

**Министерство здравоохранения  
Российской Федерации  
федеральное государственное бюджетное учреждение  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ  
И ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»**

*На правах рукописи*

**НАЙДУКОВА  
АЛИНА АЛЕКСАНДРОВНА**

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

3.1.4. Акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

д.м.н., профессор Г.Е.Чернуха

к.м.н. А.Е. Донников

Москва 2021

## Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. Синдром поликистозных яичников: от генетических основ к эндокринно-метаболической дисфункции, диагностике и терапии (обзор литературы)..	155
1.1. Генетические аспекты формирования СПКЯ.....	15
1.2. Эндокринно-метаболические нарушения в генезе СПКЯ.....	26
1.3. Современные проблемы диагностики СПКЯ.....	31
1.4. Инсулиносенситайзеры в терапии СПКЯ.....	36
Глава 2. Материалы и методы исследования.....	43
2.1. Материалы исследования.....	43
2.2. Методы исследования.....	46
2.3. Терапия метформином.....	54
2.4. Статистическая обработка материала.....	54
Глава 3. Результаты проведенных исследований.....	56
3.1. Частота выявления СПКЯ в структуре заболеваний репродуктивной системы (по данным обращаемости в отделение гинекологической эндокринологии ФГБУ «НМИЦ АГиП им.В.И.Кулакова МЗ РФ» за 2013-2017гг). .....	5656
3.2. Клинико-лабораторная характеристика пациенток с СПКЯ.....	58
3.2.1 Клиническая характеристика пациенток с СПКЯ.....	58
3.2.2. Основные показатели эндокринной функции репродуктивной системы пациенток с СПКЯ.....	6565
3.2.3. Метаболические характеристики больных с СПКЯ.....	69
3.2.4. Взаимосвязь гиперандрогении и метаболической дисфункции....	73
3.2.5. Значимость АМГ и эхографических характеристик яичников в диагностике СПКЯ.....	77
3.2.6. Генетические маркеры СПКЯ.....	82
3.3. Клинико-лабораторная характеристика пациенток с различными фенотипами СПКЯ.....	104
3.3.1. Клиническая характеристика пациенток с различными фенотипами СПКЯ	104

3.3.2. Основные показатели эндокринной функции репродуктивной системы пациенток с различными фенотипами СПКЯ .....	107
3.3.3. Метаболические характеристики больных с различными фенотипами СПКЯ. 109	
3.3.4. Генетические маркеры гиперандрогении при СПКЯ.....	112
3.4. Коррекция эндокринно-метаболических нарушений метформином	125
3.5. Предикторы эффективности терапии метформином при СПКЯ.....	133
Глава 4. Обсуждение полученных результатов .....	152
ВЫВОДЫ .....	179
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	181
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	183
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	184

## ВВЕДЕНИЕ

### АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) относится к числу наиболее распространенных эндокринных нарушений у женщин репродуктивного возраста. Согласно 3-му консенсусу по здоровью женщин с СПКЯ частота встречаемости в общей популяции составляет 6-18% [38], а по данным популяционных исследований может достигать 21% [39]. В соответствии с Роттердамскими критериями (2003) выделяют 4 фенотипа СПКЯ: фенотип А (полный или классический – гиперандрогения (ГА), ановуляция, поликистозные яичники (ПКЯ)), фенотип В (ановуляторный - ГА и ановуляция), фенотип С (овуляторный - ГА и ПКЯ) и фенотип Д (неандрогенный - ановуляция и ПКЯ). Их частота составляет 48,4-53,9%, 7,2-8,9%, 13,9-28,8%, 8,4-30,3% соответственно [19, 72]. Ряд исследователей выделяет не только репродуктивные, но и метаболические фенотипы в зависимости от наличия инсулинорезистентности и ожирения. Выраженность эндокринно-метаболических нарушений может варьировать в зависимости от репродуктивного фенотипа синдрома, предполагая различный риск развития сахарного диабета 2 типа (СД2), сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и гестационных осложнений. В большинстве работ указывается на более выраженные метаболические нарушения при андрогенных фенотипах по сравнению с неандрогенным, однако полученные результаты не всегда были статистически значимыми [171]. Вышесказанное обуславливает целесообразность своевременной диагностики СПКЯ и корректное определение фенотипа синдрома для профилактики отсроченных осложнений, выбора оптимальной тактики терапии. Однако постановка диагноза часто затруднена в связи с изменчивостью клинической картины в зависимости от репродуктивного возраста, проводимой терапии, этническими особенностями.

Еще в 1935 году Штейн и Левенталь описали синдром, ведущим признаком которого были клинические проявления избытка андрогенов [145]. Несмотря на многочисленные научные труды, накопленные за 85 лет исследований, не

достигнут консенсус об оптимальных биохимических маркерах ГА. Большинство эндокринологических обществ считает приоритетным определение уровня общего тестостерона (Тобщ) или свободного тестостерона (Тсв) [18, 166], однако некоторые указывают на большую информативность андростендиона (А4) ввиду его больших концентраций в сыворотке крови [116].

Эхографическая диагностика поликистозной структуры яичников при СПКЯ также нуждается в совершенствовании, поскольку информативность метода зависит от опыта врача УЗ-диагностики и требует дорогостоящего оборудования. Не исключено, что повышенный уровень антимюллерового гормона (АМГ) может выступать в качестве дополнительного диагностического критерия СПКЯ и являться альтернативой УЗ-оценке структуры яичников при СПКЯ [33]. В настоящее время проведено множество исследований о роли АМГ в диагностике синдрома, однако отсутствуют общепринятые референсные значения, не изучен вопрос зависимости нормативных показателей от возраста пациентки.

Изучение молекулярно-генетических основ СПКЯ представляется перспективным как с позиций поиска универсальных маркеров синдрома, так и с позиций понимания патогенетических механизмов формирования ГА, ПКЯ и овуляторной дисфункции. Практически не изучен вопрос о предикции формирования различных фенотипов. Актуальным является изучение полиморфизмов ферментов стероидогенеза и их роли в развитии различных репродуктивных фенотипов. В своей работе Pérez MS (2008) указывает на выраженную ассоциацию полиморфизмов *CYP17* и *CYP11A* с формированием андрогенного фенотипа СПКЯ, подобная взаимосвязь не была подтверждена в результате мета-анализа проведенного Li Y (2012). Опубликованные в 2011 году результаты популяционного исследования по поиску полногеномных ассоциаций, свидетельствуют о трех генах – вероятных предикторах СПКЯ - ген рецептора ЛГ/ХГТ (*LHCGR*), тиреод-ассоциированного протеина (*THADA*) и DENN-содержащего домена 1A (*DENND1A*) [66]. В 2012 году были выявлены еще 8 локусов генов, взаимосвязанных с развитием СПКЯ [65]. Это гены, ответственные

за действие гонадотропинов (*LHCGR*, *FSHR*), сигнальных путей инсулина (*INSR*), ассоциированные с развитием СД2 (*HMG2*), регулирующими рост органов и клеточную пролиферацию (*YAP1*, *SUMO1P1*), ответственными за дисфункцию теломеров и ремоделирование хроматина (*TOX3*), а так же ассоциированными с развитием сахарного диабета 1 типа (область, содержащая гены *RAB5B*, *SUOX*, *ERBB3*). Последующие молекулярно-генетические исследования на популяции американских и европейских женщин воспроизвели часть указанных ассоциаций [132]. Научный интерес вызывают генетические маркеры, ассоциированные не только с репродуктивной дисфункцией, но и с формированием метаболического синдрома при СПКЯ. Влияние генетической составляющей на клинические проявления метаболических нарушений, таких как ожирение, ИР, ОЖ, изменения липидного профиля, широко освещены в работах по СД2. Наибольшее значение приписывается полиморфизмам гена инсулинового рецептора (*INSR*), субстрата инсулинового рецептора (*IRS1*), гена фактора транскрипции проглюкагона (*TCF7L2*), гена ассоциированного с ожирением (*FTO*) и некоторых другим. Распространенность и значение данных полиморфизмов у пациенток с СПКЯ остаются малоизученными, а имеющиеся данные противоречивы [10, 60, 110]. Кроме того, нет достаточного количества убедительных данных о распределении полиморфизмов среди различных фенотипов СПКЯ.

Тактика ведения больных с СПКЯ направлена на регуляцию ритма менструации, устранение ановуляции, восстановление фертильности, коррекцию гиперандрогении и метаболических нарушений. Гетерогенность синдрома и относительно не высокая эффективность негормональных методов терапии, в частности инсулинсенситайзеров (ИС), обуславливает необходимость изучения их клинических эффектов и поиск путей оптимизации терапии. Наиболее изучено действие метформина (МФ), который приводит к восстановлению овуляторного цикла в 50-60% и наступлению беременности в 25-30% случаев. Действие МФ направлено на снижение уровня сывороточного инсулина, повышение чувствительности тканей к инсулину. Антиандрогенный эффект достигается опосредовано коррекцией инсулинорезистентности (ИР) и напрямую регуляцией

стероидогенеза в яичниках [160]. Эффективность терапии не всегда определяется наличием или отсутствием гиперинсулинемии (ГИ), конституционными особенностями пациентки, известно, что применение МФ у женщин с ИМТ менее 25 кг/м<sup>2</sup> дает регуляцию менструального цикла в 41,65% [155]. Таким образом, с клинической точки зрения является актуальным прогнозирование ответа на терапию. Есть данные о том, что высокий уровень АМГ может быть прогностическим маркером эффективности ИС в восстановлении овуляции [112]. При сравнении эффективности терапии метформином при различных фенотипах СПКЯ выявлено, что при фенотипе В и С чаще восстанавливается овуляция и наступает беременность, хотя полученные результаты статистически недостоверны [105]. В доступной литературе нет исследований по поиску прогностических маркеров ответа на терапию с учетом молекулярно-генетических и эндокринно-метаболических параметров, крайне мало исследований по оценке эффективности терапии при различных фенотипах СПКЯ, что служит основанием для проведения научных исследований.

### **Степень разработанности темы исследования**

Результаты полногеномных исследований, проведенных в Китае на выборке более 16 тысяч женщин, указывают на ассоциацию СПКЯ с носительством 11 полиморфных локусов, из них 8 были воспроизведены на европейской и американской популяциях. Молекулярно-генетические исследования, проведенные на когорте российских женщин с СПКЯ, немногочисленны, предикторы формирования различных фенотипов синдрома остаются не изученными.

Не решен вопрос о вкладе А4 в диагностику ГА при СПКЯ, в виду небольшого числа исследований и неоднозначности их результатов. Не определена диагностическая ценность уровня АМГ и его нормативные значения в возрастном и фенотипическом аспекте. Это служит поводом для поиска оптимальных маркеров биохимической ГА и ПКЯ. Существование нескольких

репродуктивных фенотипов синдрома и гетерогенность метаболических нарушений также существенно затрудняют.

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

### **Цель и задачи исследования**

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

#### **Задачи исследования**

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



## Научная новизна

В рамках диссертационной работы проведено комплексное клинико-лабораторное и молекулярно-генетическое обследование пациенток с СПКЯ, выявлены и научно обоснованы эндокринные и молекулярно-генетические особенности формирования синдрома и его фенотипов. Изучение эндокринного статуса пациенток с СПКЯ позволило установить оптимальный пороговый уровень АМГ для диагностики СПКЯ, выявить особенности его секреции в зависимости от возраста и фенотипа синдрома. Сформирован оптимальный профиль андрогенов, наиболее приемлемый в клинической практике, а также продемонстрирована значимость повышения уровня А4 как фактора риска метаболической дисфункции у данной категории больных. Проведение оценки композиционного состава тела позволило выявить в качестве дополнительного фактора риска нарушений углеводного обмена наличие скрытого ожирения, диагностируемое у 36% женщин с СПКЯ при нормальном ИМТ.

В ходе молекулярно-генетического исследования на популяции российских женщин впервые установлена ассоциация 6 полиморфных локусов с развитием СПКЯ. Это локусы *DENND1A*, *YAP1*, *THADA*, *Rab5B/SUOX*, *SLCO1B1*, *OCT1*. Для локусов *IRS1*, *FSHR*, *LHCGR* установлена взаимосвязь с формированием ГА.

Изучение терапевтических эффектов МФ показало отсутствие взаимосвязи регуляции ритма менструаций с ИМТ, исходными показателями глюкозы и инсулина натощак и на фоне глюкозотолерантного теста (ГТТ). Уровень Тобщ менее 1,81 нг/мл, уровень АМГ менее 13,3нг/мл, значение индекса распределения жировой ткани (индекс А/Г) менее 0,90, а также носительство генотипов С/С гена *FSHR* (rs2349415), Del/Del гена *OCT1* (rs113569197), аллеля С гена *SLCO1B1* (rs4149056) и аллеля Del гена *ACE* (rs4340) определены как независимые клинико-лабораторные и генетические маркеры эффективности негормональной терапии МФ. С помощью построения бинарных логистических

моделей с проведением ROC-анализа разработан метод прогнозирования успешности терапии метформинем, учитывающий уровень АМГ и генотип *FSHR* (rs2349415).

### **Практическая значимость полученных результатов**

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

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

Оценка композиционного состава тела методом двухэнергетической денситометрии позволяет выявить избыток жировой ткани у каждой второй пациентки с нормальными показателями ИМТ и своевременно выделить группу женщин с повышенным риском метаболических нарушений.

Частота инсулинорезистентности (по индексу НОМА), гиперинсулинемии, «скрытого ожирения» и дислипидемии среди пациенток с классическим фенотипом А сопоставима с фенотипом В, но превышает аналогичные показатели при фенотипах С и D.

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

### **Методология и методы исследования**

Проведена ретроспективная оценка доли СПКЯ в структуре гормонально-ассоциированных заболеваний репродуктивной системы на основе анализа архивных данных за 2015-2019гг. В соответствии с критериями включения и

исключения в одномоментное исследование. С целью проведения молекулярно-генетического исследования была введена дополнительная группа контроля из 135 женщин позднего репродуктивного и менопаузального возраста с реализованной репродуктивной функцией без указания на эндокринное бесплодие, СПКЯ, ПНЯ.

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

Всем пациенткам было проведено клинико-лабораторное обследование, оценка гормонального профиля на 2-3 д.м.ц. с определением уровней ЛГ, ФСГ, Тобщ и Тсв, А4, ПССГ, пролактина, 17ОП, ТТГ в сыворотке крови, ультразвуковое исследование органов малого таза трансвагинальным датчиком частотой 8,0 МГц с определением объема яичников, подсчетом числа антральных фолликулов (ЧАФ) в объеме яичников в 3D-режиме (аппарат Toshiba SSA-240, Япония). Проведен 2-х часовой глюкозотолерантный тест (ГТТ) с 75 г глюкозы с оценкой уровня глюкозы и иммунореактивного инсулина натощак, через 1 и 2 часа после нагрузки, оценка липидного спектра крови. Композиционный состав тела, включающий количество и характер распределения жировой ткани, исследован методом двухэнергетической денситометрии (аппарат фирмы «Lunar» (США)).

Генетические исследования производились в лаборатории молекулярно – генетических методов ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) или высокопроизводительного секвенирования. Генотипирование проводилось по 45 локусам. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы SPSS (IBM, 21 версия). Статистически значимыми считались результаты при достижении уровня ошибки  $p < 0,05$ .

### Положения, выносимые на защиту

1. СПКЯ диагностируется у каждой 5-й пациентки с гормонально-ассоциированными заболеваниями репродуктивной системы, полиморфизм генов *SLCO1B1*, *OCT1*, *YAP1*, *Rub5B/SUOX*, *THADA*, *DENND1A* увеличивает риск развития синдрома в 2,5-5 раз, при этом повышение уровня тестостерона ассоциировано с полиморфизмом гена *YAP1*, формирование нарушений углеводного обмена – с полиморфизмом генов *OCT1*, *SLCO1B1*, *Rub5B/SUOX*.
2. Повышение уровня АМГ является более информативным маркером поликистозной морфологии яичников, чем эхографическое определение объема яичников и подсчет числа антральных фолликулов, комплексная оценка андрогенного профиля с учетом уровня андростендиона позволяет повысить точность диагностики синдрома и прогнозировать риск развития метаболической дисфункции.
3. Классический фенотип СПКЯ, ассоциированный с полиморфизм генов *LHCGR*, *FSHR* и *IRS1*, диагностируется у каждой 2-й пациентки, характеризуется более выраженным повышением уровней ЛГ, АМГ, большей частотой НТГ, инсулинорезистентности, скрытого ожирения и ДЛП, чем неандрогенный фенотип Д.
4. Независимо от репродуктивного фенотипа СПКЯ шестимесячный курс терапии МФ приводит к восстановлению регулярного менструального цикла у каждой 2-й пациентки, к наступлению беременности - у каждой 3-ей, эффективность терапии зависит не от наличия ИР и ГИ, а от исходных уровней АМГ, Т общ, характера распределения жировой ткани, носительства полиморфных локусов генов *FSHR*, *OCT1*, *SLCO1B1*, *ACE*.

### Личный вклад автора

Автор участвовал в выборе научного направления, разработке дизайна исследования, формировании цели и задач, провел обзор современной научной

литературы, осуществлял сбор биоматериала для формирования коллекции, принимал участие в ведении пациенток. Автором проведен анализ полученных результатов, статистическая обработка и систематизация данных, подготовка материалов к публикациям.

### **Степень достоверности результатов исследования**

Достоверность данных исследования подтверждается объемом выборки пациенток, включенных в исследование (n=846), а также результатами статистической обработки данных.

### **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 акушерства и гинекологии.

### **Апробация работы**

Диссертационная работа обсуждена на межклинической конференции (27.08.2020) и на заседании апробационной комиссии ФБГУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (07.09.2020, протокол №27). Результаты работы представлены на XVI Всероссийском научном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 22-25 сентября 2015г), XXIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 11-14 апреля 2016), XVII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 27-30 сентября 2016г), The 18<sup>th</sup> World Congress of Gynecological Endocrinology (Italy, Firenze, 7-10<sup>th</sup> March, 2018г), The 13<sup>th</sup> Congress of the European Society of Gynecology Congress (October 16-19 2019, Vienna, Austria), The 19<sup>th</sup> World Congress of Gynecological Endocrinology (Italy, Firenze, 2-5<sup>th</sup> December 2020г).

### **Внедрение результатов исследования в практику**

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

### **Структура и объем диссертации**

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

# **Глава 1. Синдром поликистозных яичников: от генетических основ к эндокринно-метаболической дисфункции, диагностике и терапии (обзор литературы)**

## **1.1. Генетические аспекты формирования СПКЯ.**

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) является наиболее распространенной генетически детерминированной эндокринопатией у женщин репродуктивного возраста. В соответствии с разными диагностическими критериями его частота варьирует от 6 до 21% [39]. По оценкам National Institute of Health (NIH) в 2012 году только в США число женщин репродуктивного возраста с СПКЯ достигло 5 миллионов [111]. Научный интерес к проблеме растет, ежегодно издается более 12 тысяч научных публикаций по данной теме [46]. К концу XX века на смену ранее существовавшему пониманию СПКЯ, как нарушению исключительно репродуктивной функции, пришло новое осмысление синдрома, как глобальной проблемы соматического здоровья. СПКЯ характеризуется широким спектром метаболических расстройств, таких как ожирение, ДЛП, НТГ, ГИ, которые ассоциированы с риском ССЗ и СД2.

Избыточную массу тела и ожирение имеют 30-40% женщин с СПКЯ. Однако, даже при нормальном ИМТ риск развития метаболического синдрома (МС) в 2-3 раза выше, а риск СД2 типа выше в 7-10 раз по сравнению со здоровыми женщинами. Приблизительно у 20% пациенток с СПКЯ МС манифестируется уже к 20 годам, у 30-50% - после 30 лет [126, 127]. ГИ является компенсаторным ответом организма на резистентность тканей к инсулину и приводит к повышению продукции андрогенов, снижению синтеза глобулина, связывающего половые стероиды, (ПССГ) в печени и увеличению уровня биологически доступного тестостерона. Избыточное действие андрогенов в сочетании с аномальной экспрессией ЛГ и его рецептора приводит к снижению апоптоза, нарушению селекции доминантного фолликула и типичной морфологической картине поликистозных яичников. Конечным репродуктивным исходом ГИ являются нарушения фолликулогенеза, ановуляция и бесплодие [46].

Причины развития СПКЯ и его широкого спектра метаболических и репродуктивных нарушений до конца не ясны. Отсутствие единой концепции объясняется гетерогенностью клинической картины заболевания, особенно среди представителей различных этнических групп. В настоящее время СПКЯ принято рассматривать как заболевание с наследственной предрасположенностью, т.е. среди этиологических факторов присутствуют как генетические особенности пациентки, так и воздействия факторов внешней среды.

В пользу генетических причин развития СПКЯ говорят многочисленные наблюдательные исследования, проведенные на женщинах из моно- и дизиготных двойн. Согласно данным полученным Vink J.M. (2006г) при изучении близнецов голландской популяции, наследуемость СПКЯ достигает 70% [75]. Близкие родственники женщин с СПКЯ даже мужского пола имеют повышенный риск НТГ и метаболического синдрома [70].

В последние десятилетия идет активный поиск генов-кандидатов формирования СПКЯ. Описано более 100 генетических маркеров, потенциально ассоциированных с развитием синдрома. Однако значение лишь некоторых из них было подтверждено в повторных исследованиях. Приоритетным является изучение полиморфизма генов, ассоциированных с нарушением синтеза половых стероидов, фолликулогенеза и метаболическими нарушениями.

Считается, что пути, связывающие репродуктивную функцию и метаболические процессы, эволюционно закреплены, это было показано еще на *Caenorhabditis* и *Drosophila* [89]. Тандем ГА и ИР расценивается многими учеными как метаболическая «бережливость», то есть эволюционно закрепленный механизм адаптации к отсутствию достаточного количества пищи [56]. Учитывая тесную связь гормональных и метаболических нарушений, не удивительно, что первоначально область научного поиска факторов риска СПКЯ охватывала гены, играющие роль в развитии СД2. Наиболее изучены гены, участвующие в реализации инсулинового сигнала (ген инсулинового рецептора, - *INSR*, субстратов инсулинового рецептора, -*IRS*, вторичных мессенджеров инсулинового сигнала, - протеинкиназ, и транспортера глюкозы *GLUT4*).



Известно, что нарушение внутриклеточной передачи инсулинового сигнала на уровне IRS и активируемой им фосфатидилинозитол-3-киназы может индуцировать ИР с последующим формированием метаболической и репродуктивной дисфункции. Известны два полиморфных локуса гена IRS, ассоциированных, как с СД2, так и с СПКЯ: *IRS-1* rs1801278 и *IRS-2* rs1805097 [61, 137].

Ген *TCF7L2*, известный как TCF4 - фактор транскрипции wnt-сигнального пути, функционирует как ядерный рецептор В-катенина, участвует в регуляции экспрессии генов, регулирующих клеточный рост и дифференцировку. Считается, что активация *TCF7L2* приводит к снижению экспрессии проглюкагона и подавлению контринсулярного действия глюкагона [167]. Носительство мутантных аллелей гена связывают с развитием ИР, дисфункцией В-клеток, НТГ, ДЛП, высоким риском развития СД2. Предположительно, полиморфизм гена *TCF7L2* вовлечен в патогенез СПКЯ через нарушение углеводного гомеостаза. Однако при сравнительном анализе однонуклеотидных полиморфизмов *TCF7L2*, ассоциированных с СД2 и СПКЯ, совпадений практически не было обнаружено. По данным Biyasheva, Urbanek (2009) из 58 изученных вариантов гена *TCF7L2* только два продемонстрировали статистически значимую ассоциацию с СПКЯ - rs11196236 и rs11196229 ( $p=0,001$ ). Оба маркера чаще были ассоциированы с полным, классическим, фенотипом СПКЯ у женщин европейской и азиатской рас [130].

Другим потенциальным генетическим маркером развития СД2, ИР и риском развития метаболических нарушений при СПКЯ является ген, ассоциированный с ожирением (fat mass and obesity associated gene, *FTO*). Возможно, изучение гена *FTO* позволит ответить на вопрос, является ли ожирение следствием или причиной СПКЯ? Если варианты аллели, ассоциированные с ожирением, также окажутся маркерами СПКЯ с учетом поправки на ИМТ, то можно будет говорить о СПКЯ, как о первопричине нарушений жирового обмена. С этой целью была изучена взаимосвязь наиболее значимых при ожирении мутаций гена *FTO* (rs11642841 и rs9939609) с СПКЯ. Полученные данные противоречивы, но ряд

исследователей указывает на наличие ассоциации полиморфизма гена *FTO* с риском развития синдрома, даже после внесения поправки по массе тела [36, 60]. Ключевым признаком СПКЯ является ГА, обусловленная нарушением функциональной активности ферментов стероидогенеза и/или изменением чувствительности рецепторов к андрогенам. В качестве одного из генов-кандидатов развития СПКЯ рассматривают полиморфизм гена *CYP19*, кодирующего P450 ароматазу. По данным Petry C.J. (2005 год) существует выраженная взаимосвязь полиморфизма *CYP19* с преждевременным пубархе и ГА. В работе Baghaei F. говорится об ассоциации повтора (TTTA)<sub>n</sub> в четвертом интроне гена *CYP19* с повышенным уровнем андрогенов и абдоминальным ожирением среди женщин репродуктивного возраста [153]. Согласно исследованию N. Xita при СПКЯ наблюдается тенденция к укорочению (TTTA)<sub>n</sub> повторов (9 повторов и менее), хотя эти результаты оказались статистически не значимы. Однако среди пациенток с клинически выраженной ГА чаще встречались гомозиготные носители короткого аллеля по сравнению со здоровыми женщинами группы контроля и пациентками с незначительно превышающим референсные значения уровнем тестостерона. У носителей короткого аллеля отмечено более высокое значение соотношений тестостерон/эстрадиол и ЛГ/ФСГ [42].

Актуальным является изучение роли полиморфизма ферментов стероидогенеза в развитии различных репродуктивных фенотипов синдрома. В работе Pérez MS (2008) приведены данные о тесной взаимосвязи полиморфизма генов *CYP17* и *CYP11A* с формированием классического фенотипа СПКЯ (фенотип А согласно Роттердамским критериям 2003 года). Однако подобная закономерность не была подтверждена мета-анализом, проведенным Li Y (2012). Известно, что ген *CYP17* кодирует белковые продукты, обладающие лиазной и гидроксилазной активностью. При СПКЯ происходит смещение в сторону увеличения экспрессии лиазного компонента с увеличением в конечном итоге продукции 17-гидроксипрогестерона и 17-гидроксипрегненолона. Более тонкие механизмы регуляции стероидогенеза системой ферментов *CYP17* подлежат

дальнейшему изучению. Избыточное воздействие андрогенов может осуществляться за счет повышения функциональной активности андрогенного рецептора (АР) даже при нормальных уровнях мужских половых гормонов в сыворотке крови [51]. В ряде исследований показана взаимосвязь носительства короткого варианта гена АР и повышенного риска развития СПКЯ [32, 135], в других - эта ассоциация не была выявлена [28] или носила противоположный характер [76]. Таким образом, вопрос роли гена АР в формировании СПКЯ остается до сих пор неясным.

Одним из механизмов андрогенизации может являться снижение продукции ПССГ в печени, с последующим повышением биодоступности тестостерона и усилением его действия в периферических тканях. В литературе появляется все больше доказательств, что сниженная продукция ПССГ у пациенток с СПКЯ может быть как следствием ИР, развившейся под воздействием внешних факторов, например, повышенного питания, так и результатом генетического детерминирования. Известно о существовании взаимосвязи между числом (ТАААА)<sub>n</sub> повторов в промотерной области и транскрипционной активностью гена *SHBG*, кодирующего ПССГ. Возможно, полиморфизм гена *SHBG* является предиктором андрогенизации, в том числе внутриутробной. В своем исследовании N. Xita (2003) указывает на ассоциацию большого числа повторов (ТАААА)<sub>n</sub> у женщин с СПКЯ. Это сопровождалось более низкими концентрациями ПССГ по сравнению со здоровыми женщинами, которые имели менее восьми повторов (ТАААА)<sub>n</sub> и нормальные значения ПССГ [76]. Некоторые авторы рассматривают уровень ПССГ как прогностический маркер развития СД2 и МС и приводят данные о более низком риске его формирования среди носителей коротких аллелей [93]. Однако согласно результатам мета-анализа, включившего данные по 1595 пациенткам с СПКЯ, носительство длинных аллелей (ТАААА)<sub>n</sub> гена ПССГ не ассоциируется с повышенным риском развития СПКЯ. Возможно, выявить зависимость уровня ПССГ с носительством длинных аллелей не удалось, ввиду использования авторами различных критериев длины аллелей и сывороточных уровней ПССГ. Авторы делают заключение, что

имеющиеся данные о роли числа (ТАААА)<sub>n</sub> повторов недостаточны, а также не исключают роль других полиморфизмов гена ПССГ как факторов, способствующих развитию ГА.

В настоящее время продолжается поиск генетических основ метаболических нарушений, ГА и овуляторной дисфункции при синдроме. Наиболее убедительные данные о генетических факторах развития СПКЯ получены в ходе двух полногеномных исследований, проведенных с участием более 16 тысяч женщин северной китайской популяции. В первом исследовании, опубликованном в 2011 году, было заявлено о трех локусах, локализованных на хромосомах 2p16.3, 2p21 и 9q33.3, соответствующих генам рецептора ЛГ/ХГТ (*LHCGR*), тиреод-ассоциированного протеина (*THADA*) и *DENND1A*, ассоциированных с риском развития СПКЯ [66]. К 2012 году в исследование были дополнительно включены более 2500 женщин и выявлены еще 8 локусов генов, взаимосвязанных с развитием СПКЯ [65]. Часть из них расположена в интронах или поблизости с генами, ответственными за действие гонадотропинов (*LHCGR*, *FSHR*), сигнальных путей инсулина (*INSR*), генами, ассоциированными с развитием СД2 (*THADA*, *HMG2*), регулирующими рост органов и клеточную пролиферацию (*YAP1*, *SUMO1P1*), ответственными за дисфункцию теломеров и ремоделирование хроматина (*TOX3*), а так же ассоциированными с развитием СД1 (область, содержащая гены *RAB5B*, *SUOX*, *ERBB3*). Для большинства из указанных генов ассоциация с СПКЯ была установлена впервые, однако для некоторых локусов взаимосвязь с синдромом выявлена в предшествующих генетических исследованиях. Гены рецепторов к гонадотропинам и инсулину рассматриваются как наиболее вероятные гены-кандидаты развития СПКЯ. В настоящее время известно более 300 структурных аномалий гена рецептора ЛГ (*LHCGR*), некоторые из них связывают с почти трехкратным увеличением риска развития СПКЯ [151]. Полиморфные локусы рецептора ЛГ часто ассоциированы с аменореей и бесплодием. Полиморфизм или изменение метилирования промотерной области гена *LHCGR* рассматриваются как возможный патогенетический механизм овуляторной дисфункции у женщин с СПКЯ.

Поломка на данном уровне гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси приводит к повышенной транскрипции гена, как в клетках гранулезы, так и в тека-клетках яичника. Полиморфизм генов гонадотропинов связывают с нарушениями синтеза половых гормонов. Так, замены в гене LHCGR Trp28Arg и Ile35Thr чаще встречаются у женщин с повышенным уровнем общего тестостерона, однако ассоциации данного полиморфизма с выраженностью гирсутизма не было выявлено [81].

Известно, что аномалии экспрессии и функционирования рецептора ФСГ могут приводить к овуляторной дисфункции при СПКЯ. Установлена взаимосвязь некоторых точечных мутаций гена рецептора ФСГ с повышенным уровнем тестостерона, овариальным ответом на стимуляцию гонадотропинами [85].

Из мало изученных генов интерес ученых привлекает ген *DENND1A*. Известно, что белок, кодируемый *DENND1A*, экспрессируется практически во всех тканях, в наибольшей степени в почках, головном мозге, неопластических тканях. Продукты гена *DENND1A* обнаруживаются как в цитоплазме, так и в ядре тека-клеток, что косвенно предполагает его участие в регуляции экспрессии других генов. *DENND1A* может опосредовать как центральные, так и периферические звенья патогенеза СПКЯ. Белковый продукт *DENND1A* регулирует работу Rab-зависимой гуанозин-трифосфатазы (RabGTP-азы), фермента ответственного за кальций-зависимый экзоцитоз в клетках гипофиза, базальный и ГнРГ-индуцированный выброс гонадотропинов [96]. *DENND1A* имеет клатрин-связывающий домен, участвует в эндоцитозе рецептора и переносе сигнала с плазматической мембраны к ядру. Возможно, данный механизм вовлечен в регуляцию рецепции, в частности, представленности рецепторов к гонадотропинам и инсулину на поверхности клеток, изменении их восприимчивости к гормональному сигналу. В работе Del Villar K (2004) показано, что *DENND1A* может быть связан с метаболическими нарушениями при СПКЯ через изменение активности аминопептидазы 1 эндоплазматического ретикулума, уровень которой повышен у женщин с ожирением.

Ген *YAP1* расположен на 11 хромосоме. Его продукт является супрессорным эффектором сигнального пути Hippo, вовлеченного в клеточный рост, репарацию и гомеостаз. Интересно, что нарушение фосфорилирования *YAP1* повышает уровень ядерного *YAP1* у мышей, приводя к повышению активности факторов роста, ответственных за развитие фолликула, и снижению активности проапоптотических факторов [77]. Высказываются предположения, что нарушения сигнального пути Hippo играют роль в аномальном фолликулогенезе при СПКЯ и формировании морфологической картины поликистозных яичников.

Еще один полиморфный локус, выявленный в ходе полногеномного исследования на китайской популяции женщин, расположен на хромосоме 12q13.2 между двумя генами - *RAB5B* (член семейства RAS онкогенов) и *SUOX* (сульфит-оксидаза, гомодимерный белковый фермент межмембранного пространства митохондрий, который катализирует конечную реакцию в оксидативной деградации цистеина и метионина). Неизвестно, в регуляции какого именно из указанных генов принимает участие обозначенный участок интрона, но аналогичный сигнал получен с данного участка при СД1. Вероятно, данный полиморфизм может опосредовать развитие каскада нарушений углеводного обмена при СПКЯ.

Белковый продукт *C9orf3* в настоящее время точно не известен, вероятно, это белок член семейства М1 цинковых амиопептидаз. Данные, полученные Parikh еще в 2008 году о связи *C9orf3* с ГА и ИР поддерживают гипотезу о немаловажной роли данного участка ДНК в развитии синдрома.

Успешность китайских популяционных исследований заложила основы для проведения генетических и функциональных исследований в США, Бразилии, Южной Корее и ряде европейских стран. Первое исследование на европейской популяции женщин (n=3276) подтвердило роль генов *THADA* и *DENND1A* в генезе СПКЯ, хотя не выявило взаимосвязи с геном *LHCGR*. Было высказано мнение, что данные расхождения могут быть обусловлены популяционными особенностями [92, 132, 170]. Однако исследование голландских женщин (n=2867) и последующий мета-анализ данных китайских и американских

исследований (n=30161) подтвердили ассоциацию 12 SNP генов *FSHR*, *LHCGR*, *THADA*, *DENND1A*, *YAP1*, *C9orf3*, *RAB5B/SUOX*, *SUMO1P1* во всех обследованных популяциях [40].

Таким образом, важным шагом в изучении генетических основ СПКЯ стало проведение широкомасштабных популяционных полногеномных исследований, которые выявили новые и подтвердили некоторые из ранее известных ассоциаций генов-кандидатов с развитием синдрома. Изолированные варианты таких генов часто имеют незначительное влияние на риск развития заболевания. Подтверждением полигенной модели СПКЯ стала, разработанная в ходе исследования MA Brower (2014), шкала оценки совокупного риска СПКЯ в зависимости от количества имеющихся SNP в европейской популяции [63]. В шкалу включили 12 полиморфизмов, четыре из которых (*DENND1A*, *THADA*, *FSHR*, *INSR*) были статистически значимые, таким образом, максимально возможная оценка риска составила 24 балла в случае гомозиготного носительства всех вариантных аллелей. Полиморфные локусы, которые не показали индивидуальной статистической значимости для европейской популяции, обладали накопительным эффектом и в совокупности также определяли повышенный риск развития СПКЯ, даже при исключении из шкалы четырех статистически значимых аллелей [63].

В ходе большинства исследований, проведенных на различных популяциях, была выявлена лишь ассоциация полиморфизма вышеуказанных генов с СПКЯ в целом, однако влияние носительства данных мутаций на формирование фенотипических особенностей не изучалось. В ходе европейского мета-анализа 2012 года ассоциации уровней общего тестостерона, ДЭА-С, глюкозы и инсулина натощак с носительством aberrантных генов выявлено не было [40]. Напротив, в работе С.К. Welt (2012) говорится о более высоком уровне общего тестостерона и более тяжелых нарушениях менструального цикла среди носителей полиморфизма гена *DENND1A* (rs12468394), что позволяет рассматривать данный полиморфизм как маркер формирования андрогенного фенотипа СПКЯ [53]. В работе Cui et al (2013г.) показана взаимосвязь гена *DENND1A* не только с

нарушенным биосинтезом андрогенов, но и с поликистозной морфологией яичников [67].

В январе 2015 года в журнале *Human Reproduction* опубликовано первое исследование, целью которого стал поиск ассоциации носительства вариантных аллелей одиннадцати генов, выявленных ранее в китайских популяционных исследованиях, с тремя ключевыми симптомами СПКЯ – ГА, олигоменореей и ПКЯ. В исследование были включены женщины с изолированными проявлениями, характерными для СПКЯ (746 с олигоменореей, 278 с ГА и 536 с поликистозной морфологией яичников по УЗИ), а также 1790 здоровых женщин группы контроля. Статистически значимые результаты получены для генов *DENND1A*, *THADA*, *LHCGR*, *INSR*, *C9orf3*. Для SNP *DENND1A* (rs10818854,  $p < 0,05$ ), *THADA* (rs13405728,  $p < 0,01$  и rs12478601,  $p < 0,001$ ) выявлена взаимосвязь с поликистозной морфологией яичников. SNP генов *LHCGR* (rs13405728,  $p < 0,01$ ) и *INSR* (rs2059807,  $p < 0,05$ ) показали ассоциацию с олигоменореей, в то время как редкий аллель *C9orf3* (rs4385527) значительно чаще встречался во всех трех исследуемых группах по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). Наличие ассоциации полиморфного локуса rs4385527 со всеми тремя основными критериями синдрома предполагает, что полиморфизм *C9orf3*, вероятно, является единой генетической основой формирования СПКЯ вне зависимости от репродуктивного и метаболического фенотипа синдрома [124]. Однако стоит принять во внимание, что в исследование были включены здоровые женщины с изолированными признаками и вероятность подтверждения выявленных ассоциаций при СПКЯ остается спорной.

С появлением данных о значимых, точно картированных полиморфизмах стало возможным проведение функциональных исследований. Согласно данным McAllister et al (2014г) при иммуногистохимическом исследовании в тека-клетках женщин с СПКЯ определяется более высокий уровень экспрессии белкового продукта *DENND1.V2* по сравнению со здоровыми женщинами [18]. Форсированное аденовирусом увеличение экспрессии гена *DENND1* в тека-клетках женщин без нарушений эндокринной функции репродуктивной системы



приводит к повышению транскрипции генов *CYP17A1* и *CYP11A1*, усилению биосинтеза андрогенов, выключение гена - подавляет вышеуказанные процессы. В экспериментальных исследованиях на культуре тека-клеток женщин с СПКЯ с помощью моноклональных антител к DENND1A.V2 удалось снизить синтез DHEA и 17ОН-прогестерона на 50% [118]. Результаты данного исследования позволяют рассматривать функцию гена *DENND1A*, как ключевой механизм регуляции биосинтеза андрогенов. Дальнейшее изучение моноклональных антител к DENND1A.V2 представляется перспективным направлением в разработке таргетной антиандрогенной терапии.

Таким образом, роль большинства генов, ассоциированных с СПКЯ в генезе репродуктивных нарушений пока остается не до конца определенной. Ассоциативные генетические исследования открывают широкие возможности для проведения последующих научных работ, направленных на изучение тонких молекулярных механизмов ГА, овуляторной дисфункции и метаболических нарушений. Успешно проведенные генетические исследования, возможно, позволят приблизиться к стандартизации и ранней диагностике гетерогенного по своим клиническим и биохимическим показателям СПКЯ, поскольку существующие диагностические критерии, основанные на экспертном мнении, вряд ли можно считать достаточно объективными. В этой связи представляется перспективной шкала оценки генетического риска, предложенная в 2014 году Brower MA. Она может быть использована, как для постановки диагноза у подростков, так и при стертых формах синдрома.

Можно ожидать, что внедрение в клиническую практику генетических маркеров СПКЯ будет способствовать формированию групп риска возникновения отсроченных осложнений, таких как СД2, МС, гиперплазия и рак эндометрия. Перспективным представляется дальнейшее изучение гена *DENND1A*. Данные полученные JM McAllister позволяют рассматривать белковый продукт гена DENND1A.V2 как точку приложения таргетной терапии моноклональными антителами. Успешная разработка подобных антител может стать прорывом в терапии не только СПКЯ, но и других форм ГА. Таким образом,

конечной целью дальнейших исследований является поиск генетических основ формирования СПКЯ, которые позволят совершенствовать диагностические критерии и дифференцировать подходы к терапии различных репродуктивно-метаболических форм синдрома.

## **1.2. Эндокринно-метаболические нарушения в генезе СПКЯ.**

Помимо ключевых признаков при СПКЯ часто выявляется повышенный уровень ЛГ, ожирение, ИР и ряд других проявлений метаболической дисфункции. Следует отметить, что еще в древние времена обращали внимание на высокую частоту ожирения среди женщин с признаками ГА, о чем упоминается в трудах знаменитых врачей и врачей-исследователей прошлого. В 1921 году Archad и Thiers описали сочетание сахарного диабета и признаков ГА у женщин в постменопаузе, которое получило название «Archad-Thiers синдром» или «диабет бородатых женщин». Однако системный подход к изучению нарушений углеводного обмена при СПКЯ сложился лишь в конце 80-х XX века, когда Burghen и соавторы впервые доложили о ГИ при проведении ГТТ у женщин с СПКЯ, которую не могли объяснить наличием ожирения [31]. В последующем было опубликовано огромное число исследований, указывающих на взаимосвязь ГИ, ИР и СПКЯ. Сегодня можно говорить о том, что к концу XX века на смену ранее существовавшему клиническому пониманию СПКЯ, как патологии исключительно репродуктивной функции пришло новое осмысление синдрома, как глобальной проблемы соматического здоровья.

Избыточную массу тела или ожирение имеют 30-50% женщин с СПКЯ, среди полного фенотипа А частота избытка массы тела или ожирения достигает 86%, а частота скрытого ожирения среди женщин с ИМТ менее 25 кг/м<sup>2</sup> по данным композиционной оценки состава тела приближается к 70% [9]. Частота МС по данным различных авторов варьирует в широких пределах и может достигать 50%. Следует отметить, что даже при нормальных значениях ИМТ риск развития МС в 2-3 раза превышает популяционные показатели. Приблизительно у

20% пациенток с СПКЯ MC манифестирует уже к 20 годам, у 30-50% - после 30 лет [90, 126]. По данным ГТТ НТГ диагностируется у 30-35%, ИР - примерно у 50-70% женщин с СПКЯ [142]. Результаты научных исследований выявили взаимосвязь наличия и степени выраженности метаболических расстройств с репродуктивными фенотипами синдрома. По данным Sujata K. и соавторов частота ИР и метаболического синдрома в 4- 5 раз выше среди женщин с андрогенными фенотипами СПКЯ (фенотипы А и В) по сравнению с неандрогенным фенотипом D [147]. Аналогичная закономерность прослежена в ряде других европейских исследований [134]. Согласно некоторым данным женщины с овуляторным фенотипом С, который многие исследователи расценивают как переходную форму между здоровыми женщинами и классическим фенотипом, имеют менее выраженные метаболические нарушения и значительно чаще являются метаболически здоровыми [25, 162]. В большинстве исследований указывается на взаимосвязь метаболических нарушений с ГА, однако по данным группы исследователей из Китая, метаболические нарушения ассоциируются не с повышенным индексом свободных андрогенов, а с высоким уровнем ЛГ [149].

Высокая частота и вариабельность выраженности метаболических нарушений среди женщин с СПКЯ послужила основанием для выделения не только репродуктивных, но и метаболических фенотипов. Многие ученые предпринимают попытки выделения «метаболически здоровых» и «не здоровых» пациенток с СПКЯ на основании достаточно простых клинических тестов. Так Amato M.C. и соавторы представили данные о разделении пациенток с СПКЯ на «метаболически-здоровых» и «метаболически не здоровых» на основе оценки ИМТ, индекса висцерального ожирения, соотношения объема талии и бедер, а также оценки сердечно-сосудистых рисков согласно критериям AES. С точки зрения авторов наиболее значимыми маркерами «метаболически не здорового» СПКЯ является висцеральное ожирение и высокие значения индекса НОМА-IR. Повышенный риск метаболических нарушений по данным этих же авторов можно ожидать среди женщин с ГА, выраженной олигоменореей и аменореей [100].

Ведущим фактором формирования метаболических нарушений при СПКЯ рассматривается ИР, механизмы развития ее достаточно хорошо изучены. Полагают, что нарушение чувствительности тканей к инсулину может развиваться за счет изменения структуры молекулы инсулина или его рецептора, что приводит к нарушению связывания инсулина с рецептором. ИР при СПКЯ чаще обусловлена мутацией инсулинового рецептора и нарушением его фосфорилирования, а также пострецепторными нарушениями передачи сигнала инсулина. Компенсаторной реакцией организма на резистентность тканей к инсулину является повышенная выработка инсулина В-клетками поджелудочной железы и развитие ГИ. Результаты проведенных исследований показали, что инсулин и инсулиноподобные факторы роста оказывают влияние на стероидогенез в яичниках. Так, J. Cara и соавторы еще в начале 90-х годов опубликовали данные о прямом стимулирующем эффекте инсулина и инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1) на продукцию андрогенов в тека клетках яичника и синергизме действия с ЛГ [87]. Поскольку в яичнике, в отличие от других тканей, не развивается резистентность к инсулину, то в условиях ГИ клетки теки подвержены его избыточному воздействию, в следствие этого повышается продукция андрогенов. В условиях ГИ возможно снижение синтеза в печени глобулина, связывающего половые стероиды, (ПССГ), в результате этого повышается уровень биологически доступного тестостерона. ГА в сочетании с аномальной продукцией ЛГ может приводить к снижению апоптоза, нарушению селекции доминантного фолликула и типичной морфологической картине поликистозных яичников. Таким образом, конечным репродуктивным исходом ГИ являются нарушение фолликулогенеза, ановуляция и бесплодие [87].

Метаболические нарушения, которые часто формируются на фоне ИР, являются патогенетической основой многочисленных осложнений СПКЯ, таких как НТГ, СД2 типа, гестационный СД, онкологические и сердечно-сосудистые заболевания. Сахарный диабет 2 типа является одним из наиболее распространенных отсроченных осложнений СПКЯ и прямым следствием ИР. В США 40% всех экономических затрат на СПКЯ приходится на обследование и

лечение пациенток с СД2. Это подчеркивает необходимость совершенствования скрининговых программ, разработки и внедрения в широкую клиническую практику профилактических мероприятий. По данным М.А. Ganie и соавторов (2015) частота выявления НТГ среди женщин с СПКЯ по данным двухчасового орального глюкозотолерантного теста составила 30%, СД2 - 6,3%. При этом прослеживалась тенденция к увеличению частоты НТГ и СД2 с возрастом: 30,3%, 35,4%, 51%, и 58,8% на второй, третьей, четвертой и пятой декадах жизни соответственно [117]. Пациентки с СПКЯ характеризуются более быстрой конверсией нормальной толерантности к глюкозе в НТГ и НТГ в СД2, чем исходно здоровые женщины. По данным австралийского исследования частота конверсии НТГ в СД2 составила 2,9% за 5 лет наблюдения [68]. Принимая во внимание такую тенденцию, Androgene Excess and PCOS Society рекомендует проводить ГТТ пациенткам с СПКЯ как минимум раз в два года, а при наличии сопутствующих факторов риска, таких как отягощенный семейный анамнез, сопутствующий МС, гестационный СД чаще [69].

Физиологически протекающая беременность характеризуется развитием ИР, у женщин с СПКЯ, часто уже имеющих ИР, ГИ и НТГ, повышен риск гестационного СД. Чувствительность к инсулину достигает своего пика в районе 13 недели беременности, плавно снижаясь до минимального уровня в третьем триместре. Частота СД беременных может достигать 30%, при этом группу наибольшего риска составляют женщины с андрогенными фенотипами СПКЯ и низким уровнем ПССГ до беременности. Известно, что у пациенток с СПКЯ и гестационным СД в анамнезе частота НТГ и СД2 значительно возрастает и достигает 40% и 14% соответственно [138].

СПКЯ рассматривается, как фактор риска онкологических заболеваний, в частности, рака эндометрия (РЭ), эпителиального рака яичников и злокачественных новообразований молочных желез. В США ежегодно диагностируется до 40000 случаев РЭ, летальность достигает 7000 человек. При СПКЯ риск развития РЭ возрастает в 2,7 - 4 раза [30, 49]. По данным исследования М. Gottschau (2015 год) на когорте более 12000 женщин с

установленным диагнозом СПКЯ РЭ диагностировался в четыре раза чаще, чем в популяции, особенно в возрастной категории до 29 лет. При этом, из 16 случаев 14 гистологически соответствовали первому типу РЭ и только 2 - второму, развивающемуся на фоне атрофии [133]. Схожие данные были получены в ходе мета-анализа Barry et al, включившего 5 исследований случай-контроль, выявившего увеличение риска РЭ в 2,8 раз по сравнению с популяционными данными [62]. Наиболее вероятными причинами увеличения частоты РЭ среди женщин с СПКЯ является длительное воздействие эстрогенов на фоне хронической ановуляции и низкой продукции прогестерона, а также избыточное влияние инсулина и ИФР-1. Другим механизмом развития пролиферативных процессов в эндометрии может являться формирование резистентности к эндогенному прогестерону, обусловленной дисрегуляцией экспрессии генов, контролирующей клеточную пролиферацию и стероидогенез. При сравнительном анализе образцов эндометрия здоровых женщин и женщин с СПКЯ выявлено изменение соотношения представленности рецепторов к прогестерону в эпителиальных и стромальных клетках, что приводит к потере способности ингибировать эстрадиол-индуцированную клеточную пролиферацию. В работе Pan-Lin Zhao в условиях *in vitro* показана роль повышенной экспрессии ароматазы в клетках эндометрия женщин с СПКЯ в развитие гиперплазии эндометрия [143].

Представленные в литературе данные о риске развития рака молочных желез и яичников у женщин с СПКЯ носят противоречивый характер. По результатам ретроспективного исследования Pierpoint T (1998), включившего 786 женщин с СПКЯ, наблюдаемых с 1930 по 1976 год, смертность от рака яичников не превышала средних популяционных значений. В то же время имеются согласно данным Schildkraut JM (1996) частота рака яичников в 2,5 раза выше среди женщин с СПКЯ. Ряд исследований указывает на отсутствие повышенного риска рака молочной железы (РМЖ) среди женщин с СПКЯ [30, 133]. В качестве значимого фактора риска РМЖ рассматривается ожирение, частота которого достаточно высока среди женщин с СПКЯ. Некоторые авторы высказывают точку зрения, что посредством этого механизма можно ожидать повышения риска РМЖ

среди «метаболически не здоровых» женщин с СПКЯ [62]. Требуются дальнейшие популяционные исследования для оценки рисков онкологических заболеваний при СПКЯ.

### 1.3. Современные проблемы диагностики СПКЯ

Диагностика синдрома основывается на наличии жалоб на нарушение менструального цикла по типу олиго-аменореи (ОМ), выявление гиперандрогении (ГА) и поликистозной морфологии яичников (ПКЯ) по УЗИ. Согласно критериям Национального института здоровья США (1990) ГА является обязательным диагностическим критерием. В настоящее время определение ГА при СПКЯ основано на наличии биохимической гиперандрогемии (Тобщ и/или Тсв) и/или наличии гирсутизма. Тобщ считается наиболее значимым биологически активным андрогеном и является первой линией в диагностике ГА при СПКЯ [143]. Имеются данные, что около 50-60% женщин с СПКЯ имеют повышенный уровень Тобщ или Тсв, и только у трети из них присутствует гирсутизм [18]. В 2003 году Роттердамские критерии выделили неандрогенный фенотип, однако факт, что СПКЯ может быть диагностирован при отсутствии ГА, вызывает споры среди смежных специалистов и различных эндокринологических школ. Впервые, исследования по выявлению женщин с СПКЯ и нормоандрогенией, были проведены Dewailly 15 лет назад [115]. Результаты показали, что большинство пациенток с СПКЯ без гирсутизма и уровнем Тобщ в пределах нормативных значений, имели более высокие в сравнении с группой контроля уровни А4 и Тобщ (измеренные методом ИФА). Авторы предположили, что отсутствие явной ГА может привести к гиподиагностике и ложно-отрицательным результатам. Таким образом результаты исследования указывают на необходимость расширения панели определяемых андрогенов и применение более чувствительных методов диагностики. Согласно рекомендациям Американской ассоциации эндокринологов и ассоциации по изучению гиперандрогений и СПКЯ (2015) измерение уровня Тсв в сыворотке крови является более информативным, чем Тобщ, однако ограничено недоступностью в клинической практике

высокоточных методов диагностики, в частности ЖХ-МС [15]. Однако даже сочетанное измерение уровня Тобщ и Тсв не дает полного представления о андрогенном профиле пациентки и требует определения других андрогенов [120, 136, 140, 157, 161]. Целесообразность определения уровня А4 остается спорной, ни на конференции NIH [172], ни на конгрессе в Роттердаме [166] не включили его в перечень андрогенов, рекомендуемых к определению. Измерение уровня А4 в сыворотке крови позволяет выявить только около 10% женщин, у которых А4 повышен изолированно, при нормальных уровнях Тобщ и Тсв [18]. Однако в недавнем исследовании представлены данные о преимуществах использования А по сравнению с Тобщ в особенности при оценке уровней обоих гормонов с помощью ЖХ-МС [79]. С другой стороны, А4 может одинаково синтезироваться как корой надпочечников, так и тека-клетками яичников. Ранее было обнаружено увеличение содержания А4 в фолликулярной жидкости у женщин с СПКЯ [14] и выдвинута гипотеза о его изолированном повышении у данной группы пациенток [80]. Использование более совершенных технологий, способных точно измерять уровень стероидов, поможет доказать, что избыточная продукция андрогенов у женщин с СПКЯ не ограничена исключительно яичниками. Большую роль в стероидогенезе и метаболизме андрогенов могут играть также надпочечники, жировая ткань, кожа. Применение обоснованного спектра андрогенов в клинической практике важно для диагностики неполных фенотипов СПКЯ, в частности при дифференциальной диагностике прогностически более благоприятного неандрогенного фенотипа.

Отсутствие общепринятой диагностической системы и УЗ-критериев, трудности диагностики неполных фенотипов синдрома, в особенности у девушек-подростков, обосновывают целесообразность введения нового унифицированного критерия СПКЯ. Наиболее перспективным потенциальным маркером СПКЯ является АМГ. АМГ - гликопротеин, член семейства трансформирующих факторов роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). В организме женщины продукция АМГ клетками гранулезы примордиальных и малых антральных фолликулов начинается еще внутриутробно и сохраняется вплоть до наступления менопаузы. Известно, что у



женщин репродуктивного возраста АМГ подавляет экспрессию рецепторов ФСГ, ингибирует вовлечение примордиальных фолликулов в стадии дальнейшего роста, тем самым приводит к задержке развития фолликулов и способствует селекции доминантного фолликула. Продукция АМГ достигает наибольших значений в малых антральных фолликулах, и практически прекращается на поздних ФСГ-зависимых стадиях фолликулогенеза. АМГ способен значительно подавлять ФСГ- и ЛГ-индуцированный синтез ароматазы, приводя к выраженному снижению конверсии тестостерона в эстрадиол [128].

Уровень секреции АМГ находится в прямой зависимости от числа антральных фолликулов по данным УЗИ, что подтверждено рядом исследований. Данная взаимосвязь легла в основу широкого применения АМГ в клинической практике. В настоящее время гормон рассматривается как инструмент предикции овариального ответа в программах ВРТ с целью выявления женщин групп риска по бедному овариальному ответу и по гиперстимуляции яичников. Ведутся исследования по изучению АМГ как маркера ятрогенного повреждения яичников в ходе оперативных вмешательств, а также при проведении химио- и лучевой терапии у онкологических пациентов.

В 2003 году опубликованы результаты первого исследования Pigny P. et al, согласно которым у женщин с СПКЯ уровень АМГ в сыворотке крови повышен в 2-4 раза и коррелирует с числом антральных фолликулов яичников [17, 24, 163, 164]. Дальнейшие исследования показали, существование взаимосвязи между повышенным уровнем АМГ и ГА, а также олигоменореей [21] что заложило основы представления о АМГ как о возможном маркере тяжести течения синдрома. В то же время нет однозначного мнения на этот счет, поскольку также представлены данные об отсутствии подобных зависимостей [114]. Противоречия могут быть обусловлены гетерогенностью клинической картины СПКЯ, стертым течением заболевания. Женщины с СПКЯ обладают фенотипическими особенностями продукции АМГ. Так, некоторые авторы указывают на более высокий уровень АМГ у женщин с фенотипом А по сравнению с неполными

фенотипами СПКЯ и на прогрессивное снижение уровня АМГ от фенотипа А к Д [12, 114]. Исследовательские работы в данном направлении немногочисленны.

Первое исследование посвященное ассоциации повышенных уровней АМГ и СПКЯ опубликовано Pigny P., Dewailly D. и соавторами в 2003 году. С тех пор научный интерес к АМГ как диагностическому критерию СПКЯ и возможной альтернативе УЗ-исследования неуклонно растет. Основываясь на данных о корреляции уровня АМГ в сыворотке крови с ультразвуковыми критериями СПКЯ, степенью выраженности ГА и тяжестью олигоменореи, в 2011 году Dewailly D. впервые предложил рассмотреть АМГ как универсальный диагностический критерий СПКЯ, возможную альтернативу Роттердамским критериям [35]. Несмотря на более чем десятилетнюю историю изучения АМГ в аспекте СПКЯ и небольшое разнообразие тест-систем, на сегодняшний день в мире нет единых рекомендаций, какой уровень АМГ является пороговым для диагностики синдрома. Наличие фенотипических и возрастных особенностей продукции АМГ усугубляют проблему. Верхние границы предложенных референсных значений колеблются в пределах от 2,8 нг/мл до 8,4 нг/мл [45]. Подобные различия можно объяснить не только использованием различных диагностических систем СПКЯ, но и особенностями критерий включения и исключения женщин с СПКЯ и группы контроля в проведенных исследованиях. В исследовании Hart et al (2010) указано, что в группу контроля были включены девочки-подростки с явлениями моносимптомной олигоменореи, которые потенциально могли иметь фенотип Д. В ходе данного исследования был установлен пороговый уровень АМГ в 5,2 нг/мл, что приближается к данным полученным Dewailly (2011), Li HWR (2011).

Некоторые авторы высказываются в пользу введения дифференцированного порогового уровня АМГ. В своем исследовании Rosenfield и соавторы говорят о том, что пороговый уровень АМГ при использовании критериев National Institute of Health (NIH) составляет 6,2 нг/мл, но чтобы дифференцировать пациенток со стертыми формами синдрома и здоровых женщин с асимптомной поликистозной морфологией яичников целесообразно использовать порог отсечки в 10,7 нг/мл

[41]. Остается спорным вопрос о целесообразности градации порогового уровня с учетом возрастных особенностей женщин. В нашем исследовании мы не получили взаимосвязи АМГ и возраста среди пациенток с СПКЯ, однако в группе контроля данная закономерность четко прослеживалась. Полученные данные согласуются с результатами проведенного мета-анализа S.M.Nelson. Так по данным автора возраст не оказывал влияния на пороговый уровень АМГ. Вероятно, это связано с более медленным старением яичников у женщин с нормогонадотропным ановуляторным бесплодием, о котором писал Fauser ВСJM еще в 2004 году [22]. Однако проведение исследований на выборке с включением большего числа женщин с СПКЯ в возрасте до 25 лет остается целесообразным.

В литературе представлены данные о фенотипических особенностях продукции АМГ у женщин с СПКЯ. В настоящее время проведено только три зарубежных исследования. По данным Piouka и соавторов уровень АМГ прогрессивно снижается от фенотипа А к фенотипу D [35]. В исследованиях Sahmay S. и Romualdi D., включивших полный спектр фенотипов СПКЯ, наивысшие уровни АМГ были обнаружены у представительниц фенотипов А и D [23, 39]. Вариабельность уровня АМГ в сыворотке крови при различных фенотипах синдрома при сопоставимых объемах яичников может быть обусловлена индивидуальными особенностями продукции гормона на уровне самой клетки гранулезы. Так по данным некоторых авторов в условиях *in vitro* клетки гранулезы, выделенные из яичников женщин с полным андрогенным фенотипом обладают повышенной продукцией АМГ по сравнению с клетками, полученными из яичников женщин с неандрогенным фенотипом [20, 165]. Результаты нашего исследования согласуются с данными, представленными Sahmay S. и Romualdi D. Средний уровень АМГ превышал пороговые значения во всех исследуемых подгруппах. В подгруппе с фенотипом А средний уровень АМГ превышал полученный нами пороговый уровень в 3,4 раза, в подгруппе с фенотипом В, несмотря на нормальные объемы яичников по данным УЗИ, уровень гормона был повышен в 2,1 раза, что указывает на большую информативность АМГ в диагностике синдрома по сравнению с общепринятыми

УЗ-критериями для неполных фенотипов синдрома. Значительно более высокий уровень АМГ в группе с полным андрогенным фенотипом поддерживает гипотезу об ассоциации повышенной продукции АМГ и биохимической ГА у женщин с СПКЯ. В настоящее время известны два механизма, которые могут обуславливать данную взаимосвязь. Центральный механизм предполагает, что повышенный уровень АМГ может приводить к гиперсекреции ЛГ и последующей модификации синтеза андрогенов клетками теки яичников. По нашим данным ассоциация АМГ и ЛГ достигла статистической значимости. Периферический, паракринный, механизм предполагает подавление экспрессии ароматазы повышенными концентрациями АМГ и, как следствие, подавление конверсии общего тестостерона и андростендиона в эстрадиол и эстрон соответственно, что в конечном итоге реализуется в биохимическую ГА [35]. Согласно данным Meng-Xue Zeng и соавторов (2015) молекулярной основой обоих механизмов могут служить поломки на уровне гена АМГ и его рецептора, которые значительно чаще встречались у пациенток с СПКЯ, чем у здоровых женщин и были ассоциированы с повышением уровня ЛГ и Тобщ.

#### **1.4. Инсулиносенситайзеры в терапии СПКЯ**

Осознание ИР как ключевого фактора развития репродуктивных, метаболических и онкологических рисков при СПКЯ сделало патогенетически обоснованным развитие такого направления в терапии синдрома, как применение ИС. В клинической практике нашли применение препараты группы тиазолидиндионов (пиоглитазон, росиглитазон), бигуаниды (метформин) и стереоизомеры 9-атомного спирта инозитола (D-хиро-инозитол и миоинозитол). Применение тиазолидиндионов в настоящее время ограничено не только высокой стоимостью лекарственных препаратов, но и вероятностью развития серьезных побочных эффектов. Так, по данным мета-анализа, включившего более 2,5 миллионов пациентов с СД2, длительно получавших пиоглитазон, впервые выявленный рак мочевого пузыря встречался с частотой 53,1 на 100000 человеко-лет. Вероятно, данный эффект не является специфичным для всей группы

препаратов, поскольку данных о повышенном риске развития рака мочевого пузыря на фоне терапии росиглитазоном не получено. В то же время длительный прием росиглитазона связывают с усугублением атеросклероза, гипертрофией сердца и сердечной недостаточности [164].

МФ лишен подобных нежелательных эффектов, экономически доступен и его действие достаточно хорошо изучено. Первая статья о благоприятном воздействии МФ на репродуктивную функцию и метаболический профиль женщин с СПКЯ была опубликована в США в 1994 году. За последние двадцать лет МФ получил признание среди мировых экспертов, как негормональное средство первой линии для терапии инсулинорезистентных состояний, к числу которых относят СПКЯ. Благодаря проведению многочисленных научных исследований перечень известных современной науке «мишеней» действия МФ значительно расширился. Множественное тканеспецифическое действие препарата в печени, мышцах, эндотелии и яичниках опосредовано преимущественно коррекцией уровня гликемии, ИР и ГИ [66]. В печени МФ напрямую ингибирует ферменты глюконеогенеза (фосфоенолпируват карбоксилазу, фруктозо-1,6-фосфатазу, глюкозо-6-фосфатазу), блокирует захват гепатоцитами субстратов глюконеогенеза, повышенное фосфорилирование рецепторов инсулина и субстрата инсулинового рецептора-1 и -2. Другим возможным механизмом действия МФ является блокирование митохондриальной дыхательной цепи, следствием этого является дефицит энергетических запасов, необходимых для глюконеогенеза [123]. МФ способствует также усилению захвата глюкозы клетками печени и ускорению гликолиза, путем активации гликолитических ферментов, таких как глюкокиназа и пируваткиназа. В клинических исследованиях на больных СД2 было доказано, что усиленный МФ захват глюкозы висцеральными адипоцитами приводит к повышению реэстерификации свободных жирных кислот через ускорение продукции глицерофосфата. В результате свободные жирные кислоты попадают в печень и тормозят глюконеогенез. Вероятно, ключевым звеном действия МФ на глюконеогенез и липогенез является стимуляция аденозинмонофосфат-киназы (АМРК)

посредством активации серин-треонин протеин-киназы (SK11). SK11/АМРК-сигнальные пути вовлеченные в подавление экспрессии генов, кодирующих ферменты глюконео- и липогенеза [58].

В организме человека 80% глюкозы подвергается инсулин-опосредованному захвату в скелетной мускулатуре. На культуре миоцитов с ИР доказано, что МФ способен восстановить дефекты сигнального пути, в том числе снизить стимулированное инсулином фосфорилирование инсулинового рецептора и его субстрата-1 [11]. В терапевтических концентрациях МФ стимулирует синтез гликогена. Длительное применение МФ предотвращает накопление липидов в скелетной мускулатуре. Жировая ткань не рассматривается как основная мишень для действия МФ, однако в литературе представлены данные о стимуляции процессов катаболизма в преадипоцитах. Также известно о способности бигуанидов ингибировать липолиз, адипогенез и накопление внутриклеточного жира, что опосредует снижение веса пациентов на фоне длительного приема МФ.

Известен антиандрогенный эффект МФ, опосредованный нормализацией чувствительности тканей к инсулину, коррекцией ГИ, подавлением стимулирующего действия инсулина на биосинтез андрогенов в клетках теки. В литературе представлены данные о снижении стимулированной инсулином активности ферментов стероидогенеза - 17 $\alpha$ -гидроксилазы, 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы и 20,22-десмолазы на фоне воздействия МФ. МФ может оказывать также прямой инсулинонезависимый антиандрогенный эффект, это было доказано на культуре опухоли тека-клеток в виде снижения А4 [13]. Снижение избыточной продукции андрогенов и коррекция углеводного и жирового обмена приводят к полному или частичному восстановлению репродуктивной функции. Известно, что МФ в дозе 1000 мг в сутки приводит к двукратному снижению уровня андрогенов в сыворотке крови, восстановлению овуляторного цикла в 50-60% и наступлению беременности в 25-30% случаев [91, 102].

В настоящее время МФ рекомендован к применению в протоколах стимуляции овуляции при резистентности к кломифен цитрату, а также в

программах ВРТ для профилактики синдрома гиперстимуляции яичников. По данным Palumbo M. (2014 год) комбинация кломифена цитрата и МФ в циклах стимуляции овуляции приводит к двухкратному повышению частоты достижения овуляции и беременности: 28,5% и 53,5% соответственно [119]. Согласно результатам мета-анализа 10 РКИ назначение МФ вне зависимости от используемой дозы не влияло на частоту наступления беременности в программе ВРТ, однако способствовало снижению риска гиперстимуляции яичников и ранних потерь беременности [74, 104, 121]. Эффективность терапии МФ не всегда определяется наличием или отсутствием НТГ, ИР, ГИ и конституционными особенностями пациентки. Известно, что регуляция менструального цикла у женщин с ИМТ менее 25 кг/м<sup>2</sup> достигается в 41,65% [107]. По данным некоторых исследований у худых пациенток без ИР частота восстановления овуляции и беременности была даже выше, чем в группе женщин с ожирением и метаболическими нарушениями. При сравнении эффективности терапии МФ у пациенток с различными фенотипами СПКЯ выявлено, что при фенотипе В и С чаще восстанавливалась овуляция и наступала беременность, хотя полученные результаты оказались статистически недостоверны [107]. В связи с этим с клинической точки зрения является актуальным прогнозирование ответа на терапию МФ на основании учета клинических, лабораторных показателей и генетических маркеров. Однако достоверных результатов на сегодняшний день в научной литературе не представлено. Это указывает на необходимость проведения дальнейших исследований.

Относительно молодым направлением является применение МФ в профилактике и терапии злокачественных новообразований. Как уже указывалось, ИР признана значимым патогенетическим фактором развития онкологических заболеваний, в частности РЭ, при СПКЯ. Это объясняет большое количество исследований, согласно результатам которых МФ способен снижать частоту, прогрессию и смертность от онкологических заболеваний. Проведен ряд исследований в условиях *invitro*, в которых показан антиметастатический, антиинвазивный и антипролиферативный эффекты МФ, однако их механизмы

остаются до конца не ясными. Известно, что терапия МФ не только ингибирует активность ароматазы P450, но и снижает резистентность к прогестерону, повышает уровень экспрессии рецепторов к прогестерону, снижает уровень экспрессии рецепторов к эстрадиолу в клетках эндометриальной аденокарциномы. МФ приводит к восстановлению баланса между пролиферацией и гибелью клеток, индуцируя апоптоз через активацию АМРК-сигнальных путей [86]. В настоящее время первой линией терапии гиперплазии и аденокарциномы эндометрия, предусматривающей сохранение репродуктивной функции женщины, является назначение прогестерона и его аналогов. Однако у 30% женщин подобная терапия остается нерезультативной, вероятно, ввиду резистентности к прогестерону [103]. По некоторым данным сочетанное назначение МФ и комбинированных оральных контрацептивов у женщин с атипичической гиперплазией эндометрия, не получивших эффекта от монотерапии прогестагенами, позволяет добиться нормализации представленности рецепторов к прогестерону в тканях эндометрия и регрессии пролиферативного процесса, что обеспечивает сохранение фертильности [55, 141]. Подобные данные получены в исследовании XLi (2013) при лечении ранних стадий эндометриальной аденокарциномы, а также в работах Maskau H.J. при использовании комбинации МФ и ингибиторов mTOR (mammalian target of rapamycin inhibitors) для лечения рецидивирующего и метастатического рака эндометрия [108]. В настоящее время интенсивно изучаются механизмы противоопухолевого действия МФ, затрагивающие множество внутриклеточных сигнальных путей, которые условно подразделяют на инсулинозависимые и инсулинонезависимые. Таким образом, помимо широкого применения МФ в терапии репродуктивных и метаболических нарушений при СПКЯ, положено начало его клинического использования в комплексном лечении предраковых процессов и злокачественных новообразований эндометрия.

Несмотря на многочисленные лечебные эффекты МФ при лечении репродуктивных, метаболических нарушений и протективный эффект в



отношении формирования различных злокачественных новообразований, у определенной группы женщин возникают побочные эффекты, преимущественно со стороны желудочно-кишечного тракта, которые ограничивают его применение в клинической практике. По некоторым данным у 20-30% пациенток возникают различного рода диспепсические явления в виде тошноты, рвоты, вздутия живота, неустойчивого стула, головокружений. На сегодняшний день механизмы развития побочных эффектов со стороны ЖКТ остаются до конца неизвестными. Полагают, что они могут возникать за счет быстрого всасывания МФ на ограниченном участке верхних отделов ЖКТ и быстрого увеличения концентрации в просвете кишечника выше порогового уровня. Дробление приема препарата и ежедневное большое количество таблеток в сочетании с побочными эффектами МФ могут приводить к снижению комплаентности. При однократном приеме препарата приверженность терапии составляет 79%, при двукратном – 66 %, при трехкратном – снижается до 38%. Около 60 % пациентов с СД 2 типа не достигают целей терапии, 5-10% прекращают прием препарата [53].

В настоящее время разработана инновационная лекарственная форма МФ (Глюкофаж Лонг), обеспечивающая его замедленную абсорбцию. Таблетка Глюкофаж Лонг состоит из двойной гидрофильно-полимерной матричной системы, в которую погружены МФ-содержащие частицы, составляющие основу лекарственного препарата. Уникальная система диффузии через гелевый барьер GelShield обеспечивает постепенное и равномерное высвобождение МФ в кишечнике. Это позволяет свести к минимуму побочные эффекты и уменьшить кратность приема до одного раза в сутки без снижения эффективности терапии. По данным английского ретроспективного исследования перевод с терапии обычным МФ на лекарственную форму с пролонгированным действием сопровождался снижением частоты нежелательных явлений со стороны ЖКТ с 26% до 11%, диареи - с 18% до 8%. Лучшая переносимость препарата и однократный прием обеспечили повышение приверженности терапии с 62% до 81% [47].

В заключении хотелось бы еще раз отметить, что СПКЯ многолик, если в молодом возрасте доминируют репродуктивные нарушения, приводящие к бесплодию и осложненному течению беременности, то к периоду менопаузы преобладают метаболические расстройства, ассоциированные с риском развития сахарного диабета 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний. Учитывая многообразие клинических проявлений СПКЯ, в последние годы на страницах научных журналов и конференциях все чаще обсуждается вопрос о целесообразности переименования синдрома, его название должно отражать все палитру репродуктивных и метаболических нарушений, которые требуют совершенствования диагностических подходов и разработку эффективных мер профилактики. К их числу можно отнести долгосрочную терапию ИС, в частности МФ, многочисленные механизмы воздействия и эффективность которого подтверждены большим числом научных исследований. Без сомнения, остается множество спорных вопросов о применении бигуанидов в сфере репродуктивной медицины, профилактике развития гестационного сахарного диабета, возможности предотвращения развития и терапии онкологических заболеваний. Это открывает широкие перспективы для последующих научных исследований.

## Глава 2. Материалы и методы исследования.

### 2.1. Материалы исследования.

Исследование проводилось на базе отделения гинекологической эндокринологии (руководитель – д.м.н., профессор Г.Е.Чернуха) ФГБУ НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им.В.И.Кулакова. Включено 437 женщин с СПКЯ (ср. возраст -  $25,5 \pm 4,6$  года, ср.ИМТ  $25,2 \pm 6,8$  кг/м<sup>2</sup>), 274 соматически здоровых женщин группы контроля без нарушений репродуктивной функции (ср. возраст -  $25,0 \pm 4,1$  года, ср.ИМТ  $25,2 \pm 4,7$  кг/м<sup>2</sup>). Пациентки были сопоставимы по возрасту и ИМТ ( $p > 0,05$ ). С целью проведения молекулярно-генетического исследования была введена дополнительная группа контроля, в которую вошли 135 женщин в позднем репродуктивном возрасте или в постменопаузе (ср. возраст -  $51,6 \pm 16,5$  лет, ср. ИМТ  $28,2 \pm 8,1$  кг/м<sup>2</sup>), с реализованной репродуктивной функцией без указания на эндокринное бесплодие, олигоменорею, преждевременную недостаточность яичников в анамнезе, а также гирсутизм.

СПКЯ диагностировался согласно рекомендациям Международного симпозиума объединенной рабочей группы Европейского общества репродукции и эмбриологии человека и Американского общества репродуктивной медицины (The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group 2003). Диагноз устанавливался при наличии как минимум двух из трех ключевых критериев (ГА, ОМ, ПКЯ по УЗИ), определялся один из четырех репродуктивных фенотипа: фенотип А - ГА+ОМ+ПКЯ, фенотип В - ГА+ОМ, фенотип С - ГА+ПКЯ, фенотип D - ОМ+ПКЯ.

*Критериями включения в основную группу являлись:*

1. клинико-лабораторные признаки СПКЯ;
2. возраст от 18 до 35 лет;

3. наличие информированного согласия на участие в исследовании, одобренном этическим комитетом Центра.

*Критерии невключения для основной группы:*

1. Наличие сопутствующей эндокринной патологии (гиперпролактинемия, патология щитовидной железы, врожденная гиперплазия коры надпочечников по данным генетического скрининга (СYP-21), синдром Кушинга и др), наличие опухолей и некомпенсированной экстрагенитальной патологии.
2. Прием в течение 3х месяцев до включения в исследование гиполипидемических, гормональных препаратов и инсулиносенситайзеров.

*Критерии исключения для основной группы:*

1. Низкая комплаентность
2. Побочные эффекты на фоне терапии метформином

*Критерии включения в группу контроля для лабораторно-инструментальных методов исследования:*

1. возраст от 18 до 35 лет;
2. регулярный менструальный цикл, отсутствие данных за ГА;
3. отмена гормонотерапии терапии за 3 месяца до проводимого исследования;
4. наличие информированного согласия на участие в исследовании, одобренном этическим комитетом Центра.

*Критерии включения в группу контроля для молекулярно-генетического исследования:*

1. возраст 45 – 55 лет.
2. Отсутствие указаний на СПКЯ, гиперандрогению, эндокринное бесплодие в анамнезе.
3. Реализованная репродуктивная функция.

4. наличие информированного согласия на участие в исследовании, одобренном этическим комитетом Центра.

*Критерии невключения в группы контроля:*

1. Наличие сопутствующей эндокринной патологии (СПКЯ, гиперпролактинемия, патология щитовидной железы, врожденная гиперплазия коры надпочечников по данным генетического скрининга (СУР-21), синдром Кушинга и др), наличие опухолей, некомпенсированной экстрагенитальной патологии.
2. Прием в течение 3х месяцев до включения в исследование гиполлипидемических, гормональных препаратов и инсулиносенситайзеров.

Включение пациенток в исследование осуществлялось строго в соответствии с указанными выше критериями. Участницы исследования были проинформированы о цели исследования, объеме планируемого обследования и лечения, возможности проведения альтернативной терапии и выхода из исследования. Все женщины, вступившие в исследование, подписали информированное согласие на участие в исследовании. Работа была одобрена комиссией по этике биомедицинских исследований при ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ (протокол № 9 от 14 октября 2014г.).

### **Дизайн исследования**

#### **Ретроспективное обсервационное исследование (n=52 605)**

- определение доли СПКЯ в структуре гинекологических заболеваний по архивным данным отделения гинекологической эндокринологии Центра за 2014-2018гг.

#### **Одномоментное сравнительное исследование (n=846)**

- *Основная группа (n=437 ) - пациентки с СПКЯ: фенотип А (n=241,) фенотип В(n=25), фенотип С (n=30), фенотип Д (n=141).*

- *Группа контроля 1 (n=274 ) – соматически здоровые женщины репродуктивного возраста без СПКЯ (возраст 25,0±4,1 года; ИМТ 25,2±4,7 кг/м<sup>2</sup>), для проведения лабораторно-инструментальных методов исследования*

- *Группа контроля 2 (n=135) - женщины без СПКЯ и ПНЯ для проведения молекулярно-генетического исследования*

### **Проспективное исследование (n=143)**

- **пациентки с СПКЯ**, получавшие терапию МФ: 1500мг/сут в течение 6 месяцев (продолжительная форма, титрование дозы).

## **2.2. Методы исследования.**

### Общеклинические методы исследования

При первичном обращении пациентки производился сбор анамнеза: уточнялись и оценивались жалобы, история заболевания и семейный анамнез. Анализировалось течение беременности и родов у матери, рост и вес при рождении, перенесенные заболевания, травмы и оперативные вмешательства, проведенная ранее терапия, особое внимание уделялось применению гормональной терапии и препаратов, оказывающим влияние на углеводный обмен.

Анализ характера менструального цикла включал оценку возраста менархе, времени дебюта олигоменореи или аменореи (первичная и вторичная), длительности межменструальных интервалов по менструальному календарю, взаимосвязи характера менструального цикла с приемом различных гормональных препаратов, изменением образа жизни, стрессовыми факторами, как возможными причинами нарушений цикла. Наличие ановуляции оценивали по данным динамического УЗИ на 24-35 д.м.ц. и мониторинга уровня прогестерона в сыворотке крови в указанные дни менструального цикла. Анализировалась репродуктивная функция – наличие беременностей (самостоятельные или с использованием ВРТ), их течение, исходы или жалобы на бесплодие (длительность, результаты клинико-лабораторных исследований в

соответствии со стандартами обследования бесплодных пар). Фиксировались гинекологические заболевания, проведенная терапия и ее эффективность.

При физикальном обследовании проводилась оценка антропометрических показателей: характера телосложения, роста, массы тела, с расчетом ИМТ=масса тела (кг)/рост<sup>2</sup> (м<sup>2</sup>). Показателем нормальной массы тела считался ИМТ от 18 до 25 кг/м<sup>2</sup>, избыточной – от 25 до 30 кг/м<sup>2</sup>, ожирение – более 30 кг/м<sup>2</sup> ( I степень 30 кг/м<sup>2</sup><ИМТ<35 кг/м<sup>2</sup>, II степень - 35кг/м<sup>2</sup><ИМТ<40 кг/м<sup>2</sup>, III степень - ИМТ≥40 кг/м<sup>2</sup>). Для определения выраженности андрогенизации оценивались гирсутизм (с использованием шкалы Ферримана-Голлвея), наличие стрий, акне, негроидного акантоза.

Характер распределения жировой ткани и типа ожирения при первичном осмотре осуществлялся по расчетному показателю ОТ/ОБ, величина более 0,8 указывала на абдоминальный (андроидный) тип ожирения, менее 0,8 – на гиноидный тип.

#### Гинекологическое обследование

При первичном обращении с целью оценки гинекологического статуса производилось бимануальное исследование, включающее оценку характера волосяного покрова, типа развития наружных половых органов, состояние шейки матки в зеркалах, а также матки и придатков.

#### Лабораторные методы исследования. Иммуноферментные методы.

*Определение ПССГ.* Исследование проводилось на базе научно-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ АГиП им.В.И.Кулакова» Минздрава России (руководитель к.б.н. Иванец Т.Ю.). Уровень ПССГ определяли методом ИФА (тест-система «DPC» (США), анализатор «Immulite»), оценивали исходно, а также через 3 и 6 месяцев терапии.

С учетом уровня ПССГ производился расчет ИСА по формуле: Тобщ (нмоль/л) x 100/ПССГ (нмоль/л).

*Определение общего, свободного тестостерона, пролактина, ЛГ, ФСГ, эстрадиола, 17-ОП, ТТГ.* Исследование проводились методом RIA с использованием наборов «Immunotech» (Чехия). Забор крови для определения

гормонального профиля производился на 2-3 день спонтанного или индуцированного приемом прогестагенов менструального цикла (исходно у всех пациенток с СПКЯ и через 3 и 6 месяцев в группе терапии МФ). Метод исследования и реактивы не менялись на протяжении всего исследования.

*Определение уровня АМГ.* Уровень АМГ в сыворотке крови определяли методом ELISA с использованием тест-систем AMHGenII ELISA (BeckmanCoulter, USA) исходно на 2-3 день менструального цикла у всех женщин с СПКЯ, а также в динамике на фоне терапии метформинном (через 3 и 6 месяцев), а также у пациенток группы контроля 1. Метод исследования и реактивы не менялись на протяжении всего исследования.

*Определение андростендиона.* Концентрация андростендиона в сыворотке крови определялась методом ИФА с использованием стандартных тест-систем «Diagnostics Biohem Canada Inc.» (Канада). Исследование проводилось в соответствии с рекомендациями, прилагаемыми к набору реактивов, в образцах венозной крови, полученной на 2-3 день менструального цикла при вступлении в исследование, а также у пациенток, получающих терапию ИС, через 3 и 6 месяцев лечения. Определение уровней гормонов производилось в лаборатории «Инвитро». Метод исследования и реактивы не менялись на протяжении всего исследования.

*Определение содержания иммунореактивного инсулина (ИРИ).* Исследование содержания инсулина в сыворотке крови проводилось иммуноэлектрохемилюминисцентным методом, с использованием тест-систем Roche («Cobas 601»), в соответствии с прилагаемыми к ним инструкциями. Оценка характера секреции ИРИ осуществлялась на фоне 2-х часового перорального ГТТ. Концентрация ИРИ определялась натощак, через час и через 2 часа от углеводной нагрузки. Уровни исходного ИРИ более 25мк ЕД/мл расценивались как проявление тощачковой ГИ, а значения превышающие 100мкЕД/мл на фоне нагрузки как гиперсекреторный тип ответа на введение естественного стимулятора. Исследование проводилось на базе научно-



диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ АГиП им.В.И.Кулакова» Минздрава России (руководитель к.б.н. Иванец Т.Ю.).

Расчет индекса ИР производился по формуле:

$$\text{НОМА-ИР} = \text{Инсулин}_0 \text{ (мкЕД/мл)} \times \text{глюкоза}_0 \text{ (моль/мл)} / 22,5.$$

Индекс НОМА-ИР более 2,77 указывает на наличие ИР у пациентки.

**Таблица 1. Нормативные значения показателей гормонального исследования.**

Гормональное исследование (единицы измерения)	Нормативные показатели
ЛГ (МЕ/л)	2,3–15,0
ФСГ (МЕ/л)	1,37–9,9
Е2 (пкмоль/л)	150–480
Прл (мМЕ/л)	100–557
АМГ(нг/мл)	1,0–12,6
Тестостерон общий (нмоль/мл)	0,38-1,97
Тестостерон свободный (пг/мл)	<4,1
Андростендион (нмоль/мл)	1,6-19,0
Дигидротестостерон (пг/мл)	24-450
17–ОП (нмоль/л)	1,24–8,24
ПССГ (нмоль/мл)	18,0-114,0
ТТГ (мМЕ/л)	0,4–4,0
Т4св ( нмоль/л)	9,0–20,0
Инсулин (мкМЕ/мл)	2,7-25,0

### Биохимические методы исследования

*Исследование липидного спектра.* Липидный спектр крови оценивали исходно и через 6 месяцев терапии метформином. В сыворотке определяли уровень ХС, ТГ, ЛПНП, ЛПВП, производили расчет КА. Взятие крови проводилось из локтевой вены, натощак (после ночного голода в течение 12 часов). Сыворотку отделяли

центрифугированием после образования сгустка при 1500 xg в течение 15 мин. Центрифугирование производилось в течение первых 60 минут после получения образца крови.

Уровень общего ХС и ТГ определяли с помощью анализатора Airone 200 (ферментативный метод с использованием диагностических наборов фирмы “Bioson”, Германия). Расчет КА производился по формуле А.Н.Климова:

$$КА = (ХС-ЛПВП) / ЛПВП.$$

Стандартизацию и контроль качества биохимических исследований проводили в соответствии с требованиями ФСВОК. При анализе данных использовали нормативные показатели (таблица 2), принятые для оценки дислипидемий (рекомендации 1998г. Европейского общества кардиологов).

**Таблица 2. Нормативные значения показателей липидограммы.**

Гормональное исследование (единицы измерения)	Нормативные показатели
ХС (моль/л)	3,1-5,2
Триглицериды (моль/л)	0,7-1,7
ЛПВП (моль/л)	0,9-1,8
ЛПНП (моль/л)	0-3,9
Коэффициент атерогенности	2,0-3,0

*Глюкозо-толерантный тест.* Для оценки нарушений углеводного обмена проводился глюкозо-толерантный тест с 75г глюкозной нагрузки. Исследование проводилось всем женщинам с СПКЯ, включенным в исследование после 12 часов ночного голода. Натощак, через час и через 2 часа после углеводной нагрузки производилось взятие крови из локтевой вены с оценкой уровня глюкозы и ИРИ. Нагрузочный тест проводился после получения результата уровня глюкозы крови натощак, в случае повышения показателя до 6,1 моль/л и более дальнейшее исследование не проводилось. Концентрация глюкозы определялась на анализаторе, ИРИ –иммуноферментным методом. Согласно рекомендациям НТГ диагностировали при уровне глюкозы натощак равной или

более 6,1 ммоль/л, через час после углеводной нагрузке равной или более 11 ммоль/л, через 2 часа – 7,8 ммоль/л и более.

*Ультразвуковое исследование органов малого таза.* УЗИ органов малого таза проводилось на базе отделения функциональной и ультразвуковой диагностики ФГБУ «НМИЦ АГиП им.В.И.Кулакова» Минздрава России (руководитель отделения д.м.н., профессор Гус А.И.). Трансвагинальное ультразвуковое исследование выполнялось на аппарате 2000 Toshiba SSA-240 (Япония) конвексным датчиком частотой 8,5 МГц на 5-7 день спонтанного или индуцированного приемом прогестагенов менструального цикла. В группе женщин, получающих терапию МФ, УЗИ органов малого таза проводилось повторно через 3 и 6 месяцев терапии. При проведении УЗИ органов малого таза оценивались положение и размеры матки, структура миометрия (наличие миоматозных узлов, аденомиоза, рубцов). Особое внимание уделялось толщине и структуре эндометрия с целью исключения гиперплазии эндометрия. Оценивались размеры яичников, состояние фолликулярного аппарата, наличие объемных образований. Согласно Роттердамским критериям (2003) УЗ-маркерами поликистозной морфологии яичников считалось наличие более 12 фолликулов в максимальном срезе яичника и/или увеличение объема яичников более 10 см<sup>3</sup>. Расчет объема яичников производился по формуле:  $V=0,523 \times D \times Ш \times В$ , где D – длина (см), Ш – ширина (см), В – высота (см). Проведена оценка овариального резерва пациенток с СПКЯ и группы контроля репродуктивного возраста в режиме 3D-сканирования с подсчетом количества антральных фолликулов в объеме яичника.

*Оценка композиционного состава тела.* Оценка композиционного состава тела, включающая характер распределения и количество жировой ткани в организме, производилась методом двухэнергетической денситометрии (аппарат фирмы «Lunar» (США). Количественное содержание жировой ткани проводилось в абсолютных и относительных величинах как в организме в целом, так и в отдельных областях (туловище, конечности). Вычислялся процент жировой ткани,

распределенной по андроидному и гиноидному типу, на основе их соотношения рассчитывался индекс распределения жировой ткани - индекс A/G, наглядно демонстрирующий преимущественный тип отложения жировой массы. Оценка композиционного состава тела применялась для выявления пациенток со скрытым ожирением, то есть женщин с ИМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>, но с содержанием жировой ткани более 30% от исходной массы тела.

### Молекулярно-генетические методы исследования

- Анализ полиморфизма генов производился в лаборатории молекулярно – генетических методов ФГБУ «НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ (заведующий – д.б.н. Донинков А.Е.). Дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) для проведения генотипирования выделяли из образцов периферической крови. Определение замен однонуклеотидных последовательностей проводили с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Пациенткам проводилось генотипирование по указанным локусам: *CYP2C9* (rs1057910, rs1799853), *SLCO1B1* (rs4149056), *TCF7L2* (rs7903146, rs7901695), *PPARG* (rs8192678), *IL1B* (rs1143627), *AGTR1* (rs5186), *Edn1* (rs5370), *PPARA* (rs4253778), *GNB3* (rs5443), *ACE* (rs4340), *Lep* (rs7799039), *Irs1* (rs1801278), *FTO* (rs8050136, rs9939609), *CYP19A1* (rs936306), *CYP17A1* (rs743572), *INSR* (rs3815902), *LHCGR* (rs12470652), *FSHR* (rs6166, rs17038027, rs148976413), *KCNJ11* (rs5219), *OCT1* (rs34130495, rs72552763, rs113569197), *UCP2* (rs660339).

ПЦР и определение температуры плавления олигонуклеотидных проб проводили при помощи детектирующего амплификатора ДТ – 96 (ООО «НПО ДНК – Технология», Россия). ДНК для генотипирования выделяли из образцов периферической крови взятой с ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) в качестве антикоагулянта. До типирования полученные образцы ДНК находились в морозильных установках при температуре – 80°С. Из полученных образцов крови ДНК выделяли методом Higuchi (1989) с модификациями. Определение

SNPs проводилось ПЦР с праймерами, которые связываются с комплементарными последовательностями, и между циклами нагревания (для денатурации ДНК) и охлаждения (для обеспечения синтеза) происходит синтез копии данной области гена. Благодаря использованию описанных выше методик стало возможным выявить изменения даже в одном нуклеотидном основании в пределах исследуемого гена. Для приготовления библиотек для таргетного секвенирования, проводили ПЦР-амплификацию ДНК с использованием специфичных олигонуклеотидов. Список полиморфизмов представлен в таблице 3. Измерение концентрации полученного ПЦР-продукта производится на флуориметре Qubit 2.0 с использованием наборов Qubitds DNAHS Assay Kit

**Таблица 3. Список полиморфизмов методом таргетного секвенирования.**

	Rs	хромосома	позиция	длина системы
<i>AMH</i>	rs10407022	chr19	2249477	219
<i>INSR</i>	rs2059807	chr19	7166109	170
<i>FSHB</i>	rs11031006	chr11	30226528	175
<i>THADA</i>	rs12468394	chr2	43561161	151
	rs12478601	chr2	43721508	172
<i>LHCGR</i>	rs13405728	chr2	48978159	149
<i>FSH R</i>	rs12994034	chr2	49226271	195
	rs2349415	chr2	49247832	135
<i>RAB5B/SUOX</i>	rs705702	chr12	56390636	104
<i>HMGA2</i>	rs2272046	chr12	66224461	119
<i>C9orf3</i>	rs4385527	chr9	97648587	159
<i>YAP1</i>	rs1894116	chr11	102070639	162
<i>ATM</i>	rs11212617	chr11	108283161	257
	rs683369	chr6	160551204	144
<i>DENND1A</i>	rs10818854	chr9	126446778	131
	rs2479106	chr9	126525212	190
<i>SLC22A1</i>	rs628031	chr6	160560845	144

Приготовление библиотек для высокопроизводительного секвенирования проводили согласно протоколу производителя без этапа разрушения (шеринга) первоначальной ДНК и полировки концов, поскольку полученные ПЦР продукты имеют длину не более 300 п.н., а для амплификации используются фосфорилированные праймеры. Приготовление библиотек включает этапы:

- Лигирования адаптеров и баркодов P1-A-BC. Используется 16-ти кратное разведение всех адаптеров, поскольку количество входящей ДНК ниже рекомендуемого производителем. Очистка образца проводится с помощью магнитных частиц AMPure XP beads
- Ник-трансляции и амплификации. Проводится 6 циклов с использованием универсальных адаптеров. Очистка образца проводится с помощью магнитных частиц AMPure XP beads
- Измерение концентрация и оценка качества приготовленных библиотек проводится с использованием прибора Bioanalyzer 2100 фирмы Agilent.
- Проведение эмульсионной ПЦР, обогащение библиотек и нанесение на чип проводится при помощи автоматической станции IonChef. За один запуск прибора готовится сразу 2 чипа.
- Секвенирование проводили на приборах IonS5, чипы 520 и 530.

### **2.3. Терапия метформином**

С целью коррекции метаболической и овуляторной дисфункции пациенткам с СПКЯ, не заинтересованным в гормональной контрацепции, проводилась терапия ИС, метформином («Глюкофаж Лонг», Merck Sante (Франция) в суточной дозе 1500 мг (после ее титрования в течение 7-10 дней) в непрерывном режиме в течение 6 месяцев. Клинико-лабораторное обследование проводилось до начала терапии, через 3 и через 6 месяцев.

### **2.4. Статистическая обработка материала**

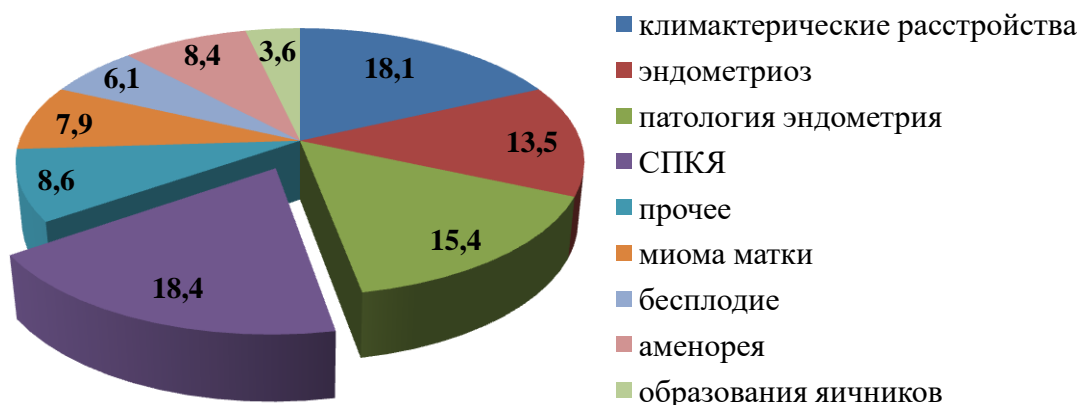
Для статистической обработки данных использовалась программа SPSS (IBM Statistical Package for the Social Sciences, 21 версия). Проведение теста Колмогорова-Смирнова установило нормальное распределение данных. Количественные характеристики представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение. Сравнение производилось с помощью t-критерия Стьюдента и критерия  $\chi^2$  Пирсона. Определение порогового уровня значений производилось с помощью ROC-анализ. С целью определения комплекса

факторов, определяющих эффективность терапии МФ, был проведен регрессионный анализ. Количественная оценка риска проводилась на основании расчета отношения шансов с доверительным интервалом 95%. Отношение шансов выбрано для интерпретации рисков применительно к аллелям и генотипам как симметричная величина наиболее приемлемая для генетических исследований. Статистически значимыми считались результаты при достижении уровня ошибки  $p < 0,05$ .

### Глава 3. Результаты проведенных исследований

#### 3.1. Частота выявления СПКЯ в структуре заболеваний репродуктивной системы (по данным обращаемости в отделение гинекологической эндокринологии ФГБУ «НМИЦ АГиП им.В.И.Кулакова МЗ РФ» за 2013-2017гг).

В настоящем исследовании была изучена частота представленности СПКЯ в структуре заболеваний женской репродуктивной системы по данным обращаемости в отделение гинекологической эндокринологии ФГБУ «НМИЦ АГиП им.В.И.Кулакова МЗ РФ» (рук. отделения профессор Сметник А.А.) за 5-летний период. Из 52 605 обращений было выявлено 9670 случаев СПКЯ, что составило 18,4%. Таким образом, СПКЯ является причиной обращения за медицинской помощью в каждом пятом случае, доминируя по частоте представленности даже среди таких заболеваний, как эндометриоз и патология эндометрия (рис.1).

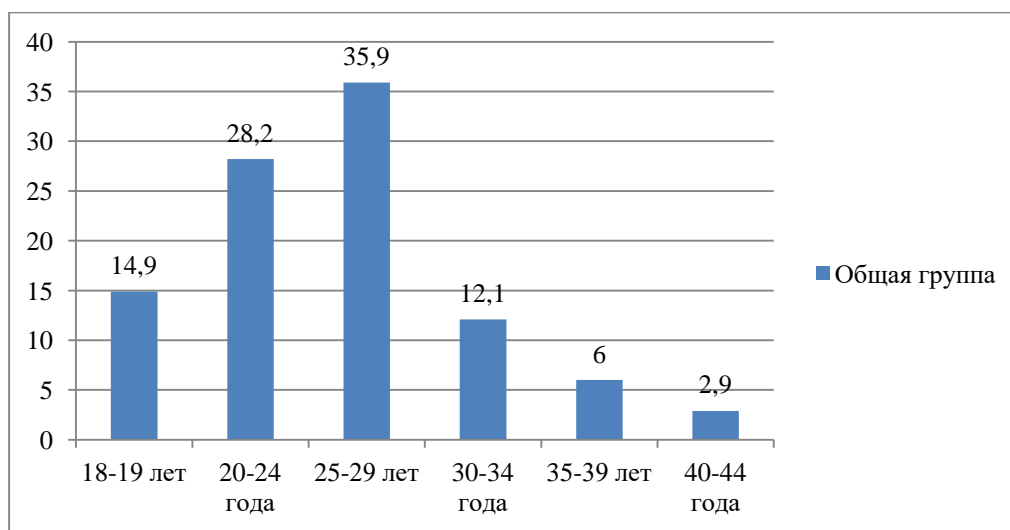


**Рис. 1.** Структура заболеваний и нарушений репродуктивной системы по данным обращаемости в отделение гинекологической эндокринологии за 5-летний период

Возраст женщин, обратившихся с СПКЯ, варьировал от 18 до 43 лет, в среднем составил  $27,3 \pm 7,2$  лет. Как видно из данных, представленных на рис. 2,



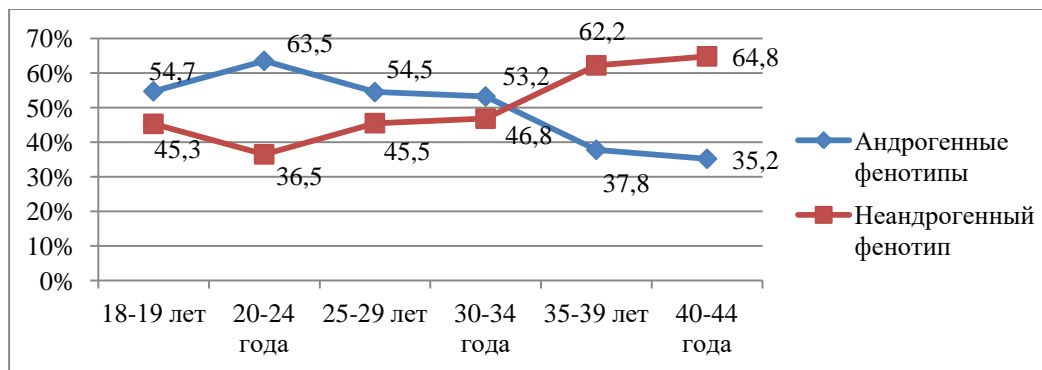
отображающем возрастную структуру пациенток, преобладали женщины в возрастной категории до 30 лет, на которых приходится практически 80% всех случаев заболевания. Основными причинами обращения в этом возрасте является не только заинтересованность в регуляции ритма менструаций и коррекции клинических проявлений андрогенизации, но и желание реализовать репродуктивную функцию при отсутствии овуляции. Согласно полученным данным, женщины с СПКЯ в возрастной категории 30-45 лет составили только 20% от обратившихся за медицинской помощью. Это может быть связано не только с тем, что большая часть женщин данной возрастной категории принимает КОК, в том числе после реализации репродуктивной функции, но и с регуляцией ритма менструаций, вероятность которой повышается с возрастом на фоне снижения овариального резерва



**Рис.2.** Возрастная структура СПКЯ

Анализ представленности разных форм СПКЯ показал доминирование андрогенных фенотипов, при этом биохимическая ГА устанавливалась по уровню Тобщ и Тсв. Суммарная частота андрогенных фенотипов (А, В,С) составила 55,6%, неандрогенного фенотипа Д - 44,4%. Распределение фенотипов по возрастным категориям указывает на преобладание андрогенных фенотипов в возрасте до 30 лет, при этом максимальная частота, достигающая 63,5%,

наблюдалась среди женщин 20-24 лет (рис 3). В возрастной категории 30-34 года частота андрогенных фенотипов и неандрогенного была равнозначной, что представлено на диаграмме в виде перекреста линейных значений. В возрастном диапазоне 35-44 лет соответственно превалировал неандрогенный фенотип, он встречался более чем у 60% женщин.



**Рис.3.** Распределение частоты представленности фенотипов СПКЯ по возрастным категориям.

Таким образом, СПКЯ занимает ведущее место в структуре заболеваний и нарушений репродуктивной системы, при этом подавляющее число обращений приходится на женщин в возрасте до 30 лет. Частота представленности репродуктивных фенотипов также ассоциирована с возрастом, до 35 лет доминируют андрогенные фенотипы, после – неандрогенный фенотип Д.

## 3.2. Клинико-лабораторная характеристика пациенток с СПКЯ

### 3.2.1 Клиническая характеристика пациенток с СПКЯ

Пациентки с СПКЯ и группы контроля 1 были сопоставимы по возрасту и ИМТ (группа СПКЯ - ср. возраст  $25,4 \pm 4,2$  лет, ср.ИМТ -  $24,2 \pm 5,6$  кг/м<sup>2</sup>; группа контроля ср. возраст  $25,2 \pm 3,8$  лет, ср.ИМТ -  $24,2 \pm 5,6$  кг/м<sup>2</sup>,  $p > 0,05$ ). Группу контроля 2, отобранную для молекулярно-генетического исследования, составили женщины позднего репродуктивного и менопаузального периода, их средний возраст составил  $51,6 \pm 9,4$  лет, средний ИМТ –  $28,2 \pm 8,1$  кг/м<sup>2</sup>. В основной группе избыточная масса тела выявлена у 74 (16,9%) пациенток, ожирение - у 62

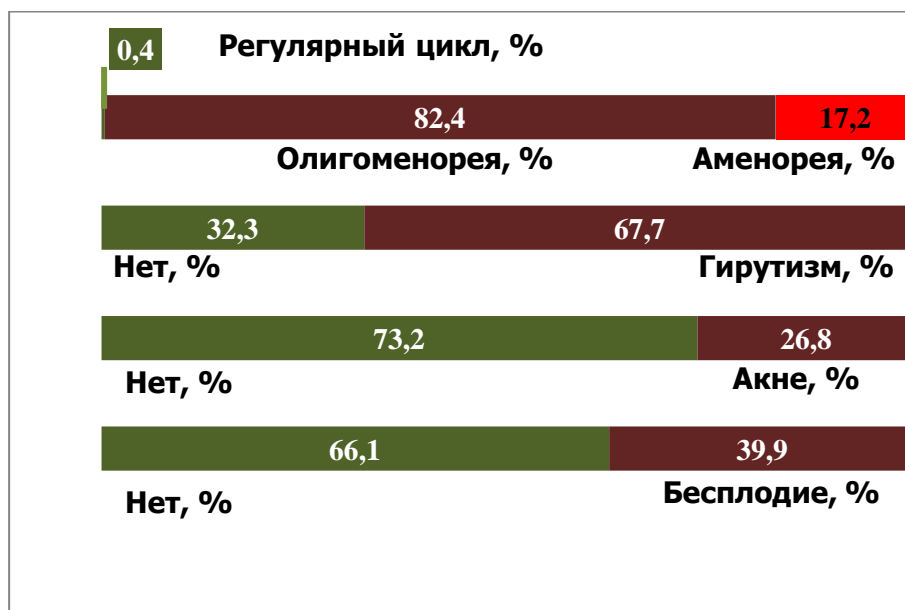
(14,2%), в группе контроля 1 эти показатели составили - 18 (11,2%) и 13 (8,1%) соответственно ( $p>0,05$ ). На первом визите с целью предварительной оценки характера распределения жировой ткани производился расчет соотношения ОТ/ОБ. В группе с СПКЯ средний показатель составил  $0,78\pm 0,15$ , в группе контроля –  $0,73\pm 0,14$  ( $p>0,05$ ). Индекс ОТ/ОБ, превышающий 0,85, являющийся маркером ожирения по андройдному типу, в группе с СПКЯ зафиксирован у 82 (18,8%), в группе контроля – у 22 (13,6%),  $p>0,05$ .

**Таблица 4. Клинико-анамнестические данные пациенток с СПКЯ и группы контроля 1**

Показатель	Общая группа СПКЯ (n=437)	Группа контроля для клинико-лабораторных методов (n=274)	P
Возраст, лет	25,6±4,6	25,2±3,8	p>0,05
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	25,2±6,8	24,2±5,6	p>0,05
Ожирение, %	62(14,2)	18(11,2%)	p>0,05
ОТ/ОБ	0,78±0,15	0,73±0,14	p>0,05
ОТ/ОБ>0,85	82 (18,8%)	22 (13,6%)	p>0,05

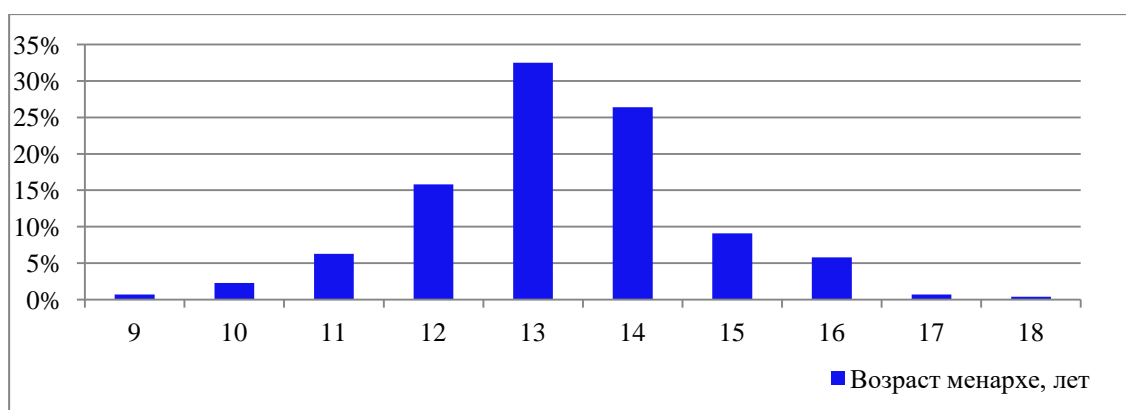
### Структура жалоб пациенток с СПКЯ

Ведущими причинами обращения пациенток с СПКЯ за медицинской помощью были нарушения менструального цикла, проявления гиперандрогении (гирсутизм и/или акне), бесплодие (Рис. 4).



**Рис.4.** Частота и структура жалоб пациенток с СПКЯ.

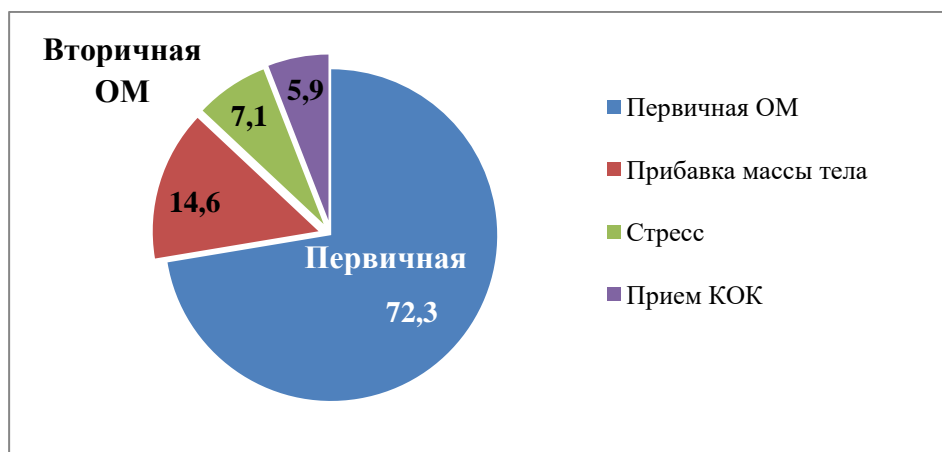
Оценка функционального состояния репродуктивной системы включала анализ характера менструального цикла, возраста менархе. Не установлено значимых различий по возрасту менархе среди группы контроля и СПКЯ, а также среди фенотипических подгрупп ( $p > 0,05$ ). Средний возраст менархе в группе СПКЯ составил  $13,2 \pm 2,6$  лет, в группе контроля  $13,2 \pm 2,4$  лет. Среди пациенток с СПКЯ 3 (0,7%) указывали на раннее менархе (в 9 лет), 10 (2,3%) - на позднее менархе в 17-18 лет. У 5 (1,1%) пациенток с поздним менархе была диагностирована аменорея с положительной реакцией на пробу с гестагенами (Рисунок 5).



**Рис.5.** Распределение пациенток с СПКЯ в зависимости от возраста менархе.

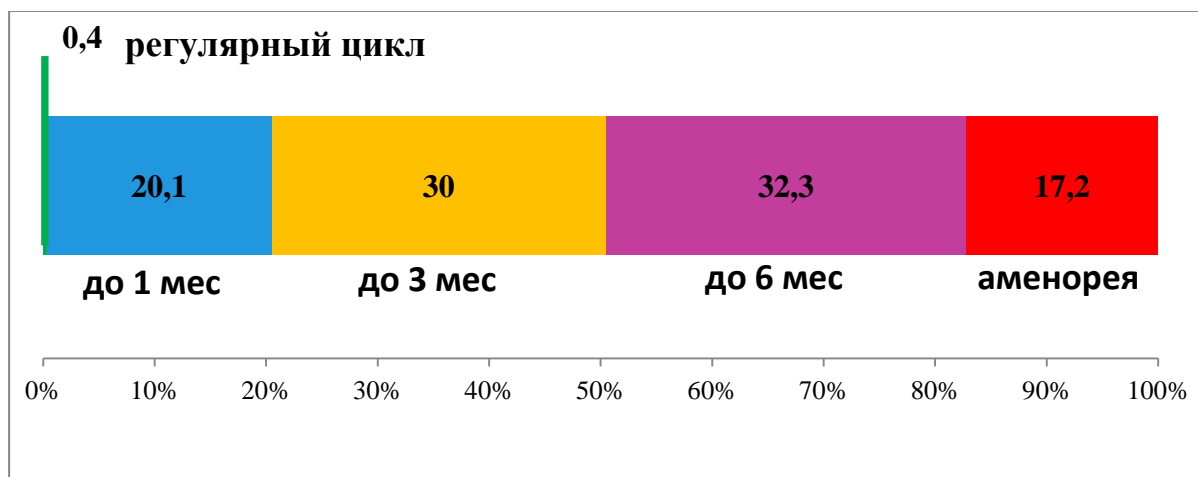
Нарушения менструального цикла были зафиксированы у 99,6% пациенток, из них ОМ - у 360 (82,4%) больных, первичная или вторичная аменорея – у 75 (17,2%). Две пациентки с СПКЯ (0,4%) ранее не отмечали задержек менструаций (Рис.4).

Манифестация ОМ совпадала с возрастом менархе у 316 (72,3%) пациенток с СПКЯ, вторичная ОМ наблюдалась у 121 (27,7%). Средний возраст дебюта вторичной ОМ составил  $21,3 \pm 6,4$  лет, 64 (14,6%) пациентки связывали появление задержек менструаций с прибавкой массы тела, 31 (7,1%) - с перенесенным стрессом, 26 (5,9%) - с приемом КОК, которые принимали либо с целью контрацепции (3,7%), либо для лечения акне (2,3%). Данные отображены на рисунке 6.



**Рис.6.** Частота первичной и вторичной ОМ с учетом провоцирующих факторов

Средняя продолжительность межменструальных интервалов у пациенток с ОМ составила  $3,6 \pm 3,4$  мес. Наиболее часто пациентки с СПКЯ отмечали задержки менструаций от 1 до 3 месяцев - у 131 (30,0%) пациентки и от 3 до 6 месяцев – у 141 (32,3%) (Рис. 7). Аменорея диагностирована у 75 (17,2%) пациенток, первичная - у 5 (1,1%) пациенток, вторичная – у 12 (2,7%).



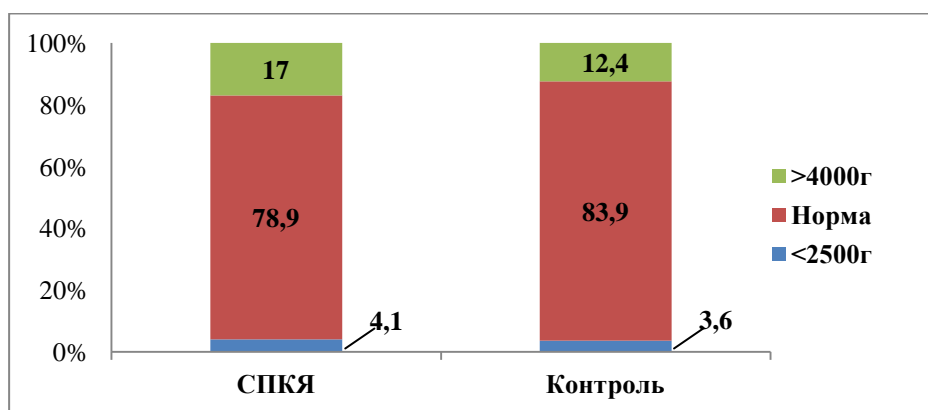
**Рис.7.** Распределение пациенток с СПКЯ в зависимости от длительности задержек менструаций.

Из 166 женщин, заинтересованных в наступлении беременности, 148 (89,1%) предъявляли жалобы на бесплодие, средняя длительность которого составила  $3,7 \pm 0,9$  лет. Первичное бесплодие зафиксировано у 77,7% женщин, вторичное – у 22,3% (в анамнезе самостоятельные беременности имели 10,1% пациенток,

беременности, наступившие в результате стимуляции овуляции 10,1%, в программах ВРТ 2,1%). Средняя длительность бесплодия составила  $3,7 \pm 3,6$  лет. Жалобы на гирсутизм предъявляли 296 (67,7%) больных. Представительницы фенотипа А имели максимальное среднее гирсутное число согласно модифицированной шкале Ферримана-Галлвея – 11 баллов. В подгруппах с фенотипами В, С и Д среднее гирсутное число составило 8, 9 и 5 баллов соответственно. Третье место в структуре жалоб занимало акне, с преимущественной локализацией на коже лица и спины – 166 (38,0%) пациенток. Представительницы группы контроля не имели указаний на олигоменорею или клинические проявления андрогенизации в анамнезе.

#### **Анализ анамнестических данных.**

Около 80% пациенток с СПКЯ имели нормальный вес при рождении, масса тела до 2500г отмечена у 18 (4,1%) пациенток, 4 из которых были рождены от многоплодной беременности. Почти каждая пятая пациентка с СПКЯ имела массу тела при рождении более 4000г. Частота нормальной массы тела при рождении была несколько выше в группе контроля, однако различия не достигли статистической значимости ( $p > 0,05$ , рисунок 8).



**Рис. 8.** Вес при рождении пациенток с СПКЯ и женщин группы контроля.

Анализ структуры экстрагенитальных заболеваний (Таблица 5) показал, что частота перенесенных детских инфекций, заболеваний желудочно-кишечного тракта, гепато-биллиарной системы и варикозной болезни нижних конечностей у пациенток с СПКЯ не превышает среднепопуляционных значений. Наиболее

часто пациентки указывали на перенесенные ветряную оспу, ангины, хронические заболевания верхних дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта.

**Таблица 5. Структура заболеваемости пациенток, включенных в исследование**

Показатель	СПКЯ (n=437)
Ветряная оспа	275 (62,9%)
Краснуха	129 (29,5%)
Корь	52 (11,9)
Инфекционный паротит	35 (8,0%)
Ангина	232 (53,1%)
Инфекция нижних дыхательных путей	196 (44,8%)
Болезнь Боткина	24 (5,5%)
Артериальная гипертензия	17 (3,9%)
Хронический гастрит, язвенная болезнь желудка, двенадцатиперстной кишки	79 (18,1%)
Заболевания печени и желчного пузыря	30 (6,9%)
Варикозная болезнь нижних конечностей	48 (11%)

Сопутствующая гинекологическая патология, структура которой представлена в таблице 6, была установлена у 78% пациенток с СПКЯ.

**Таблица 6. Структура сопутствующей гинекологической патологии у пациенток с СПКЯ.**

Показатель	СПКЯ (n=437)
Патология шейки матки (эктопия, дисплазия I-III степени)	106 (24,2%)
Гиперплазия эндометрия	18 (4,1%)
- атипическая гиперплазия эндометрия	-2 (0,4%)
Полип эндометрия	8 (1,8%)
Хронический эндометрит	12 (2,7%)
Миома матки	22 (5,0%)
Наружный и внутренний генитальный эндометриоз	18 (4,1%)
Функциональные кисты яичников в анамнезе	57 (13,0%)
Хронический сальпингоофорит	34 (7,8%)
Вульвовагинит и цервицит	92 (21,0%)

Мастопатия	54 (12,3%)
Фиброаденома молочных желез	13 (3,0%)

В структуре сопутствующей гинекологической патологии превалировала эктопия шейки матки, которая была выявлена у каждой четвертой пациентки. Воспалительные заболевания органов малого таза, среди которых доминировала патология нижних отделов мочеполовой системы, установлены у каждой третьей пациентки. Частота наружного и внутреннего генитального эндометриоза и миомы матки у пациенток с СПКЯ была ниже среднепопуляционной, составила 4,1% и 5,0% соответственно.

По поводу аномальных маточных кровотечений 36 пациентам (8,2%) ранее была проведена гистероскопия с отдельным диагностическим выскабливанием. По результатам гистологического исследования ГЭ верифицирована у 18 пациенток, в 2 случаях с атипией. В 8 случаях причиной АМК был полип эндометрия, в 3х – хронический эндометрит. В 7 случаях – морфологическая причина маточных кровотечений не установлена.

**Таблица 7. Структура наследственных заболеваний в группе СПКЯ.**

Показатель	СПКЯ (n=437)
Артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца	279 (63,8%)
СД-2	113 (25,8%)
Ожирение	135 (30,9%)
Отягощенный тромботический анамнез	35 (8,0%)
Варикозная болезнь нижних конечностей	122 (27,9%)
Нарушения менструального цикла по типу олигоменореи	149 (34,1%)
Гирсутизм	99 (22,6%)
Онкологические заболевания матки, яичников, молочных желез, кишечника и др.	144 (32,9%)

У 63,8% пациенток родственники первой и второй линии имели установленные диагнозы АГ, ИБС (Таблица 7). Реже встречались СД-2 (25,8%), ожирение (30,9%). Онкологические заболевания у родственников выявлены у 32,9% больных. Из них новообразования молочных желез – у 8,9%, яичников – у 3,0%,



кишечника 11,9%. Варикозная болезнь нижних конечностей - у 23,6%. Нарушения менструального цикла выявлены у 34,1% женщин первой и второй линии родства, при этом в исследовании принимали участие 4 пациентки из двоен, сестры которых также имели установленный диагноз СПКЯ.

Гормонотерапию ранее получали 367 (84,0%) пациенток с СПКЯ. Дидрогестерон или микронизированный прогестерон длительно в циклическом режиме или эпизодически с целью индукции менструальноподобной реакции ранее получали 345 (79,6%) пациенток, средняя длительность терапии составила  $11,8 \pm 5,4$  месяцев. Терапия КОК проводилась 297 (68,0%) пациенткам, длительность терапии варьировала от 2 месяцев до 7 лет, средняя продолжительность составила  $21,2 \pm 15,6$  месяцев. Терапия МФ ранее была проведена 42 (9,6%) женщинам с СПКЯ, ее длительность составила  $8,2 \pm 3,9$  месяцев, терапия тиазолидиндионами (пиоглитазон или розиглитазон) 16 (3,7%) пациенткам, длительность -  $5,8 \pm 1,2$  месяцев.

### **3.2.2. Основные показатели эндокринной функции репродуктивной системы пациенток с СПКЯ**

Известно, что при СПКЯ происходит нарушение функции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы. На протяжении почти ста лет истории изучения синдрома ведущая роль в патогенезе и клинической манифестации синдрома отводилась ГА. В настоящее время ведется активный поиск новых биохимических маркеров синдрома, дискутируется вопрос об оптимальном профиле андрогенов, приемлемом не только для проведения научных исследований, но и для улучшения диагностики СПКЯ.

В настоящей работе были проанализированы результаты гормонального исследования 711 образцов сыворотки крови, полученной от 437 женщин с СПКЯ и 274 женщин репродуктивного возраста группы контроля 1, собранные на 2-3 день менструального цикла. Уровень ЛГ варьировал от 3,7 мЕд/мл до 41 мЕд/мл, в среднем составил  $9,8 \pm 5,4$  мЕд/мл. Повышенная продукция ЛГ

(свыше 15 мЕд/мл) установлена у 20,1% пациенток с СПКЯ. Уровень ФСГ колебался от 3,1 мЕд/мл до 9,8 мЕд/мл и соответствовал нормативным показателям для женщин репродуктивного возраста. Средний уровень ФСГ в общей группе СПКЯ составил  $5,8 \pm 2,1$  мЕд/мл

**Таблица 8. Гормональный профиль пациенток с СПКЯ и группы контроля.**

Показатель	Общая группа СПКЯ (n=437)	Группа контроля (n=274)
АМГ, нг/мл *	$16,2 \pm 8,5$	$3,4 \pm 2,1$
ЛГ, мЕд/мл	$9,8 \pm 5,4$	-
ФСГ, мЕд/мл	$5,8 \pm 2,1$	-
Тобщ, нмоль/л *	$1,89 \pm 0,87$	$1,17 \pm 0,72$
Тсвободный, нг/мл *	$3,9 \pm 3,1$	$2,2 \pm 1,7$
Андростендион, нмоль/л *	$18,9 \pm 9,0$	$8,9 \pm 6,9$
ИСА	$5,6 \pm 4,9$	-
ПССГ, нмоль/мл	$52,1 \pm 29,6$	-
Пролактин, мЕд/л	$237 \pm 196,5$	-
17-ОП, нмоль/л	$5,4 \pm 3,6$	-
ТТГ, мЕд/л	$2,8 \pm 2,0$	-

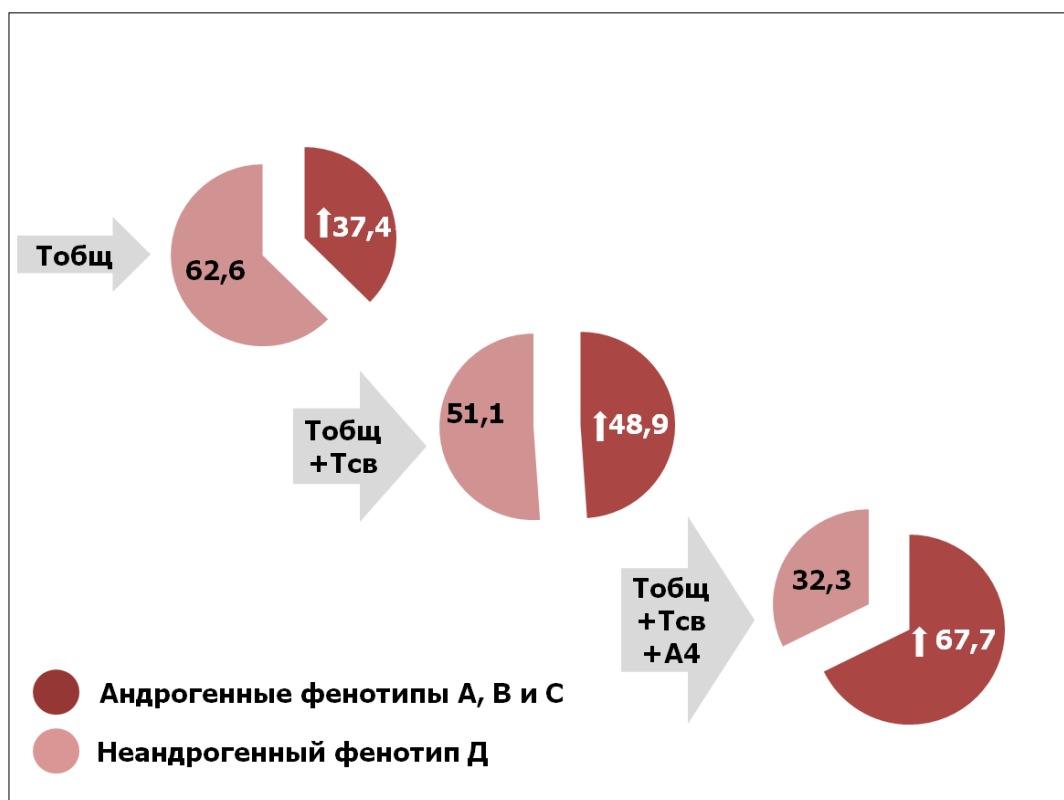
\*- статистически значимые различия основной группы СПКЯ по сравнению с группой контроля.

### **Андрогенный профиль пациенток с СПКЯ**

Среди пациенток с СПКЯ уровень Тобщ в сыворотке крови варьировал от 0,5 нг/мл до 6,8 нг/мл и был повышен у 164 (37,5%) женщин. В группе контроля уровень Тобщ варьировал 0,68 нг/мл до 1,67 нг/мл. В группе СПКЯ уровень А4 варьировал от 2,8 нмоль/л до 67,8 нмоль/л и превышал нормативные значения у 208 (47,6%) больных. У женщин группы контроля уровень А4 находился в нормальном диапазоне 2-18 нмоль/л. Уровень Тсв колебался в пределах 0,2-19,4 нг/мл и был повышен у 130 (29,7%) женщин с СПКЯ. В группе контроля уровень Тсв варьировал от 1,1 нг/мл до 3,51 нг/мл. Уровни андрогенов женщин с СПКЯ значительно превышали показатели сопоставимых по возрасту здоровых женщин ( $p < 0,05$ ). Средние значения по исследуемым группам представлены в таблице 8.

Оценка андрогенового профиля больных показала, что уровень Тобщ повышен у 37,4% (n=164) больных, Тсв - у 27,5% (n=120), тогда как повышенный уровень А4 установлен у 46,5% (n=203). Исходя их полученных данных

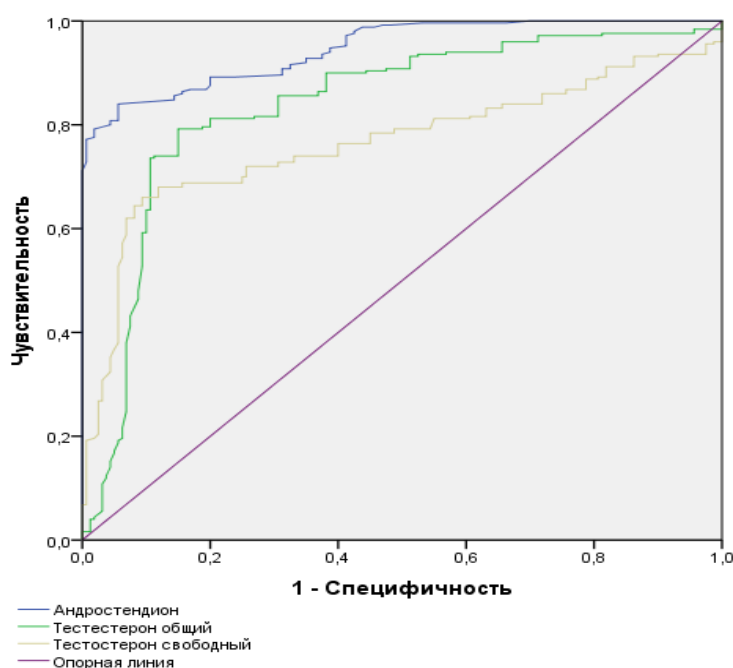
дополнительное определение уровня Тсв увеличивает частоту выявления ГА, традиционно диагностируемой по уровню Тобщ, с 37,4% до 48,9%. Комплексная оценка андрогенного статуса с учетом уровня Тобщ, Тсв и А4 повышает частоту выявления биохимической ГА с 37,4% до 67,7%. Примечательно, что изолированное повышение уровня А4 наблюдалось у 18,8% больных, в то время как изолированное повышение Тобщ и Тсв только у 8,7% и 5,2% соответственно. Наряду с увеличением уровня андрогенов у 57,9% больных выявлено снижение уровня ПССГ (менее 50 нмоль/л), ассоциированное с увеличением биологической доступности андрогенов.



**Рис.9.** Андрогенный профиль пациенток с СПКЯ.

Для уточнения вклада различных андрогенов в диагностику биохимической ГА был проведен ROC-анализ, в него были включены пациентки с ГА (n=296) и пациентки без нарушения репродуктивной функции и признаков СПКЯ (n=160). Наибольшая площадь под кривой установлена для А4 - 0,946 (CI 0,927-0,965), для Тобщ ее значение составило - 0,837 (CI 0,794-0,880), для Тсв - 0,766 (CI 0,719-

0,812). Чувствительность и специфичность каждой из моделей определены в соответствии с установленными референсными значениями для использованных стандартизированных тест-систем. Для Тобщ при пороговом уровне 1,97 нмоль/л чувствительность составила 79,2%, специфичность – 85,0%, для Тсв при пороговом уровне 4,1 нг/мл – 68,0% и 88,1%, для А4 при пороговом уровне 19,0 нмоль/л – 79,2% и 98,1% соответственно.



**Рис.10.** ROC-анализ: Тобщ, А, Тсв в диагностике СПКЯ.

Анализ клинико-лабораторных данных показал отсутствие корреляции Тобщ, А4, Тсв с возрастом пациенток с СПКЯ и с ИМТ ( $p > 0,05$ ). Наряду с этим выявлена взаимосвязь ИМТ с ПССГ и ИСА ( $r = -0,389$  и  $r = 0,446$  соответственно,  $p < 0,05$ ), а также слабая корреляция ИМТ с Тсв ( $r = 0,125$ ,  $p < 0,05$ ). Установлено наличие прямой корреляционной зависимости уровня Тобщ и А4 с ЛГ и АМГ ( $r = 0,407$  и  $r = 0,538$  для Тобщ и  $r = 0,539$  и  $r = 0,612$  для А соответственно,  $p < 0,05$ ).

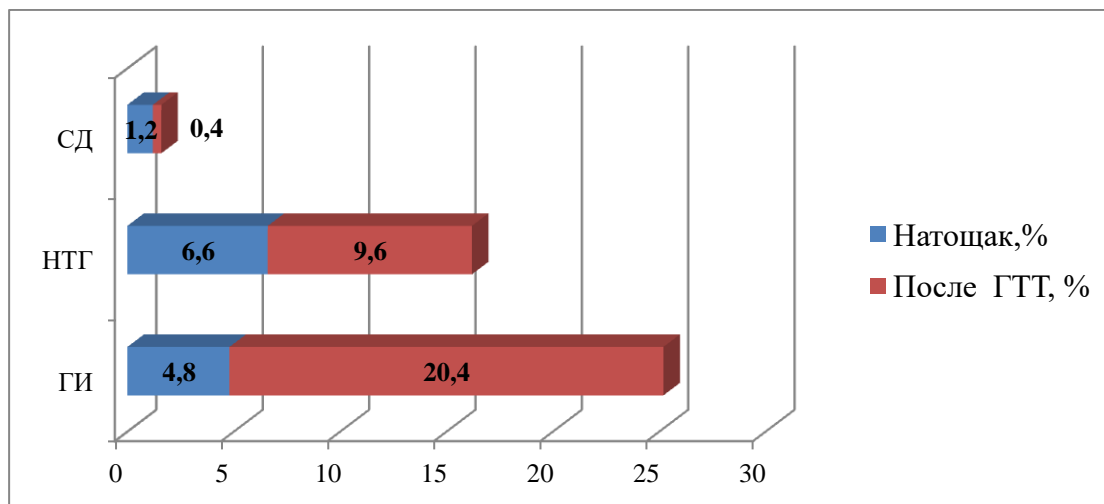
### 3.2.3. Метаболические характеристики больных с СПКЯ.

СПКЯ известен как эндокринно-метаболический синдром, ассоциированный с ИР, компенсаторной ГИ, НТГ, нарушениями жирового обмена. Анализ параметров углеводного обмена (Табл.9) показал, что 186 (42,6%) пациенток с СПКЯ имели нарушение толерантности к глюкозе и/или нарушение секреции инсулина. При этом отклонения от нормативных значений натощак выявлены только у 45 (10,3%), из них НТГ - у 29 (6,6%), СД2 - у 5 (1,2%) и ГИ - у 21 (4,8%) пациенток. Расчет индекса НОМА показал наличие ИР более чем у 30% женщин с СПКЯ.

Таблица 9. Показатели углеводного обмена по результатам глюкозотолерантного теста у пациенток с СПКЯ.

Показатель	Общая группа СПКЯ (n=437)
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,2±0,6
Глюкозачерез 1 час, ммоль/л	7,3±1,9
Глюкоза через 2 часа, ммоль/л	5,8±1,4
Инсулин натощак, мкЕд/мл	10,4±8,4
Инсулин через час, мкЕд/мл	75,2±56,1
Инсулин через 2 часа, мкЕд/мл	49,8±32,6
НОМА	2,1±1,6
НТГ	78 (17,8%)
ГИ	110 (25,2%)
ИР (НОМА>2,5)	142 (32,5%)

Проведение нагрузочной пробы с 75 г глюкозы позволило диагностировать НТГ еще у 42 (9,6%) пациенток, СД2 у 2 (0,4%) женщин и ГИ - у 89 (20,4%). При этом обе пациентки с СД2 имели уровень глюкозы натощак менее 5 ммоль/л. Вклад ГТТ в выявление патологии углеводного обмена отражен на рисунке 11.



**Рис.11.** Частота ГИ и нарушений углеводного обмена натощак и на фоне ГТТ.

Корреляционный анализ показал наличие взаимосвязи уровня тощаковой глюкозы с массой тела ( $r=0,275$ ), ИМТ ( $r=0,242$ ), уровнем инсулина натощак ( $r=0,408$ ), ИСА ( $r=0,149$ ). Проведение нагрузочной пробы с 75г глюкозы позволило выявить слабую прямую корреляцию уровня глюкозы через час и через 2 часа с возрастом ( $r=0,124$  и  $r=0,139$  соответственно), с массой тела ( $r=0,123$  и  $r=0,196$  соответственно), ИМТ ( $r=0,130$  и  $r=0,203$  соответственно), инсулином ( $r=0,504$  и  $r=0,551$  соответственно).

### **Особенности липидного спектра крови пациенток с СПКЯ**

В рамках диссертационной работы проведен анализ липидного спектра крови пациенток с СПКЯ (таблица 10). Несмотря на то, что средние показатели соответствовали нормативным значениям, ДЛП диагностирована у 164 (37,6%) пациенток с СПКЯ. Наиболее часто выявлялась изолированная гиперхолестеринемия (IIa тип) - у 134 (30,7%) женщин с СПКЯ, комбинированная (IIb тип) – у 20 (4,6%), триглицеридемия (IV тип) – у 10 (2,3%). Дополнительным фактором риска сердечнососудистых заболеваний считается снижение уровня ЛПВП, которое выявлено у 26 (5,9%) пациенток с СПКЯ. Превышение нормативных значений расчетного КА зафиксировано у 61 (13,9%).

**Таблица 10. Основные показатели липидного спектра сыворотки крови больных с СПКЯ.**

Показатель	Общая группа СПКЯ (n=437)
Холестерин, ммоль/л	4,86±0,90
Триглицериды, ммоль/л	0,96±0,69
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,65±0,44
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,47±0,72
КА	2,16±0,98
Частота дислипидемий, %	164 (37,5%)
Частота изолированной гиперхолестеринемии (IIa тип), %	134 (30,7%)
Частота комбинированной гиперхолестеринемии (IIb тип), %	35 (8,0%)
Частота гипертриглицеридемии (IV тип), %	10 (2,3%)
Частота снижения ЛПВП, %	26 (5,9%)
Частота повышенного КА, %	61 (13,9%)

Установлена слабая корреляция уровня глюкозы натощак с показателями липидограммы: прямую с уровнем ТГ ( $r=0,193$ ) и обратную с уровнем ЛПВП ( $r=-0,224$ ). Уровень глюкозы через час имел слабую прямую корреляцию с уровнем липидов: с холестерином ( $r=0,106$ ), триглицеридами ( $r=0,134$ ), ЛПНП ( $r=0,153$ ), через 2 часа с уровнем триглицеридов ( $r=0,182$ ), ЛПНП ( $r=0,132$ ), ЛПВП ( $r=0,169$ ). Уровень инсулина коррелировал с уровнем ХС натощак ( $r=0,165$ ), ТГ ( $r=0,314$  натощак,  $r=0,230$  через 1 час и  $r=0,203$  через 2 часа после проведения нагрузочной пробы,  $p<0,05$ ), уровнем ЛПНП ( $r=0,210$ ,  $p<0,05$ ), КА ( $r=0,413$  натощак,  $r=0,318$  через 1 час и  $r=0,344$  через 2 часа после проведения нагрузочной пробы,  $p<0,05$ ), уровнем ЛПВП ( $r=0,297$ ,  $p<0,05$ ). Также установлены корреляционные зависимости для расчетного индекса НОМА-ИР: с уровнем ХС ( $r=0,132$ ), ТГ ( $r=0,308$ ), ЛПНП ( $r=0,203$ ), КА ( $r=0,396$ ), ЛПВП ( $r=-0,311$ ),  $p<0,05$ .

### **Композиционный состав тела пациенток с СПКЯ**

С целью изучения процентного содержания жировой ткани и характера ее распределения была проведена сравнительная оценка композиционного состава

тела пациенток с СПКЯ и группы контроля с помощью двухэнергетической абсорциометрии. При отсутствии существенных различий по ИМТ и частоте ожирения, пациентки с СПКЯ по сравнению с женщинами группы контроля характеризовались повышенным процентом общей жировой ткани, большим содержанием жировой ткани, распределенной чаще по андроидному типу ( $p < 0,05$ ) (Таблица 11). Пациентки обеих групп были сопоставимы по процентному содержанию жировой ткани гиноидного типа ( $p > 0,05$ ). Указанные различия отразились в более высоком значении индекса A/G у пациенток с СПКЯ, который значительно превышал показатель группы контроля ( $p < 0,05$ ).

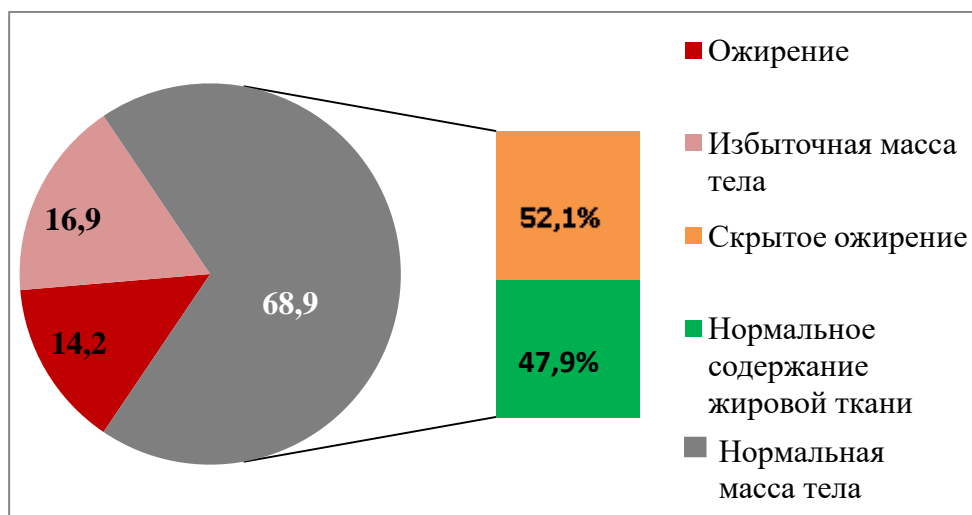
**Таблица 11. Показатели композиционного состава тела пациенток с СПКЯ и группы контроля.**

Показатель	Общая группа СПКЯ (n=437)	Группа контроля (n=274)
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	25,2±6,8	24,2±5,6
Ожирение, %	62(14,2%)	30 (10,9%)
Избыточная масса тела, %	74 (16,9%)	32 (12,2%)
ОТ/ОБ	0,78±0,15	0,73±0,14
ОТ/ОБ>0,85	82 (18,8%)	37 (13,5%)
Андроидный жир, %	40,5±12,1	30,0±14,2*
Гиноидный жир, %	43,9±7,3	39,5±9,2
Индекс A/G	0,91±0,18	0,75±0,15*
Общая жировая ткань, %	37,3±8,1	29,8±7,8*

\*- статистически значимые различия фенотипа С и фенотипов А, В, Д.

Особый интерес представляет оценка композиционного состава тела у пациенток с нормальными показателями ИМТ. Из 301 пациентки с ИМТ менее или равном 25 кг/м<sup>2</sup> только 144 (47,8%, или 33,0% от общей группы СПКЯ) имели нормальное содержание жировой ткани (менее 30% от массы тела), в то время как 157 (52,2%, или 35,9% от общей группы СПКЯ) имели избыточное содержание жировой ткани (более 30%) (рисунок 12).



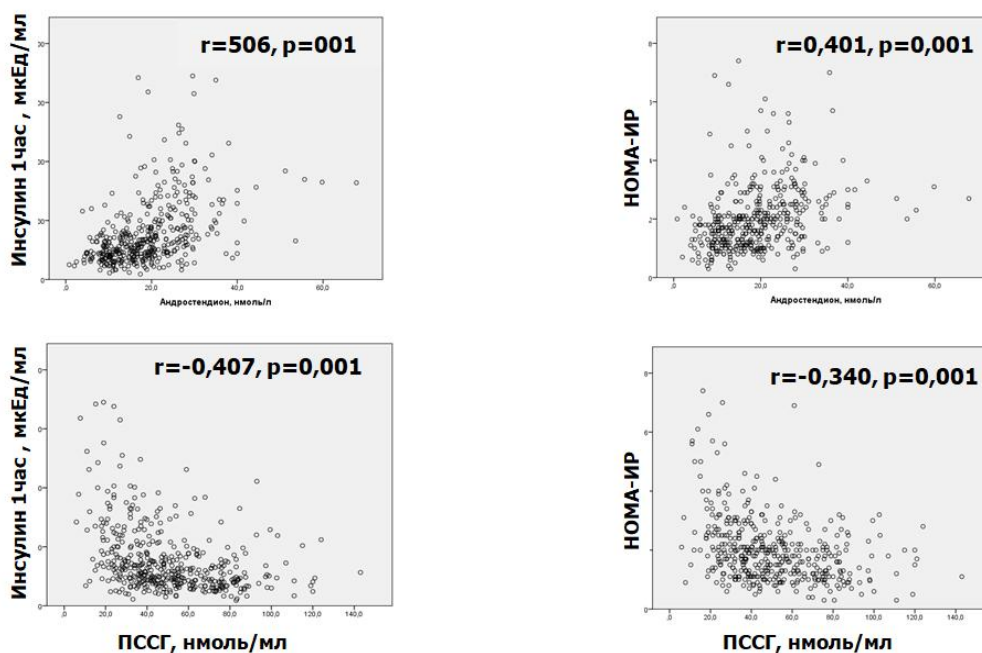


**Рис.12.** Частота нарушений жирового обмена по результатам оценки композиционного состава тела больных с СПКЯ.

Анализ взаимосвязи уровня глюкозы с показателями денситометрии жировой ткани установил прямую корреляцию с процентом общей жировой ткани ( $r=0,193$ ), процентом андройдной жировой ткани ( $r=0,211$ ) и с индексом A/G ( $r=0,258$ ), отражающим характер распределения жировой массы по андройдному типу. Уровень глюкозы на фоне ГТТ коррелировал со значением ряда показателей композиционного состава тела: с индексом A/G ( $r=0,180$  через час и  $r=0,287$  через 2 часа), через 2 часа с общим процентом жировой ткани ( $r=0,229$ ), процентом андройдного жира ( $r=0,203$ ), взаимосвязь средней силы установлена с процентом жира на туловище ( $r=0,330$ ).

#### **3.2.4. Взаимосвязь гиперандрогении и метаболической дисфункции.**

В рамках данного исследования была проанализирована взаимосвязь ГА с метаболической дисфункцией. Корреляционный анализ не выявил статистически значимой взаимосвязи  $T_{общ}$ ,  $T_{св}$  с уровнем глюкозы, инсулина и показателями липидограммы ( $p>0,05$ ). Для A4 установлены корреляции с уровнем инсулина натощак, через 1 час после нагрузки и индексом НОМА ( $r=0,178$ ,  $r=0,224$  и  $r=0,203$  соответственно,  $p<0,05$ ), а также уровнем ХС ( $r=0,109$ ,  $p<0,05$ ) (Рисунок 13).



**Рис.13.** Корреляция уровня А4, ПССГ и уровня инсулина на фоне ГТТ, значения индекса НОМА-ИР.

Отрицательная корреляция установлена между уровнем ПССГ и уровнем тощачковой глюкозы ( $r=-0,143$ ,  $p<0,05$ ), уровнем инсулина натощак, через 1 и 2 часа на фоне ГТТ ( $r=-0,304$ ,  $r=-0,170$ ,  $r=-0,273$ ,  $p<0,05$ ). Индекс НОМА коррелировал с уровнем ПССГ и ИСА ( $r=-0,304$  и  $r=0,315$  соответственно,  $p<0,05$ ). Выявлена взаимосвязь ПССГ с уровнем ТГ ( $r=-0,271$ ,  $p<0,05$ ), ЛПВП ( $r=0,370$ ,  $p<0,05$ ), ЛПНП ( $r=-0,201$ ,  $p<0,05$ ) и значением КА ( $r=-0,284$ ,  $p<0,05$ ).

В соответствии с приведенными данными можно высказать предположение, что уровень ПССГ и значение ИСА являются наиболее значимыми маркерами метаболической дисфункции при СПКЯ. Однако при более детальном рассмотрении оказалось, что 64,5% пациенток с повышенными значениями ИСА имели нарушение жирового обмена (22,6% избыточную массу тела, 41,9% - ожирение I-II степени). При сниженном уровне ПССГ избыточная масса тела диагностирована у 33,2% пациенток, ожирение - у 49,7%. Приведенные данные, а также корреляция ПССГ и ИСА с ИМТ при СПКЯ указывают на то, что данные маркеры теряют свою информативность для пациенток с нормальным ИМТ.

Для оценки вклада А4 и Тобщ в развитие метаболической дисфункции при СПКЯ был проведен сравнительный анализ клинико-лабораторных показателей 246 пациенток с ГА при СПКЯ, разделенных на следующие группы: с высоким уровнем Тобщ и А4 (ВТ/ВА) – 28,8% (n=126), с высоким уровнем Тобщ при нормальном А4 (ВТ/НА) – 8,7% (n=38), с высоким уровнем А4 при нормальном Тобщ (НТ/ВА) - 17,6% (n=77), а также группа НТ/НА, с нормальными уровнями Тобщ и А4- 32,3%(n=141).

Как видно из данных, приведенных в таблице 21, группы не различались по возрасту, ИМТ, частоте избыточной массы тела и ожирения ( $p>0,05$ ). Анализ гормонального профиля показал, что более высокие средние уровни АМГ и ЛГ характерны для группы ВТ/ВА, а наиболее низкие - для группы НТ/НА ( $p<0,05$ ). Средние уровни Тобщ, А4 и Тсв в группе ВТ/ВА превышали аналогичные показатели в других андрогенных группах ( $p<0,05$ ). Средний уровень ПССГ в группе ВТ/ВА ( $49,1\pm 37,4$  нмоль/л) был ниже, чем в группе НТ/НА ( $57,1\pm 29,6$  нмоль/л,  $p<0,05$ ). Различий по уровню ПССГ среди других андрогенных групп не выявлено ( $p>0,05$ ). Данные, представленные в таблице 12, свидетельствуют также о более высоких уровнях глюкозы и инсулина натощак в группе ВТ/ВА, чем в группе НТ/НА ( $p<0,05$ ). Между другими группами с ГА статистически значимых различий не выявлено ( $p>0,05$ ).

**Таблица 21. Взаимосвязь метаболических параметров с андрогенным профилем пациенток с СПКЯ.**

показатели	ВТ-ВА (n=126)	ВТ-НА (n=38)	НТ-ВА (n=77)	НТ/НА (n=141)	Больные с СПКЯ (n=437)
Возраст, лет	<b>25,1±6,8</b>	24,8±4,8	25,1±4,1	26,1±5,1	25,6±4,6
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	25,6±5,2	24,6±5,25	24,6±5,25	25,2±6,8	25,2±6,8
Частота ожирения, %	23 (18,2%)	6 (15,8%)	12 (15,6%)	21 (14,9%)	62 (14,2%)
Частота избыточной массы тела, %	28 (22,2%)	5 (13,1%)	14 (18,2%)	27 (19,1%)	74 (16,9%)
АМГ, нг/мл	19,6±12,9*	16,7±13,3	15,7±8,44	12,6±6,5*	16,2±8,5
ЛГ, мЕд/мл	11,9±5,3*	12,3±7,7	11,20±6,05*	8,9±5,9*	9,8±5,4

ФСГ, мЕд/мл	5,1±1,5	5,2±1,6	5,54±1,06	5,3±2,0	5,8±2,1
Тестостерон общий, нмоль/л	2,8±0,7*	2,6±0,8	1,46±0,33	1,3±0,4*	1,89±0,87
Тестостерон свободный, нг/мл	5,5±4,1*	4,006*	4,27±3,64*	1,9±1,1*	3,9±3,1
Андростендион, нмоль/л	27,8±8,7*	14,3±3,7*	25,21±5,10	11,6±4,0*	18,9±9,0
ИСА	7,1±7,0*	6,9±8,4*	4,43±3,06*	3,4±3,1*	5,6±4,9
ПССГ, нмоль/л	49,0±37,4*	54,0±29,1	50,61±24,96*	57,1±29,6*	52,1±29,6
НТГ-2,%	35 (27,8%)*	8 (21,0%)	16 (20,8%)	19 (13,5%)*	78 (17,8%)
ГИ,%	44 (34,9%)*	11 (28,9%)	26 (33,8%)*	29 (20,5%)*	110 (25,2%)
ИР, %	55(43,6%)*	14(36,8%)	31(40,2%)	42(29,8%)*	142 (32,5%)
Глюкоза 0, ммоль/л	5,3±0,6*	5,3±0,5	5,2±0,5	5,1±0,6	5,2±0,6
Глюкоза 1, ммоль/л	7,3±2,0	7,0±1,8	7,34±1,67	7,3±1,9	7,3±1,9
Глюкоза 2, ммоль/л	6,0±1,3	5,9±1,3	5,7±1,20	5,8±1,3	5,8±1,4
Инсулин 0, мкЕд/мл	11,5±6,5	9,9±6,6	10,35±6,81	9,8±6,1	10,4±8,4
Инсулин 1, мкЕд/мл	79,1±51,7	69,5±58,9	79,87±59,30	65,9±41,2	75,2±56,1
Инсулин 2, мкЕд/мл	55,4±42,0	49,5±36,2	53,78±59,61	46,7±35,6	49,8±32,6
НОМА-IR	2,6±1,8*	2,4±1,9*	2,41±1,79*	1,9±1,5*	2,1±1,6
ХС, ммоль/л	4,9±0,9	4,8±0,9	4,83±0,93	5,1±0,8	4,9±0,8
ТГ, ммоль/л	0,93±0,62	1,04±0,73	0,95±0,81	0,95±0,71	0,97±0,77
ЛПВП, ммоль/л	1,5±0,3	1,5±0,3	1,58±0,38	2,2±0,5	1,8±0,5
ЛПНП, ммоль/л	2,5±0,7	2,4±0,7	2,56±0,78	2,4±0,7	2,5±0,7
КА	2,3±1,1	2,2±0,8	2,18±0,82	1,8±1,2	2,1±0,5
ДЛП,%	64 (50,8%)*	15 (39,5%)	36 (46,7%)	49 (34,7%)*	164 (37,5%)
Изолированная гиперхолестеринемия, %	38 (30,1%)	8 (21,1%)	16 (20,7%)	31 (21,9%)	97 (22,2%)
Изолированная гипертриглицеридемия, %	7 (5,5%)	1 (2,6%)	5 (6,5%)	3 (2,4%)	12 (2,7%)
Комбинированная гиперлипидемия, %	14 (11,1%)	5(13,2%)	12 (15,6%)	15 (10,6%)	45 (10,3%)
Гипоальфалипидемия (ЛПВП менее 1,3)	5 (4,0%)*	1 (2,6%)	3 (3,9%)*	0 (0,0%)*	10 (2,3%)

\*- статистически значимые различия с группой НТ/НА, (p<0,05).

\*\* - статистически значимые различия с группой ВТ/ВА, (p<0,05).

Частота НТГ (натощак и на фоне ГТТ) в группе ВТ/ВА (27,8%) статистически значимо превышала таковую в группе НТ/НА (13,5%,  $p < 0,05$ ), но существенно не отличалась от показателей в группах НТ/ВА и ВТ/НА ( $p > 0,05$ ). В группах ВТ/ВА и НТ/ВА частота ГИ была сопоставима (34,9% и 33,8% соответственно) и значительно превышала таковую в группе НТ/НА ( $p < 0,05$ ). Средний показатель индекса НОМА-ИР во всех группах с ГА статистически значимо не различался ( $p > 0,05$ ), но превышал показатель в группе НТ/НА ( $p < 0,05$ ).

Не выявлено различий между группами по уровню ХС, ЛПНП и ТГ ( $p > 0,05$ ). Уровень антиатерогенных ЛПВП в группе НТ/НА превышал показатели во всех андрогенных группах ( $p < 0,05$ ). КА был максимальным в группе ВТ/ВА, а наиболее низким в группе НТ/НА ( $p < 0,05$ ). В группе ВТ/ВА ДЛП встречалась у каждой второй пациентки, в группе НТ/НА – у каждой третьей ( $p < 0,05$ ).

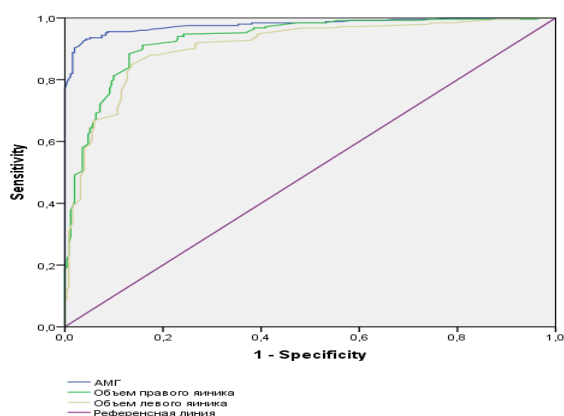
*Заключение.* На основе полученных результатов можно сделать заключение о целесообразности проведения комплексной оценки андрогенного профиля, включающей не только определение уровня Тобщ и Тсв, но и А4, который является более значимым в диагностике СПКЯ. Больные с ГА имеют достаточно высокую частоту метаболических нарушений, особенно при сочетании повышенных уровней Тобщ и А4. При избыточной массе тела и ожирении в качестве предиктора ГИ и ИР метаболической дисфункции можно рассматривать снижение уровня ПССГ.

### **3.2.5. Значимость АМГ и эхографических характеристик яичников в диагностике СПКЯ**

Согласно полученным данным уровень АМГ в сыворотке крови здоровых женщин репродуктивного возраста варьировал от 1,0 нг/мл до 10,9 нг/мл и в среднем составил  $3,3 \pm 1,9$  нг/мл. В группе женщин той же возрастной категории с СПКЯ уровень АМГ колебался от 1,9 нг/мл до 66,4 нг/мл, в среднем составил

15,8±10,2 нг/мл, что превышало средний уровень АМГ у женщин группы контроля в 4,8 раза ( $p < 0,05$ ).

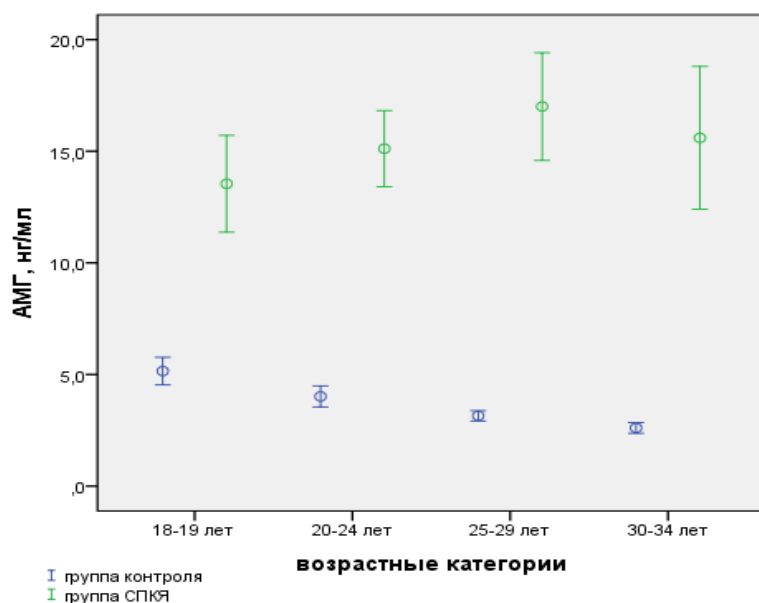
С целью определения нормативных значений АМГ и последующей оценки его информативности в диагностике СПКЯ был проведен ROC-анализ. Площадь под кривой для АМГ составила 0,98. Пороговый уровень 5,2 нг/мл показал оптимальные чувствительность и специфичность (чувствительность и специфичность метода 95% и 92%, доверительный интервал, CI 95%, рис.14).



**Рис.14.** ROC-анализ, оценка диагностической значимости АМГ и объема яичников при СПКЯ.

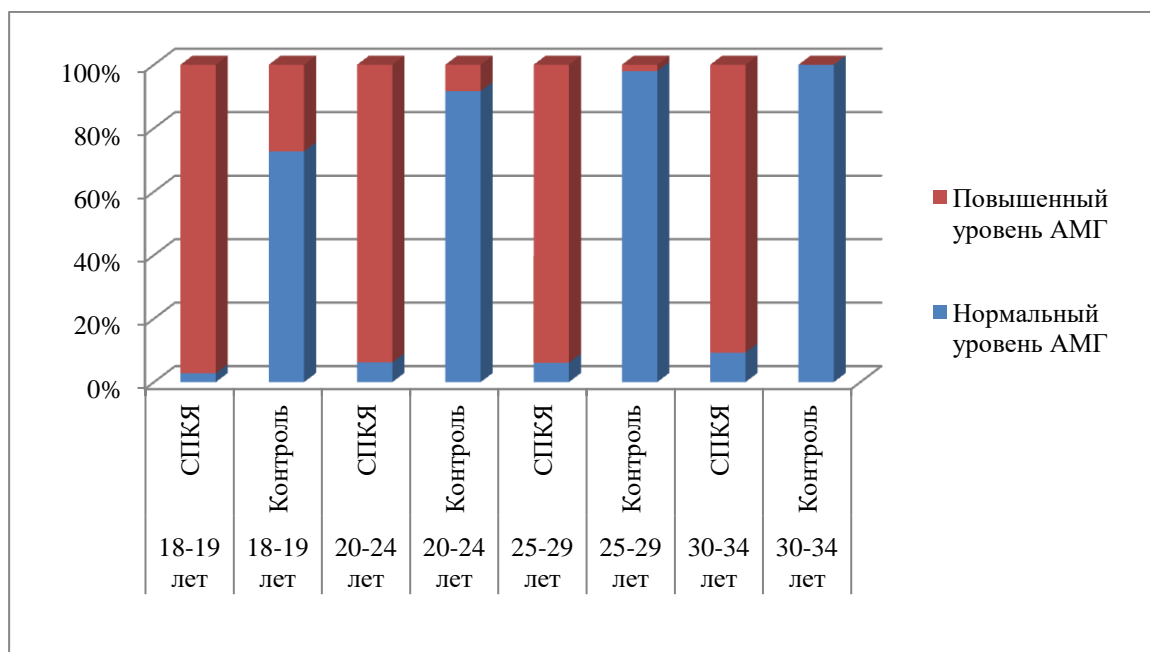
Нормальные значения уровня АМГ в сыворотке крови (менее 5,2 нг/мл) были определены лишь у 11 (4,4%) пациенток с СПКЯ. У 72 (28,8%) пациенток уровень АМГ варьировал от 5,2 до 10,0 нг/мл, у 59 (23,6%) – от 10,1 до 15,0 нг/мл, у 49 (19,6%) - от 15,1 до 20,0 нг/мл и у 59 (23,6%) - превышал 20,0 нг/мл. В основной группе корреляционный анализ не позволил установить зависимости уровня АМГ с ИМТ, с длительностью задержек менструаций ( $p > 0,05$ ). Учитывая известную закономерность о прогрессивном снижении уровня АМГ с увеличением возраста, был проведен сравнительный по возрастной анализ показателя в группах СПКЯ и контроля по возрастным категориям: 18-19 лет, 20-24 лет, 25 – 29 лет, 30 – 34 лет. Уровень АМГ оказался наиболее высоким у здоровых женщин в возрасте 18-19 лет. Среднее значение составило 5,2±1,7 нг/мл, в последующем отмечена четкая тенденция к снижению до 2,6±1,0 нг/мл в возрастной категории 30-34 лет (рис.15). Отмечена отрицательная корреляция

между возрастом пациенток и АМГ ( $r=-0,542$ ,  $p<0,005$ ). При СПКЯ средний уровень АМГ в возрастном диапазоне от 18 до 34 лет заметно не меняется. Так, например, среди женщин 18-19 лет его значение составило  $14,5\pm 6,3$  нг/мл, в возрастной категории 30-34 лет -  $15,6\pm 10,4$  нг/мл ( $p>0,05$ ). Корреляции возраста и АМГ не установлено ( $r=0,069$ ,  $p>0,05$ ).



**Рис.15.** Средний уровень АМГ по возрастным категориям

В подгруппе 18-19 лет уровень АМГ ниже пороговых значений 5,2 нг/мл зафиксирован только у одной пациентки (2,8%), в подгруппе 30-34 лет у 4, что составило 9,3%. В группе контроля в возрастной категории 18-19 лет АМГ превышал нормативные значения в 27,3% случаев. В подгруппах 20-24 лет и 25-29 лет эти показатели снизилась до 8,3% и 2,0% соответственно. В возрасте старше 30 лет у всех женщин уровень АМГ был ниже порогового (рисунок 16).



**Рис.16.** Частота превышения нормативных значений АМГ по возрастным подгруппам.

Приведенные выше данные позволяют предположить, что пороговый уровень АМГ, определенный без учета возраста, вероятно, не имеет высокой диагностической значимости у женщин моложе 20 лет и обладает ограниченной значимостью у женщин 20-24 лет. Для подтверждения этой гипотезы был применен ROC-анализ в этих возрастных подгруппах. По данным, представленным в таблице 13, чувствительность и специфичность метода оказались достаточно высокими в возрастных категориях 25-29, 30-34 лет и более низкими в категории 18-19 и 20-24 лет.

Расчеты показали, что в категории 18-19 лет оптимальным оказался уровень АМГ - 6,4 нг/мл (AUC-0,94, чувствительность метода 89%, специфичность - 82%). Увеличение порогового уровня АМГ с 5,2 нг/мл до 6,4 нг/мл позволило повысить специфичность метода с 73 до 82%, без значительного снижения чувствительности метода (таблица 13).



Таблица 13. Диагностический потенциал пороговых уровней АМГ по данным ROC-анализа.

Возрастные подгруппы	AUC	Единый пороговый уровень АМГ 5,2нг/мл		Дифференцированный пороговый уровень АМГ		
		Чувствительность	Специфичность	Уровень АМГ, нг/мл	Чувствительность	Специфичность
18-19	0,945	97	73	6,4	89	82
20-24	0,955	94	85	6,2	93	93
25-29	0,995	94	97	5,2	96	97
30-34	0,982	88	100	4,1	95	94

Число здоровых женщин, которые могли бы попасть в категорию СПКЯ по уровню АМГ, снизилось с 27,3% до 18,2%. В категории 20-24 лет пороговый уровень АМГ повысился с 5,2 до 6,2 нг/мл. Это существенно не отразилось на чувствительности метода, однако специфичность повысилась с 85% до 93% (AUC-0,955). В возрастной категории 25-29 лет введение дифференцированного диагностического порога в 5,2нг/мл также значительно не отразилось на мощности метода (AUC-0,99, чувствительность метода 96%, специфичность - 97%). В подгруппе 30-34 лет снижение порогового уровня АМГ с 5,8нг/мл до 4,1 нг/мл позволило повысить точность метода (AUC-0,99, чувствительность метода 95%, специфичность - 94%). В результате число женщин с СПКЯ, имеющих нормативные значения АМГ в данной возрастной категории, снизилось с 9,3% до 4,6%.

Проводится поиск оптимального метода оценки морфологии яичников при СПКЯ. В настоящем исследовании проведен сравнительный анализ диагностической значимости классического измерения объема яичников (при пороговом значении 10см<sup>3</sup>), подсчета числа антральных фолликулов и измерения уровня АМГ.

Таблица 14. Сравнительная оценка диагностической значимости АМГ и объема яичников при СПКЯ

Параметры	AUC (95% ДИ)	Пороговый уровень	Чувствитель- ность, %	Специфич- ность, %
АМГ	0,98 (0,97-0,99)	5,2 нг/мл	95	92
Объем яичников	0,91 (0,88-0,93)	10,0 см <sup>3</sup>	85	87
ЧАФ	0,94 (0,94-0,97)	23 фолликула	88	88

Как видно из данных, представленных в таблице 14, наибольшее значение площади под кривой достигнуто при измерении уровня АМГ – 0,98, с оптимальным пороговым уровнем равным 5,2 нг/мл (чувствительность 95% и специфичность 92%, ДИ 95%). При объеме яичников 10,0 см<sup>3</sup>, установленном в качестве порогового значения по Роттердамским критериям, площадь под кривой составила 0,91 (чувствительность и специфичность метода 85% и 87%, ДИ 95%). Согласно полученным результатам ЧАФ в группе СПКЯ варьировало от 14 до 71 фолликула, в среднем составило 33,1±22,6 фолликулов, в группе контроля варьировало от 7 до 29, в среднем составило 14,9±9,2 фолликулов (p<0,05). Согласно результатам ROC-анализа пороговым значением ЧАФ в диагностике СПКЯ является наличие 23 фолликулов в объеме яичника (чувствительность и специфичность метода 88% и 88%, ДИ 95%). Результаты ROC-анализа, представленные в таблице 13, наглядно демонстрируют преимущества АМГ в диагностике СПКЯ.

### 3.2.6. Генетические маркеры СПКЯ

Молекулярно-генетическое исследование включало генотипирование 163 женщин с СПКЯ и 135 женщин группы контроля по 45 полиморфным локусам 30 генов, ассоциированным с нарушением синтеза андрогенов, овуляторной

дисфункцией, нарушением углеводного обмена, а также ряда других генов, для которых установлена ассоциация с СПКЯ в ходе предшествующих исследований. Функция некоторых исследованных генов в настоящее время остается неизвестной (таблица 15).

**Таблица 15. Исследованные полиморфные локусы в зависимости от предполагаемой функции.**

Синтез андрогенов	Фолликуло-генез	Углеводный обмен		Функция неизвестна / Прочее	
		<i>CYP2C9</i> rs1057910 rs1799853	<i>DENND1A</i> rs10818854 rs2479106	<i>THADA</i> rs78635447 rs12468394 rs12478601	<i>OCT1</i> rs6282031, rs34130495 rs72552763 rs11356919 7
<i>CYP19A1</i> rs936306	<i>YAP1</i> rs1894116	<i>INSR</i> rs2059807 rs3815902	<i>SLCO1B1</i> rs4149056	<i>AGTR1</i> rs5186	<i>ATM</i> rs683369
<i>CYP17A1</i> rs743572	<i>FSHR</i> rs6166 rs12994034 rs2349415 rs17038027 rs148976413	<i>Rub5B/SUOX</i> rs705702	<i>IRS1</i> rs1801278	<i>GNB3</i> rs5443	<i>ACE</i> rs4340
		<i>FTO</i> rs8050136 rs9939609	<i>TCF7L2</i> rs7903146 rs12255372	<i>IL1B</i> rs1143627	<i>HGMA2</i> rs2272046
	<i>AMH</i> Rs10407022	<i>KCNJ11</i> rs5219	<i>PPARA</i> rs4253778	<i>UCP2</i> rs660339	
	<i>LHCGR</i> rs12470652 rs13405728	<i>PPARGC1A</i> rs8192678	<i>LEP</i> rs7799039	<i>ATM</i> rs11212617	

Результаты первого этапа генетического скрининга по выявлению генов-кандидатов развития СПКЯ представлены в таблице 16.

Таблица 16. Распределение аллелей и генотипов исследованных полиморфных локусов среди женщин с СПКЯ и группы контроля.

Ген	Генотип	Контрольная группа, n=135 (%)	СПКЯ, n=163 (%)	Генотипическая частота аллелей				Аутосомно-рецессивная модель		Аутосомно-доминантная модель	
				Аллель	Контрольная группа n=270	СПКЯ n=326	Распределение аллелей $\chi^2_{\text{тест, p}}$ *	ОШ	$\chi^2_{\text{тест, p}}$	ОШ	$\chi^2_{\text{тест, p}}$ *
<i>CYP2C9</i> rs1057910	A/A	108 (80,0%)	133 (87,5%)	A	241 (89,0%)	285 (94,0%)	0,052392	1,75 (0,92-33,2)	0,0884	-	-
	A/C	25 (18,5%)	19 (12,5%)								
	C/C	2 (1,5%)	0 (0,0%)	C	29 (11,0%)	19 (6,0%)		-	-	0,57 (0,30-1,08)	0,0884
<i>CYP2C9</i> rs1799853	C/C	110 (81,5%)	120 (78,9%)	C	243 (90,0%)	270 (89,0%)	0,6458	0,85 (0,48-1,53)	0,5911	1,13 (0,16-2,10)	0,9048
	T/C	23 (17,0%)	48 (31,6%)								
	T/T	2 (1,5%)	2 (1,3%)	T	27 (10,0%)	34 (11,0%)		0,89 (0,12-6,38)	0,9048	1,43 (0,72-2,85)	0,5911
<i>SLCO1B1</i> rs4149056	C/C	2 (1,5%)	11 (7,2%)	C	48 (18,0%)	70 (23,0%)	0,1204	5,19 (1,13-23,84)	0,0193	1,23 (0,76-1,99)	0,4051
	T/C	44 (32,6)	48 (31,6%)								
	T/T	89 (65,9%)	93 (61,2%)	T	222 (82,0%)	234 (77,0%)		0,81 (0,50-1,32)	0,4051	0,19 (0,04-0,89)	0,0193
<i>TCF7L2</i> rs7903146	C/C	80 (59,3%)	82 (53,9%)	C	204 (76,0%)	225 (74,0%)	0,6712	0,81 (0,50-1,29)	0,3650	1,41 (0,57-3,51)	0,4595
	T/C	44 (32,6%)	61 (40,1%)								
	T/T	11 (8,1%)	9 (5,9%)	T	66 (24,0%)	79 (26,0%)		0,71 (0,28-1,77)	0,4595	1,24 (0,78-1,98)	0,3650
<i>TCF7L2</i> rs12255372	G/G	80 (59,3%)	93 (61,2%)	G	206 (76,0%)	237 (78,0%)	0,6353	1,08 (0,67-1,74)	0,7394	1,29 (0,48-3,43)	0,6151

	G/T	46 (34,1%)	51 (33,6%)								
	T/T	9 (6,7%)	8 (5,3%)	T	64 (24,0%)	67 (22,0%)		0,78 (0,29-2,08)	0,6151	0,92 (0,57-1,48)	0,7394
<i>PPARGC1A</i> rs8192678	AA	13 (9,6%)	21 (13,8%)	A	85 (31,0%)	112 (37,0%)	0,1769	1,50 (0,72-3,14)	0,2733	1,31 (0,82-2,09)	0,2646
	AG	59 (43,7%)	70 (46,1%)								
	GG	63 (46,7%)	61 (40,1%)	G	185 (69,0%)	192 (63,0%)		0,77 (0,48-1,22)	0,2646	0,66 (0,32-1,39)	0,2733
<i>IL1B</i> rs1143627	C/C	10 (7,4%)	18 (11,8%)	C	84 (31,0%)	104 (34,0%)	0,4297	1,68 (0,75-3,78)	0,2063	1,07 (0,67-1,71)	0,7639
	T/C	64 (47,4%)	68 (44,7%)								
	T/T	61 (45,2%)	66 (43,4%)	T	186 (69,0%)	200 (66,0%)		0,93 (0,58-1,48)	0,7639	0,60 (0,26-1,34)	0,2063
<i>AGTRI</i> rs5186	A/A	83 (61,5%)	84 (55,3%)	A	213 (79,0%)	229 (75,0%)	0,3117	0,77 (0,48-1,24)	0,2864	0,80 (0,25-2,57)	0,7033
	A/C	47 (34,8%)	61 (40,1%)								
	C/C	15 (3,7%)	7 (4,6%)	C	57 (21,0%)	75 (25,0%)		1,26 (0,39-4,05)	0,7033	1,29 (0,81-2,07)	0,2864
<i>KCNJ11</i> rs5219	C/C	52 (38,8%)	51 (33,6%)	C	164 (61,0%)	175 (58,0%)	0,3781	0,80 (0,49-1,29)	0,3557	0,87 (0,47-1,61)	0,6562
	T/C	60 (44,8%)	73 (48,0%)								
	T/T	22 (16,4%)	28 (18,4%)	T	104 (39,0%)	129 (42,0%)		1,15 (0,62-2,12)	0,6562	1,26 (0,77-2,04)	0,3557
<i>END1</i> rs5370	G/G	80 (59,3%)	97 (63,8%)	G	209 (77,0%)	243 (80,0%)	0,4601	1,21 (0,75-1,95)	0,4280	1,13 (0,36-3,60)	0,8336
	G/T	49 (36,3%)	49 (32,2%)								
	T/T	6 (4,4%)	6 (3,9%)		61 (23,0%)	61 (20,0%)		0,88 (0,28-2,81)	0,8336	0,82 (0,51-1,33)	0,4280
<i>PPARA</i> rs4253778	C/C	3 (2,2%)	5 (3,3%)	C	40 (15,0%)	50 (16,0%)	0,5913	1,50 (0,35-6,38)	0,5835	1,11 (0,67-1,86)	0,6807
	G/C	34 (25,2%)	40 (26,3%)								
	G/G	98 (72,6%)	107 (70,4%)	G	230 (85,0%)	254 (84,0%)		0,90 (0,54-1,50)	0,6807	0,67 (0,16-2,85)	0,5835

<i>GNB3</i> rs5443	C/C	57 (42,2%)	69 (45,4%)	C	175 (65,0%)	204 (67,0%)	0,5630	1,14 (0,71-1,82)	0,5888	1,14 (0,56-2,34)	0,7124
	T/C	61 (45,2%)	66 (43,4%)								
	T/T	17 (12,6%)	17 (11,2%)	T	95 (35,0%)	100 (33,0%)		0,87 (0,43-1,79)	0,7124	0,88 (0,55-1,40)	0,5888
<i>ACE</i> rs4340	DEL/DEI	32 (23,7%)	36 (23,7%)	DEL	138 (51,0%)	151 (50,0%)	0,7305	1,00 (0,28-1,72)	0,9969	0,85 (0,49-1,48)	0,5654
	DEL/INS	74 (54,8%)	79 (52,0%)								
	INS/INS	29 (21,5%)	37 (24,3%)	INS	132 (49,0%)	153 (50,0%)		1,18 (0,68-2,04)	0,5654	1,00 (0,58-1,73)	0,9969
<i>AMH</i> rs10407022	G/G	3 (2,2%)	5 (3,3%)	G	52 (19,0%)	57 (19,0%)	0,8766	1,50 (0,35-6,38)	0,5835	0,91 (0,56-1,48)	0,7119
	G/T	46 (34,1%)	47 (30,9%)								
	T/T	86 (63,7%)	100 (65,8%)	T	218 (81,0%)	247 (81,0%)		1,10 (0,67-1,78)	0,7119	0,67 (0,16-2,85)	0,5835
<i>LEP</i> rs7799039	AA	25 (18,7%)	38 (25,7%)	A	122 (46,0%)	148 (50,0%)	0,2877	1,51 (0,85-2,66)	0,1576	1,10 (0,65-1,87)	0,7132
	AG	72 (53,7%)	72 (48,6%)								
	GG	37 (27,6%)	38 (25,7%)	G	146 (54,0%)	50 (50,0%)		0,91 (0,53-1,54)	0,7132	0,66 (0,38-1,17)	0,1576
<i>IRSI</i> rs1801278	AA	0 (0,0%)	0 (0,0%)	A	9 (3,0%)	15 (5,0%)	0,3388	-	-	1,53 (0,65-3,63)	0,3280
	AG	9 (6,7%)	15 (9,9%)								
	GG	126 (93,3%)	137 (90,1%)	G	261 (97,0%)	289 (95,0%)		0,65 (0,28-1,54)	0,3280	-	-
<i>FTO</i> rs8050136	A/A	25 (18,5%)	31 (20,4%)	A	113 (42,0%)	135 (44,0%)	0,5372	1,13 (0,63-2,03)	0,6889	1,16 (0,71-1,89)	0,5609
	A/C	63 (46,7%)	73 (48,0%)								
	C/C	47 (34,8%)	48 (31,6%)	C	157 (58,0%)	169 (56,0%)		0,86 (0,53-1,41)	0,5609	0,89 (0,49-1,60)	0,6889
<i>FTO</i> rs9939609	A/A	25 (18,5%)	31 (20,4%)	A	113 (42,0%)	135 (44,0%)	0,5372	1,13 (0,63-2,03)	0,6889	1,16 (0,71-1,89)	0,5609
	A/T	63 (46,7%)	73 (48,0%)								

	T/T	47 (34,8%)	48 (31,6%)	T	157 (58,0%)	169 (56,0%)		0,86 (0,53-1,41)	0,5609	0,89 (0,49-1,60)	0,6889
<i>FSHR</i> rs6166	A/A	45 (33,3%)	50 (32,9%)	A	158 (59,0%)	168 (55,0%)	0,4319	0,98 (0,60-1,60)	0,9371	0,68 (0,37-1,23)	0,1951
	A/G	68 (50,4%)	68 (44,7%)								
	G/G	22 (16,3%)	34 (22,4%)	G	112 (41,0%)	136 (45,0%)		1,48 (0,82-2,68)	0,1951	1,02 (0,62-1,67)	0,9371
<i>FSHR</i> rs12994034	A/A	17 (15,5%)	10 (14,5%)	A	81 (37,0%)	48 (35,0%)	0,6962	0,93 (0,40-2,16)	0,8610	0,88 (0,48-1,62)	0,6825
	A/G	47 (42,7%)	28 (40,6%)								
	G/G	46 (41,8%)	31 (44,9%)	G	139 (63,0%)	90 (65,0%)		1,14 (0,62-2,08)	0,6825	1,08 (0,46-2,51)	0,8610
<i>FSHR</i> rs2349415	C/C	51 (40,8%)	33 (47,1%)	C	158 (59,0%)	168 (55,0%)	0,9048	1,29 (0,72-1,33)	0,3908	0,51 (0,22-1,21)	0,1240
	T/C	62 (49,6%)	25 (35,7%)								
	T/T	12 (9,6%)	12 (17,1%)	T	86 (34,0%)	49 (35,0%)		1,95 (0,82-4,61)	0,1240	0,77 (0,43-1,39)	0,3908
<i>FSHR</i> rs17038027	C/C	3 (100,0%)	41 (97,6%)	C	6 (100,0%)	83 (99,0%)	-	-	-	-	-
	T/C	0 (0,0%)	1 (2,4%)								
	T/T	0 (0,0%)	0 (0,0%)	T	0 (0,0%)	1 (1,0%)		-	-	-	-
<i>FSHR</i> rs14897641 3	C/C	3 (100,0%)	41 (97,6%)	C	6 (100,0%)	2 (2,0%)	0,9048	-	-	-	-
	T/C	0 (0,0%)	1 (2,4%)								
	T/T	0 (0,0%)	0 (0,0%)	T	0 (0,0%)	82 (98,0%)		-	-	-	-
LHCGR Rs12470652	C/C	1 (0,7%)	0 (0,0%)	C	11 (4,0%)	16 (5,0%)	0,5018	-	-	1,47 (0,64-3,36)	0,3581
	T/C	9 (6,7%)	16 (10,5%)								
	T/T	125 (92,8%)	136 (89,5%)	T	259 (96,0%)	288 (95,0%)		0,68 (0,30-1,55)	0,3581	-	-
LHCGR rs13405728	A/A	103 (83,1%)	63 (91,3%)	C	227 (92,0%)	132 (96,0%)	0,5018	2,14 (0,82-5,59)	0,1137	-	-
	A/G	21 (16,9%)	6 (8,7%)								





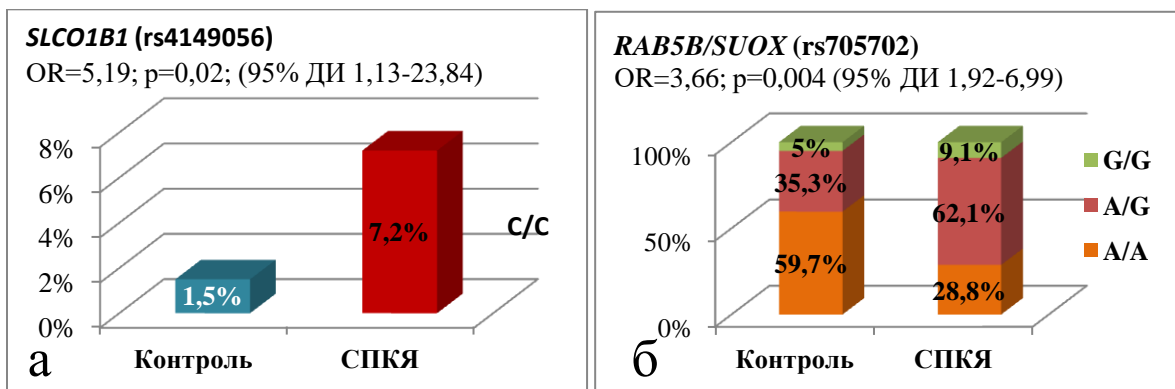
	C/C	1 (0,8%)	0 (0,0%)	C	10 (4,0%)	6 (4,0%)		-	-	1,21 (0,41-3,55)	0,7302	
<i>INSR</i> rs2059807	A/A	29 (23,2%)	15 (21,4%)	A	119 (48,0%)	64 (46,0%)	0,7203	0,90 (0,45-1,83)	0,7765	0,91 (0,48-1,73)	0,7671	
	A/G	61 (48,8%)	34 (48,6%)									
	G/G	35 (28,0%)	21 (30,0%)	G	131 (52,0%)	76 (54,0%)		1,10 (0,58-2,10)	0,7671	1,11 (0,55-2,24)	0,7765	
<i>INSR</i> rs3815902	A/A	6 (4,8%)	2 (2,9%)	A	52 (21,0%)	36 (26,0%)	0,2836	0,58 (0,11-2,95)	0,5050	1,60 (0,88-2,90)	0,1189	
	A/G	40 (32,3%)	32 (45,7%)									
	G/G	78 (62,9%)	36 (51,4%)	G	196 (79,0%)	104 (74,0%)		0,62 (0,34-1,13)	0,1189	1,73 (0,34-8,81)	0,5050	
<i>THADA</i> rs78635447	AA	0 (0,0%)	0 (0,0%)	A	10 (4,0%)	4 (3,0%)	0,5658	-	-	0,70 (0,21-2,31)	0,5531	
	AG	10 (8,0%)	4 (5,7%)									
	GG	115 (92,0%)	66 (94,3%)	G	240 (96,0%)	136 (97,0%)		1,43 (0,43-4,76)	0,5531	-	-	
<i>THADA</i> rs12468394	A/A	32 (25,6%)	16 (22,9%)	A	138 (55,0%)	65 (46,0%)	0,0962	0,86 (0,43-1,71)	0,6697	0,42 (0,21-0,85)	0,0141	
	A/C	74 (59,2%)	33 (47,1%)									
	C/C	19 (15,2%)	21 (30,0%)	C	112 (45,0%)	75 (54,0%)		2,39 (1,18-4,85)	0,0141	1,16 (0,58-2,31)	0,6697	
<i>THADA</i> rs12478601	C/C	19 (15,2%)	14 (20,0%)	C	98 (39,0%)	61 (44,0%)	0,399383	1,39 (0,65-2,99)	0,3911	1,19 (0,64-2,21)	0,5807	
	T/C	60 (48,0%)	33 (47,1%)									
	T/T	46 (36,8%)	23 (32,9%)	T	152 (61,0%)	79 (56,0%)		0,84 (0,45-1,56)	0,5807	0,72 (0,33-1,54)	0,3911	
<i>ATM</i> rs683369	C/C	89 (73,0%)	52 (74,3%)	C	207 (85,0%)	116 (83,0%)	0,6096	1,07 (0,55-2,09)	0,8402	0,36 (0,10-1,33)	0,1121	
	C/G	29 (23,8%)	12 (17,1%)									
	G/G	4 (3,3%)	6 (8,6%)	G	37 (15,0%)	24 (17,0%)		2,77 (0,75-10,16)	0,1121	0,93 (0,48-1,82)	0,8402	
<i>OCT1</i> rs6282031	A/A	17 (13,8%)	22 (32,8%)	A	93 (38,0%)	71 (53,0%)	0,0043	3,05 (1,48-6,28)	0,0019	1,68 (0,88-3,23)	0,1152	
	A/G	59 (48,0%)	27 (40,3%)									
	G/G	47 (38,2%)	18 (26,9%)	G	153 (62,0%)	63 (47,0%)		0,59	0,1152	0,33	0,0019	

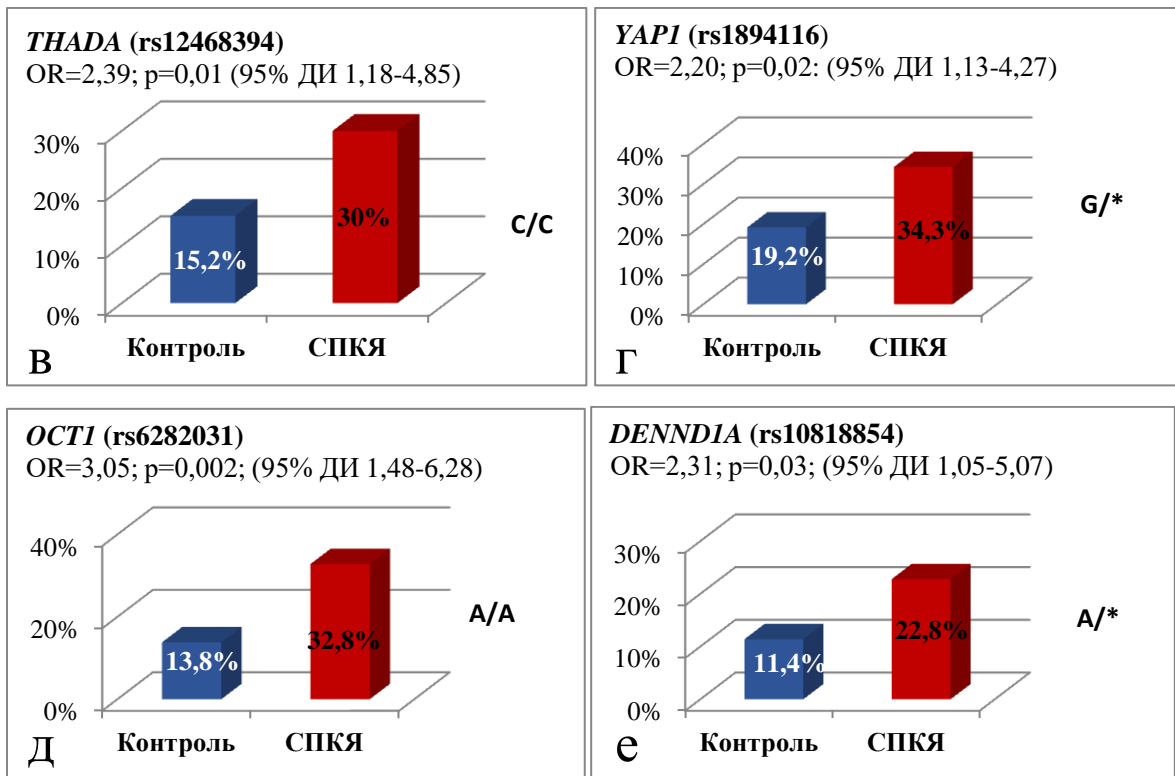
								(0,31-1,14)		(0,16-0,68)	
<i>OCT1</i> rs34130495	A/A	0 (0,0%)	0 (0,0%)	A	0 (0,0%)	12 (14,0%)	-	-	-	-	-
	A/G	0 (0,0%)	2 (4,8%)					-	-	-	-
	G/G	3 (100,0%)	40 (95,2%)	G	6 (100,0%)	82 (98,0%)		-	-	-	-
<i>OCT1</i> rs72552763	T/T	0 (0,0%)	2 (4,8%)	T	0 (0,0%)	12 (14,0%)	-	-	-	-	-
	TGAT/T	0 (0,0%)	8 (19,0%)					-	-	-	-
	TGAT/ TGAT	3 (100,0%)	3 2 (76,2%)	TGAT	6 (100,0%)	72 (86,0%)		-	-	-	-
<i>OCT1</i> rs11356919 7	A/A	1 (33,3%)	11 (26,2%)	A	2 (33,0%)	40 (48,0%)	0,4980	0,71 (0,06-8,62)	0,7869	4,46 (0,37-53,71)	0,2048
	A/Del	0 (0,0%)	18 (42,9%)					0,22 (0,02-2,70)	0,2048	1,41 (0,12-17,12)	0,7869
	Del/Del	2 (66,7%)	13 (31,0%)	Del	4 (67,0%)	44 (52,0%)		0,87 (0,41-1,87)	0,7224	0,78 (0,41-1,45)	0,4259
<i>C9orf3</i> rs4385527	A/A	24 (19,2%)	12 (17,1%)	A	113 (45,0%)	58 (41,0%)	0,4715	1,29 (0,69-2,42)	0,4259	1,15 (0,53-2,47)	0,7224
	A/G	65 (52,0%)	34 (48,6%)					1,77 (0,11-28,72)	0,6847	2,31 (1,05-5,07)	0,0344
	G/G	36 (28,8%)	24 (34,3%)	G	137 (55,0%)	82 (59,0%)		0,43 (0,20-0,95)	0,0344	0,57 (0,03-9,19)	0,6847
<i>DENND1A</i> Rs10818854	A/A	1 (0,8%)	1 (1,4%)	A	15 (6,0%)	17 (12,0%)	0,0383	0,75 (0,40-1,41)	0,3718	1,10 (0,50-2,39)	0,8174
	A/G	13 (10,6%)	15 (21,4%)					0,91 (0,42-1,99)	0,8174	1,33 (0,71-2,51)	0,3718
	G/G	109 (88,6%)	54 (77,1%)	G	231 (94,0%)	123 (88,0%)					
<i>DENND1A</i> Rs2479106	A/A	45 (39,5%)	22 (32,8%)	A	137 (60,0%)	77 (57,0%)	0,6237				
	A/G	47 (41,2%)	33 (49,3%)								
	G/G	22 (19,3%)	12 (17,9%)	G	91 (40,0%)	57 (43,0%)					

Примечание: сравнение групп по частоте встречаемости фактора осуществлялось с помощью точного теста Фишера (при ожидаемых значениях в таблице сопряженности менее или равно 5) либо с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона (в остальных случаях)

Установлена ассоциация 6 полиморфных локусов генов с развитием СПКЯ: *SLCO1B1* [rs4149056], *YAP1* [rs1894116], *Rub5B/SUOX* [rs705702], *THADA* [rs12468394], *OCT1* [rs6282031], *DENND1A* [rs10818854]. По остальным исследованным полиморфизмам не было получено статистически значимых различий в распределении аллелей и генотипов между пациентками с СПКЯ и женщинами группы контроля.

Ген *SLCO1B1* кодирует полипептид, транспортирующий органические анионы 1В1 (ОАТР1В1). Это транспортер гепатоцитов человека, который опосредует поглощение многих эндогенных и экзогенных соединений. Генетические вариации гена транспортера растворенных веществ 1В1 (*SLCO1B1*) могут влиять на конъюгирование эстрогенов, косвенно опосредовать ГА, способствуя накоплению субстратов ДЭА-С, а также влиять на синтез ПССГ. Однако в настоящее время значение данного полиморфного локуса в развитии СПКЯ не изучено. На рисунке 17.а представлена частота генотипа С/С гена *SLCO1B1*: 563 Т>С (Val174Ala) среди пациенток основной и контрольной групп. Установлена аутомно-рецессивная модель наследования аллеля С, предрасполагающего к развитию СПКЯ. Так, обладательницы гомозиготного генотипа С/С имеют в 5 раз больший риск развития СПКЯ ( $p=0,0193$ ; ОШ=5,19 (95% ДИ 1,13-23,84)).





**Рис.17.** Частота генотипов и/или аллелей исследуемых генов среди пациенток с СПКЯ и женщин группы контроля.

а) Частота генотипа C/C гена *SLCO1B1* при СПКЯ и в группе контроля; б) Распределение генотипов гена *RAB5B/SUOX* (*rs705702*) при СПКЯ и в группе контроля; в) Частота генотипа C/C гена *THADA* (*rs12468394*) в группах с СПКЯ и контроля.; г) Частота генотипов A/G и G/G гена *YAPI* (*rs1894116*) в группах с СПКЯ и контроля; д) Распределение генотипов гена *OCT1* (*rs6282031*) в группах с СПКЯ и контроля; е) Распределение генотипов гена *DENNDIA* (*rs10818854*) в группах с СПКЯ и контроля.

По данным литературы локус *rs705702* расположен на хромосоме 12q13.2 между генами *RAB5B* и *SUOX*. По данным литературы *RAB5B* вовлечен в эндоцитоз и рециркуляцию рецепторов, формирование эндосом. *SUOX*, сульфитоксидаза, является ферментом мембран митохондрий, катализирующим деградацию цистеина в метионин. Известна ассоциация локуса *RAB5B/SUOX* (*rs705702*) с формированием СД1. Согласно результатам полногеномных исследования *RAB5B* известен как ген-кандидат СПКЯ, однако его вклад в развитие синдрома предстоит изучить. На рисунке 17.6 представлено распределение генотипов гена *RAB5B/SUOX*: A>G среди женщин с СПКЯ и в группе контроля. Установлена аутосомно-доминантная модель наследования, ( $p=0,0004$ ; ОШ=3,66 (95% ДИ 1,92-6,99). Носители генотипов

A/G и G/G имеют шанс развития СПКЯ в 3,66 раза больший по сравнению с женщинами, гомозиготными по аллелю А (генотип А/А).

Другим геном-кандидатом развития СПКЯ, установленным в ходе китайских полногеномных исследований является ген *THADA*, по данным ряда предшествующих исследований известный ассоциацией с ИР и СД2. На рисунке 17.в представлена частота генотипа С/С гена *THADA*: А>С среди женщин с СПКЯ и группой контроля. Установлена аутосомно-рецессивная модель наследования, ( $p=0,0141$ ; ОШ=2,39 (95% ДИ 1,18-4,85)). Носительство генотипа С/С увеличивает риск развития СПКЯ в 2,4 раза.

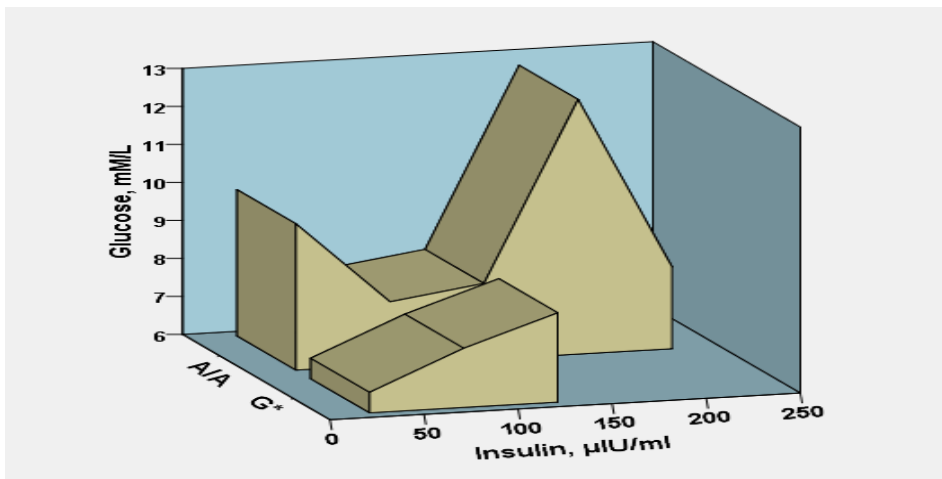
Ген *YAP1* известен как транскрипционный ко-активатор сигнального Hippo-пути, который принимает участие в регуляции роста органов, в том числе яичников. В настоящее время проводятся исследования по изучению роли гена *YAP1* в формировании СПКЯ. На рисунке 17.г представлено распределение генотипов *YAP1(rs1894116)* среди женщин с СПКЯ и группы контроля. Установлена аутосомно-доминантная модель наследования, ( $p=0,0189$ ; ОШ=2,20 (95% ДИ 1,13-4,27)). Носительство аллеля G увеличивает риск развития СПКЯ в 2,2 раза.

Для гена *OCT1* (транспортер органических катионов в гепатоцитах) установлена ассоциация с СД2 и его осложнениями. Однако его роль в формировании МД при СПКЯ остается спорной. На рисунке 17.д представлена частота генотипа А/А гена *OCT1 rs6282031* среди женщин с СПКЯ и группы контроля. Установлена аутосомно-рецессивная модель наследования, ( $p=0,0019$ ; ОШ=3,05 (95% ДИ 1,48-6,28)). Носительство генотипа А/А увеличивает риск развития СПКЯ в 3 раза.

Ген *DENND1A* расположенный на хромосоме 9q33.3, кодирует домен белка, который является отрицательным регулятором аминопетидазы 1 эндоплазматического ретикулума и опосредует функцию экзосом. Ассоциация гена *DENND1A* с СПКЯ на китайской популяции была показана в ходе полногеномных исследований. Считается перспективным проведение функциональных исследований, посвященных роли гена *DENND1A* в

патогенезе СПКЯ. На рисунке 17.е представлена частота генотипов А/А и А/Г гена *DENND1A* rs10818854 среди женщин с СПКЯ и группы контроля. Установлена аутосомно-доминантная модель наследования, ( $p=0,0334$ ; ОШ=2,31 (95% ДИ 1,05-5,07)). Носительство генотипа А/А увеличивает риск развития СПКЯ в 3 раза.

На втором этапе молекулярно-генетического исследования проведен поиск взаимосвязей вышеуказанных генов с показателями гормонального профиля, маркерами МД у пациенток с СПКЯ. Статистически значимая ассоциация с более высоким уровнем глюкозы натощак установлена для носительства С-аллеля (генотипы С/А и С/С) гена *RAB5B/SUOX* (rs705702) ( $p<0,05$ ), с более высоким уровнем глюкозы на фоне проведения ГТТ – генотип С/С гена *SLCO1B1*: 563 Т>С (Val174Ala) ( $p<0,05$ ). Другим возможным маркером метаболического неблагополучия у пациенток с СПКЯ является генотип А/А гена *OCT1* (rs6282031), который ассоциировался с более высоким уровнем глюкозы и инсулина на фоне ГТТ ( $p<0,05$ ). Носительство G-аллеля играет протективную роль, так все носители G-аллеля имели нормальный уровень инсулина на фоне нагрузки глюкозой (Рис.18).



**Рис.18.** Зависимость уровней глюкозы и инсулина на фоне ГТТ от генотипа гена *OCT1* (rs6282031).

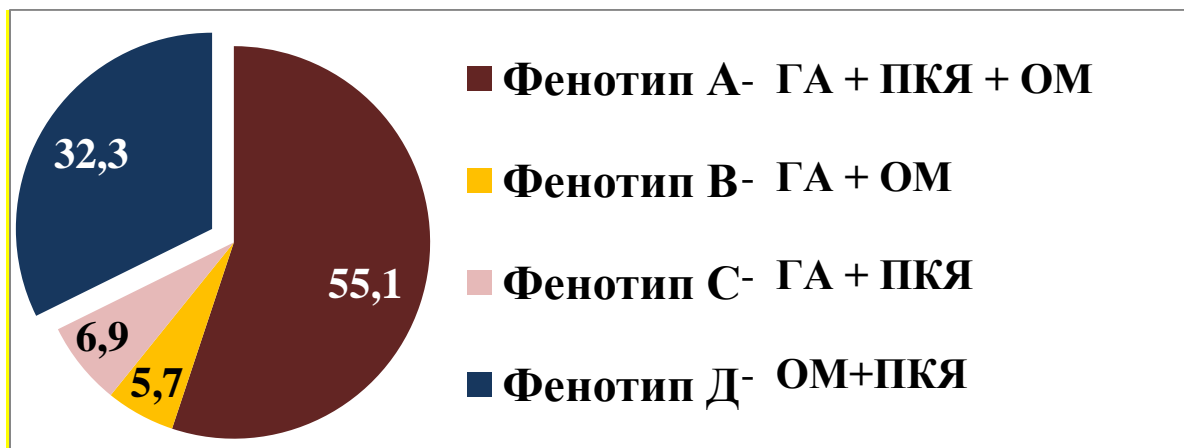
Генотип G/G гена *YAP1* (rs1894116) ассоциировался не только с более высоким уровнем инсулина натощак ( $p=0,046$ ), но также с более высоким уровнем Тобщ ( $p=0,02$ ) и значением ИСА ( $p=0,02$ ).

*Заключение:* настоящее исследование показало ассоциацию полиморфизма 6 генов с формированием СПКЯ. Это гены *Rub5B/SUOX* (rs705702), *THADA* (rs12468394), *OCT1* (rs6282031), *SLCO1B1*(rs4149056), для которых предполагается взаимосвязь с ИР, НТГ и формированием СД2, а также гены *DENND1A* (rs10818854) и *YAP1* (rs1894116), нарушение функции которых вероятно вовлечено в формирование гипоталамо-гипофизарной дисфункции и ГА. Для некоторых генов получена ассоциация с повышением уровня глюкозы и инсулина (*Rub5B/SUOX*, *SLCO1B1* и *OCT1*), взаимосвязь с ГА по уровню Тобщ установлена для гена *YAP1*.

### **3.3. Клинико-лабораторная характеристика пациенток с различными фенотипами СПКЯ**

#### **3.3.1. Клиническая характеристика пациенток с различными фенотипами СПКЯ**

По результатам клинико-лабораторного обследования пациентки были разделены на подгруппы в зависимости от установленного репродуктивного фенотипа СПКЯ, согласно Роттердамским критериям (2003). В структуре синдрома доминировал классический фенотип А (ГА+ОМ+ПКЯ), его частота составила 55,1%, неполных андрогенных фенотипов В (ГА+ОМ) и С (ГА+ПКЯ) - 6,9% и 5,7% соответственно. Частота неандрогенного фенотипа Д (ПКЯ+ОМ) составила 32,3%.



**Рис.19.** Распределение пациенток в соответствии с фенотипами СПКЯ.

Основные клинические показатели пациенток с различными фенотипами СПКЯ, представлены в таблице 17. Как видно, все подгруппы были сопоставимы по возрасту и возрасту менархе ( $p > 0,05$ ). Не установлено различий по ИМТ и частоте ожирения среди подгрупп с фенотипами А, В и Д. Пациентки с фенотипом С имели более низкий ИМТ по сравнению с фенотипом А и более низкую частоту ожирения по сравнению с подгруппами с фенотипами А и Д ( $p < 0,05$ ).

Оценка характера менструального цикла показала, что задержки менструаций до 1 месяца наиболее часто встречались среди пациенток с овуляторным фенотипом С, по сравнению с пациентками с фенотипами А и Д ( $p < 0,05$ ). По длительности задержек до 3 месяцев не установлено межгрупповых различий ( $p > 0,05$ ). Наиболее длительный межменструальный интервал наблюдался в подгруппах с фенотипами А и Д, так частота олигоменореи до 6 месяцев достигла 37,3% при фенотипе А и 30,5% при фенотипе Д, имелись статистически значимые различия по сравнению с фенотипами В и С ( $p < 0,05$ ). Наибольшая частота аменореи зафиксирована в подгруппе с классическим андрогенным фенотипом – 22,5%, почти в 2 раза ниже в подгруппе с неандрогенным фенотипом – 13,5% ( $p < 0,05$ ). Среди представительниц фенотипа В аменорея была отмечена только у 2 (8%) пациенток.



Таблица 17. Характеристика больных с различными фенотипами СПКЯ.

Показатель	Фенотип А (n=241)	Фенотип В (n=25)	Фенотип С (n=30)	Фенотип Д (n=141)
Возраст	25,6±6,2	24,9±4,3	24,8±4,2	26,1±5,1
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	24,1±5,6*	23,7±3,8	22,9±5,6*	23,6±5,5
Частота ожирения, %	36 (14,9%)	3 (12,0%)	2 (6,7%)*	21 (15,0%)
Избыточная масса тела, %	47 (19,3%)	4 (16%)	2 (6,7%)	21 (14,9%)
ОТ/ОБ	0,79±0,16	0,75±0,15	0,75±0,11	0,78±0,14
Возраст менархе, лет **	13,6 ± 2,0	13,4±1,6	12,9±1,5	13,6±1,6
Возраст манифестации, лет	14,6 ± 3,0	13,9 ± 2,1	15,1 ± 4,6	14,7 ± 3,4
Заинтересованные в беременности, %	106 (44,0%)	8 (32,0%)	4 (13,3%)	48 (34,0%)
Частота бесплодия среди заинтересованных, %	94 (88,7%)	7 (87,5%)	4 (100,0%)	43(89,6%)
Длительность бесплодия, лет	4,1 ± 3,4	2,1 ± 3,0	1,9 ± 3,0	3,2 ± 1,9
Регулярный менструальный цикл***	-	-	2 (6,7%)	-
Задержки до 1 мес***	29 (12,0%)	10 (40%)	18 (60,0%)*	31 (22,0%)
Задержки от 1 до 3 мес***	68 (28,5%)	7 (28%)	8 (26,6%)	48 (34,0%)
Задержки от 3 до 6 мес***	90 (37,3%)	6 (24%)	2 (6,6%)	43 (30,5%)
Задержки более 6 мес***	54 (22,5%)	2 (8%)	0	19 (13,5%)
Возраст менархе, лет **	13,6 ± 2,0	13,4±1,6	12,9±1,5	13,6±1,6

\*Данные представлены как средние ± стандартное отклонение

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

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

\*\*\*р- уровень значимости различий между 1, 2, 3, 4 и 5 групп

Не выявлено различий между репродуктивными фенотипами по частоте бесплодия среди заинтересованных в беременности ( $p > 0,05$ ), однако у

представительниц фенотипов А и Д отмечалась тенденция к более длительному бесплодию ( $p > 0,05$ ).

### 3.3.2. Основные показатели эндокринной функции репродуктивной системы пациенток с различными фенотипами СПКЯ

Анализ гормонального профиля, представленного в таблице 18, выявил более высокий средний уровень ЛГ в группе с классическим фенотипом А ( $11,5 \pm 6,2$  мЕд/мл), наиболее низкий уровень ЛГ наблюдался в группе с неандрогенным фенотипом D ( $8,9 \pm 5,9$  мЕд/мл) ( $p < 0,05$ ). Различий по уровню ФСГ между группами не выявлено ( $p > 0,05$ ). Как видно из представленных в таблице данных, среди андрогенных фенотипов подгруппа с фенотипом А характеризовалась наиболее высоким средним уровнем Тобщ и А, в то время как подгруппа с фенотипом В – более высоким уровнем Тсв ( $p < 0,05$ ).

Таблица 18. Гормональный профиль пациенток с различными фенотипами СПКЯ.

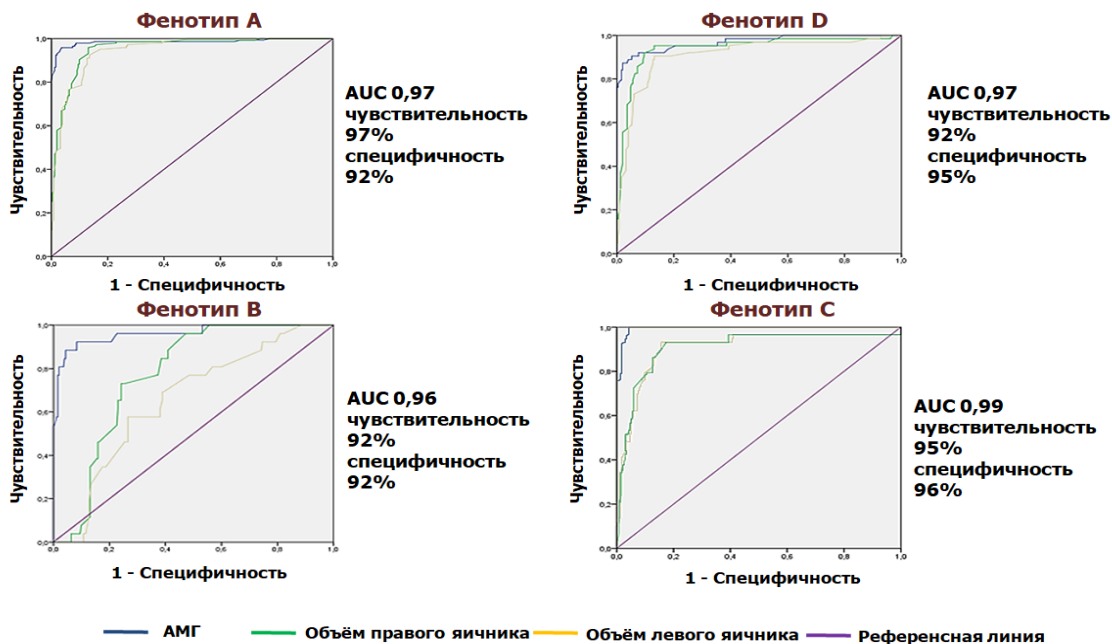
Показатель	Фенотип А (n=241)	Фенотип В (n=25)	Фенотип С (n=30)	Фенотип D (n=141)
АМГ, нг/мл	<b>17,4±12,3*</b>	13,8±7,0	14,8±9,2	<b>12,6±6,5*</b>
ЛГ, мЕд/мл	<b>11,5±6,2*</b>	10,1±6,0	10,5±6,7	<b>8,9±5,9*</b>
ФСГ, мЕд/мл	6,5±1,8	5,6±1,7	5,3±1,4	5,3±2,0
Т общий, нмоль/л	2,2±0,9	2,0±0,9	2,0±0,8	1,3±0,4
Т свободный, нг/мл	4,8±3,4	5,3±3,3	4,3±2,6	1,9±1,1
Андростендион, нмоль/л	23,0±9,0	19,8±7,3	19,8±6,0	11,6±4,0
ИСА	6,6±4,7	10,0±7,1	3,9±2,3	3,4±3,1
ПССГ, нмоль/мл	<b>49,6±30,7*</b>	50,1±26,5	<b>61,2±29,4*</b>	<b>54,9±27,7*</b>

\*- статистически значимые различия между фенотипами,  $p < 0,05$  (подробнее см. в тексте).

### ***Значение АМГ в диагностике различных фенотипов СПКЯ***

В рамках настоящего исследования была проведена сравнительная оценка уровня АМГ при различных фенотипах СПКЯ. Средний уровень АМГ был наиболее высоким в сыворотке крови пациенток с фенотипом А ( $17,9 \pm 11,6$  нг/мл). Существенных различий в среднем уровне АМГ среди фенотипов В, С и D, который составил соответственно  $11,1 \pm 5,6$  нг/мл,  $14,2 \pm 10,6$  нг/мл и  $12,6 \pm 5,7$  нг/мл, не было выявлено. Однако определены достоверные различия фенотипа А с фенотипами В и D ( $p < 0,05$ ). Из 11 больных с СПКЯ, имеющих нормальные показатели АМГ, 3 (2,1%) принадлежали к фенотипу А, 2 (7,7%) – к фенотипу В, 1 (7,9%) – к фенотипу С и 5 (6,2%) – к фенотипу D.

Результаты ROC-анализа свидетельствуют о высокой диагностической значимости АМГ при всех формах СПКЯ. Площадь под кривой при фенотипе А составила 0,97 (чувствительность и специфичность 97% и 92% соответственно, ДИ 95%); при фенотипе В –  $AUC=0,96$ , (чувствительность 92% и специфичность 92%, ДИ 95%), фенотипе С –  $AUC=0,97$ , (чувствительность 95% и специфичность 96%, ДИ 95%), при фенотипе D –  $AUC=0,97$  (чувствительность и специфичность по 92%, ДИ 95%, Рисунок 20).



**Рис.20.** ROC-анализ, оценка диагностической значимости АМГ и объема яичников при СПКЯ: а) фенотип А; б) фенотип В; в) фенотип С; г) фенотип D.

Достоверных различий в среднем объеме яичников между фенотипами А ( $17,2 \pm 6,0 \text{ см}^3$ ), С ( $13,0 \pm 4,4 \text{ см}^3$ ) и Д ( $16,1 \pm 5,1 \text{ см}^3$ ) не установлено, при фенотипе В этот показатель был закономерно более низким ( $8,5 \pm 1,9 \text{ см}^3$ ). Как видно из данных, представленных на рисунке 20, определение уровня АМГ при фенотипах А и Д имеет более высокую диагностическую значимость по сравнению с объемом яичников.

### 3.3.3. Метаболические характеристики больных с различными фенотипами СПКЯ.

С целью выявления метаболически наиболее неблагоприятного фенотипа СПКЯ проведен сравнительный анализ показателей ГТТ, денситометрии жировой ткани и липидного профиля (Таблица 19).

Таблица 19. Показатели углеводного обмена по результатам глюкозотолерантного теста у пациенток с различными фенотипами СПКЯ.

Показатель	Фенотип А (n=241)	Фенотип В (n=25)	Фенотип С (n=30)	Фенотип Д (n=141)
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,2±0,6	5,3±0,5	5,2±0,4	5,2±0,6
Глюкозачерез 1 час, ммоль/л	7,3±2,0	7,0±1,6	7,5±2,0	7,3±1,9
Глюкоза через 2 часа, ммоль/л	5,8±1,4	6,1±1,4	5,9±1,2	5,8±1,3
Инсулин натощак, мкЕд/мл	10,6±8,4	11,9±7,3	10,5±8,5	9,8±6,1
Инсулин через час, мкЕд/мл	79,2±62,0	82,0±53,4	79,0±62,2	65,9±41,2
Инсулин через 2 часа, мкЕд/мл	51,0±46,5	49,5±25,7	54,6±46,6	46,7±35,6
НОМА	2,2±1,6	1,9±1,3	2,1±1,9	1,9±1,5
НТГ	52 (21,6%)	6 (24,0%)	1 (3,3%)*	19 (13,5%)
ГИ	73 (30,3%)	6 (24,0%)	2 (6,7%)*	29 (20,5%)
ИР (НОМА>2,5)	92 (38,2%)	5 (20,0%)	3 (10,0%)*	42 (29,8%)

\*- достоверные различия между фенотипами ( $p < 0,05$ )

Показатели углеводного обмена больных с различными фенотипами СПКЯ, представленные в таблице указывают на то, что подгруппы были сопоставимы по среднему уровню глюкозы натощак и на фоне ГТТ ( $p > 0,05$ ). Частота НТГ при фенотипе А составила 21,6%, при фенотипе В - 24% и при фенотипе Д - 13,5% ( $p < 0,05$ ). В подгруппе с овуляторным фенотипом С выявлен только один (3,3%)

случай НТГ. Как видно из данных таблицы 19, более низкие уровни инсулина натощак и по результатам ГТТ ( $p>0,05$ ), а также более низкие значения индекса НОМА были выявлены при неандрогенном фенотипе D ( $p<0,05$ ). Частота ГИ и ИР согласно индексу НОМА также была ниже среди больных с фенотипами С и Д по сравнению с фенотипом А ( $p<0,05$ ).

Данные по средним значениям показателей липидного спектра и частоте ДЛП представлены в Таблице 20.

**Таблица 20. Основные показатели липидного спектра сыворотки крови больных с различными фенотипами СПКЯ.**

Показатель	Фенотип А (n=241)	Фенотип В (n=25)	Фенотип С (n=30)	Фенотип Д (n=141)
Холестерин, ммоль/л	4,87±0,94	4,92±0,68	4,81±0,97	5,1±0,8
Триглицериды, ммоль/л	0,99±0,75	0,85±0,35	0,97±0,60	0,9±0,7
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,66±0,50	1,78±0,41	1,59±0,37	2,2±0,5
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,45±0,70	2,39±0,54	2,54±0,91	2,4±0,7
КА	2,16±0,95	1,87±0,73	2,20±1,04	1,8±1,2
Частота дислипидемий, %	90 (37,3%)	11 (44,0%)	7 (23,3%)*	49 (34,7%)
Изолированная холестеринемия (III тип), %	70 (29,0%)	7 (28,0%)	7 (23,3%)	31 (21,9%)
Изолированная триглицеридемия (IV тип), %	23 (9,5%)	2 (8,0%)	0 (0,0%)	3 (2,4%)
Комбинированная гиперхолестеринемия (IIb тип), %	18 (7,5%)	2 (8,0%)	0 (0,0%)	15 (10,6%)
Гипоальфалипидемия (ЛПВП менее 1,3)	22 (9,1%)	4 (16,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)*
Частота гиперхолестеринемии по ЛПНП, %	11 (4,6%)	2 (8,0%)	0 (0,0%)	3 (2,1%)
Частота повышенного КА, %	40 (16,6%)	4 (16,0%)	0 (0,0%)	17 (12,1%)

\*- статистически значимые различия между фенотипами ( $p<0,05$ ).

Не выявлено межгрупповых различий среди фенотипов СПКЯ по средним уровням ХС, ТГ, ЛПНП, ЛПВП и значению КА ( $p>0,05$ ). Однако наиболее низкая

частота ДЛП была установлена при овуляторном фенотипе С по сравнению с фенотипами А, В и D ( $p < 0,05$ ), среди которых статистически значимых различий не выявлено ( $p > 0,05$ ). Результаты оценки структуры ДЛП показали более высокую частоту гипоальфалипидемии среди пациенток с фенотипами А и В по сравнению с пациентками с фенотипами С и D ( $p < 0,05$ ).

Данные по частоте ожирения среди больных с различными фенотипами СПКЯ представлены в Таблице 21. Согласно результатам композиционной оценки состава тела пациентки с фенотипами А, В и D не имели достоверных различий по средним показателям процентного содержания жировой ткани, в то время как пациентки с фенотипом С имели существенно меньшее количество жировой ткани ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 21. Показатели композиционного состава тела пациенток с СПКЯ и группы контроля.**

Показатель	Фенотип А (n=241)	Фенотип В (n=25)	Фенотип С (n=30)	Фенотип D (n=141)
Общая жировая ткань, %	37,9±8,2	39,0±7,8	34,1±7,1*	36,3±8,2
Скрытое ожирение, % - из числа больных с нормальной массой тела	96 (60,1%)	10 (55,5%)	3 (11,5%)*	48 (48,5%)*
Андройдный жир, %	41,2±12,5	41,1±12,1	34,9±12,9*	40,0±11,3
Гиноидный жир, %	44,0±8,2	46,1±6,0	41,3±6,3	43,9±6,0
Индекс А/G	0,94±0,18*	0,92±0,17	0,84±0,16*	0,89±0,18*

\*- статистически значимые различия с фенотипом А.

Анализ распределения жировой ткани по анатомическим областям показал, что пациентки с фенотипом С имели значительно меньшее количество андройдного жира, в среднем 34,9%, против 40-41,2%, характерных для фенотипов А, В и D

( $p < 0,05$ ). Наиболее показательны различия в характере отложения жировой ткани продемонстрировал индекс A/G, его наименьшие значения были зафиксированы при овуляторном фенотипе С – 0,84, а наибольшие - при фенотипе А – 0,94. При фенотипах В и D средний индекс A/G был равен 0,92 и 0,89 соответственно, что также существенно превышало средние показатели овуляторного фенотипа ( $p < 0,05$ ).

### 3.3.4. Генетические маркеры гиперандрогении при СПКЯ

Гетерогенность СПКЯ предполагает различные генетические основы отдельных признаков синдрома. В настоящем исследовании проведен поиск взаимосвязи ГА, как основополагающего диагностического критерия СПКЯ, с полиморфизмом 44 указанных выше локусов (табл 15). Оценка ассоциации генотипа пациенток с формированием ГА была проведена на основе анализа распределения аллелей и генотипов исследуемых генов среди пациенток с фенотипами А и D. Установлена ассоциация 3 полиморфных локусов с ГА при СПКЯ: гены *IRS1* (rs1801278), *FSHR* (rs 2349415), *LHCGR* (rs12470652). Распределение аллелей среди пациенток с андрогенными и неандрогенным фенотипами представлены в таблице 22.

Таблица 22. Распределение аллелей и генотипов среди пациенток с фенотипом А и фенотипом Д

	Генотип	Фенотип А, n (%)	Фенотип D, n (%)	Генотипическая частота аллелей				Аутосомно- рецессивная модель		Аутосомно- доминантная модель	
				Аллель	Фенотип А, n (%)	Фенотип Д, n (%)	Распре- деление аллелей $\chi^2$ тест,р*	ОШ	$\chi^2$ тест, р	ОШ	$\chi^2$ тест, р*
<i>CYP2C9</i> rs105791 0	A/A	83 (86,5%)	39 (86,7%)	<b>A</b>	179 (93,0%)	84 (93,0%)	0,9740	1,02 (0,36-2,88)	0,973 0	-	-
	A/C	13 (13,5%)	6 (13,3%)								
	C/C	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>C</b>	13 (7,0%)	6 (7,0%)		-	-	0,98 (0,35- 2,78)	0,9730
<i>CYP2C9</i> rs179985 3	C/C	76 (79,2%)	22 (82,2%)	<b>C</b>	172 (90,0%)	92 (91,0%)	0,6892	1,22 (0,49-3,02)	0,671 6	-	-
	T/C	20 (20,8%)	8 (17,8%)								
	T/T	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>T</b>	20 (10,0%)	8 (9,0%)		-	-	0,82 (0,33-2,04)	0,6716
<i>SLCO1B1</i> rs414905 6	C/C	6 (6,3%)	4 (8,9%)	<b>C</b>	40 (21,0%)	24 (27,0%)	0,2756	1,46 (0,39-5,47)	0,569 3	1,46 (0,71-3,00)	0,3039
	T/C	28 (29,2%)	16 (35,6%)								
	T/T	62 (64,6%)	25 (55,6%)	<b>T</b>	152 (79,0%)	66 (73,0%)		0,69 (0,33-1,41)	0,303 9	0,68 (0,18-2,55)	0,5693
<i>TCF7L2</i> rs790314 6	C/C	57 (59,4%)	22 (48,9%)	<b>C</b>	149 (78,0%)	63 (70,0%)	0,1682	0,65 (0,32-1,33)	0,242 2	0,45 (0,11-1,87)	0,2585
	T/C	35 (36,5%)	19 (42,2%)								
	T/T	4 (4,2%)	4 (8,9%)	<b>T</b>	43 (22,0%)	27 (23,0%)		2,24 (0,53-9,41)	0,258 5	1,53 (0,75-3,12)	0,2422



<i>TCF7L2</i> rs122553 72	G/G	64 (66,7%)	258 (55,6%)	<b>G</b>	156 (81,0%)	67 (74,0%)	0,1902	0,63 (0,30-1,29)	0,202 4	0,82 (0,13-2,84)	0,5240
	G/T	28 (29,2%)	17 (37,8%)								
	T/T	4 (4,2%)	3 (6,7%)	<b>T</b>	36 (19,0%)	23 (26,0%)		1,64 (0,35-7,67)	0,524 0	1,60 (0,77-3,30)	0,2024
<i>PPARGC1A</i> rs819267 8	A/A	12 (12,5%)	6 (13,3%)	<b>A</b>	70 (36,0%)	31 (34,0%)	0,7423	1,08 (0,38-3,08)	0,890 0	0,82 (0,40-1,68)	0,5845
	A/G	46 (47,9%)	19 (42,2%)								
	G/G	38 (39,6%)	20 (44,4%)	<b>G</b>	122 (64,0%)	59 (66,0%)		1,22 (0,60-2,50)	0,584 5	0,93 (0,32-2,66)	0,5845
<i>IL1B</i> rs114362 7	C/C	13 (13,5%)	4 (8,9%)	<b>C</b>	69 (36,0%)	28 (31,0%)	0,4264	0,62 (0,19-2,03)	0,428 9	0,61 (0,13-2,84)	0,5764
	T/C	43 (44,8%)	20 (44,4%)								
	T/T	40 (41,7%)	21 (46,7%)	<b>T</b>	123 (64,0%)	62 (69,0%)		1,23 (0,60-2,50)	0,576 4	1,61 (0,49-5,23)	0,4289
<i>AGTR1</i> rs5186	A/A	53 (55,2%)	23 (51,1%)	<b>A</b>	145 (76,0%)	65 (72,0%)	0,5537	0,85 (0,42-1,72)	0,649 1	0,61 (0,13-2,84)	0,5240
	A/C	39 (40,6%)	19 (42,2%)								
	C/C	4 (4,2%)	3 (6,7%)	<b>C</b>	47 (24,0%)	25 (28,0%)		1,64 (0,35-7,67)	0,524 0	1,18 (0,58-2,40)	0,6491
<i>KCNJ11</i> rs5219	C/C	33 (34,4%)	16 (35,6%)	<b>C</b>	110 (57,0%)	53(59,0%)	0,8001	1,05 (0,50-2,21)	0,890 8	1,14 (0,46-2,85)	0,7769
	T/C	44 (45,8%)	21 (46,7%)								
	T/T	19 (19,8%)	8 (17,8%)	<b>T</b>	82 (43,0%)	37 (41,0%)		0,88 (0,35-2,19)	0,776 9	0,95 (0,45-1,99)	0,8908
<i>END1</i> rs5370	G/G	57 (59,4%)	32 (71,1%)	<b>G</b>	149 (78,0%)	76 (84,0%)	0,1824	1,68 (0,79-3,61)	0,178 1	1,91 (0,21-17,62)	0,5605
	G/T	35 (36,5%)	12 (26,7%)								
	T/T	4 (4,2%)	1 (2,2%)	<b>T</b>	43	14		0,52	0,560	0,59	0,1781

					(22,0%)	(16,0%)		(0,06-4,82)	5	(0,28-1,27)	
<i>PPARA</i> rs425377 8	C/C	2 (2,1%)	1 (2,2%)	<b>C</b>	28 (15,0%)	16 (18,0%)	0,4907	1,07 (0,09-12,10)	0,957 5	1,35 (0,63-2,90)	0,4461
	G/C	24 (25,0%)	14 (31,1%)								
	G/G	70 (72,9%)	30 (66,7%)	<b>G</b>	164 (84,0%)	74 (82,0%)		0,74 (0,35-1,60)	0,446 1	0,94 (0,08-10,60)	0,5605
<i>GNB3</i> rs5443	C/C	46 (47,9%)	18 (40,0%)	<b>C</b>	133 (69,0%)	56 (62,0%)	0,2405	0,72 (0,35-1,49)	0,378 7	0,56 (0,19-1,62)	0,2807
	T/C	41 (42,7%)	20 (44,4%)								
	T/T	9 (9,4%)	7 (15,6%)	<b>T</b>	59 (36,0%)	34 (38,0%)		1,78 (0,62-5,13)	0,280 7	1,38 (0,67-2,83)	0,3787
<i>ACE</i> rs4340	DEL/DEL	20 (20,8%)	14 (31,1%)	<b>DEL</b>	90 (47,0%)	51 (57,0%)	0,1252	1,72 (0,77-3,82)	0,183 5	1,72 (0,71-4,17)	0,2285
	DEL/INS	50 (52,1%)	23 (51,1%)								
	INS/INS	26 (27,1%)	8 (17,4%)	<b>INS</b>	102 (53,0%)	39 (43,0%)		0,58 (0,24-1,41)	0,228 5	0,58 (0,26 -1,30)	0,1835
<i>AMH</i> rs104070 22	G/G	5 (5,2%)	0 (0,0%)	<b>G</b>	41 (21,0%)	13 (14,0%)	0,1692	-	-	0,68 (0,31-1,46)	0,3168
	G/T	31 (32,3%)	13 (28,9%)								
	T/T	62 (62,5%)	32 (71,1%)	<b>T</b>	151 (79,0%)	77 (86,0%)		1,48 (0,69-3,18)	0,316 8	-	-
<i>LEP</i> rs779903 9	A/A	26 (27,7%)	12 (27,9%)	<b>A</b>	91 (48,0%)	47 (55,0%)	0,3371	1,01 (0,69-3,18)	0,976 0	1,95 (0,81-4,72)	0,1340
	A/G	39 (41,5%)	23 (53,9%)								
	G/G	29 (30,9%)	8 (18,6%)	<b>G</b>	97 (52,0%)	39 (45,0%)		0,51 (0,21-1,24)	0,134 0	0,99 (0,44-2,21)	0,9760
<i>IRS1</i> rs180127 8	A/A	<b>0 (0,0%)</b>	<b>0 (0,0%)</b>	<b>A</b>	<b>12 (6,0%)</b>	<b>1 (1,0%)</b>	<b>0,0550</b>	-	-	<b>0,16 (0,02-1,26)</b>	<b>0,0492</b>
	A/G	<b>12 (12,5%)</b>	<b>1 (2,2%)</b>								
	G/G	<b>84 (87,5%)</b>	<b>44 (97,8%)</b>	<b>G</b>	<b>180</b>	<b>890</b>		<b>6,29</b>	<b>0,049</b>	-	-

					<b>(94,0%)</b>	<b>(99,0%)</b>		<b>(0,79-49,93)</b>	<b>2</b>		
<i>FTO</i> rs805013 6	A/A	19 (19,8%)	11 (24,4%)	<b>A</b>	89 (46,0%)	39 (43,0%)	0,6348	1,31 (0,56-3,05)	0,529 1	0,61 (0,29-1,30)	0,1985
	A/C	51 (53,1%)	17 (37,8%)								
	C/C	26 (27,1%)	17 (37,8%)	<b>C</b>	103 (54,0%)	51 (57,0%)		1,63 (0,77-3,47)	0,198 5	0,76 (0,33-1,78)	0,5291
<i>FTO</i> rs993960 9	A/A	19 (19,8%)	11 (24,4%)	<b>A</b>	89 (46,0%)	39 (43,0%)	0,6348	1,31 (0,56-3,05)	0,529 1	0,61 (0,29-1,30)	0,1985
	A/T	51 (53,1%)	17 (37,8%)								
	T/T	26 (27,1%)	17 (37,8%)	<b>T</b>	103 (54,0%)	51 (57,0%)		1,63 (0,77-3,47)	0,198 5	0,76 (0,33-1,78)	0,5291
<i>FSHR</i> rs6166	A/A	30 (31,3%)	16 (3,6%)	<b>A</b>	105 (55,0%)	49 (54,0%)	0,9695	1,21 (0,57-2,56)	0,611 2	0,77 (0,34-1,75)	0,5310
	A/G	45 (46,9%)	17 (37,8%)								
	G/G	21 (21,9%)	12 (26,7%)	<b>G</b>	87 (45,0%)	41 (46,0%)		1,30 (0,57-2,95)	0,531 0	0,82 (0,39-1,74)	0,6112
<i>FSHR</i> rs129940 34	A/A	8 (15,4%)	2 (13,3%)	<b>A</b>	36 (35,0%)	11 (37,0%)	0,8356	0,85 (0,16-4,49)	0,844 2	1,29 (0,40-4,13)	0,6728
	A/G	20 (38,5%)	7 (46,7%)								
	G/G	24 (46,2%)	6 (40,0%)	<b>G</b>	68 (65,0%)	19 (63,0%)		0,78 (0,24-2,50)	0,672 8	1,18 (0,22-6,27)	0,8442
<i>FSHR</i> rs234941 5	C/C	<b>28 (52,8%)</b>	<b>5 (33,3%)</b>	<b>C</b>	<b>74 (70,0%)</b>	<b>15 (50,0%)</b>	<b>0,0439</b>	<b>0,45 (0,13-1,48)</b>	<b>0,182 2</b>	<b>0,30 (0,08-1,16)</b>	<b>0,0710</b>
	T/C	<b>18 (34,0%)</b>	<b>5 (33,3%)</b>								
	T/T	<b>7 (13,2%)</b>	<b>5 (33,3%)</b>	<b>T</b>	<b>32 (30,0%)</b>	<b>15 (50,0%)</b>		<b>3,29 (0,86-12,50)</b>	<b>0,071 0</b>	<b>2,24 (0,67-7,45)</b>	<b>0,1822</b>
<i>FSHR</i> rs170380 27	C/C	34 (97,1%)	6 (100,0%)	<b>C</b>	69 (99,0%)	12 (99,0%)	-	-	-	-	-
	T/C	1 (2,9%)	0 (0,0%)								

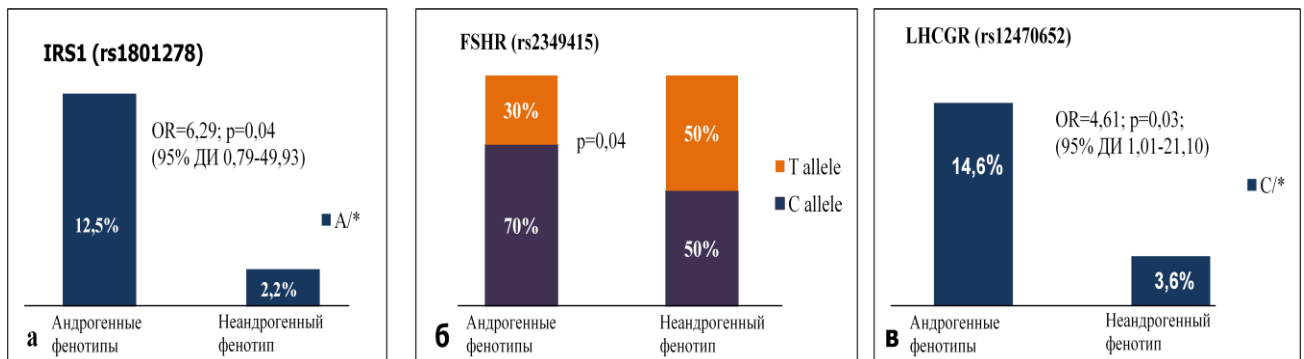
	T/T	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>T</b>	1 (1,0%)	0 (0,0%)		-	-	-	-
<i>FSHR</i> rs148976 413	C/C	34 (97,1%)	6 (100,0%)	<b>C</b>	69 (99,0%)	12 (99,0%)	-	-	-	-	-
	T/C	1 (2,9%)	0 (0,0%)								
	T/T	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>T</b>	1 (1,0%)	0 (0,0%)		-	-	-	-
<i>LHCGR</i> rs124706 52	C/C	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>C</b>	14 (7,0%)	2 (2,0%)	0,0862	-	-	0,27 (0,06-1,25)	0,0768
	T/C	14 (14,6%)	2 (4,4%)								
	T/T	82 (85,4%)	43 (95,6%)	<b>T</b>	178 (93,0%)	88 (98,0%)		3,67 (0,80-16,90)	0,0768	-	-
<i>LHCGR</i> rs134057 28	A/A	46 (88,5%)	15 (100,0%)	<b>C</b>	98 (94,0%)	30 (100,0%)	-	-	-	-	-
	A/G	6 (11,5%)	0 (0,0%)								
	G/G	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>G</b>	6 (6,0%)	0 (0,0%)		-	-	-	-
<i>CYP19A1</i> rs936306	C/C	74 (77,1%)	29 (64,4%)	<b>A</b>	169 (88,0%)	73 (81,0%)	0,1210	0,54 (0,25-1,17)	0,1148	0,46 (0,03-7,58)	0,5805
	T/C	21 (21,9%)	15 (33,6%)								
	T/T	1 (1,0%)	1 (2,2%)	<b>T</b>	23 (12,0%)	17 (19,0%)		2,16 (0,13-35,32)	0,5805	1,86 (0,86-4,02)	0,1148
<i>CYP17A1</i> rs743572	A/A	26 (27,1%)	7 (15,6%)	<b>A</b>	98 (51,0%)	36 (40,0%)	0,0834	0,50 (0,20-1,25)	0,1317	0,60 (0,28-1,30)	0,1949
	A/G	46 (47,9%)	22 (48,9%)								
	G/G	24 (25,0%)	16 (35,6%)	<b>G</b>	94 (49,0%)	54 (60,0%)		1,66 (0,77-3,56)	0,1949	2,02 (0,80-5,08)	0,1317
<i>UCP2</i> rs660339	C/C	32 (33,3%)	9 (20,0%)	<b>C</b>	115 (60,0%)	48 (53,0%)	0,2982	0,50 (0,21-1,16)	0,1041	1,02 (0,36-2,88)	0,9730
	T/C	51 (53,1%)	30 (66,7%)								

	T/T	13 (13,5%)	6 (13,3%)	<b>T</b>	77 (40,0%)	42 (47,0%)		0,98 (0,35-2,78)	0,973 0	2,00 (0,86-4,65)	0,1041	
<i>YAP1</i> rs189411 6	A/A	35 (66,0%)	10 (66,7%)	A	86 (81,0%)	25 (83,0%)	0,7834	1,03 (0,31-3,47)	0,963 7	-	-	
	A/G	16 (30,2%)	5 (33,3%)									
	G/G	2 (3,8%)	0 (0,0%)	<b>G</b>	20 (19,0%)	5 (17,0%)		-	-	0,97 (0,29-3,28)	0,9637	
<i>ATM</i> rs112126 17	A/A	17 (32,1%)	2 (13,3%)	<b>A</b>	62 (58,0%)	15 (50,0%)	0,4074	0,33 (0,07-1,61)	0,153 2	1,16 (0,22-6,13)	0,8649	
	A/G	28 (52,8%)	11 (73,3%)									
	G/G	8 (15,1%)	2 (13,3%)	<b>G</b>	44 (42,0%)	15 (50,0%)		0,87 (0,16-4,59)	0,864 9	3,07 (0,62-15,15)	0,1532	
<i>Rub5B/S</i> <i>UOX</i> rs705702	A/A	15 (30,0%)	4 (28,6%)	A	60 (60,0%)	17 (61,0%)	0,9455	0,93 (0,25-3,45)	0,917 6	1,44 (0,15-13,49)	0,7458	
	A/C	60 (60,0%)	9 (64,3%)									
	C/C	5 (10,0%)	1 (7,1%)	<b>C</b>	40 (40,0%)	11 (39,0%)		0,69 (0,07-6,46)	0,745 8	1,07 (0,29-3,96)	0,9176	
<i>HGMA2</i> rs227204 6	A/A	50 (94,3%)	12 (80,0%)	A	103 (97,0%)	27 (90,0%)	0,0913	0,24 (0,04-1,34)	0,083 8	-	-	
	A/C	3 (5,7%)	3 (20,0%)									
	C/C	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>C</b>	3 (3,0%)	3 (10,0%)		-	-	4,17 (0,75-23,27)	0,0838	
<i>INSR</i> rs205980 7	A/A	12 (22,6%)	3 (20,0%)	A	47 (44,0%)	15 (50,0%)	0,5826	0,85 (0,21-3,53)	0,827 5	2,06 (0,51-8,23)	0,3014	
	A/G	23 (43,4%)	9 (60,0%)									
	G/G	18 (34,0%)	3 (20,0%)	<b>G</b>	59 (56,0%)	15 (50,0%)		0,49 (0,12-1,95)	0,301 4	1,17 (0,28-4,84)	0,8275	
<i>INSR</i> rs381590 2	A/A	1 (1,9%)	1 (6,7%)	A	27 (25,0%)	9 (30,0%)	0,6196	3,71 (0,22-63,19)	0,333 3	1,19 (0,38-3,74)	0,7699	
	A/G	25 (47,2%)	7 (46,7%)									
	G/G	27 (50,9%)	7 (46,7%)	<b>G</b>	79	21		0,84	0,769	0,27	0,3333	

					(75,0%)	(70,0%)		(0,27-2,66)	9	(0,02-4,58)		
<i>THADA</i> rs786354 47	A/A	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>A</b>	2 (2,0%)	2 (7,0%)	0,1713	-	-	3,92 (0,50-30,55)	0,1647	
	A/G	2 (3,8%)	2 (13,3%)									
	G/G	51 (96,2%)	13 (86,7%)	<b>G</b>	104 (98,0%)	28 (93,0%)		0,25 (0,03-1,98)	0,164 7	-	-	
<i>THADA</i> rs124683 94	A/A	11(20,8%)	4 (26,7%)	A	48 (45,0%)	15 (50,0%)	0,6473	1,39 (0,37-5,21)	0,625 8	1,19 (0,33-4,30)	0,7915	
	A/C	26 (49,1%)	7 (46,7%)									
	C/C	16 (30,2%)	4 (26,7%)	<b>C</b>	58 (55,0%)	15 (50,0%)		0,84 (0,23-3,04)	0,791 5	0,72 (0,19-2,70)	0,6258	
<i>THADA</i> rs124786 01	C/C	13 (24,5%)	1 (6,7%)	<b>C</b>	50 (47,0%)	10 (33,0%)	0,1778	0,22 (0,03-1,84)	0,130 9	0,65 (0,20-2,13)	0,4733	
	T/C	24 (45,3%)	8 (53,3%)									
	T/T	16 (30,2%)	6 (40,0%)	<b>T</b>	56 (53,0%)	20 (67,0%)		1,54 (0,47-5,069)	0,473 3	4,55 (0,54-38,02)	0,1309	
<i>ATM</i> rs683369	C/C	37 (69,8%)	134 (86,7%)	<b>C</b>	85 (80,0%)	27 (90,0%)	0,2133	2,81 (0,57-13,92)	0,191 4	1,46 (0,16-13,54)	0,7386	
	C/G	11(20,8%)	1 (6,7%)									
	G/G	5 (9,4%)	1 (6,7%)	<b>G</b>	21 (20,0%)	3 (10,0%)		0,69 (0,07-6,36)	0,738 6	0,36 (0,07-1,76)	0,1914	
<i>OCT1</i> rs628203 1	A/A	18 (36,0%)	30 (20,0%)	A	56 (56,0%)	13 (43,0%)	0,2227	0,44 (0,11-1,79)	0,245 1	0,63 (0,18-2,21)	0,4706	
	A/G	20 (40,0%)	7 (46,7%)									
	G/G	12 (24,0%)	5 (33,3%)	<b>G</b>	44 (44,0%)	17 (57,0%)		1,58 (0,45-5,55)	0,470 6	2,25 (0,56-9,09)	0,2451	
<i>OCT1</i> rs341304 95	A/A	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>A</b>	2 (3,0%)	0 (0,0%)	-	-	-	-	-	
	A/G	2 (5,7%)	0 (0,0%)									
	G/G	33 (94,3%)	6 (100,0%)	<b>G</b>	68 (97,0%)	12 (100,0%)		-	-	-	-	
<i>OCT1</i>	T/T	2 (5,7%)	0 (0,0%)	<b>T</b>	10	2 (17,0%)	0,8292	-	-	1,69	0,5808	

rs725527 63					(14,0%)					(0,26-10,97)	
	TGAT/T	6 (17,1%)	2 (33,3%)								
	TGAT/ TGAT	27 (77,1%)	4 (66,7%)	TGAT	60 (86,0%)	10 (83,0%)		0,59 (0,09-3,85)	0,580 8	-	-
<i>OCT1</i> rs113569 197	A/A	8 (22,9%)	2 (33,3%)	A	31 (44,0%)	7 (58,0%)	0,3672	1,69 (0,26-10,97)	0,580 8	2,61 (0,27-24,94)	0,3914
	A/Del	15 (42,9%)	3 (50,0)								
	Del/Del	12 (34,3%)	1 (16,7)	Del	39 (56,0%)	54 (42,0%)		0,38 (0,04-3,66)	0,391 4	0,59 (0,09-3,85)	0,5808
<i>C9orf3</i> rs438552 7	A/A	10 (18,9%)	1 (6,7%)	A	45 (42,0%)	11 (37,0%)	0,5696	0,31 (0,04-2,62)	0,257 2	1,03 (0,31-3,47)	0,9637
	A/G	25 (47,2%)	9 (60,0%)								
	G/G	18 (34,0%)	5 (33,3%)	G	61 (58,0%)	19 (63,0%)		0,97 (0,29-3,28)	0,963 7	3,26 (0,38-27,74)	0,2572
<i>DENND1</i> A Rs108188 54	A/A	1 (1,9%)	0 (0,0%)	A	13 (12,0%)	4 (13,0%)	0,8757	-	-	1,24 (0,33-4,62)	0,7455
	A/G	11(20,8%)	4 (26,7%)								
	G/G	41 (77,4%)	11 (73,3%)	G	93 (88,0%)	26 (87,0%)		0,80 (0,22-2,99)	0,745 5	-	-
<i>DENND1</i> A rs247910 6	A/A	19 (36,5%)	3 (23,1%)	A	60 (60,0%)	13 (50,0%)	0,3747	0,52 (0,13-2,13)	0,358 9	0,70 (0,16-3,05)	0,6315
	A/G	24 (46,2%)	7 (53,8%)								
	G/G	9 (17,3%)	3 (23,1%)	G	40 (40,0%)	13 (50,0%)		1,43 (0,33-6,28)	0,631 5	1,92 (0,47-7,85)	0,3589

На рисунке 21а представлено распределение генотипов *IRS1* rs1801278 среди женщин с фенотипом А и фенотипом D. Установлена аутосомно-доминантная модель наследования, ( $p=0,0492$ ; ОШ=6,29 (95% ДИ 0,79-49,93)). Носительство аллеля А увеличивает риск развития СПКЯ в 6,3 раза.



**Рис.21.** Молекулярно-генетические предикторы андрогенных фенотипов СПКЯ.

а) Частота носительства аллеля А гена *IRS1* rs1801278 в группах с фенотипами А и D. б) Распределение аллелей гена *FSHR* (rs2349415) в подгруппах с фенотипами А и D. в) Частота генотипа C/T гена *LHCGR* (rs12470652) в подгруппах с фенотипами А и D.

На рисунке 21б представлено распределение аллелей С и Т гена *FSHR* rs2349415 среди женщин с фенотипом А и фенотипом D. Объем выборки не позволил установить статистически значимых различий по частоте генотипов, в связи с чем не предположена модель наследования. Однако частота аллеля С значительно превышала частоту аллеля Т в подгруппе с фенотипом А по сравнению с фенотипом D ( $p=0,0439$ ).

При сравнении фенотипа А с фенотипом D выявлены различия в частоте полиморфного локуса *LCHR* rs12470652. Установлена аутосомно-доминантная модель наследования ( $p=0,0328$ ; ОШ=4,61 (95% ДИ 1,01-21,10)). Носительство аллеля С увеличивает риск формирования классического андрогенного



фенотипа в 4,61 раз. Распределение генотипов *LHCGR* rs12470652 среди женщин с классическим андрогенным фенотипом А и женщин с фенотипом D представлено на рисунке 21в.

Таким образом, СПКЯ является мультигенным заболеванием. Проведенное исследование позволило выявить 6 генов, ассоциированных с повышенным риском развития СПКЯ. Носительство каждого из вариантных аллелей и генотипов увеличивает шанс развития синдрома в 2,5-5 раз. Для некоторых из локусов уже известна ассоциация с нарушением углеводного обмена (*THADA*, *RAB5B*, *SUOX*) или фолликулогенеза (*DENND1A*, *Yap1*), значение некоторых в генезе СПКЯ еще предстоит выяснить (*SLCO1B1*). Для 3 из указанных выше полиморфных локусов установлена ассоциация с формированием андрогенного фенотипа. Это может указывать на их роль в нарушении стероидогенеза как ключевого фактора формирования ГА при СПКЯ. На основе полученных результатов возможна разработка шкалы индивидуального риска развития СПКЯ и последующее проведение популяционного скрининга, в особенности среди подростков и у женщин со стертыми формами синдрома.

### **Заключение:**

СПКЯ манифестируется 4 репродуктивными фенотипами, при этом классический фенотип А диагностируется в каждом 2-м случае, неандрогенный фенотип D – в каждом 3-м случае, соответственно неполные андрогенные фенотипы синдрома (В и С) встречаются достаточно редко. Пациентки с классическим андрогенным фенотипом А на фоне более высоких уровней ЛГ и АМГ имеют наиболее выраженные нарушения менструального цикла в виде более длительных задержек менструация и большей частоты аменореи, по сравнению с другими фенотипами СПКЯ. Проведенное исследование метаболических рисков показало более высокую частоту НТГ, ИР, ГИ, скрытого ожирения и гипоальфалипидемии у пациенток с фенотипом А по сравнению с фенотипами С и D. Анализ частоты генотипов среди пациенток с ГА и без позволил установить ассоциацию с формированием андрогенного

фенотипа для 3 выше полиморфных локусов (*IRS1* (rs1801278), *FSHR* (rs2349415), *LHCGR* (rs12470652)). Ассоциация полиморфизма данных генов с классическим андрогенным фенотипом может указывать на ведущий вклад дисфункции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси, ИР в формирование ГА и овуляторной дисфункции.

### **3.4. Коррекция эндокринно-метаболических нарушений метформином**

Гетерогенность СПКЯ, неоднозначность исходов негормональной терапии у данной категории больных обосновывают целесообразность изучения терапевтических эффектов МФ и возможных путей персонализации лечения. В связи с этим проведено исследование, в рамках которого было оценено влияние МФ на гормональный профиль, углеводный обмен, липидный спектр и показатели композиционного состава тела женщин с СПКЯ, а также взаимосвязь восстановления ритма менструаций с исходными клинико-лабораторными параметрами. Шестимесячный курс терапии МФ в суточной дозе 1500 мг был рекомендован 143 женщинам с СПКЯ, эффективность оценена у 132 (ср.возраст  $26,4 \pm 4,6$  лет, ИМТ –  $23,8 \pm 4,8$  кг/м<sup>2</sup>). Выбыли из исследования 11 женщин: 7 - исключены в виду низкой комплаентности, 4 – в связи с нежелательными эффектами (тошнота, диарея - 3 случая, обострение экземы – 1). Клиническая характеристика пациенток, получавших терапию МФ, представлена в таблице 23.

Клинический эффект терапии оценивался по регуляции менструального цикла (более 10 менструаций в пересчете на год) и наступлению беременности у женщин в ней заинтересованных. При отсутствии регуляции ритма менструаций, терапия считалась неэффективной. Полный эффект от терапии был достигнут у 70 (53,1%) пациенток, у 33 (25,0%) из них наступила беременность. В связи с этим они были исключены из анализа динамики гормональных показателей на фоне терапии МФ. Частичный эффект от лечения был получен у 14 (10,6%) пациенток, 48 (36,3%) на лечение не ответили, сохранялась олигоменореи и ановуляция.

**Таблица 23. Клиническая характеристика пациенток, получавших терапию МФ (n=143).**

<b>Показатель</b>	<b>Значение</b>
Возраст, лет	26,4±4,6
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	23,8±4,8
Ожирение, %	17 (11,9%)
Избыточная масса тела, %	27 (18,9%)
Длительность бесплодия, лет	3,7±2,8
Задержки до 1 мес	25 (21,2%)
Задержки до 3 мес	40 (33,9%)
Задержки до 6 мес	30 (25,4%)
Задержки более 6 мес	23 (19,5%)
Объем правого яичника, см <sup>3</sup>	16,2±6,6
Объем левого яичника, см <sup>3</sup>	15,4±4,9
Фенотип А	90 (62,9%)
Фенотип В	4 (2,8%)
Фенотип С	7 (4,9%)
Фенотип Д	42 (29,4%)
АМГ, нг/мл	14,4±9,8
ЛГ, мЕд/мл	11,8±4,8
ФСГ, мЕд/мл	5,3±1,8
Т общ, нмоль/л	2,1±0,8
Т свободный, нг/мл	4,4±2,9
Андростендион, нмоль/л	20,6±8,2
ИСА	5,7±4,0
ПССГ, нмоль/мл	46,1±22,9
Глюкоза натощак, нг/мл	5,2±0,7
Глюкоза через час, нг/мл	7,5±2,0
Глюкоза через 2 часа, нг/мл	5,9±1,4
Инсулин натощак, мкЕд/мл	11,2±6,8
Инсулин через час, мкЕд/мл	60,4±28,7
Инсулин через 2 часа, мкЕд/мл	52,3±39,9
НОМА-ИР	2,9±1,8
НТГ, %	32 (22,4%)
ГИ, %	45 (31,5%)
ИР, %	46 (32,2%)
Общая жировая ткань, %	37,8±8,7
Андронидный жир, %	43,3±10,9
Гиноидный жир, %	44,4±6,4
Индекс А/G	0,96±0,10

*\*Данные представлены как ср арифм или проценты (подробнее см. в тексте)*

После завершения 6-месячного курса терапии МФ проведен контроль клинико-лабораторных показателей, в частности повторное исследование гормонального профиля, ГТТ с оценкой уровня инсулина, оценка композиционного состава тела. Результаты по общей группы больных, завершивших 6-месячный курс терапии МФ, представлены в Таблице 24.

**Таблица 24. Динамика основных клинико-лабораторных показателей на фоне терапии метформином.**

Клинико-лабораторные показатели	Пациенты, завершившие 6-месячный курс терапии (n=85)		
	До терапии	После терапии	Статистическая значимость изменения показателя, P
АМГ, нг/мл	16,3±10,9	14,4±7,4	<b>0,031</b>
ЛГ, мЕд/мл	12,6±5,6	10,0±4,1	<b>0,008</b>
ФСГ, мЕд/мл	5,4±1,7	5,1±1,6	0,087
Т общий, нмоль/л	2,1±1,3	1,7±0,9	0,061
Т свободный, нг/мл	4,5±3,4	4,3±2,5	0,232
Андростендион, нмоль/л	21,9±12,8	18,1±11,3	<b>0,001</b>
ИСА	7,3±4,6	5,7±4,1	<b>0,002</b>
ПССГ, нмоль/мл	41,7±20,2	50,8±15,3	<b>0,043</b>
Глюкоза натощак, нг/мл	5,1±0,8	5,0±0,8	0,160
Глюкоза через час, нг/мл	7,3±1,9	7,6±2,5	0,794
Глюкоза через 2 часа, нг/мл	6,0±1,4	6,2±1,4	0,627
Инсулин натощак, мкЕд/мл	10,9±6,5	9,2±4,7	<b>0,017</b>
Инсулин через час, мкЕд/мл	86,7±51,3	68,8±40,3	0,297
Инсулин через 2 часа, мкЕд/мл	56,1±43,2	51,0±38,7	0,521
НТГ, %	21 (24,7%)	19 (22,3%)	0,727
ИР, %	28 (32,9%)	20 (23,5%)	<b>0,036</b>
ГИ, %	26 (30,5%)	23 (27,1%)	0,461
ИР (НОМА>2,5)	2,5±1,5	2,1±1,0	<b>0,002</b>
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	25,4±6,3	24,5±5,2	0,228
Индекс А/G	0,95±0,31	0,89±0,22	<b>0,023</b>
Общий жир, %	39,9±16,0	38,6±14,2	0,669

*\*Данные представлены как ср арифм или проценты (подробнее см. в тексте)*

По завершении 6-месячного курса терапии МФ не установлено значительного снижения ИМТ, снижение массы тела отметили 53 (62,3%) из 85 пациенток с СПКЯ, в среднем на  $3,4 \pm 1,1$  кг. Оценка динамики показателей гормонального профиля показала снижение ЛГ на 20,6% ( $p < 0,05$ ) и АМГ на 11,6% ( $p < 0,05$ ) от исходного уровня (рис. 22). Среди андрогенов наиболее существенным оказалось снижение уровня А4 – на 17,3% ( $p < 0,05$ ). Уровень Тобщ снизился в среднем на 19,0%, однако динамика оказалась статистически не значимой ( $p > 0,05$ ). Повышение уровня ПССГ на 21,8% ( $p < 0,05$ ) от исходного уровня привело к снижению среднего значения ИСА – на 21,9% по сравнению со стартовыми показателями ( $p < 0,05$ ). Терапия МФ способствовала улучшению метаболического профиля пациенток, что отразилось в снижении уровня инсулина натощак на 13,2%, индекса НОМА на 12,5%, частоты ИР на 9,4%, индекса А/G 6,3% ( $p < 0,05$ ). Средние значения уровня глюкозы натощак и на фоне ГТТ, а также частота НТГ и ГИ не претерпели значительных изменений ( $p > 0,05$ ).



**Рис.22.** Динамика основных показателей гормонального профиля на фоне 6 месяцев терапии метформином.

В целом, на фоне терапии беременность наступила у 33 из 88 женщин, в ней заинтересованных, что составило 37,5%. В течение первых 3-х месяцев терапии беременность наступила в 87,9% случаев. В 15,1% случаев беременность закончилась самопроизвольным выкидышем до 12 недель гестации, в 3% –

фармацевтическим абортom по желанию женщины, в 3% – имела место трубная беременность. Закончились родами 22 беременности. Анализ гестационных осложнений показал, что у 4 (12,1%) женщин была диагностирована ИЦН, потребовавшая хирургической коррекция. ГСД развился у 4 (12,1%) беременных, гестационная артериальная гипертензия у 3 (9%), умеренная преэклампсия у 2 (6%) беременных. Средняя прибавка массы тела за беременность составила  $14,4 \pm 6,7$  кг. Роды через естественные родовые пути произошли у 15 (68,2%) женщин, путем операции кесарево сечение - у 7. Из них в 2-х случаях в связи с гипоксией плода в родах, в 2-х – с рубцом на матке после предшествующего кесарева сечения, в 2 – с тазовым предлежанием плода, в 1 - с миопией высокой степени. Рождены 22 живых ребенка с оценкой по шкале Апгар 7-9 баллов, средним весом  $3277,8 \pm 387$  г, из них один с массой тела 4140 г, один - 2246 г (рожден на 34 неделе гестации). Осложнений в послеродовом и раннем неонатальном периоде не было, дети выписаны домой на 5-7 сутки в удовлетворительном состоянии, один ребенок направлен на 2й этап выхаживания.

Актуальным представляется вопрос о выборе целевой группы пациентов для лечения ИС. Следует отметить, что эффективность МФ варьирует в широких пределах и не всегда определяется наличием ГИ или ожирения. На первом этапе поиска клинико-лабораторных предикторов эффективности МФ для коррекции овуляторной дисфункции проведен сравнительный анализ пациенток с восстановлением ритма менструаций (n=70) и без эффекта (n=48). Из анализа были исключены 14 (10,6%) пациенток с частичным эффектом от лечения. Характеристика пациенток обеих подгрупп представлена в Таблице 25.

**Таблица 25. Клинико-лабораторная характеристика пациенток с эффектом и без эффекта от терапии МФ.**

Показатель	Полный эффект, n=70	Без эффекта, n=48	P
Возраст	$26,8 \pm 4,8$	$26,0 \pm 4,0$	$p > 0,05$
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	$25,4 \pm 6,4$	$25,4 \pm 6,1$	$p > 0,05$

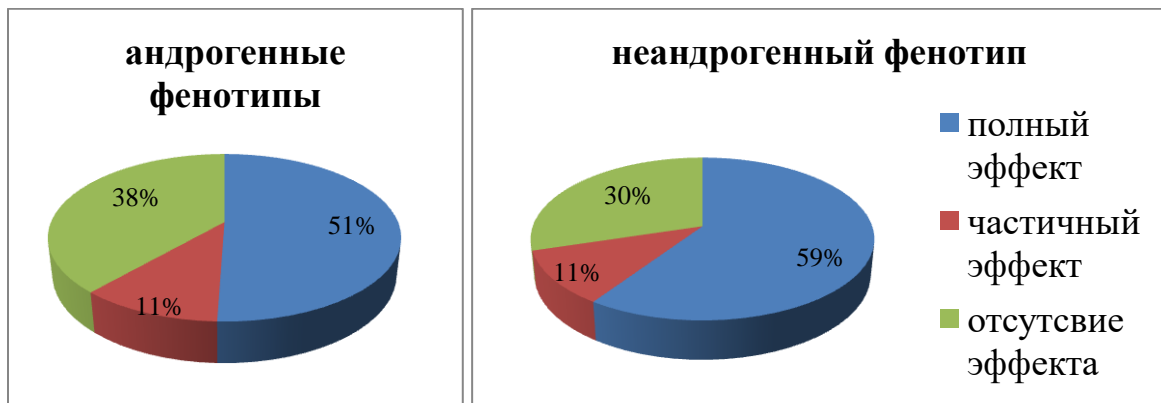
Ожирение, %	10 (14,3%)	6 (12,5%)	p>0,05
Избыточная масса тела, %	14 (20,0%)	8 (16,7%)	p>0,05
Длительность бесплодия, лет	3,4±2,4	4,2±2,8	p>0,05
Задержки до 1 мес	17 (24,2)	8 (16,7)	p>0,05
Задержки до 3 мес	27 (38,6)	13 (27,1)	p>0,05
Задержки до 6 мес	13 (18,6)	17 (35,4)	p>0,05
Задержки более 6 мес	13 (18,6)	10 (20,8)	p>0,05
Объем правого яичника, см <sup>3</sup>	15,4±4,9	16,8±6,6	P>0,05
Объем левого яичника, см <sup>3</sup>	14,4±4,4	16,0±6,0	P>0,05
АМГ, нг/мл	12,5±7,3	18,8±11,5	P<0,05
ЛГ, мЕд/мл	11,1±6,4	12,0±4,4	P>0,05
ФСГ, мЕд/мл	5,6±1,5	5,2±1,6	P>0,05
Т общий, нмоль/л	1,9±0,9	2,2±0,8	P<0,05
Т свободный, нг/мл	3,9±2,3	4,2±3,5	P>0,05
Андростендион, нмоль/л	19,5±9,3	20,3±9,8	P>0,05
ИСА	5,2±3,2	7,1±9,2	P>0,05
ПССГ, нмоль/мл	46,5±22,0	43,1±18,2	P>0,05
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,2±0,5	5,1±0,7	P>0,05
Глюкоза через 1 час, ммоль/л	7,4±2,0	7,4±1,8	P>0,05
Глюкоза через 2 часа, ммоль/л	5,8±1,2	6,0±1,1	P>0,05
Инсулин натощак, мкЕд/мл	10,4±6,5	10,9±6,6	P>0,05
Инсулин через час, мкЕд/мл	75,0±44,2	85,6±61,5	P>0,05
Инсулин через 2 часа, мкЕд/мл	48,8±28,9	53,0±43,8	P>0,05
НОМА	2,4±1,4	2,4±1,6	P>0,05
НТГ	13 (18,6%)	10 (20,8%)	p>0,05
ГИ	20 (28,6%)	12 (25%)	p>0,05
ИР (НОМА>2,5)	27 (38,6%)	14 (29,2%)	p>0,05
Андронидный жир, %	40,9±11,0	46,8±8,2	P<0,05
Гиноидный жир, %	43,7±6,6	45,4±5,6	p>0,05
Индекс А/Г	0,92±0,07	1,03±0,12	P<0,05
Общая жировая ткань, %	36,5±8,6	39,6±6,8	p>0,05
Туловище	37,4±9,9	42,7±7,5	P<0,05
Фенотип А	40 (57,1%)	34 (70,8%)	p>0,05
Фенотип В	2 (3%)	1 (2%)	p>0,05
Фенотип С	5 (7%)	2 (4%)	p>0,05
Фенотип D	23 (32,9%)	11 (22,9%)	p>0,05

P<0,05, t-критерий Стьюдента; P<0,05,  $\chi^2$  (критерий Фридмана)

Согласно представленным в таблице данным по возрасту, ИМТ, частоте ожирения и избыточной массы тела, длительности бесплодия, а также по характеру менструального цикла различий между подгруппами не было ( $p > 0,05$ ). У пациенток с полным эффектом от терапии выявлены более низкие исходные уровни Тобщ и АМГ ( $p < 0,05$ ). Исходный уровень АМГ в группе без регуляции ритма менструаций был выше на 50,4% ( $p < 0,05$ ), а уровень Тобщ - на 15,8% по сравнению с женщинами, ответившими на терапию ( $p < 0,05$ ). Содержание Тобщ в сыворотке крови не превышало установленных нормативных показателей у 70% ( $n=49$ ) пациенток с полным эффектом и у 45,8% ( $n=22$ ) пациенток без эффекта ( $p < 0,05$ ). Уровень АМГ был выше порогового (5,2 нг/мл) у 95,7% ( $n=67$ ) женщин 1-й группы и 95,8% ( $n=46$ ) 2-й ( $p > 0,05$ ). Несмотря на то, что основное терапевтическое действие МФ гипогликемическое за счет восстановления чувствительности тканей к инсулину, среди исследуемых подгрупп не установлено различий по уровню глюкозы натощак и на фоне ГТТ, а также по частоте НТГ, ИР и ГИ ( $p > 0,05$ ). Согласно результатам композиционного состава тела пациентки с восстановлением ритма менструаций отличались от пациенток без эффекта более низким процентом андроида жира и более низким значением индекса A/G, отражающим преимущественный характер отложения жировой массы ( $p < 0,05$ ). Не выявлено различий по проценту общей жировой массы ( $p > 0,05$ ). Различия в гормональном профиле пациенток с регуляцией ритма менструаций и без на фоне терапии МФ позволили предположить наличие взаимосвязи исхода лечения с фенотипом синдрома, однако указанные подгруппы не различались по частоте фенотипов А (ГА + О + ПКЯ), В (ГА + О), С (ГА + ПКЯ) и Д (О + ПКЯ) ( $p > 0,05$ ). Также проведенный анализ эффективности терапии в зависимости от наличия ГА (фенотипы А + В + С в сравнении с фенотипом D) не показал различий по частоте восстановления ритма менструаций ( $p > 0,05$ ). Таким образом восстановление регулярного ритма менструаций было достигнуто примерно у каждой 2-й пациентки, не зависимо от фенотипа СПКЯ, частичный эффект (увеличения числа менструаций) - у каждой десятой пациентки



(рис.23). Терапия оказалась неэффективной у 38% пациенток с ГА группы и у 30% без ГА ( $p>0,05$ ).



**Рис.23.** Влияние метформина на характер менструального цикла у пациенток с СПКЯ в зависимости от наличия гиперандрогении.

**Таблица 26.** Динамика показателей на фоне терапии МФ.

Клинико-лабораторные показатели	полный эффект (n=37)			нет эффекта (n=48)		
	До	После	Статистическая значимость изменения показателя, P	До	После	Статистическая значимость изменения показателя, P
АМГ, нг/мл	13,1±7,1	10,2±5,2	<b>0,021</b>	18,8±11,5	17,7±8,3	0,034
ЛГ, мЕд/мл	13,27±6,2	9,216±4,1	0,066	12,0±4,4	10,6±4,2	0,417
ФСГ, мЕд/мл	5,4±1,7	4,9±1,3	0,162	5,2±1,6	5,3±1,7	0,991
Т общий, нмоль/л	1,9±1,5	1,4±0,9	<b>0,002</b>	2,2±0,8	2,0±0,7	0,422
Т свободный, нг/мл	4,9±3,2	4,6±2,7	0,707	4,2±3,5	3,7±2,1	0,435
Андростендион, нмоль/л	24,0±14,3	17,6±11,8	<b>0,006</b>	20,3±9,8	18,5±10,4	0,279
ИСА	7,6±4,9	4,7±3,1	<b>0,002</b>	7,1±4,2	6,5±4,4	0,747
ПССГ, нмоль/мл	40,0±20,2	53,5±15,3	<b>0,02</b>	43,1±18,2	48,7±19,8	0,409
Глюкоза натощак, нг/мл	5,2±0,8	5,0±0,6	0,160	5,1±0,7	5,1±0,9	0,576
Глюкоза через час, нг/мл	7,2±2,0	8,1±2,5	0,110	7,4±1,8	7,2±2,2	0,794
Глюкоза через 2 часа, нг/мл	5,7±1,4	6,3±1,8	0,127	6,0±1,1	6,2±0,9	0,352
Инсулин натощак, мкЕд/мл	11,0±5,9	9,7±4,5	0,082	10,9±6,6	9,8±5,3	0,251
Инсулин через час, мкЕд/мл	88,2±6,4	67,7±39,3	0,097	85,6±61,5	69,8±43,6	0,721
Инсулин через 2 часа, мкЕд/мл	56,3±45,2	49,8±31,7	0,521	56,0±43,8	52,0±40,1	0,720
ИР(НОМА>2,5)	2,6±1,2	2,2±1,0	0,063	2,4±1,6	2,3±0,8	0,259
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	25,4±6,4	24,5±5,2	0,228	25,4±6,1	24,5±5,6	0,155

Индекс А/Г	0,95±0,31	0,88±0,22	<b>0,044</b>	0,96±0,2	0,89±0,21	0,160
Общийжир,%	40,3±16,1	39,6±14,2	0,669	39,6±15,8	37,9±14,2	0,191
Туловище, жировая ткань,%	39,3±21,2	36,2±17,3	0,153	42,5±17,2	35,2±10,4	0,114

t-критерий для парных выборок.

Средние уровни ЛГ и ФСГ на фоне терапии МФ значительно не изменились ( $p>0,05$ ). В обеих группах наблюдалось значительное снижение уровня АМГ ( $p<0,05$ ). В группе с полным эффектом от терапии средний уровень АМГ снизился с  $13,1\pm 7,1$  нг/мл до  $10,2\pm 5,2$  (на 22,1%), в группе без эффекта - с  $18,8\pm 11,5$  нг/мл до  $17,7\pm 8,3$  нг/мл (на 5,8%). Статистически значимое снижение средних уровней Тобщ, А, ИСА и повышение среднего уровня ПССГ прослеживалось только в группе с регуляцией менструального цикла. Так, например, уровень Тобщ снизился на 26,3%, А – на 26,7%, уровень ПССГ повысился на 33,5%. Это привело к снижению ИСА с 7,6 до 4,7 ( $p<0,05$ ). В группе женщин, не ответивших на терапию, показатели оставались без существенной динамики (таблица 26).

Оценка показателей углеводного обмена указывает на то, что уровень глюкозы, инсулина, частота НТГ, ИР и ГИ на фоне терапии МФ существенно не изменились в обеих подгруппах ( $p>0,05$ ). Анализ показателей денситометрии в общей группе выявил снижение содержания андройдного жира (%), а также индекса А/Г ( $p<0,05$ ). Однако после деления на группы, отмечалось лишь снижение индекса А/Г в группе пациенток, ответивших на терапию.

### 3.5. Предикторы эффективности терапии метформином при СПКЯ

С целью прогнозирования эффективности терапии был проведен ROC-анализ показателей, по которым были выявлены межгрупповые различия (АМГ, Тобщ, процент андройдного жира и жира на туловище, индекс А/Г, рис.1а,б). Наибольшую прогностическую значимость показал уровень АМГ, площадь под кривой - 0,705 (ДИ 0,604 – 0,806). Для Тобщ это значение составило - 0,622 (ДИ 0,518-0,726). Среди показателей денситометрии площадь под кривой для индекса А/Г - 0,698 (ДИ 0,571-0,825, для андройдного жира - 0,655 (ДИ 0,522-0,787), что несколько уступает по прогностической мощи индексу А/Г.

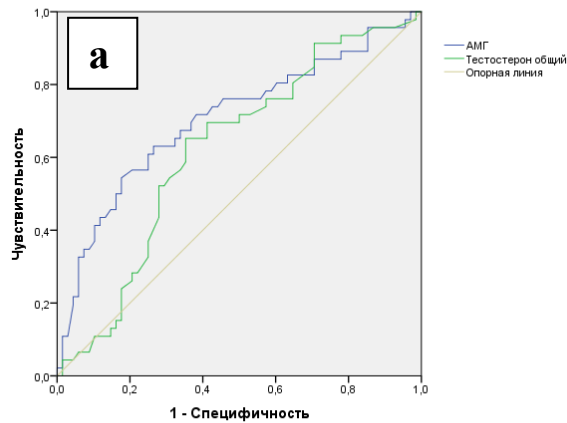


рис.1а

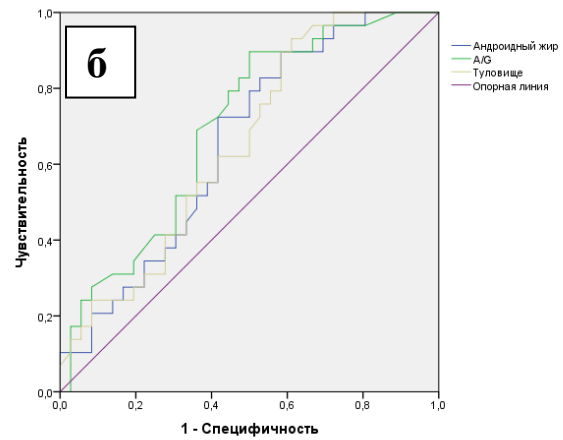


рис.1б

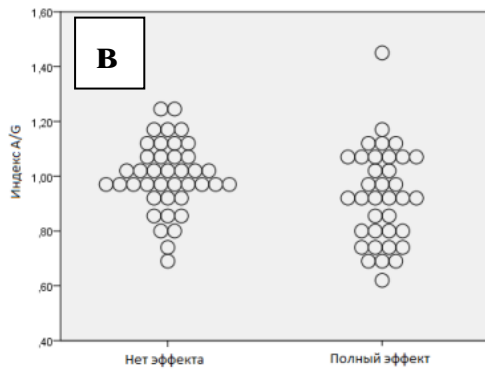


Рис 1.с

**Рис.24.** ROC-анализ зависимости регуляции менструального цикла от: а) уровня АМГ и общего тестостерона; б) показателей денситометрии; в) распределение индекса А/Г в зависимости от терапевтического эффекта МФ (0-группа без эффекта от терапии, 1- группа с эффектом от терапии).

Полученные пороговые уровни для анализируемых показателей, а также чувствительность и специфичность представлены в Таблице 27.

**Таблица 27. ROC-анализ: Значимость некоторых гормональных параметров и показателей композиционного состава тела для предикции эффективности терапии МФ.**

Показатель	AUC	Доверительный	Пороговый	чувствительность	специфичность
------------	-----	---------------	-----------	------------------	---------------

		интервал	уровень		
АМГ, нг/мл	0,705	0,599-0,807	13,3	67%	66%
Тобщ, нг/мл	0,622	0,518-0,726	1,81	65%	65%
Андройдный жир, %	0,655	0,522-0,787	36,9%	90%	42%
Туловище, %	0,654	0,522-0,786	31,3%	96,6%	33,3%
Индекс А/Г	0,698	0,571-0,825	0,90	90%	50%

При рассмотрении взаимосвязи между частотой восстановления ритма менструаций и индексом распределения жировой массы А/Г (рисунке 24в), были выявлены следующие закономерности. Из 25 женщин с  $A/G \leq 0,9$  терапия оказалась эффективной у 22 (88%) женщин. В то время, как в подгруппе с  $A/G > 0,9$  восстановление регулярного ритма менструаций было достигнуто лишь у 18 (35,3%) женщин, у 6 (11,8%) наблюдалась частичная регуляция цикла и у 27 (52,9%) – терапия была неэффективной. Анализ гормональных показателей в подгруппе с индексом  $A/G > 0,9$  показал значительные различия по уровню АМГ. Его средние значения среди женщин, не ответивших на терапию, составили  $18,1 \pm 8,2$  нг/мл, среди ответивших –  $9,6 \pm 6,2$  нг/мл ( $p < 0,05$ ). По данным ROC-анализа чувствительность и специфичность метода при пороговом уровне АМГ равном 9,6 нг/мл ( $AUC = 0,726$ ) в подгруппе женщин с  $A/G > 0,9$  составили 77,8% и 54,5% соответственно.

Таким образом, прогнозирование ответа на терапию МФ возможно на основе оценки исходных уровней АМГ, Тобщ и показателей денситометрии жировой ткани (процент андройдного жира и жира на туловище, индекс А/Г). Пороговые значения этих показателей, представленные в таблице 27, позволяют выделить пациенток, у которых терапия МФ вероятно будет наиболее эффективной. Проведение многофакторного анализа методом логарифмической регрессии не позволило выявить комбинацию клинико-лабораторных факторов, определяющих терапевтический исход, в связи с чем следующим этапом стало

проведение сравнительного анализа результатов молекулярно-генетического исследования.

### **Генетические маркеры эффективности терапии СПКЯ метформином**

С целью оптимизации подходов к терапии СПКЯ и повышения ее эффективности был проведен поиск возможных молекулярно-генетических предикторов ее эффективности путем анализа распределения частоты аллелей и генотипов пациенток с СПКЯ с полным ответом на терапию и с его отсутствием по 42 локусам, ассоциированным с нарушением биосинтеза андрогенов, фолликулогенеза и углеводного обмена. Некоторые из представленных генов ассоциированы согласно результатам ранее проведенных исследований с эффективностью МФ при СД2 и СПКЯ. Установлена значимая ассоциация для 4 полиморфных локусов с регуляцией менструального ритма: *SLCO1B1* (rs4149056), *ACE* (rs4340), *FSHR* (rs2349415), *OCT1* (rs113569197). Результаты представлены в таблице 28.

Таблица 28. Ассоциация полиморфизма генов с эффективностью терапии метформином.

Ген	Гернотип	Без эффекта, n (%)	Полный эффект, n (%)	Генотипическая частота аллелей				Аутосомно- рецессивная модель		Аутосомно- доминантная модель	
				Аллель	Без эффекта, n (%)	Полный эффект, n (%)	Распре- деление аллелей $\chi^2_{\text{тест, р}}^*$	ОШ	$\chi^2_{\text{тест, р}}$	ОШ	$\chi^2_{\text{тест, р}}^*$
<i>CYP2C9</i> rs1057910	A/A	42 (93,3%)	65 (92,9%)	<b>A</b>	87 (97,0%)	135 (96,0%)	0,9233	0,93 (0,21-4,09)	0,921 9	-	-
	A/C	3 (6,7%)	5 (7,1%)								
	C/C	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>C</b>	3 (3,0%)	5 (4,0%)		-	-	1,08 (0,24- 4,75)	0,9219
<i>CYP2C9</i> rs1799853	C/C	37 (82,2%)	55 (78,6%)	<b>C</b>	81 (90,0%)	125 (89,0%)	0,8627	0,79 (0,31-2,06)	0,632 8	-	-
	T/C	7 (15,6%)	15 (21,4%)								
	T/T	1 (2,2%)	0 (0,0%)	<b>T</b>	9 (10,0%)	15(11,0%)				1,26 (0,49-3,27)	0,6328
<i>SLCO1B1</i> rs414905 <b>6</b>	C/C	<b>2 (4,4%)</b>	<b>9 (12,9%)</b>	<b>C</b>	<b>15 (17,0%)</b>	<b>42 (30,0%)</b>	<b>0,0222</b>	<b>3,17 (0,65-15,42)</b>	<b>0,134 3</b>	<b>2,20 (0,99-4,87)</b>	<b>0,0511</b>
	T/C	<b>11 (24,4)</b>	<b>24 (34,3%)</b>								
	T/T	<b>32 (71,1%)</b>	<b>37 (52,9%)</b>	<b>T</b>	<b>72 (83,0%)</b>	<b>98 (70,0%)</b>		<b>0,46 (0,21-1,01)</b>	<b>0,051 1</b>	<b>0,32 (0,06-1,59)</b>	<b>0,1343</b>
<i>SLCO1B1</i> rs7903146	C/C	27 (60,0%)	38 (54,3%)	<b>C</b>	71 (79,0%)	104 (74,0%)	0,4244	0,79 (0,37-1,69)	0,546 3	0,38 (0,04-3,47)	0,3701
	T/C	17 (37,8%)	28 (40,0%)								
	T/T	1 (2,2%)	4 (5,7%)	<b>T</b>	19 (21,0%)	36 (26,0%)		2,67 (0,29-24,66)	0,370 1	1,26 (0,59-2,70)	0,5463
<i>SLCO1B1</i> rs1225537	G/G	29 (64,4%)	42 (60,0%)	<b>G</b>	73 (81,0%)	108 (77,0%)	0,4731	0,83 (0,38-1,80)	0,632 2	0,38 (0,04-3,47)	0,3701

2	G/T	15 (33,3%)	24 (34,3%)								
	T/T	1 (2,2%)	4 (5,7%)	<b>T</b>	17 (19,0%)	21 (23,0%)		2,67 (0,29-24,66)	0,370 1	1,21 (0,56-2,62)	0,6322
<i>PPARGC1A</i> rs8192678	A/A	6 (13,3%)	12 (17,1%)	<b>A</b>	33 (37,0%)	61 (44,0%)	0,2985	1,34 (0,47-3,88)	0,583 1	1,56 (0,71-3,41)	0,2689
	A/G	21 (46,7%)	37 (52,9%)								
	G/G	18 (40,0%)	21 (30,0%)	<b>G</b>	57 (63,0%)	79 (56,0%)			0,64 (0,29-1,41)	0,268 9	0,74 (0,26-2,15)
<i>IL1B</i> rs1143627	C/C	7 (15,6%)	6 (8,6%)	<b>C</b>	29 (32,0%)	46 (33,0%)	0,9201	0,51 (0,16-1,63)	0,248 3	1,39 (0,66-2,96)	0,3861
	T/C	15 (33,3%)	34 (48,6%)								
	T/T	23 (51,1%)	30 (42,9%)	<b>T</b>	61 (68,0%)	94 (67,0%)			0,72 (0,34-1,52)	0,386 1	1,96 (0,61-6,28)
<i>AGTR1</i> rs5186	A/A	22 (48,9%)	42 (60,0%)	<b>A</b>	65 (72,0%)	108 (77,0%)	0,3989	1,57 (0,74-3,34)	0,241 7	0,77 (0,13-4,37)	0,7650
	A/C	21 (46,7%)	24 (34,3%)								
	C/C	2 (4,4%)	4 (5,7%)	<b>C</b>	25 (28,0%)	32 (23,0%)			1,30 (0,23-7,43)	0,765 0	0,64 (0,30-1,36)
<i>KCNJ11</i> rs5219	C/C	16 (35,6%)	26 (37,1%)	<b>C</b>	53 (59,0%)	86 (61,0%)	0,7006	1,07 (0,49-2,34)	0,863 0	1,30 (0,47-3,58)	0,6149
	T/C	21 (46,7%)	34 (48,6%)								
	T/T	8 (17,8%)	10 (14,3%)	<b>T</b>	37 (41,0%)	54 (39,0%)			0,77 (0,28-2,13)	0,614 9	0,93 (0,43-2,04)
<i>END1</i> rs5370	G/G	26 (57,8%)	49 (70,0%)	<b>G</b>	68 (76,0%)	117 (84,0%)	0,1347	1,71 (0,78-3,73)	0,179 2	2,43 (0,39-15,14)	0,3282
	G/T	16 (35,6%)	19 (27,1%)								
	T/T	3 (6,7%)	2 (2,9%)	<b>T</b>	22 (24,0%)	23 (16,0%)			0,41 (0,07-2,57)	0,328 2	0,59 (0,27-1,58)
<i>PPARA</i>	C/C	3 (6,7%)	1 (1,4%)	<b>C</b>	19	20	0,1782	0,20	0,134	0,68	0,3386

rs4253778					(21,0%)	(14,0%)		(0,02-2,01)	6	(0,30-1,51)	
	G/C	13 (28,9%)	18 (25,7%)								
	G/G	29 (34,4%)	51 (72,9%)	<b>G</b>	71 (79,0%)	120 (86,0%)		1,48 (0,66-3,32)	0,338 6	4,93 (0,50-48,94)	0,1346
<i>GNB3</i> rs5443	C/C	25 (55,6%)	30 (42,9%)	<b>C</b>	65 (72,0%)	93 (66,0%)	0,3551	0,60 (0,28-1,28)	0,183 3	1,13 (0,33-3,79)	0,8491
	T/C	15 (33,3%)	33 (47,1%)								
	T/T	5 (11,1%)	7 (10,0%)	<b>T</b>	25 (28,0%)	47 (34,0%)		0,89 (0,26-2,99)	0,849 1	1,67 (0,78-3,55)	0,1833
<i>ACE</i> rs4340	<b>DEL/DEL</b>	<b>18 (17,8%)</b>	<b>22 (31,4%)</b>	<b>DEL</b>	<b>39 (43,0%)</b>	<b>80 (57,0%)</b>	<b>0,0408</b>	<b>2,12 (0,85-5,30)</b>	<b>0,103 7</b>	<b>2,18 (0,90-5,29)</b>	<b>0,0805</b>
	<b>DEL/INS</b>	<b>23 (51,1%)</b>	<b>36 (51,4%)</b>								
	<b>INS/INS</b>	<b>14 (31,1%)</b>	<b>12 (17,1%)</b>	<b>INS</b>	<b>51 (57,0%)</b>	<b>60 (43,0%)</b>		<b>0,46 (0,19-1,11)</b>	<b>0,080 5</b>	<b>0,47 (0,19-1,18)</b>	<b>0,1037</b>
<i>AMH</i> rs1040702 2	G/G	1 (2,2%)	1 (1,4%)	<b>G</b>	17 (19,0%)	22 (16,0%)	0,5312	0,64 (0,04-10,46)	0,750 6	0,78 (0,35-1,72)	0,5336
	G/T	15 (33,3%)	20 (28,6%)								
	T/T	29 (64,4%)	49 (70,0%)	<b>T</b>	73 (81,0%)	118 (84,0%)		1,29 (0,58-2,85)	0,533 6	1,57 (0,10-25,72)	0,7506
<i>LEP</i> rs7799039	A/A	14 (31,1%)	15 (22,4%)	<b>A</b>	48 (53,0%)	68 (51,0%)	0,7040	0,64 (0,27-1,50)	0,301 5	1,22 (0,50-3,01)	0,6583
	A/G	20 (44,4%)	38 (56,7%)								
	G/G	11 (24,4%)	14 (20,9%)	<b>G</b>	42 (47,0%)	66 (49,0%)		0,82 (0,33-2,01)	0,658 3	1,57 (0,67-3,68)	0,3015
<i>IRS1</i> rs1801278	A/A	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>A</b>	4 (4,0%)	10 (7,0%)	0,4035	-	-	1,71 (0,50-5,82)	0,3876
	A/G	4 (8,9%)	10 (14,3%)								
	G/G	41 (91,1%)	60 (85,7%)	<b>G</b>	86 (96,0%)	130 (93,0%)		0,59 (0,17-1,99)	0,387 6	-	-



<i>FTO</i> Rs805013 6	A/A	7 (15,6%)	15 (21,4%)	<b>A</b>	35 (39,0%)	65 (46,0%)	0,2602	1,48 (0,55-3,98)	0,434 5	1,52 (0,69-3,36)	0,3023
	A/C	21 (46,7%)	35 (50,0%)								
	C/C	17 (37,8%)	20 (28,6%)	<b>C</b>	55 (61,0%)	75 (54,0%)		0,66 (0,30-1,46)	0,302 3	0,68 (0,25-1,81)	0,4345
<i>FTO</i> rs9939609	A/A	7 (15,6%)	15 (21,4%)	<b>A</b>	35 (39,0%)	65 (46,0%)	0,2602	1,48 (0,55-3,98)	0,434 5	1,52 (0,69-3,36)	0,3023
	A/T	21 (46,7%)	35 (50,0%)								
	T/T	17 (37,8%)	20 (28,6%)	<b>T</b>	157 (58,0%)	169 (56,0%)		0,66 (0,30-1,46)	0,302 3	0,68 (0,25-1,81)	0,4345
<i>FSHR</i> rs6166	A/A	15 (33,3%)	20 (28,6%)	<b>A</b>	49 (54,0%)	75 (54,0%)	0,8968	0,80 (0,36-1,79)	0,588 0	1,19 (0,49-2,88)	0,7059
	A/G	19 (42,2%)	35 (50,0%)								
	G/G	11 (24,4%)	15 (21,4%)	<b>G</b>	41 (46,0%)	65 (46,0%)		0,84 (0,35-2,05)	0,705 9	1,25 (0,56-2,80)	0,5880
<i>FSHR</i> rs1299403 4	A/A	2 (9,5%)	6 (20,0%)	<b>A</b>	18 (43,0%)	21 (35,0%)	0,4216	2,38 (0,43-13,13)	0,311 3	0,31 (0,09-1,07)	0,0593
	A/G	14 (66,7%)	9 (30,0%)								
	G/G	5 (23,8%)	15 (50,0%)	<b>G</b>	24 (57,0%)	39 (65,0%)		3,20 (0,93-10,98)	0,059 3	0,42 (0,08-2,33)	0,3113
<i>FSHR</i> rs234941 5	C/C	<b>5 (22,7%)</b>	<b>17 (56,7%)</b>	<b>C</b>	<b>24 (55,0%)</b>	<b>41 (68,0%)</b>	<b>0,1513</b>	<b>4,45 (1,30-15,23)</b>	<b>0,014 3</b>	<b>0,63 (0,14-2,86)</b>	<b>0,5489</b>
	T/C	<b>14 (63,6%)</b>	<b>7 (23,3%)</b>								
	T/T	<b>3 (13,6%)</b>	<b>6 (20,0%)</b>	<b>T</b>	<b>20 (45,0%)</b>	<b>19 (32,0%)</b>		<b>1,58 (0,35-7,17)</b>	<b>0,548 9</b>	<b>0,22 (0,07-0,77)</b>	<b>0,0143</b>
<i>FSHR</i> rs1703802 7	C/C	13 (92,9%)	18 (100,0%)	<b>C</b>	27 (96,0%)	36 (100,0%)	-	-	-	-	-
	T/C	1 (7,1%)	1 (2,4%)								
	T/T	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>T</b>	1 (4,0%)	0 (0,0%)		-	-	-	-

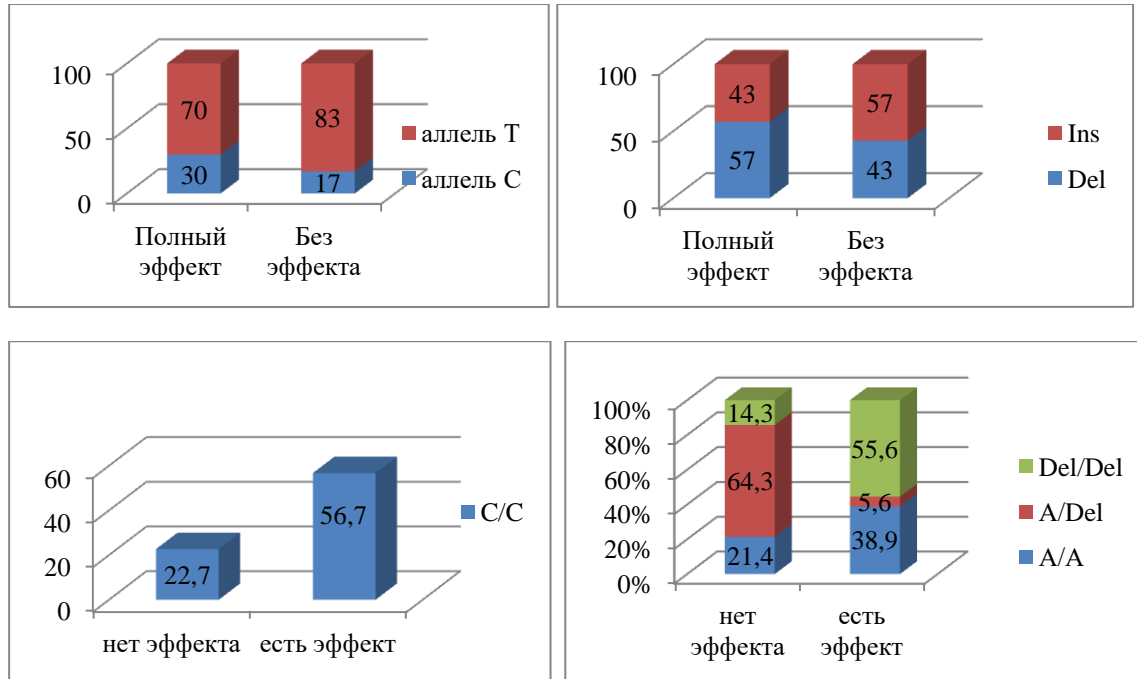
<i>FSHR</i> rs1489764 13	C/C	14 (100,0%)	17 (94,4%)	<b>C</b>	28 (100,0%)	35 (97,0%)	0,9048	-	-	-	-	
	T/C	0 (0,0%)	1 (5,6%)									
	T/T	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>T</b>	0 (0,0%)	1 (3,0%)			-	-	-	-
<i>LHCGR</i> rs1247065 2	C/C	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>C</b>	4 (4,0%)	8 (6,0%)	0,6725	-	-	1,32 (0,37-4,68)	0,6637	
	T/C	4 (8,9%)	8 (11,4%)									
	T/T	41 (91,1%)	62 (88,6%)	<b>T</b>	86 (96,0%)	132 (94,0%)			0,76 (0,21-2,67)	0,663 7	-	-
<i>LHCGR</i> rs1340572 8	A/A	19 (86,4%)	29 (96,7%)	<b>C</b>	41 (93,0%)	59 (98,0%)	0,1771	4,58 (0,44-47,34)	0,168 3	-	-	
	A/G	3 (13,6%)	1 (3,3%)									
	G/G	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>G</b>	3 (7,0%)	1 (2,0%)			-	-	0,22 (0,02-2,26)	0,1683
<i>CYP19A1</i> rs936306	C/C	32 (71,1%)	49 (70,0%)	<b>A</b>	76 (84,0%)	117 (84,0%)	0,8603	0,95 (0,42-2,16)	0,898 5	0,77 (0,07-8,78)	0,8348	
	T/C	12 (26,7%)	19 (27,1%)									
	T/T	1 (2,2%)	2 (2,9%)	<b>T</b>	14 (16,0%)	23 (16,0%)			1,29 (0,11-14,70)	0,834 8	1,05 (0,46-2,40)	0,8985
<i>CYP17A1</i> rs743572	A/A	7 (15,6%)	20 (28,6%)	<b>A</b>	40 (55,0%)	70 (50,0%)	0,4104	2,17 (0,83-5,66)	0,108 0	0,91 (0,39-2,11)	0,8239	
	A/G	26 (57,8%)	30 (42,9%)									
	G/G	12 (26,7%)	20 (28,6%)	<b>G</b>	50 (56,0%)	70 (50,0%)			0,47 (0,47-2,55)	0,823 9	0,46 (0,18-1,20)	0,1080
<i>UCP2</i> rs660339	C/C	14 (31,1%)	13 (18,6%)	<b>C</b>	53 (59,0%)	70 (50,0%)	0,1871	0,51 (0,21-1,21)	0,121 5	0,67 (0,24-1,93)	0,4604	
	T/C	25 (55,6%)	44 (62,9%)									
	T/T	6 (13,3%)	13 (18,6%)	<b>T</b>	37 (41,0%)	70 (50,0%)			1,48 (0,52-4,23)	0,460 4	1,98 (0,83-4,74)	0,1215

<i>YAP1</i> rs1894116	A/A	15 (68,2%)	18 (60,0%)	A	37 (84,0%)	48 (80,0%)	0,5937	0,70 (0,22-2,23)	0,544 9	-	-	
	A/G	7 (31,8%)	12 (40,0%)									
	G/G	0 (0,0%)	0 (0,0%)	G	7 (16,0%)	12 (20,0%)			-	-	1,43 (0,45-4,54)	0,5449
<i>ATM</i> rs1121261 7	A/A	6 (27,3%)	10 (33,3%)	A	25 (57,0%)	34 (57,0%)	0,9877	1,33 (0,40-4,46)	0,639 9	0,63 (0,14-2,86)	0,5489	
	A/G	13 (59,1%)	14 (46,7%)									
	G/G	3 (13,6%)	6 (20,0%)	G	19 (43,0%)	26 (43,0%)			0,57 (0,26-1,25)	0,548 9	1,58 (0,35-7,17)	0,6399
<i>Rub5B/SU OX</i> rs705702	A/A	8 (42,1%)	10 (33,3%)	A	26 (68,0%)	37 (62,0%)	0,4965	0,69 (0,21-2,25)	0,534 8	0,50 (0,05-5,19)	0,5551	
	A/C	10 (52,6%)	17 (56,7%)									
	C/C	1 (5,3%)	3 (10,0%)	C	12 (32,0%)	23 (38,0%)			2,00 (0,19-20,77)	0,555 1	1,45 (0,44-4,76)	0,5348
<i>HGMA2</i> rs2272046	A/A	18 (81,8%)	30 (100,0%)	A	40 (91,0%)	60 (100,0%)	-	-	-	-	-	
	A/C	4 (18,2%)	0 (0,0%)									
	C/C	0 (0,0%)	0 (0,0%)	C	4 (9,0%)	0 (0,0%)			-	-	-	-
<i>INSR</i> rs2059807	A/A	6 (22,7%)	5 (16,7%)	A	20 (45,0%)	27 (45,0%)	0,9632	0,68 (0,17-2,71)	0,583 7	1,28 (0,38-4,30)	0,6854	
	A/G	10 (45,5%)	17 (56,7%)									
	G/G	7 (31,8%)	8 (26,7%)	G	24 (55,0%)	33 (55,0%)			0,78 (0,23-2,61)	0,685 4	1,47 (0,37-5,87)	0,5837
<i>INSR</i> rs3815902	A/A	0 (0,0%)	0 (0,0%)	A	10 (23,0%)	16 (27,0%)	0,6466	-	-	1,37 (0,45-4,14)	0,5745	
	A/G	10 (45,5%)	16 (53,3%)									
	G/G	12 (54,5%)	14 (46,7%)	G	34 (77,0%)	44 (73,0%)			0,73 (0,24-2,20)	0,574 5	-	-
<i>THADA</i>	A/A	0 (0,0%)	0 (0,0%)	A	0 (0,0%)	4 (7,0%)	-	-	-	-	-	

rs7863544 7	A/G	0 (0,0%)	4 (13,3%)								
	G/G	22 (100,0%)	26 (86,7%)	<b>G</b>	44 (100,0%)	56 (93,0%)		-	-	-	-
<i>THADA</i> rs1246839 4	A/A	8 (36,4%)	5 (16,7%)	A	25 (57,0%)	24 (40,0%)	0,0895	0,35 (0,10-1,28)	0,105 1	0,51 (0,15-1,76)	0,2819
	A/C	9 (40,9%)	14 (46,7%)								
	C/C	5 (22,7%)	11 (36,%)	C	19 (43,0%)	36 (60,0%)		1,97 (0,57-6,82)	0,105 1	2,86 (0,78-10,43)	0,1051
<i>THADA</i> rs1247860 1	C/C	4 (18,2%)	6 (20,0%)	<b>C</b>	16 (36,0%)	29 (48,0%)	0,2235	1,13 (0,28-4,59)	0,869 4	2,74 (0,83-9,02)	0,0929
	T/C	8 (36,4%)	17 (56,7%)								
	T/T	10 (45,5%)	7 (23,3%)	<b>T</b>	28 (64,0%)	31 (52,0%)		0,37 (0,11-1,20)	0,092 9	0,89 (0,22-3,62)	0,8694
<i>ATM</i> rs683369	C/C	16 (72,7%)	25 (83,3%)	<b>C</b>	37 (84,0%)	52 (87,0%)	0,7118	1,88 (0,49-7,18)	0,354 8	0,43 (0,04-4,42)	0,4658
	C/G	5 (22,7%)	2 (6,7%)								
	G/G	1 (4,5%)	3 (10,0%)	<b>G</b>	7 (16,0%)	8 (13,0%)		2,33 (0,23-27,08)	0,465 8	0,53 (0,14-2,04)	0,3548
<i>OCT1</i> rs6282031	A/A	7 (35,0%)	11 (36,7%)	A	22 (55,0%)	29 (48,0%)	0,5135	1,08 (0,33-3,50)	0,904 2	0,50 (0,14-1,74)	0,2726
	A/G	8 (40,0%)	7 (23,3%)								
	G/G	5 (25,2%)	12 (40,0%)	G	18 (45,0%)	31 (52,0%)		2,00 (0,57-6,97)	0,272 6	0,93 (0,29-3,03)	0,9042
<i>OCT1</i> rs3413049 5	A/A	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>A</b>	1 (4,0%)	1 (3,0%)	-	-	-	-	-
	A/G	1 (7,1%)	1 (5,6%)								
	G/G	13 (92,9%)	17 (94,4%)	<b>G</b>	27 (96,0%)	35 (97,0%)		-	-	-	-
<i>OCT1</i> rs7255276 3	T/T	0 (0,0%)	2 (11,1%)	<b>T</b>	4 (14,0%)	6 (17,0%)	0,7946	-	-	0,71 (0,14-3,56)	0,6807
	TGAT/T	4 (28,6%)	2 (11,1%)								
	TGAT/	10 (71,4%)	14 (77,8%)	<b>TGAT</b>	24	30		1,14	0,680	-	-

	TGAT				(86,0%)	(83,0%)		(0,28-6,98)	7			
<b><i>OCT1</i></b> <b>rs113569</b> <b>197</b>	A/A	2 (21,4%)	7 (38,9%)	A	15 (54,0%)	15 (42,0%)	0,3437	2,3 (0,48-11,44)	0,290 4	0,13 (0,02-0,78)	0,0167	
	A/Del	9 (64,3%)	1 (5,6%)									
	Del/Del	2 (14,3%)	10 (55,6%)	Del	13 (46,0%)	15 (58,0%)		7,50 (1,29-43,69)	0,016 7	0,43 (0,09-2,10)	0,2904	
<i>C9orf3</i> rs4385527	A/A	2 (9,1%)	7 (23,3%)	A	17 (39,0%)	26 (43,0%)	0,6308	3,04 (0,57-16,36)	0,179 8	0,81 (0,25-2,58)	0,7165	
	A/G	13 (59,1%)	12 (40,0%)									
	G/G	7 (31,8%)	11 (36,7%)	G	27 (61,0%)	34 (57,0%)		1,24 (0,39-3,98)	0,179 8	0,33 (0,06-1,77)	0,1798	
<i>DENND1</i> A rs1081885 4	A/A	0 (0,0%)	1 (3,3%)	A	5 (11,0%)	7 (12,0%)	0,9618	-	-	0,85 (0,22-3,25)	0,8119	
	A/G	5 (22,7%)	5 (16,7%)									
	G/G	17 (77,3%)	24 (80,0%)	G	39 (89,0%)	53 (88,0%)		1,18 (0,31-4,49)	0,811 9	-	-	
<i>DENND1</i> A rs2479106	A/A	7 (31,8%)	10 (35,7%)	A	24 (55,0%)	33 (59,0%)	0,6603	1,19 (0,36-3,89)	0,772 8	1,35 (0,34-5,43)	0,6691	
	A/G	10 (45,5%)	13 (46,4%)									
	G/G	5 (22,7%)	5 (17,9%)	G	20 (45,0%)	23 (41,0%)		0,74 (0,18-2,96)	0,772 8	0,84 (0,26-2,75)	0,7728	

На рисунке 25а представлено распределение аллелей гена *SLCO1B1* rs4149056 среди пациенток с полным эффектом и без эффекта от терапии МФ. В связи с малым объемом выборки тип наследования установить не удалось. Среди пациенток с полным эффектом на терапию значительно чаще встречался аллель С ( $p=0,0222$ ).



**Рис.25.** Частота аллелей и генотипов исследованных полиморфных локусов среди пациенток с эффектом и без эффекта

а) Распределение аллелей гена *SLCO1B1* (rs4149056) в группах с полным эффектом и без эффекта от терапии метформином. б) Распределение аллелей гена *ACE* rs4340 в подгруппах с полным эффектом и без эффекта от терапии метформином. в) Частота генотипа C/C гена *FSHR* (rs2349415) в группах с полным эффектом и без эффекта от терапии метформином. г) Распределение генотипов гена *OCT1* (rs113569197) в группах с полным эффектом и без эффекта от терапии метформином.

На рисунке 25б представлено распределение аллелей гена *ACE* rs4340 среди пациенток с полным эффектом и без эффекта от терапии метформином. Модель наследования установить не удалось, подгруппы не различались по

частоте генотипов ( $p=0,805$ ). Пациентки подгруппы с полным эффектом от терапии значительно чаще являлись носителями делеции (Рисунок 25г).

На рисунке 25в представлено распределение генотипов гена *FSHR* rs2349415 среди пациенток с полным эффектом и без эффекта от терапии МФ. Установлена аутосомно-рецессивная модель наследования, ( $p=0,0143$ ; ОШ=4,45 (95% ДИ 1,30-15,23)). Так, обладательницы гомозиготного генотипа С/С имеют шанс регуляции ритма менструаций на фоне терапии метформином в 4,5 раза больший по сравнению с носительницами аллеля Т (генотипы С/Т и Т/Т).

### ***Многофакторная модель эффективности терапии метформином.***

На основании результатов клинико-лабораторных и молекулярно-генетических методов исследования была разработана модель для предикции эффективности терапии МФ при СПКЯ. Регрессионный анализ выявил полиморфный локус *FSHR* (rs2349415) и уровень АМГ как факторы, определяющие успешность терапии. Площадь под кривой составила 0,755 (СІ 95%, 0,664-0,847), чувствительность метода 83%, специфичность 60%. Методом логистической регрессии определена переменная, рассчитанная на основе уровня АМГ в сыворотке крови и генотипа *FSHR* (rs2349415), которая характеризует вероятность регуляции менструального цикла терапии МФ. Мера определённости определяет часть дисперсии, которую можно объяснить с помощью логистической регрессии (вычисляется по методу Наделькеркеса). В данном уравнении она составляет 72,1%.

Результаты рассчитанных коэффициентов в логистической регрессии и проверке их значимости приведены в таблице 4.

Таблица 29. Результаты рассчитанных коэффициентов независимых переменных и проверка их значимости

Независимые переменные	<i>B</i> (коэффициент регрессии <i>b</i> )	<i>S.E.</i> (стандартная ошибка)	<i>Wald</i> (Вальд)	<i>Df</i>	<i>Sig.</i> (значимость)	<i>Exp (B)</i>
Полиморфизм гена <i>FSHR</i> ( <i>rs2349415</i> )	- 0,075	0,029	6,898	1	0,009	0,928
Уровень АМГ в сыворотке крови, нг/мл	2,435	0,770	9,996	1	0,002	11,413

Классифицирующая дискриминантная функция имеет вид:

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

4,69 – константа

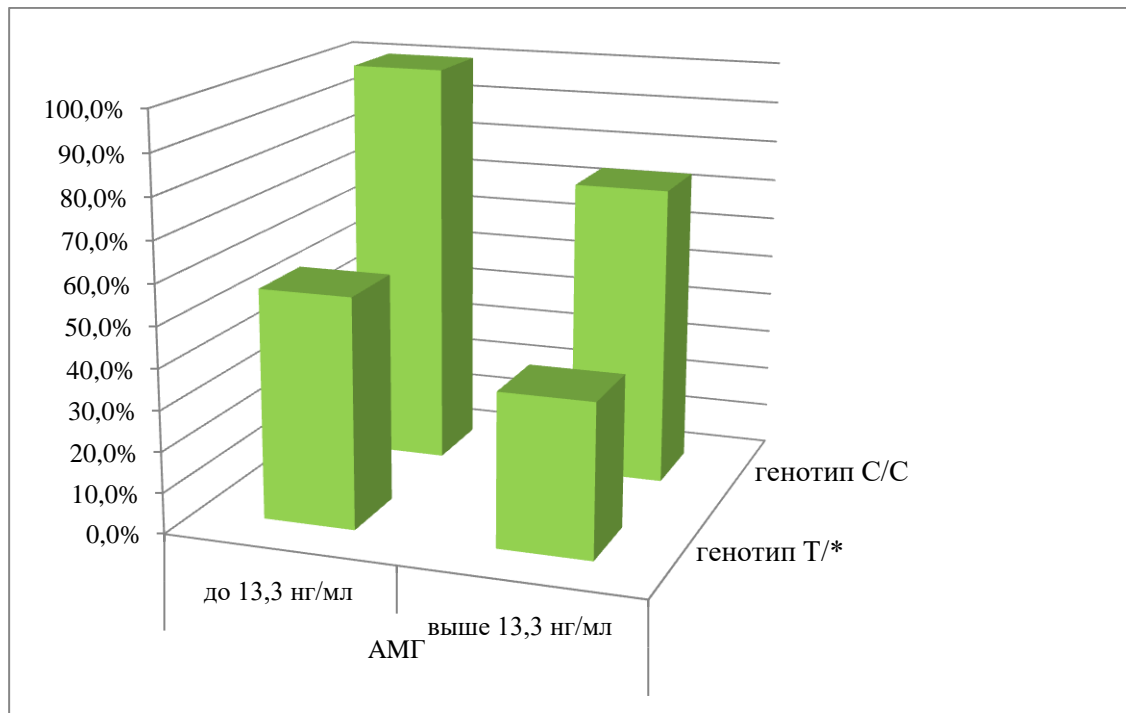
*FSHR* - количество аллелей *C* в локусе *-521 T>C* гена *SLCOB1*

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

Вероятность регуляции ритма менструаций на фоне терапии МФ (*p*) определялась по формуле  $p = 1 / (1 + e^{-z})$ . При значении *p* больше 0,5 можно предположить полный эффект от терапии МФ, а при значении *p* меньше 0,5 успешность терапии маловероятна.

Точность прогнозирования эффективности терапии СПКЯ МФ с использованием вышеприведенных независимых переменных составляет 70,9%. Был проведен *ROC*-анализ для валидации полученной модели. Чувствительность составила 83% (71-93%), специфичность - 60% (48-80%), значение *AUC* (площадь под кривой) для данной модели составляет 0,755, 95 % доверительный интервал от 0,664 до 0,847 ( $p = 3,5 * 10^{-13}$ ).





**Рис.26.** Распределение генотипов FSHR (rs2349415) в зависимости от уровня АМГ.

### Заключение

На основании результатов проведенного исследования можно сделать заключение, что терапию МФ (1500 мг/сутки) можно рассматривать в качестве эффективного подхода к коррекции овуляторной дисфункции, как у пациенток с СПКЯ. В результате лечения у каждой второй пациентки можно ожидать восстановление регулярного ритма менструаций, у каждой третьей - наступления беременности, как правило, в первые 3 месяца терапии. Поиск клинико-лабораторных и молекулярно-генетических предикторов ответа на терапию МФ показал, что эффективность не зависит от возраста пациенток, характера нарушений менструального цикла, фенотипа синдрома, ИМТ, наличия ИР, ГИ, НТГ. Предикция ответа на терапию возможна по исходным значениям уровней АМГ (менее 13,3 нг/мл) и Т общ (менее 1,81 нг/мл) в сыворотке крови, а также по индексу распределения жировой ткани A/G (менее 0,9), определяемому при денситометрии. Молекулярно-генетический анализ выявил ассоциацию 4 локусов с эффективностью терапии МФ – это гены *SLCO1B1* (rs4149056), *ACE* (rs4340), *FSHR* (rs2349415), *OCT1* (rs113569197). Многофакторный анализ показал, что наибольшей прогностической значимостью

обладает модель, включающая генотипирование по локусу *FSHR* (rs2349415) и определение уровня АМГ. Использование данной модели в клинической практике позволит с достаточно высокой вероятностью (до 70%) прогнозировать успешность терапии МФ у пациенток с СПКЯ.

#### Глава 4. Обсуждение полученных результатов

В настоящее время СПКЯ рассматривают, как комплексный эндокринно-метаболический синдромом, частота которого среди женщин репродуктивного возраста достигает 20%. По оценкам National Institute of Health (НИН) в 2012 году только в США число женщин репродуктивного возраста с СПКЯ достигло 5 миллионов [38]. Основными причинами обращения женщин с СПКЯ за медицинской помощью являются клинические проявления дисфункции репродуктивной системы, такие как нарушения ритма менструаций и бесплодие, а также клинические маркеры ГА в виде гирсутизма и акне. Метаболические нарушения, широко распространенные среди данной группы пациенток, как правило, не служат поводом для обращения к врачу до развития СД2 типа или сердечно-сосудистой патологии. Согласно же клиническим рекомендациям алгоритм обследования пациенток с СПКЯ должен включать комплекс мероприятий, направленных на диагностику не только овуляторной, но и метаболической дисфункции. Это позволяет выявить нарушения и своевременно провести их коррекцию, снижая риск гестационных осложнений и негативных отсроченных последствий, направленных на профилактику заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний.

Следует отметить, что многообразие клинических проявлений СПКЯ создает трудности в диагностике синдрома. По данным исследования Gibson-Helm M (2016) каждая третья женщина с СПКЯ тратит более 2х лет до постановки корректного диагноза, посетив более 3х специалистов [44]. Вероятно, это связано с тем, что традиционно используемые в настоящее время Роттердамские критерии диагностики СПКЯ нельзя считать абсолютно надежными, в виду недостаточной чувствительности и специфичности каждого признака в отдельности. Затруднения при постановке диагноза могут быть связаны с отсутствием консенсуса по оценке биохимической ГА, недостаточной

доступностью УЗ-исследования, позволяющего оценить количество фолликулов в объеме яичника, вариабельность течения синдрома в зависимости от возраста пациентки и проводимой ранее гормонотерапии.

Оценка андрогенного статуса женщин с СПКЯ включает определение уровней Тобщ, ПССГ с расчетом ИСА или определение уровня Тсв. Однако измерение Тсв в сыворотке крови методом ИФА считается недостаточно точным и информативным, а определение Тобщ затруднено в связи с физиологически более низкими его концентрациями в сыворотке крови женщин по сравнению с мужчинами. При использовании некоторых коммерческих наборов уровень Тобщ в образце может оказаться даже ниже диапазона определения. В литературе представлены немногочисленные исследования, как о преимуществах определения А4 по сравнению с Тобщ при СПКЯ [161]. В виду неоднозначности информации клиницисты, как правило, ограничиваются определением содержания Тобщ в сыворотке крови. Для оптимизации диагностики ГА нами было проведено исследование по изучению андрогенного профиля у 437 больных с СПКЯ и его ассоциации с метаболической дисфункцией. Оказалось, что традиционное определение уровня Тобщ позволяет выявить ГА лишь у каждой 3-й пациентки, определение Тсв – у каждой 4-й. При этом следует отметить, что частота повышения уровня А4 оказалась значительно более высокой, ГА была выявлена - у каждой 2-й (46,5%) пациентки с СПКЯ. Обращает на себя внимание и тот факт, что изолированное повышение уровня Тобщ и Тсв наблюдалось только у 8,7% и 5,2% пациенток соответственно, тогда как изолированное повышение уровня А4 - у 18,8%. Среди пациенток, включенных в исследование, около 1/3 имели сочетанное повышение Тобщ и А4 (подгруппа ВТ/ВА), каждая 5-я - имела повышенный уровень А4 при нормальном Тобщ (подгруппа НТ/ВА) и только каждая 10-я – повышенный уровень Тобщ при нормальном уровне А4 (подгруппа ВТ/НА). Исходя из этого можно сделать заключение, что определение уровня А4 вносит существенный вклад в диагностику СПКЯ, позволяя выявить ГА дополнительно у каждой 5-й больной с нормальными уровнями Тобщ и Тсв. По данным ряда авторов измерение уровня А4 позволяет выявить ГА у 30-60%

больных с СПКЯ, в том числе примерно у 10% больных с неандрогенным фенотипом D, диагностированным по уровню Тобщ [54]. В ряде других исследований также обсуждается более высокая информативность определения А4 в сравнении с Тобщ в диагностике ГА, но при использовании метода жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии. Настоящее исследование показало преимущества комплексной оценки андрогенного статуса, позволяющей повысить частоту выявления ГА, диагностированной на основе определения только уровня Тобщ с 37,5%, до 67,7%. Согласно данным, представленным Pasquali R (2013) сочетанное определение Тобщ, А4 и ИСА дает возможность выявить ГА у 90% пациенток с СПКЯ, при том уровень тяжести клинических проявлений синдрома увеличивается соразмерно уровню А4 [43]. С нашей точки зрения комплексный подход к диагностике основного маркера СПКЯ – ГА наиболее целесообразно использовать при обследовании женщин с овуляторной дисфункцией и поликистозной морфологией яичников по УЗИ при отсутствии клинических признаков ГА.

С современных позиций СПКЯ рассматривают также как метаболический репродуктивный синдром, ассоциированный с ИР, НТГ, повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний и гестационных осложнений. Согласно результатам анализа показателей углеводного обмена пациенток с СПКЯ, более 40% женщин имеют различные нарушения - НТГ (17,8%), ГИ (25,5%) и/или ИР (32,5%). При этом только каждый 3й случай НТГ и каждый 5й случай ГИ выявляются натощак, что указывает на особую диагностическую ценность нагрузочного теста с 75г глюкозы. Целесообразность проведения ГТТ всем женщинам с СПКЯ была обозначена в рекомендациях Общества по изучению гиперандрогенных состояний и СПКЯ (Androgen Excess and PCOS Society) еще в 2009г. Однако менее 10% пациенток с ранее установленным диагнозом СПКЯ указывали на проведение данного исследования. Важной составляющей в выявлении метаболической дисфункции является диагностика ожирения и количественное определение жировой ткани. Сравнительный анализ полученных данных о частоте нарушений жирового обмена с результатами исследований,

проведенных в Центре в 2003 [9] и в 2009 [3], показал более низкую частоту ожирения (14,2% и 16,3) и избыточной массы тела (16,9% против 23,7%) соответственно. Это, вероятно, связано с современной тенденцией к ведению здорового образа жизни. Особый интерес в свете данного наблюдения представляют результаты двухэнергетической абсорбционной денситометрии жировой ткани, свидетельствующие о наличии «скрытого ожирения» (содержание жировой ткани более 30%) у 47,8% пациенток с нормальными значениями ИМТ.

Известно, что частота и выраженность метаболических нарушений коррелируют с избыточной массой тела и ожирением. Однако, нарушения углеводного обмена могут выявляться у 30-40% пациенток с СПКЯ даже при нормальных показателях ИМТ. По некоторым данным частота ИР при СПКЯ в 5,7 раз выше, а НТГ - в 3,4 раза по сравнению с группой здоровых сверстниц, сопоставимых по возрасту и ИМТ [132]. Исследование женщин с СПКЯ и скрытым ожирением показало более высокую частоту нарушений углеводного обмена у данной категории пациенток по сравнению со здоровыми сверстницами [3]. Таким образом, применение денситометрии жировой ткани в клинической практике является экономичным, неинвазивным методом, позволяющим выявить группу пациенток с потенциальным риском метаболической дисфункции. Повышение частоты НТГ, ИР и компенсаторной ГИ у женщин с СПКЯ без ожирения часто связывают с избыточным уровнем андрогенов. В исследованиях на животных было показано, что избыток андрогенов может привести к формированию ИР путем избыточного фосфорилирования серина субстрата рецепторов инсулина (IRS), снижения его тирозинкиназной активности и нарушения сигнального пути инсулина [84]. В большинстве клинических исследований взаимосвязь ГА и ИР была прослежена, в некоторых других – не установлена. Несмотря на имеющуюся патофизиологическую основу ассоциации ГА и ИР, нет единого мнения относительно возможности предикции метаболических нарушений по андрогенному профилю пациентки. В настоящем исследовании была установлена взаимосвязь ИР, ГИ и НТГ со снижением уровня ПССГ, прослеженная преимущественно у пациенток с нарушением жирового

обмена. В связи с этим уровень ПССГ логично рассматривать как маркер ИР и ГИ у пациенток с избыточной массой тела или ожирением. Корреляционный анализ не показал статистически значимой взаимосвязи уровня Тобщ и Тсв с содержанием глюкозы, инсулина в сыворотке крови, а также с индексом НОМА, частотой НТГ, ИР, ГИ, ДЛП. Возможно, это связано с относительно низкой частотой ожирения и избыточной массы тела и/или молодым возрастом обследованных больных, то есть с теми параметрами, которые вносят существенный вклад в развитие метаболического синдрома. Вместе с тем была установлена положительная корреляция между уровнем А4 и инсулина (натощак и через 1 час на фоне проведения ГТТ), а также с индексом НОМА. В литературе также представлены результаты исследования группы британских авторов [78] об ассоциации изолированного повышения уровня А4 и его комбинации с повышенным уровнем Тобщ с индексом чувствительности к инсулину ISI [79]. Анализ полученных нами результатов показал, что пациентки имеющие сочетанное повышение Тобщ и А4 характеризовались более высоким уровнем тощачевой глюкозы и инсулина, более высокой частой ИР и ГИ по сравнению с пациентками с неандрогенным фенотипом D. Так, частота НТГ в данной группе превышала в 2 раза, а частота ИР и ДЛП в 1,5 раза аналогичные показатели пациенток с нормоандрогенией. Частота нарушений углеводного и липидного обмена в группах с изолированным повышением Тобщ или А4 была выше, чем в группе пациенток с фенотипом D, однако различия не достигли статистической значимости. Сходные данные были получены в исследовании O'Reilly, согласно результатам которого наличие ГА по А4 или его комбинации с повышенным уровнем Тобщ увеличивало вероятность развития ИР и НТГ до 65%. Интересно, что данная взаимосвязь была установлена авторами не только в группе с ГА, но и в группе с нормальными уровнями андрогенов по сравнению с группой здоровых женщин [79]. В проведенном нами исследовании частота НТГ у пациенток с фенотипом D составила 13,5%, что превышает средний показатель для российской популяции (8,3%), полученный по результатам анализа данных многоцентрового эпидемиологического исследования (2007г). Таким образом,

скрытое метаболическое неблагополучие может наблюдаться даже у пациенток с неандрогенным фенотипом синдрома.

На основании полученных данных, можно сделать заключение, что при подозрении на СПКЯ выявление биохимической ГА должно основываться на комплексной оценке андрогенного профиля, позволяющей повысить точность диагностики почти в два раза по сравнению с традиционным определением уровня Тобщ. Наибольший вклад в диагностику ГА вносит определение уровня А4, повышение которого характерно для каждой 2-й больной с СПКЯ. Сочетанную ГА по уровню Тобщ и А4 можно рассматривать как предиктор развития метаболической дисфункции у пациенток с СПКЯ.

Верификация поликистозной морфологии яичников при СПКЯ также требует оптимизации, это касается, прежде всего, эхографических критериев синдрома. Традиционно используемые критерии критерии Балена (2003) уже рассматриваются, как устаревшие. Наряду с объемом яичников считается более информативным определение числа фолликулов не в срезе, а в объеме яичников, что требует использования высокочастотных датчиков и высокой квалификации специалистов. Причем, пороговые значения количества фолликулов в яичнике до сих пор четко не определены. Методологические проблемы, высокая стоимость современного оборудования, необходимость обучения широкого штата специалистов обосновывают поиск альтернативного метода оценки овариального резерва при СПКЯ. С момента публикации первых исследований о высоких уровнях АМГ у больных с СПКЯ, научный интерес к этому параметру, как возможному диагностическому критерию СПКЯ неуклонно растет. Однако на сегодняшний день нет не только единых рекомендаций о диагностическом пороговом уровне АМГ в сыворотке крови, но и общепринятых нормативных значений для здоровых женщин. Это послужило поводом для проведения исследования в данном направлении, в рамках которого уровень АМГ был определен у 250 пациенток с СПКЯ и 252 пациенток группы контроля. Средний уровень АМГ при СПКЯ составил  $15,8 \pm 10,2$  нг/мл, что в 4,8 раза превышало значения аналогичного показателя у здоровых женщин репродуктивного возраста



( $3,3 \pm 1,9$  нг/мл). По данным ROC-анализа уровень АМГ равный 5,2 нг/мл показал наиболее высокую чувствительность и специфичность (95% и 92% соответственно, ДИ 95%). Это позволило рассматривать его в качестве порогового значения при диагностике СПКЯ. Полученные данные оказались схожими с результатами, приведенными в работах Dewailly (2011) и Li H (2011), где пороговыми уровнями явились значения АМГ равные 4,9 нг/мл и 5,9 нг/мл [45, 57]. Хотя по данным литературы значения АМГ, используемые в качестве пороговых при подозрении на СПКЯ варьируют в широких пределах - от 2,8 нг/мл до 8,4 нг/мл [41]. Разноречивость приведенных данных можно объяснить использованием разных тест-систем и критериев отбора пациенток для исследования. Так, например, Rosenfield и соавторы пишут о том, что пороговый уровень АМГ при использовании критериев National Institute of Health (NIH) составляет 6,2 нг/мл, однако для дифференциальной диагностики пациенток со «стертыми» формами СПКЯ от здоровых женщин с поликистозной морфологией яичников, по их мнению, целесообразно использовать порог отсечки 10,7 нг/мл [35].

Результаты ROC-анализа продемонстрировали некоторые преимущества определения уровня АМГ в сыворотке крови по сравнению с оценкой объема яичников при диагностике СПКЯ. Так, площадь под кривой (AUC) для АМГ составила 0,97 при чувствительности и специфичности метода 95% и 92%, для объема яичников - 0,91 при чувствительности и специфичности метода 85% и 87%. Полученные данные подтверждают позицию о целесообразности совершенствования эхографических критериев СПКЯ, поскольку измерение объема яичников и подсчет числа антральных фолликулов в срезе яичника не являются высокоинформативными показателями.

Развитие УЗ-технологий позволяет провести подсчет числа фолликулов в объеме яичника, что по данным ряда исследований более информативно, чем определение объема яичников [12, 16, 24]. Согласно рекомендациям рабочей группы AE-PCOS Society введение в клиническую практику порогового значения

количества фолликулов в объеме яичника 25 и более, как критерия поликистозной морфологии яичника позволит минимизировать вероятность как гипер-, так и гиподиагностики синдрома [15]. Настоящее исследование показало, что наиболее информативным является пороговое значение КАФ равное 23, позволяющее диагностировать СПКЯ с чувствительностью 88% и специфичностью 88% (AUC=0,94). Необходимы дальнейшие исследования для валидации метода. В настоящее время применение данной методики в широкой клинической практики ограничено необходимостью использования высокочастотных датчиков с длиной волны более 8 мГц, отсутствием стандартизации методов подсчета фолликулов и общепринятых нормативных значений.

Трансформация клинического течения СПКЯ с возрастом, в виде снижения овариального резерва, тенденции к регуляции ритма менструаций, стертой ультразвуковой картины у пациенток старшего репродуктивного возраста зачастую приводят к тому, что диагноз приходится ставить на основании анамнестических данных. Данные о возрастной динамике АМГ можно найти в исследовании А.С. de Kat длительностью наблюдения 20 лет, проведенном на выборке более 3-х тысяч женщин (2016). Авторами было показано прогрессивное снижение уровня АМГ с 3,86 нг/мл в возрасте 20 лет до 2,84 нг/мл к 30 годам и до 0,93 нг/мл к 40 годам [29]. Результаты проведенного нами исследования указывают на схожую динамику АМГ в группе здоровых женщин. Хотя по некоторым другим публикациям снижение уровня АМГ не происходит линейно, к 25 годам может наблюдаться транзиторный пик с последующим снижением овариального резерва к менопаузе [35, 114]. Анализ уровня АМГ в группе женщин с СПКЯ в возрастном аспекте показал отсутствие значительного снижения среднего значения данного показателя к 34 годам, несмотря на то, что у каждой десятой пациентки в возрасте от 30 до 35 лет уровень АМГ был ниже установленных пороговых значений. Возможно, это связано с более медленным старением яичников, которое, по мнению профессора Fauser В., наблюдается у женщин с нормогонадотропным ановуляторным бесплодием [35]. По мнению

профессора N. Gleicher молекулярно-генетической основой более медленного старения яичников при СПКЯ может служить гетеро- или гомозиготное носительство аномального числа CGG-повторов в гене *FMR-1* [131]. Согласно данным ранее проведенного нами исследования носительство аномальных аллелей гена *FMR-1* в гетеро- или гомозиготном состоянии было выявлено у 49,1% больных с СПКЯ [6]. Иная ситуация прослеживалась в группе здоровых женщин, где средний уровень АМГ в возрастном диапазоне 30-34 лет был в 2 раза ниже, чем в возрасте до 20 лет. Следует отметить, что в группе женщин до 20 лет значения АМГ превышали установленный пороговый уровень у каждой третьей женщины. В возрастной группе 26-30 лет подобная ситуация наблюдалась лишь у 2,4% женщин, после 30 лет - ни в одном случае значений АМГ выше пороговых не было выявлено. Вопрос о целесообразности градации порогового уровня АМГ с учетом возраста женщин до настоящего времени остается спорным. Однако, исходя из полученных данных, такой подход представляется достаточно обоснованным. Сравнение возрастных показателей выявило, что в подгруппе женщин 18-19 лет уровни АМГ при СПКЯ превышали контрольные значения в 2,8 раз, в возрасте 30-34 лет – в 2,8 раз. Анализ показал, что установленный для общей группы пороговый уровень АМГ, равный 5,2 нг/мл может приводить к снижению диагностической значимости метода. Это касается женщин в возрасте 18-19 лет и 20-24 лет. Чувствительность и специфичность метода составили в 1-й возрастной категории 97% и 73%, во 2-й - 94% и 85% соответственно. Полученные данные явились основанием для дифференцированного расчета пороговых уровней АМГ в каждой из указанных возрастных подгрупп. Значения АМГ, предполагаемые, как пороговые, для диагностики СПКЯ, снижались с увеличением возраста пациенток. Так, для возраста 18-19 лет пороговый уровень АМГ составил 6,4 нг/мл, для возраста 30-34 лет – 4,1 нг/мл, чувствительность и специфичность метода возросли до 89% и 82% (AUC-0,94) и до 95% и 94% (AUC-0,98) соответственно. Таким образом, АМГ является чувствительным и специфичным маркером СПКЯ, а определение возрастных коридоров значений АМГ позволяет значительно увеличить

чувствительность и специфичность метода и как следствие повысить точность диагностики СПКЯ. Введение возрастных нормативных значений АМГ, необходимых для диагностики СПКЯ, обосновывает перспективность проведения многоцентровых научных исследований.

Наибольшие трудности возникают при постановке диагноза у девочек подростков, женщин на фоне и после гормональной терапии, а также пациенток, перенесших оперативные вмешательства на яичниках. В настоящее время ведутся поиски универсальных диагностических маркеров синдрома, так как информативность отдельно взятых критериев, таких как олигоменорея, ГА и поликистозная морфология яичников, не велика. Наиболее перспективным представляется проведение молекулярно-генетических исследований. Генетические маркеры СПКЯ могли бы в повседневной практике служить самостоятельными критериями, как для выявления групп риска по развития СПКЯ, так и для повышения точности диагноза у пациенток с не ярко выраженными симптомами заболевания. Данные литературы по изучению семейного анамнеза пациенток свидетельствуют о том, что СПКЯ наблюдается у 32-66% сестер и 24-52% матерей участниц исследования, кроме того, еще 24% родственников 1й линии имеют изолированную ГА. Результаты данных исследований указывают на аналогичное повышение частоты ГИ и ИР по сравнению с женщинами группы контроля [71].

СПКЯ рассматривают, как полигенное заболевание. В более ранних исследованиях изучалась ассоциация СПКЯ с полиморфизмом генов андрогенового рецептора, гена инсулинового рецептора и генов, регулирующих его активность [135, 137]. Проведение полногеномных исследований на группе из 16 тысяч женщин китайской популяции и последующее воспроизведение результатов этих исследований американскими и европейскими учеными позволило установить ассоциацию СПКЯ с генами *LHCGR*, *THADA*, *DENND1A* [66], *FSHR*, *C9orf3*, *YAP1*, *RAB5B/SUOX*, *HMGA2*, *TOX3*, *INSR*, *SUMO1P1* [65].

В рамках данной работы была исследована взаимосвязь вышеуказанных генов, а также еще 19 выявленных ранее генов-кандидатов, ассоциированных с

развитием СД2, ИР, нарушенным биосинтезом андрогенов, с формированием СПКЯ. Всего методом таргетного секвенирования и методом ПЦР исследовано 45 локусов. Формирование СПКЯ ассоциировалось с носительством 6 полиморфных локусов генов: *SLCO1B1* [rs4149056], *YAP1* [rs1894116], *RAB5B/SUOX* [rs705702], *THADA* [rs12468394], *OCT1* [rs6282031], *DENND1A* [rs10818854]. Из 11 генов, ассоциированных с СПКЯ по результатам полногеномного секвенирования, проведенного на китайской популяции, только для 4-х была установлена значимая взаимосвязь с СПКЯ на группе российских женщин. К их числу относится *YAP1* [rs1894116], *RAB5B/SUOX* [rs705702], *THADA* [rs12468394], *DENND1A* [rs10818854]. Ген *DENND1A* кодирует белок DENN/MADD домен 1A, который широко экспрессируется в тканях и вовлечен в эндосомальный мембранный трафик. В исследовании Tian соавторов (2020), проведенном на выборке больных из 2082 женщин была выявлена ассоциация полиморфизма гена *DENND1A* (rs2479106, rs10818854) с СПКЯ [122]. В рамках нашей работы подтверждена взаимосвязь *rs10818854* с СПКЯ, но не выявлено ассоциации с носительством однонуклеотидного полиморфизма *rs10818854*. Это согласуется с результатами исследований, проведенных ранее на когорте европейских женщин [132, 40]. В исследовании Tian соавторов (2020) генотипы G/G и G/A rs2479106 были ассоциированы со сниженным риском ИР [122]. Есть предположение, что *DENND1A* может затрагивать разные механизмы формирования СПКЯ, ассоциированного с ИР и не ассоциированного с ИР, а G-аллель rs2479106 ассоциирован с развитием ДЛП и ГИ на фоне ГТТ [63, 148]. Полиморфизм гена *DENND1A* может быть также ассоциирован с эндометриоидной аденокарциномой, в развитии которой немаловажная роль отводится ИР [146]. В настоящее время установлены два белковые продукта гена *DENND1A* - вариант 1 (DENND1A.V1) и вариант 2 (DENND1A.V2). Исследования показали, что в тека клетках пациенток с СПКЯ отмечается увеличение экспрессии DENND1A.V2, которое может приводить к формированию поликистозной морфологии и повышенному синтезу андрогенов [67]. Однако в ходе представленного исследования не

установлена взаимосвязь полиморфизма *DENND1A* с клиническими проявлениями СПКЯ.

Локус *RAB5B/SUOX* (rs705702) расположен на хромосоме 12q13.2 между генами *RAB5B* и *SUOX*. Носители генотипов А/С и С/С *RAB5B/SUOX* (rs705702) имеют шанс развития СПКЯ в 3,66 раза больший по сравнению с женщинами, гомозиготными по аллелю А (генотип А/А). Установлена аутомно-доминантная модель наследования, ( $p=0,0004$ ; ОШ=3,66 (95% ДИ 1,92-6,99)). Ген *RAB5B* является Rab-ГТФазой, которая по имеющимся данным вовлечена в эндоцитоз и рециркуляцию рецепторов и является молекулой, взаимодействующей с доменом DENND [152] а также с PI3K, PKB и MAPK/ERK [146]. *RAB5B* известен как локус риска СД1 и ожирения у детей [158]. В настоящем исследовании пациентки с генотипами А/С и С/С имели значительно более высокие показатели тощаковой глюкозы. Впервые предположение о взаимосвязи rs705702 с СПКЯ опубликовано в работе Shi соавторов [65] а позднее аналогичные результаты были получены группой европейских ученых [92]. Поиск взаимосвязей данного гена с клинико-лабораторными показателями пациенток с СПКЯ установил статистически значимую ассоциацию С-аллеля (генотипы С/А и С/С) гена *RAB5B/SUOX* (rs705702) с более высоким уровнем глюкозы натощак ( $p<0,05$ ).

Согласно полученным данным, еще одним геном – кандидатом, ассоциированным с риском метаболической дисфункции при СПКЯ является ген *THADA* (thyroid adenoma associated), который первоначально связывали с развитием аденомы щитовидной железы [98]. Известно, что ген *THADA* принимает участие в регуляции работы  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. Однако не все исследования подтвердили взаимосвязь полиморфизма гена *THADA* с СД2 или ИР после внесения поправки по ИМТ [27]. Взаимосвязь гена *THADA* с СПКЯ впервые была продемонстрирована в ходе полногеномных исследований на китайской популяции [66] и позднее воспроизведена на других когортах [132], в ходе семейных исследований [59], межэтническом мета-анализе [40]. Предполагается, что ген *THADA* может принимать участие в формировании СПКЯ, опосредуя формирование нарушений углеводного обмена, однако не

исключаются иные механизмы, для изучения которых требуется проведение функциональных исследований.

Одним из наиболее перспективных генов, ассоциированных с СПКЯ, по результатам полногеномных исследований является ген *YAP1*, кодирующий Yes-ассоциированный протеин, который рассматривают, как ключевой транскрипционный коактиватор Hippo пути. *YAP1* принимает участие в сигнальных путях, которые регулируют морфологию органов, включая увеличение размеров яичников, ключевой признак СПКЯ. Полногеномные исследования показали, что женщины с СПКЯ отличаются от здоровых по частоте вариантных аллелей гена *YAP1* (rs11225161, rs11225138 и rs11225166). Полагают, что данный ген можно рассматривать, как новый потенциальный ген-кандидат развития СПКЯ [82]. В настоящее время исследования о функции данного гена и влиянии на развитие СПКЯ немногочисленны. Более того, предполагается, что в генезе СПКЯ особую роль играет метилирование гена *YAP1*, его степень по некоторым данным меньше, чем у здоровых женщин, наблюдалось значительное повышение экспрессии mRNA *YAP1* и Yes-ассоциированного протеина 1. Тестостерон может снижать степень метилирования, продемонстрирован дозозависимый эффект [129]. В настоящем исследовании полиморфизм гена *YAP1* (rs1894116) ассоциирован с двукратным увеличением риска СПКЯ и повышенными концентрациями Тобщ, что согласуется с результатами выше представленного исследования. Белковый продукт гена *Yap1*, Yes-1 киназа, является членом семейства нерецепторных Src тирозинкиназ, которые широко экспрессируются во всех органах и тканях и регулируют функцию ряда мембранных белков, в том числе субстратом Yes1 тирозинкиназы является транспортер органических катионов *OCT1*.

Ген *OCT1* (organic cation transporter 1) является высоко полиморфным, что приводит к большому количеству аминокислотных замен и нарушает транспорт как эндогенных, так и экзогенных катионов через мембрану гепатоцитов. В литературе представлены противоречивые данные о вкладе полиморфизма данного гена в формировании СПКЯ. Данные о вкладе полиморфизма гена в

формирование СПКЯ достаточно противоречивы. Некоторые авторы считают, что ген *OCT1* не принимает участия в генезе ПКЯ, олигоменореи или ГА, однако может способствовать развитию ИР и СД2 [26]. Анализ распределения генотипов *OCT1* (rs6282031) продемонстрировал ассоциацию генотипа А/А с формированием СПКЯ. Это повышает риск формирования синдрома в 3 раза. Однако не удалось выявить взаимосвязь генотипа А/А *OCT1* (rs6282031) с отдельными проявлениями СПКЯ.

Группа немецких исследователей представила данные о том, что ген *SLCO1B1* - транспортер органических анионов (solute carrier organic anion transporter), участвует в регуляции накопления субстратов для синтеза ДЭА-С [95]. Полиморфизма гена может оказывать влияние на конъюгацию эстрогенов и, вероятно, на синтез ПССГ. С аллель гена *SLCO1B1* (rs414956, 521 Т>С) ассоциировалась с более высоким ИМТ и повышенным уровнем гликированного гемоглобина [144]. Согласно результатам проведенного исследования генотип С/С гена *SLCO1B1* (rs4149056) увеличивает риски СПКЯ в 5 раз и ассоциируется с более высоким уровнем глюкозы на фоне проведения ГТТ.

Примечательно, что гены *SLCO1B1* и *OCT1* кодируют транспортные белки, осуществляющие перенос эндогенных и экзогенных органических катионов и анионов через мембрану гепатоцитов. Результаты ряда исследований указывают на важную роль данных транспортеров в физиологии гепатоцитов, а современные рекомендации по разработке лекарственных средств включают обязательное исследование их взаимодействия с белками *OATP1B1* и *OCT1*, кодируемыми данным генами [97].

Таким образом, из 6 исследованных полиморфных локусов, для которых установленна ассоциация с СПКЯ, 4, вероятно, играют роль в формировании ИР и метаболической дисфункции, и только 2 предположительно участвуют в регуляции стероидогенеза и созревании фолликулов. Результаты сравнительного анализа генотипирования пациенток с СПКЯ и здоровых женщин указывают на полигенную природу СПКЯ и, частично, могут объяснить гетерогенность клинической картины заболевания.



Разнообразие клинических форм СПКЯ привело к пересмотру диагностических критериев синдрома на объединенной конференции Европейского общества репродукции и эмбриологии человека (European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE) и Американского общества репродуктивной медицины (American Society for Reproductive Medicine, ASRM) в Роттердаме в 2003 году [166]. Согласно Роттердамским критериям были выделены 4 фенотипа синдрома: 3 андрогенных - классический (ГА + ПКЯ + ОМ), ановуляторный (ГА + ОМ), овуляторный (ГА + ПКЯ) и неандрогенный (ПКЯ + ОМ), его существование признают не все эндокринологические школы. Так, по критериям Национального института здоровья США (НИН, 1990) и рекомендациям Общества по гиперандрогенным состояниям и СПКЯ (AE-PCOS Society, 2006) ГА должна являться обязательным диагностическим критерием СПКЯ, что исключает существование неандрогенного фенотипа. По сводным данным доля неандрогенного фенотипа варьирует от 13,0% до 38,7% [39]. Согласно результатам проведенного нами исследования она составляет 30%. Наиболее распространенным оказался фенотип А - 62,9%, фенотипы В и С встречались относительно редко в 2,8% и 4,9% случаев, что прослеживается и в ряде других исследований. Следует заметить, что статистика по частоте выявления разных фенотипов СПКЯ основывается, преимущественно, на результатах клинических исследований, включающих женщин с СПКЯ, обратившихся за помощью в медицинские центры, а не на данных эпидемиологических исследований. По данным мета-анализа R.Azziz и соавторов (2016) частота классического фенотипа А по обращаемости составляет в среднем 50%, в то время как по эпидемиологическим данным только 19%. В противоположность, частота неполных фенотипов В и С в популяции значительно выше, по некоторым составляет 25% и 34% против 13% и 14%. В то время, как, частота фенотипа D не зависела от метода формирования выборки и составила 17% в клинических исследованиях и 19% в эпидемиологических [39].

Значительно большая частота фенотипа А в клинических исследованиях указывает на то, что за медицинской помощью обращаются женщины с более

выраженными эндокринно-метаболическими нарушениями. Можно говорить о наличии репродуктивных преимуществ овуляторного фенотипа С, способствующих эволюционному закреплению фенотипа в популяции. По данным Carmina и соавторов около (2012) около 7% пациенток с фенотипом А, 20% - с фенотипом В и 11,5% - с фенотипом С со временем могут изменить свой фенотип на неандрогенный или овуляторный, еще у 8% диагноз СПКЯ может быть снят к 35 - 40 годам. Однако, вероятно, что большая часть женщин сохранит фенотип неизменным на протяжении всего репродуктивного периода.

В рамках выполненной работы был проведен сравнительный анализ анамнестических данных, показателей гормонального и метаболического профиля пациенток с различными фенотипами СПКЯ, а также был проведен поиск молекулярно-генетических предикторов формирования андрогенных фенотипов. Согласно полученным данным пациентки с ГА имеют более длительные задержки менструаций, различий по времени дебюта заболевания, частоте аменореи, длительности бесплодия не установлено ( $p > 0,05$ ). Для пациенток с андрогенными фенотипами характерна более высокая частота гиперсекреции ЛГ и закономерное повышение уровней андрогенов, лежащее в основе формирования овуляторной дисфункции.

С клинической точки зрения важным является вопрос об уровнях АМГ при разных фенотипах СПКЯ. Данные литературы на эту тему немногочисленные и достаточно противоречивые. По выводам Riouca и соавторов уровень АМГ прогрессивно снижается от фенотипа А к фенотипу D [23], по сведениям Sahmay S. и Romualdi D наиболее высокие уровни АМГ были обнаружены при фенотипах А и D [139, 165]. В литературе можно найти данные о том, что уровень АМГ у нормоандрогенных женщин с СПКЯ выше по сравнению со здоровыми сверстницами и еще больше повышен у гиперандрогенных женщин с СПКЯ. По результатам проведенного нами исследования более высокий уровень АМГ также был диагностирован при классическом фенотипе А. Его средние значения составляют  $17,9 \pm 11,6$  нг/мл и достоверно превышают аналогичные показатели при фенотипе В и D. Отсутствие статистически значимой разницы с фенотипом С

можно объяснить малочисленностью группы с овуляторной формой синдрома, поскольку эти женщины реже обращаются за медицинской помощью. Хотелось бы обратить внимание на значительное повышение среднего уровня АМГ при фенотипе В, для которого характерны нормальные размеры яичников. Это может быть связано с повышением функциональной активности гранулезных клеток, описанной при СПКЯ [20, 164]. Результаты ROC-анализа указывают на высокую информативность оценки уровня АМГ вне зависимости от фенотипа синдрома. Можно полагать, что введение АМГ в число диагностических критериев СПКЯ будет способствовать улучшению диагностики неполных форм синдрома, характеризующихся отсутствием ГА или овуляторной дисфункции.

В настоящее время активно изучается взаимосвязь АМГ с продукцией андрогенов и метаболической составляющей СПКЯ. По данным А. Guedikian (2017) уровень АМГ положительно коррелирует с процентным содержанием андроида жира, уровнем Тобщ, Тсв, А4, ЛГ, ЧАФ. Причем после поправки по ЧАФ зависимость с уровнями ЛГ и Тсв сохранилась, выявилась обратная корреляция с количеством и процентным содержанием общей жировой массы. Возможно взаимосвязь АМГ и ЛГ опосредована стимулирующим влиянием ЛГ на продукцию андрогенов. Так по данным некоторых исследований гранулезные клетки полученные от пациенток с СПКЯ, в отличие от клеток, полученных от здоровых женщин, повышают продукцию АМГ в ответ на воздействие ЛГ, частично благодаря чрезмерной стимуляции рецепторов ЛГ при СПКЯ. Более того мультицентровое исследование Риока А. свидетельствует о том, что уровень ЛГ является основным предиктором повышенного уровня АМГ в сыворотке крови [23]. В зарубежной литературе представлены данные об отрицательной корреляции АМГ и абсолютного и относительного количества жировой массы. Механизмы, опосредующие влияние жировой массы на уровень АМГ в сыворотке крови до сих пор не ясны, однако известно, что более низкий уровень ЛГ у пациенток с ожирением в сочетании с действием лептина воздействуют на клетки гранулезы, снижая экспрессию мРНК АМГ и указывая на вовлечение адипокинов в регуляцию продукции АМГ. Таким образом, АМГ является чувствительным и

специфичным маркером СПКЯ, его определение, вероятно, можно использовать даже в качестве самостоятельного диагностического критерия синдрома. Определение возрастных пороговых значений АМГ позволяет значительно увеличить чувствительность и специфичность метода и как следствие повысить точность диагностики СПКЯ. Введение возрастных нормативных значений АМГ, необходимых для диагностики СПКЯ, обосновывает перспективность проведения многоцентровых научных исследований.

До настоящего времени не достигнут консенсус о метаболических рисках при неандрогенном фенотипе СПКЯ. Большинство авторов указывают на более низкую частоту НТГ, ИР и ДЛП при фенотипе D [3, 134, 142], однако результаты некоторых других исследований указывают на отсутствие различий [109] более тяжелое течение и высокую частоту ИР и ДЛП у пациенток без ГА [64, 83]. Приступая к обсуждению особенностей метаболического профиля пациенток с различными фенотипами СПКЯ целесообразно отметить, что все подгруппы с фенотипами А, В и D были сопоставимы по ИМТ, в то время как пациентки с фенотипом С имели достоверно более низкий ИМТ по сравнению с женщинами с классическим андрогенным фенотипом. Согласно результатам проведенного исследования пациентки с классическим фенотипом А имели наибольшую частоту НТГ, ГИ и ИР, значительно превышающую частоту данных показателей в группе с неандрогенным фенотипом D. Наиболее благоприятным метаболическим профилем характеризовались пациентки с овуляторным фенотипом С. Данное наблюдение согласуется с представлением о том, что овуляторная дисфункция может быть опосредована ИР. Анализ частоты и характера ДЛП также позволил определить фенотипы А и В, как наиболее неблагоприятные по сравнению с фенотипами С и D. Таким образом, фенотип D характеризуется менее выраженной метаболической дисфункцией, а благополучие фенотипа С можно в определенной степени объяснить более низким ИМТ. Результаты проведенного исследования согласуются с данными, свидетельствующими о более высокой частоте метаболического синдрома у пациенток с СПКЯ, диагностированным в соответствии с АЕ-PCOS критериями (фенотипы А + В + С Роттердамских

критериев) по сравнению с нормоандрогенным СПКЯ (фенотип D) [3, 134, 142]. Вероятно, это объясняется более высокой частотой ожирения, уровня инсулина в данной группе больных и корреляцией указанных показателей с уровнем андрогенов. Результаты проведенного нами исследования указывают на более высокую частоту НТГ, ИР и ДЛП у пациенток с комбинированной ГА по уровню А4 и Тобщ. Однако, пациентки с фенотипом D также имеют повышенные риски развития метаболической дисфункции по сравнению со здоровыми женщинами. Это обосновывает проведение дальнейших исследований, направленных на изучение выраженности НТГ, ИР и ДЛП у пациенток с СПКЯ без ГА и поиск предикторов неблагоприятных метаболических исходов у данной категории женщин.

С практической точки зрения представляется обоснованным раннее выявление пациенток с ГА и, как следствие, с повышенным риском развития СД2, ожирения, атеросклероза. Однако точно оценить андрогенный статус пациенток не всегда представляется возможным в силу юного возраста, проводимой ранее терапии комбинированными оральными контрацептивами или антиандрогенными лекарственными средствами. Кроме того возможность возрастной конверсии фенотипа также затрудняет установление репродуктивного фенотипа синдрома. Выявление генетических основ СПКЯ может не только повысить точность диагностики при наличии «стертой» формы СПКЯ, но и приблизить к пониманию патогенетических механизмов формирования различных фенотипов синдрома. В настоящем исследовании проведена сравнительная оценка распределения частоты аллелей и генотипов 42 локусов пациенток с классическим андрогенным фенотипом А и пациенток без клинической и биохимической ГА. Установлена ассоциация 3 полиморфных локусов с ГА при СПКЯ: *IRS1* (rs1801278), *FSHR* (rs2349415), *LHCGR* (rs12470652).

Известно, что нарушение функции инсулинового рецептора приводит к развитию выраженной ИР. Активация инсулинового рецептора является реакцией аутофосфорилирования. После связывания инсулина с  $\alpha$  субъединицей рецептора,  $\beta$  субъединицы фосфорилируют друг друга и в последующем — субстраты

инсулинового рецептора (IRS), которые обеспечивают трансляцию сигнала в ядро клетки. Эти активированные субстраты запускают каскад последующих процессов. Ассоциация СПКЯ с генами *IRS1* и *IRS2* была показана в нескольких исследованиях. Petermann и соавторы (2001) получили данные о более высокой частоте мутации Arg972 *IRS1* у пациенток с СПКЯ, хотя в исследовании El Mkaem (2001) данная взаимосвязь не обнаружена. Dilek S. и соавторы (2005) в свою очередь выявили на когорте женщин из Турции более высокую частоту мутации Gly972Arg при СПКЯ. Противоречивость результатов исследований можно частично объяснить межэтническими различиями. В настоящем исследовании среди пациенток с СПКЯ значительно чаще встречалось носительство А-аллеля гена *IRS1* (rs1801278), однако ввиду малой выборки установить тип наследования не удалось.

Повышенный уровень ЛГ рассматривают, как одни из пусковых факторов развития СПКЯ, поскольку он приводит к увеличению синтеза андрогенов, а отрицательная обратная связь в ответ на гиперсекрецию ЛГ - к относительному снижению уровня ФСГ, что в свою очередь может играть определенную роль в снижении конверсии андрогенов в эстрогены, усугубляя яичниковую ГА. Согласно результатам исследования носительство аллеля С гена *LHCGR* (rs12470652) увеличивает риск развития СПКЯ в 4,6 раз. Однако данная закономерность требует проведения дальнейших исследований, поскольку в исследуемой когорте не выявлено носителей генотипа С/С.

Другим геном-кандидатом развития СПКЯ, согласно результатам проведенного исследования, является полиморфизм гена *FSHR* (rs2349415), состоящего из 14 экзонов, расположенного на коротком плече 2 хромосомы. Взаимосвязь мутации гена *FSHR* (rs2349415) с развитием СПКЯ была ранее показана в ходе китайских полногеномных исследований.

Ассоциация СПКЯ с носительством полиморфных локусов *IRS1* (rs1801278), *FSHR* (rs 2349415), *LHCGR* (rs12470652) указывает на генетически детерминированный вклад нарушений функции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси и метаболической дисфункции в формирование синдрома.

Однако малый объем выборки не позволил установить взаимосвязь полиморфизма *IRSI* (rs1801278), *FSHR* (rs 2349415), *LHCGR* (rs12470652) с показателями гормонального и метаболического профиля женщин с СПКЯ. Исследования по изучению генетических основ различных фенотипов синдрома продолжаются. Следует отметить, что результаты некоторых исследований не позволяют исключить, что распределение пациенток с СПКЯ по фенотипам будет проводиться не только на основании клинической картины, но и с учетом генотипа пациентки.

Разнообразие клинических, биохимических и морфологических проявлений СПКЯ существенно затрудняет не только его диагностику, но и разработку оптимальных схем терапии. Симптоматическая терапия, основанная на применении комбинированных оральных контрацептивов, позволяет добиться ежемесячной менструальноподобной реакции и коррекции проявлений ГА, однако, не оказывает положительного влияния на метаболический статус. Исследования по изучению ИР, как патогенетического механизма формирования СПКЯ, начатые еще в 80 гг. прошлого века, послужили основанием для использования в клинической практике ИС - лекарственных препаратов, повышающих чувствительность к инсулину. Наиболее широко применяется для лечения СПКЯ МФ, на его фоне наблюдается снижение уровня андрогенов, инсулина, нормализация показателей углеводного обмена, регуляция менструального цикла. Терапия МФ не приводит к формированию «тонкого эндометрия», многоплодным беременностям, не требует тщательного УЗ-мониторинга в отличие от индукторов овуляции [106]. Регуляторный менструальный цикл на фоне терапии МФ восстанавливается у 45-60% женщин с СПКЯ. Хотя МФ изначально был рекомендован для лечения женщин с ИР, ожирением и НТГ, в ряде исследований было показано, что его эффективность не зависит от выраженности овуляторной дисфункции, наличия ожирения, НТГ и ГИ. В связи с этим в последние годы отношение к показаниям для назначения МФ при СПКЯ меняется. Согласно рекомендациям Европейского общества эндокринологов (2014) терапия МФ при СПКЯ возможна вне зависимости от

наличия ИР [116]. В клинических рекомендациях Австралийского общества по изучению СПКЯ (2015) указывается на целесообразность назначения МФ пациенткам с ИМТ < 30 кг/м<sup>2</sup> [73]. Обзор литературы показал, что, несмотря на 25-летний опыт применения МФ при СПКЯ до настоящего времени нет единого мнения относительно того, у какой категории пациенток следует ожидать регуляцию ритма менструаций и восстановление овуляции. Эксперты Европейского общества эндокринологов (2014) делают заключение, что необходимо проведение дальнейших исследований по поиску предикторов успешности терапии МФ [116]. В связи с этим одной из задач нашего исследования явилось выявление возможных прогностических критериев эффективности терапии МФ у пациенток с СПКЯ.

В результате 6 месячного курса терапии МФ восстановление регулярного ритма менструаций было достигнуто у 53,2% женщин, у 10,9% отмечалась заметная положительная динамика, однако сохранялась олигоменорея, в 35,9% случаев терапия оказалась неэффективной. Согласно полученным данным возраст пациенток, ИМТ, длительность задержек менструаций, а также исходные показатели углеводного обмена не влияли на вероятность восстановления ритма менструаций. Не выявлена также взаимосвязь успешности терапии с фенотипом синдрома. Эффективность терапии ассоциировалась с достоверно более низким содержанием АМГ и Тобщ в сыворотке крови. Исходные значения среднего уровня АМГ в группе пациенток, не ответивших на терапию, превышали показатели в группе с успешным лечением на 50,4%, средние значения Тобщ – на 15,8%. Это согласуется с современными представлениями о ведущей роли АМГ в дисрегуляции фолликулогенеза [159]. Была выявлена взаимосвязь эффективности терапии и индекса распределения жировой ткани А/G. Оказалось, что лучший ответ на терапию можно ожидать при более низких значениях А/G, не зависимо от ИМТ. ROC-анализ подтвердил прогностическую значимость 3-х показателей (АМГ, Тобщ и А/G).

Наибольшую «мощность» имела модель по оценке АМГ, пороговый уровень составил 13,3 нг/мл (чувствительность 67%, специфичность 66%).



Пороговый уровень Тобщ для предикции ответа на терапию составил 1,81 нг/мл (чувствительность - 65%, специфичность - 65%), пороговый уровень индекса A/G - 0,9 (чувствительность 90%, специфичность 50%). При значениях индекса A/G ниже порогового терапия МФ оказалась эффективной у 88% пролеченных пациенток, при более высоких показателях – только у 35,3%. Проведение многофакторного анализа не позволило выявить комбинацию клинических факторов, определяющих терапевтический исход. Это дает основание рассматривать уровень АМГ и Тобщ в сыворотке крови, а также индекс распределения жировой массы A/G, в качестве независимых предикторов эффективности терапии и обосновывает целесообразность проведения комплексного обследования перед началом терапии. Результаты проведенного исследования согласуются с данными K.Welt и соавт (2014). Авторы показали, что на фоне 12 недель терапии МФ в дозе 1500 мг/сут у 61% женщин с СПКЯ восстановился овуляторный менструальный цикл, эффективность терапии ассоциировалась с исходно более низким базальным уровнем Тобщ, не зависела от антропометрических показателей и результатов ГТТ. В указанном исследовании не определялся уровень АМГ, а оценка композиционного состава тела была проведена лишь у небольшого числа женщин [101].

Вторым этапом в поиске предикторов успешности терапии МФ стал анализ распределения частот аллелей и генотипов исследованных 42 локусов в группах пациенток в эффектом и без эффекта от терапии. Регуляция менструального цикла ассоциировалась с носительством генотипа C/C гена *FSHR* (rs2349415), генотипа Del/Del гена *OCT1* (rs113569197), а также с носительством Del в гене *ACE* (rs4340) и аллеля С гена *SLCO1B1* (rs4149056), для которых не установлен протективный генотип и тип наследования ввиду небольшого объема выборки.

В предшествующих исследованиях было показано, что МФ является субстратом специфического для печени гена транспортера органических катионов 1, *OCT1* и специфического для почек *OCT2* [48, 88], активность которых опосредует фармакокинетику и фармакодинамику МФ [173]. Показано, что концентрация МФ в печени мышей, лишенных *OCT1*, была значительно ниже по

сравнению с показателями группы мышей с сохранной функцией *OCT1*, а гипогликемический эффект полностью отсутствовал [154]. Это указывает на то, что экспрессия и активация *OCT1* являются необходимым условием для захвата МФ гепатоцитами [36]. Известно также о влиянии генотипа *OCT1*(rs6282031) на динамику глюкозы и инсулина на фоне терапии МФ у пациенток с СПКЯ, однако в исследовании не указывается на взаимосвязь генотипа с коррекцией овуляторной дисфункции [26].

Нам не удалось найти данные в доступной литературе о взаимосвязи генов *FSHR* (rs2349415), *ACE* (rs4340) и *SLCO1B1* (rs4149056) с терапевтическим эффектом МФ. Однако можно предположить, что ген *SLCO1B1* (транспортер органических анионов), полиморфизм которого согласно результатам проведенного нами исследования, ассоциирован с повышенным уровнем глюкозы на фоне ГТТ, является транспортером эндогенных субстанций, необходимых для реализации внутриклеточного действия МФ, в гепатоциты. В литературе представлены данные о зависимости ответа яичников на индукцию овуляции в программах ВРТ от полиморфизма гена *FSHR* у женщин с нормальной функцией яичников. Некоторые же исследования указывают на прогностическую ценность полиморфизма данного гена для выявления женщин группы риска по СГЯ.

На основе многофакторного анализа гормональных, метаболических параметров и частоты генотипов пациенток с эффектом от терапии и без такового была разработана математическая модель, применение которой может позволить прогнозировать вероятность регуляции ритма менструаций на фоне терапии МФ. Данная модель включает определение генотипа *FSHR* (rs2349415) и уровня АМГ, демонстрирует чувствительность равную 83% и специфичность равную 60% при пороговом уровне АМГ 13,3нг/мл. Для валидации данной модели необходимо проведение дальнейших исследований.

Изучение гормональных показателей на фоне проводимой терапии не показало существенной динамики ЛГ и ФСГ в общей группе больных с СПКЯ. Значительное снижение уровня ЛГ было отмечено только у пациенток с ГА, которые характеризовались изначально более высоким значением показателя.

Считается, что эффект МФ на функциональное состояние гипофизарно-яичниковой системы может опосредоваться путем снижения амплитуды пиков ЛГ и секреции андрогенов, независимо от восстановления чувствительности тканей к инсулину [34, 102]. Таким образом, настоящее наблюдение позволяет предположить, что у пациенток с СПКЯ МФ оказывает селективное снижение секреции ЛГ при исходном нарушении его продукции. На фоне МФ содержание Тобщ снизилось на 21,7%, А4 – на 21,0 ( $p > 0,05$ ). У 43,2% пациенток с андрогенными фенотипами наблюдалась полная коррекция биохимической ГА, а также уменьшение биодоступности андрогенов за счет повышения синтеза ПССГ. Значительное снижение содержания Тобщ в сыворотке крови и повышение ПССГ наблюдалось лишь в группе пациенток, ответивших на терапию восстановлением ритма менструаций. Выявленная взаимосвязь коррекции ГА и олигоменореи подтверждает роль избытка андрогенов в генезе овуляторной дисфункции при СПКЯ. Учитывая отсутствие существенной динамики уровней инсулина, можно предположить, что эффект терапии в значительной степени опосредуется прямым влиянием МФ на стероидогенез в яичниках.

Полученные данные о преимущественном снижении уровня АМГ в группе пациенток с полным ответом на терапию согласуются с данными о ведущей роли АМГ в блокаде роста и созревания фолликулов и возникновении ановуляции. На это косвенно указывает результаты ряда исследований о фенотипических различиях продукции АМГ при СПКЯ. Так, было показано, что пациентки с овуляторным фенотипом СПКЯ имеют более низкие уровни АМГ по сравнению с не овуляторными фенотипами. Результаты проведенного исследования дают основания оценивать динамику уровней АМГ и Тобщ для контроля терапии и решения вопроса о целесообразности ее продолжения. К числу же первых публикаций о влиянии МФ на уровень АМГ при СПКЯ относится исследование Piltonen (2005). Значимое снижение АМГ наблюдалось вне зависимости от дозы МФ (1000 мг/сут или 1500 мг/сут). Схожие результаты представлены в ряде других работ, при назначении МФ в дозах 1700 мг в сутки (Falbo) и 2550 мг в сутки (Fleming). Хотя есть публикации и об отсутствии влияния МФ на уровень

АМГ [34, 52]. Полученные нами данные о снижении содержания АМГ можно объяснить двумя основными механизмами: прежде всего редукцией ЧАФ, сочетающейся со снижением массы тела, а также ингибирующим эффектом МФ на активность клеток гранулезы, опосредованный нормализацией секреции инсулина [156]. Возможны и другие механизмы действия МФ на клетки гранулезы, в частности, за счет снижения продукции провоспалительных факторов через АМФК-зависимые пути. Не исключают также тканеспецифическое действие МФ, опосредованное избирательной нормализацией активности митохондрий в клетках гранулезы [11].

Нормализация менструального цикла, коррекция ГА у пациенток с СПКЯ на фоне МФ сочеталась с улучшением метаболического профиля пациенток с СПКЯ. Отмечено не только снижение массы тела в среднем на  $4,2 \pm 3,8$  кг за 6 месяцев терапии, но и перераспределение регионального отложения жировой массы с уменьшением андроидного компонента, что нашло отражение в снижении индекса А/G. Показатели тощаковой и стимулированной гликемии не претерпели существенных изменений, в то время как снижение уровня тощакового инсулина оказалось значимым ( $p < 0,05$ ) и привело к снижению индекса НОМА-ИР ( $p < 0,05$ ).

Частота наступления беременности на фоне монотерапии МФ составила 37,5%. Это сопоставимо с эффективностью непрямых индукторов овуляции (кломифена цитрата и летрозола) [117]. Анализ гестационных осложнений свидетельствует об осложненном течении беременности. Частота ГСД составила 18,2%, что несколько превышает популяционные показатели (7-14%) [7] и соответствует показателям заболеваемости для женщин с СПКЯ – 20% - 40% [125]. Не установлено существенных различий по частоте преэклампсии (6%) и артериальной гипертензии (9%) по сравнению с данными европейских авторов - 8% и 12% соответственно [50, 94]. Частота прерывания беременности на ранних сроках при СПКЯ по данным австралийского исследования здоровья женщин составляет 20%, согласно представленным данным – 15%. Актуальным и нерешенным остается вопрос оптимальной длительности терапии МФ. Его решение во многом определяется репродуктивными планами. Почти в 90%

случаев беременность наступает в первые 3 месяца приема препарата. При отсутствии эффекта целесообразно дополнительное назначение индукторов овуляции. У пациенток, не заинтересованных в беременности и нежелающих принимать комбинированные оральные контрацептивы, сохранение ГА после 6 месяцев МФ, обосновывает проведение более длительных курсов терапии.

На основании результатов проведенного исследования можно сделать заключение о достаточно высокой эффективности терапии МФ при СПКЯ, которая не зависит от возраста пациенток, характера нарушений менструального цикла, ИМТ, наличия ИР, ГИ, НТГ. Предикция регуляции ритма менструаций на фоне терапии возможна по исходным значениям уровней АМГ (менее 13,3 нг/мл) и Т общ (менее 1,81 нг/мл) в сыворотке крови, а также по индексу распределения жировой ткани А/Г (менее 0,9), определяемому при денситометрии.

Проведенное исследование позволило установить математическую модель, с помощью которой можно прогнозировать успешность терапии СПКЯ МФ. Согласно представленной модели, в которую вошли уровень АМГ в сыворотке крови и генотип *FSHR* (rs2349415), у пациенток с уровнем АМГ менее 13,3 нг/мл и гентипом С/С гена *FSHR* (rs2349415) вероятность регуляции ритма менструаций равна 100%, в то время как у пациенток с уровнем АМГ более 13,3 нг/мл и генотипом Т/\* гена *FSHR* (rs2349415) только 37,5%. Данная модель нуждается в дальнейшем изучении и валидации метода. Прогнозирование ответа на терапию МФ позволит оптимизировать тактику ведения пациенток с СПКЯ, при заведомо неблагоприятном прогнозе целесообразно выбирать альтернативные методы или комбинированную терапию.

## ВЫВОДЫ

1. В структуре гормонально-ассоциированных заболеваний репродуктивной системы доля пациенток с СПКЯ составляет 18,4%, у каждой 2й диагностируется классический фенотип (А), у каждой 3й – неандрогенный фенотип (D), в более редких случаях (6,9% и 5,7%) овуляторный (С) и андрогенный фенотипы (В). Для фенотипа А характерна большая частота аменореи, более высокие уровни ЛГ и АМГ.
2. СПКЯ ассоциирован с полиморфизмом генов *SLCO1B1* (OR=5,19, p=0,02), *Rub5B/SUOX* (OR=3,66, p=0,004), *THADA* (OR=2,39, p=0,01), *YAP1* (OR=2,20, p=0,02), *OCT1* (OR=3,05, p=0,002), *DENND1A* (OR=2,31, p=0,03), ответственных за процессы деления клеток, стероидогенез, фолликулогенез, а также транспорт органических ионов в гепатоцитах. Формирование андрогенных фенотипов СПКЯ связано с полиморфизмом генов *IRS1* (OR=6,29, p=0,04), *LHCGR* (OR=4,61, p=0,03) и *FSHR* (p=0,04).
3. Комплексная оценка андрогенного профиля позволяет повысить выявляемость ГА с 37,4%, (по уровню Тобщ) до 67,7%, при этом наибольший вклад вносит определение содержания андростендиона, повышение которого ассоциировано с более высоким уровнем инсулина и значением индекса НОМА, что позволяет рассматривать его в качестве маркера метаболической дисфункции.
4. Вне зависимости от репродуктивного фенотипа синдрома уровень АМГ выше 5,2 нг/мл является более информативным маркером СПКЯ, чем традиционное измерение объема яичников и подсчет числа антральных фолликулов. Определение возрастных пороговых значений АМГ позволяет значительно повысить точность диагностики СПКЯ.
5. СПКЯ характеризуется достаточно высокой частотой метаболических нарушений в виде НТГ - 17,8%, ИР - 32,5%, ГИ – 25,2%, ДЛП - 37,6%, ожирения и избыточной массы тела – 31,1%. Помимо этого, у каждой 2-й

пациентки с ИМТ менее  $25\text{кг/м}^2$  диагностируется избыток жировой ткани, свидетельствующий о «скрытом ожирении».

6. Терапия метформином независимо от репродуктивного фенотипа СПКЯ является эффективным подходом к негормональной коррекции овуляторной дисфункции. Шестимесячный курс метформина (1500 мг/сут) приводит к восстановлению ритма менструаций у каждой 2-й пациентки, к наступлению беременности – у каждой 3-й. Регуляция ритма менструаций ассоциирована со снижением уровня АМГ ( $p=0,021$ ), Тобщ ( $p=0,002$ ), А4 ( $p=0,006$ ) и повышением уровня ПССГ ( $p=0,002$ ).
7. Наибольшей прогностической значимостью для восстановления ритма менструаций обладает модель, включающая уровень АМГ в сыворотке крови и полиморфизм гена *FSHR* (rs2349415) ( $AUC=0,8$ ,  $Se=82.1\%$ ,  $Sp=54.5\%$ ,  $p=1^{0-4}$ ). Вероятность ответа на терапию при уровне АМГ менее 13,3 нг/мл и генотипом С/С гена *FSHR* достигает 100%, при уровне АМГ более 13,3 нг/мл и носительстве Т-аллеля – только 37,5%.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При подозрении на СПКЯ выявление биохимической ГА должно основываться на комплексной оценке андрогенного профиля, включающей определение не только уровня Тобщ, но и Тсв и А4. Это позволяет повысить точность диагностики ГА почти в два раза, при этом наибольший вклад в диагностику ГА вносит определение уровня А4, повышение которого характерно для каждой 2-й больной с СПКЯ. Гиперандрогения по уровню А4 может рассматриваться как предиктор метаболической дисфункции у пациенток с СПКЯ.
2. Вне зависимости от фенотипа синдрома повышение уровня АМГ более 5,2 нг/мл следует рассматривать более информативным диагностическим критерием СПКЯ, чем увеличенный объем яичников и ЧАФ. Применение по возрастных пороговых значений АМГ с учетом возрастной категории пациентки.
3. Для выявления группы риска по развитию метаболической дисфункции в комплекс обследования пациенток с СПКЯ целесообразно включить проведение денситометрии для оценки композиционного состава тела, позволяющей выявить избыток жировой ткани, установить характер ее распределения и диагностировать «скрытое ожирение», которое можно ожидать у каждой 2-й пациентки с нормальным ИМТ.
4. Оценку метаболических рисков целесообразно проводить с помощью 2-х часового глюкозотолерантного теста с определением секреции инсулина, что позволяет дополнительно выявить НТГ у каждой 10-й пациентки с СПКЯ, гиперинсулинемию - у каждой 5-й.
5. Диагностика СПКЯ должна включать определение репродуктивного фенотипа, это позволит выделить группу пациенток с классическим андрогенным фенотипом А, имеющую наиболее высокий риск развития метаболического синдрома.



6. С целью коррекции эндокринно-метаболических нарушений у пациенток с СПКЯ целесообразно проведение терапии инсулиносенситайзером МФ вне зависимости от наличия ожирения, гиперинсулинемии и НТГ. На фоне 6-ти месячного курса метформина (1500 мг/сут) регуляцию ритма менструаций можно ожидать у каждой 2-й пациентки без дополнительного назначения прогестагенов. Достижение беременности возможно у каждой 3-й пациентки из числа заинтересованных, без применения индукторов овуляции, при этом более 80% беременностей наступают в течение первых 3-х месяцев терапии. Снижение уровня АМГ, Тобщ, А4 и повышение уровня ПССГ является прогностически благоприятным фактором при принятии решения о пролонгировании курса.
7. Прогнозирование эффективности негормональной терапии МФ возможно с учетом исходного уровня АМГ в сыворотке крови и полиморфизма гена *FSHR* (rs2349415), восстановление регулярного ритма менструаций можно ожидать у пациенток с уровнем АМГ менее 13,3 нг/мл и генотипом С/С гена *FSHR* (rs2349415).

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АМГ – антимюллеров гормон

А4 - андростендион

ГА – гиперандрогения

ГИ – гиперинсулинемия

ГТТ – глюкозотолерантный тест

ДЛП -дислипидемия

ИР - инсулинорезистентность

ИС – инсулинсенситайзеры

МС – метаболический синдром

МФ - метформин

ПКЯ - поликистозные яичники

ПССГ – половые стероиды связывающий глобулин

СД2 – сахарный диабет 2 типа

СПКЯ – синдром поликистозных яичников

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

Тобщ – тестостерон общий

Тсв – тестостерон свободный

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Антимюллеров гормон как предиктор менструального ответа при лечении женщин с синдромом поликистозных яичников с помощью изменения образа жизни и терапии метформином / П.В. Попова, Е.М. Рязанцева, О.Е. Рулёва [и др.] // Вестник репродуктивного здоровья. – 2010. – №3-4. – с. 24-29.
2. Беглова, А.Ю. Полиморфизм генов CYP11a1, CYP17, CYP19 у женщин репродуктивного возраста с синдромом поликистозных яичников / А.Ю. Беглова, С.И. Елгина, Л.А. Гордеева // Акушерство и гинекология. – 2019. – Vol.12. P. 148–153.
3. Блинова И.В. Функциональное состояние эндотелия и особенности эндокринно-метаболического профиля больных с различными фенотипами синдрома поликистозных яичников. Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд.мед.наук. (14.00.01)/ Блинова Ирина Владимировна; ФГБУ НЦ АгиП им.В.И.Кулакова. – Москва. - 2009. - 28 с. 132
4. Боярский, К. Ю. Роль антимюллера гормона (АМГ) в норме и при различных гинекологических заболеваниях / К.Ю. Боярский, С.Н. Гайдуков, Е.А. Машкова // Журнал Акушерства и женских болезней. – 2009. - Т. 58, № 3. – С. 74-83.
5. Ванян З.Э. Клинико-диагностическое значение аутоиммунных и генетических факторов при “бедном” овариальном ответе на стимуляцию суперовуляции в программах вспомогательных репродуктивных технологий. Автореферат дис. ...канд. мед. наук: 14.00.01 / 2014. -27с.
6. Полиморфизм гена FMR1 при синдроме поликистозных яичников / Г.И. Табеева, Ю.И. Немова, А.А. Найдуква [et al.] // Акушерство и гинекология. – 2016. - №3. – с. 50-56.
7. Российский Национальный Консенсус: Гестационный сахарный диабет: диагностика, лечение, послеродовое наблюдение. Российская ассоциация эндокринологов. Российская ассоциация акушеров-гинекологов. ФГБУ «

- Эндокринологический Научный центр» МЗ РФ (2012). Приняты в 2012 г. на VI Всероссийском конгрессе эндокринологов. Утверждены на VI Всероссийском диабетологическом конгрессе и на 14 Всероссийском научном форуме «Мать и Дитя». Москва, - 2012. – 18 с.
8. Стрельченко, Д.А. Предикторы синдрома гиперстимуляции яичников в программе ЭКО / Д.А. Стрельченко, С.Г. Перминова, А.Е. Донников // *Акушерство и гинекология*. – 2015. - №10. - С. 19-26.
  9. Чернуха, Г.Е. Эндокринно-метаболические характеристики больных с различными фенотипами синдрома поликистозных яичников / Г.Е. Чернуха, И.В. Блинова, М.И. Купрашвили // *Акушерство и гинекология*. – 2011. № 2. – с. 70-76.
  10. A Possible New Mechanism in the Pathophysiology of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Discovery That Leukocyte Telomere Length Is Strongly Associated With PCOS / Q. Li, J. Du, R. Feng [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2014. – Vol. 99, № 2. – P. 234 – 240.
  11. A possible role for AMP-activated protein kinase activated by metformin and AICAR in human granulosa cells / Y. Kai, Y. Kawano, H. Yamamoto [et al.] // *ReprodBiolEndocrinol*. – 2015. – Vol.13, №27. P. 8.
  12. A validated model of serum anti-mullerian hormone from conception to menopause / T.W. Kelsey, P. Wright, S.M. Nelson [et al.] // *PLoS One*. – 2011. – Vol.6, № 7. – P. 22024.
  13. Action of Metformin on the Insulin-Signaling Pathway and on Glucose Transport in Human Granulosa Cells / S. Rice, L.J. Pellatt, S.J. Bryan [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2011. – Vol. 96, № 3. – P. 427–435.
  14. Adrenal androgen excess and body mass index in polycystic ovary syndrome / C. Moran, M. Arriaga, F. Arechavaleta-Velasco, S. Moran // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2015. – Vol.100, №3. - P. 942–950.
  15. American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endocrinology, and Androgen Excess and PCOS Society Disease. State clinical

- review: guide to the best practices in the evaluation and treatment of polycystic ovary syndrome, Part 1 / N.F. Goodman, R.H. Cobin, W. Futterweit [et al.] // *Endocr Pract.* - 2015. Vol.21, №11. P. 1291-1300.
16. AMH measurement versus ovarian ultrasound the diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS) in different phenotypes / E. Carmina, A.M. Campagna, F. Fruzzetti [et al.] // *Endocr Pract.* - 2016. - Vol.22, № 3. - P. 287-293.
17. AMH: An ovarian reserve biomarker in assisted reproduction / C. Peluso, F.L. Fonseca, I.F. Rodart [et al.] *Clin Chim Acta.* - 2014. - Vol. 437, P. 175–182.
18. Androgen Excess Society. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline / R. Azziz, E. Carmina, D. Dewailly [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* - 2006. - Vol.91, №11. - P. 4237-4245.
19. Anthropometric characteristics and dietary pattern of women with polycystic ovary syndrome / A. Ahmadi, M. Akbarzadeh, F. Mohammadi [et al.] // *Indian J Endocrinol Metab.* - 2013. - Vol.17, №4. P. 672–676.
20. Antimüllerian hormone and polycystic ovary syndrome / Y-H Lin, W-C. Chiu, C-H. Wu [et al.] // *Fertil Steril.* - 2011. - Vol.96, № 1. - P. 230–235.
21. Anti-Müllerian hormone gene polymorphism is associated with androgen levels in Chinese polycystic ovary syndrome patients with insulin resistance / M-X. Zheng, Y. Li, R. Hu [et al.] // *J Assist Reprod Genet.* - 2016. - Vol. 33, № 2. - P. 199–205.
22. Anti-Müllerian hormone levels are independently related to ovarian hyperandrogenism and polycystic ovaries / R.L. Rosenfield, K. Wroblewski, V. Padmanabhan [et al.] // *Fertil Steril.* - 2012. - Vol.98, № 1. - P. 242-249.
23. Anti-Müllerian hormone levels reflect severity of PCOS but are negatively influenced by obesity: relationship with increased luteinizing hormone levels / A. Piouka, D. Farmakiotis, I. Katsikis [et al.] // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* - 2009. - Vol.296, № 2. - P. 238-243.

24. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging / A. de Vet, J.S. Laven, F.H. de Jong [et al.] // *Fertil Steril.* – 2002. – Vol. 77, № 2. – P. 357–362.
25. Assessment of cardiovascular risk and prevention of cardiovascular disease in women with the polycystic ovary syndrome: a consensus statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome (AE-PCOS) Society / R.A. Wild, E. Carmina, E. Diamanti-Kandarakis [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2010. – Vol. 95, № 5. – P. 2038–2049.
26. Association between Polymorphism of OCT1 and Metabolic Response to metformin in women with polycystic ovary syndrome / H.H. Chang, Y-S. Hsueh, Y.W. Cheng [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2019. – Vol. 20, № 7. – P. 1720.
27. Association of 18 confirmed susceptibility loci for type 2 diabetes with indices of insulin release, proinsulin conversion, and insulin sensitivity in 5,327 nondiabetic Finnish men / A. Stancakova, T. Kuulasmaa, J. Paananen [et al.] // *Diabetes.* – 2009. – Vol. 58, № 9. – P. 2129–2136.
28. Association of androgen receptor CAG repeat polymorphism and polycystic ovary syndrome / N.A. Shah, H.J. Antoine, M. Pall [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2008. – Vol. 93, № 5. – P. 1939–1945.
29. Back to the basics of ovarian aging: a population-based study on longitudinal anti-Müllerian hormone decline / A.C. de Kat, Y.T. van der Schouw, M.J. Eijkemans [et al.] // *BMC Med.* – 2016. – Vol. 14, № 1. P. 151.
30. Barry, J.A. Risk of endometrial, ovarian and breast cancer in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis / J.A. Barry, M.M. Azizia, P.J. Hardiman // *Hum Reprod Update.* – 2014. – Vol. 20, № 5. – P. 748–758.
31. Burghen, G.A. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease / G.A. Burghen, J.R. Givens, A.E. Kitabchi. *J Clin Endocrinol Metab.* – 1980. – Vol. 50, № 1. – P. 113–116.

32. CAG repeat polymorphism in androgen receptor gene is not directly associated with polycystic ovary syndrome but influences serum testosterone levels / L. Skrgatic, D.P. Baldani, J.Z. Cerne [et al.] // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2012. – Vol.128, №3-5. – P.107-112.
33. Can anti-Müllerian hormone predict the diagnosis of polycystic ovary syndrome? A systematic review and meta-analysis of extracted data / S. Iliodromiti, T.W. Kelsey, R.A. Anderson, S.M. Nelson // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2013. – Vol.98, №8. – P.3332-40.
34. Carlsen, S.M. Anti-Müllerian hormone concentrations in androgen-suppressed women with polycystic ovary syndrome / S.M. Carlsen, E. Vanky, R. Fleming // *Hum Reprod.* – 2009. – Vol.24, № 7. – P. 1732-1738.
35. Changes in anti-Müllerian hormone serum concentrations over time suggest delayed ovarian ageing in normogonadotrophic anovulatory infertility / A.G.M.G.J. Mulders, J.S.E. Laven, M.J.C. Eijkemans [et al.] // *Hum Reprod.* – 2004. – Vol. 19, № 9. – P. 2036-2042.
36. Clinical Pharmacokinetics of Metformin / G.G. Graham, J. Punt, M Arora [et al.] // *Clin Pharmacokinet.* – 2011. – Vol. 50, № 2. – P. 81–98. (171)
37. Common variant rs9939609 in gene FTO confers risk to polycystic ovary syndrome / T. Li, K. Wu, L. You [et al.] // *PLoS ONE.* – 2013. – Vol.8, №7. – e66250.
38. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group / B.C.J.M. Fauser, B.C. Tarlatzis, R.W. Rebar [et al.] // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 97, №1, - P.-28-38
39. Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome / D. Lizneva, L. Suturina, W. Walker [et al.] // *Fertil Steril.* – 2016. – Vol, № 1. – P.6–15.
40. Cross-ethnic metaanalysis of genetic variants for polycystic ovary syndrome / Y.V. Louwers, L. Stolk, A.G. Uitterlinden, J.S. Laven. // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2013. – Vol.98, № 12. – P. 2006–2012.

41. Cut-Off Levels of Anti-Mullerian Hormone for The Prediction of Ovarian Response, In Vitro Fertilization Outcome and Ovarian Hyperstimulation Syndrome / A. Salmassi, L. Mettler, J. Hedderich [et al.] // Royan Institute International Journal of Fertility and Sterility. – 2015. – Vol. 9, № 2. – P. 157-167.
42. CYP19 gene: a genetic modifier of polycystic ovary syndrome phenotype / N. Xita, L. Lazaros, I. Georgiou, A. Tsatsoulis // Fertility and Sterility. – 2010. - Vol.94, № 1. – P. 250-254.
43. Defining hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome: a challenging perspective / R. Pasquali, L. Zanotti, F. Fanelli [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 2016. – Vol.101, №5. - P. 2013-2022.
44. Delayed diagnosis and a lack of information associated with dissatisfaction in women with polycystic ovary syndrome / M. Gibson-Helm, H. Teede, A. Dunaif [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 2017. - Vol. 102, №2. – P. 604–612.
45. Diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS): revisiting the threshold values of follicle count on ultrasound and of the serum AMH level for the definition of polycystic ovaries / D. Dewailly, H. Gronier, E. Poncelet [et al.] // Hum Reprod. – 2011. – Vol. 26, № 11. – P. 3123–3129.
46. Diamanti-Kandarakis, E. Insulin Resistance and PCOS / E. Diamanti-Kandarakis, A. Dunaif. // Endocrine Reviews. – 2012. – Vol.33, №6. – P. 981–1030.
47. Donnelly L.A. Adherence in patients transferred from immediate release metformin to a sustained release formulation: a populationbased study / L.A. Donnelly, A.D. Morris, E.R. Pearson // Diabetes Obes. Metab. – 2009. -Vol. 11. № 4. - P. 338-342.
48. Dresser, M.J. Transporters involved in the elimination of drugs in the kidney: Organic anion transporters and organic cation transporters / M.J. Dresser, M.K. Leabman, K.M. Giacomini // J. Pharm. Sci. – 2001. – Vol. 90, № 4. – P. 397–421.



49. Dumesic, D.A. Cancer risk and PCOS / D.A. Dumesic, R.A. Lobo // *Steroids*. – 2013. – Vol.78, №8. – P. 782-5.
50. Early trophoblast invasion and placentation in women with different polycystic ovary syndrome phenotypes / S. Palomba, A. Falbo, G. Chiossi [et al.] // *Reprod Biomed Online*. - 2014c. – Vol.29, № 3. P. 370–381.
51. Effect of a short CAG (glutamine) repeat on human androgen receptor function / D. Ding, L. Xu, M. Menon, G.P. Reddy, E.R. Barrack // *Prostate*. – 2004. – Vol.58, №1. – P. 23-32.
52. Effect of metformin on the level of anti-Mullerian hormone in therapy of polycystic ovary syndrome in obese women / O. Grigoryan, J. Absatarova, E. Andreeva [et al.] // *Minerva Ginecol*. – 2014. – Vol. 66, № 1. – P. 85-89.
53. Efficacy of metformin in type 2 diabetes: results of a double-blind, placebo-controlled, dose-response trial / A.J. Garber, T.G. Duncan, A.M. Goodman [et al.] // *Am. J. Med.* – 1997. - Vol. 103. № 6. - P. 491-497.
54. Elevated serum androstenedione is associated with a more severe phenotype in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) / N.A. Georgopoulos, E. Papadakis, A.K. Armeni [et al.] // *Hormones (Athens)*. – 2014. – Vol.13, №2. – P. 213-221.
55. Endometrial progesterone resistance and PCOS / X. Li, Y. Feng, J.F. Lin [et al.] // *J Biomed Sci*. – 2014. – Vol. 21, № 1. – P. 1-7.
56. Enhanced early insulin response to glucose in relation to insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome and normal glucose tolerance / J. Holte, T. Bergh, C. Berne [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. - 1994. – Vol.78, № 5. – P. 1052–1058.
57. Evaluation of serum antimullerian hormone and inhibin B concentrations in the differential diagnosis of secondary oligoamenorrhea / H.W.R. Li, R.A. Anderson, W.S.B. Yeung [et al.] // *Fertil Steril*. – 2011. – Vol. 96, № 3. – P. 774–779.

58. Evidence-Based and Potential Benefits of Metformin in the Polycystic Ovary Syndrome: A Comprehensive Review / S. Palomba, A. Falbo, F. Zullo [et al.] // *Endocrine Reviews*. – 2009. – Vol.30, № 1. – P. 1–50.
59. Family-based analysis of susceptibility loci for polycystic ovary syndrome on chromosome 2p16.3, 2p21 and 9q33.3 / H. Zhao, X. Xu, X. Xing [et al.] // *Hum Reprod*. – 2012. – Vol.27, № . – P. 294–298.
60. FTO Gene Variants Are Associated with PCOS Susceptibility and Hyperandrogenemia in Young Korean Women / D.K. Song, H. Lee, J-Y. Oh [et al.] // *Diabetes Metab J*. – 2014. – Vol.38, №4 – P. 302-10.
61. Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: Part I: Polycystic ovary syndrome and ovarian response / M. Simoni, C.B. Tempfer, B. Destenaves, B.C. Fauser // *Hum Reprod Update*. – 2008. – Vol.14, №5. - P. 459-484.
62. Functional Investigation on Aromatase in Endometrial Hyperplasia in Polycystic Ovary Syndrome Cases / P-L. Zhao, Q-F. Zhang, L-Y. Yan [et al.] // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2014. – Vol.15, №20. – P. 8975-8979.
63. Further investigation in europeans of susceptibility variants for polycystic ovary syndrome discovered in genome-wide association studies of Chinese individuals / M.A. Brower, M.R. Jones, J.I. Rotter [et al.] // *JClinEndocrinolMetab*. – 2015. – Vol.100, №1. – P. 182-186.
64. Genazzani, A.D. Metformin administration modulates and restores luteinizing hormone spontaneous episodic secretion and ovarian function in nonobese patients with PCOS / A.D. Genazzani, C. Battaglia, B. Malavasi / Metformin administration modulates and restores luteinizing hormone spontaneous episodic secretion and ovarian function in nonobese patients with PCOS // *FertilSteril*. – 2004. – Vol. 81, № 1. – P. 427-434.
65. Genome-wide association study identifies eight new risk loci for polycystic ovary syndrome / Y. Shi, H. Zhao, Y. Shi [et al.] // *Nat Genet*. – 2012. – Vol.44, №9. - P. 1020-1025.

66. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for polycystic ovary syndrome on chromosome 2p16.3, 2p21 and 9q33.3 / Z.J. Chen, H. Zhao, L. He [et al.] // *Nat Genet.* – 2011. – Vol.43, №1. - P.55-59.
67. Genotype-phenotype correlations of PCOS susceptibility SNPs identified by GWAS in a large cohort of Han Chinese women / L. Cui, H. Zhao, B. Zhang [et al.] // *Hum Reprod.* – 2013. – Vol.28, № 2. – P. 538–544.
68. Glucose indices, health behaviors, and incidence of diabetes in Australia: the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study / D.J. Magliano, E.L. Barr, P.Z. Zimmet [et al.] // *Diabetes Care.* – 2008. – Vol.31, № 2. – P. 267–272.
69. Glucose intolerance in polycystic ovary syndrome—a position statement of the Androgen Excess Society / K.E. Salley, E.P. Wickham, K.I. Cheang [et al.] // *J ClinEndocrinolMetab.* – 2007. – Vol.92, №12. – P. 4546–4556.
70. Glucose intolerance, insulin resistance, and hyperandrogenemia in first degree relatives of women with polycystic ovary syndrome / B.O. Yildiz, H. Yarali, H. Oguz, M. Bayraktar // *J ClinEndocrinolMetab.* – 2003. – Vol.88, №5. –P. 2031-2036.
71. Govind A, Obhrai MS, Clayton RN. Polycystic ovaries are inherited as an autosomal dominant trait: analysis of 29 polycystic ovary syndrome and 10 control families. // *J Clin Endocrinol Metab* 84: 38, 1999.
72. Guastella, E. Clinical and endocrine characteristics of the main polycystic ovary syndrome phenotypes / E. Guastella, R.A. Longo, E Carmina // *Fertil Steril.* – 2010. – Vol.94, №6. – P. 197-201.
73. Hailes, J. Evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome / J. Hailes // *Developed.* - 2011., Updated August, 2015. - P.132.
74. Hashim, H.A. Combined metformin-clomiphene in clomiphene-resistant polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / H.A. Hashim, O. Foda, E.M. Ghayaty // *ActaObstetGynecolScand.* – 2015. – Vol.94, №9. –P. 921-930.

75. Heritability of polycystic ovary syndrome in a Dutch twin-family study / J.M. Vink, S. Sadrzadeh, C.B. Lambalk, D.I. Boomsma // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2006. – Vol.91, №6. – P. 2100-2104.
76. Hickey, T. The androgen receptor CAG repeat polymorphism and X-chromosome inactivation in Australian Caucasian women with infertility related to polycystic ovary syndrome / T. Hickey, A. Chandy, R.J. Norman // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2002. – Vol.87, №1. – P. 161-165.
77. Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment / K. Kawamura, Y. Cheng, N. Suzuki [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* - 2013. – Vol.110, №43. - P. 17474 – 17479.
78. Hyperandrogenemia in Polycystic Ovary Syndrome: Exploration of the Role of Free Testosterone and Androstenedione in Metabolic Phenotype / E. Lerchbaum, V. Schwetz, T. Rabe [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 10. – P.108263.
79. Hyperandrogenemia predicts metabolic phenotype in polycystic ovary syndrome: the utility of serum androstenedione / M.W. O'Reilly, A.E. Taylor, N.J. Crabtree [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2014. – Vol.99, №3. – P. 1027-1036.
80. Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cells from polycystic ovaries / C. Gilling-Smith, D.S. Willis, R.W. Beard [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1994. – Vol. 79, № 4 – P. 1158–1165.
81. Hypomethylation of the LH/choriogonadotropin receptor promoter region is a potential mechanism underlying susceptibility to polycystic ovary syndrome / P. Wang, H. Zhao, T. Li [et al.] // *Endocrinology.* – 2014. – Vol. -155, №4. – P. 1445–1452.
82. Identification of YAP1 as a novel susceptibility gene for polycystic ovary syndrome / T. Li, H. Zhao, X. Zhao [et al.] // *J Med Genet.* – 2012. – Vol.49, № 4. – P. 254–257.
83. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis / L.J. Moran,

- M.L. Misso, R.A. Wild [et al.] // *Hum Reprod Update*. – 2010. – Vol.16, № 4. – P. 347-63.
84. Impaired insulin-stimulated phosphorylation of Akt and AS160 in skeletal muscle of women with polycystic ovary syndrome is reversed by pioglitazone treatment / K. Hojlund, D. Glintborg, N.R. Andersen [et al.] // *Diabetes*. – 2008. – Vol. 57, № 2. – P. 357–366.
85. Influence of FSHR diplotypes on ovarian response to standard gonadotropin stimulation for IVF/ICSI / L. Lazaros, E. Hatzi, N. Xita [et al.] // *J Reprod Med*. – 2013. – Vol.58, №9-10. P. 395–401.
86. Insulin sensitivity after metformin suspension in normal-weight women with polycystic ovary syndrome / S. Palomba, A. Falbo, T. Russo [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2007. – Vol.92, № 8. – P. 3128–3135.
87. Insulin-like Growth Factor-I Enhances Luteinizing Hormone Binding to Rat Ovarian Theca-interstitial Cells / J.F. Cara, J. Fan, J. Azzarello, R.L. Rosenfield // *J Clin Invest*. – 1990. – Vol.86, №2. – P. 560-565.
88. Involvement of organic cation transporter 1 in hepatic and intestinal distribution of metformin / D.S.Wang, J.W. Jonker, Y. Kato [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther*. – 2002. – Vol. 302, №. 2. – P. 510–515.
89. Kenyon, C. A pathway that links reproductive status to lifespan in *Caenorhabditis elegans* / C. Kenyon // *AnnNYAcadSci*. – 2010. – Vol.1204, №8. - P. 156–162.
90. Kunselman, A.R. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women / A.R. Kunselman, W.C. Dodson, A. Dunaif // *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*. – 1999. – Vol.84, № 1. – P. 165-169.
91. Long-term efficacy of metformin in overweight-obese PCOS: longitudinal follow-up of retrospective cohort / M. Jensterle, A.N. Kravos, S Ferjan [et al.] // *Endocrine connections*. – 2020. – Vol.9, №1. – P. 44-54.

92. Louwers, Y.V. Replication of Chinese PCOS susceptibility loci in patients diagnosed with PCOS from Caucasian descent / Y.V. Louwers, L. Stolk, A.G. Uitterlinden // Poster presented at: 95th Annual Meeting of the Endocrine Society. – 2013. - San Francisco, CA. Poster MON-549
93. Low sex-hormone-binding globulin concentration as independent risk factor for development of NIDDM: 12-year follow-up of population study of women in Gothenborg, Sweden / G. Lindstedt, P.A. Lundberg, L. Lapidus [et al.] // Diabetes. – 1991. – Vol.40, №1. – P. 123–128.
94. Low-grade chronic inflammation in pregnant women with polycystic ovary syndrome / S. Palomba, G. Chiossi, A. Falbo [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. - 2014a. – Vol.99, № 8. – P.2942–2951.
95. LST-3TM12 is a member of the OETP1B family and a functional transporter / V. Malagnino, J. Hassner, I. Seibert [et al.] // Journal Biochemical Pharmacology. – 2018. – Vol.148. – P. 75-87.
96. Marat, A.L. DENN domain proteins: regulators of RabGTPases / A.L. Marat, H. Dokainish, P.S. McPherson // J BiolChem. – 2011. – Vol.286, № 16. – P. 13791-13800.
97. Membrane transporters in drug development / K.M. Giacomini, S.M. Huang, D.J. Tweedie [et al.] // Nat Rev Drug Discov. – 2010. – Vol.9, № 3. – P. 215-236.
98. Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes / E. Zeggini, L.J. Scott, R. Saxena [et al.] // Nat Genet. – 2008. – Vol.40, № 5. - P. 638–645.
99. Metabolic disturbances in non-obese women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis / S. Zhu , B. Zhang, X. Jiang [et al.] // FertilSteril. – 2019. – Vol. 111, № 1. – P. 168-177.
100. Metabolically healthy polycystic ovary syndrome (MH-PCOS) and metabolically unhealthy polycystic ovary syndrome (MU-PCOS): a comparative analysis of four simple methods useful for metabolic assessment / M.C. Amato,

- V. Guarnotta, D. Forti [et al.] // *HumanReproduction*. – 2013. - Vol.28, №7. - P. 1919 – 1928.
101. Metformin improves glucose effectiveness, not insulin sensitivity: predicting treatment response in women with polycystic ovary syndrome in an open-label, interventional study / C.K. Welt, C.T. Pau, C. Keefe [et al.] // *J ClinEndocrinolMetab*. – 2014. – Vol. 99, № 5. – P.1870-1878.
102. Metformin induces a prompt decrease in LH-stimulated testosterone response in women with PCOS independent of its insulin-sensitizing effects / D. Kurzthaler, D. Hadziomerovic-Pekic, L. Wildt [et al.] // *Reprod Biol Endocrinol*. – 2014. – Vol.12, № 98. P. 6.
103. Metformin therapy and risk of cancer in patients with type 2 diabetes: systematic review / M. Franciosi, G. Lucisano, E. Lapice [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 8. - P. 71583.
104. Metformin treatment before and during IVF or ICSI in women with polycystic ovary syndrome (Review) / L.O. Tso, M.F. Costello, L.E.T. Albuquerque [et al.] // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2020. – Vol.21, № 12. CD006105.
105. Metformin treatment in different phenotypes of polycystic ovary syndrome / M.A. Hosseini, A. Alleyassin, F. Sarvi [et al.] // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2013. – Vol.288. - P. 1131-1136.
106. Metformin versus placebo from first trimester to delivery in polycystic ovary syndrome: a randomized, controlled multicenter study / E. Vanky, S. Stridsklev, R. Heimstad [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. – 2010. - Vol. 95, №12. – P.448-455.
107. Metformin: multi-faceted protection against cancer / S. Del Barco, A. Vazquez-Martin, S. Cufi [et al.] // *Oncotarget*. – 2011. – Vol.2, № 12. – P. 896–917.
108. Molecular determinants of outcome with mammalian target of rapamycin inhibition in endometrial cancer / H.J. Mackay, E.A. Eisenhauer, S. Kamel-Reid [et al.] // *Cancer*. – 2014. – Vol.120, № 4. – P. 603–610.

109. Moran, L. Metabolic features of the reproductive phenotypes of polycystic ovary syndrome / L. Moran, H. Teede. // *Hum Reprod Update*. – 2009. – Vol.15, № 4. – P. 477-88.
110. Mutib, M.T. INSR gene variation is associated with decreased insulin sensitivity in Iraqi women with PCOS / M.T. Mutib, F.B. Hamdan, A.R. Al-Salihi // *Iran J Reprod Med*. – 2014. – Vol.12, №7. P. - 499–506.
111. National Institutes of Health. Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome. December 3–5. - 2012. Final report.
112. Neagu, M. Anti-Müllerian hormone - a prognostic marker for metformin therapy efficiency in the treatment of women with infertility and polycystic ovary syndrome / M. Neagu, C. Cristescu // *J Med Life*. – 2012. – Vol.15, №5. – P. 462-464.
113. NICHD Reproductive Medicine Network / M.P. Diamond, R.S. Legro, C. Coutifaris [et al.] // *N Engl J Med*. – 2015. – Vol.24, №13. – P. 1230-1240.
114. Nomogram for the decline in serum antimüllerian hormone: a population study of 9,601 infertility patients / S.M. Nelson, M.C. Messow, A.M. Wallace [et al.] // *Fertility & Sterility*. – 2011. – Vol.95, № 2. – P. 736–741.
115. Oligoanovulation with polycystic ovaries but not overt hyperandrogenism / D. Dewailly, S. Catteau-Jonard, A.C. Reyss [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2006. – Vol.91, №10. – P. 3922–3927.
116. On behalf of the ESE PCOS Special Interest Group. The polycystic ovary syndrome: a position statement from the European Society of Endocrinology / G. Conway, D. Dewailly, E. Diamanti-Kandarakis [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2014. - Vol.171, №4. - P1–29.
117. Oral glucose tolerance test significantly impacts the prevalence of abnormal glucose tolerance among Indian women with polycystic ovary syndrome: lessons from a large database of two tertiary care centers on the Indian subcontinent / M.A. Ganie, A. Dhingra, S. Nisar [et al.] // *FertilSteril*. – 2016. - Vol.105, № 1. – P. 194-204.



118. Overexpression of a DENND1A isoform produces a polycystic ovary syndrome theca phenotype / J.M. McAllister , B. Modi , B.A. Miller [et al.] // ProcNatlAcadSci USA. – 2014. – Vol.111, №15. – P. 1519-1527.
119. Ovulation induction with clomiphene citrate and metformin in women with polycystic ovary syndrome / V. Leanza, L. Coco, F. Grasso [et al.] // Minerva Ginecol. – 2014. – Vol.66, №3. – P. 299-301.
120. Pagotto, U. Insights into tandem mass spectrometry for the laboratory endocrinology / U. Pagotto, F. Fanelli, R. Pasquali // Rev Endocr Metab Disord. – 2013. – Vol.14, №2. - P. 141–146.
121. Palomba, S. Effects of metformin in women with polycystic ovary syndrome treated with gonadotrophins for in vitro fertilisation and intracytoplasmic sperm injection cycles: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials / S. Palomba , A. Falbo , G.B. La Sala // BJOG. – 2013. – Vol.120, №3. – P. 267-276.
122. PCOS-GWAS Susceptibility Variants in THADA, INSR, TOX3, and DENND1A Are Associated With Metabolic Syndrome or Insulin Resistance in Women With PCOS / Y. Tian, J. Li, S. Su [et al.] // Front. Endocrinol. – 2020. - Vol.11, № 274. P. 8.
123. Pioglitazone and risk of bladder cancer: a meta-analysis of controlled studies / M. Ferwana, B. Firwana, R. Hasan [et al.] // Diabet Med. – 2013. – Vol.30, №9. – P. 1026-1032.
124. Polycystic ovary syndrome susceptibility single nucleotide polymorphisms in women with a single PCOS clinical feature / C. Linlin, L. Guangyu, W. Zhong [et al.] // HumanReproduction. – 2015. - Vol.30, №3. - P. 1 – 5.
125. Pregnancy outcomes and the effect of metformin treatment in women with polycystic ovary syndrome: an overview / G.S. Ghazeeri, A.H. Nassar, Z. Younes [et al.] // ActaObstetGynecol Scand. – 2012. - Vol. 91, № 6. – P. 658-678.

126. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome / T. Apridonidze, P.A. Essah, M.J. Luorno, J.E. Nestler // *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*. – 2005. – Vol.90, № 4. – P. 1929-1935.
127. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women / R.S. Legro, A.R. Kunesman, W.C. Dodson, A. Dunaif // *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*. – 1999. – Vol.84, №1. – P. 165-169.
128. Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study / E.S. Knochenhauer, T.J. Key, M. Kahsar-Miller [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 1998. – Vol. 83, №9. – P. 3078–3082.
129. Promoter methylation of yes-associated protein (YAP1) gene in polycystic ovary syndrome / L-L. Jiang, J-K. Xie, J-C. Cui [et al.] // *Jiang et al. Medicine*. – 2017. – Vol.96, № 2. – P. 5768.
130. Relationships Between TCF7L2 Genetic Polymorphisms and Polycystic Ovary Syndrome Risk: A Meta-Analysis / W-J. Shen, T-R. Li, Y-J. Hu [et al.] // *Metabolicsyndrome and related disorders/* - 2014. – Vol.12, №4. – P. 210–219.
131. Relative importance of AMH and androgens changes with aging among non-obese women with polycystic ovary syndrome / V.A. Kushnir, N. Halevy, D.H. Barad [et al.] // *J OvarianRes*. – 2015. – Vol.9, № 8. – P.7
132. Replication of association of DENND1A and THADA variants with polycystic ovary syndrome in European cohorts / M. Goodarzi, M.R. Jones, X. Li [et al.] // *J Med Genet*. – 2012. – Vol.49, №2. – P. 90-5.
133. Risk of cancer among women with polycystic ovary syndrome: A Danish cohort study / M. Gottschau, S.K. Kjaer, A. Jensen [et al.] // *GynecologicOncology*. – 2015. – Vol.136, №1. – P. 99– 103.

134. Risk of metabolic complications in the new PCOS phenotypes based on the Rotterdam criteria / R. Shroff, C.H. Syrop, W. Davis [et al.] // *FertilSteril.* – 2007. – Vol.88, №5. – P. 1389-1395.
135. Role of the CAG repeat polymorphism of the androgen receptor gene in polycystic ovary syndrome (PCOS) / A.N. Schüring, A. Welp, J. Gromoll [et al.] // *ExpClinEndocrinol Diabetes.* – 2012. – Vol.120, №2. – P.73-79.
136. Rosner, W. Endocrine Society, American Association for Clinical Chemistry, American Association of Clinical Endocrinologists, Androgen Excess/PCOS Society, American Society for Bone and Mineral Research, American Society for Reproductive Medicine, American Urological Association, Association of Public Health Laboratories, Endocrine Society, Laboratory Corporation of America, North American Menopause Society, Pediatric Endocrine Society. Toward excellence in testosterone testing: a consensus statement / W. Rosner, H. Vesper. // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2010. – Vol.95, № 1. – P. 4542–4548.
137. Ruan, Y. Association of IRS-1 and IRS-2 genes polymorphisms with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis / Y. Ruan, J. Ma, X. Xie // *Endocr. J.* – 2012. – Vol.59, №7. – P. 601-609.
138. Ryan, E.A. Hormones and insulin resistance during pregnancy / E.A. Ryan // *Lancet.* – 2003. - Vol. 362. – P. 1777–1778.
139. Serum anti-Mullerian hormone levels in the main phenotypes of polycystic ovary syndrome / S. Sahmay, N. Atakul, M. Oncul [et al.] // *Eur J ObstetGynecolReprod Biol.* – 2013. – Vol.170, № 1. – P. 157-161.
140. Serum steroid profiling by isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry: comparison with current immunoassays and reference intervals in healthy adults / F. Fanelli, I. Belluomo, V.D. Di Lallo [et al.] // *Steroids.* – 2011. – Vol.76, №3. – P. 244–253.
141. Shen, Z.Q. Reverse of progestin-resistant atypical endometrial hyperplasia by metformin and oral contraceptives / Z.Q. Shen, H.T. Zhu, J.F. Lin // *ObstetGynecol.* – 2008. – Vol.112, № 2. - P. 465–467.

142. Sirmans, S.M. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome / S.M. Sirmans, K.A. Pate // *Clin Epidemiol.* – 2013. – Vol. 6. – P. 1–13.
143. Stanczyk, F.Z. Diagnosis of hyperandrogenism: biochemical criteria. Best Practice & Research / F.Z. Stanczyk // *Clinical Endocrinology & Metabolism.* – 2006. – Vol.20, №2. P. 177–191.
144. Statin-induced myopathy SLCO1B1 521T>C is associated with prediabetes, high body massindex and normal lipid profile in Emirati population / M.S. Ayad, S. Manzoor, A. El-Serafi [et al.] // *Diabetes research and Clinical Practice.* – 2018. – Vol.139. – P. 272-277. Stein, I.F. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries / I.F. Stein, M.L. Levinthal // *Obstetrics Gynecology.* – 1935. - Vol.29. – P. 181-191.
145. Stenmark, H. Rab-GTPases as coordinators of vesicle traffic / H. Stenmark // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2009. – Vol.10, № 8. – P. 513-5250.
146. Sujata, K. Anthropometric, clinical, and metabolic comperisons of the four Rotterdam PCOS phenotypes: a prospective study of PCOS women / K. Sujata // *Journal of Human Reproductive Science.* – 2013. - Vol. 6, № 3. – P. 194-200.
147. Susceptibility loci for polycystic ovary syndrome on chromosome 2p16.3, 2p21, and 9q33.3 in a cohort of Caucasian women / E. Lerchbaum, O. Trummer, A. Giuliani [et al.] // *Horm Metab Res.* – 2011. – Vol.43, № 11. – P. 743–747.
148. Symptom patterns and phenotypic subgruping of women with polycystic ovary syndrome: association between endocrine characteristics and metabolic aberrations / C-C. Huang, Y-J. Tien, M-J. Chen [et al.] // *HumanReproduction.* – 2015. - Vol.30, №.4. - P. 937 – 946.
149. Testing the association of novel meta-analysis-derived diabetes risk genes with type II diabetes and related metabolic traits in Asian Indian Sikhs / D.K. Sanghera, L. Been, L. Ortega [et al.] // *J Hum Genet.* – 2009. – Vol. 54, № 3. – P. 162–168.
150. The 312N variant of the luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor gene (LHCGR) confers up to 2 7-fold increased risk of polycystic ovary

- syndrome in a Sardinian population / A. Capalbo, F. Sagnella, R. Apa [et al.] // *ClinEndocrinol (Oxf)*. – 2012. – Vol.77, №1. - P. 113–119.
151. The connectin domain: a GEF for Rab5 mediating cargo-specific exit from early endosomes / P.D. Allaire, A.L. Marat, C. Dall'Armi [et al.] // *Mol Cell*. – 2010. – Vol.37, № 3. – P. 370-382.
152. The CYP19 gene and associations with androgens and abdominal obesity in premenopausal women / F. Baghaei, R. Rosmond, L. Westberg [et al.] // *Obes Res*. – 2003. - Vol.11, №4. – P. 578–585.
153. The effects of genetic polymorphisms in the organic cation transporters oct1, oct2, and oct3 on the renal clearance of metformin / M.V. Tzvetkov, S.V. Vormfelde, D. Balen [et al.] // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2009. – Vol.86, № 3. – P. 299–306.
154. The effects of rosiglitazone and metformin on oxidative stress and homocysteine levels in lean patients with polycystic ovary syndrome / M. Yilmaz, N. Bukan, G. Ayvaz [et al.] // *Hum Reprod*. – 2005. – Vol.20, №12. – P. 3333-3340.
155. The metabolic status modulates the effect of metformin on the antimullerian hormone-androgens-insulin interplay in obese women with polycystic ovary syndrome / D. Romualdi, S. DeCicco, V. Tagliaferri [et al.] // *J ClinEndocrinolMetab*. – 2011. – Vol.96, № 5. – P. 821-824.
156. The new instructions to authors for the reporting of steroid hormone measurements / M.E. Wierman, R.J. Auchus, D.J. Haisenleder [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2014. – Vol.99, №12. – P. 4375.
157. The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations / D. Welter, J. MacArthur, J. Morales [et al.] // *Nucleic Acids Res*. – 2014. – Vol.42 (Database issue). № 6. – P. 1001-1006.
158. The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women / D. Dewailly, C.Y. Andersen, A. Balen [et al.] // *HumanReproductionUpdate*. – 2014. - Vol.20, №.3. - P. 370–385.

159. The polycystic ovary syndrome associated with morbid obesity may resolve after weight loss induced by bariatric surgery / H.F. Escobar-Morreale, J.I. Botella-Carretero, F. Alvarez-Blasco [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2005. – Vol.90, №12. P. 6364-9.
160. The polycystic ovary syndrome: an Endocrinological Perspective from the European Society of Endocrinology / G.S. Conway, D. Dewailly, E. Diamanti-Kandarakis [et al.] // *Eur J Endocrinol.* – 2014. – Vol.171, №4. – P 1–29.
161. The prevalence of metabolic syndrome and insulin resistance according to the phenotypic subgroups of polycystic ovary syndrome in a representative sample of Iranian females / F. Mehrabian, B. Khani, R. Kelishadi, N. Kermani // *J Res Med Sci.* – 2011. – Vol.16, №6. – P. 763-769.
162. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a normal population according to the Rotterdam criteria versus revised criteria including anti-Mullerian hormone / M.P. Lauritsen, J.G. Bentzen, A. Pinborg, [et al.] // *Hum Reprod.* – 2014. – Vol.29, № 4. – P. 791-801.
163. The relationships between AMH, androgens, insulin resistance and basal ovarian follicular status in non-obese subfertile women with and without polycystic ovary syndrome / L.G. Nardo, A.P. Yates, S.A. Roberts [et al.] // *Hum Reprod.* – 2009. – Vol. 24, № 11. – P. 2917–2923.
164. The Role of Anti-Müllerian Hormone in the Characterization of the Different Polycystic Ovary Syndrome Phenotypes / D. Romualdi , C. Di Florio, V. Tagliaferri [et al.] // *ReprodSci.* – 2016. – Vol. 2, № 5. – P. 655-61.
165. The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and longterm health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS) // *Human Reproduction.* –2004. - Vol.19, №1. - P. 41-47.
166. The Wnt signaling pathway effector TCF7L2 controls gut and brain proglucagon gene expression and glucose homeostasis / W. Shao, D. Wang, Y.T. Chiang [et al.] // *Diabetes.* – 2013. – Vol.62, №3. P. 789–800.

167. Updated ultrasound criteria for polycystic ovary syndrome: reliable thresholds for elevated follicle population and ovarian volume / M.E. Lujan, B.Y. Jarrett, E.D. Brooks [et al.] // *Hum Reprod.* – 2013. – Vol.28, № 5. – P. 1361-1368.
168. Variants in DENND1A and LHCGR are associated with endometrioid adenocarcinoma / Z. Wang, T. Li, W. Zhang [et al.] // *Gynecol Oncol.* – 2012. - , Vol.127, №2. – P. 403–405.
169. Variants in DENND1A Are Associated with Polycystic Ovary Syndrome in Women of European Ancestry / C.K. Welt, U. Styrkarsdottir, D.A. Ehrmann [et al.] // *JClinEndocrinolMetab.* – 2012. – Vol.97, №7. – P. 1342–1347.
170. Yildiz, B.O. Assessment of glucose intolerance and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome / B.O. Yildiz, O. Gedik // *Reprod Biomed Online.* – 2004. – Vol.8, №6. – P. 649-656.
171. Zawadski, J.K. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach / J.K. Zawadski, A. Dunaif // *Blackwell Scientific Publications, Boston.* – 1992. – P. 377–384.
172. Zolk, O. Disposition of metformin: Variability due to polymorphisms of organic cation transporters / O. Zolk // *Ann. Med.* – 2012. – Vol. 44, № 2. – P. 119–129.