

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«РОСТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Аперян Аревик Валерьевна

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-  
ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ГЕНЕЗЕ ОЛИГОМЕНОРЕИ У  
ПОДРОСТКОВ

3.1.4. – акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
д.м.н., доцент,  
главный научный сотрудник  
акушерско-гинекологического  
отдела НИИАП  
ФГБОУ ВО РостГМУ

В.О. Андреева

Ростов-на-Дону  
2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ГЕНЕЗЕ ОЛИГОМЕНОРЕИ У ПОДРОСТКОВ (обзор литературы).....	29
1.1 Роль нарушений фолликулогенеза в патогенезе олигоменореи у подростков.....	29
1.2 Мутация и премутация гена FMR1 – взаимосвязь с овариальной недостаточностью.....	31
1.3 Ген FMR1 и контроль овариального резерва .....	36
1.4 Роль белка FMR1 в развитии овариальной гипофункции.....	41
1.5 Взаимосвязь отдельных субгенотипов FMR1 с аутоиммунной, онкологической патологией, синдромом поликистозных яичников и когнитивными нарушениями.....	42
ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ.....	48
2.1 Возрастная и антропометрическая характеристика групп.....	48
2.2 Функциональное состояние овариальной, адреналовой и тиреоидной систем у пациенток исследуемых групп.....	49
2.2.1 Анализ стадий полового развития, меноциклограмм и выраженности клинических проявлений гиперандрогении пациенток исследуемых групп.....	49
2.2.2 Функциональное состояние гипофизарно-овариальной системы у пациенток исследуемых групп.....	51
2.2.3 Ультразвуковое исследование матки и яичников у пациенток I, II, III и контрольной групп.....	53
2.2.4 Функциональное состояние гипофизарно-адреналовой системы у пациенток исследуемых групп.....	55

2.2.5	Состояние тиреоидной функции у пациенток исследуемых групп.....	58
2.3	Структура заболеваемости пациенток.....	62
2.4	Факторы predisпозиции формирования дисфункции яичников...66	
2.4.1	Возраст и заболевания родителей пробандов на момент наступления беременности в исследуемых группах .....	66
2.4.2	Перинатальный период жизни пациенток 1, 2 и контрольной групп.....	73
ГЛАВА 3. РОЛЬ ГЕТЕРОЗИГОТНЫХ СУБЕНОТИПОВ В ОБЛАСТИ CGG ПОВТОРОВ ГЕНА ФРАГИЛЬНОЙ X-ХРОМОСОМЫ (FMR1) В ФОРМИРОВАНИИ ОВАРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ.....76		
3.1	Встречаемость гетерозиготных субгенотипов в области CGG повторов гена фрагильной X-хромосомы (FMR1) у подростков с олигоменореей.....	76
3.2	Сывороточное содержание белка FMR1 у пациенток исследуемых групп.....	78
3.3	Взаимосвязь маркеров овариального резерва с уровнем продукции белка FMR1 у пациенток исследуемых групп.....	79
3.4	Ассоциированность маркеров аутоиммунного реагирования с молекулярно-генетическими нарушениями у подростков с олигоменореей.....	84
3.5	Клинико-лабораторные особенности течения овариальной дисфункции в зависимости от выделенных гетерозиготных субгенотипов гена FMR1 у подростков с олигоменореей.....	86
3.6	Индивидуализированный алгоритм обследования и обоснования вида терапии подростков с олигоменореей.....	87
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....89		
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....108		
ВЫВОДЫ.....112		

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	114
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНОЧЕНИЙ .....	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	118

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Современный период развития общества характеризуется уменьшением численности женщин репродуктивного возраста и ростом патологии репродуктивной системы у представителей обоих полов, что способствует уменьшению народонаселения в нашей стране [Соболева С.В., Смирнова Н.Е., Чудаева О.В., 2016]. В основном, депопуляции способствует ухудшающееся состояние здоровья девочек-подростков, в том числе рост патологии репродуктивной системы у данного контингента [Андреева В.О., Аперян А.В., 2019]. Следовательно, особую актуальность имеет своевременная, а, в оптимальном варианте, доклиническая диагностика заболеваний, которые дебютируют в пубертате и могут приводить к тяжелым последствиям для здоровья в будущем - метаболическому синдрому, сахарному диабету 2 типа, синдрому поликистозных яичников (СПКЯ), бесплодию или преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) - [Аперян А.В., 2019].

Олигоменорея, безусловно, в большей мере является симптомом, чем диагнозом, но в Международной классификации болезней X пересмотра (1999), данная нозологическая единица имеет свой код (N91.3, N91.4, N91.5). Олигоменорея является полиэтиологичным заболеванием, но в первый год от менархе рассматривается как физиологическое состояние. Является ли олигоменорея нормой в данном периоде жизни или манифестацией патологии можно судить только через год. В связи с этим, актуальным является поиск молекулярно-биологических маркеров, позволяющих диагностировать заболевание на ранних этапах его развития.

В настоящее время большое внимание уделяется принципиально новым типам генетических нарушений - динамическим мутациям - экспансии числа копий внутригенных тринуклеотидных повторов. Одним из

объектов исследования стал ген фрагильной X-хромосомы (FMR1), хорошо изученный при синдроме Мартина — Белл (синдром ломкой X-хромосомы). Развитие синдрома ломкой X-хромосомы связано с динамической мутацией – гиперэкспансией тринуклеотидных CGG-повторов (более 200), локализованных в 5 нетранслируемой области гена FMR1.

В 1991 г. определен нормальный диапазон количества CGG-повторов, который составляет 26 - 34, а не <44 [Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H. 2010]. Условной нормой предложено считать число CGG-повторов в гене FMR1, равное 29–30 [Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H., 2010]. Число повторов менее 200, но более 30 с 1991 года интерпритируется как премутация, ассоциированная с ПНЯ и бесплодием [Sullivan A.K., Marcus M., et al. 2005; Sherman S.L.; Hundscheid R.D., Sisternans E.A., et al., 2000].

Наличие двух аллелей в пределах этой нормы свидетельствует о нормальном генотипе, при отклонении одного из аллелей гена от данного диапазона - гетерозиготный генотип (het), при отклонении обоих аллелей - гомозиготный (hom) генотип [Gleicher N., 2012]. При отклонении от нормального диапазона числа CGG повторов - в большую или меньшую сторону, выделяют, соответственно, высокий и низкий субгенотипы (high/low).

Имеются данные о том, что изменения овариального резерва и функциональной активности яичников могут быть связаны не только с увеличением числа CGG повторов, но и с их уменьшением < 26. Данные нарушения могут быть связаны с изменением экспрессии продукта гена FMR1 - белка FMR1 (FMR1P) [NotoV., 2016]. В работах Devys D., Lutz Y., Rouyer N. et al. (1993) выявлено, что белок FMR1P играет важную роль в пролиферации половых клеток [Devys D., Lutz Y., Rouyer N. et al., 1993]. Известно, что остановка синтеза FMR1P происходит при увеличении количества CGG повторов более 200 – то есть при развернутой клинике синдрома Мартина-Белл [Oberle I., Rousseau F., Heitz D., et al., 1991; Verkerk A.J., Pieretti M., Sutcliffe J.S., et al. 1991].

Связь между нефизиологической продукцией FMR1P и развитием гипопункции яичников объясняется подавлением у больных с измененным числом CGG-повторов пролиферативной способности фолликулов и блокадой их роста, развития и созревания.

С 2009 г. в зарубежной литературе публикуются данные о том, что практически любое отклонение количества повторов как в большую, так и меньшую сторону от популяционного пика, коррелирует с повышенным риском развития ПНЯ [Gleicher N., et al., 2009]. Более мягкие формы старения яичников, характеризующиеся незначительным транзиторным повышением уровней ФСГ и ЛГ, снижением антимюллера гормона (АМГ) в пределах 0,09–0,9 нг/мл (что в настоящее время часто трактуется как скрытая форма недостаточности яичников), теоретически также должны быть линейно связаны с изменением числа CGG-повторов относительно нормы.

В исследованиях Шамиловой Н.Н., Марченко Л.А. (2011) у каждой четвертой пациентки с гомозиготным носительством аномальной длины CGG-повторов выявлена олигоменорея с менархе [Шамилова Н.Н., Марченко Л.А., 2011]. Согласно данным N. Gleicher и соавт., в молодом возрасте при гомозиготном носительстве отмечен самый низкий запас примордиальных фолликулов. При этом доказано, что расходование овариального резерва у пациенток с нормальным числом CGG-повторов в гене FMR1 происходит активнее по сравнению с гетеро- и гомозиготными носительницами и к возрасту 33–34 лет овариальный резерв у носительниц аномального числа повторов начинает превышать таковой у здоровых женщин. На основе этих данных N. Gleicher высказал гипотезу о том, что, возможно, ген FMR1 является регулятором рекрутирования фолликулов из примордиального пула [Gleicher N., 2010].

Имеются данные об этнической изменчивости в распространенности генотипа премутации. Известно, что у афро-американок аллель *het-low/norm* встречалась чаще, чем у азиаток, у которых наиболее высокую

распространенность имела аллель het-norm/high (гет–норма/высокий) [Toledano-Alhadeff H., Basel-Vanagaite L., Magal N., et al., 2001; Tzeng C.C., Tsai L.P., Hwu W.L., et al., 2005].

Таким образом, длина CGG-повторов в гене FMR1 может служить новым тестом для прогнозирования функциональной активности яичников. Тестирование CGG-области гена FMR1 у пациенток с различными формами патологии яичников, особенно в подростковом и раннем репродуктивном периоде жизни, важно как с теоретической точки зрения — для раскрытия тонких молекулярно-генетических механизмов патологического процесса, так и для практического здравоохранения — ранней диагностики заболевания [Rife M. et al. 2004].

Учитывая изложенные факты, представляет определенный интерес изучение взаимосвязи наиболее значимых генетических и эндокринных факторов в генезе олигоменореи, являющейся симптомом, как недостаточности яичников, так и СПКЯ.

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 [Murray A., Webb J., et al. 1999; Mallolas J., Duran M., et al. 2001; Oberle I., Rousseau F., Heitz D., et al., 1991; Verkerk A.J., Pieretti M., Sutcliffe J.S., et al. 1991].

Роль премутации – увеличения числа CGG повторов в пределах от 50 до 200 – в генезе ПНЯ и бесплодия представлены малочисленными научными сообщениями [NotoV., Harrity C., Walsh D., Marron K., 2016].



Наименее изученной является взаимосвязь уменьшения числа CGG повторов менее 26 с риском овариальной дисфункции [NotoV., Harrity C., Walsh D., Marron K., 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 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 фрагильной X-хромосомы (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 фрагильной X-хромосомы (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 олигоменореей 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.

Вид клинического исследования – проспективно-ретроспективное.

### **Объем выборки исследования**

Для определения минимального объема выборки, необходимого для достижения 80% мощности критерия хи-квадрат, используя номограмму Алтмана, мы установили, что в каждую клиническую группу требуется включить 60 пациенток. Прогнозируя выбывание из исследования от 10% до 30% испытуемых, мы увеличили минимальный объем до 100 человек в каждой группе. В группе пациенток с олигоменореей из исследования выбыло по различным причинам 20 человек, число участниц исследования составило 80 человек.

### **Объект исследования**

Объектом исследования явились 80 девочек-подростков, обратившихся в консультативную поликлинику НИИАП ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, страдающие первичной и вторичной олигоменореей (N91.3, N91.4).

В группу контроля вошли 20 здоровых девочек-подростков с регулярным менструальным циклом, обратившихся в консультативную поликлинику для профилактического осмотра.

Группы были статистически однородны по возрасту - 16,5 (17,7;15,4) лет.

Учитывая данные об этнической изменчивости в распространенности генотипа премутации [Toledano-Alhadeef H., Basel-Vanagaite L., Magal N., et al., 2001; Tzeng C.C., Tsai L.P., Hwu W.L., et al., 2005], можно предположить различия в субгенотипах вне пределов «нормального» диапазона. В связи с этим, в исследование были включены только этнические русские.

Пациентки, подходящие под модель исследования, были информированы о проведении данного исследования и его методах, о чем дали свое письменное согласие на участие. Родители и законные представители пациенток были ознакомлены с данным согласием.

Анализируя современную научную литературу в аспекте изучаемой проблемы, мы сформулировали **научную гипотезу**: дисфункция яичников, проявляющаяся олигоменореей у подростков, может быть связана с различными субгенотипами FMR1 вне «нормального» диапазона CGG повторов.

Для подтверждения данной гипотезы необходимо было провести комплексное исследование клинико-лабораторных и молекулярно-генетических маркеров, включающих изучение аллельного полиморфизма в области тринуклеотидных CGG повторов гена FMR1, продукцию белка FMR1 и показателей овариального резерва у подростков с олигоменореей. Научный интерес представляло также определение частоты встречаемости гетерозиготных субгенотипов в области CGG повторов гена фрагильной X-хромосомы (FMR1), маркеров аутоиммунного реагирования и их ассоциированность с молекулярно-генетическими нарушениями у подростков с олигоменореей.

Для формирования клинически однородных групп нами были разработаны общие и групповые критерии включения и исключения, представленные в таблицах 1-2.

Таблица 1 – Общие критерии включения и исключения для пациенток исследуемых групп

Общие критерии включения	Общие критерии исключения
<p>Возраст 15-17 лет.            Число лет от менархе - не менее 2 лет.            Информированное согласие на участие в исследовании.</p>	<p>Тяжелая соматическая патология;            Опухоли яичников и надпочечников;            Возрастной диапазон &lt; 15 и &gt; 18 лет;            Отказ от участия;            Прием препаратов, вызывающих нарушение стероидогенеза в яичниках и надпочечниках;            Заболевания, нарушающие стероидогенез в яичниках и/или надпочечниках (сахарный диабет 1 типа, гиперкортицизм, врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН), болезнь Кушинга);            Пороки развития внутренних половых органов.</p>

Таблица 2 – Групповые критерии включения и исключения для I, II, III и контрольной групп

Группа	Критерии включения		Критерии не включения
	Общие для I, II, III групп	Дифференцированные для I, II, III групп в зависимости от субгенотипа в области CGG повторов гена фрагильной X-хромосомы (FMR1)	
I	Первичная олигоменорея (N91.3 по МКБ-10, 1999), вторичная олигоменорея	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
II	(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	Регулярный менструальный цикл

<i>Продолжение таблицы 2</i>			
Группа	Критерии включения		Критерии не включения
	Общие для I, II, III групп	Дифференцированные для I, II, III групп в зависимости от субгенотипа в области CGG повторов гена фрагильной X-хромосомы (FMR1)	
<b>III</b>		Нормальный (норма или норманорма), оба аллеля находятся в диапазоне повторений 26–34. 34 > CGG > 26 / 34 > CGG > 26	Регулярный менструальный цикл
<b>Контроль</b>	Здоровые девочки-подростки с регулярным менструальным циклом.		Нарушение менструального цикла

### Дизайн исследования

Диссертационное исследование включало 4 этапа:

- **I этап:** проведение проспективного наблюдательного исследования - клинический отбор и клинико-лабораторное исследование пациенток на основании общих критериев включения и исключения;
- **II этап:** проведение ретроспективного наблюдательного исследования, включающего рандомизацию пациенток по группам в соответствии с критериями включения и исключения, разработанными для каждой группы.
- **III этап:** проведение ретроспективного наблюдательного исследования, включающего межгрупповой сравнительный анализ полученных данных по типу «случай-контроль»;
- **IV этап:** разработка индивидуализированного алгоритма обследования и обоснования вида терапии подростков с олигоменореей на основании обобщения углубленного анализа полученных данных.

## Структура исследования

**I этап:** наблюдательное проспективное исследование - клинический отбор пациенток в исследование на основании общих критериев включения и исключения (таблица 1); клинико-лабораторное исследование: комплексная оценка состояния репродуктивной системы согласно «Стандарту специализированной медицинской помощи несовершеннолетним при олигоменореи и аменореи» [Приказ Минздрава России от 20.12.2012 N 1075н - зарегистрировано в Минюсте России 13.03.2013 N 27658].

Дополнительно к исследованиям, включенным в стандарт, проведено молекулярно-генетическое тестирование CGG-области для определения аллельных вариантов гена FMR1. Определены маркеры овариального резерва – АМГ, Ингибин В, сывороточная концентрация FMR1Р. Для выявления наличия маркеров аутоиммунного реагирования и их ассоциированности с молекулярно-генетическими нарушениями, исследованы сывороточные концентрации органоспецифических аутоантител - антиовариальных (АОАт) и антител к тироксинпероксидазе (ат к ТПО).

Проведен 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.

При наличии факторов, соответствующих критериям исключения, пациентка в исследование не включалась. Для всех пациенток разработаны и заведены индивидуальные медицинские карты.

**На II этапе** в рамках ретроспективного наблюдательного исследования на основании определенных в результате генетического исследования субгенотипов, 80 пациенток были рандомизированы на 3 группы в соответствии с классификацией N. Gleicher [Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H., 2010]. В результате рандомизации определена распространенность



выявленных субгенотипов у подростков с олигоменореей. На данном этапе исследования проведена статистическая обработка полученных результатов.

**В I группу** были включены гетерозиготные носители аномального числа повторов гет-норма/низкий - число CGG повторов одной аллели в пределах нормального диапазона (26-34), а во второй аллели - меньше нижней границы нормативов (менее 26). Девочки с гет-норма/низким субгенотипом составили 25 % от общего числа пациенток с олигоменореей.

**Во II группу** были включены гетерозиготные носители аномального числа повторов гет-норма / высокий, у которых число CGG повторов одной аллели в пределах нормального диапазона, а во второй аллели - превышает верхнюю границу нормативов (более 34). Данная группа была самая малочисленная – 11 человек, что составило 13,8%;

**В III группу** включены пациентки - носители нормального числа повторов (оба аллеля в диапазоне нормального числа повторов ( $34 > CGG > 26$ )).

На **III этапе** в рамках ретроспективного обсервационного исследования по типу случай-контроль проведен межгрупповой сравнительный анализ полученных результатов: числа CGG повторов в двух аллелях гена FMR1; уровня сывороточного содержания FMR1P; маркеров овариального резерва; показателей гормональной регуляции менструального цикла и оценка взаимосвязи всех исследуемых показателей;

На **IV этапе** проведено обобщение полученных результатов, дана клинико-лабораторная характеристика особенностей течения овариальной дисфункции в зависимости от выделенных гетерозиготных субгенотипов гена FMR1, разработан индивидуализированный алгоритм обследования с обоснованием вида терапии у подростков с олигоменореей. Структура исследования изложена в таблице 3.

Таблица 3 – Структура исследования

Этапы	Действия	Конечные точки исследования			
		Группы			
		I	II	III	Контроль
<b>I этап</b> Проспективное обсервационное исследование	Расчет объема выборки исследования.	20	11	49	20
	Самостоятельное обращение пациентов и приглашение здоровых добровольцев. Клинический скрининг в соответствии с общими критериями включения и исключения. Клинико- лабораторное обследование всех участниц исследования.	Получение результатов клинико- лабораторного исследования 80 пациенток			Получение результатов клинико- лабораторного исследования 20 здоровых девочек
<b>II этап</b> Ретроспективное обсервационное исследование	Рандомизация пациенток по группам в соответствии с критериями включения и исключения для каждой группы	20	11	49	20
	Статистический анализ и обработка данных с использованием пакета прикладных программ Statistica, версия 6.0.	Формирование файла данных в среде Excel 2003 с разделением по анализируемым группам. Определение значений медианы и интерквартильного размаха количественных величин - биохимических и гормональных показателей, результатов УЗИ матки и яичников в клинических группах			

<i>Продолжение таблицы 3</i>					
Этапы	Действия	Конечные точки исследования			
		Группы			
		I	II	III	Контроль
<p><b>III этап</b> Ретроспективное обсервационное исследование по типу случай- контроль</p>	<p>Проведение межгруппового сравнительного анализа полученных результатов: 1) оценка категориальных переменных (частота выявляемости олигоменореи у подростков, заболеваемость пробандов и их родственников 1, 2 и 3 степеней родства, репродуктивная функция родителей пробандов, осложнения беременности у матерей пробандов); 2) Оценка достоверности различий данных для различных (несвязанных) групп пациенток с использованием критерия Манна- Уитни, а для зависимых (связанных) групп с использованием критерия Вилкоксона при максимальном допустимом уровне вероятности ошибки первого рода <math>p=0,05</math>;</p>	<p>Выявление факторов предиспозиции формирования овариальной дисфункции у подростков; оценка корреляционной взаимосвязи между исследуемыми признаками.</p>			

<i>Продолжение таблицы 3</i>		
	3) Оценка взаимосвязей между исследуемыми показателями с помощью корреляционного анализа по Спирмену с допустимой ошибкой $p < 0,05$ .	
<b>IV этап</b> Анализ полученных данных	Классификация данных с помощью бинарного дерева решений с применением алгоритма CART (Classification and Regression Tree)	Разработка индивидуализированного алгоритма обследования и обоснования вида терапии у подростков с овариальной дисфункцией, проявляющейся олигоменореей

### **Клинико-лабораторные и инструментальные методы**

Обследование пациенток проводилось в соответствии со статьей 37 Федерального закона от 21 ноября 2011 г. N 323-ФЗ "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации" (Собрание законодательства Российской Федерации, 2011) и со стандартом специализированной медицинской помощи несовершеннолетним при олигоменорее и аменорее (Приказ Минздрава России от 20 декабря 2012 года N 1075н).

### **Общий осмотр пациентки**

Общий осмотр включал антропометрию – измерение массы тела в килограммах (кг) на медицинских весах и рост в метрах (м) при помощи медицинского ростометра.

Всем пациенткам вычислялся индекс массы тела (ИМТ) - отношение массы тела в килограммах к квадрату роста в метрах по формуле:  $ИМТ = m/h^2$ , где:  $m$  – масса тела в килограммах,  $h$  – рост в метрах, измеряется в  $кг/м^2$ . Интерпретация показателей проводилась соответственно федеральным клиническим рекомендациям, с учетом рекомендаций ВОЗ (2014). Ожирение у детей и подростков от 0 до 19 лет следует определять, как ИМТ, равный или более +2,0 SDS ИМТ, а избыточную массу тела от +1,0 до +2,0 SDS ИМТ. Нормальная масса тела диагностируется при значениях ИМТ в пределах  $\pm 1,0$  SDS ИМТ.

### **Гинекологическое исследование**

Оценку полового развития проводили по градациям Дж. Таннер (1979), степень выраженности гирсутизма оценивали по диаграмме и шкале D. Ferriman и J. Gallwey (1967).

Гинекологическое исследование включало осмотр наружных половых органов с определением окраски слизистой вульвы, размеров клитора, целостности девственной плевы, наличия и характера вагинальных выделений. Всем пациенткам проводилась вагиноскопия с целью определения состояния слизистой оболочки влагалища и влагалищной части шейки матки. Обязательным являлся ректоабдоминальный осмотр и ультразвуковое исследование органов малого таза.

Все пациентки были консультированы педиатром, эндокринологом и генетиком.

### **Ультразвуковое исследование органов малого таза**

Ультразвуковое исследование органов малого таза у пациенток проводилось в гинекологическом отделении Ростовского НИИ акушерства и педиатрии при помощи УЗ аппарата «Combison» 320-5 (Австрия).

Для лучшей визуализации внутренних гениталий исследование проводилось при наполненном мочевом пузыре, после предварительного опорожнения кишечника, в положении лежа на спине, после смазывания кожи гелем для улучшения акустического контакта с датчиком, серией продольных и поперечных сканирований в нижнем отделе живота.

Продольным сканированием определялось положение матки, оценивалось ее внутренняя структура, контуры, измерялась длина и переднезадний размер. При поперечном сканировании измерялась ширина матки и размеры яичников, рассчитывался их объем, оценивалась их звукопроводимость и внутренняя структура - размер и число фолликулов в срезе, их расположение в строме. Оценивали наличие свободной жидкости в полости малого таза и исключали объемные образования органов малого таза.

### **Гормональное исследование**

Спектр гормональных исследований был определен стандартом специализированной медицинской помощи несовершеннолетним при олигоменореи и аменореи (Приказ Минздрава России от 20 декабря 2012 года N 1075н).

Гормональные исследования проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем Delfia (Wallac Oy, Turku, Finland).

ИФА - иммунологический метод, в основе которого лежит определение комплекса «антиген-антитело» за счет введения в один из компонентов реакции ферментативной метки с последующей ее детекцией с помощью соответствующего субстрата, изменяющего свою окраску. В основе проведения ИФА лежит определение продуктов ферментативных реакций при исследовании тестируемых образцов в сравнении с негативными

и позитивными контрольными образцами. В качестве твердой фазы использовали полистироловые 96-луночные планшеты.

Методом ИФА проведено исследование плазменных концентраций тропных гормонов гипофиза – ЛГ, ФСГ, аденокортикотропного (АКТГ), тиреотропного (ТТГ) и пролактина (Prol), половых гормонов – эстрадиола (Э2), прогестерона (Pg), тестостерона (Тс), надпочечниковых – 17-гидроксипрогестерона (17 ГОП), кортизола (Cort), тиреоидных гормонов - свободных форм тироксина (Т3 св.) и трийодтиронина (Т4 св.). Полученные результаты исследования сопоставлялись с нормативными показателями лаборатории ИФА НИИАП ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, которые представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Нормативные показатели гормональных показателей лаборатории ИФА НИИАП ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России

<b>Гормоны</b>	<b>Единицы измерения</b>	<b>1 фаза цикла</b>
ЛГ	мМЕ/л	1,1 – 8,7
ФСГ	мМЕ/л	1,8 – 11,3
Пролактин	мМЕ/л	67 – 726
Эстрадиол	пг/мл	30 – 120
Тестостерон	нг/мл	0,1 – 1,2
Прогестерон	нмоль/л	1,3 - 3,4
17 ГОП	нг/мл	0,4 – 1,02
ДГЭАс	Мкг/мл	0,2 – 4,5
АКТГ	нг/мл	8,3 – 57,8
Кортизол	нмоль/л	150 - 660
ТТГ	мМЕ/л	0,23 – 3,4
Т3 св.	нг/мл	1,4 – 4,2
Т4 св.	нмоль/л	10 - 25

Пациенткам основной группы, находящимся на стационарном лечении, забор крови для исследования производился на 2 день госпитализации - утром (в 8-00), натощак.

Пациенткам, обследованным амбулаторно, забор крови производился в процедурном кабинете консультативно-поликлинического отделения НИИАП ФГБОУ ВО РостГМУ. В контрольной группе данное исследование производилось однократно, утром, натощак в интервале с 5 по 9 день менструального цикла одновременно с забором крови для анализов, необходимых для оформления личной медицинской книжки.

Кроме исследования гормональных показателей методом ИФА определяли содержание сывороточного уровня АОАт (с использованием тест-системы BIOSERV Diagnostics GmbH, Germany), АМГ, Ингибина-В, белка FMR1P.

### **Метод полимеразной цепной реакции**

Определение аллельных вариантов генов FMR1 проводили набором AmplideX™ FMR1 (Asuragen, Netherlands). Метод основан на амплификации и выявления области повторов цитозин-гуанин-гуанин (CGG) в 5'-нетранслируемой области гена FMR1 (fragile X mental retardation-1 – замедленное умственное развитие, вызванное ломкой хромосомой X-1). Набор предназначен для использования в качестве вспомогательного средства при диагностике синдрома ломкой X-хромосомы и связанных с ней расстройств, например, тремор-атаксического синдрома (FX-TAS) и первичной недостаточности яичников (FX-POI), путем нахождения областей повторов CGG длиной до 200 CGG и выявления аллелей, содержащих свыше 200 повторов CGG. Тестирование заключается в проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР) выделенной из цельной крови геномной ДНК с последующим определением размеров фрагментов на валидизированном



лабораторном генетическом анализаторе или платформе капиллярного электрофореза и преобразованием размера продукта в число повторов CGG.

### **Статистические методы исследования**

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.

Все полученные 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 2 независимых выборок с использованием U-критерия Манна–Уитни и сравнение средних 2 независимых выборок по критерию Стьюдента. Количественные переменные представлены в виде средних значений и среднеквадратических отклонений для параметрических методов и медианы с 1-м и 3-м квартилями – для непараметрических. Для установления распределения генотипов соответственно закону Харди–Вайнберга использовался точный тест Фишера и  $\chi^2$ . 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>).

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Для формирования овариальной дисфункции у подростков имеют значение следующие заболевания родителей: воспалительные заболевания наружных и внутренних половых органов; сахарный диабет 1 типа у матери; СПКЯ; ревматизм у матери; артериальная гипертензия у матери; заболевания щитовидной железы у отца и/или матери; болезни мочевыделительной системы у отца и/или матери.

2. Для формирования субгенотипает-норма/высокий имеет значение ( $p < 0,05$ ,  $\chi^2$ -Пирсона) отягощение семейного анамнеза по материнской линии в виде врожденного и приобретенного слабоумия; ПНЯ.

3. Тестирование CGG - повторов гена FMR1 у девочек-подростков с различными формами олигоменореи необходимо как для практического здравоохранения - ранней диагностики заболевания, так и с теоретической точки зрения - для раскрытия тонких молекулярно-генетических механизмов патологического процесса;

4. Наличие олигоменореи с менархе в сочетании с гетерозиготным носительством аномально числа CGG-повторов является фактором риска формирования ПНЯ;

5. 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.

### **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.

### **Соответствие диссертации паспорту полученной 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».

### **Степень достоверности полученных результатов**

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.

### **Апробация материалов диссертации**

Материалы диссертации доложены на заседаниях Координационного совета ФГБОУ ВО РостГМУ, 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).

## **Внедрение результатов исследования 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**

По теме диссертации опубликовано 10 работ, из них 7 – в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ. Патент на изобретение – 2. Автор принимала участие в выполнении всех подготовительных и основных этапов работы, включая анализ состояния вопроса по данным литературы и анализ полученных собственных результатов исследования, в подготовке публикаций по теме исследования.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 134 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.

# **ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ГЕНЕЗЕ ОЛИГОМЕНОРЕИ У ПОДРОСТКОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

## **1.1 Роль нарушений фолликулогенеза в патогенезе олигоменореи у подростков**

Фолликулогенез - это непрерывный процесс, который начинается во время внутриутробной жизни и сохраняется в течение всего репродуктивного периода, вплоть до менопаузы. Эндокринологические [Sükür Y.E., Kıvançlı I.B., Ozmen, 2014], аутоиммунные [Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H., 2012], ятрогенные факторы [Broekmans F.J., Soules M.R., Fauser B.C., 2009], а также генетические причины [Persani L., Rossetti R., Cacciatore C., 2010] и микроокружение [Grindler N.M., Allsworth J.E., Macones G.A., et al., 2015] оказывают влияние на размер и качество фолликулярного пула и ооцитов, а также являются потенциальными причинами преждевременного старения яичников.

Нарушения фолликулогенеза являются основой патогенеза всех нарушений менструального цикла, дебютирующих в пубертате и, в наиболее тяжелых случаях, приводящие к стойким нарушениям репродуктивной функции в последующие периоды жизни женщины.

Этиология аменореи и олигоменореи у подростков остается неизвестной во многих случаях, за некоторыми исключениями, такими как синдром Тернера, или как результат медицинских вмешательств, преимущественно, в онкологии (химиотерапия, лучевая терапия). Немало работ посвящено исследованию нарушения процессов роста и созревания фолликулов как причины олигоменореи, гипофункции яичников и СПКЯ у

подростков [Уварова Е.В., 2018; Гуркин Ю. А., 2000; Андреева В.О., 2013 и др.].

Предполагаемые механизмы овариальной гипофункции основаны на уменьшении пула ооцитов, ускоренной фолликулярной атрезии и/или на нарушении фолликулогенеза на различных его стадиях [Santoro N., Isaac B., Neal-Perry G., 2003]. Многие российские и зарубежные ученые уже на протяжении более полувека занимаются изучением преждевременного уменьшения овариального резерва, приводящего к бесплодию и преждевременной менопаузе [Йен С. С. К., 2009; Боярский, К. Ю., 2009 и др.].

Понятие нормальной и патологической функции яичников несколько изменилось в последние годы. Существуют доказательства того, что яичник стареет по очень точным закономерностям (по сравнению со старением других органов и тканей). На фолликулогенез, наступление менархе и менопаузы оказывает влияние наследственности индивидуальная изменчивость [TeVelde E.R., Pearson P.L., 2002].

Менархе является интегративной характеристикой гармонического развития девочки. Возраст менархе зависит от множества факторов и, прежде всего, от росто-весовых соотношений. По данным Frisch R.E. (2004) наступление менархе связано не только с набором «критической массы жировой ткани», но и достижением определенного роста [Frisch R. E., 2004]. Frisch R. E. (2004) было установлено, что самое существенное изменение состава тела перед менархе – это значительное возрастание количества жировой ткани - на 120% (5 -11 кг) [Frisch R. E., 2004]. При этом, «тощая» масса тела увеличивается лишь на 44%. Так, если вначале пубертата соотношение между «тощей» массой и количеством жира составляет 5:1, то к моменту менархе - 3:1. Вес в менархе у подростков различный, но соотношение между «тощей» массой и количеством жира, а также относительное содержание воды в организме – одинаковое. Вода составляет, в среднем, 55% массы тела, а содержание жира - 24% [Frisch R.E., 2004].

Клиническая картина гипофункции яичников значительно варьирует. Уровень ФСГ в сыворотке и менструальный цикл могут быть неизменными на ранних стадиях ПНЯ и проявляться только бесплодием.

Повышение уровня ФСГ в сыворотке при регулярных менструальных циклах свидетельствует о снижении фолликулярного резерва яичников. Менструальные циклы становятся нерегулярными или отсутствуют, а сывороточные уровни ФСГ повышаются в ответ на повышенное выделение ГнРГ, что сопровождается стойкими и преждевременными нарушениями репродуктивной функции в виде олигоменореи и аменореи [Nelson L.M., 2009].

В течение последнего десятилетия активно ведется поиск динамических мутаций в генах, ответственных за регуляцию овариального резерва [Gleicher N., 2010]. Была выявлена взаимосвязь между изменениями числа CGG повторов в гене FMR1 и нарушениями процесса роста и созревания фолликула. Связь между старением яичников и X-хромосомой продолжает изучаться [Reindollar R.H., 2011]. На обоих плечах X-хромосомы обнаружено значительное количество генов и генов-кандидатов, которые имеют взаимосвязь с репродуктивной функцией [Hawley R.S., Mori C.A., 2010].

## **1.2 Мутация и премутация гена FMR1 – взаимосвязь с овариальной недостаточностью**

Ген фрагильной X-хромосомы (FMR1), расположен на длинном плече X-хромосомы в локусе Xq27.8. Начало изучения гена FMR1 было связано с синдромом Мартина — Белл (синдром ломкой X-хромосомы, fragile X mental retardations syndrome) – генетически обусловленной формой умственной отсталости, по своей распространенности занимающей второе место после синдрома Дауна, с частотой 1 на 1500 новорожденных мальчиков и 1 на 2500

девочек [Murray A., Webb J., et al. 1999; Mallolas J., Duran M., et al. 2001]. Развитие синдрома Мартина — Белл обусловлено динамической мутацией — гиперэкспансией тринуклеотидных CGG-повторов (более 200), локализованных в 5' нетранслируемой области гена FMR1 (Edward E. Wallach., 2007).

Понятие премутации гена FMR1, при котором число повторов составляет от 50 до 200, было введено в связи с тем, что, с одной стороны, у носителей такого числа CGG-повторов не было выявлено явной неврологической патологии и задержки умственного развития, а с другой — именно это количество повторов является критическим для перехода к полной мутации (более 200 повторов). Интересно, что у женщин, страдающих ПНЯ, распространенность мутации FMR1 составляет 1:10.

Увеличение числа триплетных CGG-повторов в гене FMR1 в пределах от 50 до 200 (премутация гена) длительное время ассоциировалось с ПНЯ и бесплодием.

Существуют различные мнения относительно интерпретации нормального диапазона в количестве повторов гена FMR1. В 1991г. старая классификация пересмотрена и определен «новый» нормальный диапазон количества повторов, который составляет 26 – 34, а не <44, как считалось ранее [Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H., 2010] (Таблица 5).

Если 26–34 CGG-повторов считается нормой, то по поводу числовых диапазонов CGG-повторов в пределах «серой», или так называемой промежуточной, зоны гена FMR1 однозначного мнения нет. По данным разных авторов, нижняя граница данного диапазона составляет от 40 до 45 повторов, а верхняя граница 54 CGG-повтора [Bodega B., et al. 2006.; Bretherick K.L., et al., 2005] (Таблица 5).

Представители Американской коллегии акушеров и гинекологов считают, что последовательность CGG-повторов в гене FMR1 в норме представлена не более 40 копиями, а «серая зона» – 41–60. Имеются работы,



в которых представлены сведения об увеличении риска развития ПНЯ среди носительниц от 41 до 58 CGG-повторов [Knauff E.A.H., 2009].

Существующая связь между геном FMR1 в диапазоне премутации (ранее не считавшемся риском для любого заболевания) и первичной недостаточностью яичников признана многими авторами [Gustin S., Ding V.Y., Desai M., 2015]. В 2009 году, N. Gleicher с коллегами своей работой подтвердил, что длина CGG повторов, в «новом» нормальном диапазоне, имеет прямую корреляционную связь со значениями ФСГ и АМГ и соответствует клинической картине олигоменореи [Gleicher N., 2009]. Примечательно, что ниже и выше 30 повторов CGG риск ПНЯ значительно усиливается у молодых женщин.

Многие авторы подчеркивают, что промежуточное количество повторов ассоциировано с более мягкой формой преждевременного старения яичников, так называемой биохимической формой, при которой шанс наступления самостоятельной или стимулированной беременности остается относительно высоким [Welt C.K., et al., 2004; Табеева Г.И., 2009].

«Условной» нормой предложено считать число CGG –повторов в гене FMR1, равное 29–30, в связи с тем, что для каждой третьей женщины характерен именно этот числовой диапазон [Sullivan A.K., Marcus M., et al. 2005; Sherman S.L.; Hundscheid R.D., Sisternans E.A., et al., 2000] (Таблица 5).

Женщины с двумя аллелями в пределах указанной нормы имеют нормальный генотип, при отклонении одного из аллелей гена от этого диапазона – гетерозиготный генотип (het), при отклонении обоих аллелей – гомозиготный (hom) генотип [Gleicher, N. 2012].

В зависимости от того, в какую сторону отклоняется от нормального диапазона число CGG повторов - в большую или меньшую сторону, выделяют соответствующие субгенотипы – высокий и низкий (high/low) (Таблица 5).

Пересмотренная классификация описывает три отдельных генотипа:

1. Нормальный (норма или норма-норма) - оба аллеля или гаплотипа находятся в диапазоне повторений 26–34;

2. Гетерозиготный (гет) - только один аллель находится в диапазоне повторений 26–34. Данный генотип включает два субгенотипа: гет-норма/высокий (у второго аллеля более 34 повторов) и гет-норма /низкий (у второго аллеля менее 26 повторов);

3. Гомозиготный (гом) - оба аллеля находятся за пределами предложенного диапазона 26–34. Этот генотип состоит из трех дополнительных подгрупп: гом-высокий/высокий (оба аллеля имеют более 34 повторов), гом-высокий / низкий (один аллель имеет более 34, а другой – менее 26 повторов) и гом-низкий/низкий (оба аллеля имеют менее 26 повторов) [Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H., 2010] (Таблица 5).

Таблица 5 – Классические аллельные формы гена FMR1 [Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H., 2010]

<b>Категория</b>	<b>Количество повторов</b>	<b>Клиническая значимость</b>
Полная мутация	> 200	Fragile X умственная отсталость
Премутация	55-200	Риск преждевременной недостаточности яичников
Промежуточный тип	45-54	«Серая зона» недостаточно доказательств
Высокий диапазон	35-44	Потенциальный риск умеренной дисфункции яичников
Нормальный диапазон	26-34	Нормальные овариальный резерв и функция яичников
Низкий диапазон	19-25	Потенциальный риск значительной дисфункции яичников

Представляет также интерес тот факт, что оба аллеля являются функциональными в течение фолликулогенеза [Pouresmaeili F., Fazeli Z., 2014].

Три различных синдрома имеют общие мутации в гене FMR1:

- Синдром хрупкой X-хромосомы (FRAXA синдром) - X-сцепленное доминантное расстройство с ранним началом и сниженной пенетрантностью, рассматривается как преобладающая причина наследственной умственной отсталости [Garber K.B., Visootsak J., Warren S.T., 2008]. При синдроме FRAXA могут выявляться интеллектуальные и эмоциональные нарушения, нестабильность настроения, трудности в обучении и аутизм. Кроме того, возможно наличие специфических фенотипических признаков, таких как макроорхизм, удлиненное лицо и выраженная гиперэкстензивность пальцев.

- Синдром хрупкой X-хромосомы тремор/атаксия (FXTAS)– X-сцепленное рецессивное заболевание, которое встречается у женщин и 38% мужчин-носителей премутации (55–200 повторов). FXTAS клинически проявляется нейродегенеративным расстройством в виде прогрессирующей мозжечковой атаксии с поздним началом [Hagerman R.J., Hall D.A., Coffey S., et al., 2008]. FXTAS иногда проявляется судорогами у детей, а также ранней менопаузой.

- Синдром преждевременного нарушения функции яичников (Premature ovarian failure, POF) - FXPOI - встречается примерно у 20-25% взрослых женщин-носительниц премутации гена FMR1. Впервые был описан в 1996 году у матерей, чьи дети имели синдром хрупкой X-хромосомы. Диапазон симптомов FXPOI включает ПНЯ, которая характеризуется снижением овариального резерва и наступлением менопаузы до 40 лет, а также другими симптомами гипофункции яичников – олигоменореей, «недостаточной фертильностью» или бесплодием, приливами и т.д.

Описана этническая неоднородность в распространенности премутации FMR1 [Toledano-Alhadeff H., Basel-Vanagaite L., Magal N, Davidov B., et al., 2001; Tzeng C.C., Tsai L.P., Hwu W.L., et al., 2005; Gleicher N., Weghofer A., Lee I.H., et al., 2011]. Исследование числа CGG повторов в гене FMR1 в различных этнических группах пациенток с бесплодием показало, что

частота субгенотипов FMR1 варьировала в различных популяциях: у афроамериканок частота аллели het-low/norm выявлялась чаще, чем у азиаток, у которых, напротив, более высокую распространенность имели аллели het-norm/high [Gleicher N., Weghofer A., Lee I.H., et al., 2011].

### 1.3 Ген FMR1 и контроль овариального резерва

Американское общество репродуктивной медицины в 2006 году определило «резерв яичников» как потенциал для достижения здоровой и успешной беременности с учетом качества ооцитов, оцениваемых на момент исследования. Несмотря на большое количество научных работ, опубликованных в течение последних нескольких лет, не существует окончательного консенсуса по характеристике измененного функционального состояния яичников в течение жизни женщины, начиная с пубертатного периода [Ferraretti A.P., La Marca A., 2011].

Комбинация гормональных маркеров, таких как ФСГ, АМГ и количество антральных фолликулов [Rohr J., Allen E.G., Charen K., et al. 2008] может помочь в ранней диагностике ПНЯ. В отличие от исследования уровня ФСГ определение сывороточного содержания АМГ обладает определенными преимуществами:

- продукция АМГ происходит в клетках гранулезы мелких первичных фолликулов;
- уровень АМГ не зависит от дня цикла [Rohr J., Allen E.G., Charen K., et al. 2008].

Число изучаемых человеческих генов, ассоциированных с ПНЯ, постоянно растет [Pu D., Xing Y., Gao Y., et al., 2014]. Тем не менее, как именно ген FMR1 влияет на физиологию яичников, все еще остается предметом исследований [Sherman S.L., 2000].

В 2009 г. опубликованы данные N. Gleicher о том, что любое отклонение числа повторов от пика распределения (29–30), коррелирует ( $p < 0,002$ ,  $p < 0,001$ ) с повышенным риском развития преждевременного снижения овариального резерва [Gleicher N., et al. 2009]. Более мягкие формы старения яичников, характеризующиеся незначительным транзиторным повышением уровней ФСГ и ЛГ, снижением АМГ в пределах 0,09–0,9 нг/мл (что в настоящее время часто трактуется как скрытая форма недостаточности яичников), теоретически также должны быть связаны с изменением числа CGG-повторов относительно нормы [Мишиева Н.Г., 2008.].

ПНЯ является нарушением временного функционального континуума, характеризуется фолликулярной дисфункцией и/или истощением первичных фолликулов в возрасте до 40 лет, что приводит к бесплодию (1% населения) [Marozzi A., 2000]. Вероятность спонтанной беременности у пациенток с ПНЯ может быть менее 5% [Liu J., Cox L., 2014]. У пациенток с ПНЯ, начиная с пубертата, отмечается нарушение менструального цикла, проявляющееся олигоменореей и аменореей, а в репродуктивном периоде жизни – выявляются атипично высокие показатели гонадотропинов ( $>25$  МЕ/л), низкий уровень АМГ и эстрогенов. Клинически ПНЯ обнаруживается у 15–21% женщин-носителей премутации [Liu J., Cox L., 2014].

В широкомасштабном исследовании K.L. Bretherick, M.R. Fluker, W.P. Robinson (2005) подтверждена статистически достоверная ассоциация между увеличением размера области CGG-повторов гена FMR1 и развитием ПНЯ [Bretherick K.L., Fluker M.R., Robinson W.P., 2005]. Имеются сведения о том, что у гетерозиготных носительниц премутации гена FMR1 олигоменорея наблюдается чаще, чем в контрольной группе (38% против 6% в контроле). На основании исследования K.L. Bretherick, M.R. Fluker, W.P. Robinson, (2005) была высказана гипотеза, о том, что гену FMR1 также присуща функция контроля над формированием овариального резерва [Bretherick K.L., Fluker M.R., Robinson W.P., 2005].

В исследованиях Шамиловой Н.Н., Марченко Л.А. (2011) выявлено, что у каждой четвертой пациентки с гомозиготным носительством аномальной длины CGG-повторов отмечалась олигоменорея с менархе [Шамилова Н.Н., Марченко Л.А., 2011]. Наличие олигоменореи с менархе в сочетании с гетерозиготным носительством аномальной длины CGG-повторов, по мнению З.Г. Габибуллаевой, относится к значимому прогностическому критерию ПНЯ ( $RR=3,6$ ) [Габибуллаева З.Г., 2008].

Согласно данным N. Gleicher и соавт., в молодом возрасте при гомозиготном носительстве отмечен самый низкий запас примордиальных фолликулов. При этом доказано, что расходование овариального резерва у пациенток с нормальным числом CGG-повторов в гене FMR1 происходит активнее по сравнению с гетеро- и гомозиготными носительницами и к возрасту 33–34 лет овариальный резерв у носительниц аномального числа повторов начинает превышать таковой у здоровых женщин. На основе этих данных N. Gleicher высказал гипотезу о том, что, возможно, ген FMR1 является регулятором рекрутирования фолликулов из примордиального пула [Gleicher N., 2010].

При анализе клеток гранулезы, полученной из фолликулярной жидкости, в программе ЭКО, у пациенток с СПКЯ и у пациенток с трубно-перитонеальным фактором, определено, что у пациенток с СПКЯ наблюдается более высокий уровень экспрессии АМГ и рецептора к ФСГ, как в фолликулах большого размера (17-22 мм в диаметре), так и малого (8-13 мм в диаметре) [Ванян Р.Э., 2015]. Все это говорит о том, что высокий уровень АМГ может играть одну из ключевых ролей в патогенезе СПКЯ [Шамилова Н.Н., 2011]. Также имеется сообщение о повышенном содержании АМГ в фолликулярной жидкости и сыворотке крови при СПКЯ по сравнению со здоровыми. Высокий уровень АМГ в фолликулярной жидкости, и часто наблюдаемое плохое качество ооцитов у пациенток с СПКЯ, ставит вопрос о возможном действии АМГ как ингибитора мейоза в ооците [Менжинская И.В., 2013; Monteleone P., 2011].

В результате проведенного исследования N. Gleicher (2009) установлено, что для каждого пяти повторов CGG выше 30 или ниже 26 наблюдается увеличение риска патологических значений АМГ соответственно на 60 и 40% [Gleicher N., 2009].

В 2014 году Де Гейтер опубликовал некоторые противоречивые результаты исследования CGG повторов в гене FMR1 у пациенток с бесплодием и у женщин с доказанной фертильностью. Проведено исследование диапазонов мутаций в гене FMR1 у 619 женщин, из которых 199 имели в анамнезе роды в течение последних 3 месяцев, 372 страдали бесплодием на фоне регулярных менструальных циклов, 48 – имели установленный диагноз ПНЯ. Среди трех исследованных диапазонов мутаций (премутация, средний и высокий нормальный) ни один не имел статистически значимой связи ни с бесплодием, ни с показателями овариального резерва. В исследовании J. Schuettler., Z. Peng, J. Zimmer, (2011 г.) сообщалось, что количество tandemных повторов CGG не влияло на экспрессию гена FMR1 у пациенток с ПНЯ [Schuettler J., Peng Z., Zimmer J., et al., 2011].

С другой стороны, во многих работах сообщается о наличии связи между мутациями в гене FMR1 и снижением овариального резерва [Lledo B., Guerrero J., Ortiz J.A., Morales R., et al., 2012; Sherman S., Curnow E.C., Easley C.A., et al., 2016].

Было высказано предположение, что гибель клеток гранулезы и, возможно, самих ооцитов может быть связано с динамическим внутриклеточным накоплением цитотоксических количеств агрегированных повторов CGG, которые, в свою очередь, инактивируют белки Drosha (белок, разрезающий РНК [Gregory R. I., Chendrimada T. P., Shiekhattar R., 2006] и Sam68, что может рассматриваться как патогенетический механизм ПНЯ [Sellier C., Freyermuth F., et al. 2013].

В перекрестном исследовании E.G. Allen (2007) установлено, что премутации находятся в нелинейной взаимосвязи с ПНЯ [Allen

Е.Г.,2007]. Оценивались следующие признаки: наличие ПНЯ, бесплодия, частота беременностей и выкидышей у 948 пациенток: здоровых женщин и у лиц, имеющих премутацию. Автор классифицировал пациенток в зависимости от числа CGG повторов: <59 CGG повторов - пациентки не были отнесены к носителям премутации; низкая премутация включала от 59 до 79 повторов; средняя - 80 - 100 повторов и высокая > 100 повторов. Средняя группа повторов CGG имела более высокую распространенность ПНЯ с более ранним началом по сравнению с другими группами, в то время как частота выкидышей не менялась[Allen E.G.,2007].

Gleicher N. (2010) сообщил о двух специфических гено-/фенотипах при ПНЯ:

1). «Генетический» тип

- Не связан с аутоиммунитетом
- Связан с ожирением
- Связан с гиперандрогенией
- Характеризуется тяжелой дисфункцией яичников (высокий ФСГ и низкий АМГ)
- Обычно ассоциируется с ПНЯ

2). Аутоиммунный тип

- Связан с аутоиммунными заболеваниями
- Не связан с ожирением
- Не гиперандрогенный
- Характеризуется более мягкой дисфункцией яичников (более низкий ФСГ и более высокий АМГ)
- Сильно ассоциируется с гет-нормой/низким субгенотипом
- Быстро истощающий запас яичников
- Низкий процент наступления беременности после ЭКО [Gleicher N., Weghofer A., Lee I.H., et al., 2010].



#### 1.4 Роль белка FMR1 в развитии овариальной гипофункции

Изменения овариального резерва и функциональной активности яичников могут быть связаны не только с увеличением числа CGG повторов, но и их с уменьшением  $< 26$ . Данные нарушения могут быть обусловлены изменением экспрессии продукта гена FMR1 - белка FMR1P [NotoV., 2016]. FMR1P является РНК-связывающим белком, регулирующим посттранскрипционную экспрессию генов и транспорт РНК между ядром и цитоплазмой [Devys D., Lutz Y., Rouyer N., et al., 1993]. В работах Devys D., Lutz Y., Rouyer N., et al. (1993) выявлено, что FMR1P играет важную роль в пролиферации половых клеток [Devys D., Lutz Y., Rouyer N., et al., 1993]. Высокий уровень экспрессии белка FMR1P был обнаружен в клетках гранулезы растущих фолликулов у здоровых женщин [Schuettler J., Peng Z., Zimmer J., et al., 2011].

Известно, что остановка синтеза FMR1P происходит при увеличении количества CGG повторов более 200 – то есть при развернутой клинике синдрома Мартина-Белл [Oberle I., Rousseau F., Heitz D., et al., 1991; Verkerk A.J., Pieretti M., Sutcliffe J.S., et al. 1991].

В 2003 г. группа авторов поставила перед собой задачу выявить корреляционную зависимость между длиной CGG-повторов вне нормативных показателей и точкой переключения выработки белка FMR1P в сторону его гипо- или гиперпродукции, сопряженной с изменением функции яичников. По их данным, эта точка переключения соответствует 30 повторам [Chen L.S., et al., 2003].

Связь между нефизиологической продукцией FMR1P и развитием гипофункции яичников объясняется подавлением у больных с измененным числом CGG-повторов пролиферативной способности фолликулов и блокадой их роста, развития и созревания. В 2005 г. на моделях животных продемонстрировано влияние этого гена на овариальный резерв за счет регулирования пролиферации герминативных клеток зародышей [Allen E.G.,

et al., 2007; Wittenberger M.D., et al., 2007]. Исследования на людях ограничены, но в яичниках плода была выявлена экспрессия этого гена [Faddy M.J., Gosden R.G., 2003].

У носительниц промежуточного числа CGG-повторов (45–54) и премутации (55–200 CGG-повторов) уровень FMR1P часто является несколько сниженным, в результате возникает ошибка трансляции, приводящая к высокому содержанию в клетке мРНК. Предполагается, что такое накопление мРНК оказывают цитотоксическое действие и у трансгенных мышей вызывает ПНЯ [Lu C., Lin L., Tan H., et al., 2012]. Причем, на данной биологической модели продемонстрировано, что при премутации гена FMR1 не поражаются первичные фолликулы, а только последующие этапы фолликулогенеза за счет усиленного фолликулярного апоптоза. У носителей полной мутации отмечается полное отсутствие продукции FMR1P.

Известно, что остановка синтеза FMR1P происходит при увеличении количества CGG повторов более 200 – то есть при развернутой клинике синдрома Мартина-Белл [Oberle I., Rousseau F., Heitz D., et al., 1991; Verkerk A.J., Pieretti M., Sutcliffe J.S., et al., 1991].

Четкие данные об увеличении синтеза FMR1P при субгенотипе гет– норма/низкий в работах не приводятся. Исследования FMR1P у подростков с олигоменореей не проводились.

### **1.5 Взаимосвязь отдельных субгенотипов FMR1с аутоиммунной, онкологической патологией, синдромом поликистозных яичников и когнитивными нарушениями**

Аутоиммунные заболевания более распространены у женщин, и это обусловлено возможной ролью X-хромосомы в их патогенезе [Bianchi I., Lleo A., Gershwin M.E., 2012]. Некоторые гены в X-хромосоме, связанные с аутоиммунитетом, хорошо изучены. Например, цепная реакция, запускаемая

продуктом гена IRAK1, картированным в Xq28, активирует врожденный иммунный ответ. Ген CD40LG в Xq24, который кодирует мембранный белок, экспрессируемый активированными Т-клетками (CD4+) – адаптивный иммунный ответ, расположен на X-хромосоме и связан с аутоиммунитетом [Bianchi I., Lleo A., Gershwin M.E., 2012]. Несколько исследований выявили особую роль длинного плеча X-хромосомы, поскольку она, наряду с генами FMR1 и POI, картирует наибольшее количество мутированных или полиморфных генов в геноме. Фактически, эти «модифицированные» гены, по-видимому, играют решающую роль при некоторых связанных с иммунитетом заболеваниях [Bianchi I., Lleo A., Gershwin M.E., 2012].

В работах N. Gleicher (2010) путем множественного регрессионного анализа подтверждена гипотетическая взаимосвязь, существующая между генотипами/субгенотипами FMR1, аутоиммунитетом и вероятностью наступления беременности при ЭКО [Gleicher N., 2010]. Так, распространенность аутоиммунных заболеваний была выше (на 51%) у пациенток с гет-нормой/низким субгенотипом, имеющих СПКЯ-подобный фенотипом ( $p=0,0001$ ). Распространенность аутоиммунных заболеваний у пациенток с гет-норма/высоким субгенотипом составляла 10% и была ниже, чем при нормальном генотипе, где данный показатель составлял 24%, что указывает на возможный защитный эффект гет-норма/высокого субгенотипа [Gleicher N., 2010].

В работах M.R. Mailick (2014) показана роль низкого субгенотипа (число повторов CGG ниже 26) в развитии когнитивной и онкологической патологии [Mailick M.R., Hong J., Rathouz P, et al., 2014]. Основными исследуемыми показателями этого ретроспективного исследования были процессы познания, реакции поведения, наличие новообразований и рождение детей с проблемами психического здоровья у женщин ( $n = 46$ ) с гет-норма/низким субгенотипом. У данных пациенток выявлены трудности при запоминании и при решении повседневных вопросов по сравнению

с женщинами, имеющими нормальный генотипом ( $p < 0,05$ ). Тревога и депрессия не были связаны с размером CGG.

Статистически значимая связь с раком молочной железы выявлена у женщин с низким субгенотипом ( $p=0,074$ ). У этих пациенток в анамнезе встречались случаи рождения ребенка-инвалида ( $p < 0,05$ ). Конечно, эти данные требуют дополнительных исследований в более значительных по размерам выборках, поскольку некоторые из полученных результатов (инвалидность у детей, проблемы с когнитивными функциями, депрессия, биполярные расстройства и т.д.) могут быть обусловлены возникновением других переменных. Вместе с этим, нельзя исключать прямое влияние аномального числа CGG повторов на полученные авторами результаты исследования [Mailick M.R., Hong J., Rathouz P., et al., 2014].

В исследованиях Gleicher N., Weghofer A. (2010) установлено, что ген FMR1 принимает участие в контроле овариального резерва, а определенный субгенотип FMR1 (het-normal/low) имеет связь с патогенезом СПКЯ. Экспрессия гена, названная het-normal/low, может вызвать клинику, подобную СПКЯ [Gleicher N., et al., 2010].

Преждевременное истощение яичников уже в течение десятилетий описывается как аутоиммунный процесс, а в настоящее время имеется ряд работ, в которых сообщается об аутоиммунной составляющей патогенеза СПКЯ, и данная патология рассматривается как аутоиммунный фенотип синдрома поликистозных яичников - Autoimmunity-Associated Polycystic Ovary-Like Phenotype [Gleicher N., Weghofer A., Lee I.H., et al., 2010].

С 2012 года диагноз СПКЯ включает один из четырех фенотипов, разработанных Национальным институтом здравоохранения США (NIH): фенотип А (классический) — наличие гиперандрогении (ГА), хронической ановуляции, ультразвуковых критериев поликистозных яичников (ГА + ановуляция + ПКЯ); фенотип В (ановуляторный) — сочетание ГА и хронической ановуляции, но без ПКЯ (ГА + хроническая ановуляция); фенотип С (овуляторный) — сочетание гиперандрогении и ультразвуковых

критериев поликистозных яичников (ГА + ПКЯ), но при регулярном менструальном цикле; фенотип D (неандрогенный) — наличие хронической ановуляции и ультразвуковых критериев поликистозных яичников, но без клинических или биохимических проявлений ГА (хроническая ановуляция + ПКЯ) [Final Report National Institute of Health. Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome December, 2012; Moran C, Arriaga M, Rodriguez G., 2012; Rotterdam EA-SPcwg. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS)]. Исследователи рекомендуют выделять пациенток с фенотипами А и В в особую группу наблюдения по развитию неблагоприятных метаболических нарушений и связанных с ними осложнений [Panidis D., Tziomalos K., Misichronis G., et al., 2011; Huang R., Zheng J., Li S., et al., 2015].

Важность определения числа CGG повторов в гене FMR1 как инструмента скрининга для выявления пациенток с риском преждевременного старения яичников была показана в работах N. Gleicher (2015). Автор опубликовал результаты первого продольного когортного исследования, проведенного на 233 тщательно отобранных, здоровых донорах ооцитов, у которых неоднократно определялся уровень АМГ [Gleicher N., 2015]. Значения АМГ коррелировали с наличием или отсутствием специфических субгенотипов FMR1. У доноров с гом-низким/низким субгенотипом выявлено заметное уменьшение резерва яичника ( $p=0,001$ ). У женщин с гет-норма/низким субгенотипом при первичном исследовании выявлен нормальный фолликулярный резерв яичников, который через 4 года значительно уменьшился ( $p = 0,046$ ).

Как гом-низкий/низкий, так и гом-высокий/высокий субгенотипы связаны со значительным снижением овариального резерва (выявлено повторными определениями АМГ), по сравнению с донорами, у которых отсутствуют мутации гена FMR1 [Gleicher N., 2015]. Данное исследование предполагает, что у женщин с низким субгенотипом происходит более быстрая потеря репродуктивного потенциала (ооцитов) по сравнению с индивидуумами, у

которых такой субгенотип FMR1 отсутствует [Gleicher N., 2015]. Эти генетические аномалии вызывают появление прогрессирующих нарушений репродуктивной функции, которые варьируют от олигоменореи у подростков до ПНЯ через полный спектр разнообразных гормональных и фенотипических изменений. Кроме того, гет-норма/низкий субгенотип может быть связан с аутоиммунной патологией и быстро истощающимся овариальным резервом, а также с аутоиммунным фенотипом СПКЯ [Gleicher N., 2015].

Таким образом, длина CGG-повторов в гене FMR1 может служить новым тестом для прогнозирования функциональной активности яичников. У молодых женщин с пороговыми для их возраста концентрациями ФСГ и/или АМГ патологически высокое или низкое количество CGG-повторов может в дальнейшем подтвердить предполагаемый диагноз снижения овариального резерва [Rife M., et al., 2004].

Некоторые социальные и поведенческие нарушения, доступность усовершенствованных методов вспомогательных репродуктивных технологий, резко увеличили необходимость тестирования числа CGG повторов в гене FMR1 у пациенток, нуждающихся в ЭКО и «здоровых» доноров ооцитов. Ген FMR1, оцененный по сравнительно простому исследованию крови, может предоставить клиницисту ценную информацию о фертильности пациентки и может помочь молодым женщинам прогнозировать на ранней стадии их репродуктивной жизни потенциальные проблемы с резервом яичников в более позднем возрасте. Особенно данные исследования важны для ведения подростков с олигоменореей.

В пубертатном периоде истинная причина олигоменореи пропускается, так как углубленное и всестороннее исследование девочки считается необязательным, а нарушение менструального цикла считается физиологическим. Все это должно позволить врачам должным образом консультировать подростков с олигоменореей и подбирать методы лечения с

чуть большей осторожностью, используя параметр, который обычно игнорируется.

## ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

### 2.1. Возрастная и антропометрическая характеристика групп

Возраст пациенток I группы, в среднем, составлял 15,2 (16,5; 15) лет, II группы – 15,1 (16; 14,5) лет, III группы 15,2 (16,4; 14,9) лет; в контрольной группе - 15 (16; 14) лет (таблица 6). Межгрупповые различия отсутствовали. Состав, возраст и антропометрическая характеристика групп представлены в таблице 6. По антропометрическим характеристикам – рост, вес и индекс массы тела ИМТ – пациентки I, II, III и контрольной групп не различались ( $p=0,3$ ) (таблица 6).

Таблица 6 – Возрастная и антропометрическая характеристика пациенток с первичной и вторичной олигоменореей (I – III группы) и здоровых девочек из группы контроля<sup>1</sup>

Группы	Возраст (годы)	Возраст менархе (годы)	ИМТ	Субгенотип гена FMR1
Группа I n=20	15,2 (16,5; 15)	12,3 (13,1; 11,5)	18,1 (18,5; 17,8)	34>CGG>26 / 26>CGG гет-норма / низкий
Группа II n=11	15,1 (16; 14,5)	12,6 (13,2; 12)	18,5 (18,9; 17,9)	34>CGG>26/ CGG>34 гет-норма / высокий
Группа III n=49	15,2 (16,4; 14,9)	13,1 (14,2; 12,1)	18,9 (19,7; 18,1)	34>CGG>26 / 34>CGG>26 нормальный
Группа контроля n=20	15 (16; 14)	12 (13,3; 11,2)	18,2 (19,2; 17,9)	34>CGG>26 / 34>CGG>26 нормальный

<sup>1</sup> Данные в исследуемых группах во всех таблицах представлены в формате: Me (Kv 75%, Kv 25%).



## **2.2 Функциональное состояние овариальной, адреналовой и тиреоидной систем у пациенток исследуемых групп**

### **2.2.1 Анализ стадий полового развития, меноциклограмм и выраженности клинических проявлений гиперандрогении пациенток исследуемых групп**

Половое развитие пациенток исследуемых групп оценено по градациям Джеймса Таннера (1969). Менструальный цикл оценен по его регулярности и продолжительности, длительности и объему менструальной кровопотери, наличию болей и их оценке по числовой шкале боли (ЧШБ) (McCaffery M., Beebe A., 1993), возрасту наступления менархе.

У 3 пациенток I группы (15%) развитие вторичных половых признаков соответствовало III стадии полового развития, в 6 случаях (30%) – IV стадии и у 11 (55%) - V стадии [Таннер Дж., 1969].

Во II группе у 8 (72,7%) пациенток была выявлена IV и у 3 (27,3%) - V стадия полового развития [Таннер Дж., 1969].

В III группе у 18 (36,7%) пациенток была выявлена IV и у 31 (63,3%) - V стадия полового развития [Таннер Дж., 1969].

В контрольной группе у 18 пациенток выявлялась V (90%) и у 2 (2%) девочек – IV стадия полового развития по градациям Таннер.

У пациенток группы контроля менструации начались с 12 (13,3; 11,2) лет, установились спустя 1,9 (2,1; 1,7) месяцев, цикл был длительностью 28,6 (30,2; 27,5) дня, продолжительность менструаций - 4,7 (4,9; 4,5) дня, протекали умеренно, безболезненно.

Средний возраст менархе не имел статистически обоснованных межгрупповых различий (таблица 6) и, в среднем, соответствовал общепопуляционному [Гуркин Ю.А., Рухляда Н.Н., 2019].

ИМТ у пациенток исследуемых групп находился в нормативном интервале  $-1SD$  ИМТ -  $+1 SD$  ИМТ ( $17,9 - 23,7 \text{ кг/м}^2$ ) и не имел межгрупповых различий ( $p>0,05$ ).

Менструальный цикл у пациенток I группы носил нерегулярный характер. Продолжительность межменструальных промежутков составляла 45 - 90 дней, длительность менструации - от 4 до 8 дней, в умеренном количестве. Проявления дисменореи имелись у 4 девочек – 20% общей численности группы. Оценка болей по ЧШБ – 6,8 (7,2; 4,1) балла.

Во II группе менструации продолжались от 2 до 4 дней, приходили нерегулярно через 50-170 дней, в скудном количестве, сопровождались болями внизу живота у 2 пациенток (18,2%) с оценкой боли по ЧШБ 4,3 (6,1; 3,9) балла.

В III группе продолжительность межменструальных промежутков составляла от 60 до 150 дней, менструации носили длительный, скудный характер, продолжались 6-8 дней, сопровождались болями внизу живота, с оценкой по ЧШБ = 5 (6; 4) балла.

Клинические проявления гиперандрогении оценивали по степени выраженности гирсутизма, которая оценивалась по диаграмме и шкале Ferriman D. и Gallwey J. (1967). Исходя из общего количества баллов, которое равняется 36, рассчитывается показатель «гормонального» статуса больной [Ferriman D., Gallwey J., 1967]. Для европейской женской популяции нормативы гирсутного числа составляют до 7 баллов. От 7 до 14 баллов число следует считать пограничным, свыше 14 баллов – свидетельствуют о гирсутизме [Серов В.Н. и соавт., 1995].

В I группе у 12 пациенток гирсутное число соответствовало гирсутизму умеренной тяжести (60%), у 6 – определены пограничные значения (30%) и у 2 (10%) обследованных обнаружен гипертрихоз.

Во II группе гирсутизм умеренной тяжести выявлен в 2 случаях (18,2%), у 3 пациенток (27,3%) гирсутное число имело пограничные

значения, у 2 (18,2%) - имел место гипертрихоз и у 4 (36,4%) обследованных - гирсутное число было в норме.

В III группе гирсутизм умеренной тяжести выявлен в 1 случае (2,04%), у 12 (24,5%) - имел место гипертрихоз и у 36 (73,5%) пациенток - гирсутное число было в норме.

В контрольной группе гирсутизм не выявлялся ни в одном случае. Следует отметить, что этнический состав групп был однородным.

Таким образом, гирсутизм умеренной тяжести в I группе выявлен у наибольшего числа больных по сравнению с контролем ( $p < 0,0001$ ,  $\chi^2$  тест), II и III группами ( $p < 0,0001$ ,  $\chi^2$  тест). Учитывая наличие гирсутизма - признака стертой вирилизации, для дифференциальной диагностики субстрата гиперпродукции андрогенов, необходимо было исследовать гормональный профиль пациенток.

### **2.2.2 Функциональное состояние гипофизарно-овариальной системы у пациенток исследуемых групп**

Для оценки функционального состояния яичников мы исследовали сывороточное содержание гонадотропинов и половых гормонов.

Анализ показателей гонадотропинов выявил наиболее высокий уровень секреции ЛГ и ФСГ во II группе (таблица 7, рисунок 1). Сывороточное содержание ЛГ у пациенток II группы превышало значения группы контроля в 2,02 раза ( $p = 0,000221$ ), I группы – в 2,03 раза ( $p = 0,000001$ ), III группы - в 1,5 раза ( $p = 0,000011$ ) и выходило за границы нормативов (1,1 – 8,7 мМЕ/мл). Показатели ФСГ во II группе статистически обоснованно превышали значения I, III и контрольной групп ( $p < 0,05$ ), которые по уровню ФСГ не различались ( $p > 0,05$ ) (таблица 7, рисунок 1).

Значения соотношения ЛГ/ФСГ не имели статистически обоснованных различий между группами ( $p > 0,05$ ) (таблица 7).

Таблица 7 – Показатели гонадотропинов, половых гормонов и пролактина в исследуемых группах

Группы Гормоны	I (n = 20)	II (n = 11)	III (n = 49)	Контроль (n = 20)
ЛГ 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 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)
Э2 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)

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

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

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

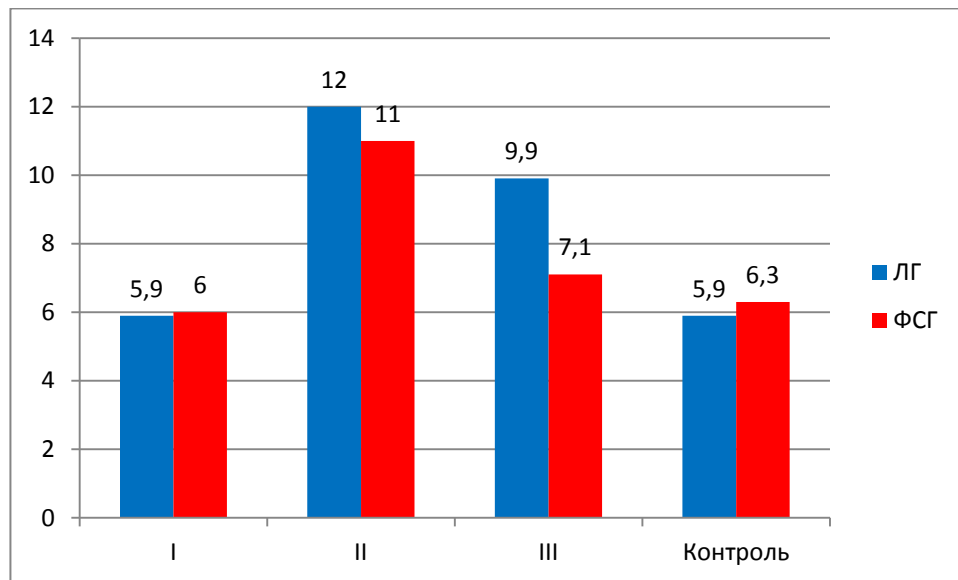


Рисунок 1 – Показатели ЛГ и ФСГ в сыворотке крови пациенток исследуемых групп (в мМЕ/мл).

В III группе у 72% девочек в ходе проведенного нами обследования была выявлена гиперпролактинемия (E22.1 по МКБ-X) (табл. 7, рисунок 2) и нормальный уровень гонадотропинов.

Показатели эстрадиола и кортизола не имели межгрупповых различий и не выходили за границы нормативов ( $p > 0,05$ ).

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 ( $p < 0,05$ ), что могло указывать на ановуляторные циклы и недостаточность лютеиновой фазы (НЛФ) в течение длительного времени (таблица 7).

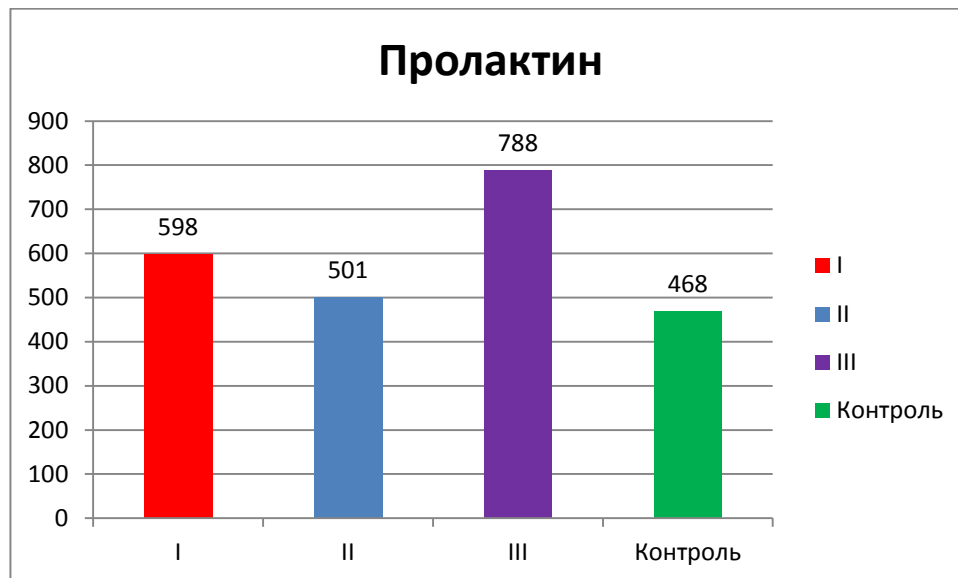


Рисунок 2 – Показатели пролактина в сыворотке крови пациенток исследуемых групп (в мМЕ/л).

### 2.2.3 Ультразвуковое исследование матки и яичников у пациенток I, II, III и контрольной групп

Всем подросткам проведено УЗИ матки и яичников для оценки их размеров, объема и структуры. Размеры матки, яичников и толщины

эндометрия соответствовали нормативам только у пациенток из группы контроля [Гуркин Ю.А., Рухляда Н.Н., 2019] (таблицы 8, 9).

Таблица 8 – 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  $p < 0,05$

Проведение межгруппового сравнительного анализа, выявило наименьшие средние размеры длины матки во II группе - в 1,25 раза меньше, чем в группе контроля ( $p < 0,05$ ), в 1,31 раза меньше, чем в I группе ( $p < 0,05$ ) и в 1,11 раза меньше, чем в III группе ( $p < 0,05$ ) (таблица 8). Наибольшие размеры матки (длина и передне-задний) были выявлены в I группе, что статистически обоснованно различалось с аналогичными показателями II, III и контрольной групп ( $p < 0,05$ ).

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» [Гуркин Ю.А., Рухляда Н.Н., 2019] (таблица 8).

Таблица 9 – Результаты ультразвукового исследования яичников у пациенток исследуемых групп

Группы	Объем левого яичника (см <sup>3</sup> )	Объем правого яичника (см <sup>3</sup> )	Размеры фолликулов (см)	Число фолликулов (шт)
<b>I группа (n=20)</b>	11,0 (16,4; 8,7) •*	11,2 (17,4; 8,6) •*	0,6 (0,8; 0,5) •	13 (16; 9) •
<b>II группа (n=11)</b>	9,4 (10,4; 6,1) •	6,4 (8,8; 5,2)	0,5 (0,7; 0,2) •	11 (13; 6) •
<b>III группа (n=49)</b>	11,0 (13,1; 6,9) •	11,04 (13,2; 6,4) •*	0,8 (1,1; 0,6)	9 (11; 4)
<b>Контроль (n=20)</b>	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,  $p < 0,05$

Размеры яичников в I и III группах превышали нормативы, а также показатели II и контрольной групп ( $p < 0,05$ ) (таблица 9).

У пациенток I группы увеличение объема яичников, наличие более 12 фолликулов в каждом яичнике, соответствовало диагностическим критериям СПКЯ [Azziz R., Carmina E., Dewailly D., et al., 2006; Nicolaidis N.C., Matheou A., Vlachou F., et al., 2020; Rotterdam ESHRE/ASRMS sponsored PCOS Consensus Workshop Group, 2003].

#### 2.2.4 Функциональное состояние гипофизарно-адреналовой системы у пациенток исследуемых групп

Проводя сравнительный анализ показателей адреналовой функции, мы выявили повышенные значения сывороточного содержания 17ГОН, ДГЭАс и АКТГ у пациенток I группы (таблица 10), что указывало на активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и, в сочетании с клиникой заболевания – нарушение менструального цикла по типу опсоменореи, свидетельствовало о гиперандрогенной дисфункции яичников.

Таблица 10 – Показатели тестостерона, ГСПГ, индекса свободного тестостерона, кортизола, 17 ГОП, ДГЭАс и АКТГ у пациенток исследуемых групп

Группы Гормоны	I (n = 20)	II (n = 11)	III (n = 49)	Контроль (n = 20)
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)
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)

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

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

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

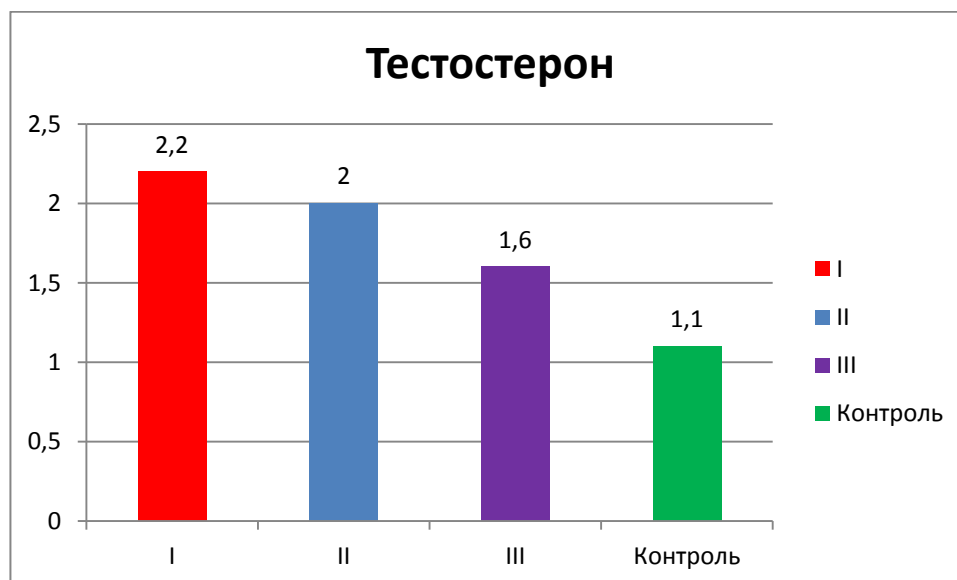


Рисунок 3 – Показатели тестостерона в сыворотке крови пациенток исследуемых групп (в нмоль/л).



Показатели общего тестостерона имели наибольшие значения у пациенток в I группе – в 2 раза превышающие показатели контроля ( $p<0,05$ ) и в 1,4 раза – показатели 3 группы ( $p<0,05$ ) (таблица 10, рисунок 3). При этом, значения ГСПГ в I группе были достоверно снижены – в 3,1 раза по сравнению с контролем ( $p<0,05$ ), в 2 раза по сравнению с II группой ( $p<0,05$ ) и в 1,5 раза по сравнению с III группой ( $p<0,05$ ) (таблица 10, рисунок 4).

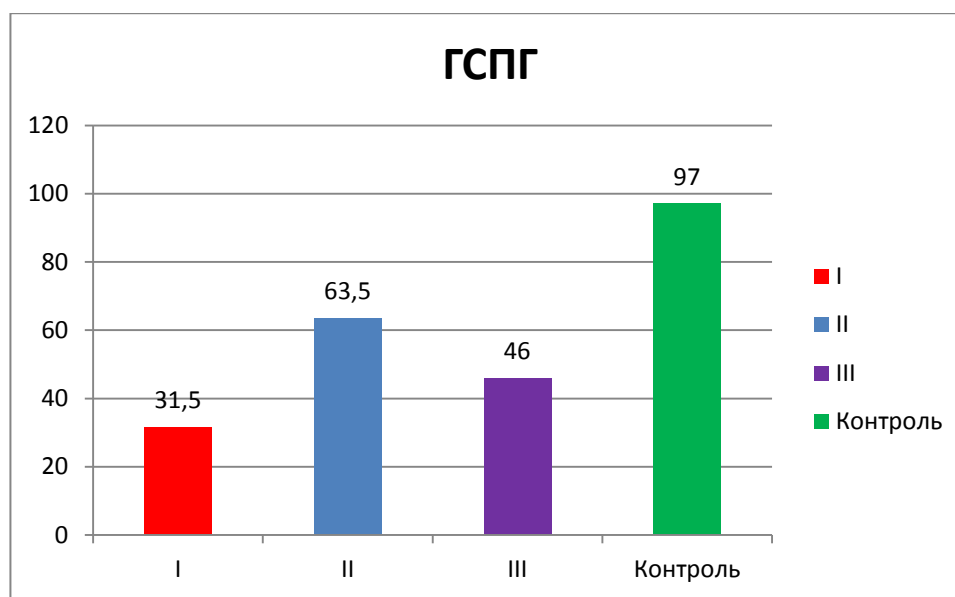


Рисунок 4 – Показатели глобулина, связывающего половые гормоны в сыворотке крови пациенток исследуемых групп (в нмоль/л).

Повышенный уровень общего тестостерона при сниженном показателе ГСПГ отразились на значениях индекса свободного тестостерона (ИСТ), рассчитанного по формуле:  $\text{ИСТ} = \frac{\text{Общий тестостерон}}{\text{ГСПГ}} \cdot 100$ .

ИСТ в I группе превышал показатели контроля в 6,02 раза ( $p<0,05$ ), показатели II группы – в 3,1 раза ( $p<0,05$ ) и показатели III группы – в 2,2 раза ( $p<0,05$ ) (таблица 10, рисунок 5).

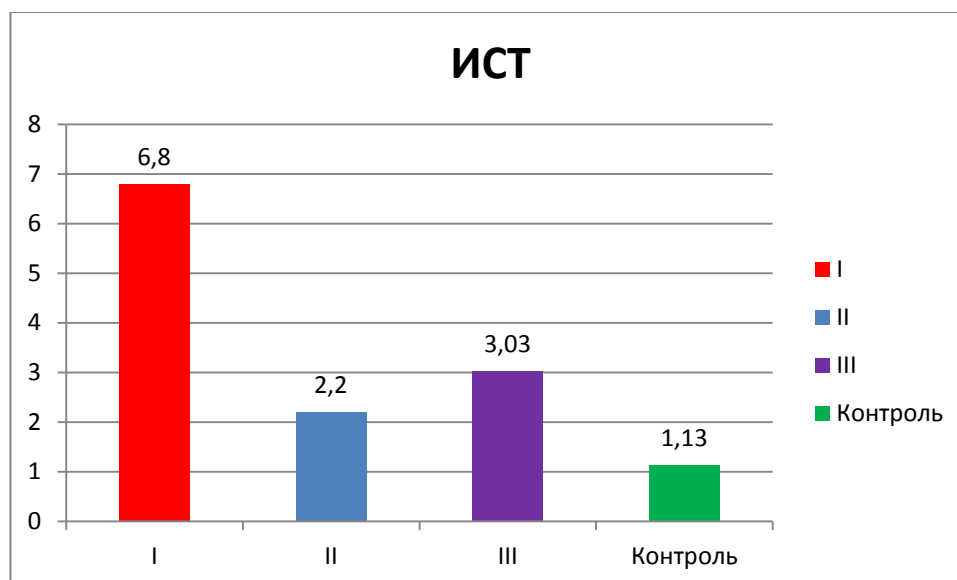


Рисунок 5 – Показатели индекса свободного тестостерона в сыворотке крови пациенток исследуемых групп

Об активации адrenaловой оси у пациенток I группы свидетельствовали повышенные значения ДГЭАс – в 2,4 раза относительно показателей II группы ( $p=0,000211$ ), в 2 раза по сравнению с III группой ( $p=0,000111$ ) и в 4,2 раза по сравнению с группой контроля ( $p=0,000001$ ). Данный показатель превышал референсные значения нормативного коридора (0,2 – 4,5 мкг/мл).

Таким образом, у пациенток I группы увеличение объема яичников, наличие более 12 фолликулов в каждом яичнике, ановуляция, клиническая и биохимическая гиперандрогения соответствовали диагностическим критериям СПКЯ [Azziz R., Carmina E., Dewailly D., et al., 2006; Nicolaidis N.C., Matheou A., Vlachou F., et al., 2020; Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Work shop Group, 2003].

### 2.2.5 Состояние тиреоидной функции у пациенток исследуемых групп

При исследовании состояния щитовидной железы мы обращали внимание, как на наличие органической патологии, так и на функциональные показатели.

У пациенток II и III групп морфометрические показатели щитовидной железы, определяемые при УЗИ – объем и эхоструктура не имели различий с группой контроля и соответствовали норме (таблица 11).

Таблица 11 – Результаты ультразвукового исследования щитовидной железы пациенток I, II, III и контрольной групп

Показатели	I (n = 20)	II (n = 11)	III (n = 49)	Контроль (n = 20)
V железы (см <sup>3</sup> )	18,4 •*♦ (19,6; 16,5)	15,5 (16,1; 14,7)	15,7 (16,4; 14,6)	14,5 (15,4; 14,1)
Размер ЭХО (+) включений	5,7 •*♦ (7,1; 3,8)	4,3 (4,7; 3,9) •♦	2,1 (2,4; 1,9) •	1,1 (1,4; 0,4)
Структура	Неоднородная	однородная	однородная	однородная
Эхогенность	Гипоэхогенная	Изоэхогенная	Изоэхогенная	Изоэхогенная
Узлы	0	0	0	0

• 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

Гормональные показатели функционального состояния также не различались во II и III группах и не выходили за границы референсных значений (таблица 12).

Наибольшие изменения в тиреоидном статусе были выявлены у пациенток I группы. Объем щитовидной железы превышал показатели возрастных нормативов, II, III и контрольной групп (таблица 11). В структуре железы обращала на себя внимание пониженная эхогенность паренхимы и множество линейных гиперэхогенных включений (таблица 11). Известно, что в основе гипоэхогенности железы лежит лимфоидная инфильтрация (Шилин Д.Е., Пыков М.И. 2001).

Линейные гиперэхогенные структуры представляют собой соединительную ткань, заместившую тиреоциты в результате хронического воспалительного процесса. По размерам данных включений можно сделать косвенный вывод о степени морфологических изменений. При размерах включений от 2 до 4 мм паренхимы железы считается мало измененной. Если размер включений составляет от 4 до 6 мм – ткань является измененной, а если размер включений превышает 6 мм, то это свидетельствует о резко измененной эхо-структуре паренхимы [Шилин Д.Е., Пыков М.И., 2001].

Данные ультразвукового исследования щитовидной железы пациенток представлены в таблице 11. Объем щитовидной железы рассчитывался по формуле: сумма произведений трех размеров справа и слева, умноженная на поправочный коэффициент 0,479 (в мл или в см<sup>3</sup>). Референсные значения 12-18 см<sup>3</sup> (для веса 40-60 кг).

Раздельный подсчет объема долей не проводился, так как только суммарная величина отражает количество ткани, синтезирующей гормоны [Шилин Д.Е., 2001]. У пациенток I группы размер включений, в среднем, составлял 5,7 (7,1; 3,8) мм (таблица 11), следовательно, эхо-структура паренхимы являлась измененной и соответствовала УЗ-признакам аутоиммунного тиреоидита (АИТ), который подтвержден наличием антитиреоидных антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО) (таблица 12, рисунок 6) и консультативно - эндокринологом.

Как представлено в таблицах 11 и 12, у пациенток I группы выявлена гипертрофическая форма АИТ (в 30% случаев – у 13 больных). Титр антитиреоидных антител у пациенток I группы достоверно превышал нормативы (0-30 Е/мл) и показатели остальных исследуемых групп (таблица 12, рисунок 6). При этом, гормональные показатели тиреоидного статуса, не смотря на имевшиеся межгрупповые различия, не выходили за границы нормы (таблица 12).

Таблица 12 – Результаты исследования показателей тиреоидного статуса у пациенток I, II, III и контрольной групп

Группы Гормоны	I (n = 20)	II (n = 11)	III (n = 49)	Контроль (n = 20)
<b>Т3св</b> 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)
<b>Т4св</b> 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)
<b>ТТГ</b> 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)
<b>Ат к ТПО</b> 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  $p < 0,0$

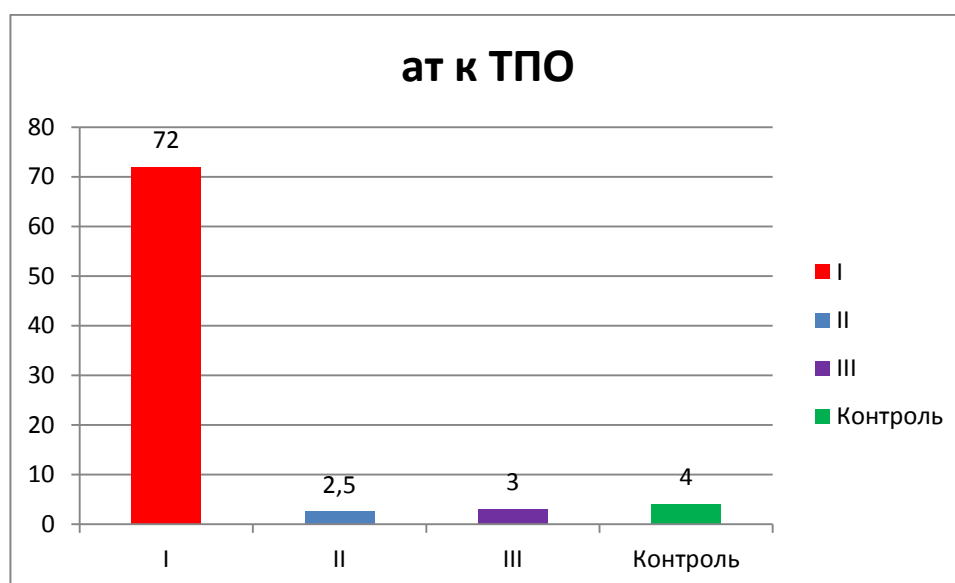


Рисунок 6 – Показатели антител к тироксинпероксидазе, в сыворотке крови пациенток исследуемых групп (в Е/мл)

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

**I группа** – нормогонадотропный нормогонадизм в сочетании с овариально-адреналовой гиперандрогенией, повышенным титром антитиреоидных 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.

### 2.3 Структура заболеваемости пациенток

По частоте и структуре перенесенных детских инфекций исследуемые группы, в том числе группа контроля, не различались.

Структура заболеваемости пациенток исследуемых групп представлена в таблице 13.

Соматическая заболеваемость пациенток I группы была представлена, в основном, аутоиммунной патологией: у 15 больных (75% случаев) выявлен аутоиммунный тиреоидит (E06.3 по МКБ-Х), в 10% случаев (2 пациентки) – ревматоидный артрит и в 5 случаях (25%) - витилиго (L80) (таблица 13).

Эндокринная патология имела у 5 девочек (25% случаев) – диффузный нетоксический зоб (E04.0 по МКБ-Х) и, как уже было отмечено, у 15 больных (75% случаев) выявлен аутоиммунный тиреоидит (E06.3 по МКБ-Х) (таблица 13).

Таблица 13 – Структура заболеваемости обследованных девочек-подростков

Заболевания	I группа n=20		II группа n=11		III группа n=49		Группа Контроля n=20	
	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
Болезни эндокринной системы	20	100	4	36,4	49	100	0	0
Болезни органов дыхания	11	55	10	90,9	42	85,7	11	18,3
Болезни органов пищеварения	10	50	6	54,5	28	57,1	12	20
Болезни костно-мышечной системы	13	65	1	9,1	11	22,4	8	13,3
Болезни кожи	11	55	1	9,1	11	22,4	0	0
Болезни мочевыделительной системы	9	45	3	27,3	15	30,6	5	8,3
Болезни глаза и его придаточного аппарата	7	35	3	27,3	17	34,7	13	21,7
Воспалительные заболевания наружных половых органов	7	35	4	36,4	19	38,8	0	0

Болезни костно-мышечной системы выявлены у 13 пациенток (65% от общей численности I группы), из них у 9 пациенток (45% случаев) выявлен сколиоз (M41), у 2 (10% численности) – ревматоидный артрит (таблица 13, рисунок 7).

У 11 человек (55% численности группы) диагностированы болезни кожи, представленные в 5 случаях (25%) витилиго (L80) и в 6 случаях – дерматитом (L30) (таблица 13, рисунок 7). Патогенез витилиго включает несколько теорий возникновения: генетическая, аутоиммунная, нейрогуморальная, окислительного стресса, меланоцитотоксическая, конвергентная. Наиболее вероятной и имеющей

ведущее значение в нарушении меланогенеза в коже является аутоиммунная теория.

Также среди соматических заболеваний у 10 пациенток (50%) I группы были выявлены болезни органов пищеварения - хронический поверхностный гастрит (K29.3) (таблица 13, рисунок 7).

Болезни мочевыделительной системы диагностированы у 9 человек I группы (45%): в 2 случаях (10%) - хронический цистит (N30.2), в 7 случаях (35%) - хронический пиелонефрит (N11.1) (таблица 13, рисунок 7).

Болезнями органов дыхания страдали 11 девочек (55%) I группы – у 3 пациенток (15%) был диагностирован хронический ринит (J31.1), у 2 (10%) – хронический бронхит и у 6 пациенток (30%) - хронический фарингит (J31.2) (таблица 13).

У 7 пациенток I группы (35%) были выявлены воспалительные заболевания наружных половых органов – хронический вульвовагинит (N76.1 по МКБ-Х) (таблица 13).

Болезни глаза и его придаточного аппарата имелись у 7 пациенток (35%) и были представлены миопией (H52.1) (таблица 13).

У пациенток II группы в структуре заболеваемости преобладали болезни органов дыхания – у 5 девочек (45,5%) выявлен хронический фарингит (J31.2), у 5 (45,5%) - хронический ринит (J31.1) (таблица 13, рисунок 7).

Болезни органов пищеварения отмечены у 6 пациенток (54,5%) II группы – был диагностирован хронический поверхностный гастрит (K29.3) (таблица 13, рисунок 7).

Эндокринная патология выявлена у 4 больных II группы (36,4%), которая была представлена диффузным нетоксическим зобом (E04.0 по МКБ-Х) (таблица 13).



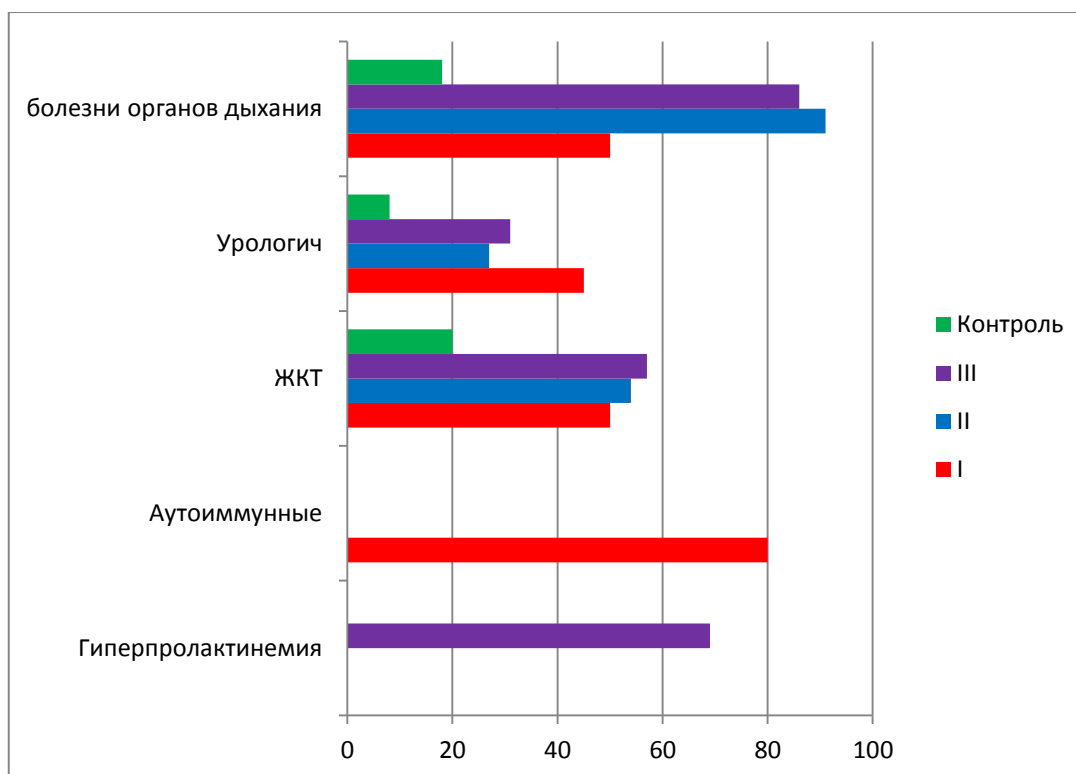


Рисунок 7 – Структура заболеваемости обследованных девочек-подростков

Болезнями кожи – дерматит (L30) - страдала 1 девочка из II группы (9,1%), также у 1 девочки (9,1%) было диагностировано заболевание костно-мышечной системы – сколиоз (M41) (таблица 13, рисунок 7).

Болезни мочевыделительной системы диагностированы у 3 человек из II группы (27,3%) – хронический пиелонефрит (N11.1).

Болезни глаза и его придаточного аппарата выявлены у 3 пациенток II группы (27,3%) – миопия (H52.1) (таблица 13).

Воспалительные заболевания наружных половых органов – хронический вульвовагинит (N76.1 по МКБ-Х) диагностирован у 4 человек (36,4%) (таблица 13).

В III группе болезни эндокринной системы выявлены у 49 больных (100%): у 34 девочек (69,4%) диагностирована гиперпролактинемия (E22.1 по МКБ-Х), у 11 больных (22,4%) – диффузный нетоксический зоб (E04.0 по

МКБ-Х) и у 4 больных (8,2%) – субклинический гипотиреоз, вследствие йодной недостаточности (Е02) (таблица 13).

Группу контроля составляли здоровые девочки (1 группа здоровья) (таблица 13).

Таким образом, анализ данных, представленных в таблице 13 и на рисунке 7, показал, что факторами, участвующими в развитии овариальной дисфункции у подростков, являются: в I группе – аутоиммунные заболевания (витилиго, аутоиммунный тиреоидит), во II группе – болезни органов дыхания и пищеварения; в III группе – болезни эндокринной системы – гиперпролактинемия.

## **2.4 Факторы predisпозиции формирования дисфункции яичников**

### **2.4.1 Возраст и заболевания родителей пробандов на момент наступления беременности в исследуемых группах**

Влияние неблагоприятной наследственности может спровоцировать более тяжёлое течение гинекологической патологии или высокий риск её возникновения [Наймушина Е.С., Червинских Т.А., Колесникова М.Б., 2014].

В связи с этим, 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. Причем подробно изучен не только материнский, но и отцовский анамнез, результаты данного исследования представлены в таблицах 14 и 15.

Как представлено в таблице 14, средний возраст матерей пациенток I и II группа момент наступления беременности был выше, чем, в остальных группах ( $p < 0,05$ ). Наиболее высоким данный показатель был во II группе и, в

среднем, составлял 29,6 (33,2; 29,1) лет, превышая возраст матерей группы контроля на 8,2 года ( $p < 0,05$ ) (таблица 14).

Таблица 14 – Возраст родителей пациенток и количество беременностей у матерей исследуемых групп

Анамнез	I группа n=20		II группа n=11		III группа n=49		Группа контроля n=20	
	мать	отец	мать	отец	мать	отец	мать	отец
Возраст на момент беременности	27,8 (29,1; 27) ♦♦*	29,4 (30,4; 27)♦♦*	29,6 (33,2; 29,1) ♦♦	30,1 (34,3; 29,3) ♦♦	25,4 (27,1; 23,4) •	26,1 (28,1; 23)•	21,4 (24,1; 20,4)	24,1 (27,1; 22)
Количество беременностей	1,1 (1,2; 1,0) ♦♦	-	1,1 (1,3; 1,0)♦♦	-	2 (3; 1,1)	-	2 (3; 1,1)	-

<sup>1</sup>Данные в исследуемых группах во всех таблицах представлены в формате: Me (Kv 75%, Kv 25%).

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

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

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

Возраст матерей пациенток I группы был выше, чем в контроле на 6,4 лет ( $p < 0,05$ ), и на 4 года выше, чем в III группе – ( $p < 0,05$ ) (таблица 14).

Возраст отцов пациенток II группы также был выше, чем в I группе на 0,7 года ( $p = 0,000322$ ) и выше, чем в группе контроля на 6 лет ( $p = 0,003221$ ) (таблица 14). Средний возраст отцов I группы был выше, чем в контроле на 5,3 лет и выше значений III группы на 3,3 года ( $p < 0,05$ ) (таблица 14).

В III группе средний возраст отцов превышал значения группы контроля на 2 года ( $p < 0,05$ ) (таблица 14).

Таким образом, по возрастной характеристике родителей клинические группы статистически обоснованно различались, максимальный возраст, как отцов, так и матерей был констатирован во II группе.

По количеству беременностей (до рождения пробанда) I и II группы не различались (показатель составлял, в среднем, 1,1), а в III и контрольной группах большинство девочек было рождено от 2 родов (таблица 14).

Ожирением страдало 10% матерей пациенток I группы и 9,1% матерей пациенток II группы, что превышало значения III и контрольной групп ( $p < 0,05$ ) (таблица 15).

Сахарный диабет I типа развился до наступления беременности у 20% матерей пациенток I группы. В остальных группах случаев сахарного диабета I типа среди родителей не было (таблица 15).

Среди других эндокринопатий у родителей пациенток I группы обращали на себя внимание заболевания щитовидной железы (ДНТЗ 1-2 степени, гипотиреоз) – у 25 % матерей, а также СПКЯ у 15% матерей (таблица 15).

Табакокурение среди отцов пациенток I группы превышало показатели II группы и контроля на 11,8% и 28% соответственно, а табакокурение среди матерей было наиболее распространено во 2 группе, превышая значения I группы на 4,3% и группы контроля на 8,1% ( $p < 0,05$ ) (таблица 15).

Случаи алкоголизма среди матерей не выявлены во всех группах, а среди отцов алкоголизм был одинаково распространен в I, II и III группах, значительно различаясь с группой контроля, где случаев алкоголизма не выявлено (таблица 15).

Случаи наркомании были единичными среди родителей пациенток I группы, в контроле – не выявлены.

Воспалительные заболевания наружных и внутренних половых органов перед зачатием имели одинаковую частоту встречаемости среди родителей II, III и контрольной групп. Наибольшая распространенность воспалительных заболеваний половых органов был у матерей пациенток I группы (результаты представлены в таблице 15).

Таблица 15 – Заболевания родителей пациенток исследуемых групп \*

Заболевания	I группа n=20		II группа n=11		III группа n=49		Группа контроля n=20	
	Мать n=20	Отец n=20	Мать n=11	Отец n=11	Мать n=49	Отец n=49	Мать n=20	Отец n=20
Ожирение	2 (10%)	1 (5%)	1 (9,1%)	1 (9,1%)	3 (6,1%)	3 (6,1%)	1 (5%)	1 (5%)
Сахарный диабет I типа	4 (20%)	0	0	0	0	0	0	0
Заболевания щитовидной железы	5 (25%)	0	1 (9,1%)	0	2 (4,1%)	0	1 (5%)	0
СПКЯ	4 (20%)	-	1 (9,1%)	-	4 (8,2%)	-	0	-
Болезни органов дыхания	6 (30%)	11 (55%)	2 (18,2%)	3 (27,2%)	4 (8,2%)	4 (8,2%)	8	6 (30%)
Болезни органов пищеварения	2 (10%)	3 (15%)	1 (9,1%)	2 (21,4%)	6 (12,2%)	8 (16,4%)	3 (15%)	4 (20%)
Ревматизм	5 (25%)	0	0	0	0	0	0	0
Болезни моче- выделитель- ной системы	4 (20%)	1 (5%)	1 (9,1%)	1 (7,1%)	4 (8,2%)	0	3 (15%)	2 (10%)
Алкоголизм	0	3 (15%)	0	2 (11,9%)	0	8 (16,4%)	0	0
Наркомания	1 (5%)	1 (5%)	0	0	0	0	0	0
Табакокурение	7 (35%)	11 (55%)	1 (9,1%)	9 (81,8%)	4 (8,2%)	18 (36,7%)	1 (5%)	8 (40%)
Восп. заболе- вания половых органов	6 (30%)		1 (9,1%)		3 (5%)		2 (10%)	
Артериальная гипертензия (АГ)	4 (20%)	6 (30%)	2 (18,2%)	3 (27,2%)	0	1 (3,3%)	1 (5%)	3 (15%)
Сердечно- сосудистые заболевания (кроме АГ)	1 (5%)	3 (15%)	2 (18,2%)	3 (27,2%)	2 (6,6%)	1 (3,3%)	1 (5%)	2 (10%)

\*данные представлены как абсолютное число пациенток и в %

Артериальной гипертензией (АГ) и сердечно-сосудистыми заболеваниями в большей степени страдали родители пациенток I и II групп

по сравнению с III и контрольной группами. Так, артериальной гипертензией страдали 20% матерей и 30% отцов пациенток I группы, что было выше на 15% аналогичных показателей группы контроля (таблица 15).

Обращало на себя внимание наличие ревматизма у 25% матерей пациенток I группы (таблица 15).

Во второй группе наличие врожденного слабоумия выявлено у 2 родственников 2 степени родства (дяди по линии матери), 3 случаев приобретенного слабоумия у родственников 2 степени родства (дед по линии матери). ПНЯ выявлена у 2 родственниц 2 степени родства – тети по линии матери (таблица 16).

Таблица 16 – Заболевания у родственников 1, 2 и 3 степеней родства\*

<b>Заболевания</b>	<b>I группа n=20</b>	<b>II группа n=11</b>	<b>III группа n=49</b>	<b>Группа контроля n=20</b>
Врожденное слабоумие	0	2 (18,2%)	1 (3,3%)	0
Приобретенное слабоумие	0	3 (27,2%)	0	0
Преждевременная недостаточность яичников	0	2 (18,2%)	0	0

\*данные представлены как абсолютное число пациенток, %

В III группе выявлен 1 случай врожденного слабоумия у 1 родственницы 2 степени родства – тетья по материнской линии (3,3% от общей численности группы). В I и контрольной группах случаев ПНЯ, врожденного и приобретенного слабоумия среди родственников 1, 2 и 3 степеней родства выявлено не было.

Нами произведена статистическая обработка полученных результатов (категориальных переменных), включающая построение многопольных таблиц сопряженности для расчета критерия  $\chi^2$ -Пирсона с поправкой Йейтса для малых частот (таблицы 17, 18).

Таблица 17 – Заболевания матерей пациенток I, II и III групп – факторы риска развития овариальной дисфункции у подростков \*

<b>Заболевания матерей</b>	<b>I группа n=20</b>	<b>II группа n=11</b>	<b>III группа n=49</b>	<b>p-уровень (<math>\chi^2</math>)</b>
Сахарный диабет 1 типа	12 (24%)	0	0	0,041233
Заболевания щитовидной железы	5 (25%)	1 (9,1%)	2 (4,1%)	0,004123
СПКЯ	19 (28%)	1 (9,1%)	4 (8,2%)	0,016132
Ревматизм	5 (25%)	0	0	0,000113
Болезни мочевыделительной системы	4 (20%)	1 (9,1%)	4 (8,2%)	0,0413252
Воспалительные заболевания наружных и внутренних половых органов	6 (30%)	1 (9,1%)	3 (5%)	0,032252
Артериальная гипертензия (АГ)	29 (58%)	2 (18,2%)	0	0,048321
Болезни органов дыхания	6 (30%)	2 (18,2%)	4 (8,2%)	0,023225
Табакокурение	7 (35%)	1 (9,1%)	4 (8,2%)	0,0132252

\*данные представлены как абсолютное число пациенток, %

\*\*p-уровень -  $\chi^2$ - критерий Пирсона

Таблица 18– Заболевания родственников 1, 2 и 3 степеней родства пациенток I, II и III групп – факторы риска развития овариальной дисфункции у подростков \*

<b>Заболевания матерей</b>	<b>I группа n=20</b>	<b>II группа n=11</b>	<b>III группа n=49</b>	<b>p-уровень (<math>\chi^2</math>)</b>
Врожденное слабоумие	0	2 (18,2%)	1 (3,3%)	0,041233
Приобретенное слабоумие	0	3 (27,2%)	0	0,004123
ПНЯ	0	2 (18,2%)	0	0,016132

\*данные представлены как абсолютное число пациенток, %;

\*\*p-уровень -  $\chi^2$ - критерий Пирсона

Исходя из полученных результатов данного фрагмента исследования, представленных в таблицах 17 и 18, можно заключить, что для формирования овариальной дисфункции у пациенток I, II и III групп имели значение следующие заболевания родителей ( $p < 0,05$ ,  $\chi^2$ -Пирсона):

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.

На основании результатов данного фрагмента исследования, представленных в таблице 18, можно сделать вывод о том, что для формирования у ребенка субгенотипа гет-норма/высокий имеет значение ( $p < 0,05$ ,  $\chi^2$ -Пирсона) отягощение семейного анамнеза по материнской линии:

1. Врожденное слабоумие;
2. Приобретенное слабоумие;



## 3. ПНЯ.

**2.4.2 Перинатальный период жизни пациенток 1, 2 и контрольной групп**

Патология перинатального периода отрицательно влияет на гипоталамо-гипофизарно-яичниковую систему и последующее осуществление генеративной функции, в связи с чем нами проанализировано течение беременности у матерей пациенток всех исследуемых групп. В таблице 19 представлены имевшиеся осложнения гестации.

Таблица 19 – Осложнения гестации у матерей пациенток всех групп\*

Группы		O12 *	O13 *	O14 *	O15 *	O20.0 *	O21.0 *	O21.1 *	O23.0 *	O23.5 *	O24.4 *	O60.0 *
<b>I</b> n=20	%	35	26	16	2	64	12	32	17	54	13	13
<b>II</b> n=11	%	22,6	14,3	4,8	0	39,3	10,7	3,6	19	22,6	3,6	5,9
<b>III</b> n=49	%	31	12	14	1	37	11	23	14	51	0	11
<b>Конт роль</b> n=20	%	5	3,3	0	0	6,7	13,3	0	0	16,7	0	3,3

\***Шифры по МКБ-Х** - Класс XV - состояния, связанные или усугубляемые беременностью, родами или послеродовым периодом (материнские или акушерские причины):

O12 Вызванные беременностью отеки и протеинурия без гипертензии

O13 Вызванная беременностью гипертензия

O14 Преэклампсия

O15 Эклампсия

O20.0 Угрожающий аборт

O21.0 Рвота беременных легкая или умеренная в сроки до 22 полных недель беременности

O21.1 Чрезмерная или тяжелая рвота беременных до 22 полных недель беременности с нарушениями обмена веществ: истощение запаса углеводов, дегидратация, нарушение водно-солевого равновесия

O23.0 Инфекция почек при беременности

O23.5 Инфекция половых путей при беременности

O 24.4 Сахарный диабет, развившийся во время беременности

O60.0 Преждевременные роды без родоразрешения

Анализируя результаты, представленные в таблице 19, мы выявили большую распространенность отеков, протеинурии и гипертензивных расстройств во время беременности, родов и в послеродовом периоде (O12-O15 по МКБ-X) у матерей пациенток I и III групп, по сравнению со II и контрольной группой – 79 и 58% против 41,7% и 15% соответственно ( $p=0,0014$ ,  $\chi^2$  тест) (таблица 19). По мнению И.В. Даньковой, О.А. Мелкозеровой с соавт. (2015) тяжелые формы гестоза у матерей могут приводить к различным проявлениям гипогонадизма у дочерей, а патологическое течение 2-3 триместров беременности - к формированию различных эндокринопатий у ребенка, включая гипотиреоз и адреналовые нарушения различной степени выраженности [Данькова И.В., Мелкозерова О.А., Гончарова С.В., 2015].

Инфекцией половых путей при беременности (O23.5) страдало 54% матерей пациенток I группы и 51% матерей III группы, что в 2,4 и 2,3 раза превышало заболеваемость II группы ( $p<0,0001$ ,  $\chi^2$  тест) и в 3,2 и 3,1 раза (соответственно) – заболеваемость группы контроля ( $p<0,0001$ ,  $\chi^2$  тест) (таблица 19).

Гестационным сахарным диабетом (O 24.4) страдали 13% матерей пациенток I группы против 3,6% матерей из II группы ( $p<0,0001$ ,  $\chi^2$  тест) (таблица 19). В III и контрольной группах случаев гестационного сахарного диабета не выявлено.

Кровотечения в ранние сроки беременности (O20.0 по МКБ-X) были зарегистрированы в анамнезе 64% матерей I группы, 39,3% - II группы и 37% матерей III группы – против 6,7% в группе контроля ( $p<0,0001$ ,  $\chi^2$  тест) (таблица 19). В связи с данной патологией гормональную терапию гестагенами получали все 64 женщины (I группа), 33 матери пациенток II группы и 4 из группы контроля.

Угрожающие преждевременные роды (O60.0) были отмечены у 13% матерей I группы 11% – из III группы и у 5,9 % из II группы (таблица 19), по

поводу данного состояния женщины были госпитализированы в акушерские отделения патологии беременных, где проводилась соответствующая терапия.

### Резюме

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 ( $p < 0,05$ ,  $\chi^2$ -Пирсона) отягощение семейного анамнеза по материнской линии:

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

Полученные результаты исследования позволят определить целевые группы девочек для проведения профилактики овариальной дисфункции.

### **ГЛАВА 3. РОЛЬ ГЕТЕРОЗИГОТНЫХ СУБГЕНОТИПОВ В ОБЛАСТИ CGG ПОВТОРОВ ГЕНА ФРАГИЛЬНОЙ X-ХРОМОСОМЫ (FMR1) В ФОРМИРОВАНИИ ОВАРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ**

Взаимосвязь между увеличением числа CGG-повторов гена FMR1 и дисфункцией яичников, проявляющейся олигоменореей, была подтверждена в исследовании К.Л. Bretherick с соавторами (2005) [Bretherick K.L., Fluker M.R., Robinson W.P., 2005]. Авторами сделан вывод о том, что ген FMR1 принимает участие в контроле овариального резерва, что также было подтверждено в исследованиях Gleicher N., Weghofer A. (2010), Allen E.G., Wittenberger M.D. с соавторами (2007) [Bretherick K.L., Fluker M.R., Robinson W.P., 2005; Gleicher N., Weghofer A., 2010; Allen E.G., et al., 2007; Wittenberger M.D., et al., 2007].

#### **3.1 Встречаемость гетерозиготных субгенотипов в области CGG повторов гена фрагильной X-хромосомы (FMR1) у подростков с олигоменореей**

Для изучения встречаемости гетерозиготных субгенотипов в области CGG повторов гена фрагильной X-хромосомы (FMR1) у подростков с олигоменореей, мы ретроспективно распределили всех девочек-подростков с олигоменореей на 3 группы в зависимости от субгенотипов (в соответствии с классификацией N.Gleicher (2010) [Gleicher N., Weghofer A., 2010].

В I группе выявлено уменьшение числа CGG повторов 1 аллели до 21 (24; 21), во 2 аллели число повторов соответствовало нормативам – 30,5 (31; 30) (таблица 20). Встречаемость данного субгенотипа по данным нашего исследования составила 25% (рисунок 8).

Таблица 20 – Число CGG-повторов в гене FMR1 и уровень FMR1P в сыворотке крови у пациенток исследуемых групп

ФАКТОРЫ	I (n = 20)	II (n = 11)	III (n = 49)	Контроль (n =20)
I Аллель	21 (24; 21) •*	32 (32; 30)	30 (31; 30)	30 (31; 30)
II Аллель	30,5 (31; 30)	42 (45; 35,5) •♦	31 (32; 31)	31 (32; 31)
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 обоснованное различия с III группой  $p < 0,05$

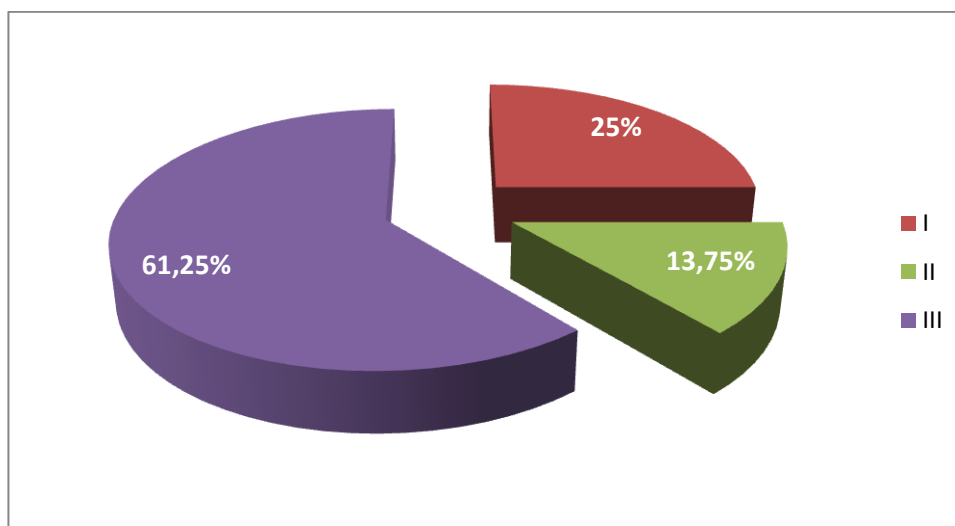


Рисунок 8 – Распространенность субгенотипов гет-норма/низкий (1 группа), гет-норма/высокий (2 группа), и нормальный (3 группа) среди подростков с олигоменореей.

Во II группе число повторов 1 аллели составляло 32 (32; 30), 2 аллели – 42(45; 35,5) (таблица 20). Встречаемость по данным нашего исследования составила 13,75% (рисунок 8).

В III группе - число CGG повторов 1 аллели составляло 30 (31; 30), 2 аллели – 31 (32; 31) (таблица 20). Встречаемость по данным нашего исследования составила 61,25% (рисунок 8).

### 3.2 Сывороточное содержание белка FMR1 у пациенток исследуемых групп

Для установления взаимосвязи аллельного полиморфизма в области тринуклеотидных CGG повторов гена FMR1 с продукцией FMR1P мы исследовали уровень FMR1P у пациенток исследуемых групп (таблица 20). Ранее FMR1P у подростков никогда не исследовался.

Известно, что изменения овариального резерва и функциональной активности яичников могут быть связаны не только с увеличением числа CGG повторов, но и с их уменьшением – менее 26 [NotoV., Harrity C., Walsh D., Marron K., 2016], что обусловлено изменением экспрессии белка FMR1P, участвующим в контроле над пролиферацией половых клеток.

Наиболее высокие показатели данного белка регистрировались у пациенток с гет-норма/низким субгенотипом. В I группе сывороточное содержание FMR1P составляло 525 (795,5; 251,5) нг/мл, достоверно превышая 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 (таблица 20, рисунок 9).

Наши результаты отчасти расходятся с данными, опубликованными V. Noto, C. Harrity, D. Walsh с соавт. (2016), в работе которых говорится о снижении синтеза данного белка не только при генотипе гет-норма/высокий, но и гет-норма/низкий [NotoV., Harrity C., Walsh D., Marron K., 2016]. Данное расхождение обусловлено различным возрастным диапазоном обследованных пациенток. В цитируемой работе приведены данные обследования женщин 33-34 лет, а в нашем исследовании участвовали исключительно подростки, средний возраст которых, в среднем, составлял 16,5 (17,7;15,4) лет.

В работе V. Noto с соавторами (2016) указывается уменьшение продукции FMR1P при увеличении числа CGG-повторов [Noto V., Harrity C., Walsh D., Marron K., 2016], что полностью 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 ( $p < 0,001$ ) (таблица 20, рисунок 9).

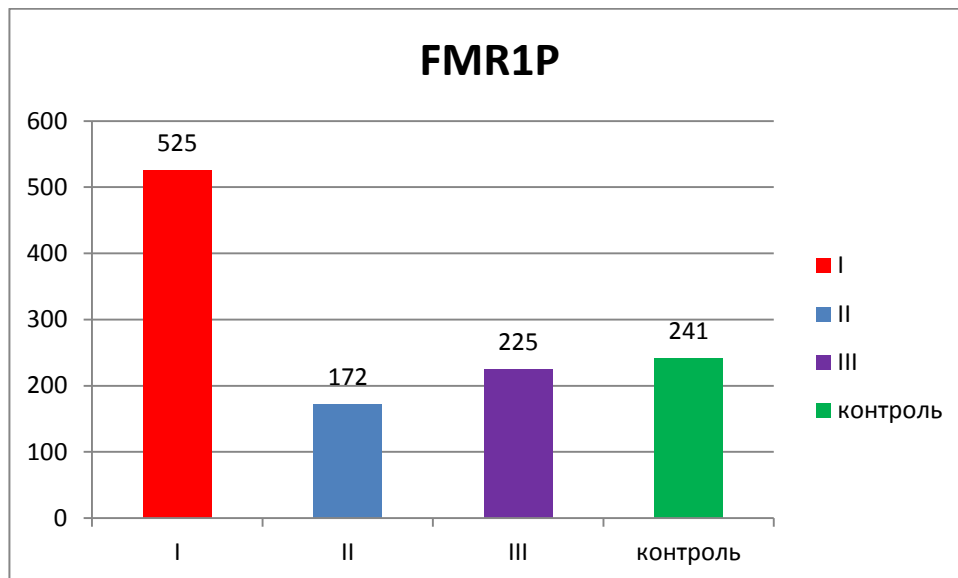


Рисунок 9 – Сывороточное содержание FMR1P у пациенток исследуемых групп.

Сывороточное содержание FMR1P у пациенток III и контрольной групп не имело межгрупповых различий ( $p > 0,05$ ) (таблица 20, рисунок 9).

Связь между нефизиологической продукцией FMR1 P и развитием овариальной недостаточности объясняется подавлением у больных с измененным числом CGG-повторов пролиферативной способности фолликулов и блокадой их роста, развития и созревания [Lu C., Lin L., Tan H., et al., 2012].

### **3.3 Взаимосвязь маркеров овариального резерва с уровнем продукции белка FMR1 у пациенток исследуемых групп**

Несмотря на большое количество научных работ за последние несколько лет, окончательного консенсуса по характеристике

функционального состояния яичников у подростков до настоящего времени не достигнуто [Ferraretti A.P., La Marca A., Fauser B., 2011; Буралкина Н.А., Уварова Е.В., Русейкин Н.С., 2011].

Комбинация биомаркеров, применяемая для оценки овариального резерва в репродуктологии – сывороточное содержание ФСГ, АМГ и количество антральных фолликулов - у подростков применять нецелесообразно в связи с отсутствием четких нормативов данных показателей из-за малочисленности популяционных исследований. Сывороточный уровень ФСГ, определяемый в раннюю фолликулярную фазу являются надежным маркером резерва яичника в более позднем возрасте.

Число антральных фолликулов у девочек в норме заведомо больше, чем у женщин в репродуктивном периоде жизни, а подсчет затруднен ввиду использования преимущественно абдоминального датчика при УЗИ.

Следовательно, из известных на сегодняшний день биомаркеров функционального состояния яичников, показатели АМГ и ингибина В являются золотым стандартом в оценке остаточного пула фолликулов. АМГ как биомаркер овариального резерва имеет следующую характеристику: 1) синтез происходит в клетках гранулезы мелких преантральных фолликулов, 2) продукция не специфична для дня цикла и 3) уровень АМГ повышен при СПКЯ.

Сывороточное содержание АМГ коррелирует преимущественно с числом преантральных фолликулов, то есть отражает реальный овариальный резерв и является биомаркером функционального состояния яичников.

Для оценки взаимосвязи рассматриваемых в работе субгенотипов с функциональным состоянием гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы мы оценили маркеры овариального резерва – уровень АМГ и ингибина В – в сыворотке крови у пациенток исследуемых групп (таблица 20).

Наиболее высокие показатели АМГ были у пациенток I группы, превышающие значения II, III и контрольной групп в 2,9 ( $p < 0,001$ ), 1,7 ( $p < 0,001$ ) и 1,64раза ( $p < 0,05$ ) (таблица 21, рисунок 10).



Таблица 21 – Показатели АМГ, Ингибина В, антиовариальных антител в исследуемых группах

ФАКТОРЫ	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)

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

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

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

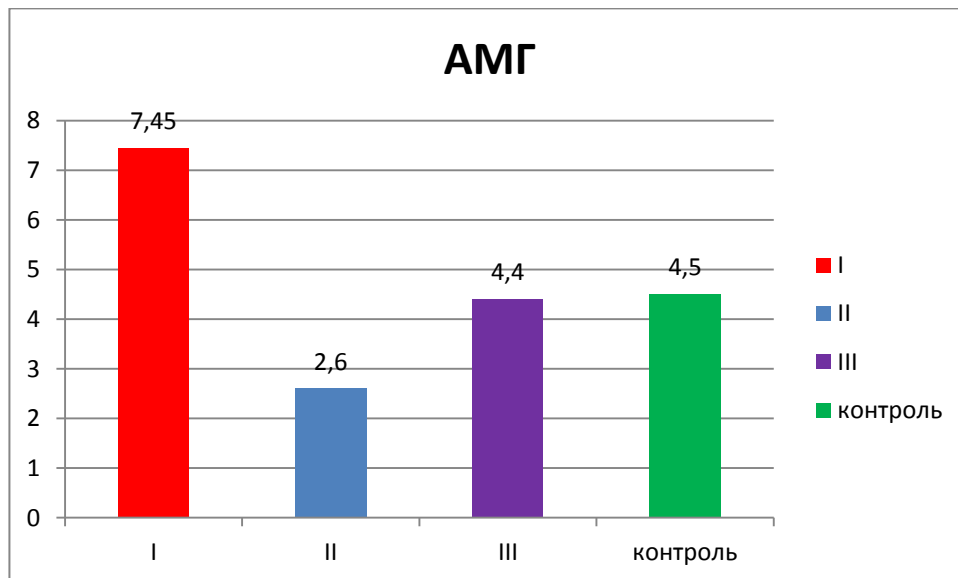


Рисунок 10 – Сывороточное содержание АМГ у пациенток исследуемых групп (нг/мл)

В настоящее время имеются доказательства того, что различные генотипы FMR1 различаются по скорости рекрутирования фолликулов, что отражается на овариальном резерве, оцениваемом по уровню АМГ. АМГ - более достоверный маркер числа преантральных и малых антральных фолликулов, чем подсчет числа фолликулов при УЗИ [Dewailly D., Andersen S.Y., 2014].

В исследовании D.H. Barad, A.Weghofer, A. Goyal, et al.(2009) имеются сведения о взаимосвязи гет-норма/низкого субгенотипа с СПКЯ с быстро

истощающимся овариальным резервом [Barad D.H., Weghofer A., Goyal A., et al., 2009].

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, вступивших в фазу активного роста, 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% (таблица 21). В III группе показатели АМГ и Ингибина В не имели статистически обоснованных различий с группой контроля.

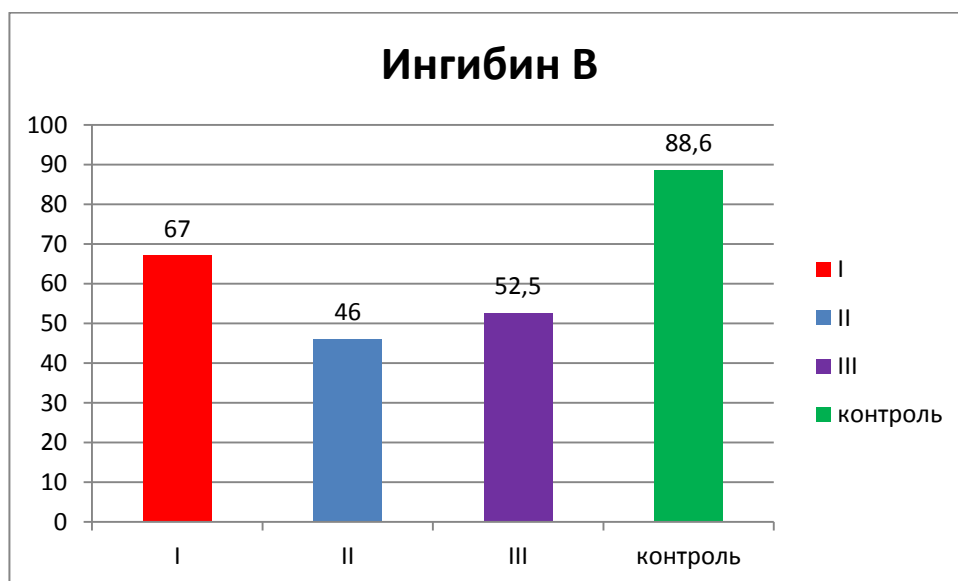


Рисунок 11 – Сывороточное содержание Ингибина В у пациенток исследуемых групп

Ингибин В является биомаркером гормонзависимой стадии фолликулогенеза [Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2009], так как секретируется клетками гранулезы малых антральных фолликулов, рост и созревание которых контролируется ФСГ.

У пациенток II группы значения как АМГ, так и Ингибина В были достоверно снижены относительно других исследуемых групп ( $p < 0,05$ ) (таблица 21, рисунок 11), что указывало на патологические изменения гормончувствительной и гормонзависимой фаз фолликулогенеза и об уменьшении овариального резерва.

Снижение уровня ингибина В в сыворотке крови менее 40 пг/мл свидетельствует об уменьшении овариального резерва и 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 белка FMR1 и указывает на нарушение процесса фолликулогенеза, в виде патологически измененных гормончувствительной и гормонзависимой фаз фолликулогенеза и об уменьшении овариального резерва.

На основании данного фрагмента исследования сделаны следующие выводы:

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.

### **3.4 Ассоциированность маркеров аутоиммунного реагирования с молекулярно-генетическими нарушениями у подростков с олигоменореей**

У пациенток I группы мы выявили повышенный титр органоспецифических аутоантител – к ТПО и антигенам яичника, превышающие диагностический титр и свидетельствующие о наличии аутоиммунной патологии (таблица 22, рисунки 12 и 13).

У девочек I группы уровень ингибина В в сыворотке крови был в норме (таблица 21), что свидетельствует о полноценной фазе роста антральных фолликулов. Однако, 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» [Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2009]. У наших больных это привело к мультифолликулярной трансформацией яичников, по данным эхографии, клинически проявляющейся ановуляцией и олигоменореей.

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.

Таблица 22 – Показатели органоспецифических аутоантител (антиовариальных и антитиреоидных) в исследуемых группах

Антитела (Е/мл)	I (n = 20)	II (n = 11)	III (n = 49)	Контроль (n = 20)
Ат к ТПО	72 (114; 21,75) •*♦	2,5 (9,8; 1,5) ♦	3,0 (26,5; 0,5)	4,0 (6,3; 2)
АОАт	16,1 (17,1; 4,9) •*	5,2 (5,3; 3)	4,7 (5,4; 3,3)	2,4 (3,4; 1,3)

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

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

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

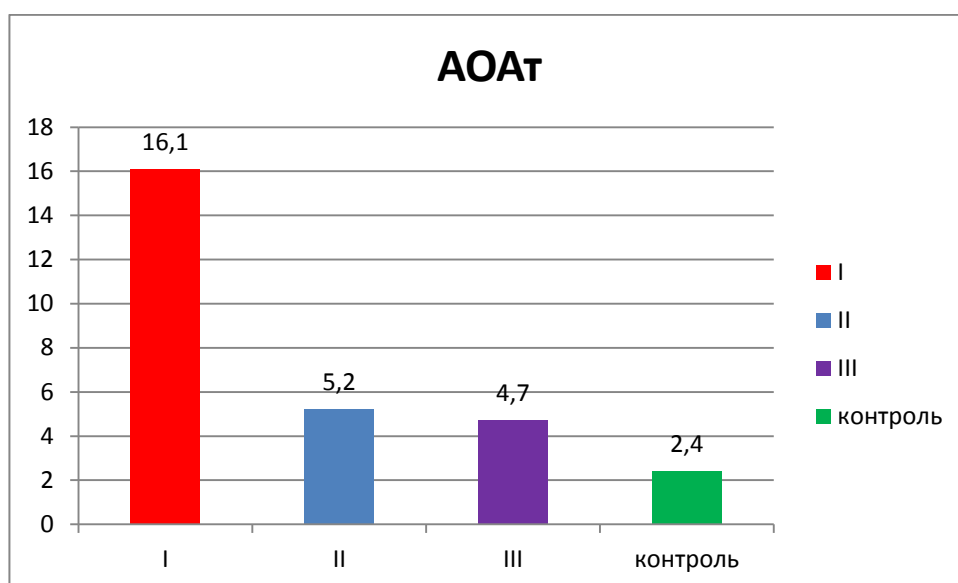


Рисунок 12 – Показатели антиовариальных антител в сыворотке крови пациенток исследуемых групп (Е/мл)

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.

### **3.5 Клинико-лабораторные особенности течения овариальной дисфункции в зависимости от выделенных гетерозиготных субгенотипов гена FMR1 у подростков с олигоменореей**

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:

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%.

### 3.6 Индивидуализированный алгоритм обследования и обоснования вида терапии подростков с олигоменореей

На основании результатов проведенного исследования, нами разработан индивидуализированный алгоритм обследования и обоснования вида терапии подростков с олигоменореей (рисунок 13).



Рисунок 13 - Индивидуализированный алгоритм обследования и обоснования вида терапии подростков с олигоменореей

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.

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.



## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На подготовительном этапе диссертационного исследования нами проработано состояние вопроса, после чего сформулирована научная гипотеза: дисфункция яичников, проявляющаяся олигоменореей у подростков, может быть связана с различными субгенотипами FMR1 вне «нормального» диапазона CGG повторов.

Для проверки данной гипотезы была сформулирована цель исследования – улучшить дифференциальную диагностику олигоменореи у подростков на основании исследования молекулярно-генетических маркеров как прогностических факторов овариальной недостаточности

Научно-исследовательская работа была проведена на базе НИИАП ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России в период с 2016 по 2018 г.г., была одобрена локальным этическим комитетом.

Исследования состояло из 4 этапов 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, обратившихся в консультативную поликлинику и гинекологическое отделение НИИАП ФГБОУ ВО РостГМУ по поводу первичной и вторичной

олигоменореи (N91.3, N91.4 по МКБ-10) и вторичной аменореи (N91.1 по МКБ-10). В группу контроля вошли 20 девочек-подростков с регулярным менструальным циклом, без соматической патологии. Участницы исследования полностью соответствовали тщательно разработанным общим и групповым критериям включения.

Учитывая данные об этнической изменчивости в распространенности генотипа премутации [Toledano-Alhadeef H., Basel-Vanagaite L., Magal N., et al., 2001; Tzeng C.C., Tsai L.P., Hwu W.L., et al., 2005], можно предположить различия в субгенотипах вне пределов «нормального» диапазона. В связи с этим, в исследование были включены только этнические русские.

Группы были сопоставимы по возрасту, который, в среднем, составлял 16,5 (17,7;15,4) лет.

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 АОАт, АМГ, Ингибина-В, белка FMR1. Определение аллельных вариантов генов FMR1 проводили методом ПЦР.

На **II этапе** проведено ретроспективное обсервационное исследование: рандомизация пациенток, страдающих олиго-амеореей, 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.

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)).

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.

Учитывая, что в патогенезе репродуктивных расстройств участвует две группы факторов – генетические и эпигенетические, мы исследовали анамнез жизни пациенток с подробным изучением перенесенных заболеваний.

В заболеваемости пациенток I группы превалировала аутоиммунная патология - 85% случаев, в 75% случаев представленная аутоиммунным тиреоидитом, в 10% случаев - ревматоидным артритом, в 25% случаев – витилиго.

У 55% пациенток I группы отмечены хронические болезни органов дыхания, у 35% - воспалительные заболевания наружных половых органов, у 35% - хронический пиелонефрит. Наличие совокупности хронического воспаления и аутоиммунной патологии у пациенток I группы, по-видимому, оказало синергичное воздействие на формирование хронического

воспалительного ответа, который, по мнению L.C. Morin-Papunen (2010), может привести к манифестации генетически запрограммированного СПКЯ [Morin-Papunen L.C., 2010].

Заболеваемость пациенток II группы, в основном, была представлена болезнями органов дыхания в 45,5% случаев - хроническим ринофарингитом; болезнями органов пищеварения – у 54,5% девочек был диагностирован хронический поверхностный гастрит; эндокринной патологией (36,4% случаев), которая была представлена диффузным нетоксическим зобом; воспалительными заболеваниями наружных половых органов – хронический вульвовагинит диагностирован у 36,4% пациенток. Таким образом, превалировала хроническая воспалительная патология в различных органах и системах, то есть имело место системное хроническое воспаление.

В III группе эндокринная патология была выявлена у 100 % больных: у 69,4% диагностирована гиперпролактинемия, у 22,4% – диффузный нетоксический зоб и у 8,2% – субклинический гипотиреоз, вследствие йодной недостаточности.

Межгрупповой сравнительный анализ данных анамнеза жизни пациенток, включая перенесенные заболевания, показал, что факторами, участвующими в развитии овариальной дисфункции у подростков, являются: в I группе – аутоиммунные заболевания (витилиго, аутоиммунный тиреоидит), во II группе – болезни органов дыхания и пищеварения; в III группе – болезни эндокринной системы – гиперпролактинемия. Группу контроля составляли здоровые девочки (I группа здоровья).

С целью определения факторов predisпозиции формирования дисфункции яичников у пациенток клинических групп, 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.

По возрастной характеристике родителей клинические группы статистически обоснованно различались, максимальный возраст, как отцов,

так и матерей был констатирован I и II группах. Наиболее высоким данный показатель был во II группе и, в среднем, составлял 29,6 (33,2; 29,1) лет у матерей и 30,1 (34,3; 29,3) у отцов, превышая возрастную характеристику родителей группы контроля ( $p < 0,05$ ). На основании проведенного сотрудниками «Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» и «Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования» анализа возрастной структуры матерей детей с врожденными аномалиями развития хромосомной и нехромосомной природы, выявлена прямая зависимость частоты хромосомных заболеваний от возраста матери. Рождение детей с пороками развития нехромосомной этиологии чаще встречается у матерей младшей и старшей возрастных групп. Преобладание в возрастной структуре матерей старшего возраста может рассматриваться как фактор риска врожденных пороков развития в целом [Демикова Н.С., Подольная М.А., Лапина А.С., 2020].

Рассматривая течение беременности у матерей обследованных нами пациенток, мы выявили большую распространенность отеков, протеинурии и гипертензивных расстройств (O12-O15 по МКБ-X) в I и III группах, по сравнению с контролем и II группой – 79% и 58% против 15 % и 41,7% соответственно ( $p = 0,0014$ ,  $\chi^2$  тест). По данным И.В. Даньковой, О.А. Мелкозеровой с соавт. (2015) у девочек, матери которых во время беременности страдали тяжелыми формами гестоза, отмечается наличие признаков гипогонадизма в пубертате: позднее менархе (13,1 лет), длительный период становления регулярного менструального цикла (34,4%), нарушения менструального цикла по типу гиперполименореи (13,7%), олигоменореи (19,4%) и дисменореи (27,81%) [Данькова И.В., Мелкозерова О.А., Гончарова С.В., 2015].

Патологическое течение 2-3 триместров беременности приводит к формированию различных эндокринопатий у ребенка – гипотиреозу, гипертиреозу, адреналовым нарушениям – врожденной гиперплазии коры

надпочечников и повышенной продукции андрогенов, что проявляется адреногенитальным синдромом и гиперандрогенией различной степени выраженности [Данькова И.В., Мелкозерова О.А., Гончарова С.В., 2015], что и было выявлено в I группе пациенток.

Эндокринная патология имела большую распространенность среди родителей I группы. Так, сахарным диабетом 1 типа до наступления беременности страдали 20% матерей пациенток I группы. В остальных группах случаев сахарного диабета I типа среди родителей зарегистрировано не было.

Среди других эндокринопатий у матерей пациенток I группы в 25% случаев были выявлены заболевания щитовидной железы (ДНТЗ 1-2 степени, гипотиреоз) и в 15% случаев - СПКЯ.

Воспалительные заболевания наружных и внутренних половых органов перед зачатием имели наибольшую распространенность среди матерей пациенток I группы. При хронических воспалительных процессах в организме матери формируются субклинические изменения в её иммунном статусе в виде повышения продукции нейротропных аутоантител, что может играть определенную роль в развитии неврологических, соматических или эндокринных заболеваний у ребенка. [Сидельникова В.М., Ледина А.В., 2000; Newschaffer C.J., Croen L.A., Daniels J., et al., 2007; Цахилова С.Г., Кузнецов В.П., Хмельницкая А.В., Зайналбекова Н.Г., Полетаев А.Б., 2016].

Следовательно, у пациенток I группы имелась генетическая предрасположенность к патологической активации иммунной системы, которая, по-видимому, могла привести к формированию аутоиммунной патологии. Известно, что определенные аллели генов системы HLA увеличивают риск развития аутоиммунных эндокринных заболеваний - сахарного диабета 1 типа [Sia C., Weinem M., 2005], аутоиммунного тиреоидита [Jacobson E.M., Huber A., Tomer Y., 2008], а также неэндокринных аутоиммунных заболеваний - ревматоидного артрита [Van Drongelen V., Holoshitz J., 2017]. Более того, при СД 1 определенные аллели

HLA увеличивают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний [Söderlund J., Forsblom C., Ilonen J., et al., 2012; Трошина Е.А., Юкина М.Ю., Нуралиева Н.Ф., Мокрышева Н.Г., 2020], которые имели большую распространенность среди родителей пациенток I и II групп, по сравнению с III и контрольной группами. Так, артериальной гипертензией страдали 20% матерей и 30% отцов пациенток I группы, что было выше на 15% аналогичных показателей группы контроля.

Табакокурение среди отцов пациенток I группы превышало показатели II группы и контроля на 11,8% и 28% соответственно, а табакокурение среди матерей было наиболее распространено во 2 группе, превышая значения I группы на 4,3% и группы контроля на 8,1% ( $p < 0,05$ ). Влияние никотина на внутриутробный плод неоднократно обсуждалось. Одним из последствий нейротоксического воздействия никотина на мозг плода описываются функциональные отклонения в репродуктивной системе вплоть до бесплодия в будущем [Glantz S.A., VAREHAM D.W., 2018; Fried P.A., 2002; Кутузова Л.А., Ряпова Э.И., 2018].

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

в I группе - аутоиммунные заболевания (вителиго, 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 ( $p < 0,05$ ,  $\chi^2$ -Пирсона) отягощение семейного анамнеза по материнской линии следующими заболеваниями:

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

Полученные результаты исследования позволят определить целевые группы девочек для проведения профилактики овариальной дисфункции.

Оценивая развитие вторичных половых признаков (по градациям Дж. Таннер (1979 г)), мы установили III-IV стадию полового развития у 45% пациенток I группы, что свидетельствовало о задержке полового развития, не смотря на то, что возраст менархе между группами не различался.

Анализ данных литературы показал, что средний возраст менархе у жительниц России находится в возрастном промежутке 12,2 – 12,6 лет [Гуркин Ю.А., Рухляда Н.Н., 2019], что совпадает с результатами нашего исследования.

Возраст менархе зависит от множества факторов и, прежде всего, от росто-весовых соотношений. ИМТ у пациенток исследуемых групп находился в нормативном интервале  $-1SD$  ИМТ -  $+1 SD$  ИМТ (17,9 – 23,7 кг/м<sup>2</sup>) и не имел межгрупповых различий ( $p > 0,05$ ).

Хронологически менархе совпадает с завершением созревания костной ткани и окончанием роста тела в длину. Процесс созревания костной ткани и наступление менархе напрямую зависят от уровня эстрогенов в крови [Гуркин Ю.А., Рухляда Н.Н., 2019].

Анализ меноциклограмм выявил нарушение менструального цикла по типу опсоменореи во всех клинических группах за исключением контроля. Наибольшая продолжительность межменструальных интервалов



регистрировалась во II и III группах – до 170 и 150 дней соответственно. У пациенток I группы данный показатель составлял 45-90 дней.

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 ( $p < 0,0001$ ,  $\chi^2$  тест), II и III группами ( $p < 0,0001$ ,  $\chi^2$  тест).

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

Проводя сравнительный анализ показателей адреналовой функции, мы выявили повышенные значения сывороточного содержания 17ГОН, ДГЭАс и АКТГ у пациенток I группы, что указывало на активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и в сочетании с клиникой заболевания – нарушение менструального цикла по типу опсоменореи, свидетельствовало о гиперандрогенной дисфункции яичников.

Гиперактивность адреналовой оси в периоде адренархе является триггером для формирования СПКЯ [Yen S.S.C., 1998)], при котором гиперандрогения имеет смешанный – овариально-адреналовый характер. Повышенные физические и психические нагрузки в пубертате через дисрегуляцию иммунной системы приводят к повышению уровня кортикостероидных гормонов и могут оказывать влияние на гипоталамо-гипофизарно-яичниковую ось.

Результаты нашего исследования согласуются с данными полученными N. Gleicher, A. Kim, A. Weghofer (2013), которыми было выявлено, что у женщин с «низким» субгенотипом отмечается низкая скорость превращения ДГЭА в тестостерон, по сравнению с «нормальным» генотипом. Дефицит конверсии ДГЭА/Т был выявлен в подгруппе пациенток с низким фолликулярным резервом яичников [Gleicher N., Kim A., Weghofer A., et al., 2013].

Наиболее высокий уровень секреции гонадотропинов, выходящий за пределы референсных значений и достоверно превышающий показатели I и III групп, выявлену пациенток II группы, 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 [Kallirroi C., Pantelis A., Pampanos A., et al., 2017]. Безусловно, в этиологии данного заболевания ведущую роль играет наследственность. Наличие в семейном анамнезе случаев ПНЯ в 6 раз повышает риск ПНЯ у будущих поколений [Webber1 L., Davies1 M., Anderson R., et al., 2016; Кумыкова З.Х., Батырова З.К., Уварова Е.В., 2019].

Несмотря на то, что данное заболевание встречается достаточно редко у подростков и молодых женщин - 10 случаев на 100 000 пациентов в год в возрасте 15–29 лет [Rula V.K., Nana A.O., Mekibib A., et al., 2018], исключать диагностику ПНЯ из алгоритма обследования подростков с олигоменореей нельзя, особенно при гипергонадотропном гипогонадизме.

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

Показатели эстрадиола и кортизола не имели межгрупповых различий и не выходили за границы нормативов ( $p > 0,05$ ). 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 ( $p < 0,05$ ), 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 [Гуркин Ю.А., Рухляда Н.Н., 2019]. Проведение межгруппового сравнительного анализа, выявило наименьшие размеры матки во II группе - 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 ( $p < 0,05$ ).

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» [Гуркин, Ю.А., Рухляда Н.Н., 2019].

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

У пациенток I группы наличие более 12 фолликулов в каждом яичнике, ановуляции и биохимической гиперандрогении соответствовало диагностическим критериям СПКЯ [Azziz R., Carmina E., Dewailly D., et al. 2006].

При проведении аутоиммунного скрининга был выявлен повышенный титр антитиреоидных антител у пациенток I группы, что в сочетании с результатами ультразвуковой визуализации позволило диагностировать гипертрофическую форму АИТ у 30% пациенток I группы.

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 антитиреоидных 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 оценили маркеры овариального резерва и уровень FMR1P у пациенток исследуемых групп.

Наиболее высокие показатели данного белка 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. Наши результаты отчасти расходятся с данными, опубликованными V. Noto, C. Harrity, D. Walsh с соавт. (2016), в работе которых говорится о снижении синтеза данного белка не только при генотипе гет-норма/высокий, но и гет-норма/низкий (Noto V., Harrity C., Walsh D., Marron K., 2016). Данное расхождение обусловлено различным возрастным диапазоном обследованных пациенток. В цитируемой работе приведены данные обследования женщин 33-34 лет, мы занимались исключительно подростками.

Сывороточное содержание FMR1P у пациенток III и контрольной групп не имело межгрупповых различий ( $p > 0,05$ ).

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 ( $p < 0,001$ ).

У носительниц промежуточного числа CGG-повторов (45–54) и премутации (55–200 CGG-повторов) уровень FMR1P часто является нормальным или несколько сниженным, в результате возникает ошибка трансляции, приводящая к высокому содержанию в клетке мРНК. Предполагается, что такое накопление мРНК оказывают цитотоксическое

действие и у трансгенных мышей вызывает преждевременную недостаточность яичников (ПНЯ) [Lu C., Lin L., Tan H., et al., 2012]. Причем на данной биологической модели продемонстрировано, что при премутации FMR1 не поражаются первичные фолликулы, а только последующие этапы фолликулогенеза за счет усиленного фолликулярного апоптоза.

Связь между нефизиологической продукцией FMR1P и развитием гипопункции яичников объясняется подавлением у больных с измененным числом CGG-повторов пролиферативной способности фолликулов и блокадой их роста, развития и созревания. В 2005 г. на моделях животных продемонстрировано влияние этого гена на овариальный резерв за счет регулирования пролиферации герминативных клеток зародышей [Allen E.G., et al., 2007; Wittenberger M.D., et al. 2007].

На функциональное состояние яичников влияет 2 вида факторов: генетические и средовые. К средовым относятся любые воздействия, связанные со средой обитания, инфекцией, хроническими заболеваниями, приемом медикаментов, стрессом и т.д. Если действие генетических факторов запрограммированно снижает овариальный резерв, то средовые воздействия случайны, но также как и генетические могут приводить к уменьшению фолликулярного запаса яичников или к дисфункции яичников.

В немногочисленных работах высказано предположение о том, что АМГ является одним из регуляторов (блокаторов) выхода покоящихся фолликулов из примордиального пула, их вступления в фазу активного роста и выбора фолликулов, чувствительных к ФСГ, находящихся на ранней антральной стадии [Черных В.Б., Курило Л.Ф., 2001]. Причем данная регуляция носит ограничительный характер (нокаут-эффект): АМГ тормозит дальнейший рост этих фолликулов за счет уменьшения их чувствительности к ФСГ, а также уменьшает число рецепторов к ЛГ в клетках гранулезы, снижает уровень эстрадиола и тормозит рост примордиальных фолликулов. АМГ более достоверный маркер числа преантральных и малых антральных

фолликулов, чем подсчет числа фолликулов при УЗИ [Dewailly D., Andersen C.Y., 2014].

В настоящее время имеются доказательства того, что различные генотипы FMR1 различаются по скорости рекрутирования фолликулов, что отражается на овариальном резерве, оцениваемом по уровню АМГ.

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, вступивших в фазу активного роста, что и обуславливает высокий уровень АМГ в данной группе. В свою очередь, АМГ тормозит выход покоящихся фолликулов из примордиального пула, их вступления в фазу активного роста.

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%.

Если АМГ – биомаркер гормончувствительной фазы фолликулогенеза [Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2009], которая происходит при наличии порогового уровня гонадотропинов, то Ингибин В является биомаркером гормонзависимой стадии фолликулогенеза [Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2009], так как секретируется клетками гранулезы малых антральных фолликулов, рост и созревание которых контролируется ФСГ.

АМГ и Ингибин В – яичниковые пептиды, которые являются лигандами трансформирующего фактора роста- $\beta$  (ТФР- $\beta$ ). Концентрация Ингибина В отражает число фолликулов, отобранных из примордиального

пула, которые могут созревать и овулировать [Александрова Н.В., Марченко Л.А., 2007]. Низкие значения Ингибина В (ниже 40 пг/мл) при нормальном уровне ФСГ являются ранним маркером снижения овариального резерва [Александрова Н.В., Марченко Л.А., 2007].

Наиболее низкий уровень ингибина В имели пациентки II группы. Снижение данного показателя 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]. У пациенток II группы значения как АМГ, так и Ингибина В были достоверно снижены относительно других исследуемых групп ( $p < 0,05$ ), что указывало на патологические изменения гормончувствительной и гормонзависимой фаз фолликулогенеза. 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 белка FMR1 и указывает на нарушение процесса фолликулогенеза, в виде патологически измененных гормончувствительной и гормонзависимой фаз фолликулогенеза 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 [Gleicher N., Weghofer A., 2010].

В небольшом пилотном исследовании появились сведения о взаимосвязи гет-норма/низкого субгенотипа с СПКЯ с быстро истощающимся овариальным резервом [Barad D.H., Weghofer A., Goyal A., et al., 2009]. Известно, что у лиц с генотипом гет-норма/низкий 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 при проведении аутоиммунного скрининга, мы выявили повышенный титр органоспецифических аутоантител – к ТПО и антигенам яичника, превышающие диагностический титр и свидетельствующие о наличии аутоиммунной патологии.

У девочек I группы уровень ингибина В в сыворотке крови был в норме, что свидетельствует о полноценной фазе роста антральных фолликулов. Однако, 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 FMR1гет – 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** проведено обобщение полученных результатов, разработка индивидуализированного алгоритма обследования с обоснованием вида терапии у подростков с овариальной дисфункцией, проявляющейся олигоменореей, что являлось решением **задачи № 5**.

На основании результатов проведенного исследования, нами разработан индивидуализированный алгоритм обследования и обоснования вида терапии подростков с олигоменореей.

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 её наличии - проводить исследование полиморфизма CGG повторов в гене FMR1.

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.

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.

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 выявили клиническую неоднородность когорты пациенток с олигоменореей, обусловленную различными гетерозиготными субгенотипами гена FMR1. Это позволило нам сформулировать клинико-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%.

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

в I группе – аутоиммунные заболевания (вителиго, 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 ( $p < 0,05$ ,  $\chi^2$ -Пирсона) отягощение семейного анамнеза по материнской линии:

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

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

На основании результатов проведенного исследования, нами разработан индивидуализированный алгоритм обследования и обоснования вида терапии подростков с олигоменореей:

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.

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.

## 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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АГ – артериальная гипертензия

АОАт – антиовариальные антитела

Ат к ТПО – антитела к тироксинпероксидазе

АИТ – аутоиммунный тиреоидит

АКТГ – адренкортикотропный гормон

АМГ – антимюллеров гормон

ВАШ – визуально-аналоговая шкала боли

ВДКН – врожденная дисфункция коры надпочечников

ГнРГ – гонадотропин-рилизинг гормон

ГСПГ – глобулин связывающий половой гормон

ДГЭА – дегидроэпиандростерон

ДГЭАс – дегидроэпиандростерон сульфат

ДНТЗ – диффузный нетоксический зоб

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИМТ – индекс массы тела

ИСТ – индекс свободного тестостерона

ИФА – иммуноферментный анализ

КОК - комбинированные оральные контрацептивы

ЛГ – лютеинизирующий гормон

НИИАП ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России -НИИАП ФГБОУ ВО  
РостГМУ Минздрава России,

НЛФ –недостаточность лютеиновой фазы

ПНЯ – преждевременная недостаточность яичников

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

СД – сахарный диабет

СПКЯ – синдром поликистозных яичников  
СТГ – соматотропный гормон  
ТТГ – тиреотропный гормон  
ТФР-β – трансформирующий фактор роста-бетта  
Т3св. – трийодтиронин свободный  
Т4св. – тироксин свободный  
ТПО - тироксинпероксидаза  
УЗИ – ультразвуковое исследование  
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон  
ЧШБ – числовая шкала боли  
ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение  
17-ГОП – 17 гидроксипрогестерон  
Cort- кортизол  
CGG – цитозин гуанини гуанин  
E2 – эстрадиол  
FMR1 – ген ломкой X хромосомы  
FMR1P – белок ломкой X хромосомы  
FX-TAS – тремор-атактический синдром  
FX-POI – первичная недостаточность яичников  
FRAXA – синдром хрупкой X-хромосомы  
FXTAS – синдром хрупкой X-хромосомы тремор/атаксия  
Het – гетерозиготный генотип  
Hom – гомозиготный генотип  
POI – первичная недостаточность яичников  
PO – недостаточность яичников  
POF - преждевременная недостаточность яичников  
Pg – прогестерон  
Prol – пролактин  
T – тестостерон

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абашова Е.И., Шалина М.А., Мишарина Е.В., и др. Клинические особенности фенотипов синдрома поликистозных яичников у женщин с нормогонадотропнойановуляцией в репродуктивном возрасте // Журнал акушерства и женских болезней. - 2019. - Т. 68. - №3. - С. 7-14. doi: [10.17816/JOWD6837-14](https://doi.org/10.17816/JOWD6837-14)
2. Александрова, Н.В., Марченко Л.А. Современные подходы к оценке овариального резерва у женщин с преждевременной недостаточностью яичников (обзор литературы)// Проблемы репродукции, 2007.-N 2.- С.22-29.
3. Андреева В.О., Герамисова И.А., Машталова А.А. / Состояние овариального резерва у девочек-подростков с аутоиммунным оофоритом //Репродуктивное здоровье детей и подростков. -2013. -Т.1. – С 35-44.
4. Андреева В.О, Хошаби К.Э., Аперян А.В., Андреева С.С., Шухардина Т.А./ Факторы риска формирования овариальной дисфункции у подростков с ожирением// Репродуктивное здоровье детей и подростков. –2019. – Т. 15, №3. – С. 22-32.
5. Андреева В.О., Петров Ю.А.,Аперян А.В. /Клинико-диагностическое значение ммолекулярно-генетических маркеров в генезе олигоменореи у подростков//Репродуктивное здоровье детей и подростков. -2019. –Т. 15, №4. –С. 25-35.
6. Боярский, К.Ю. Факторы, определяющие овариальный резерв женщины (обзор литературы) / К.Ю. Боярский, С.Н. Гайдуков, А.С. Чкуасели // Журн. акушерства и женских болезней. – 2009. – Т. 58, №2. – С. 65-71.
7. Боярский, К. Ю. Роль антимюллера гормона (АМГ) в норме и при различных гинекологических заболеваниях / К.Ю. Боярский // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – Т. 58, № 3. – С. 74-83.

8. Буралкина Н.А., Уварова Е.В., Русейкин Н.С. Параметры овариального резерва у здоровых девочек Республики Мордовия в возрасте 15 лет // Научные труды III съезда физиологов СНГ «Физиология здоровья человека». Под ред. А.И. Григорьева, О.А. Крышталя, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили. – М.: Медицина – Здоровье, 2011. – 336с. – С. 221.
9. Ванян, Р.Э., 2015 Клинико-диагностическое значение аутоиммунных и генетических факторов при "бедном" овариальном ответе на стимуляцию суперовуляции в программах вспомогательных репродуктивных технологий//Автореферат дис. ... - Москва, 2015.- 26с.
- 10.Гуркин Ю.А., Рухляда Н.Н. Гинекология детского и подросткового возраста. –М. - 2019 г. –С. 392.
11. Габибуллаева, З.Г. Прогностические критерии формирования преждевременной недостаточности яичников/ Л.А. Марченко, Н.В. Александрова, З.Г. Габибуллаева, Л.Б. Бутарева, Н.Д. Фанченко // Практическая гинекология: от новых возможностей к новой стратегии. материалы конгресса. -М.-2006.–С. 313.
12. Габибуллаева, З.Г. Генетические и хромосомные факторы в генезе формирования преждевременной недостаточности яичников/ Л.А. Марченко, З.Г. Габибуллаева, Г.И. Табеева // Современные технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний. материалы конгресса.-М.,-2007.С.576 – 578.
13. Габибуллаева, З.Г. Клинико-лабораторные варианты течения преждевременной недостаточности яичников/ Марченко Л.А., Габибуллаева З.Г., Табеева Г.И., Бутарева Л.Б, Чернышова Н.А.// Репродуктивное здоровье: материалы II международного конгресса по репродуктивной медицине.-М.,- 2008.-С.211 – 213.
14. Гинекология детского и подросткового возраста: Руководство для врачей/Ю.А. Гуркин, Н.Н. Рухляда. –М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2019. – 392 с.

15. Гуркин, Ю. А. Гинекология подростков. Руководство для врачей / Ю.А. Гуркин. – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 574 с.
16. Демикова Н.С., Подольная М.А., Лапина А.С. Возраст матери как фактор риска врожденных пороков развития. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2020;65(2):34-39. <https://doi.org/10.21508/1027-4065-2020-65-2-34-39>
17. Игебаева, Ф. А. О механизмах регулирования воспроизводства населения города//Новые парадигмы общественного развития: экономические, социальные, философские, политические, правовые, общенаучные тенденции и закономерности. Материалы международной научно-практической конференции - В 4-х частях. Ч. 4. Саратов: Изд-во: «Академия управления», 2016, – С. 97 – 98.
18. Йен, С. С. К. Репродуктивная эндокринология: В 2 т. [Пер. с англ.]/Йен С.С.К., Джаффе Р.Б. – М.: Медицина, 1998. – Т.1. – 704 с.; Т.2. 432 с.
19. Кулаков В.И., Кузнецова М.Н., Мартыш Н.С.// Ультразвуковая диагностика в гинекологии детского и подросткового возраста. - Н. Новгород: Изд-во Нижегород. гос. мед. акад., 1997. - 109,[2] с.: ил.; 21 см.
20. Кумыкова З.Х., Батырова З.К., Уварова Е.В. Преждевременная недостаточность яичников в раннем репродуктивном возрасте: современные аспекты диагностики и ведения. Репродукт. здоровье детей и подростков. 2019. Т. 15, № 4. С. 53–60. doi: 10.24411/1816-2134-2019-14006.
21. Кутузова Л.А., Ряпова Э.И. Влияние табакокурения на провизорные органы эмбриона. патологии развития плода//Международный студенческий научный вестник. – 2018. – № 6.; URL: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=19327>.
22. Левкович М.А., Новые иммунологические аспекты инсулинорезистентности при ожирении у девочек-подростков/ М.А. левкович, В.О. Андреева, К.Э. Хошаби, В.А. Линде и



- [др.]//Репродуктивное здоровье детей и подростков. -2015. -№1. –С 58-66.
23. Менжинская, И.В./ Ассоциация антител к гонадотропинрилизинг-гормону с нарушениями репродуктивной функции человека/Менжинская И.В., Ванько Л.В., Кирющенко П.А., Тер-Аванесов Г.В., Гаврилов Ю.А., Сухих Г.Т.// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2013.-N 6.-С.675-678.
24. Методические рекомендации: Оценка физического развития детей и подростков. В.А. Петеркова, Е.В. Нагаева, Т.Ю. Ширяева. Москва, 2017 г, 98 стр.
25. Мишиева Н.Г. Бесплодие у женщин позднего репродуктивного возраста: принципы диагностики и лечения в зависимости от овариального резерва: автореф. дис... доктора мед.наук/ Н.Г. Мишиева. – М., 2008. – 48 с.
26. Приказ Минздрава России от 20.12.2012 № 1075н. Зарегистрировано в Минюсте России 13.03.2013 № 27658.
27. Сидельникова В.М., Ледина А.В. Тактика ведения женщин с привычным невынашиванием беременности и хронической энтеровирусной инфекцией. Гинекология. 2000;2:3:72-76;
28. Соболева С.В., Смирнова Н.Е., Чудаева О.В. Демографическая ситуация в России: настоящее и будущее. Мир новой экономики, 2016. –Т.10. -№3. –С. 106-115.
29. Собрание законодательства Российской Федерации, 2011, N 48, ст. 6724; 2012, N 26, ст. 3442, 3446.
30. Табеева, Г.И. Оценка андрогенного статуса при преждевременной недостаточности яичников и дифференцированный подход к лечению: Дис. ... канд.мед.наук – М., 2009. – С. 85–86.
31. Трошина Е.А., Юкина М.Ю., Нуралиева Н.Ф., Мокрышева Н.Г. Роль генов системы HLA: от аутоиммунных заболеваний до COVID-

19. Проблемы эндокринологии. — 2020. — Т. 66. — №4. — С. 9–15.  
doi: <https://doi.org/10.14341/probl12470>.
32. Уварова, Е. В. Пособие по обследованию состояния репродуктивной системы детей и подростков/ Е.В. Уварова, Д.И. Тарусин. – М.: Триада Х, 2009. – 232 с.
33. Уварова, Е.В.// Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2010. – Т. 32. – №3. – С. 20-28.
34. Уварова, Е.В. Олигоменорея. Симптом или болезнь? / Е.В. Уварова // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2012. – № 5. – С. 86-92.
35. Уварова Е.В., Григоренко Ю.П./Опыт использования пролангированного режима (24/4) комбинированных оральных контрацептивов у подростков с синдромом поликистозных яичников//Репродуктивное здоровье детей и подростков. -2018. – №1. –С. 45-52.
36. Цахилова С.Г., Кузнецов В.П., Хмельницкая А.В., Зайналбекова Н.Г., Полетаев А.Б. Влияние иммунного статуса матери на развитие плода и здоровье новорожденного (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2016;22(6):38-43.
37. Черных В.Б., Курило Л.Ф. Синдром персистенции мюллеровых протоков // Проблемы репродукции. – 2001 – №7. – С. 20-24.
38. Федеральные клинические рекомендации (протоколы) по ведению детей с эндокринными заболеваниями. Под ред. И.И. Дедова и В.А. Петерковой. – М.: Практика, 2014. – 442 стр.
39. Шамилова Н.Н., Марченко Л.А, Долгушина Н.В., Кузнецова Е.Б., Залетаев Д.В.// Роль генетических и аутоиммунных нарушений в развитии преждевременной недостаточности яичников.Акушерство и гинекология. - 2012. - № 4, вып. 2. - С. 67-72.

40. Шамилова Н.Н., Марченко Л.А. Можно ли рассмотреть ген FMR1 как предиктор раннего старения? // *Акушерство и гинекология*, 2011. - №4. - С.11-15.
41. Шилин, Д.Е., Пыков М.И. Ультразвуковое исследование щитовидной железы. Клиническое руководство по ультразвуковой диагностике в педиатрии. Под ред. М.И. Пыкова, К.В. Ватолина. М.: Видар, 2001. - С. 556-591.
42. Шилин, Д.Е. Клинические аспекты ультразвуковой диагностики заболеваний щитовидной железы. *SonoAceInternational*, 2001, № 8, с. 3-10.
43. Allen EG, Weiya He, Yadav-Shah M, Sherman S. A study of the distributional characteristics of FMR1 transcript level in 238 individuals. // *Hum Genet.* -2004. -Vol. 114, - P. 439-447.
44. Allen EG, Sullivan AK, Marcus M, Small C, Dominguez C, Epstein MP, et al. Examination of reproductive aging milestones among women who carry the FMR1 premutation // *Hum. Reprod.* - 2007. - Vol. 22, № 8. - P. 2142-2152.
45. Azziz R, Carmina E, Dewailly D et al. Positions statement: Criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Nov; 91(11):4237-45.
46. Barad D.H., Weghofer A., Goyal A., Gleicher N. Further refinement in defining the effect of heterozygous-abnormal CGG counts on the FMR1 (Fragile X) gene: definition of a distinct subgroup of PCOS patients, based on normal/low genotype. *FertilSteril.* 2009;92(Suppl):S105.
47. Bretherick, K. L., Fluker, M. R., & Robinson, W. P. FMR1 repeat sizes in the gray zone and high end of the normal range are associated with premature ovarian failure. *Human Genetics.* -2005. -Vol. 117. -P. 376-382.
48. Bianchi I, Lleo A, Gershwin ME, Invernizzi P. The X chromosome and immune associated genes. *J Autoimmun* [Internet] 2012.

49. Broekmans F.J, Soules M.R., Fauser B.C. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev.* 2009;30:465–493.
50. Bodega B., Bione S., Dalpra L. et al. Influence of intermediate and uninterrupted FMR1 CGG expansions in premature ovarian failure manifestation // *Hum. Reprod.* - 2006. - Vol. 21. - P. 952-957.
51. Chen L.S., Tassone F., Sahota P., Hagerman P.J. The (CGG) n repeat element within the 5' untranslated region of the FMR1 message provides both positive and negative cis effects on in vivo translation of a downstream reporter // *Hum. Mol. Genet.* - 2003. - Vol. 12. - P. 3067-3074.
52. Devys D., Lutz Y., Rouyer N. et al. The FMR1 protein is cytoplasmic, most abundant in neurons and appears normal in carriers of a fragile X permutation // *Nat Genet.* – 1993. – V. 4. – № 4. – P. 335-340.
53. De Geyter C, M'Rabet N, De Geyter J, Zürcher S, Moffat R, Bösch N, et al. Similar prevalence of expanded CGG repeat lengths in the fragile X mental retardation I gene among infertile women and among women with proven fertility: a prospective study. *Genet Med [Internet]* 2014;16:374–378.
54. Edward E. Wallach. The FMR1 premutation and reproduction//*Fertil and Steril.* – 2007. – Vol. 87. – P. 456–465.
55. Faddy MJ and Gosden RG (1995): A mathematical model of follicle dynamics in the human ovary. *Hum Reprod* 10,770–775.
56. Faddy, M.J. and Gosden, R.G. (1996): A model conforming the decline in follicle numbers to the age of the menopause in women. *Hum Reprod* 11, 1484-1486.
57. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BCJM, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod [Internet]* 2011;26:1616–1624.
58. Final Report National Institute of Health. Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome December 3-5, 2012 [cited 2019

- May 20]. Available from: <https://prevention.nih.gov/research-priorities/research-needs-and-gaps/pathways-prevention/evidence-based-methodology-workshop-polycystic-ovary-syndrome-pcos>.
59. Fried P.A. Prenatal exposure to tobacco and marijuana: effects during pregnancy, infancy, and early childhood. *Clin. Obstet.Gynecol.* - 2002. - Vol. 36. - P. 319-33
60. Frisch, R.E. Female fertility and the body fat connection/ R.E. Frisch. – Chicago: University of Chicago, 2004. -208 p.
61. Garber K.B., Visootsak J., Warren S.T. Fragile X syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2008;16:666–672. doi: 10.1038/ejhg.2008.61.
62. Glantz S.A., Bareham D.W. Cigarettes: use, effects on smoking, risks, and policy implications. *Annu Rev Public Health* . - 2018. - №37. - P. 215-235.
63. Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H. A pilot study of premature ovarian senescence: I. correlation of triple CGG repeats on the FMR1 gene to ovarian reserve parameters FSH and anti-Müllerian hormone // *Fertil. and Steril.* — 2009. — Vol. 91. — P. 1700–1706.
64. Gleicher N., Weghofer A., Oktay K. Can the FMR1 (fragile X) gene serve as predictor of response to ovarian stimulation?// *Reprod. Sci.* — 2009. — Vol. 16. — P. 462–467.
65. Gleicher N., Weghofer A., Oktay K. et al. Relevance of triple CGG repeats in the FMR1 gene to ovarian reserve // *Reprod. Biomed. Online.* — 2009. — Vol. 19, № 3. –P. 385–390.
66. Gleicher N, Weghofer A, Oktay K, Barad D. Relevance of triple CGG repeats in the FMR1 gene to ovarian reserve. *Reprod Biomed Online* 2009;19:385–390. doi: 10.1016/S1472-6483(10)60173-3.
67. Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H. A pilot study of premature ovarian senescence: II. Different genotype and phenotype for genetic and autoimmune etiologies// *Fertil. and Steril.* — 2009. — Vol. 91, № 5. — P. 1707—1711.

68. Gleicher N., Weghofer A., Oktay K. Do etiologies of premature ovarian aging (POA) mimic those of premature ovarian failure (POF)? // *Hum. Reprod.* — 2009. — Vol. 24. — P. 2395–2400.
69. Gleicher N., Weghofer A., Oktay K., Barad D.H. Correlation of triple repeats on the FMR1 (fragile X) gene to ovarian reserve: a new infertility test? // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* — 2009. — Vol. 88. — P. 1024–1030.
70. Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H. Effects of race/ethnicity on triple CGG counts on FMR1 gene in infertile women and egg donors // *Reprod. Biomed. Online* — 2010. — Vol.20, № 4. — P. 485—491.
71. Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H. Ovarian reserve determinations suggest new function of FMR1 (fragile X gene) in regulating ovarian ageing. *Reprod Biomed Online*. 2010; 20: 768–775.
72. Gleicher N, Weghofer A, Lee I.H., Barad D.H. Association of FMR1 genotypes with in vitro fertilization (IVF) outcomes based on ethnicity/race. *PLoS One*. 2011;6:2–7.
73. Gleicher N., Weghofer A., Lee I.H., Barad D.H. FMR1 genotype with autoimmunity-associated polycystic ovarylike phenotype and decreased pregnancy chance. *PLoS One*. 2010; 5: e15303.
74. Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H. Cutting edge assessment of the impact of autoimmunity on female reproductive success. *J Autoimmun* [Internet] 2012;38:J74–J80.
75. Gleicher N., Kim A., Weghofer A., Kushnir V.A., Shohat-Tal A., Lazzaroni E., Lee H.J., Barad D.H. Hypoandrogenism in association with diminished functional ovarian reserve. *Hum. Reprod.* 2013; 28(4):1084–1091.
76. Gleicher N., Kim A., Weghofer A., Shohat-Tal A., Lazzaroni E., Lee H-J., et al. Starting and resulting testosterone levels after androgen supplementation determine at all ages in vitro fertilization (IVF) pregnancy rates in women with diminished ovarian reserve (DOR) *J Assist Reprod Genet* [Internet] 2013;30:49–62.

77. Gleicher N., Yu Y., Himaya E., Barad D.H., Weghofer A, Wu Y-G, et al. Early decline in functional ovarian reserve in young women with low (CGGn<26) FMR1 gene alleles. *Transl Res* [Internet] 2015.
78. Gleicher N., Weghofer A., Barad D.H. Ovarian reserve determinations suggest new function of FMR1 (fragile X gene) in regulating ovarian ageing. *RBMOnline* 2010 doi:10.1016/j.rbmo.2010.02.020.
79. Gleicher N., Weghofer A., Lee I.H., Barad D.H., Mailund T. 2 *FMR1* Genotype with Autoimmunity-Associated Polycystic Ovary-Like Phenotype and Decreased Pregnancy Chance. [Internet] doi.org/10.1371/journal.pone.0015303. December 16, 2010.
80. Gregory R. I., Chendrimada T. P., Shiekhattar R. MicroRNA biogenesis: isolation and characterization of the microprocessor complex (англ.) // *Methods Mol. Biol.* (англ.)рус. : journal. — 2006. — Vol. 342. — P. 33—47. — ISBN 1-59745-123-1. — doi:10.1385/1-59745-123-1:33. — PMID 16957365
81. Grindler NM, Allsworth JE, Macones GA, Kannan K, Roehl KA, Cooper AR. Persistent organic pollutants and early menopause in U.S. women. *PLoS One*, 2015;10:e0116057.
82. Gustin S.L.F., Ding V.Y., Desai M., Leader B., Baker V.L. Evidence of an age-related correlation of ovarian reserve and FMR1 repeat number among women with 'normal' CGG repeat status. *J Assist Reprod Genet*, 2015;32:1669–1676.
83. Hagerman R.J., Hall D.A., Coffey S, Leehey M., Bourgeois J., Gould J., et al. Treatment of fragile X-associated tremor ataxia syndrome (FXTAS) and related neurological problems. *Clin Interv Aging* [Internet] 2008;3:251–262.
84. Hawley R.S., Mori C.A. *The human genome: a user's guide* [Internet]. 2010; Academic Press Available from: <https://books>.
85. Huang R, Zheng J, Li S, et al. Characteristics and contributions of hyperandrogenism to insulin resistance and other metabolic profiles in

- polycystic ovary syndrome. *ActaObstetGynecolScand.* 2015;94(5):494-500. <https://doi.org/10.1111/aogs.12612>.
86. Jacobson E.M., Huber A., Tomer Y. The HLA gene complex in thyroid autoimmunity: from epidemiology to etiology. *J Autoimmun.* 2008;30(1-2):58–62. doi: 10.1016/j.jaut.2007.11.010.
87. Kallirrois C., Pantelis A., Pampanos A., et al. Premature ovarian insufficiency: an adolescent series. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2017; 30: 615–9
88. Knauff E.A.H. Premature ovarian failure from phenotype to genotype. – Amsterdam: Thesis, Utrecht University, the Netherlands, 2009. – P. 9–27.
89. Liu J., Cox L. Primary ovarian insufficiency: an update. *Int J Womens Health [Internet]* 2014;6:235. doi: 10.2147/IJWH.S37636.
90. Lledo B., Guerrero J., Ortiz J.A., Morales R., Ten J., Llacer J., et al. Intermediate and normal sized CGG repeat on the FMR1 gene does not negatively affect donor ovarian response. *Hum Reprod [Internet]* 2012;27:609–614. doi: 10.1093/humrep/der415.
91. Lu C., Lin L., Tan H., Wu H., Sherman S.L., Gao F., et al. Fragile X premutation RNA is sufficient to cause primary ovarian insufficiency in mice. *Hum Mol Genet* 2012;21:5039–5047. doi: 10.1093/hmg/dds348.
92. Mailick M.R., Hong J., Rathouz P., Baker M.W., Greenberg J.S., Smith L., et al. Low-normal FMR1 CGG repeat length: phenotypic associations. *Front Genet [Internet]* 2014;5:1–8.
93. Mallolas, J., Duran, M., Sanchez, A., et al., Implications of the FMR1 Gene in Menopause: Study of 147 Spanish Women, *Menopause*, 2001, vol. 8, no. 2, pp. 106–110.
94. Marozzi A. Association between idiopathic premature ovarian failure and fragile X premutation. *Hum Reprod [Internet]* 2000;15:197–202.
95. McCaffery, M. *Pain: Clinical Manual for Nursing Practice*/ M.McCaffery, A. Beebe. – 1st Ed., Baltimore, Mosby Company, London, 1993.



96. Moran C, Arriaga M, Rodriguez G, Moran S. Obesity differentially affects phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Int J Endocrinol.* 2012;2012:317241. <https://doi.org/10.1155/2012/317241>.
97. Morin-Papunen L.C. et al. Chlamydia antibodies and self-reported symptoms of oligo-amenorrhea and hirsutism: A new etiologic factor in polycystic ovary syndrome? *Fertility and Sterility.* – 2010. – Vol. 94, № 5. – P 1799-1804.
98. Murray A., Webb J., MacSwiney F., Shipley E.L., Morton N.E., Conway G.S.(1999) Serum concentrations of follicle stimulating hormone may predict premature ovarian failure in FRAXA premutation women. *Hum Reprod* 14:1217–1218
99. Nelson L.M. Clinical practice. Primary ovarian insufficiency // *N. Engl. J. Med.* - 2009. - Vol. 360. - P. 606-614.
100. Newschaffer C.J., Croen L.A., Daniels J., et al. The epidemiology of autism spectrum disorders. *AnnRevPublicHealth.* 2007;28:235- 258;
101. Nikolaou D., Templeton A. Early ovarian ageing // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* - 2004. - Vol. 113. - P. 126-133.
102. Nicolaides N.C., Matheou A., Vlachou F., Neocleous V., Skordis N. Polycysticovarian syndrome in adolescents: From diagnostic criteria to therapeutic management. *Acta Biomed.* 2020 Sep. 7;91(3):e2020085. doi: 10.23750/abm.v91i3.10162. *Acta Biomed.* 2020. PMID: 32921781 Free PMC article. Review.
103. Noto V. The impact of FMR1 gene mutations on human reproduction and development: a systematic review/ V. Noto, C. Harrity, D. Walsh, K. Marron // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics.* - September 2016. - Volume 33. -Issue 9. – pp. 1135–1147.
104. Oberle I., Rousseau F., Heitz D., Kretz C., Devys D., Hanauer A., Boue J., Bertheas M.F. and Mandel J.L. Instability of a 550-base pair D.N.A segment and abnormal methylation in fragile X syndrome // *Science.* – 1991. – V. 252. – № 5010. – P. 1097-1102.

105. Panidis D, Tziomalos K, Misichronis G, et al. Insulin resistance and endocrine characteristics of the different phenotypes of polycystic ovary syndrome: a prospective study. *HumReprod.* 2011;27(2):541-549. <https://doi.org/10.1093/humrep/der418>.
106. Persani L., Rossetti R., Cacciatore C. Genes involved in human premature ovarian failure. *J Mol Endocrinol [Internet]* 2010; 45:257–279.
107. Pouresmaeili F., Fazeli Z. Premature ovarian failure: a critical condition in the reproductive potential with various genetic causes. *Int J FertilSteril [Internet]* 2014;8:1–12.
108. Pu D., Xing Y., Gao Y., Gu L., Wu J. Gene variation and premature ovarian failure: a meta-analysis. *Eur J Obstet. Gynecol .Reprod. Biol.[Internet]* 2014.
109. Reindollar RH. Turner syndrome: contemporary thoughts and reproductive issues. *Semin Reprod Med [Internet]* 2011;29:342–352. doi: 10.1055/s-0031-1280919.
110. Rife M. et al. Immunohistochemical FMR1 studies in a full mutated female fetus //Am. J. Med. Genet. – 2004. — Vol. 124. — P. 129—132.
111. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *FertilSteril* 2004; 81: 19–25.
112. Rotterdam EA-SPcwg. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *HumReprod.* 2004;19(1):41-47. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh098>.
113. Rohr J., Allen E.G., Charen K., Giles J., He W., Dominguez C., et al. Anti-mullerian hormone indicates early ovarian decline in fragile X mental retardation (FMR1) premutation carriers: a preliminary study. *Hum Reprod [Internet]* 2008;23:1220–1225.
114. Rula V.K., Nana A.O., Mekibib A., et al. Evaluation and management of primary ovarian insufficiency in adolescents and young adults. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2018; 31: 13–8.

115. Schuettler J., Peng Z., Zimmer J., Sinn P., von Hagens C., Strowitzki T., et al. Variable expression of the fragile X mental retardation 1 (FMR1) gene in patients with premature ovarian failure syndrome is not dependent on number of (CGG)<sub>n</sub> triplets in exon 1. *Hum Reprod* [Internet] 2011;26:1241–1251.
116. Schufreider A., McQueen D.B., Lee S.M., Allon R., Uhler M.L., Davie J., et al. Diminished ovarian reserve is not observed in infertility patients with high normal CGG repeats on the fragile X mental retardation 1 (FMR1) gene. *Hum Reprod* [Internet] 2015;30:2686–2692. doi: 10.1093/humrep/dev220.
117. Sherman S.L. Premature ovarian failure in the fragile X syndrome. *Am J Med Genet.* 2000;97:189–194.
118. Sherman S., Curnow E.C., Easley C.A., Jin P., Hukema R.K., Tajada M., et al. Use of model systems to understand the etiology of fragile X associated primary ovarian insufficiency (FXPOI) *J NeurodevDisord.* 2016;6(1):26. doi: 10.1186/1866-1955-6-26.
119. Sia C., Weinem M. The Role of HLA class i gene variation in autoimmune diabetes. *RevDiabetStud.* 2005;2(2):97–109. doi: 10.1900/RDS.2005.2.97.
120. Söderlund J, Forsblom C, Ilonen J, et al. HLA class II is a factor in cardiovascular morbidity and mortality rates in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2012;55(11):2963–2969. doi: 10.1007/s00125-012-2670-6.
121. Sullivan A.K., Marcus M., Epstein M.P. et al. Association of FMR1 repeat size with ovarian dysfunction // *Hum. Reprod.* — 2005. — Vol. 20. — P. 402–412.
122. Sükür Y.E., Kıvançlı I.B., Ozmen B. Ovarian aging and premature ovarian failure. *J Turkish Ger Gynecol.Assoc.*[Internet] 2014;15:190–196.
123. Tanner J. M., Marshall W. A. Variations in pattern of pubertal changes in girls (англ.) // *Arch. Dis. Child.* (англ.)русск.: journal. — 1969. — June (vol. 44, no. 235). — P. 291—303.

124. Te Velde E.R., Pearson P.L. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update*. 2002
125. Toledano-Alhadeff H., Basel-Vanagaite L., Magal N., Davidov B., Ehrlich S., Drasinover V., et al. Fragile-X carrier screening and the prevalence of premutation and full-mutation carriers in Israel. *Am J Hum Genet*. 2001;69(2):351–60. doi:10.1086/321974.
126. Tzeng C.C., Tsai L.P., Hwu W.L., Lin S.J., Chao M.C., Jong Y.J., et al. Prevalence of the FMR1 mutation in Taiwan assessed by large-scale screening of newborn boys and analysis of DXS548-FRAXAC1 haplotype. *Am. J. Med. Genet*. 2005;133(1):33–43.
127. Van Drongelen V., Holoshitz J. HLA-disease associations in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2017;43(3):363–376. doi: 10.1016/j.rdc.2017.04.003.
128. Verkerk A.J., Pieretti M., Sutcliffe J.S., Fu Y.H., Kuhl D.P., Pizzuti A., Reiner O., Richards S., Victoria M.F., Zhang F.P. et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome // *Cell*. – 1991. – V. 65. – № 5. – P. 905-914.
129. Webber1 L., Davies1 M., Anderson R., et al.; The ESHRE Guideline Group on POI. ESHRE guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. *Hum Reprod*. 2016; 341 (5): 926–37
130. Welt C.K., Smith P.C., Taylor A. E. Evidence of early ovarian aging in fragile X premutation carriers // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. — 2004. — Vol.89, № 9. — P. 4569-4574.
131. Wittenberger M.D., Hagerman R.J., Sherman S.L., McConkie-Rosell A., Welt, C. K., Rebar, R. W., et al. The FMR1 premutation and reproduction. *FertilSteril*. 2007; 87: 456–465.
132. World Health Organization. [Электронный ресурс]// Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/ru>.

