

© В. М. Денисова

ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта»
СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АГОНИСТА ГОНАДОТРОПИН-РЕЛИЗИНГ ГОРМОНА В ТЕРАПИИ ЭНДОМЕТРИОЗА

УДК: 618.145-007.415-085

■ Эндометриоз является эстроген-зависимым заболеванием. Ароматаза P450 представляет собой ключевой фермент в биосинтезе эстрогенов. Целью исследования было сопоставление лечебной эффективности агониста гонадотропин-рилизинг гормона (аГРГ) с активностью овариальной ароматазы. Обследованы 64 женщины с эндометриозом после лапароскопической коагуляции эндометриозных гетеротопий. Обследование включало определение иммуноферментным методом ФСГ, ЛГ, пролактина, антимюллерова гормона, эстрадиола, эстрогена и андростендиона в крови, а также определение активности ароматазы с помощью пробы с ингибитором ароматазы, летрозолом. Лапароскопическая коагуляция эндометриозных гетеротопий с последующим шестимесячным курсом аГРГ закономерно приводила к уменьшению клинических проявлений заболевания и восстановлению полноценного овуляторного менструального цикла у большинства (72,5%) больных. Лечебная эффективность комбинированной терапии не зависела от исходного уровня эстрадиола в крови и активности овариальной ароматазы.

■ **Ключевые слова:** эндометриоз; овариальная ароматаза; агонисты ГРГ.

Актуальность

Эндометриоз является эстроген-зависимым заболеванием. В лечении наружного генитального эндометриоза (НГЭ) в настоящее время наиболее часто применяются агонисты гонадотропин-рилизинг гормона (аГРГ). Гонадотропин-рилизинг гормон (ГРГ) был открыт в 1971 году, и с тех пор его агонисты и антагонисты стали применяться для лечения таких заболеваний как рак предстательной железы, рак молочной железы, эндометриоз, миома матки, а также в протоколах вспомогательных репродуктивных технологий [17]. ГРГ представляет собой декапептид, который синтезируется и накапливается в медио-базальном гипоталамусе и выбрасывается в портальную систему в импульсном режиме. Соединяясь с плазматическими рецепторами гонадотрофов гипофиза, ГРГ стимулирует синтез и секрецию ими лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов. Рецептор ГРГ млекопитающих — это семикомпонентный трансмембранный рецептор портального типа, связанный с G-белком, состоящий из 328 аминокислот [14]. Кроме гонадотрофов гипофиза, этот рецептор экспрессируется на многих других тканях человека, включая плаценту, матку, яичники, предстательную железу, молочную железу, печень, сердце, скелетные мышцы и почки [9, 11, 17].

Агонисты гонадотропин-рилизинг гормона отличаются от натурального ГРГ заменой аминокислот в положении 6 (в месте протеолиза) и часто наличием этил-амидной группы вместо глицин-амидной на С-конце молекулы, что приводит к большей устойчивости молекулы и увеличивает период полужизни в циркуляции [10]. Механизм действия агонистов ГРГ включает две фазы: кратковременную фазу стимуляции, проявляющуюся повышением содержания в крови ФСГ и ЛГ и, как следствие, возрастанием эстрадиола и в меньшей степени прогестерона в крови; и фазу десенситизации гипофиза, когда гонадотрофы остаются резистентными к стимуляции и уровень гонадотропинов в крови снижается. Интенсивность и длительность второй фазы зависит от дозы агонистов ГРГ [10].

Лечебный эффект агонистов ГРГ при эндометриозе может быть связан со следующими факторами: снижением уровня эстрогенов в крови, с усилением апоптоза в клетках эндометрия через усиление экспрессии Fas-лиганда и уменьшением активности антиапоптотического белка Bcl-2, с нарушением имплантации отторгнутых клеток эндометрия на брюшину [7, 12, 13, 15]

Рядом авторов [1, 5] обнаружена абсолютная или относительная гиперэстрогемия у женщин с эндометриозом. В дальнейшем была установлена повышенная активность овариальной ароматазы при этой патологии еще до формирования доминантного фолликула [2]. Представляло интерес сопоставление лечебной эффективности агонистов ГРГ при эндометриозе с активностью овариальной ароматазы.

Цель работы состояла в изучении лечебного эффекта агониста ГРГ в зависимости от активности овариальной ароматазы.

Материалы и методы исследования

Обследованы 64 больные наружным генитальным эндометриозом (НГЭ). Возраст больных колебался от 24 до 39 лет и в среднем составил $30,3 \pm 0,4$ года. Индекс массы тела (ИМТ) равнялся в среднем $21,1 \pm 0,4$ кг/м². В пределах нормальных значений индекс массы тела был у 57 женщин (89,1%), избыток массы тела — у одной (1,6%), ожирение — у двух (3,1%), дефицит массы тела — у четырех больных (6,2%). Средний возраст наступления менархе в исследуемой группе составил $12,9 \pm 0,2$ года. Регулярный менструальный цикл был у 56 (87,5%) из исследуемых женщин, нарушения менструального цикла, проявлявшиеся опсоменореей, наблюдались у 8 (12,5%) больных. Беременности в анамнезе были у 38 (40,1%) женщин, срочные роды были у 7 больных. Искусственные аборт в анамнезе были у 13 (20,4%) больных, невынашивание беременности в анамнезе было у 12 (18,8%) больных. Первичное бесплодие было отмечено у 35 (54,7%) женщин, продолжительность первичного бесплодия составила от 1 года до 10 лет (в среднем $3,6 \pm 0,4$ года), причем наличие мужского фактора бесплодия в данной группе было отмечено у 9 (25,7%) больных. Вторичное бесплодие отмечено у 17 (26,6%) больных, продолжительность его составила от 1 года до 7 лет (в среднем $2,9 \pm 0,4$ года), мужской фактор вторичного бесплодия отмечен у 7 (41,2%) женщин. Овуляторный менструальный цикл был сохранен у 22 (34,4%) женщин, у 42 (65,6%) больных была недостаточность функции яичников (у 36 — ановуляция, у шести — недостаточность лютеиновой фазы). У всех больных был сохранен менструальный цикл. У 28 (43,7%) из них имелись перименструальные кровянистые выделения, у 47 (73,4%) женщин отмечена альгоменорея, у 21 (32,8%) женщины имелась диспареуния, у 11 (17,2%) больных имелись не связанные с менструальным циклом тазовые боли.

Степень распространенности НГЭ определяли согласно пересмотренной классификации Американского общества фертильности [6]. У девяти женщин (14,1%) имелся НГЭ I степени, у 40 (62,5%) больных — НГЭ II степени, у 10 (15,6%) больных НГЭ III степени и у пяти (7,8%) больных — НГЭ IV степени. Оперативное вмешательство по поводу НГЭ однократно проведено 58 (90,6%) больным, дважды — пяти (7,8%) женщинам и трижды одной больной (1,6%).

Контрольную группу составили 15 женщин с полноценным овуляторным менструальным циклом. Возраст женщин контрольной группы колебался от 23 лет до 31 года, в среднем составил $26,7 \pm 0,8$ года. ИМТ в контрольной группе в среднем составил $21,3 \pm 0,5$ кг/м², у одной женщины имелся дефицит массы тела, у остальных масса тела была в пределах нормы. Средний возраст наступления менархе в контрольной группе составил $13,1 \pm 0,2$ года. У пяти (33,3%) женщин контрольной группы в анамнезе были беременности, которые закончились срочными родами. У всех женщин был регулярный менструальный цикл. Овуляторный менструальный цикл был подтвержден данными ультразвукового исследования органов малого таза, уровнем прогестерона в крови на 20–21-й день менструального цикла.

Всем женщинам основной группы проведена лапароскопия по общепринятой методике с помощью лапароскопа фирмы «Karl Storz» (Германия) для подтверждения диагноза наружного генитального эндометриоза и иссечения и коагуляции эндометриоидных гетеротопий с последующим их гистологическим исследованием.

Ультразвуковое исследование органов малого таза проводили на аппарате «Sonoace X4» (Корея) с использованием трансвагинального датчика с частотой 4–9 МГц. При ультразвуковом исследовании определяли размеры матки, толщину и структуру эндометрия, размеры яичников, состояние фолликулярного аппарата, наличие доминантного фолликула и желтого тела, их размеры.

Гормональное обследование включало определение иммуноферментным методом в сыворотке крови эстрадиола (E_2), эстрогена (E_1), андростендиона (A_4), ФСГ, ЛГ, пролактина, антимюллерова гормона (АМГ). Пролактин, ФСГ, ЛГ, прогестерон определяли с помощью тест-систем Алкорбио (Россия); эстрадиол, эстрон, андростендион — с помощью тест-систем DRG diagnostics (Германия); АМГ — с помощью тест-системы Beckman Coulter (США). Всем женщинам на второй день менструального цикла проводили пробу с ингибитором ароматазы летрозолом. Содержание гонадотропинов и половых стероидных гормонов определяли исходно и через 48 часов после перорального приема 10 мг ингибитора ароматазы летрозола. Активность овариальной ароматазы оценивали по снижению уровня эстрадиола в крови под влиянием летрозола в абсолютных значениях (пмоль/л) и в процентах от исходного уровня. Для оценки ароматазной активности одного антрального фолликула использовали коэффициент: $\Delta E_2/AMG$, где ΔE_2 — снижение уровня эстрадиола в крови в пмоль/л через 48 часов после приема летрозола, АМГ — содержание АМГ в крови

Таблица 1

Уровень гонадотропинов, АМГ и половых стероидных гормонов, в крови здоровых женщин и больных генитальным эндометриозом

	Контрольная группа (M±m)	НГЭ (M±m)
ФСГ, МЕ/л	5,9±0,3	6,9±0,4
ЛГ, МЕ/л	3,3±0,5	4,5±0,3
Пролактин, мМЕ/л	369,5±36,6	326,9±14,0
АМГ, нг/мл	3,8±1,1	1,7±0,2*
Эстрадиол, пмоль/л	144,9±7,9	154,3±6,7
Эстрон, нмоль/л	249,7±22,1	365,7±23,6*
Андростендион, нмоль/л	6,9±0,8	5,5±0,3

* — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

в нг/мл. Косвенным методом оценки ароматазной активности служил коэффициент: Δ_1/A_4 , где Δ_1 — уровень эстрона в крови в нмоль/л, A_4 — уровень андростендиона в крови в нмоль/л.

Пятьдесят пять женщин получали в послеоперационном периоде агонист гонадотропин-рилизинг гормона (аГРГ) трипторелина ацетат (диферелин®, Ipsen Pharma, Франция) в дозе 3,75 мг внутримышечно 1 раз в 28 дней в течение 6 месяцев. Тридцати больным НГЭ пробу с летрозолом провели дважды: первый раз до начала терапии, второй раз через 2 месяца от начала терапии аГРГ.

Оценку эффективности терапии проводили по следующим критериям: устранение болевого синдрома, влияние на менструальный цикл (исчезновение перименструальных выделений), восстановление овуляторного менструального цикла.

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи средств программы Microsoft Office Excel 2003 и Statistica 10.0 for Windows, использовались t критерий Стьюдента и критерий χ^2 . Достоверными считались отличия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

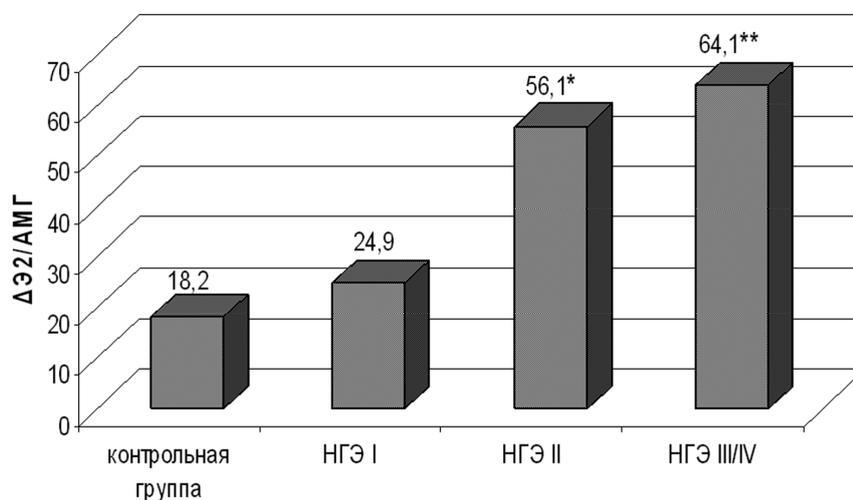
Содержание гонадотропинов, пролактина, эстрадиола и андростендиона на второй день менструального цикла в крови здоровых женщин и больных НГЭ существенно не отличалось (таблица 1). Уровень эстрона в крови больных эндометриозом был достоверно ($p < 0,05$) выше, чем у здоровых женщин. Содержание АМГ в крови, соответствующее числу антральных фолликулов в яичниках [8, 16], у больных НГЭ ($1,7 \pm 0,2$ нг/мл) было ниже ($p < 0,01$), чем у здоровых женщин ($3,8 \pm 1,1$ нг/мл). При этом уровень АМГ снижался с увеличением степени распространенности заболевания. Уровень половых стероидных гормонов и гонадотропинов не зависел от распространенности эндометриоза, а также от наличия или отсутствия овариальной недостаточности.

Коэффициент Δ_1/A_4 (косвенный признак ароматазной активности) у больных НГЭ исходно составлял $84,0 \pm 8,6$, что было достоверно ($p = 0,03$) выше показателя в контрольной группе ($44,7 \pm 6,8$). Повышенное содержание эстрона в крови и коэффициента Δ_1/A_4 говорит о повышении суммарной ароматазной активности у больных эндометриозом. Источниками суммарной ароматазной активности, определяемой с помощью коэффициента Δ_1/A_4 могут быть яичники, жировая ткань и эндометриодные гетеротопии, в которых с помощью иммуногистохимического метода выявлено присутствие ароматазы [3].

Прием летрозола вызывал у больных эндометриозом существенное снижение уровня эстрадиола в крови со $154,3 \pm 6,7$ пмоль/л до $100,8 \pm 3,4$ пмоль/л. Абсолютное снижение составило $57,1 \pm 5,2$ пмоль/л, относительное — $27,0 \pm 1,7\%$. У здоровых женщин прием летрозола вызывал сходное снижение уровня эстрадиола в крови со $144,9 \pm 7,9$ пмоль/л, до $102,3 \pm 4,2$ пмоль/л. Абсолютная реакция по эстрадиолу составила $42,6 \pm 8,0$ пмоль/л, относительная — $27,2 \pm 4,3\%$. Реакция на летрозол по эстрадиолу у больных эндометриозом и у здоровых женщин существенно не различалась.

У здоровых женщин коэффициент Δ_2/A_4 , отражающий ароматазную активность одного антрального фолликула, составил в среднем $18,2 \pm 4,2$. При НГЭ этот коэффициент был значительно ($p < 0,05$) выше и составил $52,9 \pm 9,3$. Причем этот коэффициент прямо коррелировал с распространенностью эндометриоза (рис. 1). Повышение ароматазной активности антральных фолликулов указывает на возможную роль ароматазы в прогрессировании заболевания.

Для определения источника определяемой ароматазной активности 30 больным НГЭ была повторно проведена проба с летрозолом через 2 месяца от начала терапии диферелином. Через 2 месяца применения агониста ГРГ у больных НГЭ произошло достоверное ($p < 0,01$) снижение уровня гонадотропинов в крови: ФСГ снизился



* — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой;

** — $p = 0,01$ по сравнению с контрольной группой

Рис. 1. Ароматазная активность в расчете на антральный фолликул у здоровых женщин и больных эндометриозом различной степени распространенности

с $6,3 \pm 0,4$ МЕ/л до $4,2 \pm 0,4$ МЕ/л, ЛГ снизился от $4,3 \pm 0,4$ МЕ/л до $0,7 \pm 0,2$ МЕ/л. На фоне применения диферелина реакция эстрадиола на летрозол практически отсутствовала и реакция эстрона существенно снизилась (рис. 2). Это указывает на преимущественно овариальное происхождение определяемой с помощью пробы с летрозолом ароматазы.

После завершения шестимесячного курса агониста ГРГ была отмечена положительная динамика клинических проявлений эндометриоза (табл. 2). Уменьшилась частота таких проявлений заболевания, как альгоменорея, перименструальные кровянистые выделения, тазовые боли, диспареуния. При этом результаты терапии не коррелировали с уровнем эстрона в крови, величиной

Таблица 2

Клинические проявления эндометриоза до и после комбинированного лечения

	До лечения (n=55)		После лечения (n=51)	
	n	%	n	%
Альгоменорея	39	70,9	5	9,9* ($\chi^2 = 40,7$)
Перименструальные выделения	25	45,5	9	17,6* ($\chi^2 = 9,39$)
Тазовые боли	8	14,5	4	7,8 ($\chi^2 = 1,18$)
Диспареуния	17	30,9	2	3,9* ($\chi^2 = 13,1$)

* — $p < 0,05$ по сравнению с данными до начала лечения

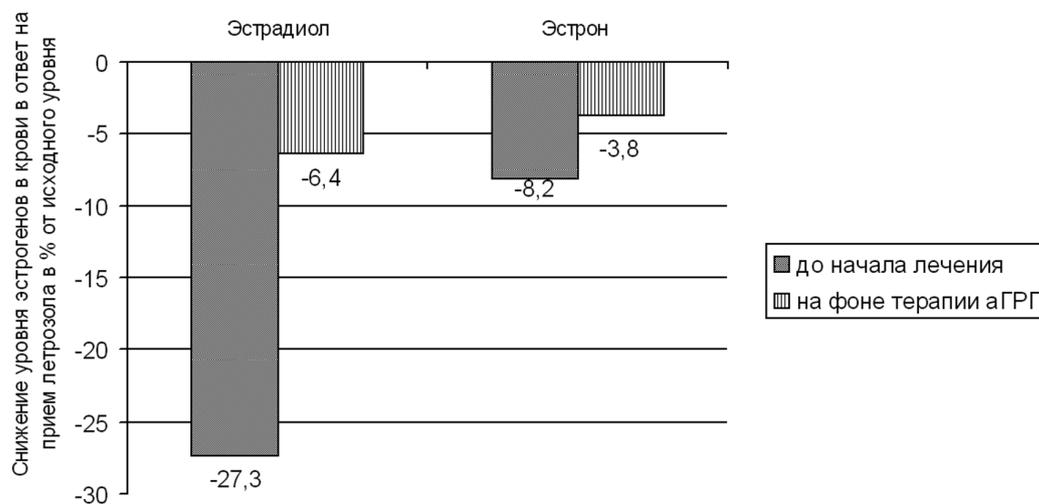


Рис. 2. Реакция эстрогенов на летрозол у больных НГЭ до применения и на фоне терапии аГРГ

Таблица 3

Клинические проявления эндометриоза после курса диферелина в зависимости от реакции эстрадиола на летрозол

Клинические проявления \ Реакция Э ₂ на летрозол	$\Delta\text{Э}_2 \geq 42,6$ пмоль/л n=17	$\Delta\text{Э}_2 < 42,6$ пмоль/л n=34	достоверность
Альгоменорея	1	4	$\chi^2=0,44$ p=0,5
Перименструальные выделения	3	6	$\chi^2=0,0$ p=1,0
Тазовые боли	3	1	$\chi^2=3,39$ p=0,07
Диспареуния	0	2	$\chi^2=1,04$ p=0,3
Овуляторный менструальный цикл	12	27	$\chi^2=0,49$ p=0,5
Недостаточность функции яичников	5	7	$\chi^2=0,49$ p=0,5

коэффициента $\text{Э}_1/\text{A}_4$ и с реакцией эстрадиола на летрозол (табл. 3).

После завершения курса агониста ГРГ полноценный овуляторный менструальный цикл восстановился у 37 из 51 больной (72,5%), у семи из которых наступила беременность.

Полученные результаты указывают на высокую эффективность комбинированной терапии эндометриоза (лапароскопическая коагуляция эндометриодных гетеротопий с последующим шестимесячным курсом агониста ГРГ). Терапевтическое действие агониста ГРГ вероятно связано с торможением секреции гонадотропинов гипофизом, подавлением ароматазной активности и уменьшением продукции эстрогенов яичниками. Вместе с тем эффективность лечения не зависела от ароматазной активности преобладающих антральных фолликулов. Известно, что наиболее высокая ароматазная активность определяется в доминантном фолликуле [4], и лечебное действие агонистов ГРГ можно связать с подавлением роста доминантного фолликула.

Выводы

Гиперэстрогемия и увеличение соотношения $\text{Э}_1/\text{A}_4$ указывают на повышенную суммарную ароматазную активность при эндометриозе.

Ингибитор ароматазы летрозол вызывает сопоставимое по выраженности снижение эстрадиола в крови здоровых женщин и больных эндометриозом, причем подавление реакции на фоне агониста ГРГ свидетельствует об овариальном происхождении определяемой ароматазной активности.

Ароматазная активность в пересчете на один антральный фолликул при эндометриозе превышает соответствующий показатель у здоровых

женщин и прямо зависит от распространенности эндометриоза.

Комбинированная терапия эндометриоза (лапароскопическая коагуляция эндометриодных гетеротопий с последующим шестимесячным курсом агониста ГРГ) приводит к достоверному уменьшению клинических проявлений заболевания и восстановлению полноценного овуляторного менструального цикла у 72,5% больных. Эффективность комбинированной терапии существенно не связана с исходной эстрогемией и активностью овариальной ароматазы.

Литература

1. *Абаишова Е. И.* Наружный генитальный эндометриоз и гормональная недостаточность яичников. Автореф. дис... канд. мед. наук. СПб., 1999.
2. *Денисова В. М., Потин В. В., Ярмолинская М. И., Тимофеева Е. М.* Активность овариальной ароматазы при эндометриозе // Журнал акушерства и женских болезней. — 2013. — Т. LXII(2). — С. 17–22.
3. *Молотков А. С., Ярмолинская М. И., Полякова В. О.* с соавт. Значение экспрессии ароматазы в патогенезе наружного генитального эндометриоза // Молекулярная медицина. — 2012. — Т. 4. — С. 41–44.
4. *Савина В. А.* Роль ароматазы P450 в патогенезе синдрома поликистозных яичников // Автореф. дис... канд. мед. наук. — СПб., 2012.
5. *Ярмолинская М. И.* Генитальный эндометриоз: влияние гормональных, иммунологических и генетических факторов на развитие, особенности течения и выбор терапии // Автореф. дис... д-ра мед. наук. — СПб., 2009.
6. American Fertility Society. Revised American Fertility Society Classification of Endometriosis // Fertil. Steril. — 1985. — Vol. 43. — P. 347–350.

7. *Bilotas M., Baraño R. I., Buquet R.* et al. Effect of GnRH analogues on apoptosis and expression of Bcl-2, Bax, Fas and FasL proteins in endometrial epithelial cell cultures from patients with endometriosis and controls // *Hum. Reprod.* — 2007. — Vol. 22. — P. 644–653.
8. *Fleming R., Kelsey T. W., Anderson R. A.* et al. Interpreting human follicular recruitment and antimüllerian hormone concentrations throughout life // *Fertil. Steril.* — 2012. — Vol. 98. — P. 1097–1102.
9. *Harrison G. S., Wierman M. E., Nett T. M.* et al. Gonadotropin-releasing hormone and its receptor in normal and malignant cells // *Endocrine-Related Cancer.* — 2004. — Vol. 11. — P. 725–648.
10. *Hugues J.-N., Durnerin E. C.* Revisiting gonadotropin-releasing hormone agonist protocols and management of poor ovarian responses to gonadotrophins // *Human Reproduction Update.* — 1998. — Vol. 4(1). — P. 83–101.
11. *Limonta P., Moretti R. M., Marelli M. M.* et al. The luteinizing hormone-releasing hormone receptor in human prostate cancer cells: messenger ribonucleic acid expression, molecular size, and signal transduction pathway // *Endocrinology.* — 1999. — Vol. 140. — P. 5250–5256.
12. *Luo X., Xu J., Chegini N.* Gonadotropin releasing hormone analogue (GnRHa) alters the expression and activation of Smad in human endometrial epithelial and stromal cells // *Reproductive Biology and Endocrinology.* — 2003. — Vol. 1. — P. 125, <http://www.rbej.com/connect/1/1/125>.
13. *Meresman G. F., Biotas M. A., Lombardi E.* et al. Effect of GnRH analogues on apoptosis and release of interleukin-1 β and vascular endothelial growth factor in endometrial cell cultures from patients with endometriosis // *Human Reproduction.* — 2003. — Vol. 18(9). — P. 1767–1771.
14. *Millar R. P., Lu Z. I., Flanagan C. A.* et al. Gonadotropin-releasing hormone receptors // *Endocrin. Rev.* — 2004. — Vol. 25. — P. 235–275.
15. *Olive D. L.* Gonadotropin-Releasing Hormone Agonists for Endometriosis // *N. Engl. J. Med.* — 2008. — Vol. 359. — P. 1136–1142.
16. *Visser J. A., Schipper I., Laven J. S. E.* et al. Anti-Müllerian hormone: an ovarian reserve marker in primary ovarian insufficiency // *Nat. Rev. Endocrinol.* — 2012. — Vol. 8(6). — P. 331–41.
17. *Wilson A. C., S. V. Meethal S. V., Bowen R. L., Atwood C. S.* Leuprolide acetate: a drug of diverse clinical applications // *Expert Opin. Investig. Drugs.* — 2007. — Vol. 16(11). — P. 1–13.

Статья представлена Е. И. Абашовой,
ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН,
Санкт-Петербург

EFFICIENCY OF GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE ANALOGUE IN ENDOMETRIOSIS THERAPY

Denisova V. M.

■ **Summary:** Endometriosis is estrogen- dependent disease. Aromatase P450 is the key enzyme in estrogen biosynthesis. The aim of the study was to compare therapeutic efficiency of gonadotropin-releasing hormone analogue (aGnRH) with ovarian aromatase activity. 64 women with endometriosis were examined after laparoscopic coagulation of endometrioid lesions. The examination included determination of FSH, LH, prolactin, antimüllerian hormone, estradiol, estrone and androstendione by immune-enzyme assay in peripheral blood and determination of ovarian aromatase activity by test with aromatase inhibitor letrozole. Laparoscopic coagulation of endometrioid lesions and following six- month course of aGnRH have lead to decrease of clinical manifestations of the disease and recovery of normal ovulatory menstrual cycle in most (72.5%) of the patients. Therapeutic efficiency of combined therapy did not depend on basal blood estradiol level and ovarian aromatase activity.

■ **Key words:** endometriosis; ovarian aromatase; GnRH analogues.

■ Адреса автора для переписки

Денисова Валентина Михайловна — аспирант. ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. **E-mail:** valyik@mail.ru.

Denisova Valentina Mikhaylovna — PhD student. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia. **E-mail:** valyik@mail.ru.