

Вагінальні таблетки (Гінофлор®), що містять дуже низьку дозу естріолу та *Lactobacillus acidophilus*, при вагінальній атрофії в пацієнток у постменопаузі, які страждають на рак молочної залози і застосовують інгібітори ароматази (Клінічне дослідження фармакокінетики, безпеки та ефективності. Фаза I)

КЛІНІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Гілберт Дондерс (Gilbert Donders), Патрік Нівен (Patrick Neven), Максиміліан Могеле (Maximilian Moegele), Анілін Лінтерманс (Anneleen Lintermans), Герт Беллен (Gert Bellen), Валдас Прусаускас (Valdas Prasauskas), Філіпп Гроб (Philipp Grob), Олаф Ортманн (Olaf Ortmann), Стефан Бучолз (Stefan Buchholz)
Breast Cancer Res Treat. DOI 10.1007/s10549-014-2930-x

Було проведено фармакокінетичне (ФК) дослідження (фаза I) для оцінювання рівня циркулюючих естрогенів у пацієнток з раком молочної залози, які застосовують нестероїдний інгібітор ароматази (НІА) при вагінальній атрофії та використовують комбіновані вагінальні таблетки, що містять дуже низьку дозу естріолу (ЕЗ) – 0,03 мг і *Lactobacillus* (Гінофлор®). Шістнадцять пацієнток, які застосовують НІА та в яких діагностовано важка вагінальна атрофія, щоденно використовували по 1 вагінальній таблетці препарату Гінофлор® протягом 28 днів, після чого настав етап підтримувальної терапії з використанням 3 таблеток на тиждень протягом 8 тиж. Основні показники включали сироваткову концентрацію та фармакокінетику естріолу (ЕЗ), естрадіолу (Е2) та естрону (Е1), визначені методом чутливої газової хроматографії – мас-спектрометрії. Додаткові показники включали клінічні оцінки ефективності та побічні ефекти; мікроскопічні зміни вагінального епітелію і мікрофлори, а також зміни сироваткового рівня ФСГ, ЛГ та глобулін-зв'язувального статевому гормону.

Сироватковий рівень Е1 і Е2 у порівнянні з вихідним рівнем не підвищився в жодній з пацієнток після застосування вагінального засобу. Сироватковий рівень ЕЗ тимчасово підвищувався після першого застосування у 15 із 16 пацієнток, максимальний рівень складав 168 пг/мл через 2–3 год після введення препарату. Через 4 тиж сироватковий рівень ЕЗ був незначно підвищений у 8 пацієнток, максимальне значення складало 44 пг/мл. Вагінальна атрофія була ліквідована або її симптоми покращилися у всіх пацієнток. Пацієнтки добре переносили препарат, ніхто не припинив терапію. Застосування вагінальних таблеток, що містять низьку дозу ЕЗ – 0,03 мг і *Lactobacillus acidophilus*, у пацієнток в постменопаузі з раком молочної залози під час застосування інгібітору ароматази, які страждають на

вагінальну атрофію, призвело до незначного та тимчасового підвищення сироваткового рівня ЕЗ, але не рівня Е1 чи Е2, тому цей препарат можна вважати безпечним і ефективним засобом для лікування атрофічного вагініту в пацієнток з раком молочної залози, які застосовують НІА. **Ключові слова:** рак молочної залози, інгібітори ароматази, вагінальна атрофія, вагінальний естріол, лактобактерії.

Депривація естрогену за допомогою пероральних інгібіторів ароматази (ІА) є встановленим методом терапії у пацієнток в постменопаузі з естроген-рецепторпозитивним і/чи прогестерон-рецепторпозитивним раком молочної залози [1]. Хоча ІА ароматази покращують показник виживаності, вони погіршують чи спричиняють вагінальну атрофію, сухість та диспареунію в більшості пацієнток [2]. У деяких пацієнток виникає атрофічний вагініт, підтип аеробного вагініту (АВ) [3]. Ці побічні ефекти значно знижують якість життя та погіршують прихильність пацієнток до терапії, що негативно впливає на показник виживаності пацієнток [4]. Оскільки велика кількість пацієнток, які застосовують ІА, живуть протягом багатьох років з діагнозом раку молочної залози, ці побічні ефекти стають значною проблемою для самих пацієнток та їхніх лікарів [5, 6].

Вагінальне застосування естрогену є найбільш ефективним методом терапії, що полегшує ці симптоми [4, 7, 8]. Ці засоби більш ефективні, ніж негормональна терапія [9–11]. Однак вагінальне застосування будь-якої дози естрадіолу (Е2) пацієнтками, які використовують ІА, підвищує рівень Е2,1 [3–18]. Тому більшість авторів вважають, що подібний метод лікування є потенційно небезпечним для жінок з раком молочної залози в анамнезі, оскільки системне всмоктування естрогену може стимулювати ріст клітин раку молочної залози [5, 6, 19–22]. Таким чином, оскільки безпека є ос-

G. Donders, Відділення акушерства та гінекології, Антверпенський університет, Антверпен, Бельгія

G. Donders (&) – G. Bellen, Femicare vzw, Clinical Research for Women, Gasthuismolenstraat 31, 3300 Тінен, Бельгія

P. Neven – A. Lintermans, Відділення акушерства та гінекології, лікарня Gasthuisberg Hospital, Левенський університет, Левен, Бельгія

M. Moegele – O. Ortmann – S. Buchholz, Відділення акушерства та гінекології, університетський медичний центр міста Регенсбург, Регенсбург, Німеччина

V. Prasauskas – P. Grob, Medinova AG, Цюрих, Швейцарія

Публікація онлайн: 10 квітня 2014 р.

новною проблемою, для вагінального введення можна використовувати лише менш сильні естрогени. Е3 є слабшим естрогеном, ніж Е2, вагінальне застосування 1 мг у пацієток в постменопаузі з вагінальною атрофією не підвищувало сироватковий рівень через 2 тиж, 3 міс і 6 міс в порівнянні з контрольною групою. Біопсія ендометрія не продемонструвала проліферації [23].

Гінофлор® містить 10⁸ життєздатних ліофілізованих бактерій *Lactobacillus acidophilus* (*L.acidophilus* KS400) і 0,03 мг Е3, що в 16–32 рази менше, ніж доза, що міститься в традиційних вагінальних препаратах, які включають Е3 (0,5–1 мг). Цей препарат є безпечним та ефективним для відновлення порушеної вагінальної флори [24, 25] і для лікування атрофічного вагініту в постменопаузальних пацієток [26–29]. Попередні дані свідчать, що щоденне застосування однієї таблетки препарату Гінофлор® у здорових жінок в постменопаузі з вагінальною атрофією в два рази підвищує значення C_{max} Е3 в порівнянні з вихідним показником, але це значення все ще знаходиться в постменопаузальному діапазоні в 1-й день; тоді як у 12-й день значення C_{max} не підвищувалось в порівнянні з вихідним показником [30].

Протягом даного фармакокінетичного дослідження (фаза I) проводили оцінювання рівня циркулюючих естрогенів і ефективності після вагінального введення комбінованих вагінальних таблеток (Гінофлор®), що містять дуже низьку дозу естріолу (Е3) – 0,03 мг і *L. acidophilus*, в пацієток з раком молочної залози, які застосовують нестероїдний ІА.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Це відкрите, фармакокінетичне (ФК) дослідження фази I, проведене в двох центрах за участю 16 жінок у постменопаузі, які застосовують нестероїдний ІА та страждають на симптоматичну вагінальну атрофію. Це клінічне дослідження проводили в двох центрах: один розташовувався в Бельгії, інший – в Німеччині. Період включення пацієток продовжувався з квітня 2011 р. до липня 2012 р. Дослідження було схвалено комітетами з етики і національними органами як належне дослідження (номер EudraCT: 2010-022007-22). Усі пацієтки підписали інформовану згоду перед проведенням процедур в рамках дослідження відповідно до вимог Належної клінічної практики і Гельсінської декларації. Гормональний аналіз проводила компанія Nuvisan GmbH, Німеччина; аналіз мазка із піхви виконувала компанія Femiscare vzw, Бельгія, статистичний фармакокінетичний аналіз проводила компанія Arlenda SA, Бельгія. Даний звіт відповідає рекомендаціям CONSORT.

Пацієтки, які брали участь у дослідженні, знаходились в періоді менопаузи, віком 52 роки чи старше, або ≥ 46 років після білатеральної овариєктомії з припиненням менструації протягом не менше 12 міс і початком застосування ІА не менше ніж 6 міс назад. Крім того, у жінок, яким була прове-

дена гістероектомія без порушення яєчників, рівень ФСГ повинен був перевищувати 30 МО/л. Додаткові критерії включали наявність клінічних симптомів вагінальної атрофії, вагінальний рівень рН > 5,0 і показник за шкалою Карнофскі $\geq 80\%$.

Основні критерії виключення: застосування інших статевих гормонів чи фітоестрогенів протягом 6 міс до початку дослідження або під час нього, застосування інших вагінальних лікарських засобів, застосування протипіслякційних препаратів і використання стероїдних ІА, наявність інфекції, що передається статевим шляхом, чи злоякісних або передракових станів. Із дослідження також виключали пацієток, у яких індекс маси тіла (ІМТ) був нижчий за 18,5 чи вищий за 30.

Гінофлор® – вагінальні таблетки (100 мільйонів життєздатних бактерій *L. acidophilus* KS400 і 0,03 мг Е3) були надані компанією Medinova AG, Швейцарія. Пацієтки, які включені в дослідження, отримували базисне лікування протягом 4 тиж (1 вагінальна таблетка, яку вводили щоденно глибоко в піхву перед сном та в дні фармакокінетичного аналізу – при включенні в дослідження і під час візиту через 4 тиж – рано вранці), після чого настав період підтримувальної терапії (3 вагінальні таблетки щотижнево, по одній кожен другий день) протягом 8 тиж.

Основна мета полягала у визначенні параметрів всмоктування і фармакокінетики Е3 та його впливу на сироваткову концентрацію Е2 і Е1 під час вихідної щоденної терапії. Додаткові цілі включали визначення сироваткового рівня Е3, фолікулостимулювального гормону (ФСГ), лютеїнізувального гормону (ЛГ) і глобулін-зв'язувального статевого гормону (ГЗСГ), а також оцінювання клінічних симптомів і змін фізіологічного статусу вагінального епітелію і мікрофлори, порівняння показників ефективності лікування під час базової та підтримувальної терапії та оцінювання профілю безпеки.

Клінічні обстеження проводили під час візиту – скринінгу (S = тиждень 1), при включенні в дослідження (E = день 0) та на 14-й день (C1 = тиждень 2), 28-й (C2 = тиждень 4), 56-й (C3 = тиждень 8) і 84-й (C4 = тиждень 12) дні для оцінювання рівня гормонів, ефективності та безпеки (мал. 1).

Під час візитів E і C2, за 0,5 год до введення препарату і через 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 і 24 год після введення препарату брали декілька зразків крові для визначення фармакокінетичних параметрів. Крім того, під час кожного візиту зразки брали для оцінювання мінімального сироваткового рівня Е3, Е2 і Е1, а також концентрації ФСГ, ЛГ і ГЗСГ.

Естрогени аналізували методом високочутливої газової хроматографії – мас-спектрометрії (валідованим відповідно до галузевого керівництва FDA). Після екстракції, очищення і депривації 1 мл сироватки, 1–2 мкл зразка вводили в систему газової хроматографії – мас-



Мал. 1. Дизайн дослідження. Пацієток, які відповідають критеріям включення, включали в дослідження під час скринінгу. Під час візиту включення вводили першу таблетку препарату Гінофлор® і проводили фармакокінетичний аналіз для визначення сироваткових естрогенів протягом 24 год (візит E). Через 2 тиж у пацієток перевіряли сироватковий рівень естрогену, вагінальну відповідь та наявність побічних ефектів (1). На 28-й день (візит C2), 56-й (візит C3) і 84-й (візит C4) дні перевіряли ті самі змінні, у 28-й день (візит C2) проводили ще одне 24-годинне фармакокінетичне дослідження по відношенню динаміки сироваткового естрогену. Між візитом E і візитом C2 пацієтки вводили 1 вагінальну таблетку щоденно (період вихідної терапії), після візиту 2 препарат Гінофлор® застосовували кожен другий день (період підтримувальної терапії)

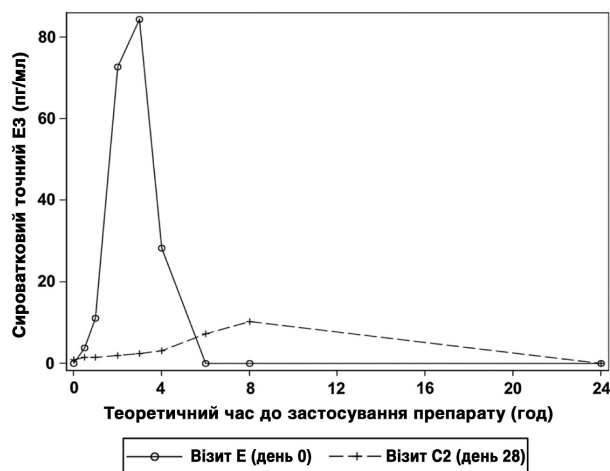
спектрометрії. Оцінювання проводили в режимі хімічної іонізації з негативними іонами, використовуючи аміак в якості реактивного газу. Нижня межа кількісного визначення складала 10,00 пг/мл для E3, 1,00 пг/мл для E2 і 2,00 пг/мл для E1. Коефіцієнт варіації (CV – коефіцієнт варіації в межах одного аналізу) складав 2,0% для E3 (діапазон калібрування: 10,00–500,00 пг/мл), 4,2% для E2 (діапазон калібрування: 1,00–150,00 пг/мл) і 3,4% для E1 (діапазон калібрування: 2,00–300,00 пг/мл). Визначення рівня ФСГ, ЛГ і ГЗСГ проводили із застосуванням автоматизованої системи-аналізатора для імунологічного аналізу Access® компанії Beckman Coulter Inc., США з урахуванням основного принципу конкурентно-зв'язувального імуноферментного аналізу.

Основні показники ефективності включали сироваткову концентрацію E3, E2 і E1, а також фармакокінетичні параметри E3 в 0 день (візит E) і 28-й день (візит C2). Мінімальний рівень E3, E2 і E1 – концентрація перед введенням препарату (-0,5 год) під час контрольних візитів. Концентрація нижча за нижню межу кількісного визначення вважалась нульовою в рамках описової статистики. Площу під кривою з часу введення препарату до останньої вимірюваної концентрації (AUC_{0-24}) розраховували за допомогою лінійного інтегрування методом трапеції. Найвища виміряна концентрація фіксувалася як C_{max} . Час досягнення максимальної концентрації оцінювали наступним чином: $t_{max,E}$ = час, при якому була досягнута $C_{max,E}$ під час візиту E, $t_{max,C2}$ = час, при якому була досягнута $C_{max,C2}$ під час візиту C2.

Додаткові параметри включали мінімальну сироваткову концентрацію E3, E2, E1, ФСГ, ЛГ і ГЗСГ під час усіх візитів; вагінальний рівень рН; клінічні симптоми (вагінальна сухість, хворобливе відчуття у піхві, диспареунія та відчуття виділень із піхви) та клінічні ознаки (блідість піхви, підвищене почервоніння стінок піхви, виразки та зменшені вагінальні складки/складки слизової оболонки); а також фізіологічні параметри вагінального епітелію і мікрофлори, ефективність і безпеку. Брали зразки для вагінального мазка (вологий препарат) з правої та лівої бокової стінки піхви за допомогою шпателью Ейра, їх наносили на два скла, висушували на повітрі і централізовано аналізували. Скло використовували для негайного визначення рівня рН і для мікроскопічного оцінювання вагінального індексу дозрівання (ВІД), лактобацилярного ступеня (ЛБС), показника бактеріального вагінозу (БВ), показника аеробного вагініту (АВ) та наявності *Candida*. Вагінальний рівень рН вимірювали із застосуванням смужок для визначення рН виробництва компанії Macherey–Nagel, оскільки вони забезпечують надійне та просте оцінювання [31]. ВІД розраховували з урахуванням відсотка поверхневих (X_3) і проміжних (X_2) епітеліальних клітин, що присутні у вагінальному мазку за формулою $[ВІД = 0,5(X_2) + 1(X_3)]$. Вагінальні мазки для визначення показника ЛБС, БВ і АВ оцінювали стандартним чином із застосуванням фазово-контрастного мікроскопа Leica LM 28 при 400-кратному збільшенні, як описано в інших посиланнях [3, 32, 33]. Усі слайди були анонімними, їх оцінював спеціаліст в сліпому режимі відносно клінічної інформації. Під час кожного контрольного візиту пацієнтка та дослідник оцінювали загальну ефективність.

Усі пацієнтки, які отримали, принаймні, одну дозу досліджуваного препарату, були включені у вибірку для аналізу ефективності, у них фіксували наявність небажаних явищ (НЯ) чи небажаних лікарських реакцій (НЛР), а також переносимість (дослідник і пацієнтка).

Клінічні симптоми та дотримання режиму лікування реєстрували в щоденниках пацієнток і в анкеті. Прихильність до терапії оцінювали, ставлячи пацієнтці запитання про препарат, перевіряючи кількість препарату та записи у щоденнику.



Мал. 2. Фармакокінетика E3 під час візиту E (день 0) і візиту C2 (день 28) (вибірка аналізу за протоколом, n=16)

Фармакокінетичні змінні C_{max} і AUC_{0-24} були логарифмічно перетворені, потім проводили порівняння між 28-м днем (візит C2) і 0 днем (візит E) із застосуванням одностороннього дисперсійного аналізу. Для визначення фармакокінетичних параметрів, пов'язаних з концентрацією, фіксували геометричне середнє (GeoMean), і відповідно до мультиплікативної моделі розраховували коефіцієнт варіації геометричного середнього: $GeoCV = [\exp(y^2) - 1]^{1/2}$, де y^2 = дисперсія логарифмічно перетворених даних. Показники та фармакокінетичні параметри окремих пацієнток вносили в таблицю з описовими статистичними даними. Дисперсійний аналіз (ANOVA) проводили із застосуванням значень AUC_{0-24} і C_{max} . Усі фармакокінетичні аналізи, які пов'язані з кінцевими точками, проводили із застосуванням валідованого програмного забезпечення (SAS версія 9.2, виробництво компанії SAS Institute, США). Усі інші змінні аналізували описово. Значення, отримані між візитами, порівнювали з застосуванням знаково-рангового критерію Уїлкоксона, критерію Мак-Немара чи знакового критерію. Усі безперервні параметри узагальнювали, використовуючи стандартну зведену статистику за необхідності. Усі пацієнтки із вибірки для аналізу ефективності були включені у вибірку для аналізу за протоколом, якщо вони закінчили участь в дослідженні і в них були відсутні значні відхилення від протоколу. НЯ фіксували в таблиці відповідно до MedDRA, реєстрували кількість пацієнток, в яких виникли НЯ, і частоту їх виникнення. Також реєстрували показники загальної переносимості.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Скринінг було проведено для 19 пацієнток, із них 16 були включені в дане дослідження, по 8 учасниць із кожного центру. Було зафіксовано одне відхилення від протоколу: учасниця застосовувала стероїдний ІА до переходу на нестероїдний ІА, але була зарахована у дослідження, оскільки дослідник не знав про це.

Усі 16 пацієнток були білої раси, їх середній вік складав 57,0 років (діапазон: 52,0–63,0), ІМТ дорівнював $23,5 \pm 3,0$. Менструація у пацієнток спостерігалась в середньому 75,0 міс (діапазон: 25,0–277,0) назад. Діагноз раку молочної залози був встановлений медіанно 2,6 року назад, діапазон: від 2,0 до 28,2 року, медіанна тривалість застосування ІА складала 2,1 року, діапазон: 0,5–7,7 року. Добова доза ІА складала 1 мг летрозолу чи 2,5 мг анастрозолу. Середній по-

Середня сироваткова концентрація ЕЗ під час візиту Е (день 0) і візиту С2 (28-й день)
(вибірка для аналізу за протоколом, n=16)

Візит	Статистика	Час після введення (ч)								
		-0,5	0,5	1	2	3	4	5	8	24
Візит Е (день 0)	Середнє	0,00	3,83	11,04	72,73	84,35	28,29	0,00	0,00	0,00
	Медіанне	0,00	0,00	14,10	69,55	83,80	26,15	0,00	0,00	0,00
	Мінімальне	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Максимальне	0,00	14,10	18,80	168,00	160,00	67,50	0,00	0,00	0,00
	СО	0,00	5,74	6,66	49,11	43,77	18,64	0,00	0,00	0,00
Візит С2 (день 28)	Середнє	0,91	1,58	1,55	1,96	2,48	3,12	7,33	10,23	0,00
	Медіанне	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,60	0,00
	Мінімальне	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Максимальне	14,50	12,90	14,40	16,60	29,20	37,70	39,50	43,70	0,00
	СО	3,51	4,05	4,16	5,20	7,35	9,40	12,26	12,33	0,00

Нижню межу кількісного визначення (LLOQ) вважали такою, що дорівнює нулю (ЕЗ<10,00 пг/мл);
СО = стандартне відхилення.

Таблиця 2

Основні фармакокінетичні параметри ЕЗ (вибірка для аналізу за протоколом, n=16)

Статистика	Візит Е			Візит С2		
	$C_{max,E}$ (пг/мл)	$t_{max,E}$ (ч)	$AUC_{(0-24),E}$ (год* пг/мл)	$C_{max,C2}$ (пг/мл)	$t_{max,C2}$ (ч)	$AUC_{(0-24),C2}$ (год* пг/мл)
n	16	15	16	16	8	15
Середнє	104,5	2,5	212,5	15,8	7,2	130,7
СО	40,9	0,5	93,2	13,9	1,5	147,2
CV (%)	39,2	19,9	43,9	87,8	20,3	112,6
Мінімальне	< LLOQ	2,0	< LLOQ	< LLOQ	4,0	< LLOQ
Медіанне	109,7	2,2	240,7	9,1	7,9	116,8
Максимальне	168,0	3,1	378,0	43,7	8,0	457,0
Геометричне середнє	88,2	Відсутнє	154,3	11,0	Відсутнє	19,9
GeoCV (%)	97,4	Відсутнє	223,4	107,5	Відсутнє	3805,1

a – параметр $AUC_{(0-24),C2}$ не є надійним в зв'язку з пізнім метаболізмом та недостатніми контрольними точками.

n – кількість пацієнтів, СО – стандартне відхилення, CV – коефіцієнт варіації, GeoCV – коефіцієнт варіації геометричного середнього, C_{max} – максимальна концентрація, t_{max} – час досягнення C_{max} , $AUC(0-24)$ – площа під кривою з часу введення препарату до останньої виміряної концентрації, LLOQ – нижню межу кількісного визначення вважали такою, що дорівнює нулю (ЕЗ<10,00 пг/мл).

казник за шкалою Карнофскі склав $98,1 \pm 5,4\%$. Супутні препарати, які найбільш часто використовували, включали засоби для лікування захворювань травного тракту (56%) і для покращення функції скелетно-м'язової системи, головним чином протизапальні засоби (44%).

Відзначали дуже хороший рівень прихильності до лікування під час вихідної (діапазон: 98,7–100,0%) і підтримувальної терапії (діапазон: 95,8–100,0%).

Сироваткові концентрації Е2 і Е1 не були підвищені під час візиту Е та під час візиту С2, вони були нижчими за нижню межу кількісного визначення, крім зразка однієї учасниці, в якій концентрація Е2 була вище нижньої межі кількісного визначення (1,19 пг/мл). Після першого введення досліджуваного препарату (візит Е, день 0) у 15 із 16 пацієток спостерігалось тимчасове підвищення сироваткової концентрації ЕЗ, яке виникло через 2 - 3 години після введення препарату (діапазон значень C_{max} складав від 67,6 до 168,0 пг/мл) (мал. 2). Під час наступного візиту, через 4 тижні (візит С2, день 28) підвищення рівня сироваткової

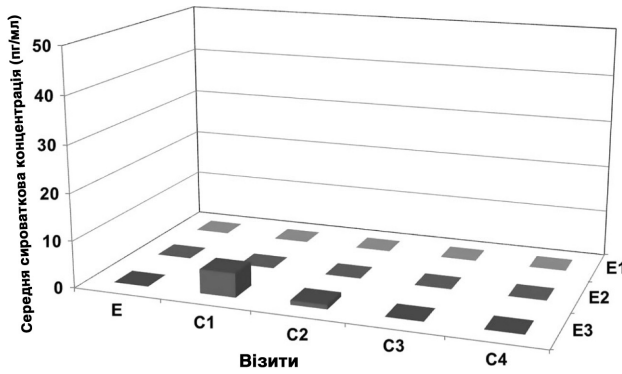
концентрації ЕЗ було значно нижче (максимальне значення 43.70 ПГ/мл) та виникало пізніше (через 6 - 8 годин після введення). Крім того, під час цього візиту у половини досліджуваних жінок концентрація ЕЗ не піддавалися кількісному визначенню (табл. 1). Значення C_{max} (табл. 2) було значно нижчим під час візиту С2 в порівнянні зі значенням під час візиту Е ($p < 0,0001$).

Рівні ЕЗ (табл. 3, мал. 3) були нижчими за нижню межу кількісного визначення у всіх пацієток, за виключенням двох учасниць. В одній пацієтки сироваткова концентрація ЕЗ складала 22,3 пг/мл під час візиту С1, в іншій пацієтки рівень ЕЗ дорівнював 49,2 пг/мл і 14,5 пг/мл під час візиту С1 і С2, відповідно. Мінімальна концентрація Е2 і Е1 була завжди нижчою за нижню межу кількісного визначення.

Під час лікування статистичні важливі зміни сироваткової концентрації ЛГ і ГЗСГ були відсутні. Під час візиту С2 сироваткова концентрація ФСГ була обмеженою, але значно нижчою, ніж концентрація під час візиту Е ($p = 0,025$), під час візитів С1, С3 і С4 значні відмінності були відсутні.

Додаткові змінні (вибірка для аналізу за протоколом)

Змінна	Статистика	Візити				
		Е	С1	С2	С3	С4
Гормони	<i>n</i>	16	15	16	16	16
ЕЗ на вихідному рівні і мінімальна (пг/мл)	Середнє (СО)	0,00	5,11 (14,01)а	0,91 (3,63)	0,00	0,00
	Мінімальне	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Максимальне	0,00	49,20	14,50	0,00	0,00
ФСГ (мМО/мл)	Середнє (СО)	107,88 (48,62)	103,71 (39,76)	98,94 (34,95)	103,55 (37,53)	105,96 (43,69)
	Мінімальне	45,50	38,30	41,00	41,60	43,00
	Максимальне	257,00	198,00	184,00	187,00	230,00
ЛГ (мМО/мл)	Середнє (СО)	36,46 (11,05)	34,52 (12,18)	34,02 (49,87)	34,2 (49,87)	35,13 (10,34)
	Мінімальне	22,80	15,10	18,60	16,60	19,90
	Максимальне	67,00	69,10	65,10	58,00	61,20
ЗГСТ (нмоль/л)	Середнє (СО)	73,04 (29,66)	74,24 (35,35)	71,29 (31,88)	73,35 (32,76)	72,43 (34,57)
	Мінімальне	27,30	27,70	32,90	33,00	31,30
	Максимальне	148,00	175,00	176,00	166,00	173,00
ВІД (%)	<i>n</i>	15	16	16	16	16
	Середнє (СО)	31,2 (19,4)	69,9 (13,6)	71,6 (15,1)	78,0 (16,0)	72,8 (17,8)
	Мінімальне	2,5	41,5	44,5	33,0	42,5
	Максимальне	79,0	91,0	95,0	95,5	100,0
ЛБС [I = 1, IIa = 2, IIb = 3, III = 4]	<i>n</i>	14	16	16	16	16
	Середнє (СО)	3,9 (0,3)	1,9 (0,7)	1,9 (0,6)	1,3 (0,6)	1,4 (0,8)
Вагінальний рівень рН	<i>n</i>	16	16	16	16	16
	Середнє (СО)	6,0 (0,3)	4,6 (0,5)	4,4 (0,4)	4,6 (0,5)	4,5 (0,5)
Вагінальні симптоми	<i>n</i>	16	16	16	16	16
Сухість (10-бальна шкала)	Середнє (СО)	7,4 (2,3)	4,9 (2,0)	3,9 (2,6)	3,5 (2,7)	3,2 (3,2)
Хворобливість (10-бальна шкала)	Середнє (СО)	5,9 (3,2)	2,1 (2,1)	1,5 (2,0)	1,8 (2,3)	1,9 (3,1)
Виділення (10-бальна шкала)	Середнє (СО)	0,6 (1,6)	5,1 (3,1)	3,9 (2,4)	3,1 (2,5)	2,6 (2,5)
Диспаревнія (10-бальна шкала)	Середнє (СО) <i>n</i>	6,3 (4,2) 4	5,3 (4,5) 7	4,0 (3,5) 7	3,9 (3,2) 7	3,4 (4,0) 7
Вагінальні ознаки	<i>n</i>	16	16	16	16	16
Блідість (так = 1, ні = 0)	Середнє (СО)	0,8 (0,5)	0,3 (0,5)	0,3 (0,5)	0,3 (0,5)	0,1 (0,3)
Почервоніння (так = 1, ні = 0)	Середнє (СО)	0,3 (0,5)	0,2 (0,4)	0,4 (0,5)	0,3 (0,5)	0,4 (0,5)
Виразки (так = 1, ні = 0)	Середнє (СО)	0,1 (0,3)	0,0	0,0	0,1 (0,3)	0,0
Зменшені вагінальні складки (так = 1, ні = 0)	Середнє (СО)	0,5 (0,5)	0,3 (0,5)	0,3 (0,5)	0,1 (0,3)	0,2 (0,4)
Мікроскопія	<i>n</i>	14	16	16	16	16
Показник БВ (бали 0-2)	Середнє (СО)	0,1 (0,4)	0,0	0,3 (0,5)	0,1 (0,3)	0,1 (0,3)
Показник АВ (бали 0-10)	Середнє (СО)	7,0 (2,0)	2,3 (1,6)	1,8 (1,6)	0,9 (1,3)	0,8 (1,5)
Candida (так = 1, ні = 0)	Середнє (СО)	0,1 (0,4)	0,4 (0,5)	0,2 (0,4)	0,2 (0,4)	0,1 (0,3)
Ефективність (4-1, 1 = дуже хороша)	<i>n</i>		16	16	16	16
Дослідник	Середнє (СО)		1,7 (0,6)	1,7 (0,6)	1,7 (0,6)	1,4 (0,6)
Пацієнтка	Середнє (СО)		2,1 (0,9)	1,9 (0,7)	1,7 (0,6)	1,3 (0,6)
Переносимість (4-1, 1 = дуже хороша)	<i>n</i>		16	16	16	16
Дослідник	Середнє (СО)		1,5 (0,5)	1,8 (0,8)	1,6 (0,6)	1,4 (0,6)
Пацієнтка	Середнє (СО)		1,6 (0,8)	1,5 (0,7)	1,6 (0,6)	1,4 (0,6)



Мал. 3. Вихідний/мінімальний рівень естрогену (вибірка для аналізу за протоколом, n=16)

Значення ВІД швидко покращились вже після 2 тиж лікування, з 31% при включенні у дослідження до 70% під час візиту С1 ($p < 0,0001$) і до 72% в кінці вихідної терапії, вони зберігались до кінця підтримувальної терапії на рівні 73% (мал. 4, а).

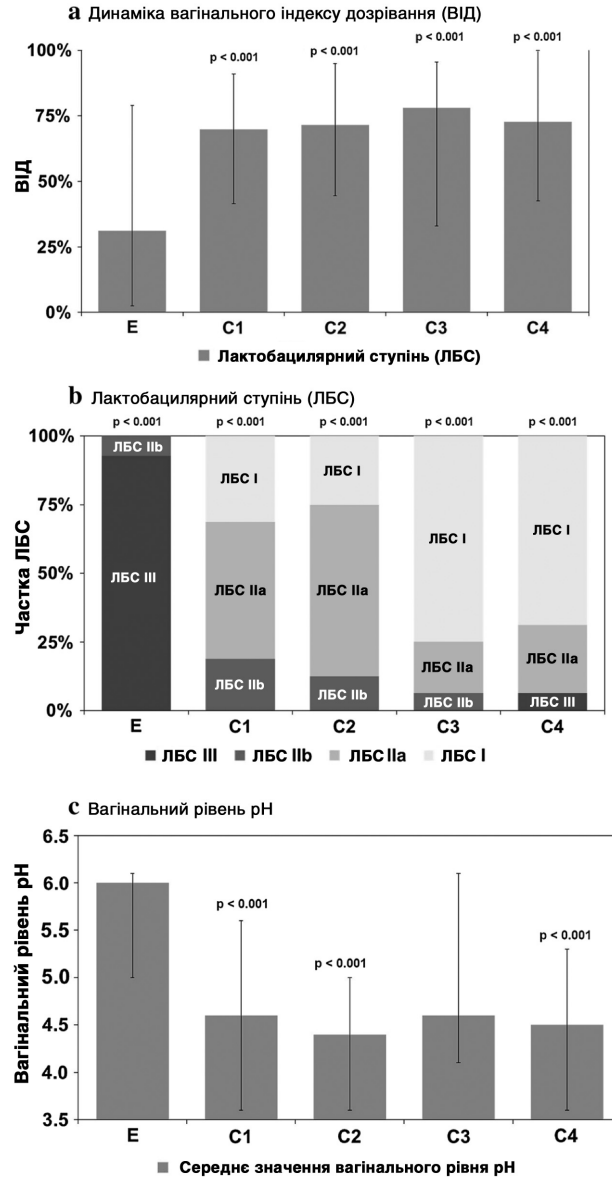
Максимальні рівні Е3 знаходились в оберненопропорційному співвідношенні між значеннями ВІД під час візиту Е і візиту С2 ($R^2=0,62$, мал. 5), демонструючи, що дозріваючий епітелій швидко перешкоджає подальшому всмоктуванню Е3 після вихідної терапії.

Ще одна важлива змінна ефективності включає ЛБС. Під час включення в більшості пацієток відзначали макроскопічно патологічну вагінальну флору (ЛБС ІІІ, 81%), пацієтки, що залишилися, мали ЛБС ІІб (помірно порушена). Через 28 днів після початку терапії спостерігалась практично повна нормалізація вагінальної флори (див. мал. 4, б): вона була лише незначно порушеною (ЛБС ІІа, 63%) чи нормальною (ЛБС І, 25%). Під час підтримувальної терапії спостерігали подальше покращення: під час візиту С4 у більшості учасниць відзначали стабільну і нормальну вагінальну флору (ЛБС І, 69%; $p=0,039$).

Вагінальний рівень рН статистично значно знизився (мал. 4, с) з часу включення у дослідження (середнє значення 6,0) до візитів С1, С2 і С4 (середнє значення 4,4–4,6; $p < 0,001$), він не змінювався під час підтримувальної терапії.

Такі клінічні симптоми вагінальної атрофії, як сухість, хворобливість та диспареунія, покращились під час лікування. Сухість та хворобливість були значно полегшені в період після включення у дослідження до контрольних візитів ($p < 0,001$), хоча проведення статистичного оцінювання полегшення диспареунії було ускладнено малими цифрами. Під час включення у дослідження тільки 19% пацієток повідомляли про статеві акти, під час візиту С4 статевим життям жили вже 31% учасниць ($p > 0,05$). Кількість вагінальних виділень значно збільшилось в період після включення у дослідження до візиту С2 ($p < 0,01$), а потім зменшилось до кінця лікування. Вагінальна блідість значно покращилась в період після включення у дослідження до візиту С2 ($p=0,039$) і С4 ($p=0,006$), однак значне покращення таких симптомів, як почервоніння, наявність виразок і вагінальних складок, було відсутнє (табл. 3).

Флора БВ не спостерігалась практично у всіх пацієток під час всіх візитів, за виключенням візиту С2, під час якого у 4 учасниць (25%) відзначалась часткова флора БВ ($p > 0,05$). Показник АВ значно покращився під час лікування, у 81% пацієток спостерігався помірний або важкий АВ під час включення в дослідження, і лише у 37% був зафіксований слабкий або помірний АВ після вихідної терапії ($p < 0,001$). Після підтримувальної терапії у всіх пацієток, за



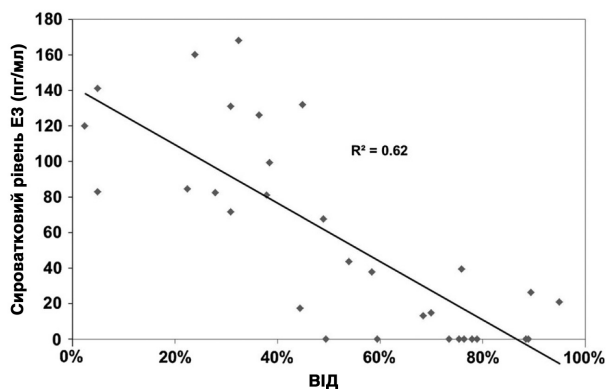
Мал. 4. Вагінальні характеристики під час включення в дослідження та в подальші періоди дослідження

виключенням однієї, флора повернулась до нормального стану ($p < 0,001$). У більшості учасниць була відсутня колонізація *Candida* під час будь-якого візиту (75–88%), але під час візиту С1 колонізація відзначалась у 7 пацієток (44%), у 4 із них вона збереглась під час подальших візитів.

Починаючи з другого тижня лікування, більшість дослідників та пацієток оцінювали ефективність як хорошу чи дуже хорошу (>90 і $>75\%$ відповідно), результат оцінювання ефективності пацієтками значно підвищився під час підтримувальної терапії до 94% в кінці періоду дослідження ($p=0,022$, табл. 3). Загальну переносимість лікування дослідники та пацієтки оцінювали як хорошу чи дуже хорошу (81–100%).

Серйозні НЯ були відсутні. Всі 40 НЯ мали слабкий чи помірний ступінь тяжкості, 15 із них (62,5%) оцінювали як потенційно пов'язані з досліджуваним препаратом. Найчастіше НЯ проявлявся вагінальними виділеннями.

Нині неможливо визначити безпеку вагінального застосування естрогену з урахуванням даних клінічних



Мал. 5. Порівняння найвищого сироваткового рівня Е3 після введення таблетки і ВІД, R² – коефіцієнт визначення

досліджень, що оцінюють його вплив на рецидив раку молочної залози. Тому оцінювання системного всмоктування естрогену та ефективності інтравагінального препарату, що містить дуже низьку дозу Е3, 0,03 мг і лактобактерії, при вагінальній атрофії була проведена в рамках унікального дослідження за участю жінок у постменопаузі, що застосовують ІА.

Системний рівень естрогену в пацієнок, які використовують НІА, значно нижчий, ніж у здорових жінок, що перебувають у постменопаузі [34]. Застосування високочутливої газової хроматографії – мас-спектрометрії та визначення мінімальних змін рівня різних естрогенів в крові є важливими аспектами для підтвердження безпеки в пацієнок, хворих на рак молочної залози [35]. Щоб роз'яснити цей аспект лікарям, які надають медичну допомогу пацієнткам з раком молочної залози, ми відзначали, що рутинні аналізи рівня естрогену, які використовують у більшості клінічних закладів та лікарень, є недостатньо чутливими, щоб гарантувати відсутність шкоди у зв'язку з низьким рівнем циркулюючих естрогенів.

У дослідженні, яке порівнювало всмоктування із вагінального кільця чи таблеток з Е2 у постменопаузальних пацієнок з раком молочної залози (які не застосовували ІА), сироватковий рівень Е2 і Е1 був тимчасово підвищеним, а вираженість вагінальної атрофії була ефективно зменшена [36]. В іншому дослідженні із застосуванням вагінального низькодозованого естрогену (0,25 мг Е3 чи 12,50 мкг Е2 два рази на тиждень протягом 12 тиж) було відсутнє підвищення рівня Е2 чи Е3, хоча фармакокінетичні показники були визначені [15]. Вагінальне застосування традиційної дози 0,50 мг Е3 спричинювало підвищення сироваткових рівнів Е3, але не Е2 і Е13 [8–39]. Лікарі побоюються, що навіть незначне, постійне підвищення системного сироваткового естрогену, зокрема Е1 та Е2, може підвищити ризик рецидиву раку молочної залози [12, 19]. О'Меага та співавтори провели дослідження випадок-контроль та повідомили, що ризик рецидиву раку молочної залози в пацієнок, які застосовували вагінальні естрогени, не був підвищеним, незалежно від загальної дози та типу використовуваного естрогену [40]. У рамках дослідження за участю 69 пацієнок з раком молочної залози, в яких відзначали симптоми вагінальної атрофії, використовували вагінальний Е3 (n=36) або вагінальний Е2 (n=33), подальше спостереження продовжувалось протягом декількох років, значний вплив на виникнення рецидиву був відсутнім [41]. Ретроспективне когортне дослідження, проведене в Фінляндії, продемонструвало, що застосування вагінальних препаратів, які містять Е2 та Е3, або пероральних препаратів, які містять Е3, не асоціювалось з ри-

зиком виникнення раку молочної залози у пацієнок в постменопаузі [42]. Тому сьогодні все ще складно обґрунтувати настійні рекомендації, які підтримують чи забороняють застосування різних вагінальних естрогенів в деяких постменопаузальних пацієнок з раком молочної залози, які застосовують ІА.

Не всі фізіологічно доступні естрогени мають однакові властивості. Е2 і Е1 можна обернено метаболізувати один в одного, Е3 є продуктом метаболізму естрогену, його неможливо знову перетворити на Е1 чи Е2 [43, 44]. Афіність Е3 до ядерного рецептора естрогенів в 10 раз нижча за афіність Е2 [44], ядерний час утримування рецепторного комплексу Е3 значно коротший (<6 год), ніж час рецепторного комплексу Е2 (>12 год) [45]. У комбінації з низькою афіністю до білків плазми і швидким метаболічним кліренсом це перетворює Е3 на естроген короткочасної дії [19]. Слід зазначити, що часто згадується той факт, що вагінальне всмоктування Е3 знижується, оскільки вагінальний епітелій дозріває протягом від декількох днів до декількох тижнів після початку вагінального лікування [30, 46, 47]. Також відзначається, що для надання стимулювального ефекту на ендометріальні тканини та тканини молочної залози потрібно тривале застосування Е3 в високих дозах [43].

Поточне дослідження продемонструвало наявність системного всмоктування Е3 після введення препарату Гінофлор®, але воно було мінімальним та тимчасовим. Через 28 днів використання вагінальних таблеток концентрація Е3 була нижчою за нижню межу кількісного визначення. Вплив AUC_{0–24} і C_{max} був значно нижчим в кінці базисної терапії, ніж під час зарахування у дослідження. Мінімальна сироваткова концентрація Е3, Е2 і Е1 залишалась нижчою за нижню межу кількісного визначення у всіх пацієнок, крім двох, в яких виявлені незначно вищі рівні Е3. Спостерігались лише невеликі зміни рівня ЛГ, ФСГ і ГЗСГ. Тому, щоб зробити висновок, що застосування препарату Гінофлор® у пацієнок в постменопаузі з раком молочної залози є онкологічно безпечним, слід встановити, чи впливає це короткочасне підвищення рівня Е3 на клітини раку молочної залози. Хоча 15 із 16 пацієнок продемонстрували подібне підвищення після вихідного застосування препарату Гінофлор, всмоктування під час терапії зменшилось (C_{max} зменшилась і t_{max} збільшилось), оскільки вагінальний епітелій стає все більш зрілим, що було продемонстровано у попередніх дослідженнях [30, 46, 47]. Через 4 тиж щоденне вагінальне застосування Е3 не призвело до підвищення, що виявлялось у 50% пацієнок. Максимальний рівень Е3 був нижчим за 45 пг/мл, у 25% пацієнок найвищий рівень був нижчим за 20 пг/мл. Клінічна значущість подібного тимчасового підвищення сироваткового рівня Е3 невідома, але ймовірно вона є незначною. У цей самий період ми не спостерігали підвищення рівня Е2 і Е1. Дослідження *in vitro* продемонстрували, що Е2 і Е3 можуть стимулювати клітини раку молочної залози, але ефект більшою мірою залежить від їхньої концентрації і тривалості дії [48]. Тому невелике і короткочасне підвищення сироваткової концентрації Е3 без підвищення рівня Е2 чи Е1, найімовірніше, можна вважати онкологічно безпечним у пацієнок з раком молочної залози, що застосовують ІА. Однак незважаючи на цікаві спостереження в рамках даного невеликого дослідження (фаза I), явну безпеку лікування пацієнок з естроген-рецепторпозитивним раком молочної залози, які застосовують ІА і невеликі дози Е3, необхідно довести у великих дослідженнях, проведених належним чином.

Не дивлячись на низьку загальну всмоктуваність Е3, лікування комбінованим препаратом, що містить дуже низькі дози Е3 і лактобактерії, продемонструвало відмінну ефективність: ВІД, ЛБС, вагінальний рівень рН нормалізу-

валися, клінічні симптоми атрофії швидко та значно покращувались під час вихідної терапії та під час подальшої підтримувальної терапії. Загальна ефективність оцінювалась як хороша чи дуже хороша вже через 2 тиж лікування, покращуючись ще більше до кінця дослідження. Крім того, пацієнтки повідомляли про покращення рівня якості життя, що є важливим для пацієток з раком молочної залози, які часто повідомляють про втрату сексуального інтересу і насолоди після початку протиракової терапії [49]. Пацієнтки добре переносили препарат Гінофлор®. Серйозні та важкі НЯ були відсутні під час дослідження.

Сильними сторонами дослідження є точний дизайн, оцінка відповідних параметрів (ФК, безпека та ефективність) в популяції пацієток, яких включали в дослідження, та застосування методу високочутливої газової хроматографії – мас-спектрометрії для виявлення мінімальних змін системної концентрації естрогену. Слабкими сторонами дослідження були малі цифри при оцінюванні деяких параметрів (зокрема, диспареунії).

Вагинальные таблетки (Гинофлор®), содержащие очень низкую дозу эстриола и Lactobacillus acidophilus, при вагинальной атрофии у пациенток в постменопаузе, которые страдают раком молочной железы и применяющие ингибиторы ароматазы: клиническое исследование фармакокинетики, безопасности и эффективности (фаза I)
Gilbert Donders, Patrick Neven, Maximilian Moegele, Anneleen Lintermans, Gert Bellen, Valdas Prasauskas, Philipp Grob, Olaf Ortmann, Stefan Buchholz

Было проведено фармакокинетическое (ФК) исследование (фаза I) для оценки уровня циркулирующих эстрогенов у пациенток с раком молочной железы, которые применяют нестероидный ингибитор ароматазы (НИА) при вагинальной атрофии и используют комбинированные вагинальные таблетки, содержащие очень низкую дозу эстриола (ЕЗ) – 0, 03 мг и Lactobacillus (Гинофлор®). Шестнадцать пациенток, применявших НИА и у которых диагностирована тяжелая вагинальная атрофия, ежедневно применяли по 1 вагинальной таблетке препарата Гинофлор® течение 28 дней, после чего наступал этап поддерживающей терапии с использованием 3 таблеток в неделю в течение 8 нед. Основные показатели включали сывороточную концентрацию и фармакокинетику эстриола (ЕЗ), эстрадиола (Е2) и эстрогена (Е1), определенную методом чувствительной газовой хроматографии - масс-спектрометрии. Дополнительные показатели включали клинические оценки эффективности и побочные эффекты; микроскопические изменения вагинального эпителия и микрофлоры, а также изменения сывороточного уровня ФСГ, ЛГ и глобулин-связывающего полового гормона.

Сывороточный уровень Е1 и Е2 по сравнению с исходным уровнем не повысился ни у одной из пациенток после применения вагинального средства. Сывороточный уровень ЕЗ временно повышался после первого применения у 15 из 16 пациенток, максимальный уровень составлял 168 пг/мл через 2–3 ч после введения препарата. Через 4 нед сывороточный уровень ЕЗ был незначительно повышен у 8 пациенток, максимальное значение составляло 44 пг/мл. Вагинальная атрофия была ликвидирована или ее симптомы улучшились у всех пациенток. Пациентки хорошо переносили препарат, никто не прекратил терапию. Применение вагинальных таблеток, содержащих низкую дозу ЕЗ, 0,03 мг и Lactobacillus acidophilus, у пациенток в постменопаузе с раком молочной железы при применении ингибитора ароматазы, страдающих вагинальной атрофией, привело к незначительному и времен-

ВИСНОВКИ

На закінчення, комбіновані вагінальні таблетки, що містять 0,03 мг ЕЗ та *L.acidophilus* – препарат Гінофлор® – можна вважати безпечним та ефективним засобом для лікування атрофічного вагініту у пацієток, які страждають на рак молочної залози і які застосовують інгібітори ароматази. Щоденне застосування вагінальної таблетки протягом 4 тижнів з подальшим введенням 1 таблетки щотижнево кожен другий день якості підтримуючої терапії призводить до незначного та короткотривалого підвищення сироваткової концентрації ЕЗ, але не Е1 або Е2, і тому є безпечним у пацієток з раком молочної залози.

Відкритий доступ

Дана стаття розповсюджується на умовах некомерційної ліцензії Creative Commons «Із зазначенням авторства», відповідно до якої дозволяється некомерційне застосування, розповсюдження та відтворення в будь-якому середовищі, із зазначенням авторів та джерела.

нному підвищенню рівня ЕЗ, но не рівня Е1 или Е2, поэтому этот препарат можно считать безопасным и эффективным средством для лечения атрофического вагинита у пациенток с раком молочной железы, которые применяют НИА.

Ключевые слова: рак грудной железы, ингибиторы ароматазы, вагинальная атрофия, вагинальный эстриол, лактобактерии.

Ultra-low-dose estriol and Lactobacillus acidophilus vaginal tablets (Gynoflor) for vaginal atrophy in postmenopausal breast cancer patients on aromatase inhibitors: pharmacokinetic, safety, and efficacy phase I clinical study
Gilbert Donders, Patrick Neven, Maximilian Moegele, Anneleen Lintermans, Gert Bellen, Valdas Prasauskas, Philipp Grob, Olaf Ortmann, Stefan Buchholz

Abstract Phase I pharmacokinetic (PK) study assessed circulating estrogens in breast cancer (BC) patients on a non-steroidal aromatase inhibitor (NSAI) with vaginal atrophy using vaginal ultra-low-dose 0.03 mg estriol (E3) and Lactobacillus combination vaginal tablets (Gynoflor). 16 women on NSAI with severe vaginal atrophy applied a daily vaginal tablet of Gynoflor for 28 days followed by a maintenance therapy of 3 tablets weekly for 8 weeks. Primary outcomes were serum concentrations and PK of E3, estradiol (E2), and estrone (E1) using highly sensitive gas chromatography–mass spectrometry. Secondary outcomes were clinical measures for efficacy and side effects; microscopic changes in vaginal epithelium and microflora; and changes in serum FSH, LH, and sex hormone-binding globulin. Compared with baseline, serum E1 and E2 did not increase in any of the women at any time following vaginal application. Serum E3 transiently increased after the first application in 15 of 16 women, with a maximum of 168 pg/ml 2–3 h post-insertion. After 4 weeks, serum E3 was slightly increased in 8 women with a maximum of 44 pg/ml. The vaginal atrophy resolved or improved in all women. The product was well tolerated, and discontinuation of therapy was not observed. The low-dose 0.03 mg E3 and Lactobacillus acidophilus vaginal tablets application in postmenopausal BC patients during AI treatment suffering from vaginal atrophy lead to small and transient increases in serum E3, but not E1 or E2, and therefore can be considered as safe and efficacious for treatment of atrophic vaginitis in BC patients taking NSAIs.

Key words: Breast cancer, Aromatase inhibitors, Vaginal atrophy, Vaginal estriol, Lactobacilli.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Smith IE, Dowsett M (2003) Aromatase inhibitors in breast cancer. *N Engl J Med* 348(24):2431-2442/
2. Crandall C, Petersen L, Ganz PA, Greendale GA (2004) Association of breast cancer and its therapy with menopause-related symptoms. *Menopause* 11(5):519-530.
3. Donders GG, Vereecken A, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Salembier G, Spitz B (2002) Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis. *BJOG* 109(1):34-43.
4. Hickey M, Saunders C, Partridge A, Santoro N, Joffe H, Stearns V (2008) Practical clinical guidelines for assessing and managing menopausal symptoms after breast cancer. *Ann Oncol* 19(10):1669-1680.
5. Ponzoni R, Biglia N, Jacomuzzi ME, Maggiorotto F, Mariani L, Sismondi P (2005) Vaginal oestrogen therapy after breast cancer: is it safe? *Eur J Cancer* 41(17):2673-2681.
6. Trinkaus M, Chin S, Wolfman W, Simmons C, Clemons M (2008) Should urogenital atrophy in breast cancer survivors be treated with topical estrogens? *Oncologist* 13(3):222-231.
7. Cardozo L, Benness C, Abbott D (1998) Low dose oestrogen prophylaxis for recurrent urinary tract infections in elderly women. *Br J Obstet Gynaecol* 105(4):403-407.
8. Suckling J, Lethaby A, Kennedy R (2006) Local oestrogen for vaginal atrophy in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev* 4:CD001500.
9. Bygdeman M, Swahn ML (1996) Replens versus dienestrol cream in the symptomatic treatment of vaginal atrophy in postmenopausal women. *Maturitas* 23:259-263.
10. Loprinzi CL, Abu-Ghazaleh S, Sloan JA, vanHaelst-Pisani C, Hammer AM, Rowland KM Jr et al (1997) Phase III randomized double-blind study to evaluate the efficacy of a polycarbophilbased vaginal moisturizer in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 15(3):969-973.
11. Nachtigall LE (1994) Comparative study: Replens versus local estrogen in menopausal women. *Fertil Steril* 61(1):178-180.
12. Kendall A, Dowsett M, Folkard E, Smith I (2006) Caution: vaginal estradiol appears to be contraindicated in postmenopausal women on adjuvant aromatase inhibitors. *Ann Oncol* 17(4):584-587.
13. Holmberg L, Iversen OE, Rudenstam CM, Hammar M, Kumpulainen E, Jaskiewicz J et al (2008) Increased risk of recurrence after hormone replacement therapy in breast cancer survivors. *J Natl Cancer Inst* 100(7):475-482.
14. Holmberg L, Anderson H (2004) HABITS (hormonal replacement therapy after breast cancer-is it safe?), a randomised comparison: trial stopped. *Lancet* 363(9407):453-455.
15. Biglia N, Peano E, Sgandurra P, Moggio G, Panuccio E, Migliardi M et al (2010) Low-dose vaginal estrogens or vaginal moisturizer in breast cancer survivors with urogenital atrophy: a preliminary study. *Gynecol Endocrinol* 26:404-412.
16. Labrie F, Cusan L, Gomez JL, Cote I, Berube R, Belanger P et al (2009) Effect of one-week treatment with vaginal estrogen preparations on serum estrogen levels in postmenopausal women. *Menopause* 16(1):30-36.
17. Notelovitz M, Funk S, Nanavati N, Mazzeo M (2002) Estradiol absorption from vaginal tablets in postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 99(4):556-562
18. Santen RJ, Pinkerton JV, Conaway M, Ropka M, Wisniewski L, Demers L et al (2002) Treatment of urogenital atrophy with lowdose estradiol: preliminary results. *Menopause* 9(3):179-187.
19. Al-Baghdadi O, Ewies AA (2009) Topical estrogen therapy in the management of postmenopausal vaginal atrophy: an up-to-date overview. *Climacteric* 12(2):91-105
20. Moegele M, Buchholz S, Seitz S, Ortmann O (2012) Vaginal estrogen therapy in postmenopausal breast cancer patients treated with aromatase inhibitors. *Arch Gynecol Obstet* 285:1397-1402.
21. Mariani L, Gadducci A, Vizza E, Tomao S, Vici P (2013) Vaginal atrophy in breast cancer survivors: role of vaginal estrogen therapy. *Gynecol Endocrinol* 29(1):25-29.
22. Del PL (2012) Management of vaginal dryness and dyspareunia in estrogen sensitive cancer patients. *Gynecol Endocrinol* 28(9):740-745.
23. Chollet JA (2009) Efficacy and safety of vaginal estriol and progesterone in postmenopausal women with atrophic vaginitis. *Menopause* 16:978-983.
24. Donders GG, Van BB, Van de WP, Kaiser RR, Pohlig G, Gonser S et al (2010) Effect of lyophilized lactobacilli and 0.03 mg estriol (Gynoflor(R)) on vaginitis and vaginosis with disrupted vaginal microflora: a multicenter, randomized, single-blind, active-controlled pilot study. *Gynecol Obstet Invest* 70(4):264-272.
25. Ozkinay E, Terek MC, Yayci M, Kaiser R, Grob P, Tuncay G (2005) The effectiveness of live lactobacilli in combination with low dose oestriol (Gynoflor) to restore the vaginal flora after treatment of vaginal infections. *BJOG* 112(2):234-240.
26. Kanne B, Patz B, Wackerle L (1986) Local treatment of vaginal infections with Doederlein bacteria and estriol in climacterium and senium. *Frauenarzt* 3:35-40.
27. Kanne B (1989) Local administration of weakly dosed estriol and active Lactobacillus acidophilus in the postmenopausal period. *Arch Gynecol Obstet* 246(Supplement):134.
28. Kanne B, Jenny J (1991) Local administration of low-dosed estriol and viable Lactobacillus acidophilus in the post-menopausal period. *Gyna?kol Rundsch* 31(1):7-13.
29. Jaisamrarn U, Tiratanachai S, Chaikittisilpa S, Grob P, Prasauskas V, Taechakraichana N (2013) Ultra-low-dose estriol and lactobacilli in the local treatment of postmenopausal vaginal atrophy. *Climacteric* 16(3):347-355.
30. Kaiser RR, Michael-Hepp J, Weber W, Graf F, Lauritzen C (2000) Absorption of estriol from vaginal tablets after single and repeated application in healthy, postmenopausal women. *Therapiewoche* 3:2-8.
31. Donders GG, Caeyers T, Tydhoof P, Riphagen I, Van den Bosch T, Bellen G (2007) Comparison of two types of dipsticks to measure vaginal pH in clinical practice. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 134(2):220-224.
32. Donders GG (1999) Microscopy of the bacterial flora on fresh vaginal smears. *Infect Dis Obstet Gynecol* 7(4):177-179.
33. Donders GG (2007) Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 21(3):355-373.
34. Lonning PE, Geisler J (2008) Aromatase inhibitors: assessment of biochemical efficacy measured by total body aromatase inhibition and tissue estrogen suppression. *J Steroid Biochem Mol Biol* 108(3-5):196-202.
35. Blair IA (2010) Analysis of estrogens in serum and plasma from postmenopausal women: past present, and future. *Steroids* 75(4-5):297-306.
36. Wills S, Ravipati A, Venuturumilli P, Kresge C, Folkard E, Dowsett M et al (2012) Effects of vaginal estrogens on serum estradiol levels in postmenopausal breast cancer survivors and women at risk of breast cancer taking an aromatase inhibitor or a selective estrogen receptor modulator. *J Oncol Pract* 8(3):144-148.
37. Keller PJ, Riedmann R, Fischer M (1980) Oestrone, oestradiol and oestriol content following intravaginal application of oestriol in the postmenopause. *Gyna?kol Rundsch* 20:77-79.
38. Mattsson L-A, Cullberg G (1983) A clinical evaluation of treatment with estriol vaginal cream versus suppository in postmenopausal women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 62:397-401.
39. van Haften M, Donker GH, Haspels AA, Thijssen JHH (1989) Oestrogen concentrations in plasma, endometrium, myometrium and vagina of postmenopausal women, and effects of vaginal oestriol (E3) and oestradiol (E2) applications. *J Steroid Biochem* 33(4A):647-653.
40. O'Meara ES, Rossing MA, Daling JR, Elmore JG, Barlow WE, Weiss NS (2001) Hormone replacement therapy after a diagnosis of breast cancer in relation to recurrence and mortality. *J Natl Cancer Inst* 93(10):754-762.
41. Dew JE, Wren BG, Eden JA (2003) A cohort study of topical vaginal estrogen therapy in women previously treated for breast cancer. *Climacteric* 6(1):45-52.
42. Lyytinen H, Pukkala E, Ylikorkala O (2006) Breast cancer risk in postmenopausal women using estrogen-only therapy. *Obstet Gynecol* 108(6):1354-1360.
43. Head KA (1998) Estriol: safety and efficacy. *Altern Med Rev* 3(2):101-113.
44. van der Vies J (1982) The pharmacology of oestriol. *Maturitas* 4:291-299.
45. Anderson JN, Peck EJJ, Clark JH (1975) Estrogen-induced uterine responses and growth: relationship to receptor estrogen binding by uterine nuclei. *Endocrinology* 96:160-167.
46. Heimer G, Englund D (1984) Estriol: absorption after long-term vaginal treatment and gastrointestinal absorption as influenced by a meal. *Acta Obstet Gynecol Scand* 63:563-567.
47. Buhling KJ, Eydelor U, Borregaard S, Schlegelmilch R, Suesskind M (2012) Systemic bioavailability of estriol following single and repeated vaginal administration of 0.03 mg estriol containing pessaries. *Arzneimittelforschung* 62(8):378-383.
48. Latratch C, Stegerer A, Haring J, Schuler S, Ortmann O, Treeck O (2013) Estrogen receptor beta agonists affect growth and gene expression of human breast cancer cell lines. *Steroids* 78(2):195-202.
49. Derzko C, Elliott S, Lam W (2007) Management of sexual dysfunction in postmenopausal breast cancer patients taking adjuvant aromatase inhibitor therapy. *Curr Oncol* 14(Suppl 1):S20-S40.