

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОВАРИАЛЬНОЙ АРОМАТАЗЫ ПРИ СИНДРОМЕ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

© Е.М. Тимофеева, Е.В. Мишарина, И.П. Николаенков, Я.А. Самойлович, Н.Н. Ткаченко

ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

■ С целью изучения овариальной ароматазной активности при синдроме поликистозных яичников (СПЯ) обследовано 49 больных СПЯ и 33 здоровые женщины репродуктивного возраста. Ароматазную активность определяли с помощью коэффициента эстрадиол/число антральных фолликулов в обоих яичниках (E_2/n). Значения овариальной ароматазы положительно коррелировали ($p < 0,05$) с результатами ее определения с помощью теста с ингибитором ароматазы летрозолом при СПЯ. Сниженная ароматазная активность антральных фолликулов имела у 59 % больных СПЯ. Полученные данные указывают на то, что коэффициент E_2/n позволяет оценивать овариальную ароматазу и что абсолютный или относительный дефицит овариальной ароматазы лежит в основе патогенеза СПЯ.

■ **Ключевые слова:** синдром поликистозных яичников; овариальная ароматаза.

METHODOLOGICAL APPROACHES TO THE DEFINITION OF OVARIAN AROMATASE IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

© Е.М. Timofeeva, E.V. Misharina, I.P. Nikolaenkov, J.A. Samoylovich, N.N. Tkachenko

FSBI "D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology", Saint Petersburg, Russia

For citation: Journal of Obstetrics and Women's Diseases, 2016, vol. 65, No. 1, pp. 54-61 Accepted: 21.03.2016

■ In order to study ovarian aromatase activity in polycystic ovary syndrome (PCOS) examined 49 patients with PCOS and 33 healthy women of reproductive age. Aromatase activity determined using estradiol/number of antral follicles in both ovaries ratio (E_2/n). Values ovarian aromatase positively correlated ($p < 0.05$) with the results of its determination by a test with the aromatase inhibitor letrozole in PCOS. Reduced aromatase activity of antral follicles was present in 59 % of patients with PCOS. These data indicate that E_2/n ratio allows to evaluate ovarian aromatase and that an absolute or relative deficiency of ovarian aromatase underlies the pathogenesis of PCOS.

■ **Keywords:** polycystic ovary syndrome; ovarian aromatase.

Введение

Наиболее частой формой овариальной недостаточности является нормогонадотропная ановуляция, которая характеризуется неизменным базальным уровнем гонадотропинов в крови [1]. Распространенность этой патологии среди всех нарушений функции яичников, по данным ВОЗ [2], составляет около 85 % и является одной из самых частых причин нарушения менструального цикла и бесплодия. СПЯ имеется у 5–10 % женщин репродуктивного возраста [3]. Это заболевание характеризуется тремя основными проявлениями: гиперандрогемией, хронической ановуляцией и поликистозной трансформацией яичников.

Важную роль в развитии нормогонадотропной недостаточности яичников играют первично-овариальные факторы. К ним сле-

дует отнести хронический аднексит, аутоиммунное поражение яичников или повреждение ферментативной системы, ответственной за синтез эстрогенов доминантным фолликулом. Ключевым ферментом в конверсии андрогенов в эстрогены является ароматаза. Ароматаза — уникальный ферментный комплекс, который необходим в организме для завершения синтеза эстрогенов гранулезными клетками яичников. Ароматазная активность в яичниках проявляется в антральных фолликулах 5-го класса, когда начинается третья стадия фолликулогенеза — селекция и созревание доминантного фолликула. В эту стадию фолликулы достигают размеров 2 мм и более в диаметре и их рост становится полностью зависим от фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), который стимулирует ароматазу через

аденилатциклазную систему [4]. Активность ароматазы определяется также в других тканях и органах, участвующих в периферической продукции эстрогенов, таких как жировая ткань, фибробласты кожи, печень, строма и паренхима молочных желез, эндометрий, плацента, мышечная и костная ткань и др. [5–9]. Следовательно, имеются достаточные основания полагать, что реакция ароматизации является одним из существенных механизмов поддержания эстроген-андрогенного баланса в соответствующих органах и может влиять на формирование эстрогендефицитных состояний при ановуляции.

Конверсия андрогенов в эстрогены является последней стадией в мультиферментной трансформации холестерина в эстрогены. Известно, что ароматаза участвует в трех последовательных стадиях окисления андрогенов с использованием трех молекул кислорода и НАДФ-Н [10].

В 1980-х годах рядом авторов [8, 11–16] был выделен белок человека — ароматаза цитохрома P₄₅₀ из плацентарных микросом и продемонстрировано преобразование андростендиона в эстрон с помощью очищенного фермента. Эти исследования доказали, что в процессе ароматизации участвует один фермент, а не несколько, как предполагалось первоначально.

Цитохром P₄₅₀ кодируется геном *CYP19*. Ген ароматазы P₄₅₀ *CYP19* человека расположен на коротком плече хромосомы 15q21.2 и состоит из 10 экзонов, причем только 9 из них являются кодирующими (II–X). Некодирующий I экзон, который экспрессируется в зависимости от типа ткани, определяет гистоспецифичность. Благодаря механизму альтернативного тканеспецифического сплайсинга в различных тканях используются свои собственные промотеры, от которых зависит усиление или ослабление тканеспецифического синтеза эстрогенов. Таким образом, несмотря на то, что транскрипты ароматазы имеют различные 5'-концы в различных тканях, сплайсинг экзона I происходит в общем 3'-акцепторном участке. В нем происходит сшивка отдельных вариантов экзона I с экзоном II, расположенном непосредственно перед началом стартового участка трансляции в кодирующей области [17, 18]. В результате синтезируются идентичные белки. Поэтому использование различных промотеров влияет не на

структуру белка, а на уровень его экспрессии [17]. Тканеспецифические промотеры для физиологического биосинтеза эстрадиола имеются в половых железах, костях, головном мозге, сосудах, жировой ткани, коже, печени плода и плаценте [19–21].

Впервые дефицит ароматазы был описан Shozu et al. в 1991 году [22]. Всего описано 19 случаев молекулярных дефектов гена *CYP19*, которые сопровождаются почти полным дефицитом ароматазы и различной степенью выраженности клинических проявлений. При дефиците ароматазы у беременной женщины признаки вирилизации (гирсутизм, угри, увеличение клитора) проявляются со второго триместра беременности. Известно, что у новорожденной девочки при почти полном дефиците ароматазы выявляются отклонения в развитии наружных половых органов, близкие по клиническим проявлениям к врожденной вирилизирующей гиперплазии коры надпочечников, наличие кист яичников.

В исследованиях А. Belgorosky [23] описан эндокринологический статус девочек с дефицитом ароматазы в течение первого года жизни. У новорожденного ребенка с дефицитом ароматазы было выявлено высокое содержание гонадотропинов и андрогенов при низком уровне эстрогенов в сыворотке крови. Имеются сведения [24], что около 1% активности ароматазы в крови достаточно, чтобы предотвратить появление признаков вирилизации матери во время беременности. Чем ниже активность ароматазы, тем больше степень вирилизации наружных половых органов плода женского пола к моменту рождения. При дефиците ароматазы в пубертатном возрасте наблюдается гипоплазия молочных желез, первичная аменорея, выраженная маскулинизация, снижение минеральной плотности костной ткани, задержка костного возраста [5]. Содержание ФСГ, ЛГ и андрогенов (тестостерона и андростендиона) в сыворотке крови при полном дефиците ароматазной активности повышено, в то время как уровень эстрадиола снижен. При исследовании липидного спектра у людей с дефицитом ароматазы выявляется повышенный уровень триглицеридов и низкий уровень липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) [25]. Увеличение уровня циркулирующих липидов, инсулинорезистентность и гиперинсулинемия у таких больных приводят к развитию ожирения и жировому перерождению печени.

С учетом вышеизложенного можно предположить, что частичный дефицит ароматазы может являться одной из причин нормогонадотропной недостаточности яичников, сопровождающейся гиперандрогемией и гирсутизмом.

В настоящее время активность общей ароматазы в различных тканях определяют радиометрическим методом, основанным на превращении меченного тритием андростендиона в «тяжелую воду» ($^3\text{H}-\text{H}_2\text{O}$) [10, 26, 27] и меченного тритием андростендиона в эстрон [28–30]. В литературе существуют сведения об определении активности ароматазы косвенным способом по соотношению эстрогенов и андрогенов в сыворотке крови [31]. Описан метод оценки активности ароматазы, при помощи которого суммарная ароматазная активность может быть измерена путем белкового иммуноблоттинга [32]. На сегодняшний день известен способ определения экспрессии ароматазы в тканях с помощью иммуногистохимического анализа [33]. В исследованиях В.А. Савиной и др. [34] с помощью иммуногистохимического метода была определена экспрессия ароматазы, приходящаяся на одну клетку гранулезы антрального фолликула яичников. Еще одним методом, позволяющим определять экспрессию ароматазы в тканях, является полимеразная цепная реакция (ПЦР) [35]. Часто ПЦР в реальном времени комбинируют с ПЦР с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР) для измерения малых количеств матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК). Это позволяет получать количественную информацию о содержании искомой мРНК в клетке и судить об уровне экспрессии гена в отдельной клетке или ткани. К недостаткам этих методов можно отнести их инвазивность, трудоемкость, необходимость использования специального оборудования.

В последние годы разработан способ оценки ароматазной активности яичников путем проведения пробы с ингибитором ароматазы летрозолом [36]. Изменение уровня эстрадиола после приема летрозолола отражает активность именно овариальной ароматазы, так как у больных эндометриозом на фоне применения агониста гонадотропин-рилизинг-гормона (аГРГ) и у больных с первичной недостаточностью яичников реакция на ингибитор ароматазы практически отсутствует [37].

В 2015 году предложен способ оценки овариальной ароматазной активности [38], в котором

на второй день менструального цикла до приема летрозолола определяют в крови уровень эстрадиола и уровень антимюллера гормона (АМГ), отражающий число антральных фолликулов, а через 48 часов после приема летрозолола — вторично уровень эстрадиола. Затем определяют абсолютное значение изменения уровня эстрадиола ($\Delta\mathcal{E}_2$) и вычисляют коэффициент овариальной ароматазной активности по формуле

$$K = \Delta\mathcal{E}_2/\text{АМГ},$$

где K — коэффициент ароматазной активности антральных фолликулов яичников;

$\Delta\mathcal{E}_2$ — снижение эстрадиола в нмоль/л в сыворотке крови через 48 часов после приема летрозолола;

АМГ — содержание в крови антимюллера гормона в нг/мл.

Оценивают ароматазную активность антральных фолликулов яичников следующим образом: при K меньше 9,1 — низкая ароматазная активность антральных фолликулов яичников, при K от 9,1 до 27,3 — нормальная, при K больше 27,3 — высокая.

Предложен также упрощенный способ оценки активности ароматазы овариальных фолликулов (заявка на патент № 2015145080 от 20.10.2015), включающий определение базального уровня эстрадиола и уровня АМГ в сыворотке крови на второй день менструального цикла, при этом базальный уровень эстрадиола определяют однократно, без применения ингибитора ароматазы летрозолола, и вычисляют коэффициент активности ароматазы овариальных фолликулов по формуле

$$K_A = \mathcal{E}_2/\text{АМГ},$$

где K_A — коэффициент активности ароматазы овариальных фолликулов;

\mathcal{E}_2 — базальный уровень эстрадиола в крови на второй день менструального цикла в нмоль/л;

АМГ — уровень антимюллера гормона в крови на второй день менструального цикла в нг/мл.

Активность ароматазы овариальных фолликулов оценивают следующим образом: при K_A меньше 37,8 — низкая овариальная ароматазная активность, при K_A от 37,8 до 90,7 — нормальная, при K_A больше 90,7 — высокая.

Необходимо отметить, что уровень АМГ в крови лишь косвенно отражает число антральных фолликулов яичников [37–41]. Кроме того, использование различных тест-систем для определения АМГ затрудняет сравнение результатов, полученных в разных лабораториях.

В этой связи замена АМГ на число антральных фолликулов при расчете ароматазной активности антральных фолликулов представляется вполне оправданной.

С учетом недостатков известных методов определения уровня ароматазной активности антральных фолликулов яичников представляется актуальной разработка более простого способа, без использования ингибитора ароматазы летрозола и определения уровня АМГ в крови.

Цель исследования состояла в изучении овариальной ароматазы при СПЯ с помощью различных методов ее определения.

Материалы и методы

Обследовано 49 женщин с нормогонадотропной ановуляцией, обусловленной СПЯ. Средний возраст больных составил $25,7 \pm 3,3$ года, индекс массы тела в среднем был равен $23,6 \pm 0,7$ кг/м². У 12 больных отмечена избыточная масса тела, у 5 женщин — ожирение I степени, у одной — ожирение II степени. Диагноз СПЯ ставился на основании клинических проявлений (нарушение менструального цикла, андрогензависимая дерматопатия (гирсутизм, угревая сыпь)), гормональных нарушений (гиперпродукция лютеинизирующего гормона (ЛГ) гипофизом и андрогенов яичниками) и результатов ультразвукового исследования яичников (увеличение объема, утолщение капсулы, наличие в них большого количества мелких антральных фолликулов).

Контрольную группу составили 33 здоровые женщины в возрасте от 20 до 37 лет (средний возраст — $27,0 \pm 3,5$ года) с полноценным овуляторным менструальным циклом, подтвержденным данными ультразвукового исследования органов малого таза (наличие доминантного фолликула и желтого тела) и уровнем прогестерона на 22-й день менструального цикла (средний уровень прогестерона — $44,3 \pm 6,0$ нмоль/л). Индекс массы тела в среднем составил $21,1 \pm 0,3$ кг/м², у одной женщины имелся умеренный дефицит массы тела ($17,6$ кг/м²). В прошлом у 12 женщин были роды.

Всем женщинам на второй день менструального цикла определяли иммуноферментным методом уровень эстрадиола в крови с помощью наборов фирмы DRG Diagnostics (Германия) и содержание АМГ с помощью тест-систем фирмы Beckman Coulter (США). Больным СПЯ проведена проба с летрозолом. При проведении пробы взятие крови в количестве 10 мл осуществляли на второй день менструального цикла из локтевой вены в 9 часов утра, в полу-

ченной сыворотке крови определяли уровень эстрадиола и АМГ. Далее больная принимала 10 мг ингибитора ароматазы летрозола перорально. Через 24 часа проводилось повторное взятие крови и определение уровня эстрадиола. На пятый день менструального цикла у женщин обеих групп подсчитывали количество антральных фолликулов яичников с помощью ультразвукового исследования на аппарате SonoAce X4 (Южная Корея) с использованием вагинального датчика с частотой 5,0 мГц.

Коэффициент ароматазной активности антральных фолликулов вычисляли по формуле

$$K = \frac{Э_2}{n},$$

где K — коэффициент ароматазной активности антральных фолликулов яичников в пмоль/л;

$Э_2$ — уровень эстрадиола в крови на второй день менструального цикла в пмоль/л;

n — количество антральных фолликулов в обоих яичниках.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением стандартных пакетов программ прикладного статистического анализа (Statistica for Windows 7.0, Microsoft Excel). Анализ зависимости и силу связей между признаками оценивали по величине непараметрического коэффициента корреляции — rs -критерия Спирмена. Направленность связей оценивали по знаку коэффициента корреляции. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Базальный уровень эстрадиола в крови больных СПЯ практически не отличался от содержания эстрадиола у здоровых женщин, тогда как уровень АМГ в крови был достоверно ($p < 0,05$) выше (табл. 1).

Количество антральных фолликулов в обоих яичниках у больных СПЯ составило 21 (16,0; 30,0), что значительно превышало аналогичный показатель у здоровых женщин 12 (7,0; 18,0). Вероятно, повышение числа фолликулов у больных СПЯ необходимо для компенсации продукции эстрадиола и профилактики развития гипергонадотропной аменореи.

Медиана показателя ароматазной активности антральных фолликулов яичников у здоровых женщин составила 12,1 (8,1; 28,3) пмоль/л. У здоровых женщин границы референтного интервала коэффициента K при $p < 0,05$ составили:

Таблица 1

Уровень эстрадиола и АМГ в сыворотке крови больных СПЯ и здоровых женщин на второй день менструального цикла (Медиана [5; 95])

Исследуемая группа Гормон	Больные СПЯ	Здоровые женщины
Эстрадиол, пмоль/л	171,0 (107,7; 372,9)	158,8 (106,8; 395,9)
АМГ, нг/мл	8,0 (1,96; 21,1)*	3,8 (1,0; 10,9)

* — $p < 0,05$ по сравнению с аналогичным показателем у здоровых женщин

нижняя — 8,1 пмоль/л, верхняя — 28,3 пмоль/л. Отсюда следует, что значение $K < 8,1$ пмоль/л указывает на низкую активность ароматазы антральных фолликулов яичников, тогда как значение $K > 28,3$ пмоль/л соответствует высокой ароматазной активности антральных фолликулов яичников.

Ароматазная активность антральных фолликулов яичников женщин с СПЯ варьировала в широких пределах: у 39% больных находилась в пределах референтного интервала для здоровых женщин, у 59% больных — снижена и у 2% больных — повышена. Полученные данные были сопоставлены с предыдущими результатами определения ароматазной активности овариальных фолликулов предложенными выше методами. Была выявлена положительная достоверная ($p < 0,05$) корреляция между способом определения ароматазной активности фолликула, рассчитанной по формуле $\Delta\mathcal{E}_2/\text{АМГ}$ [38], и способом определения ароматазной активности, вычисленной по формуле $K_A = \mathcal{E}_2/\text{АМГ}$. Коэффициент корреляции составил 0,9 (рис. 1).

Положительная достоверная ($p < 0,05$) корреляция также отмечалась между результатами определения ароматазной активности фолли-

кула, рассчитанной по формуле $\Delta\mathcal{E}_2/\text{АМГ}$ [38], и способом определения ароматазной активности с помощью коэффициента \mathcal{E}_2/n . Коэффициент корреляции составил 0,7 (рис. 2).

Предлагаемый способ позволяет ориентировочно оценивать ароматазную активность антральных фолликулов яичников неинвазивным путем без использования ингибитора ароматазы летрозолола и определения АМГ в крови. Метод является простым в использовании и может быть применен в повседневной практике.

Данные литературы последних лет свидетельствуют о патогенетической значимости частичного дефицита ароматазы антральных фолликулов в развитии нормогонадотропной ановуляции. Сниженная ароматазная активность антральных фолликулов по результатам пробы с летрозололом выявляется у 22,8% больных с нормогонадотропной ановуляцией, причем у 56% из них имеются клинические, эхографические и гормональные признаки СПЯ [42]. При нормогонадотропной ановуляции, обусловленной СПЯ, низкая ароматазная активность определяется у 48,8% больных [40], у 82% больных — по коэффициенту $\mathcal{E}_2/\text{АМГ}$ и у 59% больных — по коэффициенту \mathcal{E}_2/n .

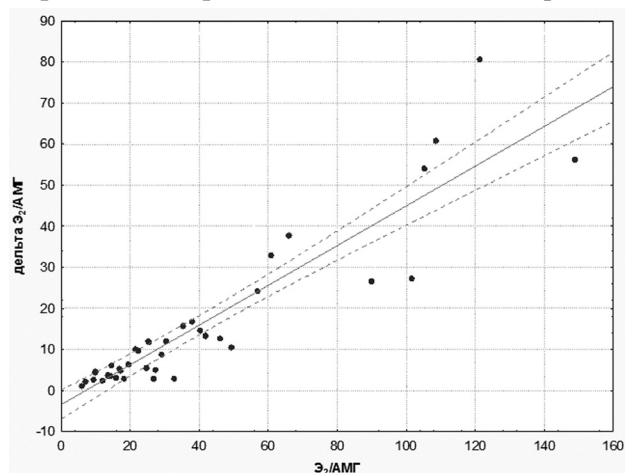


Рис. 1. Зависимость между ароматазной активностью фолликула у больных СПЯ, рассчитанной по формуле $\Delta\mathcal{E}_2/\text{АМГ}$, и ароматазной активностью, вычисленной по формуле $\Delta\mathcal{E}_2/\text{АМГ}$ ($p < 0,05$)

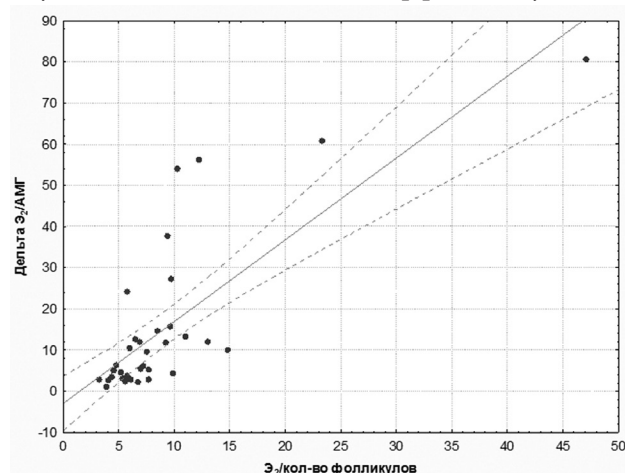


Рис. 2. Зависимость между ароматазной активностью фолликула у больных СПЯ, рассчитанной по формуле $\Delta\mathcal{E}_2/\text{АМГ}$, и ароматазной активностью антральных фолликулов, вычисленной по формуле \mathcal{E}_2/n ($p < 0,05$)

Результаты указывают на то, что дефицит овариальной ароматазы является частой, но не единственной причиной развития СПЯ. Другим важным звеном патогенеза СПЯ может являться инсулинорезистентность, приводящая к усилению секреции инсулина поджелудочной железой [43–46]. Гиперинсулинемия может быть ответственна за повышенную секрецию ЛГ гипофизом, высокую чувствительность яичников к ЛГ, гиперпродукцию овариальных андрогенов и относительный дефицит овариальной ароматазы. До настоящего времени соотношение дефицита ароматазы и инсулинорезистентности в развитии СПЯ не изучено. Выяснение этого вопроса позволит оптимизировать терапию, направленную на устранение клинических проявлений СПЯ и преодоление бесплодия.

Выводы

1. Коэффициент эстрадиол/число антральных фолликулов позволяет ориентировочно оценивать овариальную ароматазную активность.
2. Дефицит ароматазы овариальных фолликулов выявляется у 59 % больных СПЯ.
3. Абсолютный или относительный дефицит овариальной ароматазы является центральным звеном патогенеза СПЯ.

Литература

1. Потин В.В., и др. Нормогонадотропная первично-яичниковая недостаточность // Пробл. эндокринол. – 1990. – № 4. – С. 83–87. [Potin VV, et al. Normogonadotropic primary ovarian failure. *Probl. jendokrinol.* 1990;4:83-87. (In Russ).]
2. Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems / National Collaborating Center for Women's and Children's Health. London: RCOG Press 2004;216.
3. Escobar-Morreale HF, Luque-Ramirez M, San Millan JL. The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome. *Endocrine Reviews.* 2004;26(2):251-282. doi: 10.1210/er.2004-0004.
4. Erickson G. Follicle growth and development. *Gynecol Obstet.* 2001;5(12):2061-2071.
5. Merlotti D, Gennari L, Stolakis K, et al. Aromatase activity and bone loss in men. *J Osteoporos.* 2011;2011:1-11. doi: 10.4061/2011/230671.
6. Matsumine H, Hirato K, Yanaihara T, et al. Aromatization by skeletal muscle. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986;63(3):717-720. doi: 10.1210/jcem-63-3-717.
7. Ackerman GE, Smith ME, Mendelson CR, et al. Aromatization of androstenedione by human adipose tissue stromal cells in monolayer culture. *J Clin Endocrinol Metab.* 1981;53:412-417. doi: 10.1210/jcem-53-2-412.
8. Hall PF, Chen S, Nakajin S, et al. Purification and characterization of aromatase from human placenta. *Steroids.* 1987;50:37-50. doi: 10.1016/0039-128X(83)90060-0.
9. Zouboulis CC. The human skin as a hormone target and an endocrine gland. *Hormones.* 2004;3(1):9-26. doi: 10.14310/horm.2002.11109.
10. Thompson EA, Siiteri PK. Utilization of oxygen and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate by human placental microsomes during aromatization of androstenedione. *J Biol Chem.* 1974;249:5364-5372.
11. Santen RJ, Brodie H, Simpson ER, et al. History of aromatase: saga of an important biological mediator and therapeutic target. *Endocr Rev.* 2009;30(4):343-375. doi: 10.1210/er.2008-0016.
12. Osawa Y, Yoshida N, Fronckowiak M, et al. Immunoaffinity purification of aromatase cytochrome P-450 from human placental microsomes, metabolic switching from aromatization to 1- and 2-monohydroxylation, and recognition of aromatase isozymes. *Steroids.* 1987;50:11-28. doi: 10.1016/0039-128X(83)90058-2.
13. Kellis JT, Vickery LE. Purification and characterization of human placental aromatase cytochrome P-450. *J Biol Chem.* 1987;262:4413-4420.
14. Muto N, Tan L. Purification of oestrogen synthetase by high-performance liquid chromatography. Two membrane-bound enzymes from the human placenta. *J Chromatogr.* 1985;326:137-146. doi: 10.1016/S0021-9673(01)87439-2.
15. Pasanen M, Pelkonen O. Solubilization and partial purification of human placental cytochromes P-450. *Biochem Biophys Res Commun.* 1981;103:1310-1317. doi: 10.1016/0006-291X(81)90265-5.
16. Mendelson CR, Wright EE, Evans CT, et al. Preparation and characterization of polyclonal and monoclonal antibodies against human aromatase cytochrome P-450 (P-450AROM), and their use in its purification. *Arch Biochem Biophys.* 1985;243:480-491. doi: 10.1016/0003-9861(85)90525-9
17. Simpson ER, Mahendroo MS, Mean GD, et al. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocr Rev.* 1994;15:342-355.
18. Toda K, Yang LX, Shizuta SJ. Transcriptional regulation of the human aromatase cytochrome P450 gene expression in human placental cells. *Steroid Biochem Mol Biol.* 1995;53:181-190. doi: 10.1016/0960-0760(95)00032-U.
19. Shozu M, Zhao Y, Bulun SE, et al. Multiple splicing events involved in regulation of human aromatase expression by a novel promoter, I.6. *Endocrinology.* 1998;139:1610-1617. doi: 10.1210/en.139.4.1610
20. Sebastian S, Bulun SE. A highly complex organization of the regulatory region of the human CYP19 (aromatase) gene revealed by the human genome project.

- J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(10):4600-4602. doi: 10.1210/jcem.86.10.7947.
21. Bulun SE, Sebastian S, Takayama K, et al. The human CYP19 (aromatase P450) gene: update on physiologic roles and genomic organization of promoters. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2003;86(3-5):219-224. doi: 10.1016/S0960-0760(03)00359-5.
 22. Shozu M, Akasofu K, Harada T, Kubota Y. A new cause of female pseudohermaphroditism: placental aromatase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72:560-566. doi: 10.1210/jcem-72-3-560.
 23. Belgorosky A, Guercio G, Pepe C, et al. Genetic and Clinical Spectrum of Aromatase Deficiency in Infancy, Childhood and Adolescence. *Horm Res.* 2009;72:321-330. doi: 10.1159/000249159.
 24. Mullis PE, Yoshimura N, Kuhlmann B, et al. Aromatase deficiency in a female who is compound heterozygote for two new point mutations in the P450arom gene: impact of estrogens on hypergonadotropic hypogonadism, multicystic ovaries, and bone densitometry in childhood. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:1739-1745. doi: 10.1210/jc.82.6.1739.
 25. Burkhard LH, Saller B, Janssen OE, et al. Impact of Estrogen Replacement Therapy in a Male with Congenital Aromatase Deficiency Caused by a Novel Mutation in the CYP19 Gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(12):5476-5484. doi: 10.1210/jc.2002-020498.
 26. Берштейн Л.М., Ларионов А.А., Крюкова О.Г., и др. Исследование ароматазной активности в мышечной ткани человека // *Вопр. мед. химии.* – 1996. – Т. 42. – № 1. – С. 76–82. [Bershtejn LM, Larionov AA, Krjukova OG, et al. Research aromatase activity in human muscle tissue. *Vopr. med. himii.* 1996;42(1):76-82. (In Russ).]
 27. Tilson-Mallett N, Santner SJ, Feil PD, et al. Biological significance of aromatase activity in human breast tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;57:1125-1128. doi: 10.1210/jcem-57-6-1125.
 28. Longcope C, Kato T, Horton R. Conversion of blood androgens to estrogens in normal adult men and women. *J Clin Investigat.* 1969;48:2191-2201. doi: 10.1172/JCI106185.
 29. MacDonald PC, Rombaut RP, Siiteri PK. Plasma precursors of estrogen. I. Extent of conversion of plasma A4-androstenedione to estrone in normal males and nonpregnant normal, castrate and adrenalectomized. *J Clin Endocrinol Metab.* 1967;27:1103-1111. doi: 10.1210/jcem-27-8-1103.
 30. Hemsell DL, Grodin JM, Brenner PF, et al. Plasma precursors of estrogen II. Correlation of the extent of conversion of plasma androstenedione to estrone with age. *J Clin Endocrinol Metab.* 1974;38:476-479. doi: 10.1210/jcem-38-3-476.
 31. Айламазян Э.К. Содержание бета-эндорфина, эстрогена и андростендиона в крови женщин с ожирением и недостаточностью яичников // *Актуальные вопросы физиологии и патологии репродуктивной функции женщины: материалы XXI научной сессии НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН.* – СПб., 1992. – С. 117–120. [Ajlamazjan JeK. The content of beta-endorphin, androstenedione and estrone in blood of obese women with ovarian failure. *Aktual'nye voprosy fiziologii i patologii reproduktivnoj funkcii zhenshhiny.* [Conference proceedings] *Materialy XXI nauchnoj sessii NII akusherstva i ginekologii im. D.O. Otta RAMN.* Saint Petersburg; 1992. P. 117-120. (In Russ).]
 32. Lin L, Ercan O, Raza J, et al. Variable phenotypes associated with aromatase (CYP19) insufficiency in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92:982-990. doi: 10.1210/jc.2006-1181.
 33. Sternberger LA, Hardy PH, Cuculis JJ, et al. The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem.* 1970;18:315-333. doi: 10.1177/18.5.315.
 34. Савина В.А., Потин В.В., Тарасова М.А. Роль ароматазы в патогенезе первично-овариальной недостаточности // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 2010. – Вып. 6. – С. 85–93. [Savina VA, Potin VV, Tarasova MA. The role of aromatase in the pathogenesis of primary ovarian insufficiency. *Zhurnal akusherstva i zhenskih boleznej.* 2010;6:85-93. (In Russ).]
 35. Kitawaki J, Kusuki I, Koshiba H, et al. Detection of aromatase cytochrome P-450 in endometrial biopsy specimens as a diagnostic test for endometriosis. *Fertil Steril.* 1999;72(6):1100-1106. doi: 10.1016/S0015-0282(99)00424-0.
 36. Потин В.В., Тарасова М.А., Ярмолинская М.И., и др. Способ оценки ароматазной активности Пат. № 2481587; опубл. 10.05.2013, Бюл. № 13. [Potin VV, Tarasova MA, Jarmolinskaja MI, et al. Method for evaluation of aromatase activity. Pat. № 2481587 opubl. 10.05.2013, Bjul. № 13. (In Russ).]
 37. Тимофеева Е.М., Потин В.В., Ярмолинская М.И. Методика определения овариальной ароматазной активности у женщин репродуктивного возраста // *Вестник Российской военно-медицинской академии.* – 2014. – Т. 2. – № 46. – С. 58–62. [Timofeeva EM, Potin VV, Jarmolinskaja MI. Methods of determining the ovarian aromatase activity in women of reproductive age. *Vestnik Rossijskoj voenno-meditsinskoj akademii.* 2014;46:58-62. (In Russ).]
 38. Потин В.В., Тарасова М.А., Ярмолинская М.И., и др. Способ оценки овариальной ароматазной активности. Пат. № 2549491; опубл. 27.04.2015, Бюл. № 12. [Potin VV, Tarasova MA, Jarmolinskaja MI, et al. A method of evaluating ovarian aromatase activity. Pat. № 2549491. opubl. 27.04.2015, Bjul. № 12. (In Russ).]

39. Денисова В.М., Потин В.В., Ярмолинская М.И., Тимофеева Е.М. Активность овариальной ароматазы при эндометриозе // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – Вып. 2. – С. 17–22. [Denisova VM, Potin VV, Jarmolinskaja MI, Timofeeva EM. Ovarian aromatase activity in endometriosis. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej*. 2013;12(2):17-22. (In Russ).]
40. Николаенков И.П., Потин В.В., Тарасова М.А., и др. Активность овариальной ароматазы у больных синдромом поликистозных яичников // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. – Вып. 1. – С. 10–16. [Nikolaenkov IP, Potin VV, Tarasova MA, et al. Ovarian aromatase activity in patients with polycystic ovary syndrome. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej*. 2014;1:10-16. (In Russ).]
41. Visser JA, Schipper I, Laven JS, et al. Anti-Müllerian hormone: an ovarian reserve marker in primary ovarian insufficiency. *Nat Rev Endocrinol*. 2012;8:331-341. doi: 10.1038/nrendo.2011.224.
42. Самойлович Я.А., Потин В.В., Тарасова М.А., и др. Дефицит овариальной ароматазы как причина нормогонадотропной ановуляции // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2015. – № 2. – С. 25–31. [Samojlovich JaA, Potin VV, Tarasova MA, et al. Ovarian aromatase deficiency as the cause of anovulation normogonadotropic. *Rossijskij vestnik akushera-ginekologa*. 2015;2:25-31. (In Russ).]
43. Беляков Н.А., Беляков Н.А., Чубриева С.Ю., Глухов Н.В. Инсулинорезистентность и синдром поликистозных яичников. Ч. II. Патогенез, роль гиперинсулинемии и гиперандрогемии, генетическая взаимосвязь // Эфферентная терапия. – 2002. – № 3. – С. 16–29. [Beljakov NA, Chubrieva SJ, Gluhov NV. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome. Part II. The pathogenesis, the role of hyperinsulinemia and giperadrogenemii, genetic relations. *Jefferentnaja terapija*. 2002;3:16-29. (In Russ).]
44. Карпова Е.А., Пищулин А.А., Андреева Е.Н. Применение бигуанидов при синдроме поликистозных яичников // Ожирение и метаболизм. – 2004. – № 1. – С. 30–33. [Karpova EA, Pishhulin AA, Andreeva EN. Primenenie biguanidov pri sindrome polikistoznyh jaichnikov The use of biguanide in polycystic ovary syndrome. *Ozhirenie i metabolizm*. 2004;1:30-33. (In Russ).]
45. Комаров Е.К., Михнина Е.А., Великанова Л.И., и др. Роль инсулинорезистентности в патогенезе гиперандрогемии у женщин с нарушением репродуктивной функции // Проблемы репродукции. – 2005. – № 5. – С. 25. [Komarov EK, Mihlina EA, Velikanova LI, et al. Role of insulin resistance in the pathogenesis of hyperandrogenism in women with reproductive dysfunction Role of insulin resistance in the pathogenesis of hyperandrogenism in women with reproductive dysfunction. *Problemy reprodukcii*. 2005;5:25. (In Russ).]
46. Rosenfield RL. Polycystic ovary syndrome and insulin-resistant hyperinsulinemia. *J Am Acad Dermatol*. 2001;45:95-104. doi: 10.1067/mjd.2001.117430.

■ Адреса авторов для переписки

Екатерина Михайловна Тимофеева — канд. мед. наук, врач клинической лабораторной диагностики. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». E-mail: katisun@rambler.ru.

Елена Владимировна Мишарина — канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения гинекологической эндокринологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». E-mail: mishellena@gmail.com.

Игорь Павлович Николаенков — канд. мед. наук, врач акушер-гинеколог родильного отделения. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». E-mail: Nikolaenkov igor@mail.ru.

Янина Андреевна Самойлович — аспирант отделения гинекологической эндокринологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». E-mail: yanasam@yandex.ru.

Наталья Николаевна Ткаченко — канд. биол. наук, заведующая лабораторией эндокринологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». E-mail: liberin@mail.ru.

Ekaterina M. Timofeeva — PhD, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics. D.O. Ott Research Institute of Obstetrics Gynecology and Reproductology. E-mail: katisun@rambler.ru.

Elena V. Misharina — PhD, senior researcher at the Dep. of Gynecological Endocrinology. D.O. Ott Research Institute of Obstetrics Gynecology and Reproductology. E-mail: mishellena@gmail.com.

Igor P. Nikolaenkov — PhD, obstetrician-gynecologist of the maternity ward. D.O. Ott Research Institute of Obstetrics Gynecology and Reproductology. E-mail: Nikolaenkov igor@mail.ru.

Yanina A. Samoylovich — PhD student. Department of Gynecological Endocrinology. D.O. Ott Research Institute of Obstetrics Gynecology and Reproductology. E-mail: yanasam@yandex.ru.

Natalya N. Tkachenko — PhD, Head of Laboratory of Endocrinology. D.O. Ott Research Institute of Obstetrics Gynecology and Reproductology. E-mail: liberin@mail.ru.