

На правах рукописи

АПЕРЯН

Аревик Валерьевна

**КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ГЕНЕЗЕОЛИГОМЕНОРЕИ У ПОДРОСТКОВ**

3.1.4. – акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Ростов-на-Дону
2022г.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

АНДРЕЕВА Вера Олеговна – доктор медицинских наук, доцент, главный научный сотрудник акушерско-гинекологического отдела научно-исследовательского института акушерства и педиатрии (НИИАП), профессор кафедры акушерства и гинекологии № 2 Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России)

Официальные оппоненты:

Уварова Елена Витальевна - доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки, член корреспондент РАН, главный внештатный специалист гинеколог детского и юношеского возраста Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая 2-м гинекологическим отделением (гинекологии детского и юношеского возраста) Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, президент Межрегиональной общественной организации «Объединенных детских и подростковых гинекологов».

Ниаури Дарико Александровна - доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства, гинекологии и репродуктологии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2022 года в ___ часов на заседании Диссертационного Совета 99.2.037.02 при ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого 6-8.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова» Минздрава России и на сайте www.1spbgmu.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 года.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

Молчанов Олег Леонидович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Олигоменорея является полиэтиологичным заболеванием, а в подростковой популяции чаще всего рассматривается как физиологическое состояние, в связи с отсутствием четкой взаимосвязи с какой-либо определенной соматической или гинекологической патологией. Гормональное исследование, в большинстве случаев, не является информативным, особенно, на ранних этапах заболевания.

В связи с этим, актуальным является поиск молекулярно-биологических маркеров, позволяющих диагностировать заболевание на ранних этапах его развития.

Представляет определенный интерес изучение взаимосвязи наиболее значимых генетических и эндокринных факторов в генезе олигоменореи, являющейся симптомом, как преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ), так и синдрома поликистозных яичников (СПКЯ).

В настоящее время большое внимание уделяется новым типам генетических нарушений - динамическим мутациям – экспансии (увеличению) числа копий внутригенных тринуклеотидных повторов. Эти молекулярно-биологические маркеры можно использовать для прогнозирования заболевания задолго до его развития [Шамилова Н.Н., Марченко Л.А., 2011]. Современные исследования выявили возможность участия гена фрагильной X-хромосомы (FMR1), расположенного на длинном плече X-хромосомы в локусе Xq27.8, в патологии фолликулогенеза.

Дальнейшее изучение патогенеза функциональной недостаточности яичников, дебютирующей в пубертате в виде олигоменореи, является актуальным и своевременным.

Степень разработанности темы исследования

Клиника заболеваний, обусловленных увеличением числа триплетных CGG-повторов в гене FMR1 более 200 (полная мутация гена), достаточно изучена [Mallolas J., Duran M., et al. 2001]. Роль премутации – увеличения числа CGG повторов в пределах от 50 до 200 – в генезе ПНЯ и бесплодия представлены малочисленными научными сообщениями [Noto V., Harrity C., Walsh D., Marron K., 2016].

Наименее изученной является взаимосвязь уменьшения числа CGG повторов менее 26 с риском овариальной дисфункции [Noto V., Harrity C., Walsh D., et al., 2016]. Связь субгенотипа het-norm/high с функциональным состоянием репродуктивной системы вообще представлена единичными работами, в которых исследуется не данный

субгенотип, а число повторов 35-54 [Schufreider A., McQueen D.B., Lee S.M., et al., 2015]. В основном, в имеющихся на сегодняшний день результатах научных работ, рассматривается взаимосвязь аномального числа CGG-повторов в гене FMR1 с ПНЯ и бесплодием.

Исследований, проводимых в подростковой популяции, касающихся взаимосвязи аномального числа CGG-повторов в гене FMR1 с дисфункцией яичников, проявляющейся различными нарушениями менструального цикла, на сегодняшний день нет. Исследования продукта гена FMR1 - белка FMR1 (FMR1P) у подростков также не проводились.

Таким образом, несмотря на имеющиеся научные работы по данной проблеме [Левкович М.А., Андреева В.О., Хошаби К.Э. и др., 2015], ряд вопросов остаются недостаточно освещенными, что определяет актуальность исследований, направленных на дальнейшее изучение взаимосвязи наиболее значимых генетических и эндокринных факторов в генезе олигоменореи, являющейся симптомом, как недостаточности яичников, так и СПКЯ.

Для разработки патогенетических подходов, направленных на блокаду преждевременного истощения овариального резерва, необходимо создать комплексные динамические методы его оценки в различные возрастные периоды жизни, на основании которых, в дальнейшем, можно будет мониторировать фолликулярный пул и своевременно прогнозировать начальные этапы процесса уменьшения числа примордиальных фолликулов.

Цель исследования

Улучшить дифференциальную диагностику олигоменореи у подростков на основании исследования молекулярно-генетических маркеров как прогностических факторов овариальной недостаточности.

Задачи исследования

1. Изучить встречаемость гетерозиготных субгенотипов в области CGG повторов гена FMR1 у подростков с олигоменореей;
2. Установить связь аллельного полиморфизма в области тринуклеотидных CGG повторов гена FMR1, продукции белка FMR1 и показателей овариального резерва у подростков с олигоменореей;

3. Выявить наличие маркеров аутоиммунного реагирования и их ассоциированность с молекулярно-генетическими нарушениями у подростков с олигоменореей;

4. Уточнить клинико-лабораторные особенности течения овариальной дисфункции в зависимости от выделенных гетерозиготных субгенотипов гена FMR1 у подростков с олигоменореей;

5. Оптимизировать тактику ведения подростков с олигоменореей, включая разработку индивидуализированного алгоритма обследования и обоснования вида терапии.

Научная новизна работы

Впервые оценена встречаемость гетерозиготных субгенотипов в области CGG повторов гена FMR1 у подростков с олигоменореей;

Впервые установлена взаимосвязь аллельного полиморфизма в области тринуклеотидных CGG повторов гена FMR1, продукции белка FMR1 и показателей овариального резерва у подростков с олигоменореей;

Впервые в популяции подростков с олигоменореей выявлена ассоциированность между молекулярно-генетическими нарушениями - наличием гетерозиготных субгенотипов в области CGG повторов гена фрагильной X-хромосомы и аутоиммунной патологией;

Впервые определена взаимосвязь биологических маркеров овариального резерва с уровнем продукции белка FMR1 при олигоменорее у подростков;

Впервые дана характеристика клинико-лабораторных особенностей течения овариальной дисфункции в зависимости от выделенных гетерозиготных субгенотипов гена FMR1 у подростков с олигоменореей.

Теоретическая и практическая значимость работы

Изученная и описанная в работе взаимосвязь аллельного полиморфизма в области тринуклеотидных CGG повторов гена FMR1, продукции белка FMR1, маркеров овариального резерва и аутоиммунного реагирования позволила расширить представления о патогенезе олигоменорее у подростков как о заболевании с молекулярно-генетическим механизмом развития (по данным нашего исследования в 38,75% случаях);

На основании результатов исследования доказана необходимость тестирования CGG-области гена FMR1 у подростков, имеющих отклонения от возрастных нормативов в сывороточном содержании маркеров овариального резерва и/или сопутствующую аутоиммунную патологию для ранней диагностики заболевания;

Разработанный алгоритм обследования девочек-подростков с олигоменореей позволяет верифицировать наличие гетерозиготных субгенотипов в области CGG повторов гена фрагильной X-хромосомы, что позволяет определить дальнейшую тактику ведения пациентки и прогноз репродуктивной функции.

Методология и методы исследования

Научно-исследовательская работа была проведена на базе гинекологического отделения и консультативной поликлиники НИИАП ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России в период с 2016 по 2018 г.г., была одобрена локальным этическим комитетом. Все пациентки и их родители дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Обследование пациенток проводилось в соответствии со стандартом специализированной медицинской помощи несовершеннолетним при олигоменорее и аменорее [Приказ Минздрава России от 20 декабря 2012 года N 1075н].

Дополнительно, методом ИФА определяли сывороточное содержание антиовариальных антител (АОАт), Антимюллерова гормона (АМГ), Ингибина-В, белка FMR1 (с использованием тест-системы BIOSERV Diagnostics GmbH, Germany). Определение аллельных вариантов генов FMR1 проводили методом ПЦР набором AmplideX™ FMR1 (Asuragen, Netherlands).

Общая статистика оценена в формате результатов – медиана, интерквартильный размах (Me, Kv 75%, Kv 25%) [О.Ю. Реброва, 2006]. Для оценки связи между исследуемыми параметрами использовали корреляционный анализ по Спирмэну, с допустимой ошибкой $p < 0,05$. Исследование различий данных для несвязанных групп пациенток проводили с использованием критерия Манна-Уитни, а для связанных групп – критерия Вилкоксона в пакете прикладных программ Statistica 6.0.

Дизайн исследования

Диссертационное исследование включало 4 этапа и носило проспективно-ретроспективный характер.

На **I этапе** проведено проспективное обсервационное исследование, заключающееся в клиническом отборе пациенток в исследование на основании общих критериев включения и исключения; клинико-лабораторное исследование: комплексная оценка состояния репродуктивной системы, биологических маркеров овариального резерва и аллельного полиморфизма в области тринуклеотидных CGG повторов гена FMR1; сбор и анализ генеалогического анамнеза для выявления семейных случаев ПНЯ, врожденного и приобретенного слабоумия и других когнитивных и неврологических расстройств.

После определения минимального объема выборки, необходимого для достижения 80% мощности критерия хи-квадрат, используя номограмму Алтмана, в исследование были включены 80 девочек-подростков, страдающие первичной и вторичной олигоменореей (N91.3, N91.4 по МКБ-10) и вторичной аменореей (N91.1 по МКБ-10). В группу контроля вошли 20 девочек-подростков с регулярным менструальным циклом, без соматической патологии (таблица 1).

На **II этапе** проведено ретроспективное обсервационное исследование: рандомизация пациенток, страдающих олиго-аменореей, на 3 группы в зависимости от субгенотипов в соответствии с приведенной классификацией N. Gleicher с соавторами (2010) [Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H., 2010 г.] и критериями включения и исключения для каждой группы (таблица 1).

В I группу были включены 20 гетерозиготных носительниц аномального числа повторов гет-норма/низкий (het-norm/low) - число CGG повторов одной аллели в пределах нормального диапазона (26-34), а во второй аллели - меньше нижней границы нормативов (26);

Во II группу были включены 11 гетерозиготных носительниц аномального числа повторов гет-норма/высокий (het-norm/high), у которых число CGG повторов одной аллели находится в пределах нормального диапазона, а во второй аллели - превышает верхнюю границу нормативов (34);

В III группу включены 49 пациенток - носительниц нормального числа повторов (оба аллеля в диапазоне нормального числа повторов ($34 > CGG > 26$)) (таблица 1).

Данная рандомизация позволила решить **задачу № 1** - определить встречаемость гетерозиготных субгенотипов в области CGG повторов гена фрагильной X-хромосомы (FMR1) у подростков с олигоменореей:

1. Встречаемость гет-норма/низкого субгенотипа по данным нашего исследования составила 25%;
2. Встречаемость гет-норма/высокого субгенотипа составила 13,75%.

3. Нормальный генотип имели 61,25% подростков с олигоменореей.

На **III этапе** проведено ретроспективное обсервационное исследование по типу случай-контроль - межгрупповой сравнительный анализ полученных результатов: числа CGG повторов в двух аллелях гена FMR1; уровня сывороточного содержания FMR1P; маркеров овариального резерва; элементов гормональной регуляции менструального цикла и оценка взаимосвязи всех исследуемых показателей.

Таблица 1 - Общие и групповые критерии включения и исключения для I, II, III и контрольной групп

Группа	Критерии включения		Критерии исключения
	Общие для I, II, III групп	Дифференцированные для I, II, III групп в зависимости от субгенотипа в области CGG повторов гена FMR1	
I (n=20)	Возраст 15-17 лет. Число лет от менархе - не менее 2-х. Информированное согласие на участие в исследовании.	Гетерозиготный (гет): гет-норма/низкий (один аллель в диапазоне повторов 26–34, у второго аллеля менее 26 повторов) 34>CGG>26 / 26>CGG	Регулярный менструальный цикл. Тяжелая соматическая патология; Опухоли яичников и надпочечников; Отказ от участия; Прием препаратов или заболевания, нарушающие стероидогенез в яичниках и надпочечниках (сахарный диабет, гиперкортицизм, ВДКН, болезнь Кушинга); Пороки развития внутренних половых органов.
II (n=11)	Первичная олигоменорея (N91.3 по МКБ-10, 1999), вторичная олигоменорея (N91.4 по МКБ-10, 1999), вторичная аменорея (N91.1 по МКБ-10, 1999).	Гетерозиготный (гет) гет-норма/высокий (один аллель в диапазоне повторов 26–34 у второго аллеля более 34 повторов) 34>CGG>26/ CGG>34	
III (n=49)		Нормальный (норма или норма-норма), оба аллеля находятся в диапазоне повторов 26–34. 34>CGG>26 / 34>CGG>26	
Контроль (n=20)	Здоровые девочки-подростки (I группа здоровья) с регулярным менструальным циклом.		Нарушение менструального цикла

На **IV этапе** проведено обобщение полученных результатов, разработка индивидуализированного алгоритма обследования с обоснованием вида терапии у подростков с овариальной дисфункцией, проявляющейся олигоменореей.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. У девочек-подростков с различными формами олигоменореи тестирование CGG-повторов гена FMR1 необходимо, как для практического здравоохранения — выявление ранней диагностики заболевания, так и с теоретической точки зрения — для раскрытия тонких молекулярно-генетических механизмов патологического процесса;
2. Наличие олигоменореи с менархе в сочетании с гетерозиготным носительством аномального числа CGG-повторов является фактором риска формирования ПНЯ;
3. У подростков с олигоменореей при наличии отклонений в сывороточном содержании маркеров овариального резерва от возрастных нормативов и/или сопутствующей аутоиммунной патологии в индивидуализированный алгоритм обследования необходимо включить исследование полиморфизма CGG повторов в гене FMR1.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Достоверность и обоснованность результатов и положений выполненного исследования определена репрезентативным и достаточным объемом совокупной выборки ($n=100$), а также применением адекватных методов статистической обработки полученных результатов в соответствии с принципами доказательной медицины. Все результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и непараметрических критериев с использованием программы Minitab 16. При анализе проверки распределения на нормальность использовали тест Колмогорова–Смирнова, сравнение центральных тенденций двух независимых выборок с использованием U-критерия Манна–Уитни и сравнение средних двух независимых выборок по критерию Стьюдента. Для установления распределения генотипов соответственно закону Харди–Вайнберга использовался точный тест Фишера и χ^2 . Для определения разницы в частоте генотипов и аллелей была использована логистическая регрессия с помощью on-line калькулятора (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4.– «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3, 4 и 5 паспорта «акушерство и гинекология».

Апробация. Апробация работы проведена на совместном заседании акушерско-гинекологического отдела НИИАП и научно-координационного совета ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. Материалы диссертации доложены на XVIII, XIX и XX Всероссийских научных форумах «Мать и Дитя», (г. Москва, 2017, 2018 и 2019г.г.); на III научно-практической конференции с международным участием «Национальный и международный опыт охраны репродуктивного здоровья девочек» (г. Москва, 2019).

Личный вклад автора. Автор участвовала в выполнении всех основных и подготовительных этапов исследовательской работы, а так же провела изучение состояния вопроса по данным современной литературы и анализ полученных результатов исследования. Автор лично участвовала в написании научных статей по теме диссертационного исследования, разработке индивидуализированного алгоритма обследования и обоснования вида терапии подростков с олигоменореей.

Внедрение результатов исследований в практику. Основные положения диссертации внедрены в практику работы гинекологического отделения и консультативной поликлиники НИИАП ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России; гинекологическом отделении Городской больницы №20; в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии № 2 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России (г. Ростов-на-Дону).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ, из них 7 – в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ. Получено 2 Патента на изобретение.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 133 страницах компьютерного текста в традиционной форме. Состоит из оглавления, введения с обоснованием целей и задач исследования, методологии и методов исследования, обзора литературы, 3-х глав собственных исследований. Завершают работу обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, практические рекомендации и библиографический указатель, включающий 132 источника цитируемой литературы, из них 42 отечественных и 90 – иностранных. Иллюстрационный материал представлен 22 таблицами и 12 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Учитывая влияние неблагоприятной наследственности, обуславливающей более тяжёлое течение гинекологической патологии или высокий риск её возникновения, мы

провели сбор и анализ генеалогического анамнеза для выявления случаев ПНЯ, врожденного и приобретенного слабоумия и других когнитивных и неврологических расстройств у родственников 1, 2 и 3 степеней родства пациенток исследуемых групп. Кроме этого, мы исследовали анамнез жизни пациенток с подробным изучением перенесенных заболеваний.

При проведении многофакторного анализа оценки шансов формирования овариальной дисфункции, выявлены следующие значимые факторы риска:

в I группе – аутоиммунные заболевания (витилиго, аутоиммунный тиреоидит);

во II группе – болезни органов дыхания и пищеварения;

в III группе – болезни эндокринной системы – гиперпролактинемия.

Для формирования овариальной дисфункции у пациенток I, II и III групп имели значение следующие заболевания родителей:

1. Воспалительные заболевания наружных и внутренних половых органов;
2. Сахарный диабет 1 типа у матери;
3. СПКЯ;
4. Ревматизм у матери;
5. Артериальная гипертензия у матери;
6. Заболевания щитовидной железы у отца и/или матери;
7. Болезни мочевыделительной системы у отца и/или матери.

Для формирования у ребенка субгенотипа гет-норма/высокий имеет значение ($p < 0,05$, χ^2 -Пирсона) отягощение семейного анамнеза по материнской линии следующими заболеваниями:

1. Врожденное слабоумие;
2. Приобретенное слабоумие;
3. ПНЯ.

Полученные результаты, по нашему мнению, позволят определить целевые группы девочек для проведения ранней диагностики и профилактики овариальной дисфункции.

Степень выраженности гирсутизма, оцененная по диаграмме и шкале D. Ferriman и J. Gallwey (1967), имела наибольшее число баллов в I группе, по сравнению с контролем ($p < 0,0001$, χ^2 тест), II и III группами ($p < 0,0001$, χ^2 тест).

Наряду с клиническими проявлениями гиперандрогении, в I группе регистрировалась биохимическая гиперандрогенемия - показатели общего тестостерона и индекса свободного тестостерона (ИСТ) были максимальными по сравнению с II, III и контрольной группами (таблица 3), а также с нормативами.

Повышенные значения сывороточного содержания 17 гидроксипрогестерона (17ГОП), дигидроэпиандростеронсульфата (ДГЭАс) и адренокортикотропного гормона (АКТГ) в I группе (таблица 3) указывали на активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и в сочетании с клиникой заболевания – нарушение менструального цикла по типу опсоменореи, свидетельствовало о гиперандрогенной дисфункции яичников.

Наиболее высокий уровень секреции гонадотропинов, выходящий за пределы референсных значений и превышающий показатели I и III групп ($p < 0,05$), выявлен у пациенток II группы (таблица 3), что в совокупности с клиникой заболевания – нарушение менструального цикла по типу олиго-аменореи, свидетельствовало о ПНЯ. Эпизодическая или стабильная гипергонадотропная аменорея у женщин моложе 40 лет является характеристикой синдрома ПНЯ [Kallirroí C., Pantelis A., Pampanos A., et al., 2017].

Таблица 3 – Показатели гормонального статуса в исследуемых группах

Группы Гормоны	I (n = 20)	II (n = 11)	III (n = 49)	Контроль (n = 20)
ЛГ ¹ мМЕ/мл	5,9 (10,6; 4,1) *	12 (13,8; 8,7) ♦	7,9 (8,9; 5,2) •	5,95 (7,2; 5,2)
ФСГ ² мМЕ/мл	6,0 (9,6; 4,4) *	11,0 (14,03; 8,6) •	7,1 (10,4; 5,6) *	6,3 (7,1; 4,95)
ЛГ/ФСГ	1,0 (1,7; 0,6)	1,1 (1,2; 1,01)	0,94 (1,9; 0,6)	0,91 (1,1; 0,8)
Пролактин мМЕ/л	598 (703; 496,5) ♦	501♦ (627,8; 427,5)	788 (813; 756) •	468 (562,5; 378,5)
Э ² ³ пг/мл	59 (97,5; 26,5)	67 (149,5; 39)	60 (114; 42,2)	47,5 (60; 39)
Прогестерон нмоль/л	6,45 (7,5; 5,4) *♦	2,0 (2,6; 1,4) •	2,0 (3,0; 1,1) •	7,2 (8,9; 6,7)
Тестостерон нмоль/л	2,2 (3,1; 1,75) ♦	2 (2,5; 1,45) •	1,6 (2,9; 1) •*	1,1 (1,3; 0,95)
ГСПГ нмоль/л	31,5 (47,5; 25) •*♦	63,5 (80,5; 45,75) •	46 (68,5; 37,5) •*	97 (114; 76)
ИСТ	6,8 (12,9; 3,55) •*♦	2,2 (3,2; 2,15) •	3,03 (9,1; 2,02) *	1,13 (1,34; 0,4)
Кортизол нмоль/л	538 (604; 403)	545 (572,5; 517,5)	489,5 (575,3; 393,5)	520 (605,3; 465,5)
17 ГОП нг/мл	1,2 (1,3; 1) •*	0,8 (0,9; 0,8)	1,1 (1,5; 1) •*	0,81 (0,95; 0,7)
ДГЭАс мкг/мл	5 (7; 3,7) •*♦	2,1 (3,7; 2)	2,5 (4,45; 1,7)	1,2 (3,9; 0,8)

<i>Продолжение таблицы 3</i>				
Группы Гормоны	I (n = 20)	II (n = 11)	III (n = 49)	Контроль (n = 20)
АКТГ пг/мл	52,15 (77,6; 26,7) •♦	62,2 (77,3; 34,7) •	24,6 (54,4; 21,8) *	23,4 (57,8; 8,3)
ТЗсв пг/мл	2,35 (2,5; 2,1)	3,15 (3,5; 2,1)	2,2 (2,6; 1,9)	2,3 (2,4; 2,2)
Т4св пмоль/л	13,9 (15,6; 13,1)	15,4 (18,55; 13,25)	13,3 (15,9; 12)	15,7 (18,3; 11,4)
ТТГ мкМЕ/мл	1,9 (3,3; 1,5) •*	0,9 (1,7; 0,8)	1,7 (2,4; 1,1)	1,2 (1,5; 0,98)
Ат к ТПО Е/мл	72 (114; 21,75) •♦	2,5 (9,8; 1,5) ♦	3,0 (26,5; 0,5)	4,0 (6,3; 2)

• статистически обоснованные различия с группой контроля, $p < 0,05$ * статистически обоснованные различия с II группой $p < 0,05$ ♦ статистически обоснованные различия с III группой $p < 0,05$

¹ Лютеинизирующий гормон ² Фолликулостимулирующий гормон ³ Эстрадиол

В III группе у 72% девочек была выявлена гиперпролактинемия (таблица 3), что при нормальном числе повторов ($34 > CGG > 26$), было расценено как основной патогенетический фактор олигоменореи в данной группе.

Показатели Э2 и кортизола не имели межгрупповых различий и не выходили за границы нормативов ($p > 0,05$) (таблица 3). Сывороточное содержание прогестерона во II и III группах не различалось и было снижено по сравнению с контролем в 3,2 раза ($p < 0,05$) и I группой – в 3,6 раза ($p < 0,05$) (таблица 3), что могло указывать на ановуляторные циклы и НЛФ в течение длительного времени.

Размеры матки, яичников и толщины эндометрия соответствовали нормативам только у пациенток из группы контроля (таблицы 4, 5).

Таблица 4 – Результаты ультразвукового исследования матки у пациенток исследуемых групп

Группы	Размеры матки (см)			Толщина М-эхо(см)
	Длина	Ширина	Передне-задний размер	
I группа (n=20)	5,8 (6,7; 5,4) •* ♦	4,7 (4,9; 4,1)	4,4 (4,9; 4,1) •* ♦	0,8 (0,93; 0,5) •*♦
II группа (n=11)	4,4 (5,3; 4,1) •	4,3 (4,7; 4,1)	4,14 (4,3; 3,6)	0,6(0,7; 0,4)
III группа (n=49)	4,9 (5,9; 4,6) *	4,8 (5,1; 4,0)	4,16 (4,4; 3,7)	0,5(0,6; 0,4)
Контроль (n=20)	5,5 (5,9; 4,9)	4,7 (5,0; 4,2)	4,1 (4,3; 3,9)	0,5(0,6; 0,46)

• статистически обоснованные различия с группой контроля, $p < 0,05$

* статистически обоснованные различия с II группой $p < 0,05$

♦ статистически обоснованные различия с III группой $p < 0,05$

Наименьшие размеры матки были выявлены у пациенток II группы - в 1,2 раза меньше, чем в группе контроля ($p<0,05$), в 1,3 раза меньше, чем в I группе ($p<0,05$) и в 1,13 раза меньше, чем в III группе ($p<0,05$) (таблица 4).

Наибольшая толщина эндометрия выявлена в I группе, причем, данный показатель не только статистически обоснованно превышал значения II, III и контрольной групп, но и выходил за границы нормативов для 5-7 дня менструального цикла (3-7 мм), что являлось проявлением феномена «относительной гиперэстрогении» (таблица 4).

Размеры яичников в I и III группах превышали нормативы, а также показатели II и контрольной групп ($p<0,05$) (таблица 5).

У пациенток I группы наличие более 12 фолликулов в каждом яичнике, ановуляция и биохимическая гиперандрогения соответствовали диагностическим критериям СПКЯ [Azziz R., Carmina E., Dewailly D., et al. 2006] (таблица 5).

При проведении аутоиммунного скрининга был выявлен повышенный титр анти тиреоидных антител у пациенток I группы, что в сочетании с результатами ультразвуковой визуализации позволило диагностировать гипертрофическую форму аутоиммунного тиреоидита (АИТ) у 30% пациенток I группы (таблица 3).

Таблица 5 – Результаты ультразвукового исследования яичников у пациенток исследуемых групп

Группы	Объем левого яичника (см ³)	Объем правого яичника (см ³)	Размеры фолликулов (см)	Число фолликулов (шт)
I группа (n=20)	11,0 (16,4; 8,7) •*	11,2 (17,4; 8,6) •*	0,6 (0,8; 0,5) •	13 (16; 9) •
II группа (n=11)	9,4 (10,4; 6,1) •	6,4 (8,8; 5,2)	0,5 (0,7; 0,2) •	11 (13; 6) •
III группа (n=49)	11,0 (13,1; 6,9) •	11,04 (13,2; 6,4) •*	0,8 (1,1; 0,6)	9 (11; 4)
Контроль (n=20)	7,75 (8,1; 4,8)	8,1 (8,6; 3,9)	0,9 (1,2; 0,8)	6 (7; 4)

* статистически обоснованное различие с II группой, $p<0,05$

• статистически обоснованные различие с группой контроля, $p<0,05$

Полученные результаты оценки гормонального статуса пациенток, позволили дать клинико-лабораторную характеристику каждой из исследуемых групп:

I группа – нормогонадотропный нормогонадизм в сочетании с овариально-адреналовой гиперандрогенией, повышенным титром анти тиреоидных антител, гипертрофической формой АИТ, мультифолликулярной структурой и увеличенным объемом яичников, что в сочетании с клиникой заболевания – нарушение менструального

цикла по типу опсоменореи, соответствует диагностическим критериям СПКЯ на фоне аутоиммунной патологии;

II группа – гипергонадотропный нормогонадизм, тенденция к гипоплазии матки, отсутствие клинической и биохимической гиперандрогении, нормальный тиреоидный статус;

III группа – нормогонадотропный нормогонадизм, гиперпролактинемия, отсутствие клинической и биохимической гиперандрогении, нормальный тиреоидный статус.

Для оценки взаимосвязи рассматриваемых в работе субгенотипов с функциональным состоянием гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы мы исследовали маркеры овариального резерва и уровень FMR1P у пациенток исследуемых групп (таблица 6).

Таблица 6 – Результаты исследования АМГ, Ингибина В и FMR1P у пациенток исследуемых групп

Группы Показатели	I (n = 20)	II (n = 11)	III (n = 49)	Контроль (n = 20)
АМГ (нг/мл)	7,45 (9,8; 6,2) •*	2,6 (3,6; 1,78) •	4,4 (6,3; 1,7) *	4,55 (5,7; 3,1)
Ингибин В (пг/мл)	67 (70,8; 45,3) •*	46 (50,5; 26) •♦	52,5 (117,4; 49,5)	88,6 (108,6; 68,6)
FMR1P (нг/мл)	525 (795,5; 51,5) •*♦	172,3 (259,8; 150) •♦	224,98 (437,5; 171,9)	241,4 (260; 230)

• статистически обоснованные различия с группой контроля, $p < 0,05$

* статистически обоснованные различия с II группой $p < 0,05$

♦ статистически обоснованные различия с III группой $p < 0,05$

Наиболее высокие показатели FMR1P регистрировались в I группе, достоверно превышающие значения II, III и контрольной групп в 3,05 ($p < 0,001$); 2,3 ($p < 0,05$) и 2,2 раза ($p < 0,05$) соответственно. Сывороточное содержание FMR1P у пациенток III и контрольной групп не имело межгрупповых различий ($p > 0,05$) (таблица 6).

В работе V. Noto (2016) рассматривается уменьшение продукции FMR1P при увеличении числа CGG-повторов, что согласуется с полученными нами результатами – у пациенток II группы, имеющими субгенотип гет-норма/высокий, уровень FMR1P в сыворотке крови был достоверно ниже показателей I, III и контрольной групп ($p < 0,001$).

Связь между нефизиологической продукцией FMR1P и развитием ПНЯ объясняется подавлением у больных с измененным числом CGG-повторов

пролиферативной способности фолликулов и блокадой их роста, развития и созревания [Allen E.G., et al., 2007; Wittenberger M.D., et al. 2007].

В настоящее время имеются доказательства того, что различные генотипы FMR1 различаются по скорости рекрутирования фолликулов, что отражается на овариальном резерве, оцениваемом по уровню АМГ. Высказано предположение о том, что АМГ является одним из блокаторов выхода покоящихся фолликулов из примордиального пула, их вступления в фазу активного роста [Черных В.Б., Курило Л.Ф., 2001]. АМГ более достоверный маркер числа преантральных и малых антральных фолликулов, чем подсчет числа фолликулов при УЗИ [Dewailly D., Andersen C.Y., 2014].

Проведение корреляционного анализа установило наличие прямой корреляционной взаимосвязи между уровнями FMR1P и АМГ у пациенток I группы ($\rho = 0,75$, $p < 0,05$), что косвенно указывает на нарушение процесса фолликулогенеза, в виде накопления большого количества малых антральных фолликулов, что и обуславливает высокий уровень АМГ в данной группе.

По данным N. Gleicher (2009) для каждого пяти повторов CGG выше или ниже 30 отмечается увеличение относительного риска наличия патологического значения АМГ на 60% и 40% соответственно [Gleicher N., Weghofer A., Oktay K., et al., 2009]. Полученные нами результаты исследования АМГ в подростковой популяции полностью согласуются с данными, опубликованными N. Gleicher (2009). Уровень АМГ в I группе был выше, чем в группе контроля на 63,7% ($p < 0,05$), а во II группе – ниже на 42,9%.

У пациенток II группы значения как АМГ, так и Ингибина В были достоверно снижены относительно других исследуемых групп ($p < 0,05$) (таблица 6). Снижение Ингибина В менее 40 пг/мл свидетельствует об уменьшении овариального резерва и нередко наблюдается у женщин с ПНЯ, что позволяет считать низкие значения ингибина В более ранним маркером снижения овариального резерва, чем повышение выработки ФСГ гипофизом [Александрова Н.В., Марченко Л.А., 2007].

При проведении корреляционного анализа, установлено наличие прямой корреляционной связи между уровнями FMR1P и АМГ у пациенток II группы ($\rho = 0,70$, $p < 0,05$), что подтверждает взаимосвязь низких показателей маркеров овариального резерва с низким уровнем продукции FMR1P и указывает на нарушение процесса фолликулогенеза, в виде патологически измененных гормончувствительной и гормонзависимой фаз и об уменьшении овариального резерва.

Результаты данного фрагмента исследования позволили решить задачу № 2 - установить связь аллельного полиморфизма в области тринуклеотидных CGG повторов

гена FMR1, продукции белка FMR1 и показателей овариального резерва у подростков с олигоменореей:

1. Взаимосвязь маркеров овариального резерва с уровнем продукции белка FMR1 у пациенток с гетерозиготным субгенотипом гет-норма/низкий (I группа) доказана наличием прямой корреляционной связи между высокими уровнями продукции как FMR1P, так и АМГ ($\rho = 0,57$, $p < 0,05$), и косвенно указывает на нарушение гормончувствительной фазы фолликулогенеза, в виде накопления большого количества малых антральных фолликулов, вступивших в фазу активного роста, что и обуславливает высокий уровень АМГ в данной группе.

2. У пациенток с гетерозиготным субгенотипом гет-норма/высокий снижение сывороточного содержания FMR1P и маркеров овариального резерва - АМГ и Ингибина В, в сочетании с установленной прямой корреляционной связью между FMR1P и АМГ, указывает на участие FMR1P в патогенезе нарушений как гормончувствительной, так и гормонзависимой фаз фолликулогенеза.

В исследованиях Gleicher N., Weghofer A. (2010) установлено, что субгенотип FMR1- низкий (het-normal/low) имеет связь с аутоиммунной составляющей патогенеза СПКЯ, и данная патология рассматривается как аутоиммунный фенотип СПКЯ с быстро истощающимся овариальным резервом [Gleicher N., Weghofer A., 2010].

Известно, что при данном субгенотипе овариальный резерв в раннем репродуктивном периоде жизни сохранен или даже превышает норму (по уровню АМГ), но, затем, расходуется более высокими темпами, что обусловлено ускорением процесса апоптоза и атрезии фолликулов [Lu C., Lin L., Tan H., et al., 2012; Gleicher N., Yu Y., Himaya E., et al., 2015].

У пациенток I группы был выявлен повышенный титр органоспецифических аутоантител – к ТПО и антигенам яичника, что свидетельствовало о наличии аутоиммунной патологии. Средний сывороточный уровень ингибина В в I группе был в норме, что свидетельствует о полноценной фазе роста антральных фолликулов. Известно, что в результате аутоиммунного поражения, затрагивающего клетки теки, нарушается взаимодействие теки и гранулезы, и, согласно двухклеточной теории, это приводит к снижению синтеза эстрогенов и нарушению созревания фолликулов на этапе «предоминантного». У наших больных это привело к мультифолликулярной трансформацией яичников, по данным эхографии, к ановуляции и олигоменорее. Формирование мультифолликулярной трансформации яичников у подростков I группы, вероятно, обусловлено отсутствием атрезии антральных фолликулов за счет повышенной продукции FMR1P и связанным с этим нарушением селекции доминантного фолликула.

На основании данного фрагмента исследования была решена **задача № 3**: выявить наличие маркеров аутоиммунного реагирования и их ассоциированность с молекулярно-генетическими нарушениями у подростков с олигоменореей:

Пациентки I группы имели критерии, соответствующие полному фенотипу СПКЯ: хроническая ановуляция, клиническая и/или биохимическая гиперандрогения и мелкокистозная трансформация яичников, что в совокупности с наличием высокого титра органоспецифических аутоантител, дало нам возможность рассматривать данную совокупность симптомов как аутоиммунный фенотип синдрома поликистозных яичников - Autoimmunity-Associated Polycystic Ovary-Like Phenotype [Gleicher N., Weghofer A., Lee I.H., et al., 2010], ассоциированный с субгенотипом FMR1 гет – норма/низкий.

На основании результатов проведенного нами исследования, мы выявили клиническую неоднородность когорты пациенток с олигоменореей, обусловленную различными гетерозиготными субгенотипами гена FMR1. Это позволило нам сформулировать клинико-лабораторную характеристику каждого субгенотипа и, таким образом, решить **задачу № 4** - уточнить клинико-лабораторные особенности течения овариальной дисфункции в зависимости от выделенных гетерозиготных субгенотипов гена FMR1 у подростков с олигоменореей:

1. Гетерозиготный (гет): гет-норма/низкий субгенотип – характеризуется повышенным титром органоспецифических аутоантител – к ТПО и антигенам яичника, повышенной продукцией АМГ, FMR1P, гиперандрогенией и мелкокистозной трансформацией яичников и может рассматриваться как аутоиммунный фенотип синдрома поликистозных яичников, с быстро истощающимся овариальным резервом. Встречаемость по данным нашего исследования составила 25%;

2. Гетерозиготный (гет): гет-норма/высокий субгенотип – характерными признаками являются сниженный уровень FMR1P, ингибина В, АМГ относительно возрастных нормативов, при умеренно повышенных показателях гонадотропинов, что можно рассматривать в качестве начальных признаков ПНЯ. Встречаемость составила - 13,75%.

3. Нормальный генотип: характерными признаками являются нормальный уровень FMR1P, ингибина В, АМГ относительно возрастных нормативов, при нормальных показателях гонадотропинов. В нашем исследовании данная группа была неоднородна, олигоменорея у подростков с нормальным генотипом была ассоциирована с гиперпролактинемией. Встречаемость составила - 61,25%.

На **IV этапе** исследования проведено обобщение полученных результатов, разработка индивидуализированного алгоритма обследования с обоснованием вида терапии у подростков с олигоменореей, что являлось решением **задачи № 5**.

Индивидуализированный алгоритм обследования и обоснования вида терапии подростков с олигоменореей (рисунок 1):

1. При наличии олигоменореи с менархе (более 1 года) или вторичной аменореи (более 6 месяцев) при исключении гиперпролактинемии и других заболеваний, нарушающих фолликулогенез, необходимо исследовать сывороточное содержание маркеров овариального резерва - АМГ и ингибина В. При аномальных значениях АМГ и Ингибина В относительно возрастных нормативов, необходимо проводить исследование полиморфизма CGG повторов в гене FMR1.

2. Девочки-подростки с диагностированным аутоиммунным тиреоидитом должны быть обследованы у гинеколога для своевременной диагностики аутоиммунного поражения яичников.

3. У пациенток с диагностированным согласно критериям ESHRE/ASRM (2003) СПКЯ, необходимо исключить аутоиммунную патологию, а при ее наличии - проводить исследование полиморфизма CGG повторов в гене FMR1.

Индивидуализированный алгоритм обследования подростков с олигоменореей

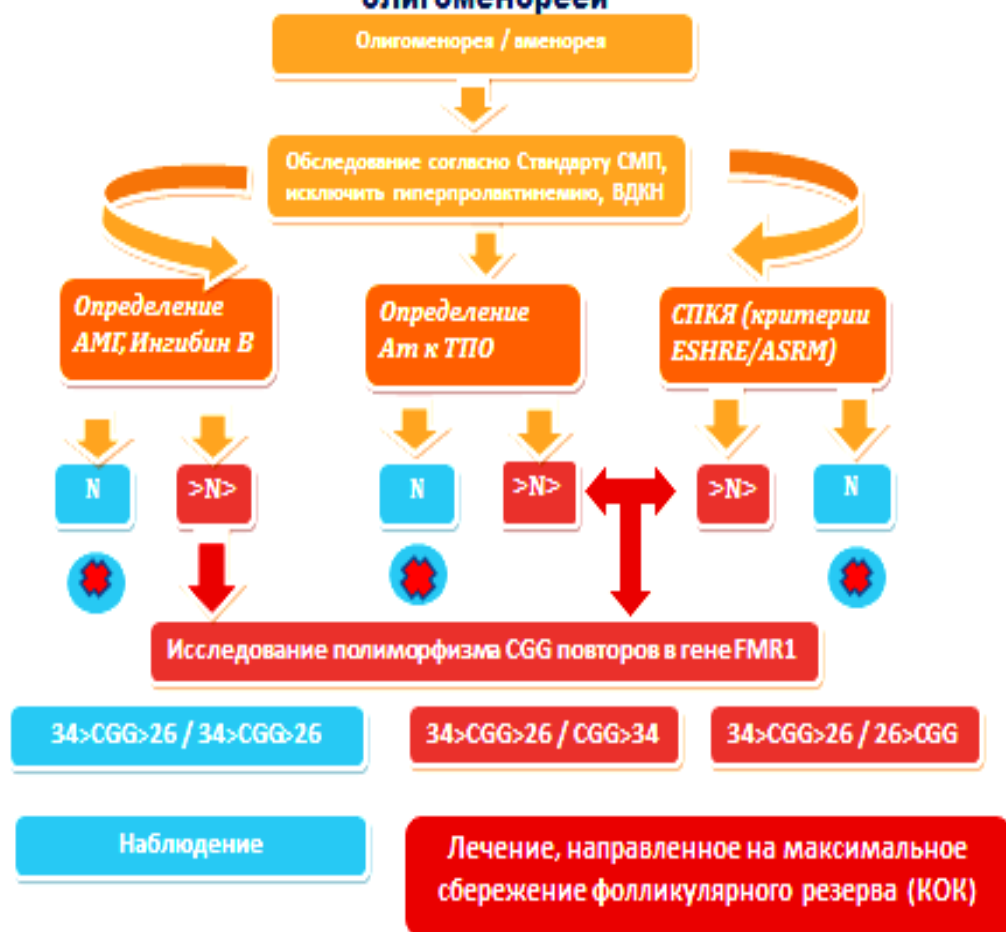


Рисунок 1. - Индивидуализированный алгоритм обследования и обоснования вида терапии подростков с олигоменореей

4. Гетерозиготное носительство аномального числа CGG-повторов является фактором риска формирования ПНЯ, что требует проведения ежегодного долговременного мониторинга сывороточного содержания маркеров овариального резерва – АМГ и ингибина В.

5. Лечение подростков с олигоменореей и гетерозиготным носительством аномального числа CGG-повторов в гене FMR1 должно быть направлено на максимальное сбережение фолликулярного резерва, что предполагает назначение гормональных контрацептивов в пролонгированном режиме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Олигоменорея является полиэтиологичным заболеванием, а в подростковой популяции чаще всего рассматривается как физиологическое состояние, в связи с отсутствием четкой взаимосвязи с какой-либо определенной соматической или

гинекологической патологией. Гормональное исследование, в большинстве случаев, не является информативным, особенно, на ранних этапах заболевания. В связи с этим, актуальным является поиск молекулярно-биологических маркеров, позволяющих диагностировать заболевание на ранних этапах его развития.

Наша научная гипотеза состояла в том, что дисфункция яичников, проявляющаяся олигоменореей у подростков, может быть связана с различными субгенотипами FMR1 вне «нормального» диапазона CGG повторов.

В результате проведенного исследования, мы подтвердили данную гипотезу и сформулировали клинко-лабораторную характеристику каждого субгенотипа:

1. Гетерозиготный (гет): гет-норма/низкий – характеризуется повышенным титром органоспецифических аутоантител – к ТПО и антигенам яичника, повышенной продукцией АМГ, FMR1P, гиперандрогенией и мелкокистозной трансформацией яичников и может рассматриваться как аутоиммунный фенотип синдрома поликистозных яичников. Встречаемость по данным нашего исследования составила 25%;

2. Гетерозиготный (гет): гет-норма/высокий – характерными признаками являются сниженный уровень FMR1P, ингибина В, АМГ относительно возрастных нормативов, при умеренно повышенных показателях гонадотропинов, что можно рассматривать в качестве начальных признаков ПНЯ. Встречаемость составила - 13,75%.

3. Нормальный: характерными признаками являются нормальный уровень FMR1P, ингибина В, АМГ относительно возрастных нормативов, при нормальных показателях гонадотропинов. В нашем исследовании данная группа была неоднородна, олигоменорея у подростков с нормальным генотипом была ассоциирована с гиперпролактинемией. Встречаемость составила - 61,25%. Разработанный индивидуализированный алгоритм обследования и обоснования вида терапии подростков с олигоменореей поможет оптимизировать тактику ведения данной категории больных.

ВЫВОДЫ

1. В структуре олигоменореи у подростков встречаемость гетерозиготного генотипа в области CGG повторов гена фрагильной X-хромосомы (FMR1) составляет 38,75%, при этом субгенотип гет – норма/низкий составляет 25%; субгенотип гет-норма/высокий - 13,75%, а генотип с нормальным числом повторов ($34 > CGG > 26$) выявляется у 61,25% девочек-подростков.

2. Наличие прямой корреляционной взаимосвязи между высоким уровнем продукции FMR1P и АМГ у пациенток с гетерозиготным субгенотипом гет-норма/низкий

($\rho = 0,57$, $p < 0,05$) косвенно указывает на нарушение гормончувствительной фазы фолликулогенеза, в виде накопления большого количества малых антральных фолликулов, вступивших в фазу активного роста, что и обуславливает высокий уровень АМГ в данной группе.

Снижение сывороточного содержания FMR1P и маркеров овариального резерва - АМГ и Ингибина В у пациенток с гетерозиготным субгенотипом гет-норма/высокий указывает на участие FMR1P в патогенезе нарушений как гормончувствительной, так и гормонзависимой фаз фолликулогенеза.

3. У пациенток с субгенотипом гет-норма/низкий повышенный титр органоспецифических аутоантител – к ТПО и антигенам яичника свидетельствует об ассоциированности данного субгенотипа с аутоиммунной патологией.

4. Клиническая неоднородность когорты пациенток с олигоменореей, обусловлена различными гетерозиготными субгенотипами гена FMR1, изучение которых позволило сформулировать клинико-лабораторную характеристику каждого субгенотипа:

- субгенотип гет-норма/низкий характеризуется повышенным титром органоспецифических аутоантител – к ТПО и антигенам яичника, повышенной продукцией АМГ, FMR1P, гиперандрогенией и мелкокистозной трансформацией яичников и может рассматриваться как аутоиммунный фенотип синдрома поликистозных яичников;
- субгенотип гет-норма/высокий характеризуется сниженным уровнем FMR1P, ингибина В, АМГ относительно возрастных нормативов, при умеренно повышенных показателях гонадотропинов, что можно рассматривать в качестве начальных признаков ПНЯ.

5. Индивидуализированный алгоритм обследования и обоснования вида терапии у пациенток с олигоменореей должен включать исследование полиморфизма CGG повторов в гене FMR1 при наличии:

- изменения сывороточного содержания маркеров овариального резерва - АМГ и ингибина В – ниже или выше возрастных нормативов;
- сопутствующей аутоиммунной патологии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При наличии олигоменореи с менархе (более 1 года) или вторичной аменореи (более 6 месяцев) при исключении гиперпролактинемии и других заболеваний, нарушающих фолликулогенез, необходимо исследовать сывороточное содержание

маркеров овариального резерва - АМГ и ингибина В. При аномальных значениях АМГ и Ингибина В относительно возрастных нормативов, необходимо проводить исследование полиморфизма CGG повторов в гене FMR1.

2. Девочки-подростки с диагностированным аутоиммунным тиреоидитом должны быть обследованы у гинеколога для своевременной диагностики аутоиммунного поражения яичников.

3. У пациенток с диагностированным согласно критериям ESHRE/ASRM (2003) СПКЯ, необходимо исключить аутоиммунную патологию, а при ее наличии - проводить исследование полиморфизма CGG повторов в гене FMR1.

3. Гетерозиготное носительство аномального числа CGG-повторов является фактором риска формирования ПНЯ, что требует проведения ежегодного долговременного мониторинга сывороточного содержания маркеров овариального резерва – АМГ и ингибина В.

5. Лечение подростков с олигоменореей и гетерозиготным носительством аномального числа CGG-повторов в гене FMR1 должно быть направлено на максимальное сбережение фолликулярного резерва, что предполагает назначение гормональных контрацептивов в пролонгированном режиме.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Представляет определенный интерес изучение взаимосвязи наиболее значимых генетических и эндокринных факторов в генезе олигоменореи, являющейся симптомом, как недостаточности яичников, так и СПКЯ. Несмотря на имеющиеся научные работы по данной проблеме, ряд вопросов остается недостаточно освещенным, что определяет актуальность исследований, направленных на дальнейшее изучение взаимосвязи наиболее значимых генетических и эндокринных факторов в генезе олигоменореи.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Дисменорея у подростков – диагностические трудности и лечебная тактика / Андреева В.О., Линде В.А., Аперян А.В. // Таврический медико-биологический вестник. -2016. -Т. 19, №2. – С. 10-14.
2. Роль адипоцитокинов и их рецепторов в формировании овариальной дисфункции у девочек-подростков с ожирением / Андреева В.О., Хошаби К.Э., Андреева С.С., Аперян А.В. // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2018. – Т.14, № 4. – С.14-22.

3. Роль провоспалительных цитокинов, адипоцитокинов и их рецепторов (лептин, Р-лептина, несфатин, ФНО- α , sФНО- α R1, IL-6) в формировании овариальной дисфункции у девочек-подростков / Хошаби К.Э., Андреева С.С., Аперян А.В. // Сборник материалов 5ой итоговой научной сессии молодых учёных РостГМУ, Ростов-на-Дону, 2018г. – С. 97-101.
4. Сравнительный анализ клинической эффективности применения низкодозированных комбинированных оральных контрацептивов с дроспиреноном и системной энзимотерапии у подростков с гипофункцией яичников аутоиммунного генеза / Андреева В.О., Аперян А.В., Андреева С.С., Шухардина Т.А. // Репродуктивное здоровье детей и подростков. –2019. – Т. 15, №3. – С. 11 – 21.
5. Факторы риска формирования овариальной дисфункции у подростков с ожирением / Андреева В.О., Хошаби К.Э., Андреева С.С., Аперян А.В., Шухардина Т.А. // Репродуктивное здоровье детей и подростков. –2019. – Т. 15, №3. –С. 22-32.
6. Молекулярно-генетические маркеры формирования овариальной дисфункции у девочек-подростков с ожирением / В.О. Андреева, С.С. Андреева, А.В. Аперян, К.Э. Хошаби. // Сборник тезисов III научно-практической конференции с международным участием «Национальный и международный опыт охраны репродуктивного здоровья детей и молодежи», Москва, 2019г. – С.3-4.
7. Клинико-диагностическое значение молекулярно-генетических маркеров в генезе олигоменореи у подростков/ Андреева В.О., Аперян А.В., Петров Ю.А. // Репродуктивное здоровье детей и подростков.–2019. – Т. 15, №4. –С. 25 – 35.
8. Новые молекулярно-генетические маркеры в генезе олигоменореи у подростков / Андреева В.О., Петров Ю.А., Аперян А.В. // Сборник материалов внутривузовской научно-практической конференции. ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет». // г. Ростов-на-Дону, -2020. –С. 18-26.
9. Способ прогнозирования развития овариальной дисфункции и оценки эффективности лечения у девочек подростков, страдающих ожирением/ Андреева В.О., Левкович М.А., Хошаби К.Э., Аперян А.В., Андреева С.С. // Патент РФ на изобретение № 2743728, 25.02.2021. - Бюл. №6. -9 с.
10. Способ прогнозирования восстановления менструального цикла у девочек-подростков с нормогонадотропной олигоменореей / Рымашевский А.Н., Андреева В.О., Латынин А.Н., Боташева Т.Л., Андреева С.С., Аперян А.В., Заводнов О.П., Железнякова Е.В. // Патент на изобретение 2740848 С1, 21.01.2021. Заявка № 2020126757 от 10.08.2020.