

МИХЕЕВ РОБЕРТ КОНСТАНТИНОВИЧ

**ГЕРОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ
ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПОЛОВЫМИ СТЕРОИДАМИ
У ЖЕНЩИН С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ
НЕЯТРОГЕННОГО ГИПЕРГОНАДОТРОПНОГО
ГИПОГОНАДИЗМА**

3.1.19. ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Государственном научном центре Российской Федерации
Федеральном государственном бюджетном учреждении
«Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: **Мельниченко Галина Афанасьевна**
доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,
заместитель директора ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ
эндокринологии» Минздрава России по научной работе

Официальные оппоненты: **Ярмолинская Мария Игоревна**
доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующая
отделом гинекологии и эндокринологии ФГБНУ «НИИ
АГиР им. Д.О. Отта»

Булгакова Светлана Викторовна
доктор медицинских наук, заведующая кафедрой
эндокринологии и гериатрии ФГБОУ ВО СамГМУ
Минздрава России

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Российский
национальный исследовательский медицинский
университет имени Н.И. Пирогова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__» _____ 2025 года в __ часов на
заседании диссертационного совета 21.1.045.01 в ГНЦ РФ ФГБУ «Национальный
медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России по
адресу: 117292, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д.11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Национальный
медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России или
на сайте www.endocrincentr.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2025 года

Ученый секретарь диссертационного
совета, доктор медицинских наук

Мазурина Наталия
Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Старение – универсальный гетерогенный биологический процесс, ставший актуальной социально-демографической проблемой на современном этапе (ВОЗ, 2019 г.). При этом в научно-медицинском сообществе до сих пор не достигнут консенсус относительно внедрения в рутинную клиническую практику эффективных геномных, протеомных и метаболомных маркёров процесса человеческого старения - героиндикаторов (от др.-греч. γέρων «старость») (He X et al., 2020). Наибольшей доказательной базой в патогенезе инволюции индивидуума обладает синергическая эндокринно-теломеразная теория репликативного (клеточного) старения, которая выдвигает в качестве основополагающего героиндикатора эстроген-зависимый процесс укорочения теломер - специализированных шестинуклеотидных (TTAGGG) концевых участков линейных хромосом (Liu B. et al., 2022). В основе восстановления длины теломер и предотвращения клеточного старения лежит 17β-эстрадиолзависимая активность гена промотора теломеразной обратной транскриптазы (*TOT*) – субъединицы РНК-содержащего фермента теломеразы (Kyo S. et al., 1999).

Современный тренд увеличения продолжительности жизни за счёт периода удлинения постменопаузального периода привёл к увеличению длительности пребывания женщин в состоянии неятрогенного гипергонадотропного гипогонадизма (El Khoudary SR et al., 2014). Неятрогенный гипергонадотропный гипогонадизм у женщин –полиэтиологическое состояние, характеризующееся повышением уровня фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) на фоне эстрогенного дефицита, в исходе физиологической менопаузы, преждевременной недостаточности яичников и нарушений формирования пола, в частности синдрома Тернера (Friedman C et al., 1983). Результаты международного эпидемиологического исследования World Health Initiative (WHI) у женщин с физиологической менопаузой, нидерландского когортного исследования (NLCS) по применению ЗГТ по поводу ПНЯ (Brandts L et al., 2019) и датского национального когортного исследования ЗГТ у женщин с СТ (Viuff MH et al., 2020) *in vivo* в совокупности с экспериментальными данными геропротективного влияния эстрадиола на длину теломер клеток *in vitro* доказывают необходимость изучения репликативного клеточного потенциала, в частности, длины теломер лейкоцитов, на фоне и без эстрогенного дефицита в анамнезе.

Цель исследования

Изучить наличие связи заместительной терапии половыми стероидами в долгосрочном режиме (более 5-ти лет) с маркерами репликативного клеточного старения (ДТЛ), биохимическими маркёрами у женщин с различными формами неятрогенного гипергонадотропного гипогонадизма (физиологическая менопауза/преждевременная недостаточность яичников/синдром Тернера) в сравнении со здоровыми женщинами репродуктивного возраста без данной терапии.

Задачи исследования

1. Оценить и сравнить длину теломер и коморбидный статус между группами женщин с физиологической менопаузой на фоне и без МГТ \geq 5 лет, с ПНЯ на фоне ЗГТ \geq 5 лет, здоровыми женщинами репродуктивного возраста без терапии и женщинами с синдромом Тернера без ЗГТ.
2. Оценить и сравнить длину теломер и коморбидный статус в исходе применения различных режимов заместительной терапии половыми стероидами или их отсутствия у женщин с различными формами неятрогенного гипергонадотропного гипогонадизма.
3. Определить наличие и характер корреляций длины теломер и уровня ФСГ как маркёров репродуктивно-репликативного старения у женщин.

Научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость работы

Впервые проведено измерение длины теломер лейкоцитов (ДТЛ), как «золотого стандарта» оценки выраженности клеточного старения, между группами пациенток с неятрогенным гипергонадотропным гипогонадизмом в исходе физиологической менопаузы, преждевременной недостаточности яичников и при синдроме Тернера, а также без репродуктивной патологии в анамнезе. Разработана гипотеза об эффективности/неэффективности применения заместительной терапии половыми стероидами с целью увеличения ожидаемой продолжительности жизни за счёт замедления укорочения длины теломер в процессе клеточного деления у пациенток с неятрогенным гипергонадотропным гипогонадизмом в исходе физиологической менопаузы, преждевременной недостаточности яичников и при синдроме Тернера, а также без репродуктивной патологии в анамнезе. Впервые в России проведена оценка корреляции длины теломер лейкоцитов с гормональными показателями (ФСГ) у пациенток с неятрогенным гипергонадотропным гипогонадизмом в исходе физиологической менопаузы, преждевременной недостаточности яичников и при синдроме Тернера, а также без репродуктивной патологии в анамнезе. Выявлены корреляционные взаимосвязи репликативных маркёров (ДТЛ), с одной стороны, и показателей выраженности эстрогенного дефицита (ФСГ) – с другой. Предложен новый потенциальный косвенный молекулярно-генетический маркёр оценки выраженности клеточного старения у женщин с эстрогенным дефицитом (в исходе физиологической менопаузы, преждевременной недостаточности яичников, синдрома Тернера и без репродуктивной патологии) – длина теломер лейкоцитов (ДТЛ) периферической крови. Изучен характер геропротективного влияния различных режимов эстроген-гестагенной терапии у женщин с физиологической менопаузой, ПНЯ, СТ на основании ДТЛ. Разработан и предложен к применению лабораторный метод оценки репликативного потенциала у женщин с неятрогенными формами гипергонадотропного гипогонадизма путём комбинации количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени, флуоресцентной гибридизации *in situ* и проточной цитометрии.

Личное участие автора в получении научных результатов

Автор работы принимал непосредственное участие в работе с пациентами, подготовке и проведении клинико-анамнестических, физикальных (бимануальное исследование, антропометрия), лабораторных (генетического, биохимического, гормонального) исследований, подготовке публикаций и докладов по теме работы. Основной объем статистической обработки данных и интерпретация полученных результатов выполнены лично автором.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Длина теломер лейкоцитов является потенциальным косвенным предиктором развития возраст-ассоциированных заболеваний у женщин.
2. Длина теломер лейкоцитов обратно коррелирует с уровнем ФСГ у женщин.
3. Эстроген-гестагенная терапия длительностью ≥ 5 лет по поводу физиологической менопаузы и ПНЯ не способствует укорочению длины теломер лейкоцитов и патологическим изменениям биохимических показателей коморбидного статуса по сравнению со здоровыми женщинами репродуктивного возраста.
4. Женщины с СТ являются группой риска, дополнительно нуждающейся в решении вопроса об ускоренной инициации и индивидуальном подборе циклической ЗГТ половыми стероидами в целях поддержания длины теломер лейкоцитов, биохимических показателей на уровне здоровых женщин репродуктивного возраста.

Апробация результатов

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 21.03.2024 на расширенном заседании межотделенческой научной конференции ГНЦ РФ ФГБУ НМИЦ эндокринологии Минздрава России.

Результаты работы представлены на IV (XXVII) Национальном конгрессе эндокринологов с международным участием «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, Россия, 2021 г.), II Междисциплинарном форуме «МЕДИЦИНА МОЛОДАЯ» (Москва, Россия, 2023 г.), конгрессе с международным участием «Молекулярная Диагностика и биобезопасность – 2023» (Москва, Россия, 2023 г.), Международном конгрессе «Endocrinology, Diabetes and Metabolism-2024» (Рим, Италия, 2023 г.), V (XXX) Национальном конгрессе эндокринологов с международным участием «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, Россия, 2024 г.), Международном конгрессе COGI-2024 (Лиссабон, Португалия, 2024 г.), VI Международной конференции «ПОСТГЕНОМ'2024» (Одинцово, Россия, 2024 г.).

Получен патент РФ на изобретение № 2827907 «Способ прогнозирования длины теломер лейкоцитов на фоне приёма заместительной терапии половыми стероидами у пациенток с синдромом Тернера или преждевременной недостаточностью яичников».

Публикации

Содержание диссертационного исследования отражено в 14 печатных работах, в том числе опубликованы 4 оригинальные статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, и получен 1 патент на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 94 страницах печатного текста, состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, материалы и методы, результатов исследования, обсуждения и заключения), выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Библиография включает 150 источников (из них 17 отечественных и 133 зарубежных). Работа иллюстрирована 27 таблицами и 2 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Работа, включающая 138 пациенток, представляет собой сравнительное, одномоментное исследование, состоящее из двух этапов (табл. 1). На первом этапе исследованы две выборки: в первую выборку были включены женщины с неятрогенными формами гипергонадотропного гипогонадизма в исходе: физиологической менопаузы на фоне и без приёма заместительную терапию половыми стероидами ≥ 5 лет, преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) на фоне приёма заместительной терапии половыми стероидами ≥ 5 лет, синдрома Тернера (СТ) без заместительной терапии половыми стероидами; во вторую выборку – здоровые женщины репродуктивного возраста без заместительной терапии половыми стероидами. Набор пациентов в группы проводился на основании соответствия критериям включения и при отсутствии критериев исключения. Клинико-лабораторное обследование в рамках первого этапа включало в себя антропометрическое, акушерско-гинекологическое, электрофизиологическое, эхокардиографическое, тонометрическое, биохимическое и гормональное исследование. На основании полученных данных формировался наиболее оптимальный для каждого пациента алгоритм лечения. Второй этап работы включал в себя проведение молекулярно-генетического исследования для оценки ДТЛ периферической крови пациенток. По итогам выполненных 2 этапов выполнялся анализ полученных данных путём сопоставления результатов клинико-лабораторного и молекулярно-генетического исследований, с последующим амбулаторным консультированием врачом-эндокринологом, врачом-акушером-гинекологом и врачом-кардиологом.

Рисунок 1. Дизайн исследования

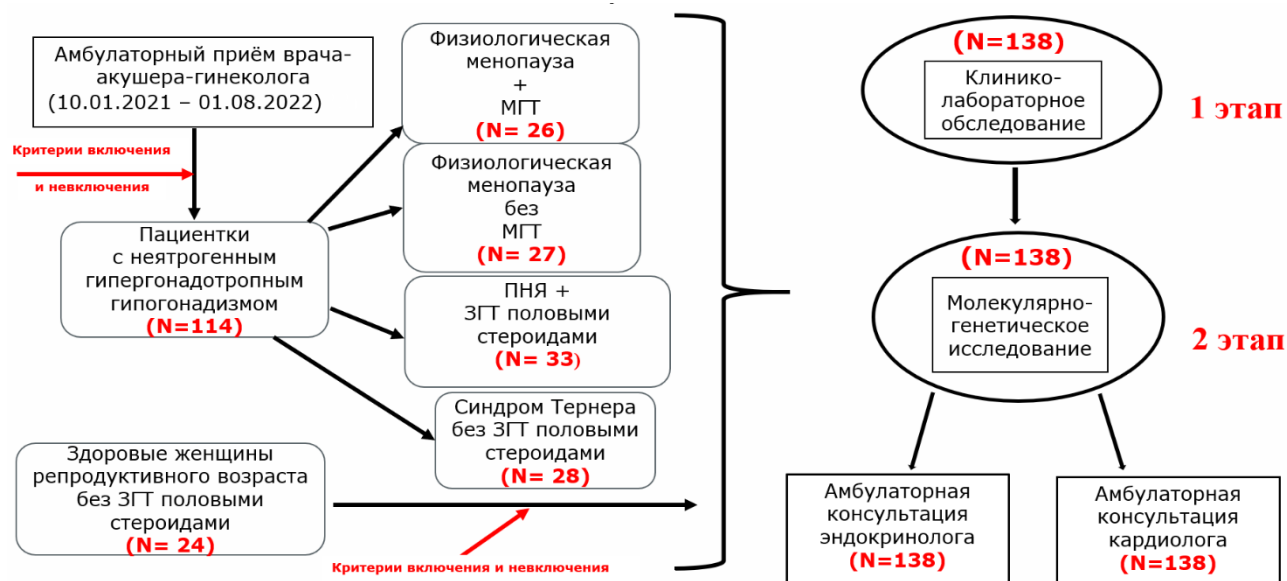


Таблица 1. Описание этапов исследования.

	Группы	N	Исследования
1 этап	С физиологической менопаузой на МГТ ≥ 5 лет	26	Клинико-лабораторное обследование: <ol style="list-style-type: none"> 1. Антропометрическое 2. Акушерско-гинекологическое 3. Электрофизиологическое 4. Эхокардиографическое 5. Биохимическое исследование 6. Гормональное
	С физиологической менопаузой без МГТ	27	
	С ПНЯ на ЗГТ ≥ 5 лет	33	
	Здоровые женщины репродуктивного возраста	28	
	Женщины с СТ без ЗГТ	24	
2 этап	Все вышеперечисленные группы	138	Молекулярно-генетическое исследование <ol style="list-style-type: none"> 1. Определение ДТЛ

Набор пациенток проводился на базе Государственного научного центра Российской Федерации ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России (ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, директор Центра - член-корр. РАН, д.м.н., проф. Мокрышева Н.Г., Президент Центра – академик РАН, д.м.н., проф. Дедов И.И.), в отделении эндокринной гинекологии Института Репродуктивной медицины (зав. отделением, зам. директора Центра - директор Института – д.м.н., проф. Андреева Е.Н), Консультативно-диагностического Центра (зав.– д.м.н., проф. Волеводз Н.Н.) и на базе Отдела возраст-ассоциированных заболеваний Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова (МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова) (руководитель Отдела – д.м.н., проф. Орлова Я.А., директор – акад. РАН Камалов А.А., ректор – акад. РАН Садовничий В.А.). Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, согласно протоколу № 11 от 22.07.2021 г.

Критерии соответствия

Сравнительное, одномоментное исследование, состоящее из двух этапов, проведено в период с 10.01.2021 по 01.08.2022. Выборки сформированы сплошным способом, включались все наблюдения. Все пациентки подписывали информированное согласие на проведение обследования и консультирование. Ниже приведена основная информация по критериям соответствия в группах участниц.

1. Женщины в состоянии физиологической менопаузы, получающие МГТ ≥ 5 лет. Критерии включения в исследование: возраст – от 50 лет и старше; подтверждённый диагноз физиологической менопаузы длительностью ≥ 5 лет (N95.1 Менопауза и климактерическое состояние у женщины в соответствии с МКБ-10); получение заместительной терапии половыми стероидами в непрерывном низкодозированном (1 мг 17 β -эстрадиола + 5 мг дидрогестерона или 100 мг прогестерона или 2 мг дроспиренона) и микродозированном (0,5 мг 17 β -эстрадиола + 0,25 мг дидрогестерона) ≥ 5 лет. Критерии невключения: наличие ятрогенной менопаузы в анамнезе после перенесённых хирургических вмешательств/химиотерапии/лучевой терапии/комбинированного лечения из перечисленных методов; гиперпластические процессы эндометрия, миома матки, все формы эндометриоза; психические расстройства, злокачественные новообразования, сахарный диабет 1 и 2 типа, ИБС, ОНМК, ТЭЛА, врождённые и приобретённые пороки сердца; острые воспалительные заболевания; приём препаратов левотироксина натрия и колекальциферола на момент осмотра.

2. Женщины в состоянии физиологической менопаузы, без МГТ. Критерии включения в исследование: возраст – от 50 лет и старше; подтверждённый диагноз физиологической менопаузы длительностью ≥ 5 лет (N95.1 Менопауза и климактерическое состояние у женщины в соответствии с МКБ-10); факт отсутствия какой-либо заместительной терапии половыми стероидами по данным медицинской документации. Критерии невключения: наличие ятрогенной менопаузы в анамнезе после перенесённых хирургических вмешательств/химиотерапии/лучевой терапии/комбинированного лечения из перечисленных методов; гиперпластические процессы эндометрия, миома матки, все формы эндометриоза; психические расстройства, злокачественные новообразования, сахарный диабет 1 и 2 типа, ИБС, ОНМК, ТЭЛА, врождённые и приобретённые пороки сердца; острые воспалительные заболевания; приём препаратов левотироксина натрия и колекальциферола на момент осмотра.

3. Женщины с установленным диагнозом «Преждевременная недостаточность яичников», получающие ЗГТ ≥ 5 лет. Критерии включения: возраст дебюта ПНЯ < 40 лет; получение ЗГТ в циклическом режиме (1 и 2 мг 17 β -эстрадиола в течение 14 дней + 10 мг дидрогестерона или 100/200 мг прогестерона) ≥ 5 лет; подтверждённый диагноз физиологической менопаузы длительностью ≥ 5 лет (E28.3 Первичная яичниковая недостаточность в соответствии с МКБ-10). Критерии невключения: гиперпластические процессы эндометрия, миома матки, все формы эндометриоза; психические расстройства, злокачественные новообразования, сахарный диабет 1 и 2 типа, ИБС, ОНМК, ТЭЛА, врождённые и приобретённые пороки сердца; острые воспалительные заболевания; приём препаратов левотироксина натрия и

колекальциферола на момент осмотра.

4. Здоровые женщины репродуктивного возраста без заболеваний репродуктивной системы и без заместительной терапии половыми стероидами. Критерии включения: возраст – от 20 до 39 лет; сохранённый менструальный цикл; уровень ФСГ в фолликулярную фазу 2,0-11,6 МЕ/л; уровень ФСГ в лютеиновую фазу 1,4-9,6 МЕ/л. Критерии невключения: гиперплазии эндометрия, миомы матки, всех формы эндометриоза); психические расстройства, злокачественные новообразования, сахарный диабет 1 и 2 типа, ИБС, ОНМК, ТЭЛА, врождённые и приобретённые пороки сердца; беременность; лактация, острые воспалительные заболевания на момент осмотра; приём препаратов левотироксина натрия и колекальциферола на момент осмотра.

5. Женщины с синдромом Тернера без заместительной терапии половыми стероидами. Критерии включения: возраст - от 12 до 40 лет; кариотип 45, XO (Q96.0 Кариотип 45,X в соответствии с МКБ-10), факт получения заместительной терапии препаратами человеческого гормона роста. Критерии невключения: кариотип 45XY; перенесённые хирургические вмешательства на органах малого таза/ химиотерапия/лучевая терапия/ комбинированная терапия по поводу злокачественных заболеваний; гиперпластические процессы эндометрия, миома матки; психические расстройства, сахарный диабет 1 и 2 типа, ИБС, ОНМК, ТЭЛА, врождённые и приобретённые пороки сердца; факт получения заместительной терапии половыми стероидами; роста острые воспалительные заболевания; приём препаратов левотироксина натрия и колекальциферола на момент осмотра.

Все группы участниц исследования (1,2,3,4,5) в процессе анализа результатов сравнивались между собой.

Клинико-лабораторное обследование

Все участницы осматривались врачом-исследователем для оценки соответствия критериям включения и исключения. План первичного обследования пациентки включал сбор жалоб, анамнеза жизни, заболевания, семейного анамнеза, а также физикальное обследование.

Клиническое обследование включало в себя антропометрическое, акушерско-гинекологическое, электрофизиологическое, эхокардиографическое, тонометрическое и анамнестическое исследование на базе 2 учреждений: ГНЦ РФ ФГБУ НМИЦ эндокринологии Минздрава России (директор – член-корр. РАН Мокрышева Н.Г.) и МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова (директор – акад. РАН Камалов А.А., ректор – акад. РАН Садовничий В.А.). В рамках антропометрического исследования всем женщинам проводилось измерение роста механическим стадиометром с точностью до 1 сантиметра (Harpender stadiometr, Holtain Ltd, UK), массы тела в легкой комнатной одежде (с помощью медицинских весов ВМЭН-200-50/100-СТ-А, Россия с точностью до 0,1 кг); выполнялся расчёт ИМТ по формуле Кетле ($ИМТ = m/h^2$, где m – масса тела (кг), а h – рост (м)). В рамках акушерско-гинекологического исследования на базе Отделения эндокринной гинекологии ГНЦ РФ ФГБУ НМИЦ эндокринологии и на базе отделения ультразвуковой диагностики ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. отд. - к.м.н. Солдатов Т.В.) всем женщинам проводилось двуручное

(бимануальное) влагалищное исследование на смотровом гинекологическом кресле с одноразовым двухсторонним зеркалом Куско, ультразвуковое исследование органов малого таза на сканере Toshiba Aplio 790 (Япония) датчиком переменной частоты 7,5-10 МГц с применением цветовой доплерографии. При опросе уточнялись возраст наступления аменореи, число и исход беременностей, число родов, длительность приёма МГТ/ЗГТ. Перед консультацией кардиолога всем женщинам проводилось измерение систолического и диастолического артериального давления (мм рт.ст.) на плечевой артерии методом Короткова, снятие электрокардиограммы в 12 отведениях (PageWriter TC70, Koninklijke Philips N.V., Нидерланды), трансторакальная эхокардиография ультразвуковым датчиком (Vivid E90, GE, США). Сбор анамнестических данных осуществлялся по данным представленных медицинских заключений из базы данных медицинской информационной системы (МИС) *qMS (Россия)* и включал в себя уточнение *следующих характеристик*: паспортного пола и возраста, образа жизни (характер питания, физической активности), наличия/отсутствия вредных привычек (табакокурение/вейпинг/алкоголь/психоактивные вещества), характера трудовой деятельности, воздействия эндокринных дизрапторов (ДДТ, диоксины, бисфенол А, акриламиды, фталаты), эндокринных коморбидных состояний (гипотиреоз, нарушения углеводного обмена), приема лекарственных препаратов и биодобавок.

Всем участницам проводилось биохимическое и гормональное исследование на базе клинко-диагностической лаборатории ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лаб., к.м.н. Никанкина Л.В.). Исследование уровня ФСТ – иммунодиагностическом методом на анализаторе VITROS 3600 (Ortho-Clinical Diagnostics, Inc, США). Исследование показателей липидного обмена (ЛПНП, ЛПВП, холестерина общего, триглицеридов), ТТГ, маркёров холестаза (общий/прямой билирубин, ГГТ), маркёров цитолиза (АЛТ, АСТ), азотовыделительной функции почек (креатинин, мочевины), маркёров кальций-фосфорного обмена (альбумин-скорректированный кальций, фосфор) – методом усиленной хемилюминесценции на автоматическом анализаторе Architect 8000 (Abbott Diagnostics, США). Исследование уровня 25(ОН) вит. D – методом электрохемилюминесцентного анализа на иммунохимическом автоматическом анализаторе LIAISON (DiaSorin S.p.A., Италия).

Расчёт скорости клубочковой фильтрации (pСКФ) – по валидизированной формуле CKD-EPI:

$$\text{pСКФ (мл/мин/1,73 м}^2\text{)} = 141 \times [\text{min креатинин сыворотки (мг/дл)/к или 1}]^{\alpha} \times \\ \times [\text{max креатинин сыворотки (мг/дл) /к или 1}]^{-1,209} \times 0,993^{\text{возраст (лет)}} \times \\ \times 1,018 \text{ (для женщин)} \times 1,159 \text{ (для представителей негроидной расы)}$$

k – 0,7 для женщин и 0,9 для мужчин, α – (–0,329) для женщин и (–0,411) для мужчин креатинин (мкмоль/л) = креатинин (мг/дл) \times 88,4.

Всем пациенткам в обязательном порядке проводилась консультация врача-эндокринолога Консультативно-диагностического Центра ГНЦ РФ ФГБУ НМИЦ эндокринологии Минздрава России (зав. отд. – д.м.н., проф. Волеводз Н.Н.), врача-акушера-гинеколога Отделения эндокринной гинекологии ГНЦ РФ ФГБУ НМИЦ эндокринологии Минздрава России (зав. отделением – д.м.н., проф. Андреева Е.Н.) и врача-кардиолога Отдела возраст-ассоциированных заболеваний МНОЦ МГУ им. М. В. Ломоносова (руководитель – д.м.н. Орлова Я.А.) для установления возраст-ассоциированных эндокринопатий и сердечно-сосудистых заболеваний, инициации/коррекции соответствующей терапии.

В рамках консультирования врачом-эндокринологом в соответствии с клиническими рекомендациями ОО РАЭ пациенткам с выявленным дефицитом витамина D (<20 нг/мл) назначалась суммарная насыщающая доза колекальциферола 400000 МЕ с дальнейшим переходом на поддерживающие дозы (1000 - 2000 МЕ ежедневно внутрь или 6000 – 14000 МЕ 1 раз в неделю внутрь); при недостаточности витамина D (≥ 20 и <30 нг/мл) – 200000 МЕ с дальнейшим переходом на поддерживающие дозы; при нормальном уровне витамина D – поддерживающая доза. Подбор схемы приёма осуществлялся индивидуально, с учётом максимально ожидаемой комплаентности. Даны в индивидуальном порядке рекомендации по дообследованию (оценка маркёров костного метаболизма, минеральной плотности костной ткани) и коррекции выявленных нарушений. При выявлении гипотиреоза - назначалась заместительная терапия левотироксином натрия с регулярным контролем уровня ТТГ в соответствии с клиническими рекомендациями Минздрава России. Пациенткам с анамнестическими данными за предиабет рекомендовался регулярный (частота - 1 раз в год) скрининг (гликемия венозной плазмы натощак или пероральный глюкозотолерантный тест (двуступенчатый) с 75 г сухой безводной глюкозы или HbA1c + контроль сердечно-сосудистых факторов риска) в комплексе с индивидуальным подбором мер по модификации образа жизни. При неэффективности вышеуказанных мер – пероральная сахароснижающая терапия (метформин по 500–850 мг 2 раза в сутки или метформин с пролонгированным высвобождением 500-750 мг по 2 таблетки 1 раз в сутки), с учётом переносимости и ежегодным контролем уровня В12 (при длительности приёма бигуанидов ≥ 5 лет).

Молекулярно-генетическое исследование

Определение абсолютной длины теломер в лейкоцитах периферической крови проводилось всем пациенткам путём последовательной комбинации количественной ПЦР в реальном времени (*Applied Biosystems QuantStudio® 3*, Thermo Fisher Scientific, США), проточной флуоцитометрии (LongCyte™, Beijing Challen Biotechnology Co., Ltd., КНР) и флуоресцентной гибридизацией in situ (Cytocell, ООО «БиоЛайн», Россия) на базе Отдела возраст-ассоциированных заболеваний МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова. Сбор биологического материала выполнялся путём венозного забора крови из кубитальной вены с немедленной консервацией в растворе полисахарозы 400 с диатризоатом натрия (Ficoll Paque); экстракция ДНК из цельной крови - с использованием набора Qiagen DNA blood mini kit (Германия). Единица измерения абсолютной длины теломер – килобазы (кБ) (1 кБ=1000 пар азотистых нуклеотидов).

Статистический анализ

Статистический анализ данных выполнен при помощи программы STATISTICA (версия 13, TIBCO, США).

Категориальные данные описывались с указанием абсолютных частот и процентных долей.

Сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности (5x2) выполнялось с помощью критерия Хи-квадрат Пирсона (при ненулевых значениях ожидаемых частот).

Количественные показатели, имеющие нормальное распределение,

описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD). В случае отсутствия нормального распределения количественных данных описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей [Q1; Q3].

Сравнение исследуемых групп по количественным показателям выполнялось с помощью критериев Манна-Уитни и ANOVA Краскела-Уоллиса. При выявлении статистически значимых различий между пятью исследованными группами для попарного сравнения групп применяли post-hoc анализ.

Корреляционная связь оценивались с помощью коэффициента корреляции Спирмена.

Пропущенных значений определяемых параметров не было.

Пороговым уровнем статистической значимости P_0 считали 0,05. Для нивелирования проблемы множественных сравнений применяли поправку Бонферрони путем коррекции порогового уровня значимости на количество проверенных гипотез. Проверено 28 основных гипотез при сравнении групп по 28 показателям, соответственно применялось $P_0 = 0,05 : 28 \approx 0,002$. В post hoc сравнениях пороговым уровнем значимости считалось значение 0,05 (в ANOVA Краскел-Уоллиса) либо делалась поправка Бонферрони (расчет описан в примечаниях к таблицам).

Этическая экспертиза. Локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, согласно протоколу № 11 Заседания локального этического комитета от 22.07.2021, постановлено, что планируемая научная работа соответствует этическим стандартам добросовестной клинической практики и может быть проведена на базе ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общая характеристика пациенток – участниц исследования

В исследование включено 138 пациенток, они распределены на следующие группы:

- 1) женщины в физиологической менопаузе, получающие заместительную терапии половыми стероидами (n=26);
- 2) женщины в физиологической менопаузе, не получающие заместительную терапии половыми стероидами (n=27);
- 3) женщины с диагнозом «Преждевременная недостаточность яичников» (n=33);
- 4) здоровые женщины репродуктивного возраста без заболеваний репродуктивной системы (n=24);
- 5) женщины с синдромом Тернера (n=28).

Таблица 2. Сравнение групп пациентов по возрасту

Показатель	Категории	Возраст, лет		P, ANOVA Краскела-Уоллиса и post hoc сравнения
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	61 [56; 63]	26	< 0,001 $P_{1-3, 1-4, 1-5} < 0,001$ $P_{2-3, 2-4, 2-5} < 0,0001$ $P_{3-5} = 0,015$ $P_{4-5} = 0,033$
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	58 [53; 63]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	36 [29; 39]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	37 [29; 40]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	21 [16; 27]	28	

В табл. 3 приведено сравнение групп по индексу массы тела (по Кетле).
Различия групп не выявлены.

Таблица 3. Сравнение групп по антропометрическим показателям (ИМТ)

Показатель	Категории	ИМТ, кг/м ²		P, ANOVA Краскела-Уоллиса
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	25 [22; 28]	26	0,419
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	26 [22; 28]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	24 [20; 30]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	22 [20; 28]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	24 [19; 27]	28	

Для оценки возможной связи общесоматического статуса факта наличия/отсутствия эстроген-гестагенной терапии и различных состояний, сопровождающихся эстрогенным дефицитом, нами был проведён анализ гемодинамических параметров (табл. 4).

Таблица 4. Сравнительный анализ показателей систолического и диастолического артериального давления

Показатель	Категории	n	САД, мм.рт.ст	P, ANOVA Краскела-Уоллиса и post hoc сравнения	ДАД, мм.рт.ст	P, ANOVA Краскела-Уоллиса
			M ± SD		M ± SD	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	26	127 ± 12	<0,001 P1-5<0,001 P2-5<0,001 P3-5=0,011 P4-5=0,004	77 ± 8	0,071
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	27	127 ± 12		77 ± 9	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	33	130 ± 14		76 ± 12	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	24	128 ± 14		75 ± 12	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	28	142 ± 15		83 ± 14	

По результатам тонометрического исследования получены сопоставимые значения диастолического артериального давления во всех изучаемых группах. У женщин с синдромом Тернера без ЗГТ значения САД были выше, чем в других группах.

Представленные в табл. 5 значения медиан возраста наступления аменореи соответствуют общепринятым популяционным критериям дебюта. В связи с врождённым отсутствием способности к деторождению («гонадный тяж») женщины с СТ исключены из сравнения. В группе 3 этот показатель ниже, чем в группах 1 и 2.

Таблица 5. Сравнительный анализ возраста наступления аменореи

Показатель	Категории	Возраст наступления аменореи, лет		P, ANOVA Краскела-Уоллиса и post hoc сравнения
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	50 [46; 52]	26	<0,001 P1-3<0,001 P2-3<0,001
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	48 [43; 51]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	30 [22; 33]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	-	24	

Таблица 6. Сравнительный анализ числа беременностей в анамнезе

Показатель	Категории	Паритет (кол-во беременностей)		P, ANOVA Краскела-Уоллиса и post hoc сравнения
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	2 [1; 3]	26	< 0,001 $P_{1-3} < 0,001$ $P_{1-4} = 0,011$ $P_{2-3} < 0,001$ $P_{2-4} = 0,002$
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	2 [1; 4]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	0 [0; 0]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	1 [0; 2]	24	

Обнаружены статистически значимые различия групп по числу беременностей. Количество беременностей в анамнезе у женщин с физиологической менопаузой было ожидаемо больше, чем в группе с ПНЯ. В связи с врождённым характером аменореи женщины с СТ исключены из анализа

Таблица 7. Сравнительный анализ длительности приёма МГТ/ЗГТ (лет) в анамнезе

Показатель	Категории	Прием МГТ/ЗГТ, лет		P, тест Манна-Уитни
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	8 [5; 11]	26	<0,001
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	3 [2; 5]	33	

Представленные в табл. 7 результаты свидетельствуют о том, что длительность приёма заместительной терапии половыми стероидами была выше, чем у пациенток с ПНЯ.

Молекулярно-генетические характеристики пациентов

Таблица 8. Сравнительный анализ уровней длины теломер.

Показатель	Категории	ДТЛ (кБ, килобаз)		P, ANOVA Краскела-Уоллиса и post hoc сравнения
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	9,8 [9,5; 9,9]	26	<0,001 $P_{5-1} = 0,008$ $P_{5-2} < 0,001$ $P_{5-3} = 0,001$ $P_{5-4} < 0,001$
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	9,8 [9,6; 10,4]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	10,0 [7,9; 10,6]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	10,8 [10,0; 13,1]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	8,1 [6,5; 9,2]	28	

По результатам молекулярно-генетического исследования (определение абсолютной длины теломер лейкоцитов периферической крови) методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной гибридизацией *in situ* и проточной цитометрии были получены статистически значимые различия групп (табл. 7).

В группах пациенток репродуктивного возраста без эстрогенного дефицита, у пациенток с ПНЯ на фоне ЗГТ, а также пациенток в период физиологической менопаузы (независимо от факта приёма МГТ) отмечались сопоставимые показатели длины теломер лейкоцитов. У пациентов с цитогенетически подтверждённым (X0) синдромом Тернера без ЗГТ отмечались самые короткие теломеры лейкоцитов.

В целях проведения дифференциально-сравнительного анализа и с учётом отсутствия общепринятого референсного интервала длины теломер человека в пределах общей группы (n=138) была высчитана медианная величина – 9,7 кБ. Полученное медианное значение оценивалось в качестве условной отрезной точки для определения относительной длины теломер: выше 9,7 кБ – «длинные» теломеры, ниже 9,7 кБ – «короткие» теломеры.

Таблица 9. Сравнение частот коротких и длинных теломер

Показатель	Категории	Относительная длина теломер, чел. (%)			Р, тест Хи-квадрат Пирсона и попарные сравнения двусторонним точным критерием Фишера
		«Короткие» теломеры < 9,7 кБ	«Длинные» теломеры > 9,7 кБ	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	9 (35%)	17 (65%)	26	<0,001 P ₁₋₅ <0,001 P ₂₋₅ <0,001 P ₃₋₅ =0,001 P ₄₋₅ <0,001
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	7 (26%)	20 (74%)	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	15 (45%)	18 (55%)	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	5 (21%)	19 (79%)	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	24 (86%)	4 (14%)	28	

Примечание: Поправка Бонферрони для попарных сравнений $P_0=0,05:10=0,005$

По табл. 9 видно, что в группе 5 чаще, чем в других группах, теломеры короткие. Различий остальных групп не обнаружено.

Результаты биохимического обследования

Для исключения негативных влияний на общесоматический статус факта наличия/отсутствия эстроген-гестагенной терапии и различных состояний, сопровождающихся эстрогенным дефицитом, был выполнен сравнительный анализ биохимических и гормональных параметров.

Маркёры синдромов холестаза и цитолиза

В связи с предполагаемой нами склонностью пациенток с неэстрогенными формами гипергонадотропного гипогонадизма к развитию поражений гепатобилиарной системы было проведено измерение уровней маркёров цитолиза и холестаза (см. табл. 10-14). Различия групп по общему и прямому билирубину не обнаружены.

Таблица 10. Сравнительный анализ уровней общего билирубина

Показатель	Категории	Билирубин общий, мкмоль/л		P, ANOVA Краскела-Уоллиса
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	10,8 [9,2; 13,1]	26	0,138
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	10,5 [8,2; 13,1]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	10,0 [8,2; 14,6]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	9,5 [7,8; 15,1]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	8,9 [6,8; 11,0]	28	

Таблица 11. Сравнительный анализ уровней прямого билирубина

Показатель	Категории	Билирубин прямой, мкмоль/л		P, ANOVA Краскела-Уоллиса
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	4,5 [3,6; 5,4]	26	0,572
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	3,9 [3,4; 5,0]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	3,9 [3,4; 5,6]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	3,9 [2,6; 5,4]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	3,6 [2,7; 5,0]	28	

Таблица 12. Сравнительный анализ уровней ГГТ

Показатель	Категории	ГГТ, Ед/л		Р, ANOVA Краскела-Уоллиса и post hoc сравнения
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	13 [12; 18]	26	<0,001 $P_{1-5}<0,001$ $P_{2-5}<0,001$ $P_{3-5}=0,021$ $P_{4-5}=0,039$
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	14 [12; 18]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	16 [14; 20]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	16 [14; 21]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	27 [18; 42]	28	

Концентрация ГГТ у пациенток с СТ была статистически значимо выше, чем в остальных группах женщин, которые имели сопоставимые между собой значения, что может объясняться склонностью к формированию при СТ холестаза в рамках дисгенетического поражения гепатобилиарной системы (табл. 12).

Таблица 13. Сравнительный анализ уровней АЛТ

Показатель	Категории	АЛТ, Ед/л		Р, ANOVA Краскела-Уоллиса и post hoc сравнения
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	11 [9; 17]	26	<0,001 $P_{1-5}<0,001$ $P_{2-5}<0,001$ $P_{3-5}<0,001$ $P_{4-5}<0,001$
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	11 [9; 17]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	12 [10; 17]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	14 [10; 18]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	28 [20; 35]	28	

Таблица 14. Сравнительный анализ уровней АСТ

Показатель	Категории	АСТ, Ед/л		Р, ANOVA Краскела-Уоллиса и post hoc сравнения
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	22 [17; 25]	26	<0,001 P ₁₋₃ = 0,019 P ₂₋₃ = 0,017 P ₃₋₅ = 0,001 P ₄₋₅ = 0,013
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	22 [17; 26]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	16 [14; 19]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	17 [16; 19]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	23 [19; 34]	28	

Примечание: Поправка Бонферрони $p_0=0,05/28=0,0018$

¹тест Краскелл-Уоллиса

Наиболее высокие показатели АЛТ наблюдались в группе пациенток с синдромом Тернера, в то время как в остальных группах показатели были сопоставимыми между собой независимо от наличия/отсутствия физиологической менопаузы, ПНЯ и заместительной терапии половыми стероидами, что может объясняться склонностью к формированию при СТ цитолиза в рамках дисгенетического поражения гепатобилиарной системы (табл. 13). АСТ было примерно одинаковым в группах 1, 2, 5 и более высоким, чем в группах 3 и 4 (табл. 14).

Маркёры фильтрационной функции почек

В связи с предполагаемым снижением фильтрационной функции почек у женщин с неатрогенным гипергонадотропным гипогонадизмом в рамках возраст-ассоциированной и дисгенетической коморбидности (по сравнению со здоровыми пациентками) было выполнено исследование уровней мочевины, креатинина сыворотки крови с последующим расчётом СКФ по формуле СКД-EPI и сравнением результатов между группами (табл. 15, 16).

Таблица 15. Сравнительный анализ уровней мочевины

Показатель	Категории	Мочевина, мкмоль/л		Р, ANOVA Краскела-Уоллиса
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	5,8 [4,9; 7,8]	26	0,035
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	6,0 [4,9; 8,1]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	5,6 [5,0; 7,2]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	5,5 [4,9; 6,9]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	4,6 [3,8; 6,5]	28	

Таблица 16. Сравнительный анализ уровней креатинина и рСКФ (СКД-EPI)

Показатель	Категории	Креатинин, мкмоль/л		рСКФ (СКД-EPI), мл/мин/1,73 м ²	Р, ANOVA Краскела-Уоллиса и post hoc сравнения для креатинина
		Me [Q1; Q3]	n	Me [Q1; Q3]	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	69,0 [65,5; 71,3]	26	91,0 [90,4; 93,5]	<0,001 P ₁₋₅ <0,001 P ₂₋₅ <0,001 P ₃₋₅ <0,001 P ₄₋₅ =0,009
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	69,2 [66,2; 72,0]	27	98,4 [96,7; 99,3]	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	69,7 [63,7; 75,9]	33	109,8 [107,5; 116,4]	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	67,3 [63,4; 73,2]	24	108,8 [103,4; 115,6]	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	56,8 [51,1; 64,0]	28	107,5 [102,0; 114,0]	

Концентрации мочевины в группах были сопоставимыми независимо от наличия и генеза аменореи, наличия/отсутствия факта приёма заместительной терапии половыми стероидами. Креатинин был ниже при СТ, чем в других группах.

Маркёры липидного обмена

В связи с предполагаемой склонностью к формированию у пациенток с неастрогенным гипергонадотропным гипогонадизмом по сравнению со здоровыми пациентками врождённой и приобретённой сердечно-сосудистой коморбидности в настоящем исследовании изучались и сравнивались показатели липидного спектра крови (см. табл. 17-20).

Таблица 17. Сравнительный анализ уровней триглицеридов

Показатель	Категории	Триглицериды, ммоль/л		Р, ANOVA Краскела-Уоллиса и post hoc сравнения
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	0,71 [0,54; 1,02]	26	<0,001 P ₁₋₅ =0,003 P ₂₋₅ =0,004 P ₃₋₅ =0,006 P ₄₋₅ =0,044
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	0,80 [0,52; 1,01]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	0,78 [0,59; 0,98]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	0,82 [0,62; 1,02]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	1,19 [0,89; 1,72]	28	

Таблица 18. Сравнительный анализ уровней общего холестерина

Показатель	Категории	Холестерин общий, ммоль/л		P, ANOVA Краскела-Уоллиса
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	4,72 [4,38; 5,43]	26	0,255
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	4,81 [4,44; 5,52]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	4,58 [4,16; 5,02]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	4,86 [4,55; 5,27]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	5,13 [4,56; 5,53]	28	

Таблица 19. Сравнительный анализ уровней ХС ЛПВП

Показатель	Категории	ХС ЛПВП, ммоль/л		P, ANOVA Краскела-Уоллиса
		M ± SD	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	1,8 ± 0,4	26	0,017
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	1,8 ± 0,4	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	1,9 ± 0,4	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	2,0 ± 0,5	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	1,5 ± 0,5	28	

Таблица 20. Сравнительный анализ уровней ХС ЛПНП

Показатель	Категории	ХС ЛПНП, ммоль/л		P, ANOVA Краскела-Уоллиса
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	2,5 [2,2; 3,4]	26	0,135
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	2,5 [2,3; 3,4]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	2,6 [2,1; 3,0]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	2,7 [2,1; 3,1]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	3,2 [2,5; 3,6]	28	

Различия групп по концентрациям, общего холестерина, холестерина ЛПВП и ЛПНП не обнаружены. Триглицериды выше в группе 5. Сопоставимость показателей липидного спектра в группах может являться следствием применения строгих критериев включения и невключения в отношении наличия врождённых и приобретённых сердечно-сосудистых заболеваний, нарушений углеводного обмена в анамнезе.

Маркёры кальций-фосфорного обмена

В связи с ранее выдвинутой гипотезой о склонности к снижению фильтрационной функции почек при гипоестрогенемии на фоне повышения уровня ФСГ (неятрогенные формы гипергонадотропного гипогонадизма без приёма заместительной терапии половыми стероидами), особенно на фоне поликистоза почек при СТ, и, как следствие, закономерном развитии дефицита/недостаточности витамина D в условиях нормо-/гипокальциемии, снижением лигандирования рецепторов $ER\alpha/\beta$, компенсаторного вторичного гиперпаратиреоза и гиперфосфатемии, активации остеокластов и резорбции костной ткани, был проведён сравнительный анализ уровней альбумин-скорректированного кальция, фосфатемии и 25(ОН)витамина-D между группами пациенток.

Таблица 21. Сравнительный анализ уровней альбумин-скорректированного общего кальция

Показатель	Категории	Альбумин-скорректированный кальций общий, ммоль/л		P, ANOVA Краскела-Уоллиса
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	2,24 [2,13; 2,41]	26	0,537
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	2,28 [2,19; 2,41]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	2,31 [2,27; 2,36]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	2,31 [2,26; 2,37]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	2,33 [2,21; 2,39]	28	

Уровни альбумин-скорректированного кальция независимо от наличия неятрогенного гипергонадотропного гипогонадизма и факта приёма эстроген-гестагенной терапии участницами статистически не различались между группами (табл. 21). Таким образом, лабораторных данных за возможное наличие гипо/гиперкальциемии ни в одной из групп получено не было.

Таблица 22. Сравнительный анализ уровней фосфора

Показатель	Категории	Фосфор, ммоль/л		Р, ANOVA Краскела- Уоллиса и post hoc сравнения
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	1,10 [0,95; 1,23]	26	<0,001 P₁₋₅<0,001 P₂₋₅<0,001 P₃₋₅<0,001 P₄₋₅=0,002
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	1,12 [0,95; 1,24]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	1,17 [0,97; 1,29]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	1,18 [1,10; 1,31]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	1,54 [1,25; 1,61]	28	

Уровни фосфора (табл. 22) были сопоставимы между собой в группах пациенток с физиологической менопаузой (на фоне/ без МГТ), с ПНЯ на фоне ЗГТ и здоровых пациенток репродуктивного возраста, а в группе пациенток с синдромом Тернера были выше.

В связи с имеющимися данными о возможности лигандирования теломеразы препаратами витамина D [127] нами анализировались уровни витамина D в условиях отсутствия приёма колекальциферола на момент осмотра (согласно критериям включения). Различия пациенток с физиологической менопаузой (независимо от факта приёма МГТ), здоровых пациенток без репродуктивной патологии и получающих ЗГТ ≥ 5 лет по поводу ПНЯ не обнаружены. Наименьшие значения 25(ОН)витамина D обнаружены у пациенток с синдромом Тернера без ЗГТ.

Таблица 23. Сравнительный анализ уровней 25(ОН) вит.D

Показатель	Категории	Витамин 25 (ОН)вит.D , нг/мл		Р, ANOVA Краскела- Уоллиса и post hoc сравнения
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	41,9 [30,3; 44,4]	26	<0,001 P₁₋₅<0,001 P₂₋₅<0,001 P₃₋₅<0,001 P₄₋₅=0,012
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	42,0 [29,9; 44,4]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	29,3 [23,2; 40,3]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	27,6 [21,6; 36,4]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	16,4 [12,3; 24,7]	26	

Маркёры функции гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси и частота предиабета

В связи с наличием сведений о склонности пациенток с ПНЯ и СТ к формированию аутоиммунной патологии щитовидной железы (диффузный токсический зоб, хронический аутоиммунный тиреоидит) в условиях факта отсутствия приёма левотироксина натрия (на момент исследования), а также нарушений углеводного обмена (предиабет), был выполнен сравнительный анализ анамнестической частоты гипотиреоза, уровней ТТГ, частоты предиабета (нарушенная гликемия венозной плазмы натощак и нарушенная толерантность к глюкозе).

Различий групп по частоте гипотиреоза и ТТГ не обнаружено (табл. 24, 25).

Таблица 24. Сравнительный анализ анамнестической встречаемости гипотиреоза в исследуемых группах (по данным медицинской документации)

Показатель	Категории	Гипотиреоз, чел. (%)			Р, тест Хи-квадрат Пирсона
		Есть	Нет	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	5 (19%)	21 (81%)	26	0,845
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	5 (19%)	22 (81%)	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	7 (21%)	26 (79%)	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	5 (21%)	19 (79%)	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	3 (11%)	25 (89%)	28	

Таблица 25. Сравнительный анализ уровней ТТГ

Показатель	Категории	ТТГ, мЕд/л		Р, ANOVA Краскела-Уоллиса
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	2,3 [1,2; 3,2]	26	0,960
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	2,3 [1,0; 2,7]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	2,1 [1,4; 3,6]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	1,9 [1,4; 3,1]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	2,2 [1,6; 3,0]	28	

Различий групп по частоте предиабета не обнаружено (табл. 26).

Таблица 26. Сравнительный анализ анамнестической встречаемости предиабета в исследуемых группах (по данным медицинской документации)

Показатель	Категории	Предиабет, чел. (%)			Р, критерий Хи-квадрат Пирсона
		Есть	Нет	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	3 (12%)	23 (88%)	26	0,022
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	3 (11%)	24 (89%)	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	1 (3%)	32 (97%)	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	0 (0%)	24 (100%)	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	7 (25%)	21 (75%)	28	

Маркёры функции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси

С целью лабораторной оценки функции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси на фоне наличия/отсутствия эстрогенного дефицита на фоне/без заместительной терапии половыми стероидами во всех группах был выполнен сравнительный анализ медианных уровней ФСГ. Ожидается наименьшие результаты были выявлены в группе здоровых женщин репродуктивного возраста, в то время как наиболее высокие показатели - у пациенток с синдромом Тернера ввиду внутриутробного генеза формирования гипергонадотропного гипогонадизма.

Таблица 27. Сравнительный анализ уровней ФСГ

Показатель	Категории	ФСГ, мЕд/мл		Р, ANOVA Краскела-Уоллиса и post hoc сравнения
		Me [Q1; Q3]	n	
Исследуемые группы	Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	52 [42; 80]	26	< 0,001 $P_{1-3} < 0,001$ $P_{1-4} = 0,013$ $P_{1-5} < 0,001$ $P_{2-3} = 0,002$ $P_{2-4} = 0,002$ $P_{2-5} < 0,001$ $P_{3-4} < 0,001$ $P_{3-5} = 0,023$ $P_{4-5} < 0,001$
	Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	72 [45; 83]	27	
	Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	92 [91; 95]	33	
	Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	5,9 [4,7; 8,6]	24	
	Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	107 [104; 110]	28	

По итогам корреляционного анализа ФСГ и длины теломер лейкоцитов в была получена статистически значимая умеренная обратная корреляционная связь в общей совокупности обследованных женщин (табл. 28, рис. 2). Ни в одной из групп

такая связь не обнаружена (см. табл. 28).

Таблица 28. Корреляционный анализ взаимосвязи ФСГ и длины теломер лейкоцитов

Категории	n	Характеристика корреляционной связи ФСГ и длины теломер лейкоцитов			
		Коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ)	Направление	Сила связи по шкале Чеддока	P, тест Спирмена
Общая группа (n=138)	138	-0,445	Обратная	Умеренная	<0,001
Группа 1 (физиологическая менопауза + МГТ)	26	---	---	---	0,626
Группа 2 (физиологическая менопауза без МГТ)	27	---	---	---	0,439
Группа 3 (ПНЯ + ЗГТ)	33	---	---	---	0,754
Группа 4 (здоровые без ЗГТ)	24	---	---	---	0,838
Группа 5 (синдром Тернера без ЗГТ)	28	---	---	---	0,306

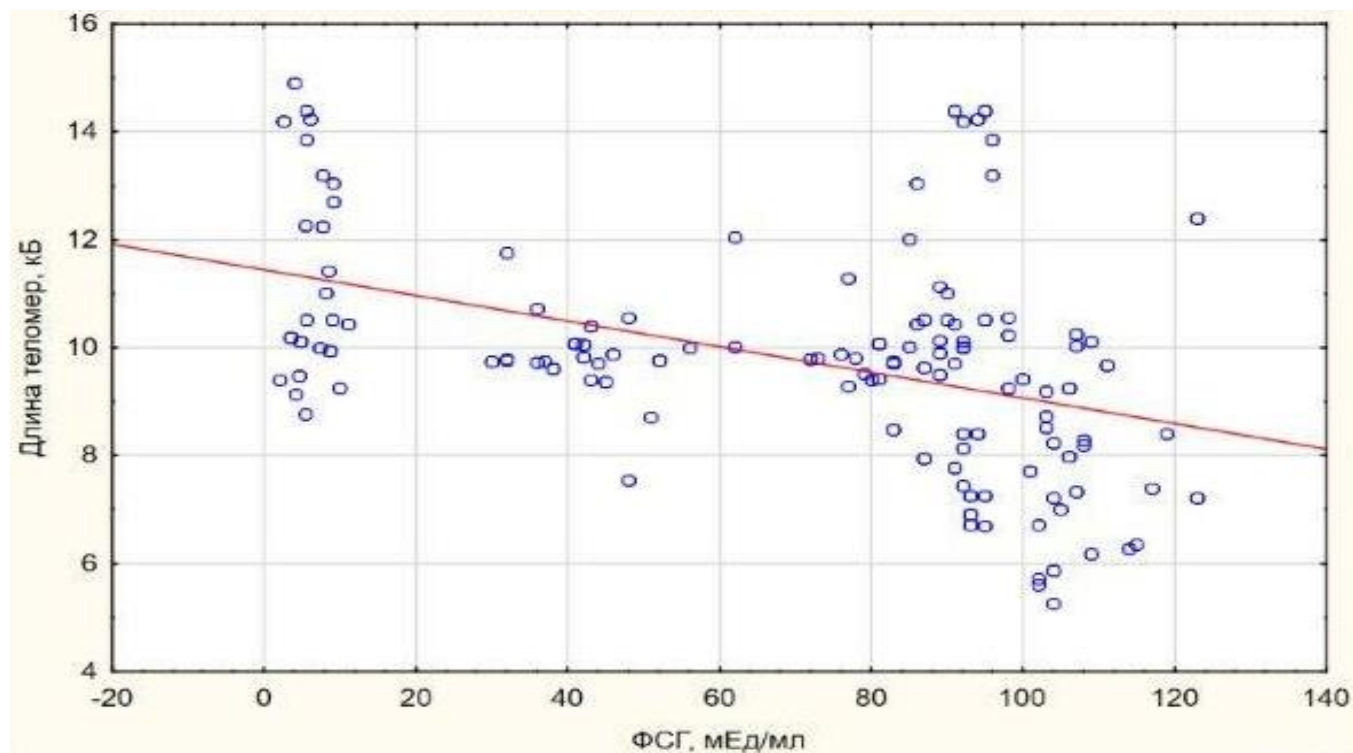


Рисунок 2. Диаграмма рассеяния в корреляционном анализе ФСГ и длины теломер в общей совокупности пациенток (n=138)

ВЫВОДЫ

1. Здоровые женщины репродуктивного возраста без терапии, женщины получающие ЗГТ половыми стероидами ≥ 5 лет по поводу ПНЯ и женщины в физиологической менопаузе независимо от факта приёма МГТ ≥ 5 лет имеют сопоставимую длину теломер лейкоцитов и показатели коморбидного статуса. Пациентки с СТ (45, X0) без ЗГТ половыми стероидами имеют самые короткие теломеры лейкоцитов и более высокие значения ГГТ, АСТ, АЛТ, триглицеридов, фосфора, более низкие значения креатинина и витамина D, чем пациентки других изученных групп.
2. Приём низкодозированной (1 мг 17β -эстрадиола) и микродозированной (0,5 мг 17β -эстрадиола) непрерывной МГТ ≥ 5 лет по поводу физиологической менопаузы, а также циклической (1 или 2 мг 17β -эстрадиола в течение 14 дней) ЗГТ ≥ 5 лет по поводу ПНЯ не ассоциирован с изменениями длины теломер лейкоцитов периферической крови и биохимических показателей коморбидного статуса у женщин.
3. Длина теломер лейкоцитов периферической крови и уровень фолликулостимулирующего гормона являются обратно умеренно-коррелирующими между собой показателями репродуктивно-репликативного старения у женщин.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Длина теломер лейкоцитов (ДТЛ) – это потенциальный косвенный предиктор ускоренного клеточного старения у пациенток с неятрогенным гипергонадотропным гипогонадизмом в исходе физиологической менопаузы, ПНЯ и синдрома Тернера (45, X0).
2. Молекулярно-генетическое исследование базальной длины теломер лейкоцитов (кБ) для косвенной оценки выраженности клеточного старения может быть рекомендовано: при двухкратном (с интервалом в 4-6 недель) определении уровня ФСГ ≥ 30 МЕ/л (забор крови натощак, в 08:00, при дисменорее – на 2-4 день МЦ, при аменорее – в любой день); манифестации климактерического синдрома в составе вазомоторных проявлений (чувство «приливов», приступы жара, потливости), генитоуринарного синдрома (сухость влагалища, зуд, диспареуния), факте достижения 14-летнего возраста у пациенток с синдромом Тернера (кариотип 45, XO).
3. Молекулярно-генетическое исследование базальной длины теломер лейкоцитов (кБ) рекомендовано выполнять с помощью комбинации количественной ПЦР в реальном времени, флуоресцентной гибридизации *in situ* и проточной цитометрии.
4. Длина теломер лейкоцитов (ДТЛ) – это материальный субстрат, который косвенно может использоваться для решения вопроса о немедленной инициации заместительной терапии половыми стероидами у женщин.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Способ прогнозирования длины теломер лейкоцитов на фоне приёма заместительной терапии половыми стероидами у пациенток с синдромом Тернера или преждевременной недостаточностью яичников / **Михеев Р.К.**, Мельниченко Г.А., Андреева Е.Н., Григорян О.Р., Орлова Я.А., Шереметьева Е.В., Абсатарова Ю.С., Логинова Е.В., Волеводз Н.Н., Панкратова М.С., Дедов И.И., Мокрышева Н.Г. // Патент РФ на изобретение № 2827907. Дата регистрации: 15.03.2024. Дата публикации: 03.10.2024
2. Репликативные и биохимические механизмы старения у женщин с синдромом Тернера / **Михеев Р.К.**, Андреева Е.Н., Григорян О.Р., Шереметьева Е.В., Панкратова М.С., Логинова Е.В. // Проблемы эндокринологии – 2023 - Т. 69 - № 6 - С. 113-120.
3. Молекулярные и клеточные механизмы старения: современные представления (Обзор литературы) / **Михеев Р.К.**, Андреева Е.Н., Григорян О.Р., Шереметьева Е.В., Абсатарова Ю.С., Одарченко А.С., Оплетаетова О.Н. // Проблемы эндокринологии – 2023 - Т. 69 - № 5 - С. 45-54.
4. Особенности репликативных и биохимических аспектов старения у женщин при различных формах неятрогенного гипергонадотропного гипогонадизма / **Михеев Р.К.**, Андреева Е.Н., Григорян О.Р., Шереметьева Е.В., Абсатарова Ю.С., Волеводз Н.Н., Логинова Е.В. // Проблемы эндокринологии – 2023 - Т. 69 - № 3 - С. 90-102.
5. Репликативные и биохимические аспекты старения у женщин с преждевременной недостаточностью яичников / **Михеев Р.К.**, Андреева Е.Н., Григорян О.Р., Шереметьева Е.В., Абсатарова Ю.С., Логинова Е.В. // Проблемы эндокринологии – 2023 - Т. 69 - № 2 - С. 92-98.
6. Влияние длительной менопаузальной гормональной терапии на показатели биологического возраста женщин / Орлова Я.А., Плисюк А.Г., Долгушин Г.О., Балацкий А.В., Кириллова К.И., **Михеев Р.К.**, Андреева Е.Н. // Кардиологический вестник – 2023 - Т. 18 - № 2-2 - С. 21-22.
7. Связь длительной менопаузальной гормональной терапии и показателей сосудистого и репликативного старения у женщин / Орлова Я.А., Плисюк А.Г., Долгушин Г.О., Кириллова К.И., **Михеев Р.К.**, Андреева Е.Н. // Профилактическая медицина – 2023 - Т. 26 - № 7 - С. 96-102.
8. Роль менопаузальной гормональной терапии в инициации плеiotропного (антивозрастного) эффекта посредством замедления репликативного клеточного старения у женщин (Обзор литературы) / Григорян О.Р., Фролова Т.М., **Михеев Р.К.**, Шереметьева Е.В., Абсатарова Ю.С., Ужегова Ж.А., Андреева Е.Н., Мокрышева Н.Г. // Проблемы эндокринологии – 2022 - Т. 68 - № 3 - С. 105-112.
9. Эффекты заместительной терапии половыми стероидами на длину теломер у женщин с различными формами гипергонадотропного гипогонадизма / **Михеев Р.К.**, Мельниченко Г.А., Андреева Е.Н., Григорян О.Р., Шереметьева Е.В., Абсатарова Ю.С., Орлова Я.А. // Молекулярная диагностика и безопасность – 2023. Сборник тезисов Конгресса с международным участием. Москва, 2023 – С. 116 – 117.
10. Связь длительной менопаузальной гормональной терапии и показателей сосудистого и репликативного старения у женщин / Орлова Я.А., Плисюк А.Г., Долгушин Г.О., Кириллова К.И., **Михеев Р.К.**, Андреева Е.Н. // Медицина молодая.

Сборник тезисов II Междисциплинарного форума. Москва, 2023 – С. 20.

11. Репликативные маркёры старения у женщин с преждевременной недостаточностью яичников / **Михеев Р.К.**, Андреева Е.Н., Григорян О.Р., Шереметьева Е.В., Абсатарова Ю.С., Логинова Е.В. // Персонализированная медицина и практическое здравоохранение. Сборник тезисов X (XXIX) Национального конгресса эндокринологов с международным участием. Москва, 2023 – С. 48.

12. Патология теломер в онтогенезе у пациенток с синдромом Тернера / **Михеев Р.К.**, Григорян О.Р., Панкратова М.С., Андреева Е.Н., Шереметьева Е.В., Абсатарова Ю.С., Мокрышева Н.Г. // Проблемы эндокринологии. 2022 - Т. 68 - № 2 - С. 128-132.

13. Активное долголетие женщины: теломеразная теория старения в основе ведения менопаузального периода / **Михеев Р.К.**, Григорян О.Р., Шереметьева Е.В., Абсатарова Ю.С., Ужегова Ж.А., Чернова М.О., Куринова А.Н., Сазонова Д.В., Никанкина Л.В., Андреева Е.Н. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2022 - Т. 21 - № 3 - С. 116-121.

14. Geroprotective effects of menopausal hormonal therapy among females with non-iatrogenic hypergonadotropic hypogonadism / Robert K. **Mikheev**, Elena N. Andreeva, Olga R. Grigoryan, Galina A. Melnichenko, Tatyana S. Kokorina // 4th Edition of World Congress on ENDOCRINOLOGY, DIABETES AND METABOLISM (EDM-2023 CONGRESS). Abstract Book – 07-08 Sep 2023, Rome, Italy.

Список сокращений

АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспартатаминотрансфераза
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
ГГТ – гамма-глутамитранспептидаза
ДАД – диастолическое артериальное давление
ДДТ - 4,4'-дихлордифенил-трихлорэтан
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ДТЛ – длина теломер лейкоцитов
ЗГТ – заместительная гормональная терапия
ИБС – ишемическая болезнь сердца
ИМТ – индекс массы тела
(к)Б – (кило)база – единица измерения числа пар азотистых оснований; 1кБ равняется 1000 базам
МГТ – менопаузальная гормональная терапия
МИС – медицинская информационная система
МКБ-10 – Международная классификация болезней 10-го пересмотра
МЦ – менструальный цикл
ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения
ОО РАЭ – Общественная организация «Российская ассоциация эндокринологов»
ОХС – общий холестерин
ПНЯ – преждевременная недостаточность яичников
ПТГ – паратиреоидный гормон
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
рСКФ – расчётная скорость клубочковой фильтрации
РФ – Российская Федерация
САД – систолическое артериальное давление
Св. Т3 – свободный трийодтиронин
Св. Т4 – свободный тироксин
СТ – синдром Тернера
ТОТ – теломеразная обратная транскриптаза
ТТГ – тиреотропный гормон
ТЭЛА – тромбоэмболия лёгочной артерии
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
ХБП – хроническая болезнь почек
ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности
ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности

ЦВБ – цереброваскулярная болезнь

25(ОН)-вит. D – 25-гидроксикальциферол

95% ДИ – 95-процентный доверительный интервал

NLCS – Netherlands Cohort Study – Нидерландское когортное исследование

PBS - Phosphate-buffered saline – фосфатно-буферный физиологический раствор

SD – standard deviation – стандартное отклонение

WHI – World Health Initiative – Всемирная инициатива в области здравоохранения