

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 649**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/565** (2006.01)  
**A61P 5/24** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **01270333 .6**  
96 Fecha de presentación: **13.12.2001**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1343508**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.09.2003**

54 Título: **USO DE UN ESTRÓGENO EN LA PRODUCCIÓN DE UNA COMPOSICIÓN QUE CONTIENE ESTRÓGENO PARA EL TRATAMIENTO DE LA VAGINITIS ATRÓFICA.**

30 Prioridad:  
15.12.2000 DK 200001890  
15.12.2000 DK 200001891  
15.12.2000 DK 200001892

73 Titular/es:  
**NOVO NORDISK FEMCARE AG**  
**ANDREASTRASSE 15**  
**8050 ZÜRICH, CH**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**15.03.2012**

72 Inventor/es:  
**KVORNING, Ingelise y**  
**KOCH, Karen**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**15.03.2012**

74 Agente/Representante:  
**Tomas Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 376 649 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Uso de un estrógeno en la producción de una composición que contiene estrógeno para el tratamiento de la vaginitis atrófica

5

[0001] La presente divulgación se refiere a una composición con estrógeno, para ser administrada vaginalmente.

## ANTECEDENTES DE ESTA INVENCION

[0002] La atrofia vaginal puede ocurrir en la mujer postmenopáusica y en mujeres privadas de estrógeno que en realidad no necesitan ninguna terapia de sustitución hormonal sistémica, sino simplemente terapia local. En consecuencia, tratamiento local tópico se prefiere para evitar los efectos secundarios sistémicos debido a terapia de estrógeno de larga duración. Terapia local para este propósito ha sido estudiada para un periodo temporal largo y la hormona ha sido administrada como cremas, geles y anillos silastic.

15

[0003] Alrededor de cada segundo mujeres postmenopáusicas experimentarán incomodidad urogenital asociada a deficiencia de estrógenos. Estudios precedentes han mostrado que aunque muchas de estas mujeres usan una terapia de sustitución hormonal oral, los síntomas urogenitales persisten.

20

[0004] Una composición comúnmente usada es Vagifem® comercializada por Novo Nordisk A/S. Vagifem se desarrolla para tratar atrófica deficiencia privada de estrógeno. Vagifem es un pequeño comprimido con 25 µg de 17β-estradiol. Por ejemplo, puede hacerse referencia a *Maturitas 14* (1991), 23- 31, donde las mujeres inicialmente recibieron 25 µg de estradiol durante 2 semanas y, luego, 25 µg de estradiol una vez por semana o dos veces por semana. Un tratamiento habitual es un comprimido de Vagifem con 25 µg de estradiol diariamente para las primeras 2 semanas de tratamiento y, luego, una pastilla dos veces a la semana.

25

[0005] Convenientemente, Vagifem se administra colocando un comprimido en la parte superior de un aplicador desechable tipo lápiz fino. Introduciendo el aplicador en la vagina, el comprimido de Vagifem, debido a las características adhesivas de Vagifem, permanecerá en la vagina.

30

[0006] Un medicamento farmacéutico para tratamiento local, esencialmente no sistémico, de sequedad vaginal, en particular, en mujeres menopáusicas, caracterizado por el hecho de que una unidad de formulación galénica comprendiendo un estrógeno natural seleccionado del grupo consistente en 17β-estradiol y sus sales y sus derivados en solución o en suspensión en un agente lipofílico, con un contenido de estrógeno que corresponde a una dosis unitaria equivalente a como mucho 15 µg, preferiblemente menos de 10 µg, de 17β-estradiol, un agente bioadhesivo de formación de gel hidrofílico, un agente gelificante para el agente lipofílico, y un agente hidrodispersable, se describe en la especificación de la patente US N° 6,060,077.

35

[0007] Por lo tanto, según la especificación 6,060,07, 17β-estradiol y sus sales y sus derivados están en solución o en suspensión.

40

En consecuencia, no puede ser un comprimido.

[0008] La administración de "o bien 10 o 25 µg de 17β-estradiol diariamente durante 2 semanas", es decir, o bien 70 o 175 µg de 17β-estradiol semanalmente, se describe en *Maturitas 15* (1992), 122.

45

[0009] La administración de 25 µg de 17β-estradiol dos veces a la semana, es decir, 50 µg de 17β-estradiol semanalmente, se describe en *Acta. Obstet. Gynecol Scand. 79* (2000), 293-297.

50

[0010] La administración de 25 µg de 17β-estradiol (también designado E<sub>2</sub>) una o dos veces a la semana, es decir, o bien 25 o 50 µg de 17β-estradiol semanalmente, se describe en *Maturitas 14* (1991), 23- 31. En la página 30, en la sección de discusión, se declara que "la administración de 25 µg de E<sub>2</sub> dos veces a la semana parece ser la dosis efectiva más baja para el tratamiento exitoso" y "la administración de una dosis tan baja como 25 µg de E<sub>2</sub> una vez a la semana no es suficiente para ofrecer un alivio completo de los síntomas".

55

## RESUMEN DE ESTA INVENCION

[0011] Un objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal que proporcione un efecto clínico en síntomas vaginales tan bueno como los obtenidos por administración de Vagifem dos veces a la semana.

60

[0012] Otro objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal no proporcionando absorción sistémica o solo absorción sistémica inferior.

[0013] Todavía otro objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal proporcionando una mejora significativa en la mucosa vaginal.

65

[0014] Todavía otro objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal no proporcionando efecto sistémico o solo efecto sistémico inferior.

5 [0015] Todavía otro objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal proporcionando absorción de estrógeno baja.

[0016] Todavía otro objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal proporcionando una concentración de suero de estradiol baja.

10 [0017] Todavía otro objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal no proporcionando acumulación de estradiol circulante o solo acumulación de estradiol circulante inferior.

[0018] Todavía objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal proporcionando efectos positivos en un epitelio vaginal atrófico.

15 [0019] Todavía otro objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal proporcionando maduración vaginal sustancial o completa.

20 [0020] Todavía otro objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal proporcionando un riesgo reducido de osteoporosis.

[0021] Todavía otro objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal proporcionando aumentos en el porcentaje de células vaginales superficiales.

25 [0022] Otro objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal que se puede usar para el tratamiento de vaginitis atrófica.

[0023] Otro objeto de esta descripción es proporcionar una composición hormonal proporcionando un valor de pH vaginal inferior a alrededor de 5,5.

30 [0024] Un objeto muy específico de esta descripción es proporcionar una composición hormonal proporcionando todas o la mayor parte de las siguientes características: alivio de síntomas vaginales, mejora de atrofia urogenital, disminución de pH vagina y mejora de maduración citológica de la mucosa uretral y vaginal.

### 35 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE ESTA INVENCION

[0025] Los síntomas vaginales tratados por el uso según la presente divulgación son sequedad, dolor, irritación y dispareunia. La salud urogenital se caracteriza por el hecho de secreciones, integridad epitelial, espesor de superficie y el valor de pH de la vagina.

40 [0026] Sorprendentemente, se ha descubierto que el uso según las reivindicaciones de más adelante tienen ventajas farmacéuticas y clínicas comparado con los usos conocidos de composiciones similares.

45 [0027] Se recomienda frecuentemente preceder el uso según las reivindicaciones de más adelante con un tratamiento con dosificación algo superior de un estrógeno, por ejemplo, estradiol. Este tratamiento se designa aquí como un pretratamiento. En una forma de realización preferida, este pretratamiento es el tratamiento diario con la misma dosis como el usado para un uso bisemanal según las reivindicaciones de más adelante.

50 [0028] La presente invención se refiere al uso de un estrógeno en la producción de una composición de comprimido con estrógeno para el tratamiento de vaginitis atrófica en una mujer, en el que se administra dos veces a la semana de 9 a 11 µg de estradiol. Según una forma de realización preferida, esta invención se refiere al uso en el que las mujeres tratadas son mujeres menopáusicas o postmenopáusicas. Según otra forma de realización preferida, esta descripción se refiere al uso en el que ningún progestógeno es administrado. Según otra forma de realización preferida, esta descripción se refiere al uso en el que la composición debe ser administrada vaginalmente. Según otra forma de realización preferida, esta descripción se refiere al uso en el que se usa por un periodo temporal superior a 2 semanas, preferiblemente más de 1 mes, más preferido más de 2 meses, e incluso más preferido más de 3 meses.

60 [0029] Las composiciones usadas según esta invención se pueden preparar análogamente a la preparación de composiciones similares, por ejemplo, Vagifem. Las composiciones usadas según esta invención pueden contener cualquier constituyente usado o sugerido para ser usado en composiciones similares. Las composiciones usadas según esta invención se pueden administrar análogamente con la administración de composiciones similares. Todos estos aspectos se conocen por el trabajador experto en la técnica.

65 [0030] Según una forma de realización preferida, la composición dada aquí consiste en de sobre 60 % a sobre 80 % de hipromelosa (u otro formador de matrices conveniente), de sobre 20 % a sobre 25 % de lactosa (u otro relleno

conveniente), de sobre 5 % a sobre 15 % de almidón de maíz (u otro relleno conveniente), de sobre 0,2 % a sobre 1,5 % de estearato de magnesio (u otro lubricante conveniente) y de sobre 0,2 % a sobre 5 % de recubrimiento de película, al igual que E2. En una forma de realización más preferida, la composición consiste en de sobre 65 % a sobre 70 % de hipromelosa (u otro formador de matrices conveniente), de sobre 20 % a sobre 24 % de lactosa (u otro relleno conveniente), de sobre 8 % a sobre 12 % de almidón de maíz (u otro relleno conveniente), de sobre 0,3 % a sobre 1,3 % de estearato de magnesio (u otro lubricante conveniente) y de sobre 0,3 % a sobre 3 % de recubrimiento de película, al igual que E2. En una forma de realización aún más preferida, la composición consiste en sobre 67 % de hipromelosa, sobre 22 % de lactosa, sobre 10 % de almidón de maíz, sobre 0,5 % de estearato de magnesio y sobre 1 % de recubrimiento de película. Según una forma de realización preferida de esta invención, cada comprimido contiene, además del material activo, sobre 53,7 mg de hipromelosa, sobre 17,9 mg monohidrato de lactosa, sobre 8 mg de almidón de maíz, sobre 0,4 mg de estearato de magnesio y el recubrimiento de película que consiste en sobre 0,5 mg de hipromelosa y sobre 0,06 mg de macrogel 6000 (polietilenglicol 6000 NF).

[0031] En una base seca. En los comprimidos finales, el contenido de agua está preferiblemente por debajo de 10%, más preferido por debajo de 7%. Todas las proporciones de porcentajes dadas son por base de peso.

[0032] Una manera de preparar los comprimidos es por medio de los siguientes pasos: suspensión de estradiol, granulación, mezcla, compresión, preparación de solución de recubrimiento de película y recubrimiento de película.

[0033] La presente invención es posteriormente ilustrada por los siguientes ejemplos que, no obstante, no son para ser interpretados como limitación del alcance de protección. Las características descritas en la descripción precedente y en los siguientes ejemplos pueden, en cualquier combinación de estas, ser material para la realización de la invención en formas diversas de esta. Especialmente, efectos sorprendentes e interesantes se dan y se describen en los ejemplos 2 y 3.

#### **Ejemplo 1**

[0034] 58 mujeres postmenopáusicas fueron tratadas con comprimidos con o bien 10 o 25 µg de 17β-estradiol. Las mujeres se insertaron 1 comprimido intravaginalmente, una vez al día durante las dos semanas iniciales del estudio y luego dos veces por semana (domingo y jueves) durante las siguientes 10 semanas. Por lo tanto, algunas mujeres solo recibieron comprimidos con 10 µg de 17β-estradiol y las mujeres restantes solo recibieron comprimidos con 25 µg de 17β-estradiol. El perfil del estradiol cuando la administración de 25 o 10 µg de 17β-estradiol fue similar después de la primera dosis (cero semanas de tratamiento) y después del tratamiento anterior continuo con 25 o 10 µg de 17β-estradiol dos veces a la semana durante 10 semanas.

#### **Ejemplo 2**

[0035] El tratamiento de vaginitis atrófica según la presente invención con dosis baja de comprimidos de 17β-estradiol provocó absorción baja de estradiol consecuente sin acumulación.

Objetivos:

[0036] La absorción vaginal de 17β-estradiol (de ahora en adelante designado E2) fue evaluada y dos dosis bajas de E2 (25 µg y 10 µg) fueron comparadas en mujeres postmenopáusicas con vaginitis atrófica.

Diseño:

[0037] En un estudio de grupos paralelos de doble ciego aleatorizado, 58 mujeres postmenopáusicas fueron tratadas con o bien 25 o 10 µg de E2 durante 12 semanas. Concentraciones de suero E2 y hormona folículo-estimulante (de ahora en adelante designado FSH) fueron medidas en todo el estudio a intervalos específicos. La área bajo la curva, concentración máxima y tiempo para concentración máxima fueron determinados para concentraciones de suero E2. Valores de maduración de células vaginales mucosas fueron evaluados como un indicador de cambios en la condición de la mucosa vaginal en respuesta al tratamiento.

Resultados:

[0038] Para ambos grupos de tratamiento, los perfiles de E2 fueron similares en las semanas 0 y 12. Las concentraciones medias de E2, áreas bajo la curva y concentraciones máximas fueron mayores en el grupo 25-µg de E2 que en el grupo 10-µg de E2. Para la mayoría de pacientes en cada grupo de tratamiento, las áreas bajo la curva mantenidas por debajo de 600 pg·hr/mL en cada punto de tiempo y las concentraciones medias de FSH estuvieron en el intervalo normal postmenopáusico. Pacientes en cada grupo de tratamiento mostraron una mejora significativa ( $P \leq ,01$ ) en la condición de la mucosa vaginal.

## Conclusión:

[0039] Tratamiento con comprimidos vaginales con o bien 25- o 10- $\mu$ g de E2 provocaron mejoras en la mucosa vaginal y absorción de estrógeno baja sin los efectos sistémicos frecuentemente asociados a ERT. Después de 12 semanas de terapia para vaginitis atrófica, los modelos de absorción se mantuvieron consecuentes y los pacientes no experimentaron una acumulación de E2 circulante.

[0040] Estudios han mostrado que preparaciones vaginales ERT pueden resultar eficaces y rápidas en la absorción de E2 en la circulación sistémica. No obstante, preparaciones de dosis baja que contienen 10 y 25  $\mu$ g de E2 eficazmente alivian los síntomas de vaginitis atrófica sin efectos secundarios sistémicos indeseados. Una dosis baja (25  $\mu$ g) de comprimido vaginal con E2 (Vagifem®; Novo Nordisk, Dinamarca) ha sido desarrollada para tratar vaginitis atrófica derivada de deficiencia de estrógeno. Estos comprimidos vaginales contienen una matriz de celulosa revestida de película hidrofílica que se adhiere bien a la mucosa vaginal e hidratos para proporcionar lentamente una liberación controlada de E2. Están diseñados para proporcionar estrogenización de la mucosa vaginal mientras previenen aumentos significativos en concentraciones séricas de estrógeno. En este estudio, la absorción vaginal de E2 fue evaluada y dos dosis bajas de E2 (25  $\mu$ g y 10  $\mu$ g) fueron comparadas en mujeres postmenopáusicas con vaginitis atrófica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

[0041] Este estudio de grupos paralelos de doble ciego aleatorizado monocentral fue conducido en la Atlanta, Ga. El estudio fue aprobado por la junta de revisión institucional apropiada y consentimiento informado escrito se obtuvo de cada paciente. El estudio fue conducido conforme a la declaración de Helsinki de 1975, modificada en 1983.

[0042] En este estudio, mujeres, generalmente saludables, postmenopáusicas (histerectomizadas o no histerectomizadas) de 45 años o mayores, fueron inscritas. Los pacientes tuvieron no más de 5% células superficiales, como evaluado por evaluación de citología vaginal y concentraciones de suero E2 no superiores a 20 pg/mL. Pacientes no histerectomizados tuvieron espesores endométricos no superiores a 4 mm, como determinado por ultrasonido pélvico. Pacientes con historia conocida o sospechosa de cáncer de mama u otros tumores dependientes de hormona, tromboflebitis aguda o trastornos tromboembólicos asociados a uso previo de estrógenos, o infección vaginal requiriendo además tratamiento (al inicio del estudio) fueron excluidos del estudio, como lo fueron pacientes con sangrado genital de etiología desconocida (en los 12 meses antes de la selección). Los pacientes no tuvieron que usar ningún tipo de preparaciones vaginales, orales, o vulvares en los 7 días antes de la selección; ningún corticoesteroide exógeno u hormonas sexuales en las 8 semanas antes del inicio del estudio; ningún fármaco investigacional nuevo dentro de los últimos 30 días o dietilestilbestrol.

[0043] Después de la visita de selección, los pacientes no recibieron ningún tratamiento de estudio durante las 4 semanas de ejecución del periodo antes de la visita del inicio del estudio. En la visita del inicio del estudio, los pacientes fueron aleatorizados para recibir comprimidos vaginales con o bien 25 o 10  $\mu$ g de E2 en una base 1:1 usando un plan generado por ordenador. Los comprimidos vaginales fueron idénticos en apariencia. Los pacientes se insertaron 1 comprimido intravaginalmente, una vez al día durante las 2 semana iniciales del estudio y luego dos veces por semana (domingo y jueves) durante las 10 semanas restantes. Los pacientes fueron instruidos para usar su medicación en un tiempo consecuente cada día, preferiblemente por la mañana. Después de la visita del inicio del estudio, los pacientes volvieron a la clínica en las semanas 1, 2, 4, 8 y 12 para mediciones de suero E2 y FSH, al igual que valoraciones de citología vaginal.

[0044] Tras la presentación en la clínica para cada visita, una muestra de citología vaginal se obtuvo. Los pacientes luego se insertaron los comprimidos. Muestras de sangre fueron extraídas 30 minutos antes de la inserción del comprimido, y en 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12 y 24 horas después de la inserción para determinar la concentración de suero E2 por medio de radioinmunoanálisis. Las muestras de sangre obtenidas 30 minutos antes de la inserción, y 6, 12, y 24 horas después de la inserción fueron también usadas para determinar la concentración de FSH por medio de ensayo inmunoradiométrico.

[0045] El valor de maduración de células vaginales mucosas fue calculado de los porcentajes de células parabasales, intermedias y superficiales según la siguiente ecuación:

$$\text{valor de maduración} = 0 \times [\text{células parabasales, \%}] + 0,5 [\text{células intermedias, \%}] + 1,0 \times [\text{células superficiales, \%}]$$

Los parámetros farmacocinéticos de área bajo la curva de tiempo de concentración de 30 minutos antes de la inserción del comprimido 24 horas después de la inserción del comprimido, concentración máxima y tiempo para concentración máxima fueron determinados para concentraciones de suero de E2. Datos para área bajo la curva y concentración máxima fueron convertidos a una escala logarítmica, y cambios de primera dosis (en la visita del inicio del estudio) en los valores logarítmicos fueron estimados usando intervalos de confianza de uso 95% derivados de pruebas t pareadas. Diferencias entre grupos de tratamiento en el grado de absorción de E2 fueron determinadas

usando intervalos de confianza 95% derivados de dos pruebas t de muestras basadas en los valores medios observados de los logaritmos de área bajo la curva y concentración máxima. Diferencias dentro de grupos de tratamiento en concentración de FSH fueron determinadas usando la prueba de los signos de Wilcoxon basada en cambios del inicio del estudio en concentraciones medias en las semanas 2 y 12. Concentraciones medias fueron definidas como las concentraciones medias obtenidas 30 minutos antes de inserción del comprimido y 6, 12 y 24 horas después de la inserción. Concentraciones del inicio del estudio para E2 y FSH fueron definidas como los valores observados 30 minutos antes de la inserción del comprimido en la visita del inicio del estudio.

[0046] Este manuscrito presenta datos para la población de pacientes evaluable, que fue definida como aquellos pacientes que tuvieron concentraciones de suero E2 inferiores a 20 pg/mL en el inicio del estudio y que tuvieron datos completos disponibles en la visita del inicio del estudio y en las semanas 2 y 12.

## RESULTADOS

[0047] Un total de 58 mujeres fueron tratadas con comprimidos vaginales con o bien 25 µg de E2 (28 mujeres) o 10 µg de E2 (30 mujeres). Diez mujeres se retiraron prematuramente del estudio. La población de pacientes evaluable consistía en 42 mujeres; 19 mujeres recibieron 25 µg de E2, y 23 mujeres recibieron 10 µg de E2. Características demográficas y del inicio del estudio para la población de pacientes evaluable se presentan en la tabla 1. Las características de los pacientes fueron similares entre grupos de tratamiento, con la excepción del porcentaje de células parabasales en el inicio del estudio, que fue significativamente inferior para pacientes en el grupo 25-µg de E2 comparado con aquellos en el grupo 10-µg de E2 ( $P = .027$ , prueba t).

[0048] Los perfiles de concentración de 24 horas para suero E2 en las semanas 0 y 12 se presentan en las figuras 1 y 2, respectivamente, y las características farmacocinéticas asociadas se presentan en la tabla 2. En las semanas 0 y 12, los perfiles de suero E2 fueron similares dentro de cada grupo de tratamiento. Las concentraciones de suero E2, al igual que la correspondiente área bajo la curva media y concentración máxima, fueron mayores para pacientes que recibieron 25 µg de E2 que para pacientes que recibieron 10 µg de E2. Las concentraciones medias de suero E2 sobre 24 horas también fueron mayores en el grupo 25-µg de E2 que en el grupo 10-µg de E2.

[0049] Una comparación entre las áreas bajo la curva para suero E2 en las semanas 0 y 12 se presenta en la figura 3. El mayoría de pacientes en cada grupo de tratamiento tuvo áreas bajo la curva inferiores a pg hr/mL en ambos puntos de tiempo (14 pacientes [74%] y 22 pacientes [96%] en los grupos 25- y 10-µg de E2, respectivamente). Una comparación entre el área bajo la curva para suero E2 y concentración media de FSH en la semana 12 se presenta en la figura 4. En la semana 12, la mayoría de pacientes en cada grupo de tratamiento tuvieron concentraciones medias de FSH en el intervalo postmenopáusico normal (al menos 35 pg/mL); 3 pacientes en el grupo 25-µg de E2 tuvieron concentraciones medias FSH inferiores a 35 pg/mL.

[0050] El valor de maduración medio y el cambio medio de línea base en el valor de maduración se presentan en la tabla 3. En cada grupo de tratamiento, los pacientes experimentaron un aumento significativo en el valor de maduración sobre valores del inicio del estudio ( $P \leq .001$  en las semanas 1 y 2, y  $P \leq .01$  en la semana 12, prueba pareada de dos colas). En todos los puntos de tiempo, valores medios de maduración y cambios medios del inicio del estudio en el valor de maduración fueron comparables entre grupos de tratamiento. Una comparación entre el área bajo la curva para suero E2 y el valor de maduración en la semana 12 se presentan en la figura 5. La mayoría de los pacientes en cada grupo de tratamiento (13 pacientes [68%] y 14 pacientes [64%] en los grupos 25- y 10-µg de E2, respectivamente) mostraron aumentos en los valores de maduración de los valores del inicio del estudio correspondientes (53,4 y 51,0 en los grupos 25- y 10-µg de E2, respectivamente).

## CONCLUSIONES

[0051] La terapia intravaginal óptima proporcionará absorción de estrógeno consecuente con alivio adecuado de los síntomas vaginales sin absorción sistémica y los efectos secundarios asociados. Los comprimidos vaginales de dosis baja usados en este estudio cumplieron estos criterios.

[0052] Este estudio examinó la absorción sistémica de E2 en pacientes que recibieron tratamiento con comprimidos vaginales o bien con 25- o 10-µg de E2 durante 12 semanas. La mayoría de los pacientes en cada grupo de tratamiento (74% en el grupo 25-µg de E2 y 96% en el grupo 10-µg de E2) experimentaron absorción sistémica baja de E2 al principio y final del periodo de tratamiento de 12 semanas, como indicado por áreas bajo la curva de concentración del suero E2 inferiores a 600 pg hr/mL en cada punto de tiempo. De los 6 pacientes restantes, 4 que experimentaron absorción de E2 mayor en la semana 12 también tuvieron áreas bajo la curva mayores de 600 pg.hr/mL en ambas semanas 0 y 12, sugiriendo que estos pacientes fueron de forma característica alto absorbentes de E2. Es posible que estos pacientes experimentaran gran absorción de E2 como resultado de cualquier ERT.

[0053] Los perfiles de suero E2 de 24 horas en las semanas 0 y 12 fueron similares para cada grupo de tratamiento, nuevamente indicando que globalmente las mujeres tuvieron patrones de absorción E2 consecuentes al principio y final del periodo de tratamiento. La concentraciones promedio de E2 en cada punto de tiempo estuvieron dentro del

intervalo postmenopáusico normal (intervalo postmenopáusico normal para concentración de E2: ≤40 pg/mL). Los resultados prometedores de este estudio demostraron absorción E2 consecuente sobre 12 semanas de tratamiento.

5 [0054] En este estudio, después de 12 semanas de tratamiento con o bien 25 o 10 µg de E2, concentraciones de FSH fueron raramente suprimidas a niveles premenopáusicos, sugiriendo que el aumento observado en la concentración de suero E2 no está asociado con potencia sistémica E2 clínicamente significativa. Los niveles de dosis 25- y 10-µg de E2 demostraron efectos positivos en un epitelio atrófico vaginal mientras se mantienen bajas concentraciones de suero E2. La mejora en la salud vaginal se puede deber a la perfusión directa y/o absorción linfática del E2 local a través del epitelio vaginal. En este estudio, la madurez vaginal fue medida exclusivamente con el valor de maduración. Ya que la respuesta vaginal es posible debido a glucogenización mejorada y acidificación de la vagina, controlar el pH vaginal proporcionaría otra medida útil de salud vaginal. La maduración vaginal con concentraciones bajas de E2 circulante es un objetivo de tratamiento primario de ERT local vaginal. Riesgos reducidos de osteoporosis en mujeres postmenopáusicas también han sido observados. Estos beneficios posiblemente dependen de la concentración de E2 circulante añadido a la producción endógena de E2 en el hueso, que es especialmente cierto en mujeres postmenopáusicas naturales mayores. Ya que las concentraciones medias de suero E2 fueron mayores para pacientes que recibieron 25 µg de E2 que para los que recibieron 10 µg de E2, es posible que pacientes que recibieron la dosis inferior pueden derivar beneficios adicionales debido a probabilidad muy baja de cualquier efecto sistémico.

20 Tabla 1. Características demográficas y del inicio del estudio (pacientes evaluables)

Característica	Grupo de tratamiento			
	25 µg de E2 (N = 19)		10 µg de E2 (N = 23)	
Edad (año) <sup>a</sup>	52,1 ± 5,6	(45-63)	54,8 ± 5,1	(48-69)
Raza				
Caucásica	16	(84,2%)	18	(78,3%)
Otra	3	(15,8%)	5	(21,7%)
Tiempo desde la última menstruación (año) <sup>a</sup>	10,7 ± 7,6	(1-25)	14,3 ± 8,7	(1-32)
Historecomizado				
Sí	12	(63,2%)	17	(73,9%)
No		7 (36,8%)	6	(26,1%)
Concentración de E2 en la selección (pg/mL) <sup>a</sup>	7,0 ± 2,8	(3-13)	7,6 ± 3,7	(2-18)
Citología vaginal en la selección				
Células parabasales (%) <sup>a</sup>	1,9 ± 2,5 <sup>b</sup>	(0-7)	8,4 ± 12,9 <sup>b</sup>	(0-48)
Células intermedias (%) <sup>a</sup>	95,2 ± 7,8	(65-100)	90,1 ± 12,4	(51-100)
Células superficiales (%) <sup>a</sup>	2,9 ± 8,0	(0-35)	1,5 ± 1,7	(0-6)
SD = desviación estándar; E2 = estradiol				
<sup>a</sup> Datos presentados como ± SD media (intervalo).				
<sup>b</sup> Estadísticamente significativo; P = ,027 (prueba t)				

Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos para perfiles de suero de estradiol de 24 horas (pacientes evaluables)

Punto de tiempo	Característica farmacocinética	Grupo de tratamiento	
		25 µg de E2 (N = 19)	10 µg de E2 (N = 23)
Semana 0			
	Área bajo la curva (pg hr/mL) <sup>a</sup>	538 ± 265	349 ± 107
	Concentración máxima (pg/mL) <sup>a</sup>	51 ± 34	35 ± 17
	Tiempo para concentración máxima (hr) <sup>a</sup>	15 ± 9	± 5
	Concentración de suero sobre 24 horas (pg/mL)	22	15
Semana 12			
	Área bajo la curva (pg.hr/mL) <sup>a</sup>	563 ± 341	264 ± 120
	Concentración máxima (pg/mL) <sup>a</sup>	49 ± 27	22 ± 17
	Tiempo para concentración máxima (hr) <sup>a</sup>	13 ± 6	10 ± 8
	Concentración de suero sobre 24 horas (pg/mL)	23	11
E2 = estradiol; SD = desviación estándar			
<sup>a</sup> Datos representados como ± SD media.			

Tabla 3. Valores de maduración y cambios del inicio del estudio medios (todos los pacientes)

5

Punto de tiempo	N	Grupo de tratamiento		
		25 µg de E2	N	10 µg de E2
Semana 0				
± SD media	25	52,4 ± 7,1	28	51,0 ± 6,2
Semana 12				
± SD media	20	58,4 ± 7,5	23	62,2 ± 15,7
± cambio medio	20	7,0 ± 8,7 <sup>b</sup>	23	11,2 ± 17,8 <sup>b</sup>
SD				
SD = desviación estándar				
<sup>a</sup> Estadísticamente significativo; $P \leq ,001$ (prueba t pareada de dos colas)				
<sup>b</sup> Estadísticamente significativo; $P \leq ,01$ (prueba t pareada de dos colas)				

**Ejemplo 3**

10 [0055] El tratamiento según la presente invención con dosis baja de comprimidos de 17 β-estradiol alivia síntomas vaginales, mejora la atrofia urogenital (salud vaginal) y aumenta la maduración de los epitelios uretrales y vaginales (mucosa) sin crecimiento anormal endométrico.

Objetivos:

15 [0056] Comprimidos vaginales con 25 o 10 µg de 17 de β-estradiol (aquí designado E2) o placebo fueron evaluados y comparados en mujeres postmenopáusicas con vaginitis atrófica.

Métodos:

20 [0057] En un estudio de grupos paralelos de placebo controlado de doble ciego aleatorizado multicéntrico, 230 mujeres postmenopáusicas recibieron tratamiento con 25 o 10 µg de E2 o placebo durante 12 semanas. La eficacia fue medida con puntuaciones compuestas de síntomas vaginales (sequedad, dolor e irritación) y salud vaginal (secreciones, integridad epitelial, espesor de la superficie y pH). Análisis de citología uretral y vaginal fueron también realizados y el valor de maduración vaginal fue determinado. Valoraciones de seguridad incluyeron biopsias endométricas.

25

Resultados:

[0058] Mejoras en puntuaciones compuestas para síntomas vaginales y características de salud vaginales fueron proporcionadas para pacientes en los grupos de tratamiento activos fueron mayores que en el grupo de placebo. Mejoras significativamente mayores fueron informadas en las semanas 7 y 12 ( $P \leq 0,05$ ). En la semana 12, sobre un 75% de pacientes en los grupos de tratamiento activos tuvieron valores de pH vaginal por debajo de 5,5 en comparación con aproximadamente un 40% de pacientes en el grupo de placebo. Ambos análisis de citología uretral y vaginal indicaron aumentos mayores en porcentajes de células superficiales en los grupos de tratamiento activos que en el grupo de placebo. Correspondientemente, aumentos en el valor de maduración vaginal fueron mayores en los grupos de tratamiento activos que en el grupo de placebo. Un paciente que recibió 25 de  $\mu\text{g}$  E2 tuvo un resultado de biopsia anormal.

Conclusiones:

[0059] Los comprimidos vaginales de 25- y 10- $\mu\text{g}$  de E2 proporcionaron alivio de síntomas vaginales, salud vaginal mejorada y maduración aumentada de la mucosa uretral y vaginal sin crecimiento endométrico anormal.

Introducción

[0060] Mientras la producción de estrógenos endógena disminuye durante la menopausia, la vagina y otros tejidos dependientes de estrógeno gradualmente padecen cambios atróficos. La pérdida de maduración celular influida por estrógeno produce una condición identificada como vaginitis atrófica. Los síntomas de la vaginitis atrófica incluyen sequedad, dolor, irritación y dispareunia. Además, el epitelio vaginal se vuelve más susceptible a infección y a inflamación secundaria. Terapia de estrógeno oral ha sido asociada a efectos secundarios metabólicos al igual que hiperplasia de pecho y endométrica.

[0061] Novo Nordisk ha desarrollado Vagifem™, un comprimido vaginal de estrógeno de dosis baja que contiene 25  $\mu\text{g}$  de E2 en una matriz hidrofílica a base de celulosa. Estudios farmacocinéticos de Vagifem™ han mostrado que en un epitelio atrófico vaginal, E2 vaginalmente administrado es absorbido fácilmente, pero después de la normalización y de la maduración del epitelio, la absorción de E2 es reducida significativamente.

[0062] Este estudio evalúa y compara la eficacia y seguridad de comprimidos vaginales con 25 o 10  $\mu\text{g}$  de E2 o placebo durante 12 semanas de terapia para atrofia vaginal.

Métodos y materiales

[0063] Esta fase III, estudio de grupos paralelos con placebo controlado de doble ciego aleatorizado multicéntrico fue conducido en 9 centros en los Estados Unidos. El estudio fue aprobado por las juntas de revisión institucionales apropiadas y consentimiento informado se obtuvo de cada paciente antes del comienzo de los procedimientos del estudio. El estudio fue conducido conforme a la declaración de Helsinki de 1975, modificada en 1983.

[0064] Mujeres de al menos 45 años de edad o mayores con sequedad vaginal de moderada a grave y dolor fueron inscritas. Todos los pacientes fueron requeridos para tener unas concentraciones de suero E2 de 20  $\text{pg/mL}$  o menos y tienen no más de 5% de células vaginales superficiales. Pacientes con úteros intactos fueron requeridos también para estar al menos 12 meses después de menopausia natural con un espesor endométrico de 5 mm o menos.

[0065] Pacientes con niveles de creatinina mayores de 1,4  $\text{mg/dL}$ , niveles de bilirrubina mayores de 1,2  $\text{mg/dL}$ , niveles de aspartato-aminotransferasa mayores de 50  $\text{U/L}$ , o niveles de hemoglobina menores de 11,5  $\text{g/dL}$  fueron excluidos del estudio. Pacientes con una historia conocida o sospechosa de carcinoma de mama, tumor dependiente de hormona, sangrado genital de etiología desconocida, tromboflebitis aguda o trastorno tromboembólico asociado a uso de estrógenos, infección vaginal requiriendo tratamiento, alergia al fármaco de prueba o sus ingredientes, o cualquier enfermedad seria o condición crónica que pueda interferir con el cumplimiento del estudio fueron también excluidos del estudio. El uso de un fármaco investigacional en los 30 días precedentes a la selección, cualquier preparación homeopática en los 7 días precedentes a la iniciación del fármaco de estudio, cualquier corticoesteroide exógeno u hormonas sexuales en los 8 semanas precedentes a la iniciación del fármaco de estudio, o dietilstilbestrol se prohibieron.

[0066] El propósito de este estudio fue comparar 25 y 10  $\mu\text{g}$  de E2 y placebo. Usando un plan de aleatorización generado por ordenador, sujetos (pacientes) fueron aleatorizados usando una proporción 2:2:1 para recibir comprimidos vaginales que contenían 25  $\mu\text{g}$  de E2, 10  $\mu\text{g}$  de E2, o placebo. Todos comprimidos vaginales fueron idénticos en apariencia. Los pacientes se insertaron 1 pastilla diaria durante 14 días. Luego, los pacientes se insertaron 1 pastilla dos veces por semana (domingo y jueves) durante el resto de la prueba. Los pacientes se insertaron los comprimidos en el mismo momento cada día (preferiblemente a la hora de acostarse). Los pacientes fueron evaluados para eficacia y seguridad en la semana - 4 (selección), semana 0 (inicio del estudio), y semanas 2, 7 y 12.

[0067] Valoraciones de eficacia incluyeron valoraciones de los pacientes de síntomas de vaginitis atrófica, valoraciones de investigadores de salud vaginal y citología uretral y vaginal. Los pacientes utilizaron las valoraciones de intensidad nada, leve, moderado o severo para evaluar los síntomas de vaginitis atrófica (sequedad, dolor, irritación, dispareunia y flujo vaginal). Valoraciones de intensidad fueron asignados a puntuaciones ascendentes de 0 (nada) a 3 (severo) para análisis. Una puntuación compuesta para síntomas de vaginitis atrófica fue definida como el promedio de las puntuaciones de síntoma individuales para sequedad, dolor e irritación. Esta puntuación compuesta no incluye puntuaciones para dispareunia (que no fue evaluada por todos pacientes) o flujo vaginal (que fue estimado como nada o leve por la mayoría de pacientes). La puntuación compuesta y el cambio del inicio del estudio para la puntuación compuesta fueron examinados en cada punto de tiempo. Diferencias dentro de y entre grupos de tratamiento fueron analizadas usando un análisis de varianza (ANOVA).

[0068] Los investigadores usaron una escala de gravedad de nada, leve, moderado, o severo para valorar características de salud vaginales (secreciones, integridad epitelial, espesor de la superficie, color y pH). Categorías de gravedad fueron asignadas a puntuaciones ascendentes de 0 (nada) a 3 (severo) para análisis. Para evitar problemas de criterio de evaluación múltiples, puntuaciones compuestas fueron definidas. Una puntuación compuesta para salud vaginal fue definida como el promedio de las puntuaciones características de salud vaginal individuales. La puntuación compuesta y el cambio del inicio del estudio para la puntuación compuesta fueron examinados en cada punto de tiempo. Diferencias dentro de y entre grupos de tratamiento fueron analizadas usando un análisis de varianza (ANOVA).

[0069] Muestras de célula uretrales y vaginales fueron recolectadas y analizadas por citólogos independientes para determinar los porcentajes de células parabasales, intermedias y superficiales. Los valores de maduración fueron calculados según la siguiente ecuación:

$$\text{valor de maduración} = 1,0 [\text{células superficiales, \%}] + 0,5 [\text{células intermedias, \%}]$$

Biopsias endométricas fueron realizadas al final del estudio en pacientes con úteros intactos. El número de pacientes con biopsias anormales fue comparado entre grupos de tratamiento.

## RESULTADOS

[0070] Un total de 91 mujeres recibieron 25 µg de E2, 92 mujeres recibieron 10 µg de E2 y 47 mujeres recibieron placebo. Características demográficas y del inicio del estudio no han diferido significativamente entre grupos de tratamiento, con la excepción de la raza (tabla 4). El porcentaje de pacientes no blancos fue significativamente inferior en el grupo 25-µg de E2 que en el grupo de placebo ( $P = ,026$ , prueba de Cochran-Mantel-Haenszel). Nueve pacientes (9,9%) en el grupo 25-µg de E2, 18 pacientes (19,6%) en el grupo 10-µg de E2 y 8 pacientes (17,0%) en el grupo de placebo se retiraron prematuramente del estudio.

[0071] Los perfiles de puntuación compuesta de síntomas vaginales entre las semanas 0 y 12 se presentan en la figura 6. En la semana 0, las puntuaciones compuestas de síntoma vaginal midieron aproximadamente 1,9 en cada grupo de tratamiento. En las semanas 2, 7 y 12, puntuaciones compuestas de síntoma vaginal fueron significativamente inferiores a los valores del inicio del estudio correspondientes para cada grupo de tratamiento ( $P \leq ,001$  prueba t pareada de dos colas). En los grupos de tratamiento activos (los grupos 25- y 10-µg de E2), puntuaciones compuestas de síntoma vaginal continuaron para reducirse después de la semana 0 y midieron aproximadamente 0,5 y 0,6 en la semana 12, respectivamente. En cambio, en el grupo de placebo, puntuaciones de síntomas vaginales se mantuvieron casi constantes casi después de la semana 0 y midieron aproximadamente 1,1. En las semanas 7 y 12, las diferencias del inicio del estudio observadas en los grupos de tratamiento activos fueron significativamente mayores que en aquellas observadas en el grupo de placebo ( $P \leq ,01$  y  $P \leq ,05$  en los grupos 25- y 10-µg de E2, respectivamente; análisis de modelo lineal de dos colas).

[0072] Los perfiles de puntuaciones compuestas de salud urogenital (vaginal) entre las semanas 0 y 12 se presentan en la figura 7. En la semana 0, las puntuaciones compuestas de salud vaginal midieron aproximadamente 1,7 en cada grupo de tratamiento. En las semanas 2, 7 y 12, puntuaciones compuestas de salud vaginal fueron significativamente inferiores a los valores del inicio del estudio correspondientes a cada grupo de tratamiento ( $P \leq ,01$  prueba t pareada de dos colas). En las semanas 2, 7 y 12, las reducciones en las puntuaciones compuestas de salud vaginal observadas en los grupos de tratamiento activos fueron significativamente mayores que aquellas observadas en el grupo de placebo ( $P \leq ,001$  análisis de modelo lineal de dos colas). En la semana 7, la reducción en la puntuación compuesta de salud vaginal fue significativamente mayor en el grupo 25-µg de E2 que en el grupo 10-µg de E2 ( $P = ,004$ , análisis de modelo lineal de dos colas).

[0073] El número y porcentaje de pacientes con valores de pH vaginales inferiores a 5,5 en las semanas 0, 2, 7 y 12 se presentan en la tabla 5. En la semana 0, aproximadamente 35% de los pacientes en cada grupo de tratamiento tuvieron valores de pH vaginal inferiores a 5,5. En las semanas 2, 7 y 12, el porcentaje de pacientes con valores de pH vaginal inferiores a 5,5 aumentó de los porcentajes del inicio del estudio en cada grupo de tratamiento. Estos aumentos fueron significativamente superiores para pacientes en los grupos de tratamiento activos a los del grupo de placebo ( $P \leq ,05$  análisis de modelo lineal de dos colas). En la semana 12, sobre un 75% de pacientes en los

grupos de tratamiento activos y aproximadamente un 40% de pacientes en el grupo de placebo tuvo valores de pH vaginal inferiores a 5,5.

5 [0074] El porcentaje de células superficiales del análisis de citología vaginal en las semanas 0, 2, 7 y 12 se presentan en la figura 8. En todos los puntos de tiempo después de la semana 0, sujetos en los grupos de tratamiento activos mostraron o bien aumentos bien significativos ( $P \leq 0,05$ ) o tendencias en dirección a aumentos en el porcentaje de células superficiales comparado con sujetos en el grupo de placebo. Estos aumentos se presentan en la tabla 7.

10 [0075] Los valores de maduración de las semanas 0 a 12 se presentan en la figura 9. En la semana 0, los valores de maduración midieron aproximadamente 45% en cada grupo de tratamiento. En cada punto de tiempo, los valores de maduración fueron significativamente superiores a los valores del inicio del estudio correspondientes a cada grupo de tratamiento ( $P \leq 0,01$  prueba t pareada de dos colas). Los aumentos de los valores del inicio del estudio fueron mayores en los grupos de tratamiento activos que en el grupo de placebo. En la semana 12, los valores de maduración midieron aproximadamente 60% en los grupos de tratamiento activos y aproximadamente 55% en el grupo de placebo. En las semanas 2 y 7, los aumentos en los valores de maduración observados en el grupo 25- $\mu\text{g}$  de E2 fueron significativamente mayores que aquellos observados en el grupo de placebo ( $P \leq 0,05$  análisis de modelo lineal de dos colas). En la semana 2, el aumento en el valor de maduración observado en el grupo 10- $\mu\text{g}$  de E2 fue significativamente mayor al observado en el grupo de placebo ( $P = 0,001$  análisis de modelo lineal de dos colas).

15 [0076] El porcentaje de células superficiales de análisis de citología uretral en las semanas 0, 2, 7 y 12 se presentan en la figura 10. En todos los puntos de tiempo después de la semana 0, los sujetos en los grupos de tratamiento activos mostraron o bien aumentos significativos ( $P \leq 0,05$ ) o tendencias en dirección a aumentos en el porcentaje de células superficiales comparado con sujetos en el grupo de placebo. Estos aumentos se presentan en la tabla 8.

20 [0077] El porcentaje de células vaginales uretrales y superficiales en las semanas 0 y 12 se presentan en las figuras 11 (a),(b) y (c) para los grupos 25- y 10- $\mu\text{g}$  de E2 y el grupo de placebo, respectivamente. En la semana 0, la mayoría de los sujetos en cada grupo de tratamiento tuvo porcentajes de ambas células vaginales y uretrales superficiales menos que o igual a 5% (57 sujetos [81 %], 53 sujetos [85 %] y 34 sujetos [97 %] en los grupos 25- y 10- $\mu\text{g}$  E2 y el grupo de placebo, respectivamente). En la semana 12, más sujetos en los grupos de tratamiento activos que en el grupo de placebo tuvieron aumentos en los porcentajes de ambas células uretrales y vaginales superficiales (52 sujetos [74 %], 44 sujetos [71 %] y 21 sujetos [60 %] en los grupos 25- y 10- $\mu\text{g}$  de E2 y el grupo de placebo, respectivamente).

25 [0078] Resultados de la biopsia endométrica en la semana 12 se presentan en la tabla 6. De los sujetos con biopsias que produjeron tejido suficiente, 1 sujeto en el grupo 25- $\mu\text{g}$  de E2 mostró hiperplasia simple sin atipia. No obstante, no hubo ninguna biopsia de pretratamiento para comparación.

30 [0079] Los porcentajes de células parabasales, intermedias y superficiales de análisis de citología vaginal en las semanas 0, 2, 7 y 12 se presentan en la figura 12. En la mayoría de los casos, los porcentajes de células en cada categoría cambió significativamente de los valores del inicio del estudio correspondientes ( $P \leq 0,01$  prueba t pareada de dos colas). En cada punto de tiempo, el porcentaje de células superficiales aumentó. En las semanas 2 y 7, los aumentos en el porcentaje de células superficiales observados en el grupo 25- $\mu\text{g}$  de E2 fueron significativamente mayores que aquellos observados en el grupo de placebo ( $P \leq 0,003$  análisis de modelo lineal de dos colas). En las semanas 2 y 12, las diferencias en el porcentaje de células superficiales observadas en el grupo 10- $\mu\text{g}$  de E2 fueron significativamente mayores que aquellas observadas en el grupo de placebo ( $P \leq 0,035$  análisis de modelo lineal de dos colas).

35 [0080] Los porcentajes de células parabasales, intermedias y superficiales del análisis de citología uretral en las semanas 0, 2, 7 y 12 se presentan en la figura 13. En la mayoría de los casos, los porcentajes de células parabasales y superficiales cambiaron significativamente de los valores del inicio del estudio correspondientes ( $P \leq 0,05$  análisis de modelo lineal de dos colas). Generalmente, el porcentaje de células superficiales aumentó, y los porcentajes de células parabasales e intermedias disminuyó. En las semanas 2 y 7, los aumentos en el porcentaje de células superficiales observados en el grupo 25- $\mu\text{g}$  de E2 fueron significativamente mayores que aquellos observados en el grupo de placebo ( $P \leq 0,044$  análisis de modelo lineal de dos colas). En la semana 2, los aumentos en el porcentaje de células superficiales observados en el grupo 10- $\mu\text{g}$  de E2 fueron significativamente mayores que aquellos observados en el grupo de placebo ( $P \leq 0,018$  análisis de modelo lineal de dos colas).

## 60 CONCLUSIONES

[0081] En este estudio de 12 semanas, tratamiento con o bien comprimidos de 25- o 10- $\mu\text{g}$  de E2 provocaron mejora mayor en síntomas vaginales (como evaluados por los pacientes) y salud vaginal (como evaluada por los investigadores) que tratamiento con placebo. En cada punto de tiempo después del inicio del estudio, mejoras en las puntuaciones compuestas de salud urogenital (vaginal) fueron significativamente mayores en el grupo activo (25- $\mu\text{g}$  y 10- $\mu\text{g}$  E2) que en el grupo de placebo ( $P \leq 0,01$ ). En cada punto de tiempo después de 2 semanas de tratamiento, mejoras en las puntuaciones compuestas de síntomas vaginales fueron también significativamente mayores ( $P \leq 0,05$ ).

Además, sujetos en los grupos de tratamiento activos tuvieron aumentos estadísticamente significativos ( $P \leq 0,05$ ) o tendencias en dirección a aumentos en el porcentaje de células superficiales vaginales comparado con sujetos en el grupo de placebo. En este estudio, tratamiento con 25- o 10- $\mu\text{g}$  de E2 provocó mejoras comparables como evaluadas por ambos pacientes e investigadores.

5 [0082] Mejoras en los síntomas de vaginitis atrófica se hicieron físicamente evidentes y se manifestaron como cambios en la mucosa vaginal. La condición de la mucosa vaginal se puede determinar a través de mediciones de citología vaginales y valor de maduración. En este estudio, los porcentajes de células intermedias e inmaduras parabasales disminuyeron, en consecuencia aumentando los porcentajes de células superficiales más maduras en cada grupo de tratamiento. Estos cambios se reflejan en aumentos significativos sobre valores del inicio del estudio en el valor de maduración en cada grupo de tratamiento ( $P \leq 0,01$ ). Después de 12 semanas de tratamiento, los valores de maduración para pacientes en los grupos 25- o 10- $\mu\text{g}$  de E2 fueron de aproximadamente 60%, mientras los valores de maduración para pacientes en el grupo de placebo fueron de aproximadamente 55%.

15 [0083] Una segunda medición clínica de actividad vaginal es el pH vaginal, un componente de la puntuación compuesta de salud urogenital (vaginal). Mientras la producción de estrógeno disminuye después de la menopausia, lactobacilos, que producen ácido láctico a partir de glicógeno vaginal, desaparecen de la flora vaginal y aumenta el pH vaginal. En consecuencia, valores de pH vaginal más altos se asocian a una falta de estrógeno en la mucosa vaginal. En este estudio aproximadamente el doble de pacientes que recibieron 25 o 10  $\mu\text{g}$  de E2 con respecto a los que recibieron placebo tuvieron valores de pH vaginal inferiores a 5,5 después de 12 semanas de tratamiento (75 % frente a 40%, respectivamente). Los resultados del análisis de citología vaginal y pH indican un efecto positivo de los comprimidos vaginales de 25- y 10- $\mu\text{g}$  de E2 en la estrogenización del epitelio vaginal (mucosa).

25 [0084] Las partes inferiores de los tractos urinarios y vaginales tienen el mismo origen embrionario, y trastornos del tracto genital, como vaginitis atrófica, están acompañados frecuentemente por cambios atróficos en las vías urinarias que pueden incluir disuria, incontinencia por estrés, e infecciones de las vías urinarias. En consecuencia, la terapia de estrógeno puede también tener un efecto en el epitelio uretral. En este estudio, la condición del epitelio uretral fue determinado a través de citología uretral. Similar al análisis de citología vaginal, los porcentajes de células parabasales en el epitelio uretral disminuyeron y el porcentaje de células superficiales aumentó en cada grupo de tratamiento. Aunque este estudio no fue diseñado para otros beneficios determinados de las vías urinarias, esta maduración uretral podría ser atribuida a estrogenización de la mucosa uretral.

35 [0085] Así, aunque los comprimidos vaginales de 25- $\mu\text{g}$  de E2 usados en este estudio aparecen afectar positivamente los epitelios uretrales y vaginales, no fueron asociados a anomalías endométricas.

Tabla 4. Características demográficas y del inicio del estudio

Característica	Grupo de tratamiento		
	25 $\mu\text{g}$ de E2 (N = 91)	10 $\mu\text{g}$ de E2 (N = 92)	Placebo (N = 47)
Edad (año) <sup>a</sup>	58,3 $\pm$ 7,4 (46-78)	57,7 $\pm$ 6,5 (46-79)	57,6 $\pm$ 4,8 (50-70)
Raza			
Blanca	88 (96,7%)	83 (90,2%)	41 (87,2%)
No blanca	3 (3,3%) <sup>b</sup>	9 (9,8%)	6 (12,8%) <sup>b</sup>
Tiempo desde la última menstruación (año) <sup>a</sup>	14,8 $\pm$ 9,6 (1-40)	13,5 $\pm$ 7,8 (1-34)	13,6 $\pm$ 8,1 (1-33)
Histerectomizado			
Sí	42 (46,2%)	44 (47,8%)	23 (48,9%)
No	49 (53,8%)	48 (52,2%)	24 (51,1%)
SD = desviación estándar			
<sup>a</sup> $\pm$ SD media (intervalo)			
<sup>b</sup> Estadísticamente significativo; $P = ,026$ (prueba de Cochran-Mantel-Haenszel)			

Tabla 5. Número y porcentaje de pacientes con valores de pH vaginal inferiores a 5,5

Punto de tiempo	Grupo de tratamiento					
	25 µg de E2		10 µg de E2		Placebo	
	n/N	(%)	n/N	(%)	n/N	(%)
Semana 0	31/90	(34,4)	27/89	(30,3)	17/46	(37,0)
Semana 2	64/87	(73,6) <sup>a</sup>	67/84	(79,8) <sup>b</sup>	21/43	(48,8)
Semana 7	71/83	(85,5) <sup>b,d</sup>	57/80	(71,3) <sup>c</sup>	23/44	(52,3)
Semana 12	63/79	(79,7) <sup>b</sup>	54/71	(76,1) <sup>b</sup>	15/38	(39,5)

Un análisis de modelo lineal de dos colas se usó para comparar grupos de tratamiento en cada punto de tiempo.

<sup>a</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo;  $P \leq 0,01$

<sup>b</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo;  $P \leq 0,001$

<sup>c</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo;  $P \leq 0,05$

<sup>d</sup> Comparación con 10 µg de 17 β-E2, estadísticamente significativo;  $P \leq 0,05$

5

Tabla 6. Resultados de la biopsia endométrica en la semana 12

Resultado	Grupo de tratamiento		
	25 µg de E2 (N = 32)	10 µg de E2 (N = 32)	Placebo (N=21)
Normal <sup>a</sup>	28 (87,5%)	25 (78,1%)	18 (85,7%)
Anormal <sup>b</sup>	1 (3,1 %)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Otros <sup>c</sup>	3 (9,4%)	7 (21,9%)	3 (14,3%)

<sup>a</sup> Resultados indicativos de un endometrio atrófico, endometrio débilmente proliferativo, endometrio proliferativo, o endometrio secretor fueron clasificados como normales.

<sup>b</sup> Resultados indicativos de hiperplasia endométrica (simple, compleja, o atípica) orcarcinoma fueron clasificados como anormales.

<sup>c</sup> Resultados indicativos de un endometrio menstrual, pólipos en las mucosas, tejido insuficiente, u otros hallazgos fueron clasificados como otros.

Tabla 1. Características demográficas y del inicio del estudio (pacientes evaluables)

Característica	Grupo de tratamiento	
	25 µg de E2 (N = 19)	10 µg de E2 (N = 23)
Edad (año) <sup>a</sup>	52.1 ± 5.6 (45-63)	54.8 ± 5.1 (48-69)
Raza		
Caucásica	16 (84.2%)	18 (78.3%)
Otra	3 (15.8%)	5 (21.7%)
Tiempo desde la última menstruación(año) <sup>a</sup>	10.7 ± 7.6 (1-25)	14.3 ± 8.7 (1-32)
Histerectomizado		
Sí	12 (63.2%)	17 (73.9%)
No	7 (36.8%)	6 (26.1%)
Concentración de E2 en la selección (pg/mL) <sup>a</sup>	7.0 ± 2.8 (3-13)	7.6 ± 3.7 (2-18)
Citología vaginal en la selección		
Células parabasales (%) <sup>a</sup>	1.9 ± 2.5 <sup>b</sup> (0-7)	8.4 ± 12.9 <sup>b</sup> à (0-48)
Células intermedias (%) <sup>a</sup>	95.2 ± 7.8 (65-100)	90.1 ± 12.4 (51-100)
Células superficiales (%) <sup>a</sup> à	2.9 ± 8.0 (0-35)	1.5 ± 1.7 (0-6)
SD = desviación estándar; E2 = estradiol		
<sup>a</sup> Datos presentados como ± SD media (intervalo).		
<sup>b</sup> Estadísticamente significativo; P = ,027 (prueba t)		

Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos de perfiles de suero de estradiol de 24 horas (pacientes evaluables)

5

Punto de tiempo	Característica farmacocinética	Grupo de tratamiento	
		25 µg de E2 (N = 19)	10 µg de E2 (N = 23)
Semana 0			
	Área bajo la curva (µg·hr/mL) <sup>a</sup>	538 ± 265	349 ± 107
	Concentración máxima (pg/mL) <sup>a</sup>	51 ± 34	35 ± 17
	Tiempo para máxima concentración (hr) <sup>a</sup>	15 ± 9	9 ± 5
	Concentración de suero para 24 horas (pg/mL)	22	15
Semana 12			
	Área bajo la curva (pg·hr/mL) <sup>a</sup>	563 ± 341	264 ± 120
	Concentración máxima (pg/mL) <sup>a</sup>	49 ± 27	22 ± 17
	Tiempo para concentración máxima (hr) <sup>a</sup>	13 ± 6	10 ± 8
	Concentración de suero para 24 horas (pg/mL)	23	11
E2 = estradiol; SD = desviación estándar			
<sup>a</sup> Datos presentados como ± SD media.			

Tabla 3. Valores de maduración y cambios del inicio del estudio medios (todos los pacientes)

Punto de tiempo	N	Grupo de tratamiento		
		25 µg de E2	N	10 µg de E2
Semana 0				
± SD media	25	52,4 ± 7,1	28	51,0 ± 6,2
Semana 12				
± SD media	20	58,4 ± 7,5	23	62,2 ± 15,7
± cambio medio	20	7,0 ± 8,7 <sup>b</sup>	23	11,2 ± 17,8 <sup>b</sup>
SD				
SD = desviación estándar				
<sup>a</sup> Estadísticamente significativo; $P \leq 0,001$ (prueba t de dos colas)				
<sup>b</sup> Estadísticamente significativo; $P \leq 0,01$ (prueba t de dos colas)				

**Ejemplo 3**

5 [0086] El tratamiento según la presente invención con dosis baja de comprimidos de 17 β-estradiol alivia los síntomas vaginales, mejora atrofia urogenital (salud vaginal) e incrementa maduración de los epitelios vaginales y uretrales (mucosa) sin crecimiento anormal endométrico.

10 **Objetivos:**

[0087] Comprimidos vaginales con 25 o 10 µg de 17 β-estradiol (aquí designado E2) o placebo fueron evaluados y comparados en mujeres postmenopáusicas con vaginitis atrófica.

15 **Métodos:**

[0088] En un estudio de grupos paralelos con placebo controlado de doble ciego aleatorizado y multicentral, 230 mujeres postmenopáusicas recibieron tratamiento con 25 o 10 µg de E2 o placebo durante 12 semanas. La eficacia fue medida con puntuaciones compuestas de síntomas vaginales (sequedad, dolor e irritación) y salud vaginal (secreciones, integridad epitelial, espesor de la superficie y pH). Análisis de citología uretral y vaginal fueron también realizados y el valor de maduración vaginal fue determinado. Valoraciones de seguridad incluyeron biopsias endométricas.

20 **Resultados:**

[0089] Mejoras mayores en puntuaciones compuestas para síntomas vaginales y características de salud vaginal se informó para pacientes en los grupos de tratamiento activos con respecto al grupo de placebo. Mejoras significativamente mayores se informaron en las semanas 7 y 12 ( $P \leq 0,05$ ). En la semana 12, sobre un 75% de pacientes en los grupos de tratamiento activos tuvieron valores de pH vaginal inferiores a 5,5 en comparación con aproximadamente un 40% de pacientes en el grupo de placebo. Ambos análisis de citología uretral y vaginal indicaron aumentos mayores en porcentajes de células superficiales en los grupos de tratamiento activos que en el grupo de placebo. Correspondientemente, aumentos en el valor de maduración vaginal fueron mayores en los grupos de tratamiento activos que en el grupo de placebo. Un paciente que recibió 25 µg de E2 tuvo un resultado de biopsia anormal.

35 **Conclusiones:**

[0090] Los comprimidos vaginales 25- y 10-µg de E2 proporcionaron alivio de síntomas vaginales, salud vaginal mejorada y maduración de la mucosa uretral y vaginal aumentada sin crecimiento endométrico anormal.

40 **Introducción**

[0091] Mientras la producción de estrógenos endógenos se reduce durante la menopausia, la vagina y otros tejidos dependientes de estrógeno gradualmente experimentan cambios atróficos. La pérdida de maduración celular influida por estrógeno produce una condición identificada como vaginitis atrófica. Los síntomas de vaginitis atrófica incluyen sequedad, dolor, irritación y dispareunia. Además, el epitelio vaginal se vuelve más susceptible a infección y a inflamación secundaria. Terapia oral de estrógeno ha sido asociada a efectos secundarios metabólicos al igual que hiperplasia de mama y endométrica.

[0092] Novo Nordisk ha desarrollado Vagifem™, un comprimido vaginal de estrógeno de dosis baja que contiene 25 µg de E2 en una matriz hidrofílica a base de celulosa. Estudios farmacocinéticos de Vagifem™ han mostrado que en un epitelio vaginal atrófico, E2 administrado vaginalmente es absorbido fácilmente, pero después de normalización y maduración del epitelio, la E2 absorción es reducida significativamente.

[0093] Este estudio evaluó y comparó la eficacia y seguridad de los comprimidos vaginales con 25 o 10 µg de E2 o placebo durante 12 semanas de terapia para atrofia vaginal.

## MÉTODOS Y MATERIALES

[0094] Esta fase III, el estudio de grupos paralelos con placebo controlado de doble ciego aleatorizado y multicentral fue conducido en 9 centros en los Estados Unidos. El estudio fue aprobado por las juntas de revisión institucionales apropiadas, y consentimiento informado se obtuvo de cada paciente antes del comienzo de los procedimientos del estudio. El estudio fue conducido conforme a la declaración de Helsinki de 1975, modificada en 1983.

[0095] Mujeres de al menos 45 años de edad o mayores con sequedad vaginal de moderada a severa y dolor fueron inscritas. Todos los pacientes se requirió que tuvieran concentraciones de suero E2 de 20 pg/mL o menos y tienen no más de 5% de células superficiales vaginales. Pacientes con úteros intactos fueron también requeridos para estar al menos 12 meses después de menopausia natural con un espesor endométrico de 5 mm o menos.

[0096] Pacientes con niveles de creatinina mayores de 1,4 mg/dL, niveles de bilirrubina mayores de 1,2 mg/dL, niveles de aspartato-aminotransferasa mayores de 50 U/L, o niveles de hemoglobina menores de 11,5 g/dL fueron excluidos del estudio. Pacientes con una historia conocida o sospechosa de carcinoma de mama, tumor dependiente de hormona, sangrado genital de etiología desconocida, tromboflebitis aguda o trastorno tromboembólico asociado a uso de estrógenos, infección vaginal requiriendo tratamiento, alergia al fármaco de prueba o sus ingredientes, o cualquier enfermedad seria o condición crónica que podría interferir con el cumplimiento del estudio fueron también excluidos del estudio. El uso de un fármaco investigacional en los 30 días precedentes a la selección, cualquier preparación homeopática en los 7 días precedentes a la iniciación del fármaco de estudio, cualquier corticoesteroide exógeno u hormonas sexuales en las 8 semanas precedentes a la iniciación del fármaco de estudio o dietilestilbestrol se prohibieron.

[0097] El propósito de este estudio fue comparar 25 y 10 µg de E2 y placebo. Usando un plan de aleatorización generado por ordenador, sujetos (pacientes) fueron aleatorizados usando una proporción 2:2:1 para recibir comprimidos vaginales que contenían 25 µg de E2, 10 µg de E2, o placebo. Todos los comprimidos vaginales fueron idénticos en apariencia. Los pacientes se insertaron 1 pastilla a diario durante 14 días. Luego, los pacientes se insertaron 1 pastilla dos veces por semana (domingo y jueves) durante el resto de la prueba. Los pacientes se insertaron los comprimidos en el mismo momento del día (preferiblemente a la hora de acostarse). Pacientes fueron evaluados para eficacia y seguridad en la semana - 4 (selección), semana 0 (inicio del estudio) y semanas 2, 7 y 12.

[0098] Valoraciones de eficacia incluyeron valoraciones de pacientes de síntomas de vaginitis atroficas, valoraciones de investigadores de salud vaginal y citología uretral y vaginal. Los pacientes usaron valoraciones de intensidad de nada, leve, moderado, o severo para evaluar síntomas de vaginitis atrofica (sequedad, dolor, irritación, dispareunia y flujo vaginal). Valoraciones de intensidad fueron asignadas a puntuaciones ascendentes de 0 (nada) a 3 (severo) para análisis. Una puntuación compuesta para síntomas de vaginitis atrofica fue definida como el promedio de las puntuaciones de síntoma individuales para sequedad, dolor e irritación. Esta puntuación compuesta no incluye puntuaciones para dispareunia (que no fue evaluada por todos los pacientes) o flujo vaginal (que fue estimado como nada o medio por la mayoría de pacientes). La puntuación compuesta y el cambio del inicio del estudio para la puntuación compuesta fueron examinados en cada punto de tiempo. Diferencias dentro de y entre grupos de tratamiento fueron analizadas usando un análisis de varianza (ANOVA).

[0099] Los investigadores usaron una escala de gravedad de nada, leve, moderado, o severo para valorar características de salud vaginales (secreciones, integridad epitelial, espesor de superficie, color y pH). Categorías de gravedad fueron asignadas a puntuaciones ascendentes de 0 (nada) a 3 (severo) para análisis. Para evitar problemas de criterio de evaluación múltiples, puntuaciones compuestas fueron definidas. Una puntuación compuesta para salud vaginal fue definida como el promedio de las puntuaciones de características de salud vaginal individuales. La puntuación compuesta y el cambio del inicio del estudio para la puntuación compuesta fueron examinados en cada punto de tiempo. Diferencias dentro de y entre grupos de tratamiento fueron analizadas usando un análisis de varianza (ANOVA).

[0100] Muestras de célula uretrales y vaginales fueron recolectadas y analizadas por citólogos independientes para determinar los porcentajes de células parabasales, intermedias y superficiales. Los valores de maduración fueron calculados según la siguiente ecuación:

$$\text{valor de maduración} = 1,0 [\text{células superficiales, \%}] + 0,5 [\text{células intermedias, \%}]$$

Biopsias endométricas fueron realizadas al final del estudio en pacientes con úteros intactos. El número de pacientes con biopsias anormales fue comparado entre grupos de tratamiento.

## RESULTADOS

5

[0101] Un total de 91 mujeres recibieron 25 µg de E2, 92 mujeres recibieron 10 µg de E2, y 47 mujeres recibieron placebo. Características demográficas y del inicio del estudio no han diferido significativamente entre grupos de tratamiento, con la excepción de la raza (tabla 4). El porcentaje de pacientes no blancos fue significativamente inferior en el grupo 25-µg E2 que en el grupo de placebo ( $P = ,026$ , prueba de Cochran-Mantel-Haenszel). Nueve pacientes (9,9%) en el grupo 25-µg de E2, 18 pacientes (19.6%) en el grupo 10-µg de E2, y 8 pacientes (17,0%) en el grupo de placebo se retiraron prematuramente del estudio.

10

[0102] Los perfiles de puntuación compuesta de síntoma vaginal entre las semanas 0 y 12 se presentan en la figura 6. En la semana 0, las puntuaciones compuestas de síntoma vaginal midieron aproximadamente 1,9 en cada grupo de tratamiento. En las semanas 2, 7 y 12, puntuaciones compuestas de síntoma vaginal fueron significativamente inferiores a los valores del inicio del estudio correspondientes para cada grupo de tratamiento ( $P \leq ,001$  prueba t pareada de dos colas). En los grupos de tratamiento activos (los grupos 25- y 10-µg de E2), puntuaciones compuestas de síntoma vaginal continuaron para reducirse después de la semana 0 y midieron aproximadamente 0,5 y 0,6 en la semana 12, respectivamente. En cambio, en el grupo de placebo, las puntuaciones de síntomas vaginales se mantuvieron casi constantes después de la semana 0 y midieron aproximadamente 1,1. En las semanas 7 y 12, las diferencias del inicio del estudio observadas en los grupos de tratamiento activos fueron significativamente mayores que aquellas observadas en el grupo de placebo ( $P \leq ,01$  y  $P \leq ,05$  en los grupos 25- y 10-µg de E2, respectivamente; análisis de modelo lineal de dos colas).

15

20

25

[0103] Los perfiles de puntuación compuesta de salud urogenital (vaginal) entre las semanas 0 y 12 se presentan en la figura 7. En la semana 0, las puntuaciones compuestas de salud vaginal midieron aproximadamente 1,7 en cada grupo de tratamiento. En las semanas 2, 7 y 12, puntuaciones compuestas de salud vaginal fueron significativamente inferiores a los valores del inicio del tratamiento correspondientes para cada grupo de tratamiento ( $P \leq ,01$  prueba t pareada de dos colas). En las semanas 2, 7 y 12, las reducciones en las puntuaciones compuestas de salud vaginal observadas en los grupos de tratamiento activos fueron significativamente mayores que aquellas observadas en el grupo de placebo ( $P \leq ,001$  análisis de modelo lineal de dos colas). En la semana 7, la reducción en la puntuación compuesta de salud vaginal fue significativamente mayor en el grupo 25-µg de E2 que en el 10-µg de E2 ( $P = ,004$ , análisis de modelo lineal de dos colas).

30

35

[0104] El número y porcentaje de pacientes con valores de pH vaginal inferiores a 5,5 en las semanas 0, 2, 7 y 12 se presentan en la tabla 5. En la semana 0, aproximadamente un 35% de pacientes en cada grupo de tratamiento tuvo valores de pH vaginal inferiores a 5,5. En las semanas 2, 7 y 12, el porcentaje de pacientes con valores de pH vaginal inferiores a 5,5 aumentó de los porcentajes del inicio del estudio para cada grupo de tratamiento. Estos aumentos fueron significativamente mayores para pacientes en los grupos de tratamiento activos que en el grupo de placebo ( $P \leq ,05$  análisis de modelo lineal de dos colas). En la semana 12, sobre un 75% de pacientes en los grupos de tratamiento activos y aproximadamente un 40% de pacientes en el grupo de placebo tuvo valores de pH vaginal inferiores a 5,5.

40

[0105] El porcentaje de células superficiales del análisis de la citología vaginal en las semanas 0, 2, 7 y 12 se presentan en la figura 8. En todo el puntos de tiempo después de la semana 0, sujetos en los grupos de tratamiento activos mostraron aumentos o bien significativos ( $P \leq ,05$ ) o tendencias en dirección a aumentos en el porcentaje de células superficiales comparados con sujetos en el grupo de placebo. Estos aumentos se presentan en la tabla 7.

45

[0106] Los valores de maduración de la semana 0 a la 12 se presentan en la figura 9. En la semana 0, los valores de maduración midieron aproximadamente 45% en cada grupo de tratamiento. En cada punto de tiempo, los valores de maduración fueron significativamente superiores a los valores del inicio del estudio correspondientes para cada grupo de tratamiento ( $P \leq ,01$  prueba t pareada de dos colas). Los aumentos del inicio del estudio fueron mayores en los grupos de tratamiento activos que en el grupo de placebo. En la semana 12, los valores de maduración midieron aproximadamente 60% en los grupos de tratamiento activos y aproximadamente 55% en el grupo de placebo. En las semanas 2 y 7, los aumentos en los valores de maduración observados en el grupo 25-µg de E2 fueron significativamente mayores que aquellos observados en el grupo de placebo ( $P \leq ,05$  análisis de modelo lineal de dos colas). En la semana 2, el aumento en el valor de maduración observado en el grupo 10-µg de E2 fue significativamente mayor que el observado en el grupo de placebo ( $P = ,001$  análisis de modelo lineal de dos colas).

50

55

[0107] El porcentaje de células superficiales del análisis de citología uretral en las semanas 0, 2, 7 y 12 se presentan en la figura 10. En todo el puntos de tiempo después de la semana 0, sujetos en los grupos de tratamiento activos mostraron aumentos o bien significativos ( $P \leq ,05$ ) o tendencias en dirección a aumentos en el porcentaje de células superficiales comparados con sujetos en el grupo de placebo. Estos aumentos se presentan en la tabla 8.

60

[0108] El porcentaje de células uretrales y vaginales superficiales en las semanas 0 y 12 se presentan en las figuras 11 (a),(b) y (c) para los grupos 25- y 10-µg de E2 y el grupo de placebo, respectivamente. En la semana 0, la

65

mayoría de los sujetos en cada grupo de tratamiento tuvo porcentajes de ambas células uretrales vaginales superficiales menores o iguales a 5% (57 sujetos [81 %], 53 sujetos [85 %] y 34 sujetos [97 %] en los grupos 25- y 10- $\mu$ g de E2 y el grupo de placebo, respectivamente). En la semana 12, más sujetos en los grupos de tratamiento activos que en el grupo de placebo tuvieron aumentos en porcentajes de ambas células uretrales y vaginales superficiales (52 sujetos [74 %], 44 sujetos [71 %] y 21 sujetos [60 %] en los grupos 25- y 10- $\mu$ g de E2 y el grupo de placebo, respectivamente).

[0109] Los resultados de la biopsia endométrica en la semana 12 se presentan en la tabla 6. De sujetos con biopsias que produjeron suficiente tejido, 1 sujeto en el grupo 25- $\mu$ g de E2 mostró hiperplasia simple sin atipia. No obstante, no hubo ninguna biopsia de pretratamiento para comparación.

[0110] Los porcentajes de las células parabasales, intermedias y superficiales del análisis de citología vaginal en las semanas 0, 2, 7 y 12 se presentan en la figura 12. En la mayoría de los casos, los porcentajes de células en cada categoría cambió significativamente de los valores del inicio del estudio correspondientes ( $P \leq 0,01$  prueba t pareada de dos colas). En cada punto de tiempo, el porcentaje de células superficiales aumentó. En las semanas 2 y 7, los aumentos en el porcentaje de células superficiales observados en el grupo 25- $\mu$ g de E2 fueron significativamente mayores que aquellos observados en el grupo de placebo ( $P \leq 0,003$  análisis de modelo lineal de dos colas). En las semanas 2 y 12, las diferencias en el porcentaje de células superficiales observadas en el grupo 10- $\mu$ g de E2 fueron significativamente mayores que aquellas observadas en el grupo de placebo ( $P \leq 0,035$  análisis de modelo lineal de dos colas).

[0111] Los porcentajes de células parabasales, intermedias y superficiales del análisis de citología uretral en las semanas 0, 2, 7 y 12 se presentan en la figura 13. En la mayoría de los casos, los porcentajes de células parabasales y superficiales cambiaron significativamente de los valores del inicio del estudio correspondientes ( $P \leq 0,05$  análisis de modelo lineal de dos colas). Generalmente, el porcentaje de células superficiales aumentó y los porcentajes de células parabasales e intermedias disminuyeron. En las semanas 2 y 7, los aumentos en el porcentaje de células superficiales observados en el grupo 25- $\mu$ g de E2 fueron significativamente mayores que aquellos observados en el grupo de placebo ( $P \leq 0,044$  análisis de modelo lineal de dos colas). En la semana 2, los aumentos en el porcentaje de células superficiales observados en el grupo 10- $\mu$ g de E2 fueron significativamente mayores que aquellos observados en el grupo de placebo ( $P \leq 0,018$  análisis de modelo lineal de dos colas).

## CONCLUSIONES

[0112] En este estudio de 12 semanas, tratamiento con comprimidos de o bien 25- o 10- $\mu$ g de E2 provocaron una mejora mayor en síntomas vaginales (como evaluados por los pacientes) y salud vaginal (como evaluada por los investigadores) que el tratamiento con placebo. En cada punto de tiempo después del inicio del estudio, mejoras en las puntuaciones compuestas de salud urogenital (vaginal) fueron significativamente superiores en el grupo activo (25- $\mu$ g y 10- $\mu$ g de E2) que en el grupo de placebo ( $P \leq 0,01$ ). En cada punto de tiempo después de 2 semanas de tratamiento, mejoras en las puntuaciones compuestas de síntomas vaginales fueron también significativamente superiores ( $P \leq 0,05$ ). Además, sujetos en los grupos de tratamiento activos tuvieron aumentos estadísticamente significativos ( $P \leq 0,05$ ) o tendencias en dirección a aumentos en el porcentaje de células vaginales superficiales comparados con sujetos en el grupo de placebo. En este estudio, tratamiento con 25- o 10- $\mu$ g de E2 provocó mejoras comparables como evaluadas por ambos pacientes e investigadores.

[0113] Mejoras en los síntomas de vaginitis atrófica se hicieron físicamente evidentes y se manifestaron como cambios en la mucosa vaginal. La condición de la mucosa vaginal se puede determinar a través de mediciones de citología vaginal y valor de maduración. En este estudio, los porcentajes de células inmaduras parabasales e intermedias disminuyeron, en consecuencia, aumentando los porcentajes de células superficiales más maduras en cada grupo de tratamiento. Estos cambios se reflejan en aumentos significativos sobre valores del inicio del tratamiento en el valor de maduración en cada grupo de tratamiento ( $P \leq 0,01$ ). Después de 12 semanas de tratamiento, los valores de maduración para pacientes en los grupos 25- o 10- $\mu$ g de E2 fueron aproximadamente 60%, mientras los valores de maduración para pacientes en el grupo de placebo fueron aproximadamente 55%.

[0114] Una segunda medición clínica de actividad vaginal es el pH vaginal, un componente de la puntuación compuesta de salud urogenital (vaginal). Mientras la producción de estrógeno se reduce después de la menopausia, lactobacilos, que producen ácido láctico de glicógeno vaginal, desaparecen de la flora vaginal y aumenta el pH vaginal. En consecuencia, valores de pH vaginal mayores se asocian con un defecto de estrógeno en la mucosa vaginal. En este estudio aproximadamente el doble de pacientes que recibieron 25 o 10  $\mu$ g de E2 con respecto a los que recibieron placebo tuvieron valores de pH vaginal inferiores a 5,5 después de 12 semanas de tratamiento (75 % frente a 40%, respectivamente). Los resultados del análisis de citología vaginal y pH indican un efecto positivo de los comprimidos vaginales 25- y 10- $\mu$ g de E2 en la estrogenización del epitelio vaginal (mucosa).

[0115] Las partes inferiores de los tractos urinarios y vaginales tienen el mismo origen embrionario, y trastornos del tracto genital como vaginitis atrófica están acompañados frecuentemente por cambios atróficos en las vías urinarias que pueden incluir disuria, incontinencia por estrés e infecciones de las vías urinarias. En consecuencia, la terapia de estrógeno puede también tener un efecto en el epitelio uretral. En este estudio, la condición del epitelio uretral fue

determinado a través de citología uretral. Similar al análisis de citología vaginal, los porcentajes de células parabasales en el epitelio uretral disminuyeron y el porcentaje de células superficiales aumentó para cada grupo de tratamiento. Aunque este estudio no fue diseñado para además determinar beneficios para las vías urinarias, esta maduración uretral podría ser atribuida a estrogenización de la mucosa uretral.

5 [0116] Así, aunque los comprimidos vaginales de 25- $\mu$ g de E2 usados en este estudio parecen afectar positivamente los epitelios uretrales y vaginales, estos no estaban asociados a anomalías endométricas.

10 Tabla 4. Características demográficas y del inicio del estudio

Características	Grupo de tratamiento		
	25 $\mu$ g de E2 (N = 91)	10 $\mu$ g de E2 (N = 92)	Placebo (N = 47)
Edad (año) <sup>a</sup>	58,3 $\pm$ 7,4 (46-78)	57,7 $\pm$ 6,5 (46-79)	57,6 $\pm$ 4,8 (50-70)
Raza			
Blanca	88 (96,7%)	83 (90,2%)	41 (87,2%)
No blanca	3 (3,3%) <sup>b</sup>	9 (9,8%)	6 (12,8%) <sup>b</sup>
Tiempo desde la última menstruación (año) <sup>a</sup>	14,8 $\pm$ 9,6 (1-40)	13,5 $\pm$ 7,8 (1-34)	13,6 $\pm$ 8,1 (1-33)
Histerectomizado			
Sí	42 (46,2%)	44 (47,8%)	23 (48,9%)
No	49 (53,8%)	48 (52,2%)	24 (51,1%)
SD = desviación estándar			
<sup>a</sup> $\pm$ SD media (intervalo)			
<sup>z</sup> Estadísticamente significativo; <i>P</i> = ,026 (prueba de Cochran-Mantel-Haenszel)			

Tabla 5. Número y porcentaje de pacientes con valores de pH vaginal inferiores a 5,5

Punto de tiempo	Grupo de tratamiento					
	25 $\mu$ g de E2		10 $\mu$ g de E2		Placebo	
	n/N	(%)	n/N	(%)	n/N	(%)
Semana 0	31/90	(34,4)	27/89	(30,3)	17/46	(37,0)
Semana 2	64/87	(73,6) <sup>a</sup>	67/84	(79,8) <sup>b</sup>	21/43	(48,8)
Semana 7	71/83	(85,5) <sup>b,d</sup>	57/80	(71,3) <sup>c</sup>	23/44	(52,3)
Semana 12	63/79	(79,7) <sup>b à</sup>	54/71	(76,1) <sup>b</sup>	15/38	(39,5)
Un análisis de modelo lineal de dos colas se usó para comparar grupos de tratamiento en cada punto de tiempo.						
<sup>a</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo; <i>P</i> $\leq$ ,01						
<sup>b</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo; <i>P</i> $\leq$ ,001						
<sup>c</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo; <i>P</i> $\leq$ ,05						
<sup>d</sup> Comparación con 10 $\mu$ g de 17 $\beta$ -E2, estadísticamente significativo; <i>P</i> $\leq$ ,05						

Tabla 6. Resultados de biopsia endométrica en la semana 12

Resultado	Grupo de tratamiento		
	25 µg de E2 (N = 32)	10 µg de E2 (N = 32)	Placebo (N = 21)
Normal <sup>a</sup>	28 (87,5%)	25 (78,1 %)	18 (85,7%)
Anormal <sup>b</sup>	1 (3,1%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Otros <sup>c</sup>	3 (9,4%)	7 (21,9%)	3 (14,3%)

<sup>a</sup> Resultados indicativos de un endometrio atrófico, endometrio débilmente proliferativo, endometrio proliferativo, o endometrio secretor fueron clasificados como normales.

<sup>b</sup> Resultados indicativos de hiperplasia endométrica (simple, compleja, o atípica) orcarcinoma fueron clasificados como anormales.

<sup>c</sup> Resultados indicativos de un endometrio menstrual, pólipos en las mucosas, tejido insuficiente, u otros hallazgos fueron clasificados como otros.

5

Tabla 7. Media y cambio medio del inicio del estudio en el porcentaje de células vaginales superficiales

Punto de tiempo	Grupo de tratamiento								
	25 µg de E2			10 µg de E2			Placebo		
	N	Media	Cambio	N	Media	Cambio	N	Media	Cambio
Semana 0	86	4,0		79	3,1		45	4,3	
Semana 2	85	34,2	30,7 <sup>a</sup>	76	28,3	25,0 <sup>a</sup>	42	13,1	8,6
Semana 7	80	28,2	23,9 <sup>b,c</sup>	72	20,4	17,1	41	15,1	10,4
Semana 12	75	19,9	15,4	68	20,1	16,9 <sup>d</sup>	36	1,8	9,0

Un análisis de modelo lineal de dos colas se usó para comparar grupos de tratamiento en cada punto de tiempo.

<sup>a</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo; P≤0,001

<sup>b</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo; P≤,01

<sup>c</sup> Comparación con 10 µg de E2, estadísticamente significativo; P≤,05

<sup>d</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo; P≤,05

Tabla 8. Media y cambio medio del inicio del estudio en el porcentaje de células uretrales superficiales

Punto de tiempo	Grupo de tratamiento								
	25 µg E2			10 µg E2			Placebo		
	N	Media	Cambio	N	Media	Cambio	N	Media	Cambio
Semana 0	86	3,2		83	2,5		42	3,0	
Semana 2	83	21,9	19,2 <sup>a,b</sup>	79	16,7	14,1 <sup>c</sup>	34	6,5	3,3
Semana 7	77	17,6	14,2 <sup>d</sup>	70	13,5	10,7	38	8,6	5,5
Semana 12	70	11,2	7,5	64	9,5	6,8	34	7,0	3,6

Un análisis de modelo lineal de dos colas se usó para comparar grupos de tratamiento en cada punto de tiempo.

<sup>a</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo; P≤,001

<sup>b</sup> Comparación con 10 µg de E2, estadísticamente significativo; P≤,05

<sup>c</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo; P≤,01

<sup>d</sup> Comparación con placebo, estadísticamente significativo; P≤,05

**Ejemplo 4**

- 5 **Producción de comprimidos con 10 µg**
- Suspensión de estradiol
- 10 [0117] 10,3 g de estradiol hemihidrato (equivalente a 10,0 g estradiol, anhidro) se suspenden en una solución de hipromelosa (14,8 g) en agua purificada (15,6 L) mientras agitación.
- Granulación
- 15 [0118] Mezcla, granulación y secado se realizan en un lecho fluido.
- [0119] Hipromelosa (53,69 kg), monohidrato de lactosa (17,90 kg) y almidón de maíz (8.00 kg) se aspiran en el lecho fluido a través de un tamiz y luego se mezclan.
- 20 [0120] La granulación se desarrolla pulverizando la suspensión de estradiol en la mezcla de excipientes. Después de la pulverización, el granulado es seco.
- Mezcla
- 25 [0121] Tamizado se realiza y estearato de magnesio (400 g) se mezcla en el granulado
- Compresión
- 30 [0122] Los comprimidos son comprimidos usando una prensa rotatoria de tabletas.
- Preparación de solución de recubrimiento de película
- [0123] Hipromelosa (400 g) y macrogol 6000 (50 g) son disueltos en agua purificada (9,55 kg)
- 35 Recubrimiento de película
- [0124] En un recipiente de recubrimiento, los comprimidos se revisten con la solución de recubrimiento (0,576 mg sustancia seca /comprimido), usando un sistema de pulverización atomizador de aire. Después, muestreo de recubrimiento de comprimidos para liberar análisis se desarrolla.
- 40 Explicación de las figuras
- [0125]
- 45 Figura 1. Concentraciones de suero de estradiol en la semana 0.  
 ---□--- 25 µg de E2      ● 10 µg de E2

Figura 2. Concentraciones de suero de estradiol en la semana 12.

--□-- 25 µg de E2      ● 10 µg de E2

Figura 3. Área bajo la curva de suero de estradiol en las semanas 0 y 12.

5 □ 25 µg de E2      ● 10 µg de E2

Figura 4. Área bajo la curva de suero de estradiol y concentración de suero FSH en la semana 12.

□ 25 µg de E2      ● 10 µg de E2

Figura 5. Área bajo la curva de suero de estradiol y valor de maduración en la semana 12.

Los valores de maduración en el inicio del estudio fueron 52,4 en el grupo 25-µg de E2 y 51,0 en el grupo 10-µg de E2.

□ 25 µg de E2      ● 10 µg de E2

Figura 6. Perfiles de puntuación compuesta de síntomas vaginales- sujetos que recibieron al menos 1 dosis de medicación del estudio, tuvieron evaluación en el inicio del estudio, y tuvieron al menos 1 evaluación después del inicio del estudio

---●--- placebo      -□- E2 a 10 µg      -σ- E2 a 25 µg

Figura 7. Perfiles de puntuación compuesta de salud vaginal - sujetos que recibieron al menos 1 dosis de medicación de estudio, tuvieron evaluación en el inicio del estudio y tuvieron al menos 1 evaluación después del inicio del estudio

---●--- Placebo      -□- E2 a 10 µg      -σ- E2 a 25 µg

Figura 8. Resultados de citología vaginal (porcentaje de células superficiales) - sujetos que recibieron al menos 1 dosis de medicación del estudio, tuvieron evaluación en el inicio del estudio y tuvieron al menos 1 evaluación después del inicio del estudio.

▣ 10 µg de E2      □ superficial      v 25 µg de E2

Figura 9. Valores de maduración - sujetos que recibieron al menos 1 dosis de la medicación del estudio, tuvieron evaluación en el inicio del estudio, y tuvieron al menos 1 evaluación después del inicio del estudio

---●--- placebo      -□- E2 a 10 µg      -σ- E2 a 25 µg

Figura 10. Resultados de citología uretral - sujetos que recibieron al menos 1 dosis de la medicación del estudio, tuvieron evaluación en el inicio del estudio, y tuvieron al menos 1 evaluación después del inicio del estudio

▣ 10 µg de E2      □ Placebo      v 25 µg de E2

Figura 11. Porcentajes de células uretrales y vaginales superficiales - sujetos que tuvieron valoraciones celulares vaginales y uretrales superficiales en las semanas 0 y 12

(a) 25 µg de E2

(b) 10 µg de E2

(c) Placebo

Figura 12. Resultados de citología vaginal

v Parabasal      ▣ Intermedio      □ Superficial

(a) Placebo

(b) 10 µg de E2

(c) 25 µg de E2

Figura 13. Resultados de citología uretral

v Parabasal      ▣ Intermedio      □ Superficial

(d) Placebo

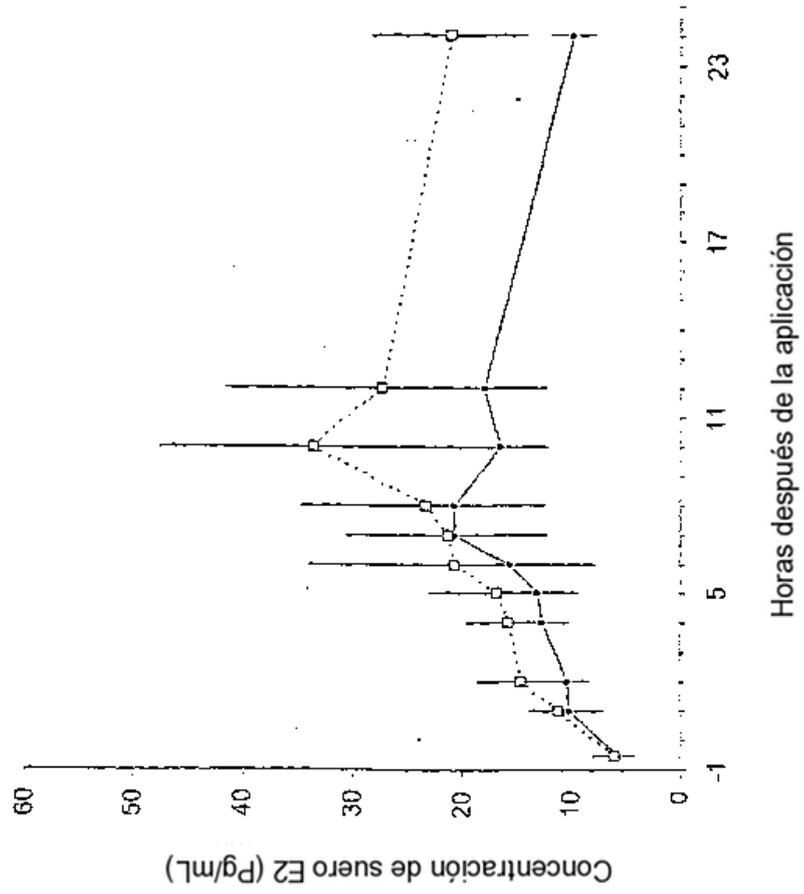
(e) 10 µg de E2

(f) 25 µg de E2

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Uso de un estrógeno en la producción de una composición de comprimido conteniendo estrógeno para el tratamiento de la vaginitis atrófica en una mujer donde de 9 a 11 µg de estradiol son administrados dos veces a la semana.
2. Uso según la reivindicación precedente, proporcionando efectos positivos en un epitelio vaginal atrófico.
- 10 3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, proporcionando una maduración vaginal completa o sustancial.
4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, proporcionando un riesgo reducido de osteoporosis.
- 15 5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, proporcionando aumentos en el porcentaje de células vaginales superficiales.
6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, proporcionando un valor de pH vaginal inferior a 5,5.
- 20 7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, proporcionando todas o la mayor parte de las siguientes características: alivio de síntomas vaginales, mejora de la atrofia urogenital, disminución del pH vaginal y una mejora de la maduración citológica de la mucosa vaginal y uretral.
- 25 8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, dando un efecto clínico en síntomas vaginales que es tan bueno como el obtenido mediante la administración de un comprimido con 25 µg de 17β-estradiol dos veces a la semana.

Fig. 1



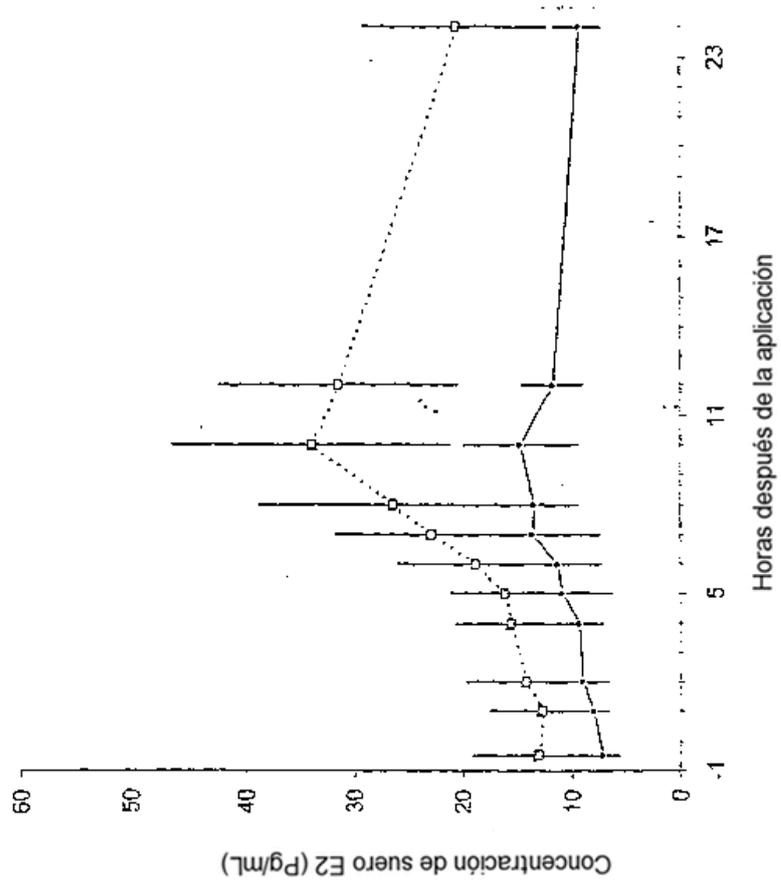
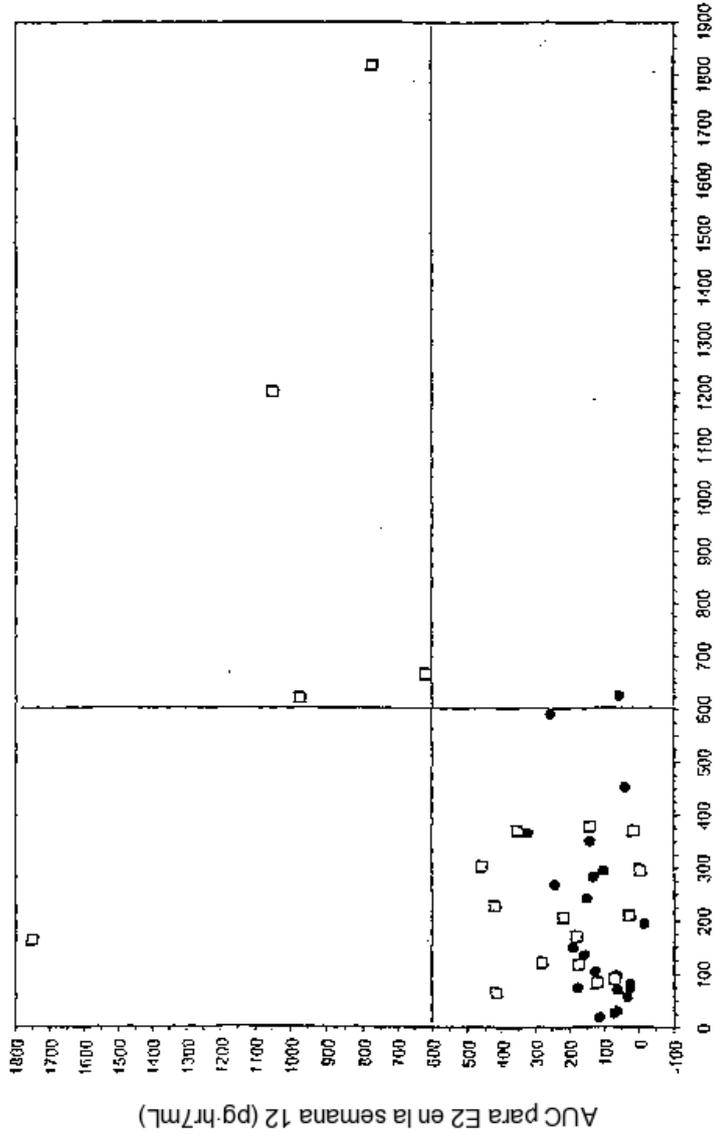


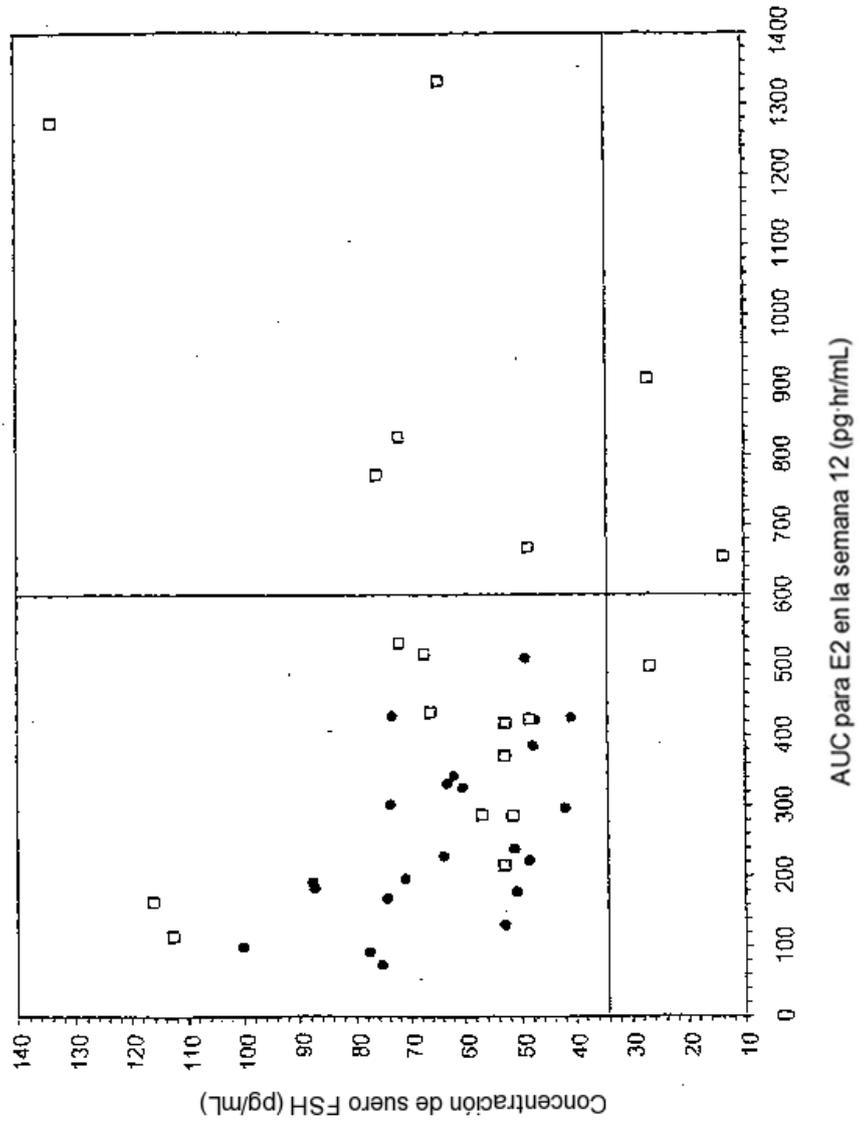
Fig. 2



AUC para E2 en la semana 0 (pg·hr/mL)

Fig. 3

Fig. 4



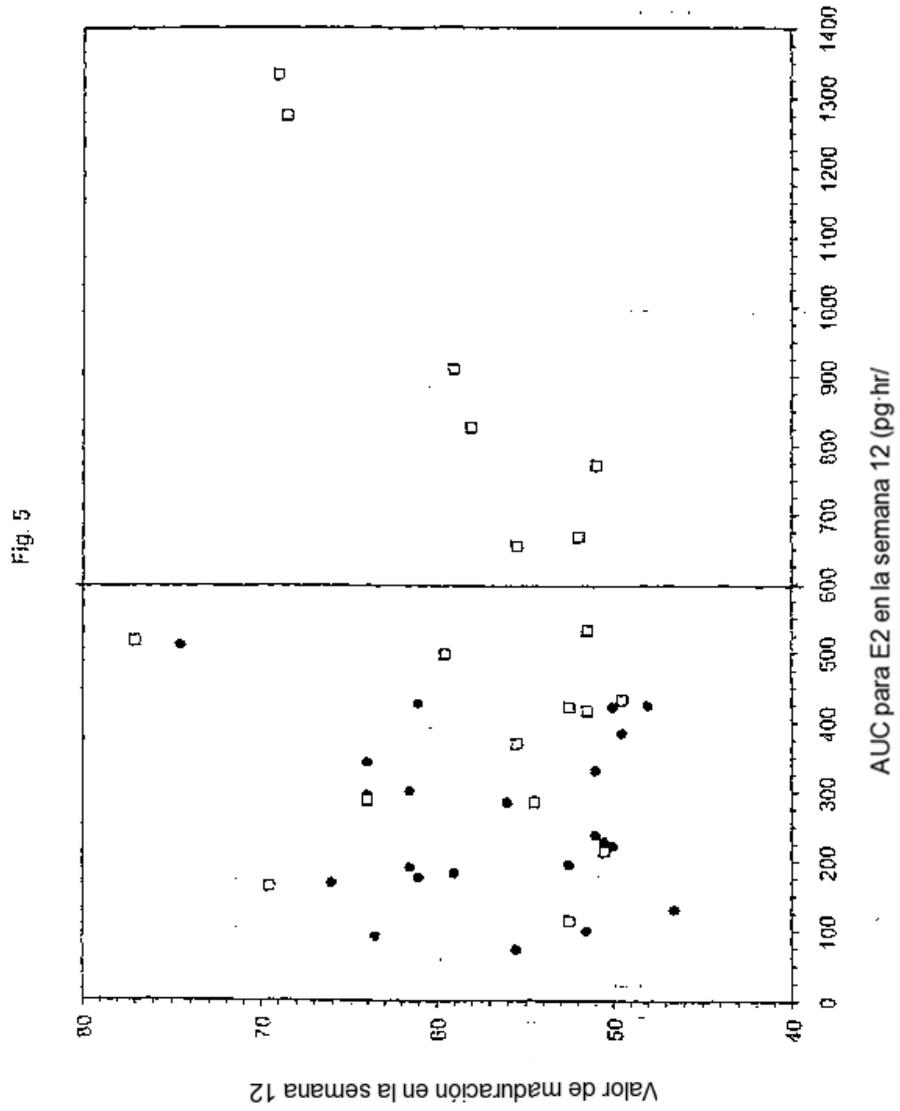


Fig. 6

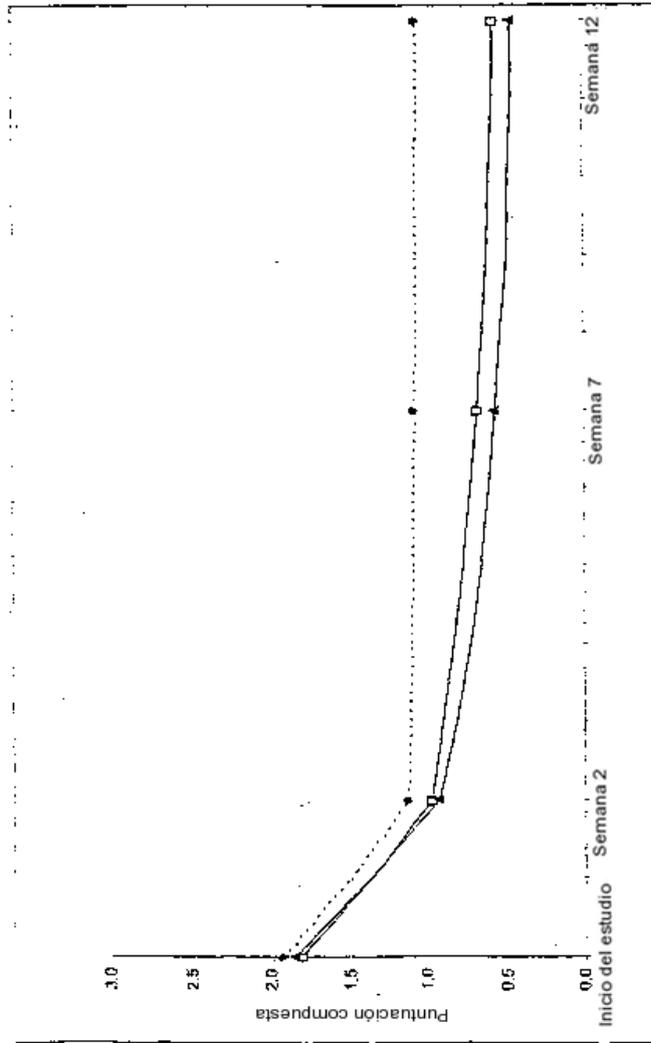
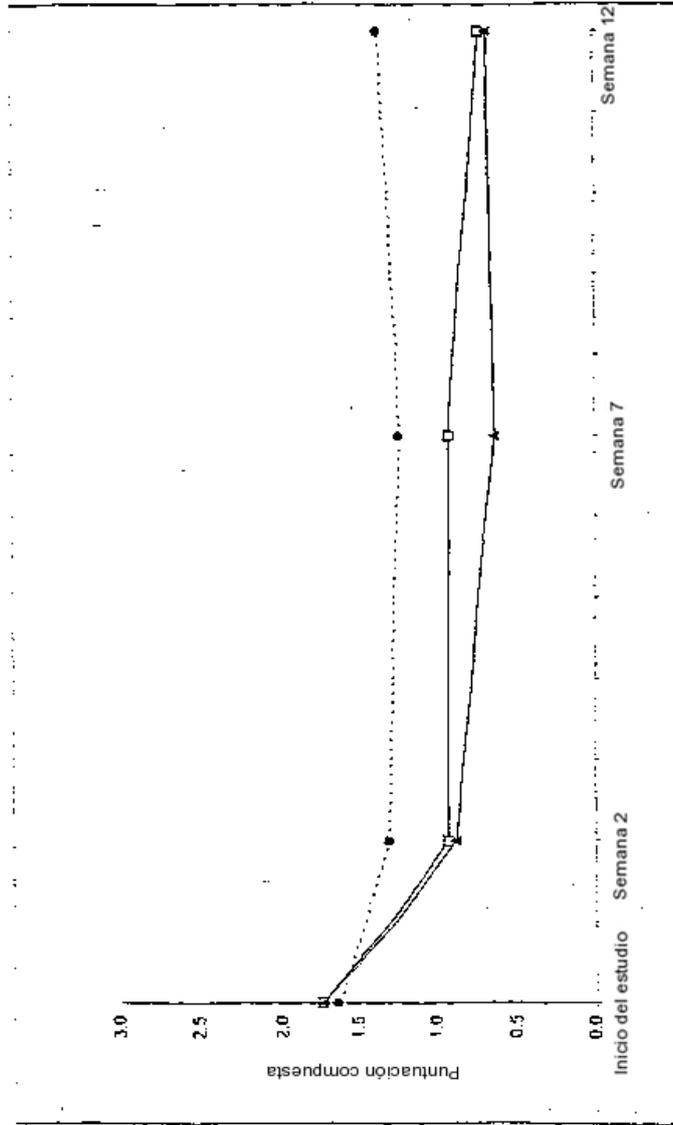


Fig. 7



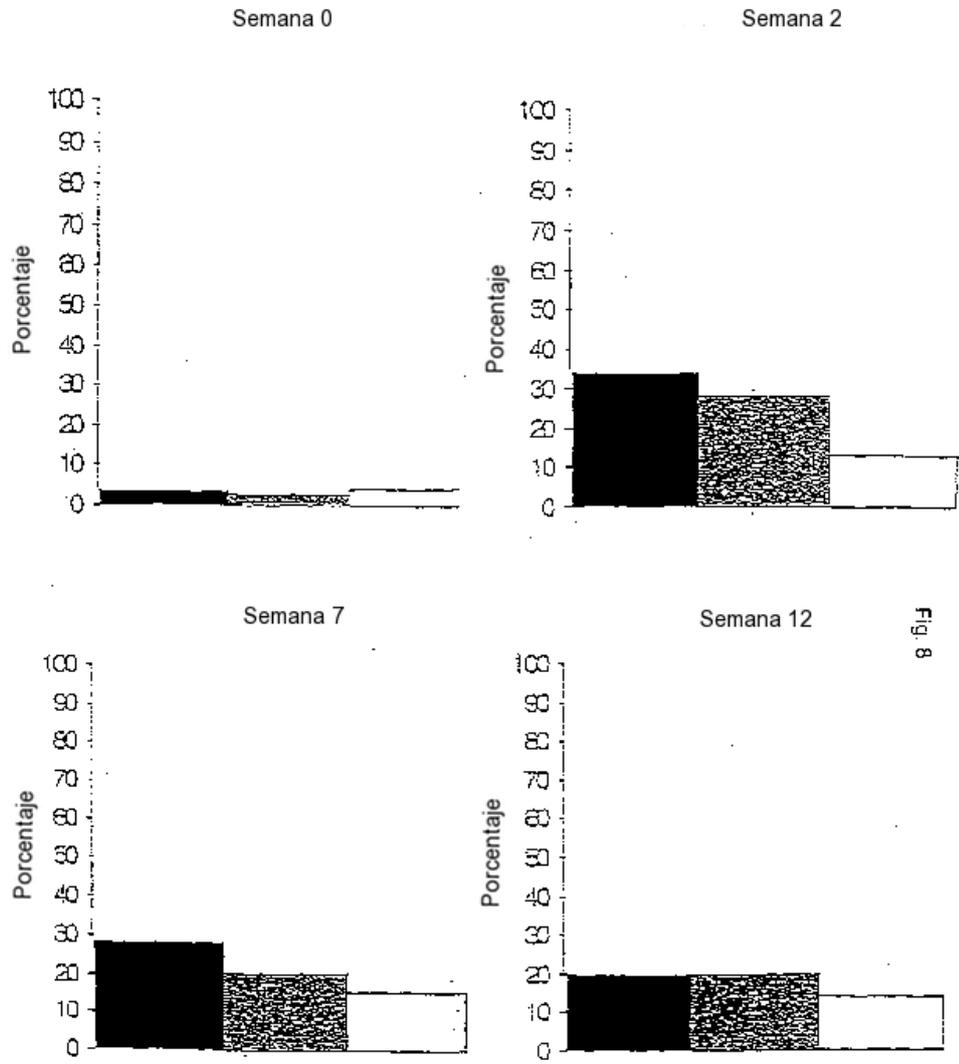
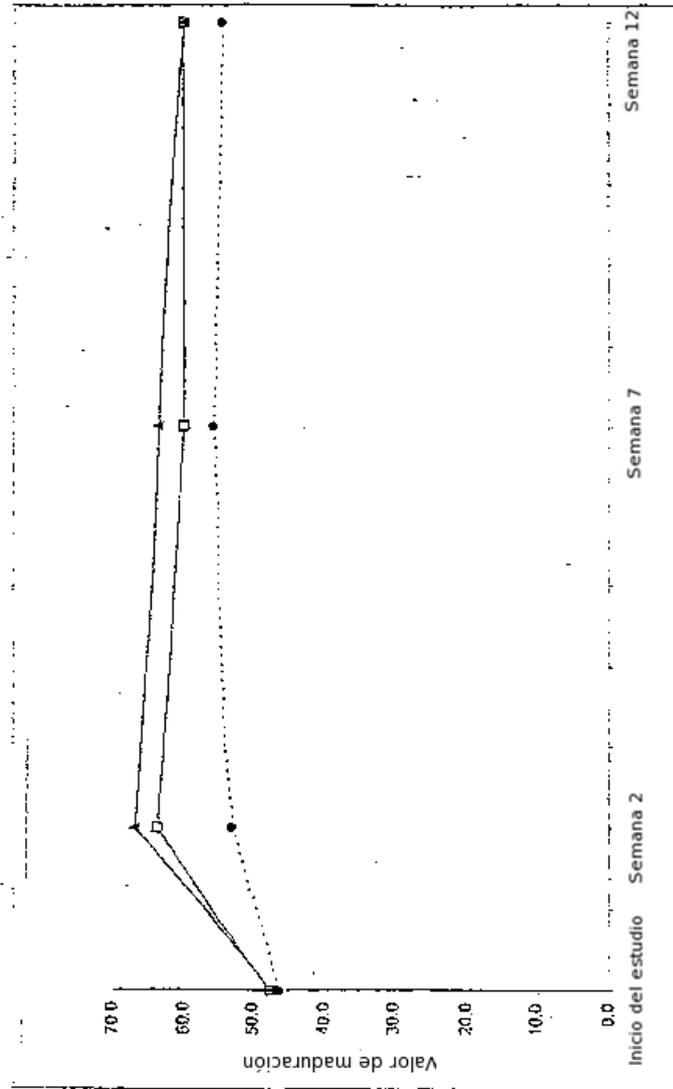


Fig. 8

Fig. 9



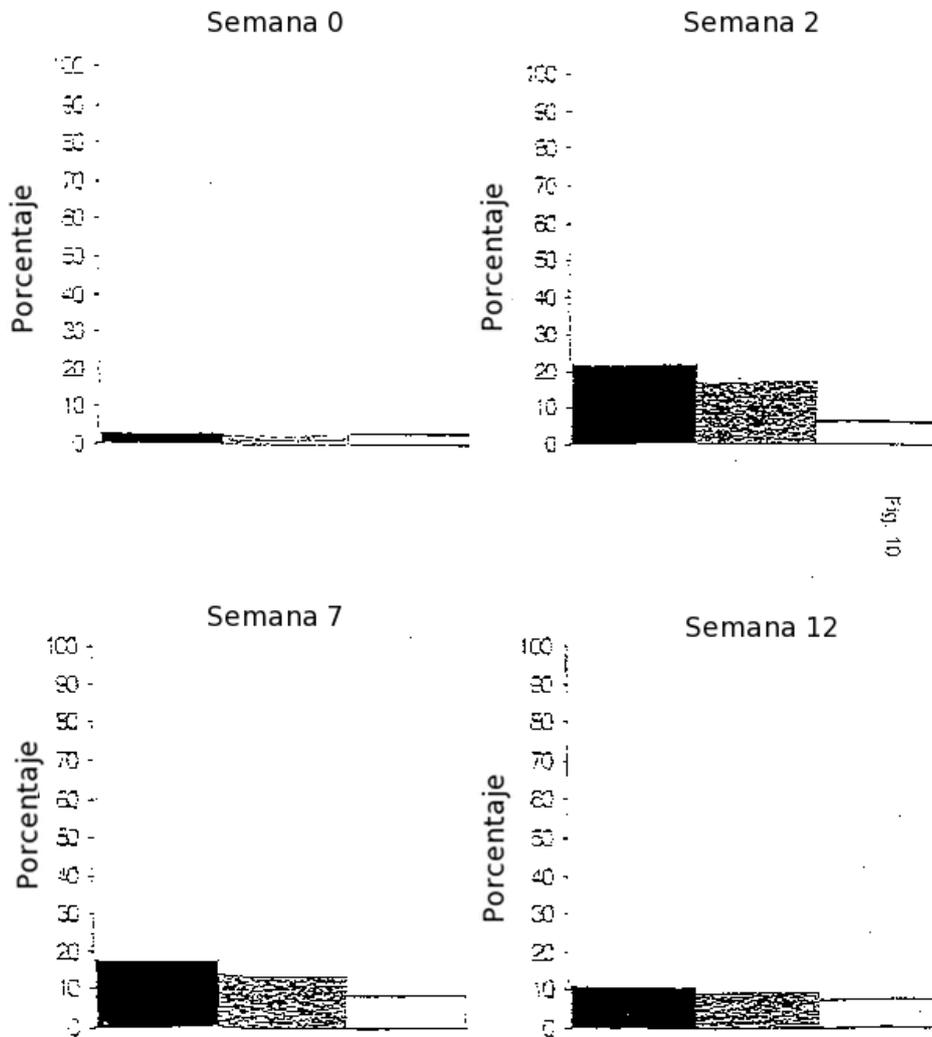
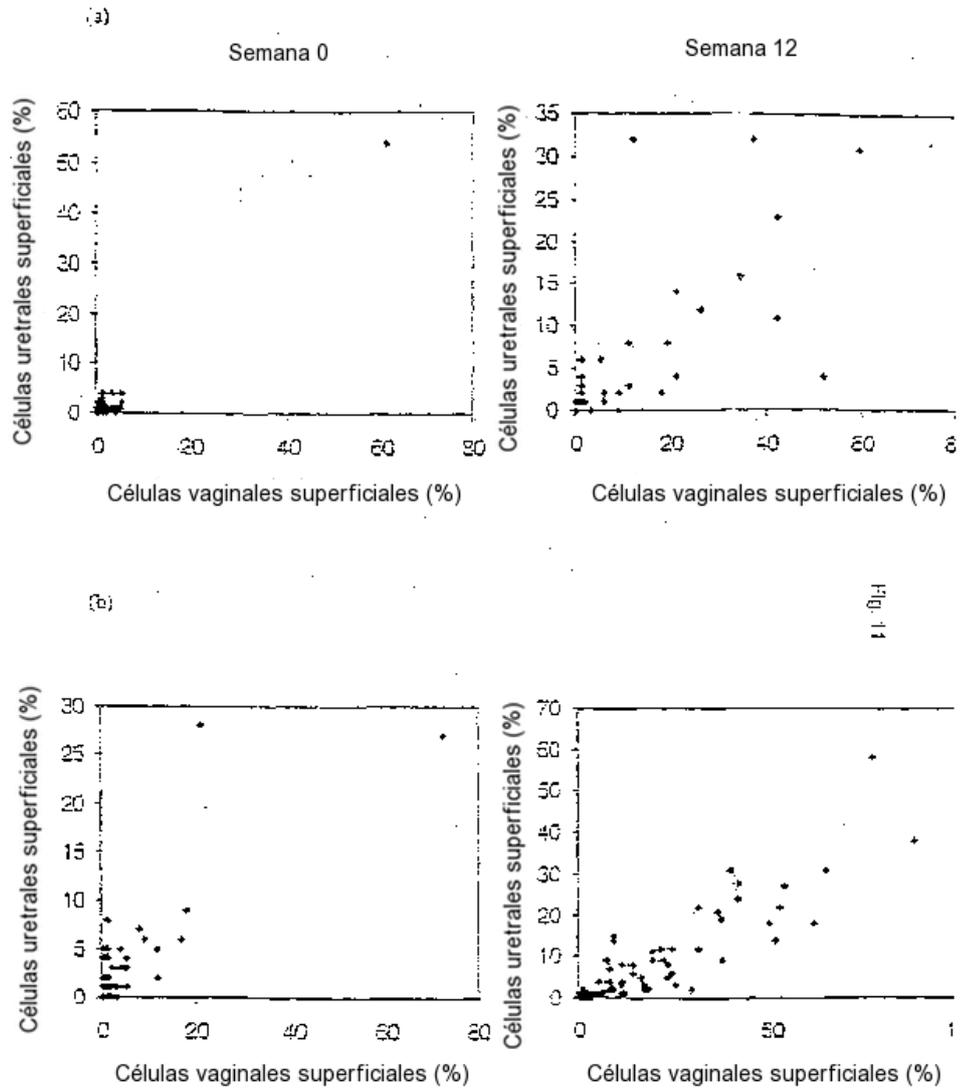


Fig. 10



(c)

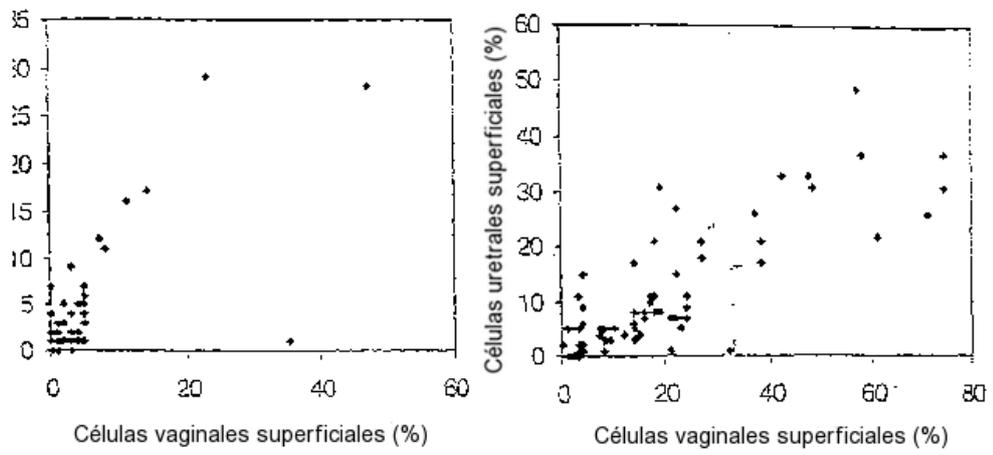


Fig. 11, continuación

Fig. 12 (a)

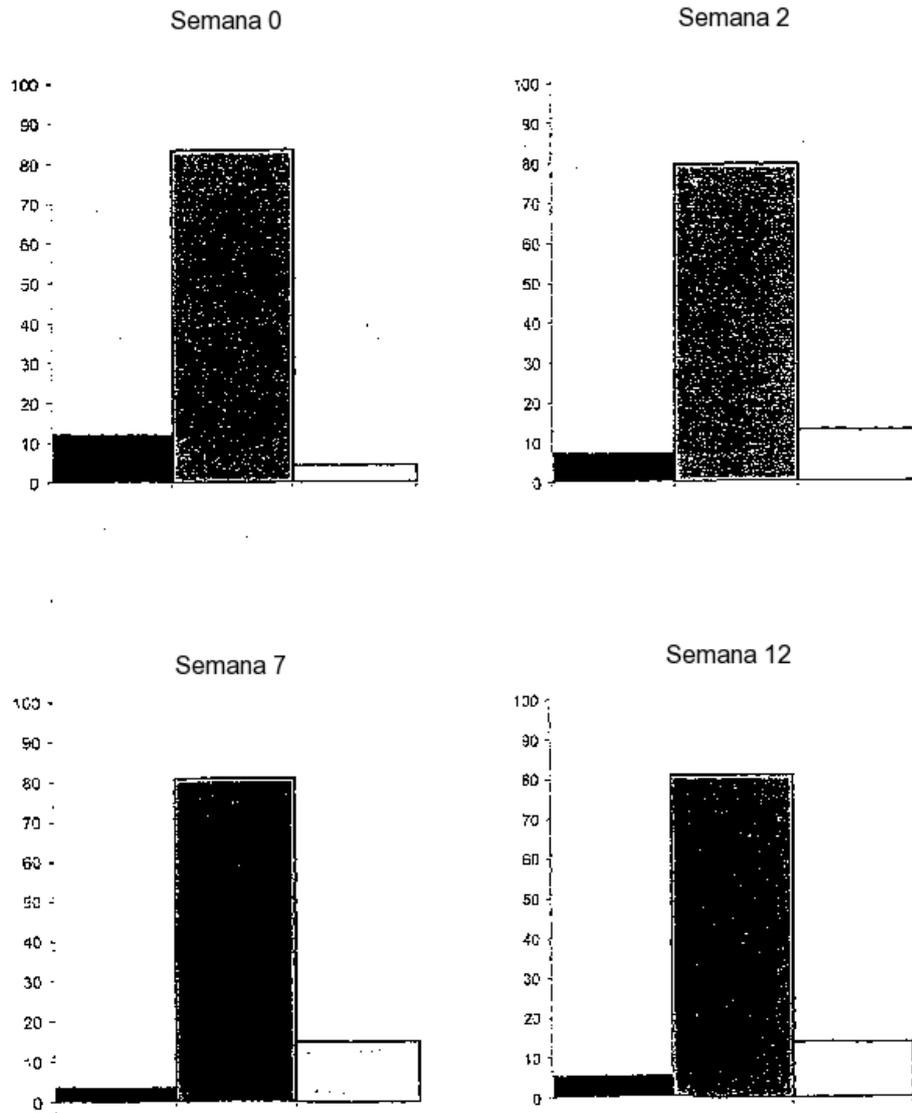


Fig. 12 (b)

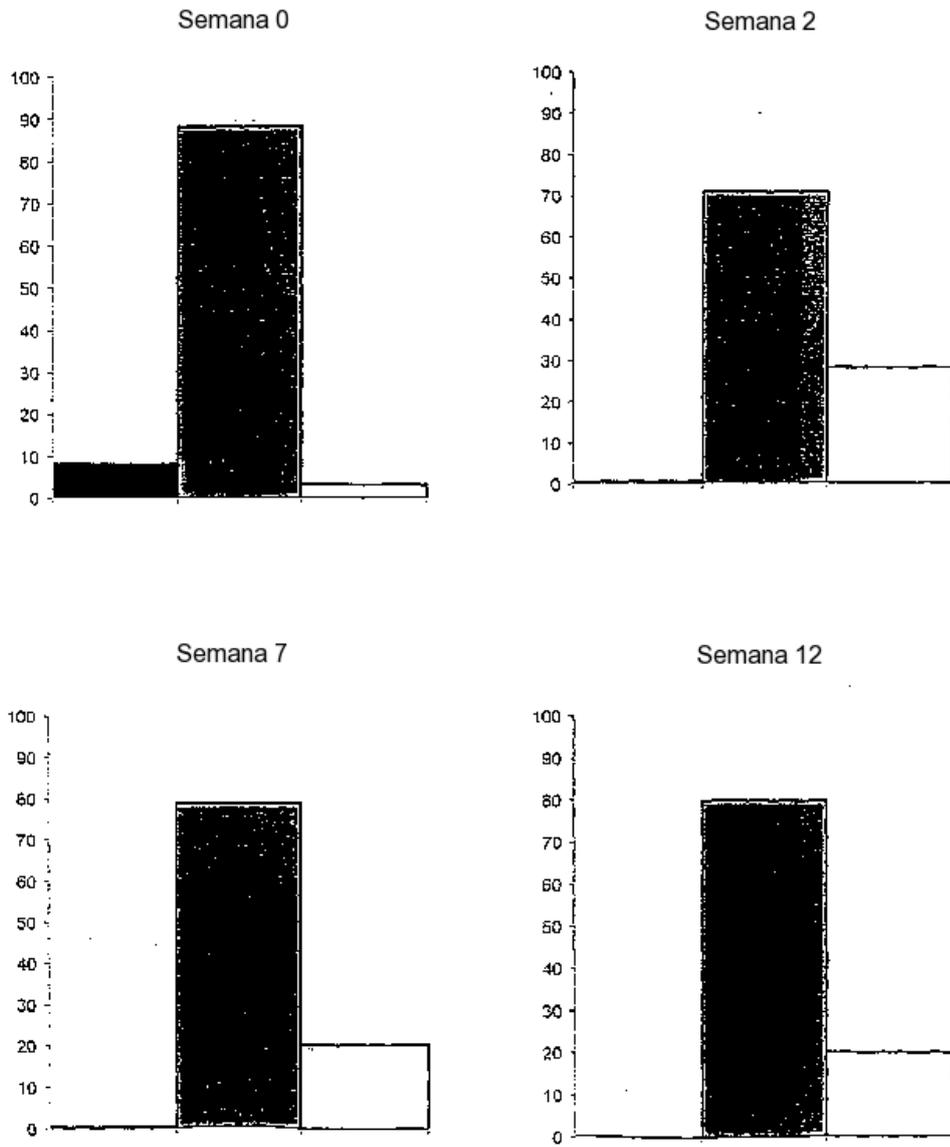


Fig. 12 (c)

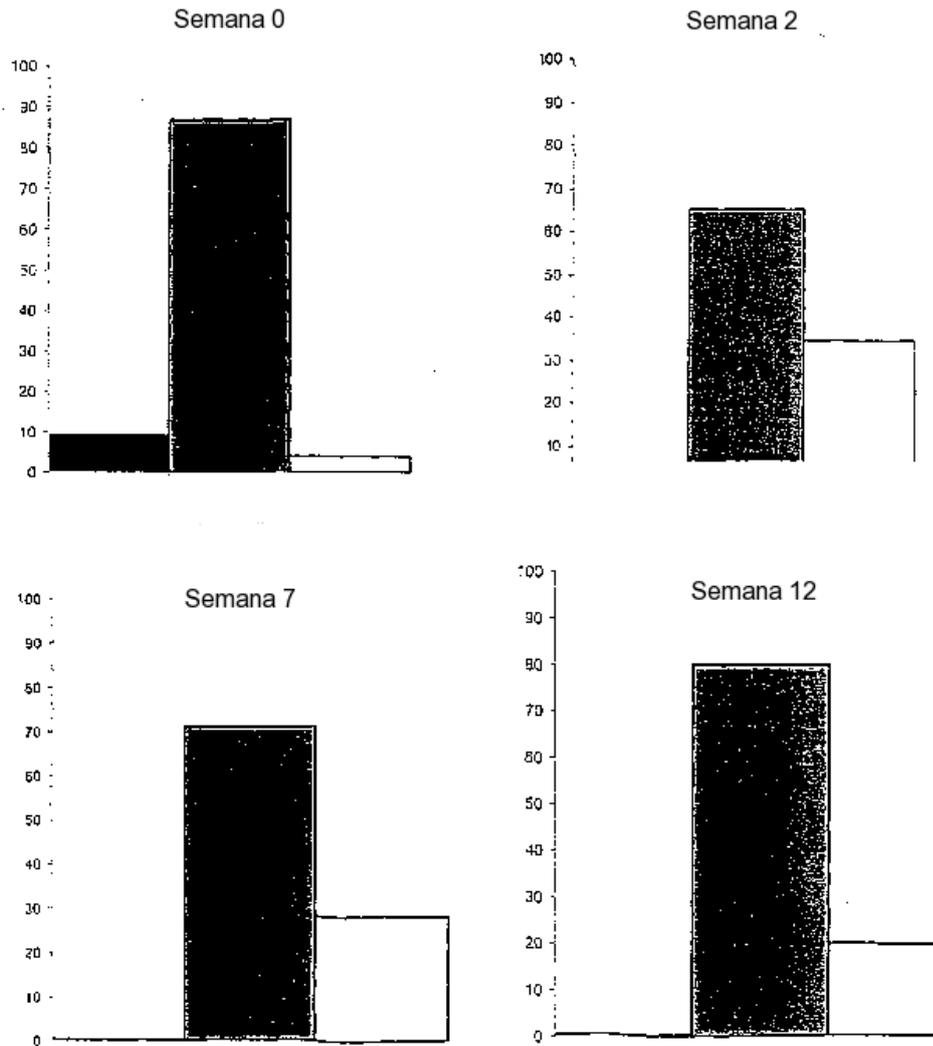


Fig. 13 (a)

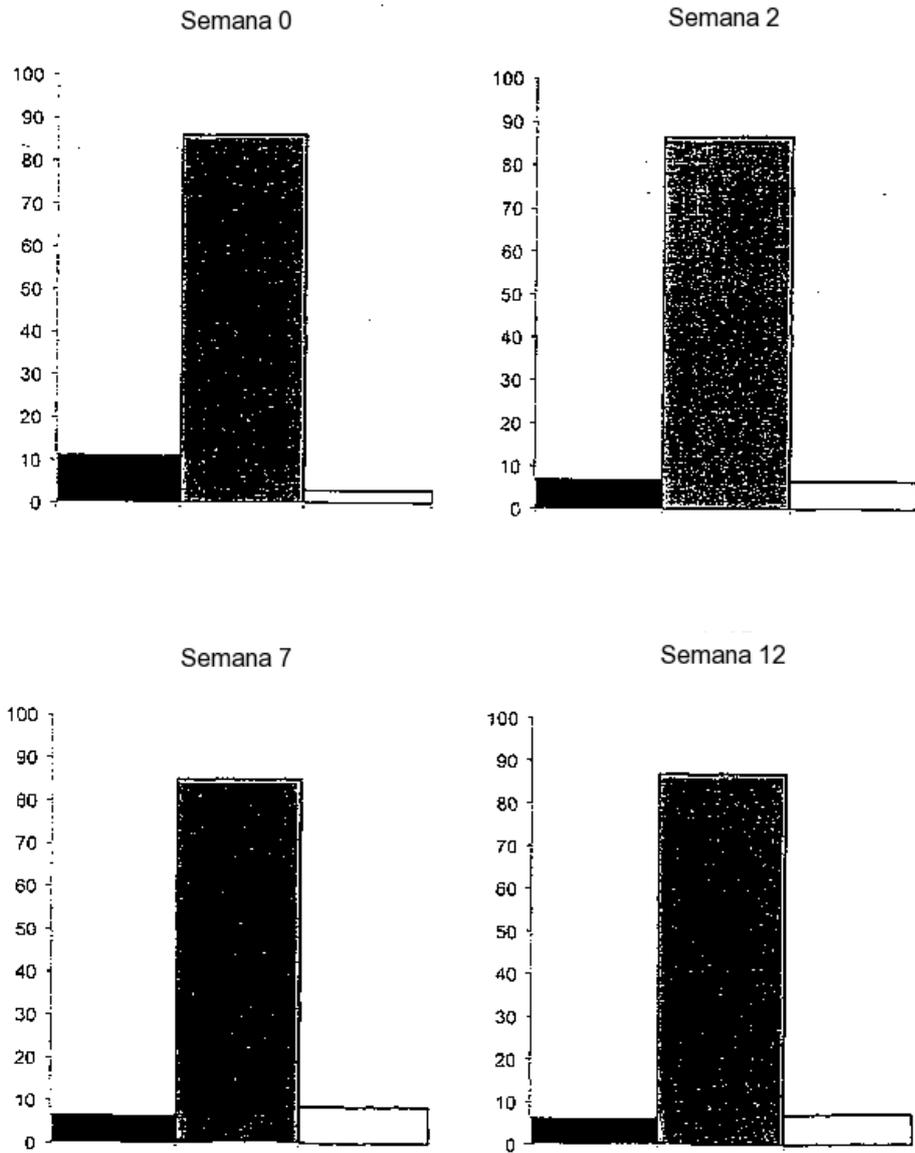


Fig. 13 (b)

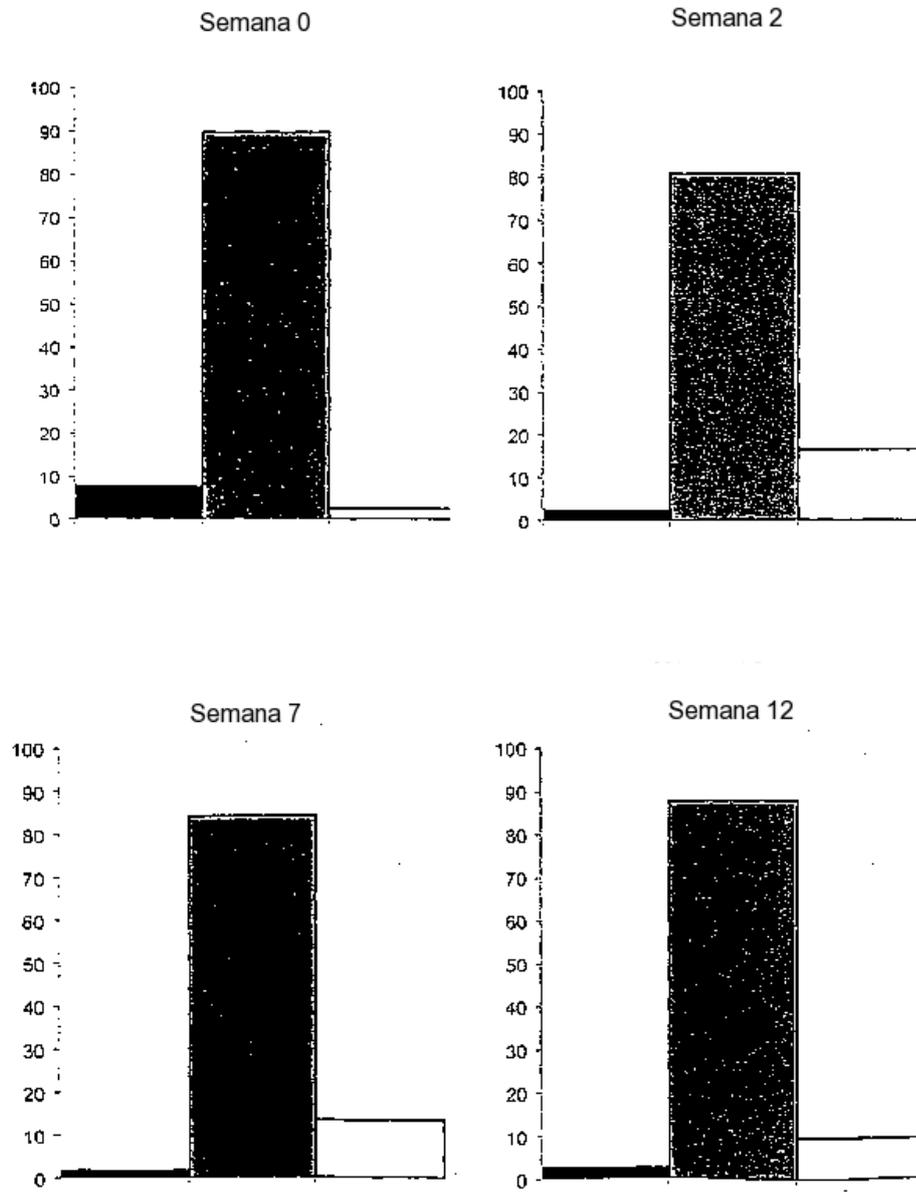


Fig. 13 (c)

