



ГОНАДОТРОПИНЫ: ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ

Т.В. Чеботникова

Роль препаратов гонадотропинов в репродуктивной медицине сложно переоценить: индукция суперовуляции в протоколах ВРТ и процедура ЭКО без них невозможна. Фактически гонадотропины являются наиболее эффективными препаратами для лечения бесплодия, и не имеют достойной альтернативы при стимуляции суперовуляции. Область применения не ограничивается ЭКО: в амбулаторных условиях гонадотропины успешно используются для стимуляции овуляции при ановуляторном бесплодии и гипогонадотропном гипогонадизме у мужчин. История их создания началась с попыток лечения бесплодия путем применения препаратов животного происхождения. Cole и Hart в 1930г. обнаружили, что экстракт сыворотки жеребых кобыл (PMSG, pregnant mare serum gonadotrophin) обладает гонадотропной активностью. В 1937г. были предприняты попытки применения PMSG для лечения ановуляторных состояний у женщин, однако потребовалось несколько лет совершенствования технологии получения препарата и выработки оптимального режима дозирования.

Существенный шаг вперед был сделан в 1941 году, когда была выдвинута концепция двухэтапного протокола: стимуляция роста фолликулов с помощью экстракта сыворотки жеребых кобыл с последующей индукцией овуляции с помощью хорионического гонадотропина. Mazer и Ravetz (1941) сообщили об успешном применении нового метода при длительной вторичной аменорее. Для стимуляции роста фолликулов использовалась сыворотка жеребых кобыл или экстракт гипофиза свиней или овец с последующим введением ХГЧ для индукции овуляции. В 19 из 23-х случаях удалось добиться менструально-подобной реакции, подобный успех позволил предположить наличие гипофизарного фактора, стимулирующего развитие и созревание фолликулов (Mazer, 1946). Довольно быстро (уже в 1942г.) несколько групп исследователей одновременно обнаружили, что после одного-двух циклов стимуляции сывороткой жеребых кобыл утрачивается чувствительность к препарату за счет образования «антигормонов» (Zondek, 1942; Ostergaard, 1942). Данный феномен поставил точку в применении сывороточных гонадотропинов: эра «сыворотки жеребых кобыл» фактически завершилась, хотя в некоторых странах (Восточная Германия) аналогичные препараты применяли вплоть до 1973 года (Groot-Wassink, 1973).

В 1958г. был предложен иной источник гонадотропинов – гипофиз погибших людей. В работах Gemzell (1958), Bettendorf (1963) подтверждено, что применение человеческих гипофизарных гонадотропинов оказывает стимулирующий эффект на яичники у женщин с удаленным гипофизом. Клиническое использование подобных препаратов продолжалось вплоть до 1988г.: А.М. Matsumoto и А.Е. Karpas предложено использовать препаратов гонадотропинов у мужчин с гипогонадотропным гипогонадизмом (1986). Однако

в 1992г. Dumble и Klein описаны 12 случаев болезни Крейтцфельда-Якоба у женщин, получавших гонадотропины и гормон роста трупного происхождения в Австралии, Великобритании и Франции. С 1990г. все препараты, сырьем для которых служат трупные ткани человека и животных (человеческие гипофизарные гонадотропины и гормон роста) повсеместно запрещены, что стало завершением второго этапа эволюции гонадотропинов, названного «эрой человеческих гонадотропинов» (Cochius, 1990).

Одновременно с разработкой препаратов гипофиза человека происхождения начались работы по получению гонадотропинов из мочи человека. В 1949 г. итальянский химик P. Donini предложил технологию получения гликопротеинов из мочи. Моча женщин в постменопаузе, содержащая высокие концентрации ФСГ и ЛГ, проходила фильтрацию через каолиновый фильтр. Препарат получил название менотропина или человеческого менопаузального гонадотропина (ЧМГ). Его биологическая активность не превышала 5%, остальные 95% приходились на белковые примеси. В 1953 г. прошла апробация ЧМГ в эксперименте: группа под руководством Borth подтвердила успешную стимуляцию роста фолликулов у крыс, подвергнутых гипофизэктомии. В 1957г. основатель компании Serono P. Bertarelli получил специальное разрешение Ватикана на сбор мочи у монахинь постменопаузального возраста в монастырях Италии, Испании и Нидерландов. В 1959г. первый препарат мочевых гонадотропинов – очищенный экстракт ЧМГ был успешно апробирован у человека, в 1962 г. группа ученых под руководством В. Lunenfeld сообщила о наступлении 3-х беременностей после стимуляции роста фолликулов первым препаратом ЧМГ – Пергоналом.

Последующие усилия были направлены на поиск путей повышения качества препаратов и удаления примесей. После первых лет успешного применения ЧМГ предположено негативное влияние избыточных концентраций ЛГ на результаты стимуляции. В 1967г. была предложена методика, позволяющая ограничить активность ЛГ в препаратах ЧМГ. Для этого менотропин повторно пропускали через каолиновую колонку, содержащую поливалентные антитела к ХГЧ. В результате был создан второй класс мочевых гонадотропинов – урофоллитропины. Первые роды в рамках клинических испытаний урофоллитропинов произошли в 1980г., в 1983г. был зарегистрирован коммерческий препарат – Метродин.

Дальнейшее усовершенствование технологии очистки позволило увеличить содержание ФСГ в препаратах гонадотропинов до 95%. Новая технология предусматривала двухэтапную очистку: сначала урофоллитропин пропускали через каолиновую колонку, содержащую моноклональные антитела к ФСГ, а затем инициировали разрушение комплексов антиген-антитело. В результате был получен третий класс мочевых гонадотропинов – урофоллитропины высо-

кой чистоты, и в названиях коммерчески доступных препаратов появилась аббревиатура HP (high purity) – например, Metrodin HP (зарегистрирован в 1993г).

До 1996г. все гонадотропины создавались на основе мочи постменопаузальных женщин и различались только по содержанию ФСГ, ЛГ и доли белковых примесей. К середине 1990-х гг потребность в исходном материале для производства уринарных гонадотропинов выросла в 1000 раз: если в 1960-е гг количество доноров по всему миру ограничивалось 600 монахинями трех стран, и в год собирали до 120 тыс литров мочи, то к 1990г. требовалось собирать порядка 120 млн литров мочи ежегодно у более чем 600 тыс доноров по всему миру. Компании-производители столкнулись с рядом непреодолимых проблем.

В отличие от препаратов, произведенных из доноров крови, система сбора мочи не позволяла отследить происхождение конкретной серии мочи от соответствующих доноров. Для создания партии препарата требовалась аккумуляция мочи от разных доноров, и конечный реципиент также оставался неизвестным. Так как донорами служили женщины постменопаузального возраста, существовал неизбежный риск попадания в препараты гонадотропинов остатков лекарственных средств, которые использовали доноры (женщины в постменопаузе) для лечения сопутствующих заболеваний. Среди примесей были идентифицированы седативные, противовоспалительные, обезболивающие препараты, антибиотики, сердечные гликозиды, антигипертензивные средства и т.д. Даже самые современные производственные технологии не позволяли обеспечить полную очистку гонадотропинов от соответствующих примесей.

Состав потенциально биологически активных примесей в течение длительного времени оставался неизученным. Современные хроматографические методики позволили частично расшифровать белковые примеси в препаратах мочевого происхождения. Среди них были обнаружены трансферрин, белок, связывающий фактор некроза опухолей, фрагменты иммуноглобулинов, урокиназа, эпидермальный фактор роста, ингибитор лейкоцит-эластазы, ингибитор протеина С и другие биологически активные белки. До настоящего времени технически невозможен контроль содержания подобных белковых молекул в препаратах мочевого происхождения.

В конце 1990-х гг появились данные о потенциальном риске загрязнения препаратов, получаемых из мочи человека, частицами вирусного и бактериального происхождения. В частности, в литературе обсуждалась вероятность загрязнения так называемыми “прионными” белками, ассоциированными с болезнью Крейтцфельда-Якоба. На биологических моделях было установлено, что моча уже становится потенциально опасной еще до появления клинических симптомов заболевания, а в результате концентрации мочи в почках содержание прионных белков увеличивается в 120 раз по сравнению с уровнем в сыворотке крови (Seeger, 2005). В результате научной дискуссии правительства ряда стран законодательно ограничили применение препаратов мочевого происхождения (Австралия 1996; Франция 1996; Швейца-

рия 2003; Великобритания 2003).

Еще одной проблемой, не имеющей технического решения, стала методика определения биологической активности препаратов мочевого происхождения. До настоящего времени с этой целью применяют метод биологических проб по Steelman-Pohley: самкам крыс в возрасте 21-22 дней после рандомизации и определения исходного ХГЧ в течение 3 дней вводят ФСГ из конкретной партии препарата, затем оценивают прирост массы яичников. Допустимая вариабельность этой методики составляет $\pm 25\%$. В клинической практике это означает, что ампула с маркировкой 75 международных единиц (МЕ) фактически содержит нечто от 60 до 94 МЕ, то есть при назначении одной из наиболее распространенных дозировок ФСГ 225 МЕ пациентка получает фактически от 180 до 282 МЕ, что, несомненно, влияет на клинический ответ на стимуляцию.

Появление технологии синтеза рекомбинантных гонадотропинов можно считать революционным шагом для класса гонадотропинов. Синтез рекомбинантных гонадотропинов стал возможным после изоляции генов, кодирующих альфа- и бета-субъединицы ФСГ, ЛГ и ХГЧ на клеточной линии яичников китайского хомячка (CHO-DUKI), которую благодаря высоким показателям стабильности применяют уже в течение 30 лет для синтеза белков. Технологические особенности получения рекомбинантных гонадотропинов (отсутствие ограничений по объему выпуска препарата, обеспечение жесткого контроля исходного материала, гарантия высокого постоянства состава, содержания ФСГ и специфической активности) обеспечивают отчетливые преимущества по клинической эффективности и безопасности, подтвержденные в РПКИ и мета-анализах. Первым в мире рекомбинантным дозированным по массе белка ФСГ стал препарат компании «Сероно», зарегистрированный под торговым названием «Гонал-ф». Надо отметить, что компания «Сероно» (ныне «Мерк Сероно») стоит у истоков развития репродуктивной медицины и в настоящее время производит всю линейку препаратов для лечения бесплодия и ведения индуцированного цикла.

Последующее развитие репродуктивной медицины существенно увеличило потребность в препаратах гонадотропинов и потребовало внедрения более удобных препаратов, которые могут вводиться самой пациенткой в домашних условиях. Новые современные технологии позволили перейти от лиофилизированных форм на готовые растворы с длительным сроком хранения. Разработка специальных инъекторов (шприц-ручек), облегчающих процедуру введения гонадотропинов в амбулаторных условиях, позволила доверить введение препарата самой пациентке. Сегодня препараты гонадотропинов представляют оптимальный и безопасный способ индукции овуляции как при ановуляторном бесплодии в амбулаторных поликлинических условиях, так и при стимуляции суперовуляции в протоколах ЭКО. Активное создание и совершенствование препаратов гонадотропинов открывают новые горизонты в репродуктивной медицине.