УДК 616.43:616.8-055.2

ФОЛЛИСТАТИН КАК МАРКЕР ФОРМИРУЮЩЕГОСЯ СПКЯ У ДЕВОЧЕК С ПУБЕРТАТНОЙ ГИПЕРАНДРОГЕНИЕЙ

Московкина А.В., Пузикова О.З., Линде В.А.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, e-mail: moskangel@bk.ru

У 84 пациенток 15–17 лет с различными проявлениями синдрома гиперандрогении (ГА) и 30 девочек соответствующего возраста без проявлений ГА исследовалось содержание уровня фоллистатина, андрогенов, гонадотропных гормонов и половых стероидов в крови. Выявленные существенные отличия уровня фоллистатина у пациенток с ГА по сравнению с контрольной группой подтверждают участие гормона в сложном патогенезе формирования дисфункции яичников у девочек в пубертатном периоде с гиперандрогенией. Наличие выраженного возрастания секреции фоллистатина у девочек с нарушениями менструального цикла свидетельствует о патологической роли ауто/паракринных регуляторов, приводящих к дискоординации деятельности периферического звена репродуктивной системы. Установленная достоверная корреляция фоллистатина с повышением секреции андрогенов, снижением ФСГ и эстрадиола дает основание предполагать формирование патологического «порочного» круга, характеризующегося нарушением секреции гонадотропинов и внутриовариальных регуляторов, что ведет к развитию СПКЯ у пациенток с гиперандрогенией.

Ключевые слова: фоллистатин, гиперандрогения, девочки-подростки, овариальная дисфункция

FOLLISTATIN AS A MARKER OF PCOS DEVELOPMENT IN HYPERANDROGENIC ADOLESCENT GIRLS

Moskovkina A.V., Puzikova O.Z., Linde V.A.

Rostov Scientific and Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Rostov-on-Don, e-mail: moskangel@bk.ru

The aim of the study was to examine the follistatin concentrations in adolescent girls with clinical manifestations of hyperandrogenism (HA) and its possible role in the development of menstrual dysfunction. In 84 patientsat the age of 15–17 with different manifestations of hyperandrogenism and in 30 girls of the corresponding age without manifestations of hyperandrogenism the content of basal level of follistatin, androgens, gonadotropic hormones and sex steroids. It may be difficult to distinguish biologically and ultrasonically hyperandrogenic adolescents as the result of normal maturational process of puberty from the ones with developing PCOS. The increased secretion of follistatin and its correlation with the reduction of androgens, FSH and estradiol in adolescent girls with menstrual irregularities and hyperandrogenism confirms the pathological role of this intraovarian factor in discoordination of peripheral functioning of reproductive system, and its possible significance in pathogenesis of polycystic ovarian syndrome as a future outcome of pubertal hyperandrogenism.

Keywords: follistatin, hyperandrogenism, teenage girls, ovarian dysfunction

Раннее выявление нарушений становления репродуктивной функции у девочек-подростков является важной проблемой современной гинекологии. Одной из часто встречающихся причин патологии репродукции является синдром гиперандрогении (ГА). Андрогены являются предшественниками эстрогенов в цепи стероидогенеза. В яичниках андрогены через активацию собственных рецепторов (AR) инициируют рост примордиальных и первичных фолликулов, усиливают ФСГ-зависимый процесс дифференцировки гранулезы и синтеза эстрогенов [12]. Поликистозная трансформация яичников при избытке андрогенов связана с ускорением роста фолликулов до стадии предантральных и антральных и подавлением их атрезии [8]. Низкая активность ароматазы в малых фолликулах, превращение тестостерона в дигидротестостерон, но не в эстрадиол, замыкает порочный круг ГА [3]. Сложность и многофакторность патогенеза гиперандрогении связаны с тем, что функция яичников, надпочечников, гипоталамуса и гипофиза тесно переплетены друг с другом, и порой представляется весьма затруднительным выделить какое-либо одно ведущее патогенетическое звено в формировании овариальной дисфункции. Другой проблемой оценки тяжести и разработки программы коррекции ГА является то, что в пубертате умеренная андрогензависимая дермопатия, кратковременная нерегулярность менструаций и эхографическая картина мультифолликулярных яичников являются у некоторых девочек-подростков вариантами физиологической нормы [2]. Хорошо известен также феномен существования как серьезных нарушений менструального цикла и репродуктивных проблем, так и полное их отсутствие при сходных клинико-биохимических проявлениях ГА [13]. Поэтому актуальным является исследование возможных овариальных факторов, участвующих в патогенезе формирования менструальной дисфункции при синдроме гиперандрогении. Одним из таких факторов может являться фоллистатин –

гликозилированный полипептид, выделенный в фолликулярной жидкости, который является многофункциональным регуляторным пептидом, опосредующим большинство своих эффектов через нейтрализацию стимулирующего действия белка активина на фолликулостимулирующий гормон [6]. Есть основания предполагать, что именно генетически детерминированные изменения секреции фоллистатина играют ключевую роль в нарушении фолликулогенеза при синдроме гиперандрогении [5]. Кроме того, по данным Urbanek et al., изучившего 37 кандидатных генов СПКЯ, полиморфизм гена фоллистатина показал наиболее сильную связь с гормональными и метаболическими проявлениями этого заболевания [11]. Некоторые результаты исследования подтверждают немаловажную и многогранную роль фоллистатина в патогенезе СПКЯ и указывают на необходимость продолжения изучения этого фактора в разные возрастные периоды. Также следует отметить, что сообщения, посвященные исследованию факторов репродукции у подростков, имеют единичный характер, в связи с чем представляется актуальным изучение маркеров фолликулогенеза, в частности фоллистатина, у девочек с пубертатной гиперандрогенией и овариальной дисфункцией.

Цель исследования: оценить содержание фоллистатина в сыворотке крови у девочек-подростков с учетом клинических проявлений гиперандрогении и наличия овариальной дисфункции.

Материалы и методы исследования

Проведено обследование 114 девочек-подростков в возрасте от 14 до 17 лет (средний возраст – 15,9 ± 0,12 лет). 1-ю группу составили 42 пациентки с регулярным менструальным циклом и различными клиническими проявлениями ГА (акне, гирсутизм различной степени тяжести). Во 2-ю группу были включены 42 девочки-подростка с клиническими проявлениями гиперандрогении и нарушениями менструального цикла (НМЦ), преимущественно по типу олигоменореи. В контрольную группу вошли 30 обследуемых 15–17 лет (средний возраст 16,1 ± 0,14 лет) с нормальным менструальным циклом и без клинических проявлений гиперандрогении. Обследование осуществлялось по единому протоколу, включавшему исследование в сыворотке крови содержания базального фоллистатина методом хемилюминесцентного иммуноферментного анализа. Уровень фоллистатина выражался в пг/мл. Функциональное состояние гипофиза, яичников и надпочечников оценивалось также методом хемилюминесцентного иммуноферментного анализа также на 5–7 день менструального цикла по уровню базальных показателей лютеинизирующего (ЛГ), фолликулостимулирующего (ФСГ), эстрадиола ($Э_2$), прогестерона, свободного тестостерона (Тсв), общего тестостерона (Т), дегидроэпиандростерона (ДГЭА), дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С), андростендиона (Ан), 17-оксипрогестерона (17-ОН), глобулина, связывающего половые стероиды (ГСПС). Забор крови проводился с 7 до 8 часов утра. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием прикладной программы MedCalc 11.4.2., непараметрического корреляционного анализа по Спирмену. Достоверность показателей определена по коэффициенту Стьюдента (t). За критический уровень значимости принято значение $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Проявления андрогензависимой дермопатии выявлялись у всех пациенток основной группы, при этом у 68,7 % девочек-подростков отмечался гирсутизм различной степени выраженности, акне – у 57,8 % обследуемых. Анализ структуры нарушений менструальной функции у девочек основной группы показал, что наибольший удельный вес занимали различные проявления гипоменструального синдрома (81,2 %), чаще всего в виде редких и скудных менструаций (78,1 %). Длительность становления регулярного менструального цикла с начала менархе, которому соответствует цикличность импульсной секреции гонадотропинов, занимает не менее 1-2 лет, но наличие очевидной олигоменореи через 2–3 года после менархе является поводом для обследования и лечения, особенно в случае сочетания с симптомами ГА.

Анализ базальной секреции андрогенов по клиническим группам показал достоверное повышение уровня 17-ОН, ДГЭА-С, ДГЭА, Ан, Тсв в плазме крови во 2 группе больных по сравнению с 1 группой, что указывало на более выраженные нарушения в продукции андрогенов у пациенток с нарушенным менструальным циклом (табл. 1).

Примечателен тот факт, что у подростков с проявлениями ГА обнаружено значительное усиление секреции ДГЭА и его метаболита ДГЭА-С, которые являются андрогенов адреналового происхождения, а также 17-гидроксипрогестерона, являющегося так называемым «промежуточным продуктом», неактивным предшественником в биосинтезе андрогенов надпочечников. Для уточнения характера нарушений регуляторных процессов репродуктивной функции у подростков с ГА было проведено изучение базальных показателей ЛГ и ФСГ, позволившее выявить достоверное повышение показателей ЛГ у пациенток с ГА по сравнению с контрольной группой ($p = 0,041$). При этом у пациенток, имеющих нарушения менструального цикла (табл. 2), средние значения ЛГ были достоверно выше, чем у девочек-подрост-

ков с нормальным менструальным циклом ($p = 0,044$), что указывает на нарушение регуляторной функции гонадотропинов у пациенток с олигоменореей и гиперандрогенией, обусловленное гормональной интраовариальной патологией.

Таблица 1

Показатели базального уровня андрогенов в плазме крови у девочек-подростков клинических групп (медианы, квартили)

Показатели / Группы пациенток с ГА ($n = 84$)	17-ОН (нг/мл)	ДГЭА (мкг/мл)	ДГЭА-С (мкг/мл)	Тсв (пг/мл)	Ан (нг/мл)
Пациентки без НМЦ ($n = 42$)	1,30 (0,80; 2,20)	11,5 (9,60; 17,5)	4,85 (2,60; 5,30)	3,90 (0,90; 5,20)	3,20 (2,10; 4,20)
Пациентки с НМЦ ($n = 42$)	2,95 (1,2; 4,1)	19,4 (11,9; 22,6)	5,85 (3,1; 7,85)	4,80 (2,3; 6,8)	7,75 (4,90; 9,40)
p	0,047	0,037	0,034	0,041	0,024

Примечание. p – статистические различия между группами.

Таблица 2

Показатели базального уровня гонадотропинов и эстрадиола в плазме крови у девочек-подростков клинических групп (медианы; квартили)

Показатели / Группы пациенток с ГА ($n = 84$)	ЛГ (мМЕ/мл)	ФСГ (мМЕ/мл)	Эстрадиол (пг/мл)
Пациентки без НМЦ ($n = 42$)	6,20 (4,10; 8,50)	5,30 (3,40; 7,50)	73,0 (41,5; 91,0)
Пациентки с НМЦ ($n = 42$)	13,20 (9,50; 18,0)	4,50 (3,70; 6,10)	33,0 (21,0; 51,0)
p	0,044	0,534	0,047

Примечание *p* – статистические различия между группами.

Данный факт объясняется изменением чувствительности яичников к гонадотропным стимулам вследствие избыточного синтеза адреналовых андрогенов. Клетки theca intema фолликула, на мембране которых есть рецепторы к ЛГ, в условиях повышенной секреции последнего начинают синтезировать большее, чем в норме количество андрогенов. Клетки же гранулезы, имеющие рецепторы к ФСГ, испытывают на себе дефицит влияния последнего и оказываются не в состоянии метаболизировать избыточное количество андрогенов в эстрогены, вследствие чего устанавливается стойкая гиперандрогения, ведущая к овариальной дисфункции.

Исследование концентрации фоллистатина в общей группе пациенток с ГА выявило превышение контрольных значений почти в два раза [863,0, (193,5; 1457,7) пг/мл и 413,3 (370,0; 716,0) пг/мл соответственно, $p = 0,04$]. При этом у девочек-подростков с НМЦ уровень фоллистатина (табл. 3) был достоверно выше соответствующих значений у пациенток без НМЦ ($p = 0,044$), превышая контрольные показатели более чем в 2 раза ($p = 0,035$). Эти данные подтверждают мнение о том, что нарушение фолликулогенеза у обследуемых пациенток в условиях пубертатной гиперандрогении может явиться значимым фактором для развития овариальной дисфункции.

Таблица 3

Показатели фоллистатина в плазме крови у подростков клинических групп (медианы, квартили)

Группы пациенток ($n = 84$)	Фоллистатин (пг/ мл)
Пациентки без НМЦ ($n = 42$)	667,0 (430,0; 824,0)
Пациентки с НМЦ ($n = 42$)	921,5 (193,5; 1457,0)
Контрольная группа ($n = 30$)	413,3 (370,0; 716,0)
p_1	0,150
p_2	0,035
p_3	0,044

Примечание. p – статистические различия между группами: p_1 – 1-й и контрольной группой; p_2 – 2-й и контрольной группой; p_3 – 1-й и 2-й группой.

Изучение корреляции фоллистатина с показателями гормонов позволило

выявить достоверную прямую связь его содержания с базальной концентрацией в сыворотке крови 17-ОП, ДЭАС, свободного тестостерона, андростендиона (табл. 4).

Таблица 4

Результаты корреляционной связи фоллистатина с показателями некоторых андрогенов у девочек-подростков с НМЦ

Гормональные показатели	17-ОН		ДГЭА-С		Тсв		Ан	
Показатели корреляции фоллистатина	R	p	R	p	R	p	R	p
	0,17	0,05	0,23	0,02	0,78	0,01	0,87	0,04

Примечания: R – коэффициент корреляции по Спирмену; знак (–) свидетельствует об обратной корреляционной связи; отсутствие знака – о прямой корреляционной связи; p – значимость корреляционной связи по Спирмену.

Следовательно, повышение продукции фоллистатина находилось в прямой зависимости от степени выраженности супрафизиологической андрогенемии, поскольку избыток андрогенов препятствует нормальному развитию фолликулов, нарушает процесс селекции доминантного фолликула и вызывает его атрезию. Можно предполагать, что на ранних этапах становления СПКЯ уже в раннем пубертатном возрасте, пульс-генератор ГРГ приобретает резистентность к ингибирующему воздействию низких концентраций эстрадиола и прогестерона, что, вероятно, может быть обусловлено «репрограммирующим» эффектом андрогенов. В частности, подобная резистентность выявлена у больных СПКЯ [4]. Высокая частота пульс-генератора ГнРГ нарушает развитие фолликулов и приводит к еще большей супрессии продукции эстрогенов в яичниках.

Регуляция интраовариальной продукции гормонов, в частности андрогенов, крайне важна для нормального функционирования яичников, в связи с чем синтез андрогенов должен сохраняться на минимально необходимом для яичников уровне. Ферментные системы, ответственные за синтез андрогенов в яичниках, располагаются в теке, а основным их регулятором является ЛГ. В клетках теки под воздействием лютеинизирующего гормона происходит увеличение ЛГ-рецепторов на поверхности клеток и увеличение экспрессии и активности StAR, P450scc, 3P-ГСД-П, P450c17, необходимых для усиления продукции андрогенов. В норме регуляция стимулирующего влияния ЛГ на клетки теки осуществляется через механизм десенситизации специфических рецепторов. Несмотря на многочисленные исследования, специфического дефекта в ферментных системах, в большинстве яичников найти не удалось [1, 9]. В то же время было показано повышение активности ферментных систем, что с большей вероятностью соответствует состоянию дизрегуляции, нежели проявлению генной мутации. Таким образом, увеличение секреции ЛГ гипофизом и его инициирующая роль, судя по всему, не является первостепенной, а имеет вторичный характер, и ее роль заключается лишь в усилении исходного интраовариального дефекта. Увеличение функциональной активности фоллистатина модулирует функцию клеток гранулезы аутокринным/паракринным путем, способствуя процессу атрезии фолликулов. Известно, что когда высокое количество фоллистатина был введено самкам мышей, некоторые из них стали бесплодными из-за подавления концентрации ФСГ и фолликулогенеза [7]. В свою очередь, ФСГ индуцирует экспрессию различных паракринных факторов, способных воздействовать на продукцию андрогенов в теке, в частности повышающих количество рецепторов ЛГ [10]. Наличие отрицательной корреляционной связи фоллистатина с уровнем ФСГ ($p = 0,01$) и эстрадиола ($p = 0,02$) в сыворотке крови у подростков с НМЦ (табл. 5), возможно, обусловлено непосредственным влиянием фоллистатина на выброс ФСГ. Также необходимо отметить, что у девочек-подростков без нарушений менструального цикла значимых корреляционных связей фоллистатина с показателями гонадотропинов и эстрадиола выявлено не было.

Таблица 5

Результаты корреляционной связи фоллистатина с показателями гонадотропных гормонов и периферических стероидов у девочек-подростков с НМЦ

Гормональные показатели	ЛГ		ФСГ		$Э_2$		Прогестерон	
Показатели корреляции фоллистатина	R	p	R	p	R	p	R	p
	0,17	0,15	–0,13	0,01	–0,78	0,02	0,17	0,09

Примечание. R – коэффициент корреляции по Спирмену; знак (–) свидетельствует об обратной корреляционной связи; отсутствие знака – о прямой корреляционной связи; p – значимость корреляционной связи по Спирмену.

Таким образом, вышеуказанные данные подтверждают участие фоллистатина в сложном патогенезе формирования дисфункции яичников у девочек в пубертатном периоде с гиперандрогенией. Наличие выраженного возрастания секреции фоллистатина у девочек с нарушениями менструального цикла свидетельствует о патологической роли ауто/паракринных регуляторов, приводящих к дискоординации деятельности периферического звена репродуктивной системы. Кроме того, достоверная корреляция фоллистатина с повышением секреции андрогенов, снижением ФСГ и эстрадиола дает основание предполагать формирование «порочного» круга, с одной стороны, благодаря возможному повышению частоты и амплитуды выброса рилизинг-фактора, с другой – внутрияичникового дефекта стероидогенеза и выявляет четкую причинно-следственную взаимосвязь между интраовариальными регуляторами фолликулогенеза и гонадотропной активностью гипофиза.

Список литературы

1. Тихомиров А.Л. Лубнин Д.М. Синдром поликистозных яичников: факты, теории, гипотезы // Журнал Фарматека. – 2003. – № 11.– С. 8–19.

2. Уварова Е.В., Григоренко Ю.П. Актуальные вопросы синдрома поликистозных яичников (обзор литературы) // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2007. – № 6. – С. 41–61.

3. Чагай Н.Б., Фадеев В.В. Сложности дифференциальной диагностики и терапии неклассической формы врожденной дисфункции коры надпочечников у пациенток репродуктивного возраста // Проблемы репродукции. – 2009. –№ 3. – С. 93–98.

4. Шаргородская А.В., Пищулин А.А., Мельниченко Г.А. Синдром поликистозных яичников в возрастном аспекте (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2003. – № 1. – 28 с.

5. Calvo R., Villuendas G. Role of the follistatin gene in women with polycystic ovary syndrome // Fertil Steril. – 2001. – Vol. 75. – P. 1020–1023.

6. Drummond A.E. The role of steroids in follicular growth // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2006. – Vol. 4. – № 16. P. 16–26.

7. Guo Q., Kumar T., Woodruff T. Over expression of mouse follistatin causes reproductive defects in transgenic mice // Mol. Endocrinol. – 1998. – Vol. 3. – P. 96–106.

8. Kim H.H., Shaipanich M., Hasselblatt K. Induction of apoptosis and ovarian cyst formation in the mouse ovary by dehydroepiandrosterone // J. Med. – 2003. – Vol. 34. – № 16. – P. 101–112.

9. Norman R., Milner C. Circulating follistatin concentrations are higher and activin concentrations are lower in polycystic ovarian syndrome // Hum. Reprod. – 2001. – Vol. 16. – P. 668–672.

10. Ramaswamy Suganthi1 Ph.D. Follistatin concentrations in women from Kerala with polycystic ovary syndrome // Iranian Journal of Reproductive Medicine. – 2010. – Vol. 8. – № 3. – P. 131–134.

11. Urbanek M., Legro R.S. Thirty-seven candidate genes for polycystic ovary syndrome: strongest evidence for linkage is with follistatin // Proc. Natl. Acad. Sci USA. – 1999. – Vol. 96. – P. 8573–8578.

12. Wang H., Andoh K., Hagiwara H. et al. Effect of adrenal and ovarian androgens on type 4 follicles unresponsive to FSH in immature mice // Endocrinology. – 2001. – Vol. 142. – P. 4930–4936.

13. Xiao S., Robertson D., Findlay J. Effects of activin and follicle-stimulating hormone (FSH)-suppressing protein / follistatin on FSH receptors and differentiation of cultured rat granulosa cells // Endocrinology. – 1992. – Vol. 131. – P. 1009–1016.

References

1. Tihomirov A.L. Lubnin D.M. Sindrom polikistoznyh jaichnikov: fakty, teorii, gipotezy. Zhurnal Farmateka, 2003, no. 11, pp. 8–19.

2. Uvarova E.V., Grigorenko J.P. Aktual'nye voprosy sindroma polikistoznyh jaichnikov (obzor literatury), Reproduktivnoe zdorov'e detej i podrostkov, 2007, no. 6. pp. 41–61.

3. Chagaj N.B., Fadeev V.V. Slozhnosti differencial'noj diagnostiki i terapii neklassi-cheskoj formy vrozhdennoj disfunkcii kory nadpochechnikov u pacientok reproduktivnogo vozrasta. Problemy reprodukcii, 2009, no. 3. pp. 93–98.

4. Shargorodskaja A.V., Pishhulin A.A., Melnichenko G.A. Sindrom polikistoznyh jaichnikov v vozrastnom aspekte (obzor literatury). Problemy reprodukcii, 2003, no. 1, pp. 28.

5. Calvo R., Villuendas G. Role of the follistatin gene in women with polycystic ovary syndrome // Fertil Steril. 2001. Vol. 75. pp. 1020–1023.

6. Drummond A.E. The role of steroids in follicular growth// Reprod. Biol. Endocrinol. 2006. Vol.4. no. 16. pp. 16–26.

7. Guo Q., Kumar T., Woodruff T. Over expression of mouse follistatin causes reproductive defects in transgenic mice // Mol. Endocrinol. 1998. Vol. 3. P. 96-106.

8. Kim H.H., Shaipanich M., Hasselblatt K. Induction of apoptosis and ovarian cyst formation in the mouse ovary by dehydroepiandrosterone // J. Med. 2003. Vol. 34. no. 16. pp. 101-112.

9. Norman R., Milner C. Circulating follistatin concentrations are higher and activin concentrations are lower in polycystic ovarian syndrome// Hum. Reprod. 2001. Vol.16. P. 668-672.

10. Ramaswamy Suganthi1 Ph.D. Follistatin concentrations in women from Kerala with polycystic ovary syndrome // Iranian Journal of Reproductive Medicine. 2010. Vol.8. no. .3. pp. 131–134.

11. Urbanek M., Legro R.S. Thirty-seven candidate genes for polycystic ovary syndrome: strongest evidence for linkage is with follistatin // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1999. Vol. 96. pp. 8573–8578.

12. Wang H., Andoh K., Hagiwara H. et al. Effect of adrenal and ovarian androgens on type 4 follicles unresponsive to FSH in immature mice // Endocrinology. 2001. Vol. 142. pp. 4930–4936.

13. Xiao S., Robertson D., Findlay J.Effects of activin and follicle-stimulating hormone (FSH)-suppressing protein/ follistatin on FSH receptors and differentiation of cultured rat granulosa cells // Endocrinology. 1992. Vol. 131. pp. 1009–1016.

Рецензенты:

Орлов А.В., д.м.н., профессор, ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону;

Авруцкая В.В., д.м.н., главный научный сотрудник акушерского отдела, ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.

Работа поступила в редакцию 13.05.2014