01) , ***A61K 31/453*** (2006.01) , ***A61K 31/56*** (2006.01) , ***A61P 15/12*** (2006.01) , ***A61P 5/26*** (2006.01) , ***A61P 5/32*** (2006.01)

Applicant
ENDORECHERCHE, INC. ET AL

1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.
3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising:
   a. [X] *(sent to the applicant and to the International Bureau)* a total of two sheets, as follows:
      [X] sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions).
      [ ] sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. 1 and the Supplemental Box.
   b. [ ] *(sent to the International Bureau only)* a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) _____, containing a sequence listing and/or tables related thereto, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).

4. This report contains indications relating to the following items:
   [X] Box No. I Basis of the report
   [ ] Box No. II Priority
   [X] Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
   [ ] Box No. IV Lack of unity of invention
   [X] Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
   [ ] Box No. VI Certain documents cited
   [ ] Box No. VII Certain defects in the international application
   [X] Box No. VIII Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 10 June 2009 (10-06-2009)	Date of completion of this report 26 November 2009 (26-11-2009)
Name and mailing address of the IPEA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 001-819-953-2476	Authorized officer Philip O. Brown, Ph.D. (819) 994-1622

194

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/CA2008/001444

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the **language**, this report is based on:

[X] the international application in the language in which it was filed

[ ] a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of:

[ ] international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

[ ] publication of the international application (Rule 12.4(a))

[ ] international preliminary examination (Rules 55.2(a) and/or 55.3(a))

2. With regard to the **elements** of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report):*

[ ] the international application as originally filed/furnished

[X] the description:

pages 1-90 as originally filed/furnished

pages* _____ received by this Authority on _____

pages* _____ received by this Authority on _____

[X] the claims:

pages 91-95 as originally filed/furnished

pages* _____ as amended (together with any statement) under Article 19

pages* 96-97 received by this Authority on 09 October 2009 (09-10-2009)

pages* _____ received by this Authority on _____

[X] the drawings:

pages 1/31-31/31 as originally filed/furnished

pages* _____ received by this Authority on _____

pages* _____ received by this Authority on _____

[ ] a sequence listing and/or any related table(s) - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.

3. [ ] The amendments have resulted in the cancellation of:

[ ] the description, pages _____

[ ] the claims, Nos. _____

[ ] the drawings, sheets/figs _____

[ ] the sequence listing *(specify):* _____

[ ] any table(s) related to sequence listing *(specify):* _____

4. [ ] This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

[ ] the description, pages _____

[ ] the claims, Nos. _____

[ ] the drawings, sheets/figs _____

[ ] the sequence listing *(specify):* _____

[ ] any table(s) related to sequence listing *(specify):* _____

5. [ ] This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 66.1(d-*bis*))

6. [ ] Supplementary international search report(s) from Authority(ies) _____ have been received and taken into account in drawing up this report (Rule45*bis*.8(b) and (c)).

**If item 4 applies, some or all of those sheets may be marked "superseded."*

195

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/CA2008/001444

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The question whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

[ ] the entire international application

[X] claims Nos. 1-31 and 35

because:

[X] the said international application, or the said claims Nos. 1-31 and 35 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination *(specify)*:

Claims 1-31 and 35 are directed to methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy which, under Article 34(4)(a)(i) and Rule 67.1(iv), the International Preliminary Examining Authority is not required to examine. However, this Authority has reviewed said claims on the basis on the alleged effect or purpose/use of the products appearing in said claims.

[ ] the description, claims or drawings *(indicate particular elements below)* or said claims Nos. _____ are so unclear that no meaningful opinion could be formed *(specify)*:

[ ] the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed *(specify)*:

[ ] no international search report has been established for said claims Nos. _____

[ ] a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

[ ] furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it.

[ ] furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it.

[ ] pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13*ter*.1(a) or (b) and 13*ter*.2.

[ ] a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it.

[ ] the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions.

[ ] See Supplemental Box for further details.

196

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	NONE	YES
	Claims	32-34 and 36-39	NO
Inventive step (IS)	Claims	NONE	YES
	Claims	32-34 and 36-39	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	32-34 and 36-39	YES
	Claims	NONE	NO

2. Citations and explanations (Rule 70.7)

The following documents are referred to in this Report:

D1: CA 1320132 A1 (ROBERTS) 13-07-1993
D3: CA 2334577 A1 (ENDOPECHERCHE) 16-12-1999
D5: CA 2584524 A1 (ENDOPECHERCHE) 27-04-2006

D1 discloses the use of DHEA and DHEA-S in the treatment of menopausal symptoms. Administration of 90-300 mg/day through a variety of routes is explicitly taught, with a goal of maintaining a serum level of 350-400 mg of the active ingredient.

D3 discloses the use of a steroid precursor selected from the group consisting of DHEA, DHEA-s, androst-5-ene-3β, 17β-diol, and 4-androsten-3, 17-dione and a selective estrogen receptor modulator (SERM) for the treatment of various disorders linked to menopausal decreases in sex hormones. In particular, said compositions (and the compounds found therein) are taught to be useful alternatives to estrogen therapy (which is stated to lead to an increased incidence of breast cancer).

D5 discloses further uses of a steroid precursor selected from the group consisting of DHEA, DHEA-s, androst-5-ene-3β, 17β-diol, and 4-androsten-3, 17-dione (optionally in conjunction with a SERM) to treat menopausal disorders. In particular, various topical creams and vaginal suppositories containing the same proportion of steroid precursor as those appearing in the instant application are disclosed.

The instant application is directed to the use of a steroid precursor selected from the group consisting of DHEA, DHEA-s, androst-5-ene-3β, 17β-diol, and 4-androsten-3, 17-dione in the treatment of symptoms and disorders linked to menopause. The use of low levels of said compounds is stated to avoid causing increases in estradiol levels, thereby decreasing the risk of cancers linked to elevated estrogen levels.

Novelty – Article 33(2):

Claims 32-34 and 36-39 are not novel, and thus do not comply with Article 33(2) of the PCT. **D5** teaches topical and suppository compositions with the same proportion of steroid precursor as the instant application for use in treating menopausal disorders. Neither the specific amount of steroid precursor found in the composition by virtue of the size of the dosage form, nor the fact that said compositions allegedly prevent production of undesirable steroids are distinguishing technical features. Given that the dosage forms are presumed to be formulated in a similar manner, and thus yield masses of steroid precursor equivalent to those encompassed by the above claims, said formulations inherently result in compositions that treat menopausal disorders without causing an increase in estradiol levels.

Continued in Supplemental Box on page 7.

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

Article 6 – Clarity of the Claims

Claims 1, 23, and 26 do not clearly define the matter for which protection is sought, and therefore fail to comply with Article 6 of the PCT. In the above claims, the relative amount of the steroid precursor is functionally defined in terms of a mechanism of action (namely, "a therapeutic amount which increases the level of circulating androgen metabolites without increasing the circulating level of estradiol...to avoid the risk of breast and uterine cancer"). Such a definition fails to clearly and concisely state the amount of steroid precursor required to achieve such a desired result.

Claims 25 and 31 do not clearly define the matter for which protection is sought, and therefore fail to comply with Article 6 of the PCT. In said claims, a variety of disorders and conditions are included in the genus of "diseases due to the menopause". Several of these definitions are circular in nature ("physical symptoms and signs of menopause"), or make use of vague imprecise terms that have no commonly accepted definition in the art ("loss of energy", "connective tissue disorder"). Furthermore, it is not clear how "aging" can be considered a disease due to menopause.

Claims 32, 33, and 38 do not clearly define the matter for which protection is sought, and therefore fail to comply with Article 6 of the PCT. The use of trade-marks in said claims causes a lack of clarity as to the nature of the components making up the claimed compositions, as such commercially available materials can be changed without notice by the manufacturer.

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of: **Box V**

Inventive Step – Article 33(3):

Claims 32-34 and 36-39 lack an inventive step, and thus do not comply with Article 33(3) of the PCT. **D5** represents the closest prior art, and (as noted above) teaches the use of steroid precursors in topical and suppository formulations to treat various menopausal disorders. Based on the arguments relating to novelty alone, said claims lack an inventive step.

Beyond such considerations, **D5** when viewed in light of the teachings of **D1** or **D3** also indicates that claims 32-34 and 36-39 lack an inventive step. Both **D1** and **D3** teach that a variety of concentrations of steroid precursor are useful in treating menopausal disorders, such that the selection of a particular amount to minimize side effects (such as excess production of estrogen) would be a matter of routine experimentation devoid of inventive ingenuity. In particular, the skilled artisan would be motivated to carry out such optimization in light of the teachings of **D3** regarding the deleterious effects of excess estrogen in menopausal women.

Industrial Applicability – Article 33(4):

Claims 32-34 and 36-39 are industrially applicable, and thus comply with Article 33(4) of the PCT. Said claims are directed to compositions with useful medicinal effects.

Comments on Excluded Subject Matter:

Claims 1-31 and 35 relate to subject-matter that this Authority is not required to examine in view of Rule 39.1 of the PCT. As no search or formal examination has been performed on the subject-matter of these claims, no comment is made regarding their novelty, inventive step, or industrial applicability. This Authority has nevertheless reviewed the subject matter of these claims based on the alleged therapeutic effect derived from the use of the compositions appearing in said claims.

In light of the above comments regarding the novelty and inventive ingenuity of claims 32, 36, and 39, had these claims been directed to such a use, they would encompass compositions appearing in **D5**. As such, they would fail to meet the requirements for novelty under Article 33(2) of the PCT and inventive step under Article 33(3) of the PCT for substantially similar reasons as given above.

With regards to the industrial applicability of claims 1-31 and 35, no unified standard exists among the PCT contracting states as to whether methods of medical treatment have industrial applicability under Article 33(4) of the PCT. Furthermore, the hypothetical "use" claims referred to above may be interpreted in some states as being methods. Therefore, no opinion is rendered in respect of the industrial applicability of the use of the compositions appearing in said claims to obtain a therapeutic effect.

activity, sexual dysfunction, loss of libido, loss of compactness of collagen fibers of the vaginal wall, and low muscularis thickness of the vaginal wall.

32. A pharmaceutical composition comprising 3-13 milligrams per dosage of a sex steroid precursor selected from the group consisting of dehydroepiandrosterone, dehydroepiandrosterone-sulfate, androst-5-ene-3, 17-diol, and 4-androstene-3,17-dione and further comprising a pharmaceutically acceptable excipient, diluent or carrier selected from the group consisting of pure or mixed natural or semi-synthetic tri-, di-, or mono glycerides of saturated, unsaturated or hydrogenated fatty acids; butter; palm, palm kernel, partially hydrogenated cottonseed, and coconut oils and its triglyceride derivatives; hydrogenated fatty alcohols and esters; polyoxyl stearate; rearranged hydrogenated vegetable oils; eutectic mixture of mono-, di-, triglycerides derived from natural vegetable oils; triglyceride esters; Tween 61; theobroma oil; and a combination of the foregoing.

33. The pharmaceutical composition of claim 32 wherein the pharmaceutical composition is a suppository or an ovule and wherein the pharmaceutically acceptable excipient, diluent or carrier is Witepsol H-15.

34. The pharmaceutical composition of claim 33 wherein the precursor is DHEA.

35. A method of treating vaginal conditions of the layer lamina propia or layer muscularis comprising vaginal administration of DHEA in a daily dose of 3-13 mg.

36. A vaginal suppository comprising 3-13 milligrams of DHEA, and further comprising a lipophilic excipient.

37. A vaginal suppository comprising about 6.5 milligrams of DHEA and further comprising saturated fatty acid esters.

38. A vaginal suppository comprising 6.5 milligrams of DHEA and Witepsol H-15.

The demand must be filed directly with the competent International Preliminary Examining Authority or, if two or more Authorities are competent, with the one chosen by the applicant. The full name or two-letter code of that Authority may be indicated by the applicant on the line below:

IPEA/ _____

PCT

CHAPTER II

DEMAND

under Article 31 of the Patent Cooperation Treaty:
The undersigned requests that the international application specified below be the subject of international preliminary examination according to the Patent Cooperation Treaty.

For International Preliminary Examining Authority use only

Identification of IPEA	Date of receipt of DEMAND

Box No. I IDENTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION		Applicant's or agent's file reference 22534-7-PCT
International application No. PCT/CA2008/001444	International filing date *(day/month/year)* 08 August 2008 (08-08-2008)	(Earliest) Priority date *(day/month/year)* 10 August 2007 (10-08-2007)
Title of invention PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS		

Box No. II APPLICANT(S)

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country)*	Telephone No.
ENDORECHERCHE, INC. 2989, de la Promenade Quebec City, QC G1W 2J5 CANADA	Facsimile No.
	Applicant's registration No. with the Office
☒ **E-mail authorization**: Marking this check-box authorizes the International Preliminary Examining Authority to use the e-mail address indicated in this Box to send, if the Authority so wishes, advance copies of notifications in respect of this international application. (*See also the Notes to Box No. II.*)	E-mail address ottawa@marks-clerk.ca

State *(that is, country)* of nationality:	State *(that is, country)* of residence:
CA	CA

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country)*	
LABRIE, Fernand 2989, de la Promenade Quebec City, QC G1W 2J5 CANADA	
State *(that is, country)* of nationality: CA	State *(that is, country)* of residence: CA

☐ Further applicants are indicated on a continuation sheet.

Sheet No. 2

International application No.
PCT/CA2008/001444

Box No. III AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The following person is ☒ agent ☐ common representative

and ☒ has been appointed earlier and represents the applicant(s) also for international preliminary examination.

☐ is hereby appointed and any earlier appointment of (an) agent(s)/common representative is hereby revoked.

☐ is hereby appointed, specifically for the procedure before the International Preliminary Examining Authority, in addition to the agent(s)/common representative appointed earlier.

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*	Telephone No.
Marks & Clerk MITCHELL, Richard J. BUDD, S. Mark P.O. Box 957, Station B Ottawa, ON K1P 5S7 CANADA	(613) 236-9561
	Facsimile No. (613) 230-8821
	Agent's registration No. with the Office
☒ **E-mail authorization:** Marking this check-box authorizes the International Preliminary Examining Authority to use the e-mail address indicated in this Box to send, if the Authority so wishes, advance copies of notifications in respect of this international application. (*See also the Notes to Box No. II.*)	E-mail address ottawa@marks-clerk.ca

☐ **Address for correspondence:** Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Box No. IV BASIS FOR INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION

Statement concerning amendments:*

1. The applicant wishes the international preliminary examination to start on the basis of:

☒ the international application as originally filed

the description ☒ as originally filed
☐ as amended under Article 34

the claims ☒ as originally filed
☐ as amended under Article 19 (together with any accompanying statement)
☐ as amended under Article 34

the drawings ☒ as originally filed
☐ as amended under Article 34

2. ☐ The applicant wishes any amendment to the claims under Article 19 to be considered as reversed.
3. ☐ Where the IPEA wishes to start the international preliminary examination at the same time as the international search in accordance with Rule 69.1(b), the applicant requests the IPEA to postpone the start of the international preliminary examination until the expiration of the applicable time limit under Rule 69.1(d).
4. ☐ The applicant expressly wishes the international preliminary examination to start earlier than at the expiration of the applicable time limit under Rule 54*bis*.1(a).

* Where no check-box is marked, international preliminary examination will start on the basis of the international application as originally filed or, where a copy of amendments to the claims under Article 19 and/or amendments of the international application under Article 34 are received by the International Preliminary Examining Authority before it has begun to draw up a written opinion or the international preliminary examination report, as so amended.

Language for the purposes of international preliminary examination: English

☒ which is the language in which the international application was filed.
☐ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search.
☐ which is the language of publication of the international application.
☐ which is the language of the translation (to be) furnished for the purposes of international preliminary examination.

Box No. V ELECTION OF STATES

The filing of this demand constitutes the election of all Contracting States which are designated and are bound by Chapter II of the PCT.

Sheet No. 3

International application No.
PCT/CA2008/001444

Box No. VI CHECK LIST

The demand is accompanied by the following elements, in the language referred to in Box No. IV, for the purposes of international preliminary examination:

			For International Preliminary Examining Authority use only: received	not received
1. translation of international application	:	sheets	☐	☐
2. amendments under Article 34	:	sheets	☐	☐
3. copy (or, where required, translation) of amendments under Article 19	:	sheets	☐	☐
4. copy (or, where required, translation) of statement under Article 19	:	sheets	☐	☐
5. letter	:	3 sheets	☐	☐
6. other *(specify)*	:	sheets	☐	☐

The demand is also accompanied by the item(s) marked below:

1. ☒ fee calculation sheet
2. ☐ original separate power of attorney
3. ☐ original general power of attorney
4. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any:
5. ☐ statement explaining lack of signature
6. ☐ sequence listing in electronic form
7. ☐ tables in electronic form related to a sequence listing
8. ☐ other *(specify)*:

Box No. VII SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the demand).

S. Mark Budd, Agent for the Applicant

For International Preliminary Examining Authority use only

1. Date of actual receipt of DEMAND:

2. Adjusted date of receipt of demand due to CORRECTIONS under Rule 60.1(b):

3. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of 19 months from the priority date and item 4 or 5, below, does not apply.

   ☐ The applicant has been informed accordingly.

4. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the time limit of 19 months from the priority date as extended by virtue of Rule 80.5.

5. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of 19 months from the priority date, the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82.

6. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of the time limit under Rule 54*bis*.1(a) and item 7 or 8, below, does not apply.

7. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the time limit under Rule 54*bis*.1(a) as extended by virtue of Rule 80.5.

8. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of the time limit under Rule 54*bis*.1(a), the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82.

For International Bureau use only

Demand received from IPEA on:

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 10-025622- -00000-0000

Fecha: 2010-03-04 14:39:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act 411 PRESENTACION Folios: 204

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que p[illegible] solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCIÓN PCT ☑ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☑ Indicación que se solicita una PCT
- ☑ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☑ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Bogotá,
2020

Doctor(a)
RODRIGUEZ D` ALEMAN DILIA MARIA
Apoderado(a) y/o Representante de
ENDORECHERCHE, INC

REFERENCIA	Radicación No.	10 25622
	Solicitud internacional	PCT/CA2008/001444
	Fecha inicio fase nacional	10/03/2010
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	№ 04814

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. El solicitante debe presentar un nuevo titulo que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el titulo relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9)

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

Continua en la página siguiente...

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Radicación No.:10 25622

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 09 ABR. 2010
adpa11