

Фармакопротеомный анализ эффективности и безопасности применения фоллитропина бета в лечении ановуляторного бесплодия

М.Ю.Гиляновский, Д.Ю.Гордиенко, И.В.Сарвилина

Медицинский центр «Новомедицина», Ростов-на-Дону

Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург

Во второй половине XX столетия отмечается тенденция к увеличению продолжительности жизни населения. Проблема старения тесно связана с показателем репродуктивного потенциала населения. Частота бесплодных браков в России превышает 15% [3]. Современная концепция репродуктивного старения женщины состоит в признании ведущей роли истощения фолликулярного аппарата яичников [1]. До настоящего времени неизвестны молекулярные факторы, влияющие на объем атрезии фолликулов [2]. Использование методов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), пересадки эмбриона, интрацитоплазматического введения сперматозоидов (ИКСИ) в 85-92,5% способствует рождению здоровых детей. Для стимуляции овуляции в качестве вспомогательной репродуктивной технологии используются препараты, полученные в результате генной инженерии, на 99% состоящие из активного компонента – рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (фоллитропин альфа, фоллитропин бета). При этом многие аспекты регуляции функции яичников в условиях репродуктивного старения на молекулярном уровне, включая фармакологическую регуляцию препаратами рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона, остаются неизученными.

Целью настоящего исследования явился фармакопротеомный анализ эффективности и безопасности применения фоллитропина бета для контролируемой стимуляции овуляции.

Материалы и методы

В исследовании участвовали 48 женщин в возрасте от 22 до 43 лет с ановуляторным бесплодием, которым проводили контролируемую индукцию овуляции фоллитропином бета в начальной дозе 50 МЕ ежедневно; при отсутствии ответа яичников дозу индивидуально увеличивали со 2 дня менструального цикла под контролем уровня эстрадиола. Препарат отменяли при достижении уровня эстрадиола 300–900 пг/мл. Контрольную группу составили 15 здоровых женщин. Оценка эффективности и безопасности индукции овуляции выполнялись до назначения и в последний день приема фоллитропина бета. Выполнялись трансвагинальная эхография, фолликулометрия и доплерометрия (Aloka Prosound 3500SX, Япония) с оценкой показателей толщины миометрия, кровотока в маточной артерии (индекс пульсации, ИП; индекс сосудистого сопротивления, ИСС; индекс резистентности, ИР). Концентрация эстрадиола в крови пациенток определялась методом ИФА (Advia

Centaur, Bayer Diagnostics, Германия). Фармакопротеомный анализ выполнялся на основе MALDI-TOF-TOF-МС (прибор Ultraflex II, Bruker, США) с разделением отдельных пептидов и белков плазмы крови с помощью стандартного набора ClinProt (Bruker, США), включающего 3 вида хроматографического разделения (MB-HIC C8 Kit, MB-IMAC Cu, MB-Wax Kit). Идентификацию пептидного фингерпринта молекулярных маркеров проводили в интегрированной базе данных Mascot Search (London, UK). Биоинформационный анализ молекулярных взаимодействий функциональных групп белков выполнен с помощью компьютерных программ STRING 8.1, STITCH. Статистическую обработку материала исследования проводили с использованием пакета статистических программ для биомедицинских исследований «Statistica 6.0».

Результаты и их обсуждение

У 5 женщин ответ на введение фоллитропина бета оказался недостаточным (отсутствие линейного увеличения диаметра фолликула на 2 мм в день), что потребовало прекращения стимуляции. У 3 женщин с недостаточным эффектом на введение фоллитропина бета в конце исследования отмечено достоверное увеличение средних значений ИП ($3,2 \pm 0,1$, $p < 0,01$), ИСС ($0,9 \pm 0,01$, $p < 0,01$), ИР ($0,92 \pm 0,02$, $p < 0,05$) в восходящей ветви маточной артерии по сравнению со значениями аналогичных показателей до назначения препарата, а также по сравнению со значениями аналогичных показателей на фоне введения фоллитропина бета в конце исследования у остальных пациенток (ИП – $2,1 \pm 0,1$, $p < 0,01$; ИСС – $0,6 \pm 0,01$, $p < 0,01$; ИР – $0,88 \pm 0,01$, $p < 0,05$) и у здоровых женщин (ИП – $1,1 \pm 0,05$,

ИСС – $0,84 \pm 0,01$, ИР – $0,8 \pm 0,01$, $p < 0,05$). Значения толщины эндометрия $7,5 \pm 0,2$ мм отмечены у 8 женщин, в том числе, у 5 пациенток с недостаточным ответом на фоллитропин бета. По уровню нарастания концентрации эстрадиола всю группу пациенток можно разделить на 2 подгруппы: I подгруппа (5 женщин с недостаточным ответом на введение фоллитропина бета) со сниженной концентрацией эстрадиола $320,7 \pm 12,3$ пг/мл ($p < 0,001$) по сравнению с женщинами II подгруппы (43 пациентки) с концентрацией эстрадиола $785,9 \pm 22,9$ пг/мл.

Протеомный анализ позволил обнаружить динамику профиля плазмы крови в исследуемой группе пациенток на фоне введения фоллитропина бета и различия в компонентном составе белков профиля плазмы крови женщин с ановуляцией на момент включения в исследование. До назначения фоллитропина бета у всех пациенток с ановуляцией в качественном спектре плазмы крови были обнаружены белки, отсутствовавшие в плазме крови здоровых женщин: фактор инициации трансляции eIF-2B, остеоглицин, флотиллин-1, бета-центрактин, карнитин о-пальмитоилтрансфераза I, фасцин. Отмечено достоверное уменьшение экспрессии таких белков, как остеоглицин, карнитин о-пальмитоилтрансфераза I и появление экспрессии белка виментина на фоне введения фоллитропина бета. У 5 пациенток с отсутствием ответа на введение фоллитропина бета на момент включения в исследование была обнаружена высокая экспрессия виментина, которая не уменьшалась при введении фоллитропина бета.

Биоинформационный анализ качественного спектра белков плазмы крови у женщин с ановуляторным бесплодием показал присутствие белков, молеку-

лярные функции которых определяют их роль в качестве маркеров данной патологии: известно, что остеоглицин участвует в формировании коллагена и в высокой экспрессии способствует возникновению аневризм сосудистой стенки, флотиллин-1 регулирует клатрин-зависимый молекулярный путь активации эндоцитоза в тучных клетках в тканях. Обнаружение высокой экспрессии виментина у 5 пациенток с отсутствием ответа на введение фоллитропина бета и появление экспрессии этого белка на фоне введения препарата у остальных пациенток может свидетельствовать о процессах перестройки на уровне цитоскелета ооцита, накоплении липопротеинов низкой плотности, изменении обмена холестерина на уровне клетки и сопряженного с ним синтеза половых гормонов, активации онкоспецифичных молекулярных путей, что в совокупности отражает неблагоприятные реакции на фоллитропин бета на клеточном уровне.

Выводы

Таким образом, фармакопротеомный анализ применения фоллитропина бета в лечении ановуляторного бесплодия обнаружил прогностические маркеры эффективности и безопасности приема рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона. Полученные данные открывают новые возможности для поиска перспективных мишеней с целью разработки биотаргетных лекарственных препаратов для лечения бесплодия и требуют проведения дальнейших исследований.

Список литературы

1. **Викторов И.В., Сухих Г.Т.** Медико-биологические аспекты применения стволовых клеток // Вестн. РАМН. 2002. № 4. С.24-30.
2. **Малайцев В.В., Богданова И.М., Сухих Г.Т.** Современные представления о биологии стволовой клетки // Архив патол. 2002. Т.64. № 6. С.659-664.
3. Трансвагинальный Цветовой Допплер: Бесплодие, Вспомогательная Репродукция, Акушерство. Под редакцией: **А.Курьяка, А.Михайлова, С.Купешич.** СПб: Петрополис, 2001. – 294 (6) с.