

Разработка новых технологий лечения нарушений полового развития детей и подростков на основе исследований молекулярно-генетических и нейроэндокринных механизмов задержки старта пубертата и гипогонадизма

Актуальность исследования

Актуальность заявляемого проекта обусловлена широкой распространенностью нарушений подросткового развития, в диапазоне от функциональной задержки пубертата и до гипогонадизма и последующим формированием нарушений репродуктивной функции в половозрелом возрасте. В последние годы проводится большое количество исследований, направленных на расширение понимания физиологических и патологических процессов, определяющих функциональную зрелость и активность гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. В собственных, проведенных ранее исследованиях сформулирована значимость кисспептиновых механизмов KISS1/KISS1R в нейроэндокринных нарушениях полового развития в пубертате. На экспериментальном материале установлены закономерности центрального и периферического сигналинга KISS1/KISS1R во взаимосвязи с коэкспрессией андрогеновых рецепторов AR1 при физиологическом половом развитии и индуцированном гипогонадотропном гипогонадизме. На клиническом материале определена роль кисспептина, как диагностического предиктора нарушений полового развития, связанных с отсутствием старта пубертата.

Научная платформа

Педиатрия, эндокринология

Планируемый (ые) научные подразделения исполнители (с указанием руководителя исследования)

Руководитель исследования - д.м.н. Никитина И.Л., Заведующая НИЛ детской эндокринологии Института эндокринологии ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

Исполнители:

Институт эндокринологии ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

Институт молекулярной биологии и генетики ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова»

Минздрава России

Институт экспериментальной медицины ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

Ключевые слова

Подростки, гипогонадотропный гипогонадизм, старт пубертата, гонадотропины, кисспептины

Цель проекта

Обоснование и разработка принципиально новых терапевтических технологий нарушений полового развития, основанных на кисспептиновых механизмах нейроэндокринной регуляции пола.

Задачи проекта

1. Проведение клинических и молекулярно-генетических исследований, направленных на установление топикки нарушений кисспептиновой регуляции,

разработку алгоритма применения кисспептина в диагностике и лечении нарушений полового развития детей и подростков.

2. Изучение эффективности нативного KISS10, KISS13, KISS54 в терапии экспериментально индуцированного гипогонадизма в сравнении с современными протоколами применения ГнРГ и гонадотропинов, и разработка основных принципов технологии лечения.
3. Изучение эффективности применения гонадотропинов в терапии синдромов пренатальной гипоандрогенемии в возрасте минипубертата у мальчиков.
4. Теоретическое обоснование разработки собственных короткопептидных аналогов KISS1.

Ожидаемые результаты проекта

Проект представляет собой фундаментальное исследование, по уровню сопоставимое с мировыми аналогами, а по комплексности исследований и превышающее их. Уровень приоритетности определяется направленностью на трансляционные исследования процессов пубертатного развития в условиях задержки старта пубертата, формирования гипогонадизма и нарушений репродуктивной функций с разработкой принципиально новых технологий лечения; на поиск новых подходов в коррекции нарушений пубертатного развития на этапах онтогенеза (в период от пренатального развития и до постпубертатного половозрелого возраста); на получение данных о гистомофологии нейросекреторных кисспептин-продуцирующих ядер гипоталамуса (аркуатных и перивентрикулярных ядер) на этапах постнатального развития в условиях задержки старта пубертата и патологии пубертатного развития; на получение новых данных о роли лигандрецепторной Kiss1/Kiss1R системы в динамической регуляции созревания и функционирования органов репродуктивной системы в разные возрастные периоды.

В результате планируемых исследований предполагается углубление понимания механизмов инициации и регулирования полового созревания. Будет исследован каскад межнейронных и глия-нейронных взаимодействий, осуществляемых посредством известных и новых нейротрансмиттеров, ключевая роль среди которых принадлежит системе KNDy, как предполагаемым модуляторам гонадотропной оси. Будет уточнена роль генетических факторов в пубертатной реактивации гонадной оси. В экспериментальных условиях будет проведен сравнительный анализ эффективности различных терапевтических схем коррекции гипогонадотропного гипогонадизма. На основании применения нативных кисспептинов различной молекулярной массы будут разработаны основные принципы новой технологии лечения задержки полового развития у подростков. Предполагается изучение результативности терапии гонадотропинами нарушений полового развития вследствие пренатального дефицита андрогенов (микропенис) в возрасте минипубертата. Базируясь на результатах топической диагностики нарушений кисспептиновой регуляции (биологически неактивный белок кисспептин или нечувствительность к нему рецепции), будет обоснована принципиально новая технология лечения на основе заместительной терапии кисспептинами.

На новые диагностические и терапевтические технологии будут оформлены патенты.

Назначение и предполагаемое использование (внедрение) результатов проекта

1. Разработка клинических рекомендаций по персонифицированной терапии задержки полового развития у подростков, включая показания к назначению гонадотропинов и кисспептинов.
2. Совершенствование клинических протоколов и рекомендаций лечения синдрома пренатальной гипоандрогенемии в возрасте минипубертата.
3. Научное обоснование принципиально новой технологии лечения задержки полового развития препаратами кисспептинов, направленное на подготовку синтеза и апробации

собственных короткопептидных аналогов KISS1. Патент на изобретение новой терапевтической технологии с применением кисспептина.

4. Будут поданы заявки на изобретение: алгоритм биохимической и генетической диагностики задержки пубертата и гипогонадизма вследствие нарушения кисспептиновой регуляции полового развития.

Описание предлагаемого научного исследования

В исследовании предполагаются экспериментальный и клинический разделы.

1. Экспериментальный раздел.

1.1. Создание модели гипогонадотропного мужского гипогонадизма (крысы) с изучением уровней кисспептинов и ко-экспрессии кисспептиновых рецепторов с динорфином и нейрокинином В на фоне применения ГнРГ и гонадотропинов.

1.2. Изучение динамики изменений системы KNDy при применении нативных кисспептинов различной молекулярной массы для лечения экспериментально индуцированного гипогонадизма.

2. Клиническая часть.

2.1. Молекулярно-генетическое исследование генов KISS1 и KISS1R у мальчиков с задержкой пубертата и гипогонадотропным гипогонадизмом, имеющих высокий уровень кисспептина крови.

2.2. Применение гонадотропинов в терапии пренатального дефицита андрогенов у мальчиков (микropенис) с использованием режима непрерывной инфузии с помощью помпы и болюсным введением.

2.3. Теоретическое обоснование применения препаратов кисспептина в коррекции задержки старта пубертата и гипогонадизма у мальчиков.

Описание научных подходов и методов, используемых для решения поставленных задач

Для реализации цели запланированного исследования целесообразно использование как экспериментальных, так и клинических исследований. В экспериментальной части будут проводиться исследования, направленные на проверку существующих в настоящее время научных гипотез о ключевой роли мессенджеров ЦНС, представленных системой KNDy, в регуляции возраста старта пубертата и поддержании активности гонадной оси. Данные процессы были более изучены в женском поле, в то время, как исследования для представителей мужского пола остаются немногочисленными. Основной идеей проекта является сравнительная оценка эффективности различных терапевтических технологий, направленных на регуляцию центральных механизмов активации гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. В экспериментальной части будет проведено сравнение терапии гипогонадотропного гипогонадизма ГнРГ, гонадотропинами и нативными кисспептинами 10,13 54. Оценка будет проводиться по анализу клинических проявлений, биохимическому мониторингу маркеров полового развития, а также по анализу динамики экспрессии андрогеновых и кисспептиновых рецепторов в ЦНС (аркуатные и перивентрикулярные ядра), оцененной иммуногистохимическим методом.

В клинической части планируется оценка уровня кисспептина в крови мальчиков, имеющих задержку старта пубертата и гипогонадотропный гипогонадизм, в сравнительном аспекте со здоровыми детьми с физиологическим половым развитием (всего 150-200 чел.). При выявлении гиперкисспептинемии будет проводиться генетическое обследование генов KISS и KISS1R с обоснованием, при подтверждении биологически неактивного кисспептина или потере к нему рецепторной чувствительности, назначения заместительной терапии экзогенными кисспептинами. Планируется применение терапии гонадотропинами в режиме подачи препарата при помощи инсулиновой помпы детей с микropенисом в возрасте минипубертата с исследованием у них динамики профиля системы NKDy (30-50 детей). В финале проекта предполагается

разработка короткопептидных аналогов KISS1 и оценка их новых терапевтических возможностей.

Технологии и методы, планируемые для решения поставленных задач:

Экспериментальная часть: создание модели гипогонадотропного гипогонадизма (50 крыс линии Wistar). Определение в крови кисспептина, динарфина, нейрокина В. Морфологическое исследование мозга: создание стереоскопических срезов на уровне перивентрикулярного, аркуатного ядер гипоталамуса, иммуногистохимическое исследование экспрессии рецепторов кисспептина, динарфина, нейрокина В. Терапия кисспептинами 10,13, 54 — 20 крыс; терапия тестостероном — 10 крыс; терапия гонадотропинами — 10 крыс; терапия ГнРг — 10 крыс. Контроль — 30 крыс линии Wistar в препубертатном и половозрелом возрасте.

Клиническая часть: мальчики с задержкой пубертата и гипогонадотропным гипогонадизмом (50-70 чел.). Определение в крови кисспептина, динарфина, нейрокина В. Генетическое исследование — сиквенс генов KISS1 и KISS1R. Терапия тестостероном, гонадотропинами (25 чел в группе). Контроль — 100 мальчиков с физиологическим половым развитием (Определение в крови кисспептина, динарфина, нейрокина В). Мальчики с пренатальным дефицитом андрогенов (микропенис, возможно, при вариантах нарушения формирования пола) — 20 чел. Терапия гонадотропинами: 10 чел. - режиме инсулиновой помпы Paradigm 715 (5 помп + расходники примерно 10 тыс. руб/мес. на 5 мес.)), 10 чел. - введение путем подкожных инъекций. Определение у них в крови кисспептина, динарфина, нейрокина В, клиническое и УЗИ обследование (объем гонад, изменение размеров наружных гениталий). Генетическое обследование мальчиков с пренатальным дефицитом андрогенов (сиквенс панели гипогонадотропного гипогонадизма и НФП).