

*На правах рукописи*

НАЙДУКОВА

Алина Александровна

ЭНДОКРИННО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-  
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАЗЛИЧНЫХ ФЕНОТИПОВ  
СИНДРОМА ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

3.1.4. – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Москва 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Чернуха Галина Евгеньевна

кандидат медицинских наук

Донников Андрей Евгеньевич

Официальные оппоненты:

Ярмолинская Мария Игоревна – доктор медицинских наук, профессор, профессор РАН, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», заведующая отделением эндокринной гинекологии.

Подзолкова Наталья Михайловна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ДПО "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Минздрава России, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии.

Ведущая организация:

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии».

Защита диссертации состоится «12» октября 2021 г. в 13.00 ч. на заседании диссертационного совета Д 21.1.022.01 на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России.

<https://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Naidukova%20A.A.-dissertation.pdf?518212493>

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор

Калинина Елена Анатольевна

## ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) относится к числу наиболее распространенных эндокринно-метаболических нарушений у женщин репродуктивного возраста. Частота встречаемости синдрома составляет 6-21% [Lizneva D, 2016]. В соответствии с Роттердамскими критериями (2003) выделяют 4 репродуктивных фенотипа СПКЯ: полный фенотип А (48,4-53,9%), ановуляторный фенотип В (7,2-8,9%), овуляторный фенотип С (13,9-28,8%) и неандрогенный фенотип D (8,4-30,3%) [E. Guastella, 2010; A. Ahmadi, 2013]. Частота избыточной массы тела и ожирения при СПКЯ может достигать 30-50%, метаболического синдрома (МС) - 50%, НТГ - 30-35%, инсулинорезистентности (ИР) - 50-70% и варьирует в зависимости от фенотипа синдрома [Sirmans S.M., 2013; Legro, R. S, 2004].

Основопологающим критерием диагностики СПКЯ является гиперандрогения (ГА) с определением уровня общего тестостерона (Тобщ) и/или свободного тестостерона (Тсв) [Azziz R, 2006]. Некоторые исследователи указывают на высокую информативность андростендиона (А4), однако оптимальные биохимические маркеры ГА до настоящего времени не определены [G.Conway, 2014; Azziz R, 2009]. Эхографическая диагностика поликистозной структуры яичников (ПКЯ) при СПКЯ также нуждается в совершенствовании. В качестве перспективного диагностического критерия состояния яичников рассматривается уровень антимюллерового гормона (АМГ) [S. Piodromiti, 2013]. Общепринятые референсные значения АМГ, в том числе в возрастном аспекте, не установлены.

Гетерогенность клинической картины СПКЯ, отсутствие универсальных диагностических критериев обосновывают изучение молекулярно-генетических основ синдрома. Не изучен вопрос о генетической детерминированности формирования различных фенотипов синдрома.

Тактика ведения больных с СПКЯ направлена на коррекцию ГА, метаболических нарушений, овуляторной дисфункции, восстановление

фертильности. Важное место в лечении СПКЯ занимают инсулиносенситайзеры (ИС), в частности метформин (МФ), который способствует восстановлению ритма менструаций в 50-60% случаев и наступлению беременности - в 25-30%. Предикторы эффективности терапии МФ не определены. Вышеизложенное обосновывает целесообразность проведения комплексного исследования, направленного на изучение молекулярно-генетических основ СПКЯ и его фенотипов, на оптимизацию диагностики синдрома и разработку дифференцированных подходов к назначению ИС.

#### Степень разработанности темы исследования

Результаты полногеномных исследований, проведенных в Китае на выборке более 16 тысяч женщин, указывают на ассоциацию СПКЯ с носительством 11 полиморфных локусов [Chen Z.J., 2011; Shi Y., 2012], из них 8 были воспроизведены на европейской и американской популяциях [Goodarzi MO, 2012; Welt СК, 2012]. Молекулярно-генетические исследования, проведенные на когорте российских женщин с СПКЯ, немногочисленны, предикторы формирования различных фенотипов синдрома остаются не изученными.

Не решен вопрос о вкладе А4 в диагностику ГА при СПКЯ, в виду небольшого числа исследований и неоднозначности их результатов [G.Conway, 2014; Teede HJ, 2018]. Не определена диагностическая ценность уровня АМГ и его нормативные значения в возрастном и фенотипическом аспекте. Это служит поводом для поиска оптимальных маркеров биохимической ГА и ПКЯ. Существование нескольких репродуктивных фенотипов синдрома и гетерогенность метаболических нарушений также существенно затрудняют диагностику [Mehrabian F., 2011; Sujata K., 2013; Yildiz B.O., 2012].

Наиболее эффективным негормональным средством для коррекции эндокринно-метаболических нарушений при СПКЯ считается МФ, однако предикторы ответа на терапию не определены, это обосновывает целесообразность поиска молекулярно-генетических и биохимических маркеров успешности терапии.

### Цель исследования

Оптимизация тактики ведения больных с СПКЯ с учетом эндокринно-метаболических, фенотипических и молекулярно-генетических характеристик.

### Задачи исследования

1. Изучить частоту встречаемости СПКЯ на основе анализа данных обращаемости в отделение гинекологической эндокринологии Центра за 5 летний период.
2. Изучить клинические и эндокринно-метаболические характеристики больных с различными фенотипами СПКЯ.
3. Оценить диагностическую значимость АМГ и числа антральных фолликулов в объеме яичника при СПКЯ с учетом возраста пациенток и фенотипа синдрома.
4. Определить наиболее информативный профиль андрогенов для диагностики СПКЯ и его взаимосвязь с метаболической дисфункцией.
5. Проанализировать взаимосвязь генов, ассоциированных с ИР, нарушением фолликулогенеза и биосинтеза андрогенов с формированием СПКЯ и его фенотипами.
6. Провести поиск клинических, эндокринно-метаболических и молекулярно-генетических предикторов эффективности терапии МФ.

### Научная новизна исследования

В ходе ретроспективного исследования получены данные о вкладе СПКЯ в структуру гинекологических заболеваний, представленности разных фенотипов синдрома в возрастном аспекте.

Впервые на популяции российских женщин выявлена ассоциация 6 полиморфных локусов *DENND1A*, *YAP1*, *THADA*, *Rab5B/SUOX*, *SLCO1B1*, *OCT1* с развитием СПКЯ, которые могут являться патогенетической основой

метаболических нарушений и гиперандрогении. Формирование андрогенных фенотипов ассоциировано с полиморфизмом генов *IRS1*, *FSHR*, *LHCGR*.

Определена высокая диагностическая значимость уровня А4 в сыворотке крови и его связь с повышенным риском метаболической дисфункции. Установлено, что независимо от репродуктивного фенотипа синдрома уровень АМГ является информативным маркером СПКЯ.

Определены эндокринно-метаболические особенности фенотипов синдрома. Фенотип А характеризуется более высокими уровнями ЛГ и АМГ, наибольшей частотой аменореи и «скрытого ожирения», распределением жировой ткани преимущественно по андроидному типу.

Эффективность терапии МФ не зависит от фенотипа СПКЯ, ИМТ, показателей углеводного обмена. В качестве независимых предикторов успешности терапии определены уровень Тобщ, АМГ, индекс распределения жировой ткани (A/G), генотипы C/C гена *FSHR* (rs2349415), Del/Del гена *OCT1*(rs113569197), носительство аллеля C гена *SLCO1B1* (rs4149056) и аллеля Del гена *ACE* (rs4340).

#### Практическая значимость полученных результатов

Оптимизирован алгоритм диагностики СПКЯ, включающий комплексную оценку андрогенного профиля и морфологии яичников. В диагностику ГА наибольший вклад вносит определение А4, его повышенный уровень определяется у каждой 2-й пациентки и ассоциируется с гиперинсулинемией.

Определены пороговые значения уровня АМГ в сыворотке крови для диагностики СПКЯ у женщин разных возрастных групп, его диагностическая значимость выше, чем определение объема яичников и ЧАФ.

Оценка композиционного состава тела позволяет выявить избыток жировой ткани у каждой 2-й пациентки с нормальными показателями ИМТ, выделить группу женщин с повышенным риском метаболических нарушений.

Частота ИР (по индексу НОМА), гиперинсулинемии, «скрытого ожирения» и дислипидемии среди пациенток с классическим фенотипом А

сопоставима с фенотипом В, но превышает аналогичные показатели при фенотипах С и D.

Терапия МФ в течение 6 месяцев приводит к восстановлению ритма менструаций у каждой 2-й пациентки с СПКЯ и к наступлению беременности – у каждой 3-й без применения индукторов овуляции. Разработана модель прогнозирования эффективности терапии МФ на этапе его назначения, учитывающая уровень АМГ и генотип *FSHR* (rs2349415).

#### Положения, выносимые на защиту

1. СПКЯ диагностируется у каждой 5-й пациентки с гормонально-ассоциированными заболеваниями репродуктивной системы, полиморфизм генов *SLCO1B1*, *OCT1*, *YAP1*, *Rub5B/SUOX*, *THADA*, *DENND1A* увеличивает риск развития синдрома в 2,5-5 раз, при этом повышение уровня тестостерона ассоциировано с полиморфизмом гена *YAP1*, формирование нарушений углеводного обмена – с полиморфизмом генов *OCT1*, *SLCO1B1*, *Rub5B/SUOX*.

2. Повышение уровня АМГ является более информативным маркером поликистозной морфологии яичников, чем эхографическое определение объема яичников и подсчет числа антральных фолликулов, комплексная оценка андрогенного профиля с учетом уровня андростендиона позволяет повысить точность диагностики синдрома и прогнозировать риск развития метаболической дисфункции.

3. Классический фенотип СПКЯ, ассоциированный с полиморфизм генов *LHCGR*, *FSHR* и *IRS1*, диагностируется у каждой 2-й пациентки, характеризуется более выраженным повышением уровней ЛГ, АМГ, большей частотой НТГ, инсулинорезистентности, скрытого ожирения и ДПП, чем неандрогенный фенотип Д.

4. Независимо от репродуктивного фенотипа СПКЯ шестимесячный курс терапии МФ приводит к восстановлению регулярного

менструального цикла у каждой 2-й пациентки, к наступлению беременности - у каждой 3-ей, эффективность терапии зависит не от наличия ИР и ГИ, а от исходных уровней АМГ, Т общ, характера распределения жировой ткани, носительства полиморфных локусов генов *FSHR, OCT1, SLCO1B1, ACE*.

#### Личный вклад автора

Автор участвовал в выборе научного направления, разработке дизайна исследования, формировании цели и задач, провел обзор современной научной литературы, осуществлял сбор биоматериала для формирования коллекции, принимал участие в ведении пациенток. Автором проведен анализ полученных результатов, статистическая обработка и систематизация данных, подготовка материалов к публикациям.

#### Степень достоверности результатов исследования

Достоверность данных исследования подтверждается объемом выборки пациенток (n=846), результатами статистической обработки данных.

#### Соответствие диссертации паспорту полученной специальности

Научные положения диссертации соответствуют специальности 3.1.4. – «акушерство и гинекология», полученные результаты соответствуют области исследования по специальности, пунктам 3, 4, 5 паспорта акушерства и гинекологии.

#### Апробация диссертации

Диссертационная работа обсуждена на межклинической конференции (27.08.2020) и на заседании апробационной комиссии ФБГУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (07.09.2020, протокол №27). Результаты работы представлены на XVI Всероссийском научном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 22-25 сентября 2015г), XXIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 11-14 апреля 2016), XVII Всероссийском научно-



образовательном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 27-30 сентября 2016г), The 18<sup>th</sup> World Congress of Gynecological Endocrinology (Italy, Firenze, 7-10<sup>th</sup> March, 2018г), The 13<sup>th</sup> Congress of the European Society of Gynecology Congress (October 16-19 2019, Vienna, Austria), The 19<sup>th</sup> World Congress of Gynecological Endocrinology (Italy, Firenze, 2-5<sup>th</sup> December 2020г).

#### Внедрение результатов исследования в практику

Рекомендации по ведению пациенток с СПКЯ, оптимизированный алгоритм обследования и персонализации негормональной терапии метформином внедрены в практическую деятельность отделения гинекологической эндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Материалы диссертации используются для подготовки материалов лекций, конгрессов. По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, из них 11 - в рецензируемых научных изданиях.

#### Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 204 страницах печатного текста, состоит из введения, четырех глав, посвященных описанию материалов и методов исследования, результатам и их обсуждению, а также выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Диссертационная работа иллюстрирована 26 рисунком и 29 таблицами. Библиография содержит 172 источников литературы, в том числе 9 отечественный и 163 зарубежных авторов.

### ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

#### Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на базе отделения гинекологической эндокринологии ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им.В.И.Кулакова» Минздрава России. Проведена ретроспективная оценка доли

СПКЯ в структуре гормонально-ассоциированных заболеваний репродуктивной системы на основе анализа архивных данных за 2015-2019гг, проанализировано 52 605 обращений.

В соответствии с критериями включения и исключения в одномоментное исследование были включены 437 женщин с СПКЯ, установленным по Роттердамским критериям (ср. возраст -  $25,5 \pm 4,6$  года, ср. ИМТ  $25,2 \pm 6,8$  кг/м<sup>2</sup>), а также 274 соматически здоровые женщины группы контроля (ср. возраст -  $25,0 \pm 4,1$  года, ср. ИМТ  $25,2 \pm 4,7$  кг/м<sup>2</sup>). С целью проведения молекулярно-генетического исследования была введена дополнительная группа контроля из 135 женщин позднего репродуктивного и менопаузального возраста (ср. возраст  $51,6 \pm 16,5$  лет, ср. ИМТ  $28,2 \pm 8,1$  кг/м<sup>2</sup>), с реализованной репродуктивной функцией без указания на эндокринное бесплодие, СПКЯ, ПНЯ.

Проспективное исследование по изучению эффективности терапии МФ (в дозе 1500 мг/сут, длительностью 6 месяцев, с титрованием дозы) включало 143 пациентки с СПКЯ.

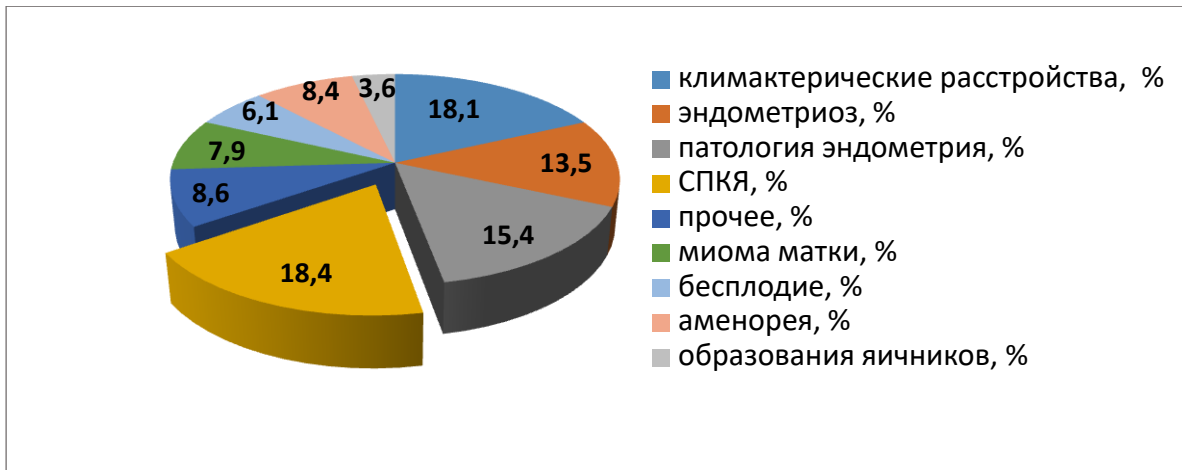
Всем пациенткам было проведено клинико-лабораторное обследование, оценка гормонального профиля на 2-3 д.м.ц. с определением уровней ЛГ, ФСГ, Тобщ и Тсв, А4, ПССГ, пролактина, 17ОП, ТТГ в сыворотке крови, ультразвуковое исследование органов малого таза трансвагинальным датчиком частотой 8,0 Мгц с определением объема яичников, подсчетом числа антральных фолликулов (ЧАФ) в объеме яичников в 3D-режиме (аппарат Toshiba SSA-240, Япония). Проведен 2-х часовой глюкозотолерантный тест (ГТТ) с 75 г глюкозы с оценкой уровня глюкозы и иммунореактивного инсулина натощак, через 1 и 2 часа после нагрузки, оценка липидного спектра крови. Композиционный состав тела, включающий количество и характер распределения жировой ткани, исследован методом двухэнергетической денситометрии (аппарат фирмы «Lunar» (США). «Скрытым ожирением» считалось содержание жировой ткани более 30% от массы тела при ИМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup> [Чернуха Г.Е., 2009]. На фоне терапии МФ контроль клинико-лабораторных показателей проводился через 6 месяцев.

Генетические исследования производились в лаборатории молекулярно – генетических методов ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) или высокопроизводительного секвенирования. Генотипирование проводилось по 45 локусам: *CYP2C9* (rs1057910, rs1799853), *SLCO1B1* (rs4149056), *TCF7L2* (rs7903146, rs7901695), *PPARG* (rs8192678), *IL1B* (rs1143627), *AGTR1* (rs5186), *Edn1* (rs5370), *PPARA* (rs4253778), *GNB3* (rs5443), *ACE* (rs4340), *AMH* (rs10407022), *Lep* (rs7799039), *Irs1* (rs1801278), *FTO* (rs8050136, rs9939609), *CYP19A1* (rs936306), *CYP17A1* (rs743572), *INSR* (rs2059807, rs3815902), *THADA* (rs12468394, rs12478601, rs78635447), *LHCGR* (rs13405728, rs12470652), *FSHR* (rs12994034, rs2349415, rs6166, rs17038027, rs148976413), *RAB5B/SUOX* (rs705702), *HMGA2* (rs2272046), *C9orf3* (rs4385527), *YAP1* (rs1894116), *ATM* (rs11212617, rs683369), *DENND1A* (rs10818854, rs2479106), *KCNJ11* (rs5219), *OCT1* (rs6282031, rs34130495, rs72552763, rs113569197), *UCP2* (rs660339).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы SPSS (IBM, 21 версия). Установлено нормальное распределение данных. Количественные характеристики представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение. Сравнение производилось с помощью t-критерия Стьюдента и критерия  $\chi^2$  Пирсона. Проведены ROC-анализ и регрессионный анализ с целью определения комплекса факторов, определяющих эффективность терапии МФ и их пороговых значений. Оценка риска проводилась на основании расчета отношения шансов (ДИ 95%), в том числе применительно к аллелям и генотипам как наиболее приемлемая симметричная величина. Статистически значимыми считались результаты при достижении уровня ошибки  $p < 0,05$ .

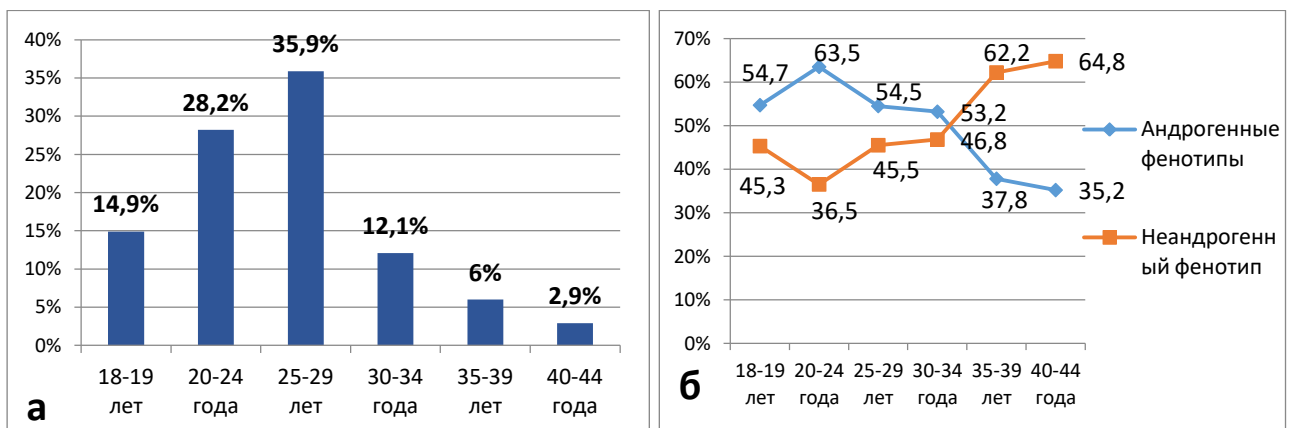
### Результаты исследования и их обсуждение

Согласно данным ретроспективного анализа, охватывающего 52605 обращений в отделение гинекологической эндокринологии за 5-тилетний период, диагноз СПКЯ был установлен у 18,4% (n=9670) пациенток, то есть в каждом 5ом случае (рис.1).



**Рис.1.** Структура заболеваний и нарушений репродуктивной системы по данным обращаемости в отделение гинекологической эндокринологии за 5-летний период.

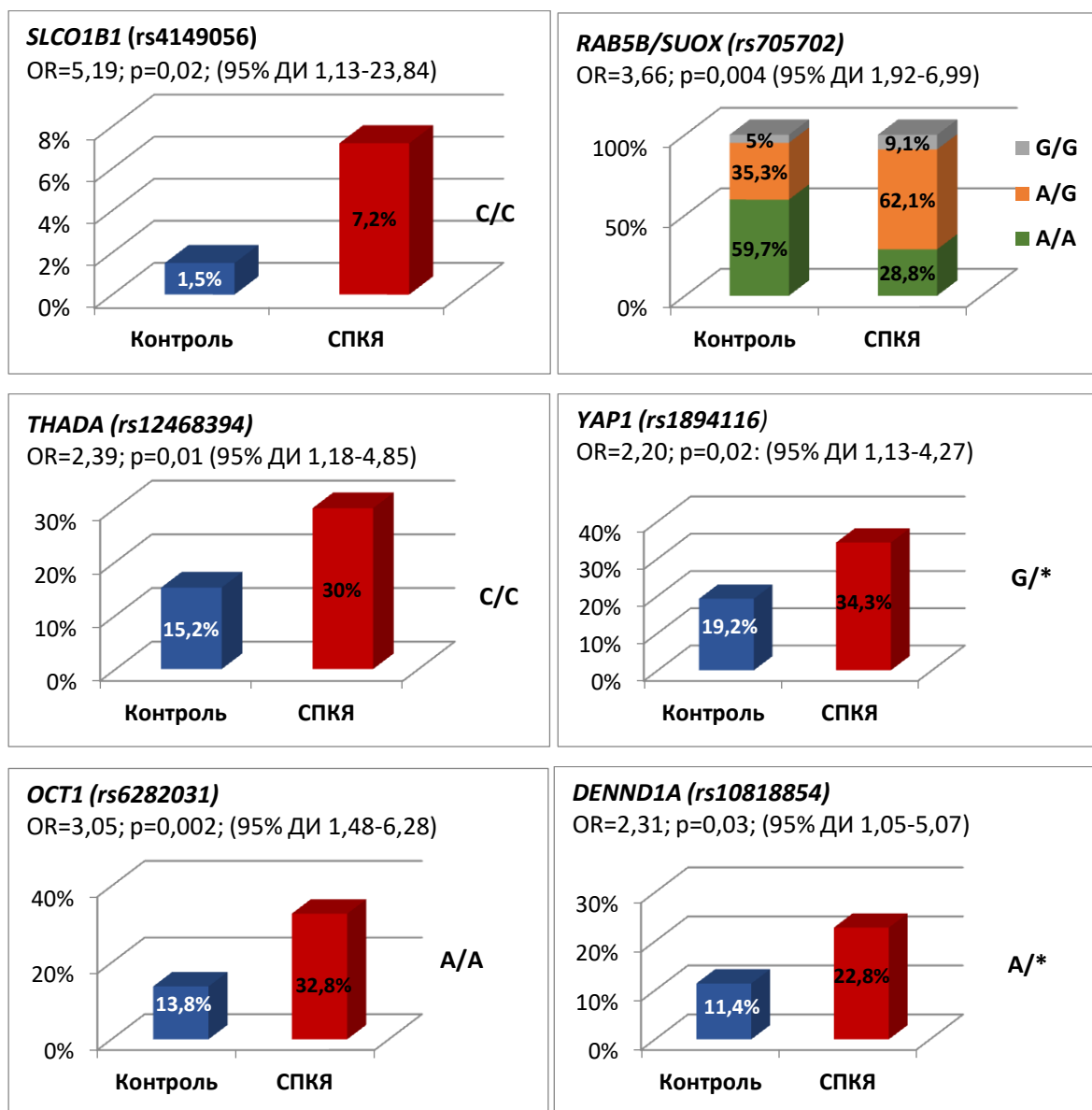
Наиболее высокая частота обращаемости наблюдалась в группе 25-29 лет, наиболее низкая - в группе старше 35 лет, что, вероятно, связано с реализованной детородной функцией, конверсией фенотипов в «стертые» формы с регулярным ритмом менструаций (рис.2а). В возрасте до 35 лет преобладали андрогенные фенотипы, а после 35 лет – неандрогенный ( $p < 0,05$ , рис.2б). Данные согласуются с результатами исследования Carmina E. (2012), согласно которым в 7% случаев при фенотипе А, в 20% при фенотипе В и в 11,5% при фенотипе С отмечается конверсия фенотипов на неандрогенный, в 8% случаев диагноз может быть снят к 35 - 40 годам.



**Рис. 2.** Возрастная структура (а) и динамика фенотипов (б) СПКЯ по данным обращаемости за 5-летний период.

Поиск молекулярно-генетических предикторов формирования СПКЯ проводился на основе анализа 45 полиморфных локусов, потенциально связанных

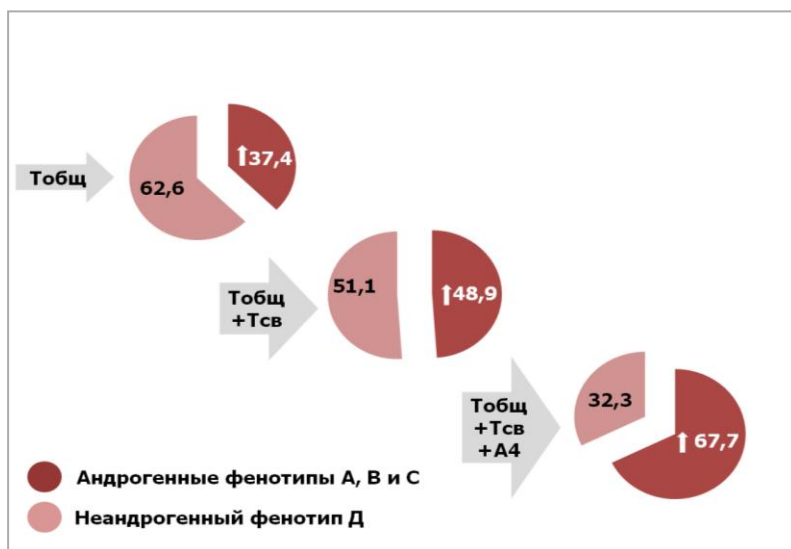
с нарушениями стероидогенеза, фолликулогенеза и метаболической дисфункцией. Ассоциация с СПКЯ установлена для 6 локусов: *SLCO1B1*, *YAP1*, *Rub5B/SUOX*, *THADA*, *OCT1*, *DENND1A* (рис.3)



**Рис. 3.** Частота генотипов и/или аллелей исследуемых генов среди пациенток с СПКЯ и женщин группы контроля.

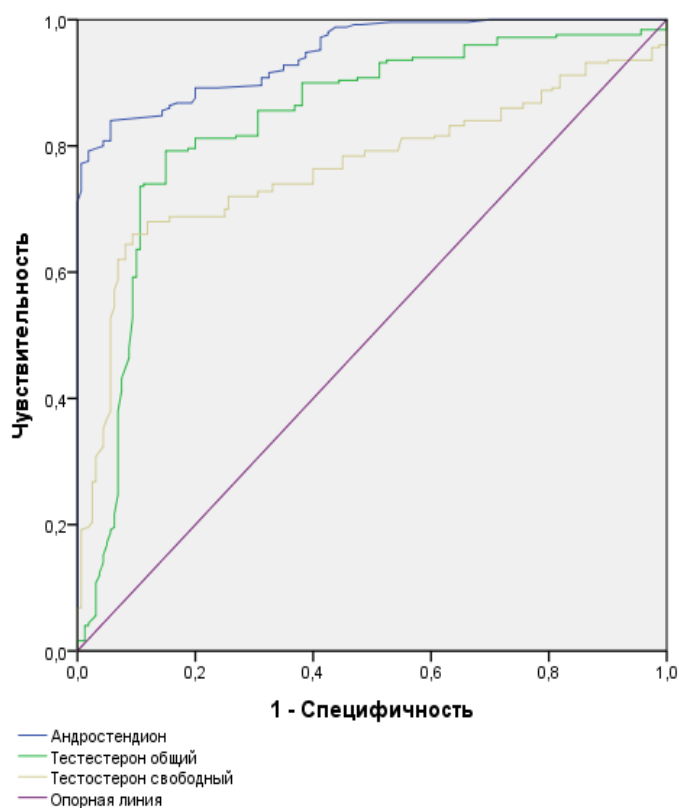
Выявлена статистически значимая ассоциация С-аллеля (генотипы С/\*) гена *RAB5B/SUOX* (rs705702) с более высокими уровнями глюкозы натощак ( $p < 0,05$ ), генотипа С/С гена *SLCO1B1* (rs4149056) с более высокими уровнями глюкозы на фоне проведения ГТТ ( $p < 0,05$ ), а также генотипа А/А гена *OCT1* (rs6282031) с более высокими уровнями глюкозы и инсулина на фоне ГТТ ( $p < 0,05$ ).

Диагностика СПКЯ основывается на выявлении ГА по уровню Тобщ, Тсв и ИСА, при этом более информативным считается определение уровня Тобщ и Тсв методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Консенсус о целесообразности определения А4 не достигнут. Согласно полученным результатам, общепринятое определение уровня Тобщ позволяет выявить ГА у 37,4% женщин, дополнительное определение Тсв - повышает частоту выявления ГА до 48,9%, а определение уровня А4 позволяет диагностировать ГА уже у 67,7% женщин с СПКЯ (рис.4). Повышение уровня А4 имело место у каждой 2й (46,5%) пациентки с СПКЯ, при этом его изолированное увеличение выявлялось в 2 раза чаще (18,8%), чем изолированное повышение уровня Тобщ (8,7%) и в 3 раза чаще чем Тсв (5,3%).



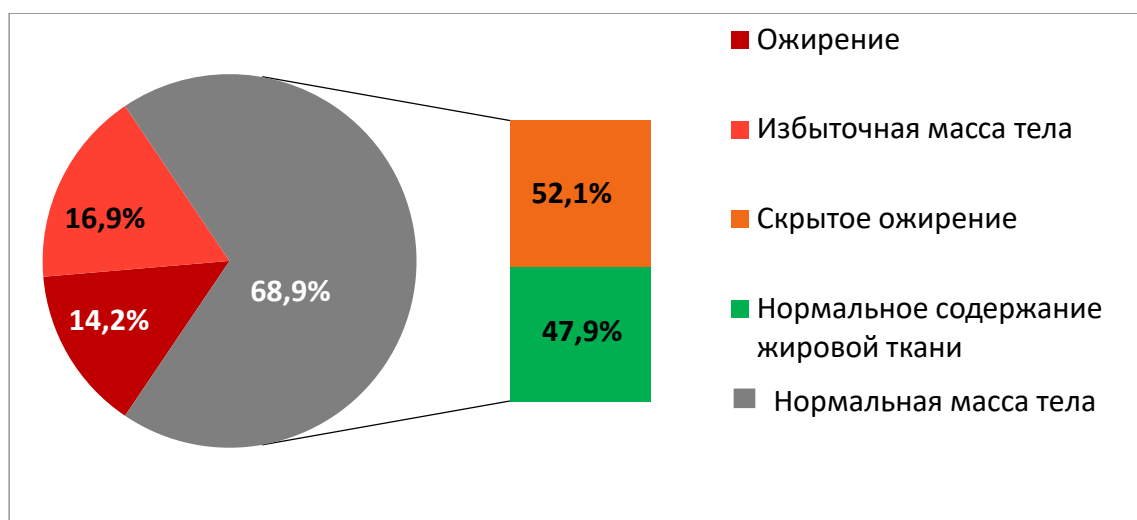
**Рис. 4.** Андроогенный профиль пациенток с СПКЯ.

Проведение ROC-анализа доказало, что наибольший вклад в диагностику ГА при СПКЯ вносит определение уровня А4 (рис. 5). Таким образом, комплексная оценка андроогенного профиля пациенток с СПКЯ удваивает частоту выявления ГА по сравнению с определением уровня Тобщ.



**Рис. 5.** ROC-анализ: Тобщ, А4, Тсв в диагностике СПКЯ.

Несмотря на достаточно низкую частоту ожирения (14,2%) и молодой возраст участниц исследования оценка метаболического статуса позволила выявить НТГ в 17,8% случаев, ИР - в 32,5%, GI – в 25,2%, ДЛП - в 37,6%, что превышает средние популяционные показатели [Сунцов Ю.И., 1999; Древаль А.В, 2010]. Проведение ГТТ с оценкой секреции инсулина позволяет дополнительно выявить НТГ у каждой 10-й и GI у каждой 5-й пациентки с СПКЯ. Это может быть связано с тем, у 52,1% пациенток с нормальным ИМТ по данным оценки композиционного состава тела имеется избыток жировой ткани (более 30%), оказывающий неблагоприятное влияние на метаболические параметры (рис. 6).



**Рис. 6.** Частота нарушений жирового обмена по результатам денситометрии с оценкой композиционного состава тела.

Установлена прямая корреляция уровня А4 и обратная корреляция уровня ПССГ со значением индекса НОМА, уровнем инсулина ( $p < 0,05$ ). Взаимосвязи уровня Тобц с показателями углеводного обмена не установлено ( $p > 0,05$ ).

Для определения диагностической значимости АМГ, объема яичников и ЧАФ, как маркеров поликистозной морфологии яичников, был проведен ROC-анализ (таблица 1). Согласно представленным результатам пороговый уровень АМГ равный 5,2 нг/мл позволяет диагностировать СПКЯ с чувствительностью 95% и специфичностью 92% и является наиболее информативным маркером синдрома.

**Таблица 1. Сравнительная оценка диагностической значимости АМГ, объема яичников и числа антральных фолликулов при СПКЯ.**

Параметры	AUC (95% CI)	Пороговый уровень	Чувствительность, %	Специфичность, %
АМГ	0,98 (0,97-0,99)	5,2 нг/мл	95	92
Объем яичников	0,91 (0,88-0,93)	10,0 см <sup>3</sup>	85	87
Число антральных фолликулов	0,94 (0,94-0,97)	23 фолликула	88	88



В отличие от группы контроля при СПКЯ в возрастной категории до 35 лет не наблюдалось прогрессивного снижения уровня АМГ с увеличением возраста пациенток. Возможно, это связано с более медленным старением яичников, которое, по мнению профессора Fauser В. наблюдается у женщин с нормогонадотропным ановуляторным бесплодием. Расчеты показали, что в категории 18-19 лет оптимальным оказался уровень АМГ - 6,4 нг/мл (AUC-0,94, чувств. - 89%, специф. - 82%). В возрастной категории 20-24 года пороговый уровень АМГ составил 6,2 нг/мл (AUC-0,955, чувств. - 93%, специф. - 93%), в категории 25-29 лет - 5,2 нг/мл (AUC-0,99, чувств. - 96%, специф. - 97%). В подгруппе 30-34 лет пороговый уровень АМГ снизился до 4,1 нг/мл (AUC-0,99, чувств. - 95%, специф. - 94%). В результате доля женщин с СПКЯ, имеющих нормативные значения АМГ в данной возрастной категории, снизилась с 9,3% до 4,6%.

Стратификация пациенток на фенотипы в соответствии с Роттердамскими критериями показала, что у каждой 2-й (55,1%) пациентки с СПКЯ диагностирован классический андрогенный фенотип А, у каждой 3-й (32,3%) – неандрогенный фенотип Д. Реже встречались овуляторный фенотип С (6,9%) и андрогенный фенотип В (5,7%).

Статистика по частоте выявления разных фенотипов СПКЯ основывается, преимущественно, на данных обращаемости. По результатам мета-анализа эпидемиологических исследований R.Azziz (2016) частота фенотипа А составляет только 19%, в то время как частота фенотипов В и С в популяции значительно выше и составляет 25% и 34%, частота фенотипа Д не зависела от метода формирования выборки и составила 17% [236].

Не выявлено существенных различий среди фенотипов по возрасту и частоте ожирения, хотя пациентки с фенотипом С имели более низкий ИМТ ( $p < 0,05$ ) (Таблица 2). Фенотип А характеризовался наиболее длительными задержками менструаций, наибольшей частотой аменореи (22,5%), более высокими уровнями ЛГ, АМГ и наиболее низким уровнем ПССГ по сравнению с другими фенотипами ( $p < 0,05$ ). Несмотря на различия уровня АМГ среди

фенотипов, во всех подгруппах его значения превышали показатель контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Высокая информативность оценки уровня АМГ вне зависимости от фенотипа синдрома подтверждена результатами ROC-анализа.

Таблица 2. Характеристика больных с различными фенотипами СПКЯ.

Показатель	Фенотип А (n=241)	Фенотип В (n=25)	Фенотип С (n=30)	Фенотип Д (n=141)
Возраст	25,6±6,2	24,9±4,3	24,8±4,2	26,1±5,1
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	<b>24,1±5,6</b>	23,7±3,8	<b>22,9±5,6</b>	23,6±5,5
Частота ожирения, %	<b>36 (14,9%)</b>	3 (12,0%)	<b>2 (6,7%)</b>	21 (15,0%)
Избыточная масса тела, %	47 (19,3%)	4 (16%)	2 (6,7%)	21 (14,9%)
Регулярный цикл***	-	-	2 (6,7%)	-
Задержки до 1 мес***	<b>29 (12,0%)</b>	10 (40%)	<b>18 (60,0%)</b>	31 (22,0%)
Задержки от 1 до 3 мес***	68 (28,5%)	7 (28%)	8 (26,6%)	48 (34,0%)
Задержки от 3 до 6 мес***	90 (37,3%)	6 (24%)	2 (6,6%)	43 (30,5%)
Задержки более 6 мес***	54 (22,5%)	2 (8%)	0	19 (13,5%)
Возраст менархе, лет**	13,6 ± 2,0	13,4±1,6	12,9±1,5	13,6±1,6
АМГ, нг/мл	<b>17,4±12,3</b>	13,8±7,0	14,8±9,2	<b>12,6±6,5</b>
ЛГ, мЕд/мл	<b>11,5±6,2</b>	10,1±6,0	10,5±6,7	<b>8,9±5,9</b>
ФСГ, мЕд/мл	6,5±1,8	5,6±1,7	5,3±1,4	5,3±2,0
Т общ, нмоль/л	2,2±0,9	2,0±0,9	2,0±0,8	1,3±0,4
Т св, нг/мл	4,8±3,4	5,3±3,3	4,3±2,6	1,9±1,1
Андростендион, нмоль/л	23,0±9,0	19,8±7,3	19,8±6,0	11,6±4,0
ИСА	6,6±4,7	10,0±7,1	3,9±2,3	3,4±3,1
ПССГ, нмоль/мл	<b>49,6±30,7</b>	50,1±26,5	<b>61,2±29,4</b>	<b>54,9±27,7</b>

\* Данные представлены как средние ± стандартное отклонение

\*\* сравнение проведено с помощью t-критерия Стьюдента при уровне значимости  $\alpha = 0,05$

\*\*\* сравнения частот проведены с помощью анализа произвольных таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат.

\*\*\*р- уровень значимости различий между 1, 2, 3, 4 группами

Наличие прямой корреляции между уровнями ЛГ и АМГ ( $r=0,196$ ,  $p < 0,05$ ) согласуется с результатами исследования Риока А. (2009) о том, что уровень ЛГ

является основным предиктором повышенного уровня АМГ в сыворотки крови больных с СПКЯ.

Анализ показателей углеводного обмена (рис. 7) показал, что у пациенток с фенотипом А наиболее часто диагностировались НТГ (21,6%), ИР (38,2%) и компенсаторная ГИ (30,3%) по сравнению с фенотипом D (13,5%, 29,8% и 20,5% соответственно,  $p < 0,05$ ). Низкой частотой метаболических нарушений характеризовались пациентки с овуляторным фенотипом С (3,3%, 10,0% и 6,7% соответственно), что согласуется с представлением о взаимосвязи овуляторной дисфункции и ИР. Низкая частота фенотипа С в структуре обращаемости не позволила получить статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ).

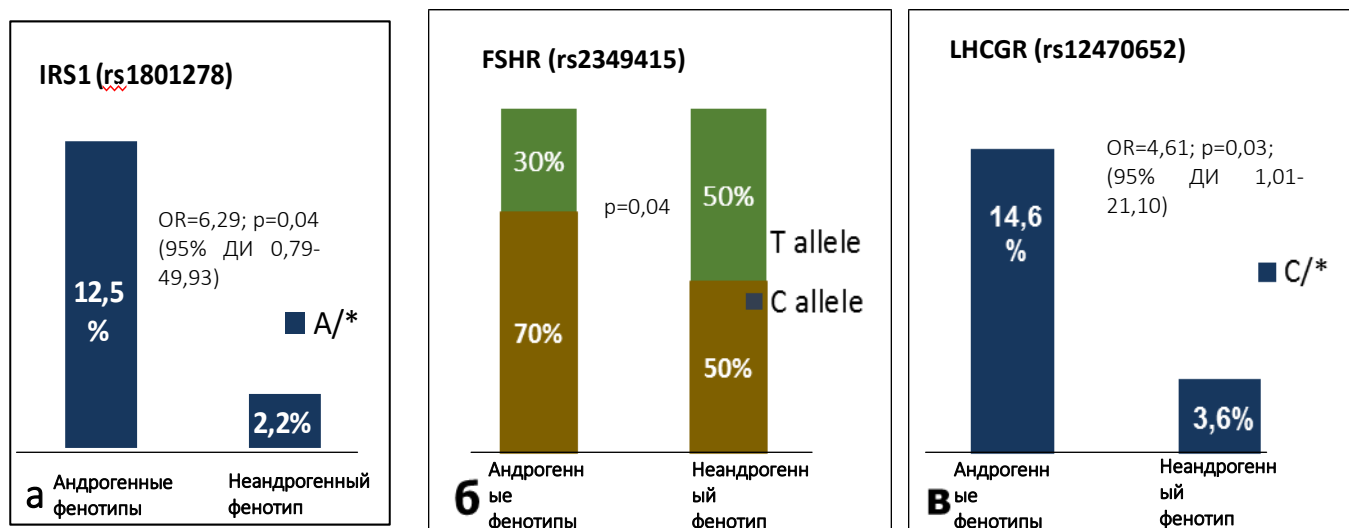


**Рис. 7.** Частота нарушений углеводного обмена у пациенток с разными фенотипами СПКЯ.

Оценка композиционного состава тела показала сопоставимый процент общей жировой ткани при фенотипах А, В и D (37,9%, 39,0% и 36,3% соответственно), пациентки с фенотипами С и D имели наименьшую частоту скрытого ожирения – 11,5% и 48,5% соответственно ( $p < 0,05$ ), чем пациентки с классическим фенотипом А (60,1%), для которых характерно распределение жировой ткани преимущественно по андроидному типу, о чем свидетельствуют более высокие показатели индекса А/Г -  $0,94 \pm 0,18$  по сравнению с показателем при фенотипе С ( $0,84 \pm 0,16$ ) и при фенотипе D ( $0,89 \pm 0,18$ ) ( $p < 0,05$ ).

Молекулярно-генетический анализ подгрупп женщин с ГА и без ГА

показал ассоциацию андрогенных фенотипов с носительством полиморфных локусов *IRS1*(rs1801278), *LHCGR* (rs12470652) и *FSHR* (rs2349415) (рис.8). Полученные результаты согласуются с представленными выше данными о более выраженной гиперсекреции ЛГ и инсулина у пациенток с фенотипом А.



**Рис. 8.** Молекулярно-генетические предикторы андрогенных фенотипов СПКЯ.

Проспективное исследование эффективности терапии МФ завершили 132 из 143 пациенток (11 были исключены в виду низкой комплаентности или побочных реакций). Полный эффект от терапии (восстановление ритма менструаций или наступление беременности) наблюдался у 53,1% пациенток, отсутствие эффекта – у 36,3% пациенток. Пациентки с частичным эффектом (10,6%) были исключены из дальнейших расчетов. Таким образом, восстановление регулярного ритма менструаций наблюдалось у каждой 2-й пациентки с СПКЯ, беременность наступила у каждой 3-й из числа заинтересованных.

На фоне терапии МФ у пациенток с регуляцией ритма менструаций отмечено снижение уровней АМГ (-22,1%), ЛГ (-17,1%), Тобщ (-26,3%), А4 (-26,7%) и повышение уровня ПССГ (+32,1%) ( $p < 0,05$ ), что можно считать прогностически благоприятными критериями восстановления МЦ. В подгруппе без эффекта показатели существенно не изменились ( $p > 0,05$ ).

Эксперты Европейского общества эндокринологов (2014) делают

заклучение о необходимости проведения исследований по поиску предикторов успешности терапии МФ. В настоящем исследовании не выявлено зависимости эффективности МФ от возраста, ИМТ, уровня глюкозы, инсулина, НТГ, ИР и фенотипа синдрома ( $p > 0,05$ ). Регуляция ритма менструаций ассоциировалась с более низкими исходными уровнями АМГ (менее 13,3 нг/мл) и Тобщ (менее 1,81 нг/мл) в сыворотке крови ( $p < 0,05$ ). Выявлена взаимосвязь эффективности терапии и значения индекса А/Г менее 0,90.

Таблица 3. **Предикторы эффективности терапии метформином.**

Показатель	AUC	ДИ	Пороговый уровень	Чувствительность	Специфичность
АМН, нг/мл	0,705	0,599- 0,807	13,3	90%	90%
Тобщий, нг/мл	0,622	0,518- 0,726	1,81	65%	65%
Индекс А/Г	0,698	0,571- 0,825	0,90	67%	66%

Генетический анализ показал более высокие шансы на регуляцию ритма менструаций у пациенток с генотипом С/С гена *FSHR* (rs2349415) (OR=4,45;  $p=0,0143$  (95% ДИ 1,30-15,23)) и генотипом Del/Del гена *OCT1* (rs113569197) (OR=7,50;  $p=0,0167$  (95% ДИ 1,29-43,69)). Аллель С гена *SLCO1B1* (rs4149056) и делеция в гене *ACE* (rs4340) ассоциировались с полным эффектом от терапии, однако не удалось установить тип наследования по причине ограниченности выборки.

Многофакторный анализ показал, что наибольшей прогностической значимостью обладает модель, включающая уровень АМГ и генотип полиморфного локуса гена *FSHR* (rs2349415). Классифицирующая дискриминантная функция имеет вид:

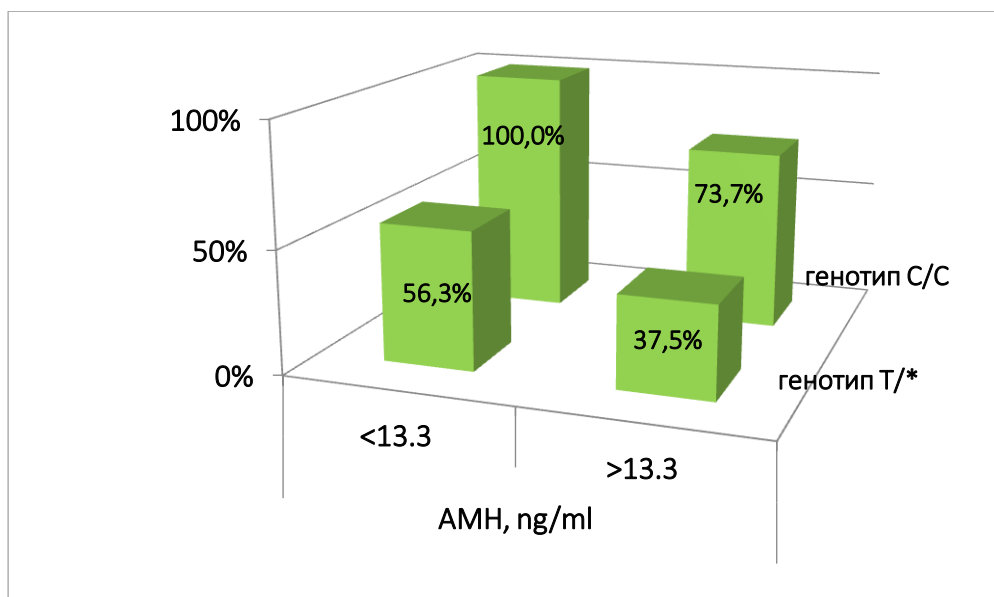
$$Z = 2,435 * \text{АМГ} - 0,075 * \text{FSHR} + 4,69, \text{ где}$$

*FSHR* - количество аллелей *C* в локусе *-521 T>C* гена *SLCOB1*

*AMГ* – уровень АМГ в сыворотке крови до терапии.

Вероятность регуляции ритма менструаций на фоне терапии МФ ( $p$ ) определялась по формуле  $p=1/(1+e^{-z})$ . При значении  $p > 0,5$  можно предположить полный эффект от терапии МФ, а при  $p < 0,5$  успешность маловероятна. Точность прогнозирования эффективности терапии МФ составляет 70,9%. *ROC*-анализ показал чувствительность - 83% (71-93%), специфичность - 60% (48-80%) ( $AUC = 0,755$ , ДИ 95 % (0,664- 0,847),  $p=3,5*10^{-13}$ ).

У пациенток с генотипом *C/C* гена *FSHR* (rs2349415) и уровне АМГ  $< 13,3$  нг/мл восстановление регулярного ритма менструаций наблюдалось в 100% случаев, в то время как у носительниц аллеля *T* и уровнем АМГ  $> 13,3$  нг/мл только в 37,5% случаев (рисунок 10).



**Рис.9.** Распределение генотипов *FSHR* (rs2349415) в зависимости от уровня АМГ.

## ВЫВОДЫ

1. В структуре гормонально-ассоциированных заболеваний репродуктивной системы доля пациенток с СПКЯ составляет 18,4%, у каждой 2й диагностируется классический фенотип (А), у каждой 3й – неандрогенный фенотип (D), в более редких случаях (6,9% и 5,7%) овуляторный (С) и

андрогенный фенотипы (В). Для фенотипа А характерна большая частота аменореи, более высокие уровни ЛГ и АМГ.

2. СПКЯ ассоциирован с полиморфизмом генов *SLCO1B1* (OR=5,19, p=0,02), *Rub5B/SUOX* (OR=3,66, p=0,004), *THADA* (OR=2,39, p=0,01), *YAP1* (OR=2,20, p=0,02), *OCT1* (OR=3,05, p=0,002), *DENND1A* (OR=2,31, p=0,03), ответственных за процессы деления клеток, стероидогенез, фолликулогенез, а также транспорт органических ионов в гепатоцитах. Формирование андрогенных фенотипов СПКЯ связано с полиморфизмом генов *IRS1* (OR=6,29, p=0,04), *LHCGR* (OR=4,61, p=0,03) и *FSHR* (p=0,04).

3. Комплексная оценка андрогенного профиля позволяет повысить выявляемость ГА с 37,4%, (по уровню Тобщ) до 67,7%, при этом наибольший вклад вносит определение содержания андростендиона, повышение которого ассоциировано с более высоким уровнем инсулина и значением индекса НОМА, что позволяет рассматривать его в качестве маркера метаболической дисфункции.

4. Вне зависимости от репродуктивного фенотипа синдрома уровень АМГ выше 5,2 нг/мл является более информативным маркером СПКЯ, чем традиционное измерение объема яичников и подсчет числа антральных фолликулов. Определение возрастных пороговых значений АМГ позволяет значительно повысить точность диагностики СПКЯ.

5. СПКЯ характеризуется достаточно высокой частотой метаболических нарушений в виде НТГ - 17,8%, ИР - 32,5%, ГИ – 25,2%, ДЛП - 37,6%, ожирения и избыточной массы тела – 31,1%. Помимо этого, у каждой 2-й пациентки с ИМТ менее 25кг/м<sup>2</sup> диагностируется избыток жировой ткани, свидетельствующий о «скрытом ожирении».

6. Терапия метформином независимо от репродуктивного фенотипа СПКЯ является эффективным подходом к негормональной коррекции овуляторной дисфункции. Шестимесячный курс метформина (1500 мг/сут) приводит к восстановлению ритма менструаций у каждой 2-й пациентки, к наступлению беременности – у каждой 3-й. Регуляция ритма менструаций

ассоциирована со снижением уровня АМГ ( $p=0,021$ ), Тобщ ( $p=0,002$ ), А4 ( $p=0,006$ ) и повышением уровня ПССГ ( $p=0,002$ ).

7. Наибольшей прогностической значимостью для восстановления ритма менструаций обладает модель, включающая уровень АМГ в сыворотке крови и генотип полиморфного локуса гена *FSHR* (rs2349415) ( $AUC=0,8$ ,  $Se=83\%$ ,  $Sp=60\%$ ,  $p=3,5*10^{-13}$ ). Вероятность ответа на терапию при уровне АМГ менее 13,3 нг/мл и генотипом С/С гена *FSHR* достигает 100%, при уровне АМГ более 13,3 нг/мл и носительстве Т-аллеля – только 37,5%.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При подозрении на СПКЯ выявление биохимической ГА должно основываться на комплексной оценке андрогенного профиля, включающей определение не только уровня Тобщ, но и Тсв и А4. Это позволяет повысить точность диагностики ГА почти в два раза, при этом наибольший вклад в диагностику ГА вносит определение уровня А4, повышение которого характерно для каждой 2-й больной с СПКЯ. Гиперандрогения по уровню А4 может рассматриваться как предиктор метаболической дисфункции у пациенток с СПКЯ.
2. Вне зависимости от фенотипа синдрома повышение уровня АМГ более 5,2 нг/мл следует рассматривать более информативным диагностическим критерием СПКЯ, чем увеличенный объем яичников и ЧАФ. Применение повозрастных пороговых значений АМГ с учетом возрастной категории пациентки.
3. Для выявления группы риска по развитию метаболической дисфункции в комплекс обследования пациенток с СПКЯ целесообразно включить проведение денситометрии для оценки композиционного состава тела, позволяющей выявить избыток жировой ткани, установить характер ее распределения и диагностировать «скрытое ожирение», которое можно ожидать у каждой 2-й пациентки с нормальным ИМТ.
4. Оценку метаболических рисков целесообразно проводить с помощью 2-х часового глюкозотолерантного теста с определением секреции инсулина, что



позволяет дополнительно выявить НТГ у каждой 10-й пациентки с СПКЯ, гиперинсулинемию - у каждой 5-й.

5. Диагностика СПКЯ должна включать определение репродуктивного фенотипа, это позволит выделить группу пациенток с классическим андрогенным фенотипом А, имеющую наиболее высокий риск развития метаболического синдрома.

6. С целью коррекции эндокринно-метаболических нарушений у пациенток с СПКЯ целесообразно проведение терапии инсулиносекретитайзером МФ вне зависимости от наличия ожирения, гиперинсулинемии и НТГ. На фоне 6-ти месячного курса метформина (1500 мг/сут) регуляцию ритма менструаций можно ожидать у каждой 2-й пациентки без дополнительного назначения прогестагенов. Достижение беременности возможно у каждой 3-й пациентки из числа заинтересованных, без применения индукторов овуляции, при этом более 80% беременностей наступают в течение первых 3-х месяцев терапии. Снижение уровня АМГ, Тобщ, А4 и повышение уровня ПССГ является прогностически благоприятным фактором при принятии решения о пролонгировании курса.

8. Прогнозирование эффективности негормональной терапии МФ возможно с учетом исходного уровня АМГ в сыворотке крови и полиморфизма гена *FSHR* (rs2349415), восстановление регулярного ритма менструаций наиболее вероятно у пациенток с уровнем АМГ менее 13,3 нг/мл и генотипом С/С полиморфного локуса гена *FSHR* (rs2349415).

#### СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Терапевтический эффект мио-инозитола при синдроме поликистозных яичников / Чернуха Г.Е., Найдукова А.А., Каприна Е.К.// Материалы XVI Всероссийского научного форума «Мать и Дитя – 2015» - М., 2015,

2. Чернуха Г.Е., Каприна Е.К., **Найдукова А.А.** «Новые возможности коррекции нарушений функции репродуктивной системы при синдроме поликистозных яичников»// **Медицинский совет**, №9, 2015г, С. 34-38.

3. **Найдукова А.А.**, Каприна Е.К., Донников А.Е., Чернуха Г.Е. «Генетические аспекты формирования синдрома поликистозных яичников (обзор литературы)» // **Акушерство и гинекология**, №3, 2016г, С. 16-22.

4. Табеева Г.И., Немова Ю.И., **Найдукова А.А.**, Кузнецова Е.Б., Залетаев Д.Б., Чернуха Г.Е. «Полиморфизм гена FMR1 при синдроме поликистозных яичников» // **Акушерство и гинекология**, №3, 2016г, С. 50-56.

5. АМГ в диагностике синдрома поликистозных яичников / Найдукова А.А., Каприна Е.К., Чернуха Г.Е. // Материалы XVII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и Дитя - 2016» - М., 2016.

6. **Найдукова А.А.**, Каприна Е.К., Иванец Т.Ю., Чернуха Г.Е. «Значение АМГ в диагностике синдрома поликистозных яичников» // **Акушерство и гинекология**, №1, 2017г, С. 46-52.

7. Найдукова А.А., Каприна Е.К., Иванец Т.Ю., Чернуха Г.Е. «Возрастные аспекты оценки уровня АМГ при синдроме поликистозных яичников» // **Акушерство и гинекология**, №3, 2017г, С. 50-56.

8. Чернуха Г.Е., **Найдукова А.А.**, Каприна Е.К., Индукция овуляции летрозолом у женщин с синдромом поликистозных яичников // **Гинекология**, 2017, № 6, с. 19-23

9. **Найдукова А.А.**, Ананьев Е.В., Чернуха Г.Е. «Влияние метформина на репродуктивную функцию женщин с различными фенотипами СПКЯ» // **Акушерство и гинекология**, №10, 2017г, С. 55-61.

10. **Найдукова А.А.**, Ананьев Е.В., Чернуха Г.Е. «Предикторы эффективности терапии метформином при СПКЯ» // **Акушерство и гинекология**, №11, 2017г, С. 69-76.

11. Тезисы, The 18<sup>th</sup> World Congress of Gynecological Endocrinology, Флоренция, Доклад 10 марта 2018. Prediction of therapeutic effect of metformin in patients with polycystic ovary syndrome.

12. Гиперандрогения при СПКЯ как маркер метаболической дисфункции / Чернуха Г.Е., **Найдукова А.А.**, Удовиченко М.А., Каприна Е.К., Иванец Т.Ю.//

Материалы XX Юбилейного Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и Дитя – 2019» - М., 2019,

13. Чернуха Г.Е., Удовиченко М.А., **Найдукова А.А.**, Механизмы формирования инсулинорезистентности при синдроме поликистозных яичников и терапевтические эффекты мио-инозитола // **Гинекология**, 2019, № 11, с. 55-60.

14. Molecular genetic and hormonal markers of metformin effectiveness in PCOS. The 13<sup>th</sup> Congress of the European Society of Gynecology Endocrinology, Вена, Тезисы, Доклад, 16 октября 2019.

15. The 13<sup>th</sup> Congress of the European Society of Gynecology Endocrinology, Вена, Тезисы, Доклад, 16 октября 2019. Molecular genetic markers of polycystic ovary syndrome in Russian population.

16. Чернуха Г.Е., **Найдукова А.А.**, Удовиченко М.А., Каприна Е.К., Иванец Т.Ю. Андрогенный профиль пациенток с синдромом поликистозных яичников и его взаимосвязь с метаболической дисфункцией // **Акушерство и гинекология**, №11, 2019г, С. 122-128.

17. The 19<sup>th</sup> World Congress of the International Society of Gynecological Endocrinology, Florence, Тезисы, Доклад, 3 декабря 2020. Genetic and hormonal approach in metformin effectiveness prediction in PCOS patients.

18. Чернуха Г.Е., **Найдукова А.А.**, Каприна Е.К., Донников А.Е. Молекулярно-генетические предикторы формирования синдрома поликистозных яичников и его андрогенных фенотипов // **Акушерство и гинекология**, №4, 2021г, С. 122-128.