

УДК: 618.11-07:618.177-089.888.11
DOI: 10.17816/JOWD66546-55

АКТИВНОСТЬ АРОМАТАЗЫ P450 ЯИЧНИКОВ В ЕСТЕСТВЕННОМ МЕНСТРУАЛЬНОМ ЦИКЛЕ И ПРИ СТИМУЛЯЦИИ СУПЕРОВУЛЯЦИИ

© П.П. Яковлев

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Для цитирования: Яковлев П.П. Активность ароматазы P450 яичников в естественном менструальном цикле и при стимуляции суперовуляции // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 5. – С. 46–55. doi: 10.17816/JOWD66546-55

Поступила в редакцию: 05.07.2017

Принята к печати: 25.09.2017

-
- **Цель исследования:** рассмотреть современные представления о роли фермента ароматазы P450 в женской репродуктивной системе и ее активности в протоколах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).
 - Материалы:** литературные данные зарубежных и отечественных авторов за период с 1978 по 2016 г.
 - Методы:** обзор и обобщение литературных данных. **Заключение.** Овариальная ароматаза является ключевым ферментом стероидогенеза женской репродуктивной системы. Ее активность зависит от множества факторов как внутрияичникового, так внегонадного происхождения. Ответ яичников на стимуляцию, качество полученных ооцитов в циклах ЭКО может зависеть от активности овариальной ароматазы.
 - **Ключевые слова:** овариальная ароматаза; экстракорпоральное оплодотворение.
-

AROMATASE P450 ACTIVITY IN THE NATURAL MENSTRUAL CYCLE AND DURING CONTROLLED OVARIAN STIMULATION

© P.P. Yakovlev

The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia

For citation: Yakovlev PP. Aromatase P450 activity in the natural menstrual cycle and during controlled ovarian stimulation. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2017;66(5):46-55. doi: 10.17816/JOWD66546-55

Received: 05.07.2017

Accepted: 25.09.2017

-
- **The Aim of the study** was to assess modern considerations about the role of aromatase P450 enzyme in female reproductive system and the effect of its activity on the protocols of *in vitro* fertilization (IVF). **Materials:** foreign and Russian literature data from 1978 to 2016. **Methods:** review and synthesis of publications has been performed. **Conclusions:** Ovarian aromatase is the key steroidogenesis enzyme of the female reproductive system. Its activity depends on many factors, both of intraovarian and extragonadal origin. The ovarian follicular response and oocyte quality in IVF may depend on aromatase activity.
 - **Keywords:** Ovarian aromatase; *in vitro* fertilization.
-

Фермент ароматаза кодируется геном *CYP19A1*, который не имеет изоформ в геноме человека. Ген *CYP19A1* расположен в коротком плече 15-й хромосомы 15q21.1 и состоит из девяти кодирующих экзонов (II–X) и 5'-нетранслируемой области, имеющей приблизительно длину 123 кб [1]. У человека экспрессия ароматазы регулируется с помощью тканеспецифичных промоторов. В настоящее время известно 10 таких промоторов, контролирующихся посредством гистоспецифических

сигнальных путей и продуцирующих несколько альтернативных форм экзона I, который затем подвергается сплайсингу. Данный фермент состоит из комплекса микросомального цитохрома P450, представленного двумя белками — НАДФ-Н цитохром р450 редуктазы и цитохром P450 ароматазы, принадлежащими к суперсемейству генов *P450*.

В яичниках ароматаза экспрессируется клетками гранулы фолликулов и клетками желтого тела. Недифференцированные клетки

гранулезы преантральных фолликулов не синтезируют ароматазу. Активность данного фермента начинает определяться в фетальных клетках гранулезы малых растущих фолликулов, но до рождения ее экспрессия остается относительно низкой. Она постепенно повышается в преантральных и малых антральных фолликулах ближе к неонатальному периоду. В детстве экспрессия ароматазы незначительна и присутствует только в больших антральных фолликулах. В постпубертатном периоде активность ароматазы максимальна в больших антральных и в преовуляторных фолликулах [2].

У женщин с нормальным менструальным циклом активность данного фермента в яичниках в середине и в конце фолликулярной фазы статистически значимо не различается. В то время как повышение уровня эстрадиола (Э2) происходит за счет увеличения количества клеток гранулезы в процессе роста фолликула [3].

Известно, что, несмотря на снижение овариального резерва, уровень Э2 у женщин старшего репродуктивного возраста остается относительно стабильным до перименопаузы. Это связано с повышением активности ароматазы. Так, экспрессия гена ароматазы в клетках гранулезы доминантного фолликула в 3 раза выше у женщин старше 36 лет в сравнении с более молодыми [4]. Это физиологическое свойство необходимо для компенсации возрастного снижения числа клеток гранулезы в доминантном фолликуле и поддержки овариального синтеза эстрогенов у женщин позднего репродуктивного периода и в перименопаузе.

Фермент участвует в превращении андростендиона в эстрон и тестостерона в Э2 на последнем этапе стероидогенеза. Основным источником фолликулярных андрогенов являются клетки теки, в то время как гранулезные клетки производят только эстрогены. Внутренний слой тека-клеток развивающихся фолликулов отвечает на стимуляцию ЛГ синтезом андрогенов. При этом подавляющее большинство андрогенов представлено андростендионом. Андростендион и его непосредственный метаболит тестостерон переносятся из слоя внутренней теки в интрафолликулярное пространство. В связи с этим эти стероиды присутствуют в больших количествах в овариальных фолликулах всех размеров и являются основными стероидами ранних антральных фолликулов.

Клетки гранулезы способны превращать андрогены тека-клеток в эстрогены благодаря ферменту ароматазе под влиянием фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) на более поздних стадиях развития фолликула. В доминантных фолликулах в конце фолликулярной фазы определяется высокая активность фермента ароматазы и концентрация мРНК. Это приводит к тому, что фолликулы с большим диаметром в середине и конце фолликулярной фазы менструального цикла содержат более высокие концентрации Э2 (до 10 000 раз) по сравнению с мелкими фолликулами. Интрафолликулярная концентрация Э2 в таких фолликулах до 40 000 раз выше, чем в плазме крови. Также в венозной крови яичника с доминантным фолликулом концентрация Э2 в 20 раз выше по сравнению с контралатеральной стороной. Максимальные значения Э2 в крови приводят к пику лютеинизирующего гормона (ЛГ) и овуляции. После овуляции происходит быстрое подавление экспрессии ароматазы. Это связано с увеличением экспрессии рецепторов ЛГ в преовуляторных фолликулах и пиком данного гормона, который приводит к ингибированию ФСГ-зависимой экспрессии ароматазы и уменьшению уровня мРНК. Своевременная и тканеспецифическая экспрессия ароматазы в яичниках имеет решающее значение для функционирования циклических процессов, происходящих в женской репродуктивной системе, координации секреции гонадотропинов и аутокринной регуляции фолликулогенеза.

Экспрессия ароматазы цитохрома P-450 определяется различными методами, например при помощи ПЦР с обратной транскриптазой [5], иммуногистохимическим методом с использованием первичных моноклональных антител к цитохрому P450 и вторичных маркированных антител [3]. Суммарная ароматазная активность может быть определена путем белкового иммуоблоттинга с использованием специфических антител [6]. Также известен способ оценки активности ароматазы по соотношению содержания андрогенов и эстрогенов в крови [7]. Ароматазу в различных тканях определяют радиометрическим методом, основанным на превращении меченного тритием андростендиона в «тяжелую воду» [8]. К основным недостаткам данных методов можно отнести их стоимость и необходимость инвазивных процедур, зачастую связанную с получением ткани исследуемых органов. Так, иммуногистохимическая методика определения

ароматазы инвазивна и требует получения биоптатов яичников хирургическим способом. В последние годы был разработан способ оценки ароматазной активности яичников путем проведения пробы с ингибитором ароматазы летрозолом [9, 10].

Одним из наиболее простых способов оценки активности ароматазы овариальных фолликулов является однократное определение уровня Э2 и уровня антимюллера гормона (АМГ) в сыворотке крови на второй день менструального цикла. Коэффициент активности ароматазы овариальных фолликулов вычисляется по формуле $КА = Э2/АМГ$, где КА — коэффициент активности ароматазы овариальных фолликулов; Э2 — 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. При значении КА меньше 37,8 овариальная ароматазная активность оценивается как низкая, от 37,8 до 90,7 — нормальная и более 90,7 — высокая [11].

ФСГ служит главным регулятором активности ароматазы в клетках гранулезы. Рост и созревание фолликулов от преантральной к преовуляторной стадии под влиянием ФСГ сопровождается индукцией экспрессии ароматазы. Известно, что цАМФ является основным внутриклеточным медиатором ФСГ-зависимой экспрессии ароматазы. Связывание ФСГ с его рецептором индуцирует фосфорилирование транскрипционного фактора CREB, приводящего к увеличению внутриклеточной концентрации цАМФ и активации цАМФ-зависимой протеинкиназы А с последующей транскрипцией гена *CYP19* и синтезом стероидов [2].

Из литературных данных известно о влиянии андрогенов на активность ароматазы яичников. Так, у приматов андрогеновые рецепторы наиболее выражены в клетках гранулезы преантральных и ранних антральных фолликулов и практически отсутствуют в преовуляторных фолликулах [12]. Помимо того что андрогены являются субстратом при синтезе Э2, они также усиливают влияние ФСГ на клетки гранулезы посредством повышения экспрессии ФСГ-рецептора [13]. Мыши с нокаутированным геном рецептора андрогенов имеют сниженный уровень мРНК рецептора ФСГ [14]. Вместе с тем известно, что тестостерон способен стимулировать экспрессию ароматазы в отсутствие ФСГ [15]. Экспрессия мРНК андрогеновых рецепторов в клетках гранулезы

человека и содержание андрогенов в фолликулярной жидкости положительно коррелируют с экспрессией мРНК ФСГ-рецептора [16]. На ранних стадиях созревания фолликула андрогены играют стимулирующую роль в усилении действия ФСГ на экспрессию ароматазы, а на поздних стадиях фолликулогенеза они служат субстратом для синтеза эстрогенов.

В исследованиях клеток гранулезы мышей было выявлено, что эффекты ФСГ значительно усиливаются под влиянием ИФР-1, который действует на свои рецепторы в гранулезных клетках и увеличивает ФСГ-индуцированную активность ароматазы [17].

АМГ играет важную роль в гонадотропин-независимой фазе роста фолликулов. Он подавляет инициацию роста примордиальных фолликулов на ранних этапах фолликулогенеза. Известно, что АМГ ингибирует каталитическую активность ФСГ-зависимой ароматазы через репрессию гена *CYP19* в культурах человеческих клеток гранулезы [18, 19]. В фолликулярной жидкости малых антральных фолликулов яичника человека имеется значительная отрицательная корреляция между уровнями АМГ и экспрессией гена *CYP19*. Возможно, этот эффект реализуется за счет ингибирования каталитической активности аденилатциклазы. Так, введение АМГ в культуру клеток гранулезы приводит к значительному снижению производства цАМФ, что впоследствии может снизить транскрипцию гена *CYP19* [20]. Также в клетках гранулезы человека АМГ понижает экспрессию мРНК ФСГ-рецептора [19], что выражается снижением чувствительности преантральных фолликулов к ФСГ. Добавление АМГ к культивированным фолликулам мышей с нокаутированным геном АМГ приводит к замедлению роста фолликулов в присутствии ФСГ, что подтверждает ингибирующий эффект АМГ на ФСГ-зависимую пролиферацию клеток гранулезы [21]. Было также установлено, что снижение ароматазной активности под воздействием АМГ повышает синтез андрогенов [19].

В физиологических условиях снижение концентрации АМГ делает растущие фолликулы более чувствительными к влиянию ФСГ, что имеет место в больших антральных и преовуляторных фолликулах. Очевидно, не все фолликулы вступают в инициацию роста, и АМГ может быть одним из факторов, который позволяет лишь ограниченному количеству фолликулов пройти циклический процесс набора. В яичниках крыс определяется различная экс-

прессия гена *АМГ* и его рецептора на разных этапах развития фолликулов [22]. В некоторых фолликулах на стадии инициации отмечается выраженная экспрессия гена *АМГ*, в то время как в других она снижена. Именно эти фолликулы оказываются наиболее чувствительными к ФСГ и, следовательно, более предрасположены к отбору в когорту растущих фолликулов [23].

Отрицательная корреляция между уровнем *АМГ* и Э2 наблюдается в фолликулярной жидкости малых антральных фолликулов человека [24]. Регулирующее действие Э2 на выработку *АМГ* осуществляется посредством его связывания с эстрогеновыми рецепторами гранулезных клеток. Стимулирующее действие обусловлено связыванием с эстрогеновыми рецепторами альфа ($\text{ЭР-}\alpha$), а тормозящее действие — с $\text{ЭР-}\beta$ [25]. $\text{ЭР-}\beta$ являются основными рецепторами клеток гранулезы растущих фолликулов, в то время как $\text{ЭР-}\alpha$ преобладают в желтом теле. В течение переходного периода начало гонадотропной активности связано с повышением уровня Э2, что сопровождается незначительным снижением в сыворотке крови уровня *АМГ* [26]. Во время овариальной стимуляции в протоколах ЭКО отмечается значительное снижение уровня *АМГ* в плазме крови женщин с наименьшим его уровнем в день введения триггера. Была установлена отрицательная корреляция между *АМГ* и Э2 в сыворотке крови в день введения хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) [27]. Другие исследования, изучающие взаимосвязь между концентрациями Э2 и *АМГ* в фолликулярной жидкости зрелых фолликулов, показали аналогичные результаты [28]. В спонтанном менструальном цикле отмечается статистически значимое снижение *АМГ* за 5 дней до овуляции [29]. Кроме снижения уровня *АМГ*, Э2 повышает ФСГ-индуцированную экспрессию ароматазы [30]. Этот эффект Э2 был убедительно продемонстрирован на моделях мышей с нокаутом $\text{ЭР-}\beta$, было установлено значительное снижение экспрессии ароматазы в антральных фолликулах [31]. В присутствии экзогенных эстрогенов клетки гранулезы фолликулов незрелых гипофизэктомированных крыс под воздействием ФСГ синтезируют больше Э2, чем необработанные клетки [32]. Эстрогены индуцируют экспрессию рецепторов ФСГ в гранулезных клетках, одновременное присутствие Э2 и ФСГ синергически повышает количество ФСГ-рецепторов в гранулезных клетках, а так-

же рецепторов к ЛГ и ХГЧ в клетках теки и гранулезы.

Контролируемая овариальная стимуляция (КОС) в программах ЭКО связана с введением препаратов ФСГ для стимуляции развития множества фолликулов. При этом механизмы селекции доминантного фолликула и атрезии антральных фолликулов нарушаются. Вариации в генах ФСГ-рецептора, как и генов рецептора эстрогенов, влияют на чувствительность к ФСГ во время стимуляции яичников. Так как ароматаза является основным ферментом биосинтеза эстрогенов, то ее полиморфизм может влиять на активность фермента и, как следствие, эффективность протоколов ЭКО.

К настоящему времени описано более 1000 полиморфизмов гена *CYP19A1*. Наиболее изученный полиморфизм — это тетра-нуклеотидный повтор (TTTA) n в интроне 4 гена *CYP19*, который участвует в регуляции стероидогенеза. Существует ассоциация ароматазной активности с числом повторов (TTTA). H. Lee et al. [33] определили значительно более высокий уровень эстрогенов в крови носителей аллеля (TTTA)13. Увеличение биосинтеза эстрогенов у носителей (TTTA)11 / (TTTA)11 и (TTTA)11 / (TTTA)12 с раком эндометрия [34], так же как наличие *CYP19* (TTTA)11 аллеля у всех членов семьи с синдромом избытка ароматазы [35], предполагает возможную связь длинных аллелей *CYP19* с повышением активности ароматазы. С другой стороны, женщины с синдромом поликистозных яичников (СПЯ), гомозиготные по коротким аллелям, имеют повышенный уровень тестостерона, а также более высокое соотношение как тестостерон / Э2, так и ЛГ / ФСГ по сравнению с женщинами, гомозиготными по длинным аллелям [36]. Вероятно, это связано со сниженной ароматазной активностью у носителей этих аллелей. Короткий аллель (TTTA)7 гена *CYP19* встречается в двух вариантах: в «стандартном» — с наличием тринуклеотида TCT на 5'-конце; в «укороченном» — с отсутствием TCT (Del). Малое количество повторов (TTTA) n гена *CYP19*, в частности del-(TTTA)7, ассоциируется с увеличением уровня андрогенов и уменьшением эстрогенов в крови и, возможно, снижением ферментативной активности ароматазы [37]. Имеется значимая связь *CYP19* (TTTA)7 аллеля с более низкой концентрацией эстрогена и Э2 [38]. Более высокий уровень сывороточного ФСГ на третий день менструального цикла связан с короткими *CYP19* (TTTA) n аллелями и в основном

с CYP19 (TTTA)⁷ аллелем, что указывает на потенциальную причастность CYP19 (TTTA)ⁿ полиморфизма к регуляции уровня ФСГ в сыворотке крови. Принимая во внимание негативное влияние коротких CYP19 (TTTA)ⁿ аллелей на активность ароматазы, авторы объясняют связь высокого сывороточного уровня ФСГ с низкой ароматазной активностью яичников [39].

Также имеется ассоциация CYP19 (TTTA)ⁿ аллелей с исходом КОС у женщин в протоколах ЭКО. Отмечалось меньшее количество фолликулов и фолликулов более 18 мм у женщин, гомозиготных по коротким CYP19 (TTTA)ⁿ аллелям, включая носителей CYP19 (TTTA)⁷ аллеля, по сравнению с женщинами с другими CYP19-генотипами. Эти показатели предполагают связь присутствия этих аллелей с более «слабым» ответом на контролирующую овариальную стимуляцию [39]. Наличие низкого количества повторов (TTTA)ⁿ в гене CYP19, в частности del-(TTTA)⁷, связано с уменьшением овариальной чувствительности к ФСГ в протоколах стимуляции яичников, также с меньшими размерами яичников и уменьшенным числом антральных фолликулов на 3–5-й д. м. ц., что потребовало увеличения дозы гонадотропинов во время КОС для достижения показателей ответа на проводимую стимуляцию, сопоставимых с носителями длинных CYP19 (TTTA)ⁿ аллелей [40].

Агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона (а-ГнРГ) и антагонисты гонадотропин-рилизинг-гормона (ант-ГнРГ) широко используются для профилактики преждевременного пика ЛГ в протоколах КОС. а-ГнРГ подавляет секрецию гонадотропина через десенситизацию гипофиза и подавления ГнРГ-рецепторов, тогда как ант-ГнРГ конкурирует с эндогенным ГнРГ за связь с рецептором и поэтому быстро ингибирует секрецию гонадотропина. Оба типа рецепторов ГнРГ, а именно ГнРГ-I и ГнРГ-II, представленные в яичнике человека, являются потенциально паракринными и аутокринными регуляторами. Учитывая, что женщины в протоколах с ант-ГнРГ имеют более низкую концентрацию сывороточного [41] и фолликулярного Э₂ [42] в день введения ХГЧ по сравнению с а-ГнРГ, имеются различия в овариальном метаболизме Э₂ между двумя протоколами. При использовании протоколов ЭКО с ант-ГнРГ ароматазная активность в лютеинизированных клетках гранулезы снижена, экспрессия гена ароматазы примерно на 60 % ниже по сравнению с а-ГнРГ [43].

Так, добавление ант-ГнРГ к культивированным клеткам гранулезы человека приводит к дозозависимому подавлению экспрессии мРНК ароматазы с 3-кратным уменьшением экспрессии мРНК ароматазы и снижением концентрации Э₂ в культуральной среде в два раза, в то время как добавление аГнРГ ведет к дозозависимому повышению мРНК ароматазы [44].

Исследование ароматазной активности клеток гранулезы, полученных при трансвагинальной пункции фолликулов в протоколах ЭКО у женщин с бесплодием, показало, что у забеременевших женщин ароматазная активность фолликулов была значительно выше, чем у незабеременевших после переноса одинакового числа эмбрионов. Кроме того, группа женщин с более высокой ароматазной активностью клеток гранулезы имела в 2,59 раза больше эмбрионов, доступных для криоконсервации [45]. Способность синтезировать достаточное количество эстрогенов клетками гранулезы, измеряемая активностью ароматазы, приводит к большей вероятности беременности среди женщин с бесплодием.

Фолликулярная жидкость пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию имеет сниженную концентрацию Э₂ в отличие от женщин с нормальным ответом [46]. Полученные лютеинизированные клетки гранулезы фолликулов пациенток с «бедным» ответом синтезируют меньшее количество эстрогенов в отличие от пациенток с нормальным ответом. По некоторым данным, сниженный ответ на стимуляцию у этих пациенток ассоциирован с уменьшением активности ароматазы клеток гранулезы [47]. По другим — ароматазная активность клеток гранулезы, полученных при трансвагинальной пункции фолликулов женщин с «бедным» и нормальным ответом на стимуляцию суперовуляции в протоколах ЭКО, не различается [48].

У пациенток с «бедным» ответом, как правило из-за различной чувствительности фолликулов к гонадотропинам, повышение ФСГ во время поздней лютеиновой фазы может привести к опережающему росту более чувствительных фолликулов, что в конечном счете повлечет формирование меньшей фолликулярной когорты, доступной для рекрутинга. В литературе описано подавление естественного увеличения уровня ФСГ введением Э₂ в лютеиновую фазу предыдущего цикла, что приводит к уменьшению размера антральных фолликулов и синхронизации ранних антральных фолликулов

в начале фолликулярной фазы. Предполагается, что такой подход может сыграть важную роль в синхронизации развития фолликулов во время контролируемой стимуляции яичников [49]. Кроме того, есть данные, показывающие, что применение эстрогенов в КОС яичников способствует стимулирующему действию ФСГ на клетки гранулезы и улучшению качества эмбрионов. Это предположение основано на способности эстрогенов и ФСГ усиливать пролиферацию клеток гранулезы и рост фолликулов [50]. Вместе с тем Э2 стимулирует рост преантральных и антральных фолликулов и замедляет фолликулярную атрезию [51]. Данные метаанализа по применению эстрогенов в лютеиновую фазу предыдущего менструального цикла у пациенток с «бедным» ответом продемонстрировали повышение количества и качества полученных ооцитов. Также была отмечена тенденция к повышению частоты наступления беременности и снижению частоты отмены циклов в этой группе пациенток [52].

В качестве предварительной терапии перед проведением протокола ЭКО у пациентов с «бедным» ответом используется дегидроэпиандростерон (ДГЭА). Недавно проведенное всемирное эпидемиологическое исследование показало, что 26 % клиницистов ВРТ в 45 странах используют этот препарат у данных пациентов [53]. Два недавно опубликованных рандомизированных контролируемых исследования подтверждают, что терапия ДГЭА увеличивает количество ооцитов, частоту оплодотворения и частоту клинических беременностей у женщин с «бедным» ответом [54, 55]. Это эффект может быть обусловлен, в частности, способностью ДГЭА повышать активность ароматазы яичников. Так, культивирование клеток гранулезы преовуляторных фолликулов с ДГЭА-С приводит к увеличению производства эстрогена и Э2, повышению уровня мРНК ароматазы по сравнению с культивированием без ДГЭА-С [56].

Известно, что у пациентов с СПЯ экспрессия ФСГ-рецепторов в клетках гранулезы повышена [57, 58], что может являться причиной гиперчувствительности клеток гранулезы к экзогенному ФСГ [59]. Введение экзогенного ФСГ женщинам с СПЯ приводит к более высоким пиковым значениям уровня Э2 в крови и более резкому снижению после достижения пиковой концентрации по сравнению с женщинами без СПЯ [59]. Имеются различия в активности ароматазы лютеинизированных клеток

гранулезы, полученных при трансвагинальной пункции фолликулов более 18 мм, у пациенток с СПЯ по сравнению с пациентками без СПЯ. Так, при исследовании экспрессии гена *CYP19* в клетках гранулезы пациенток с СПЯ методом ПЦР в реальном времени выявлено ее значительное снижение, что подтверждается снижением уровня протеина ароматазы при вестерн-блот-анализе [58]. Снижение активности ароматазы авторы объясняют влиянием наблюдаемого повышенного уровня тестостерона в фолликулярной жидкости пациенток с СПЯ. Например, добавление тестостерона к культивированным клеткам гранулезы пациенток без СПЯ приводит к дозозависимому снижению уровня мРНК и протеина ароматазы [58]. Более ранние работы также показывают снижение уровня мРНК ароматазы фолликулов яичника пациенток с СПЯ [60].

Большинство литературных данных свидетельствуют о наличии сниженной активности овариальной ароматазы у пациенток с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ). Ароматазная активность, продукция Э2 *in vitro* и экспрессия мРНК ароматазы в культуре лютеинизированных гранулезных клеток, выделенных у пациенток с НГЭ, значительно ниже, чем в клетках гранулезы пациенток без НГЭ [61–63]. Однако De Abreu et al. сообщили, что НГЭ не оказывает существенного влияния на экспрессию гена *CYP19A1* в клетках гранулезы пациенток в протоколах ЭКО [64]. По данным E. Hosseini et al. [65], в клетках кумулюса пациенток с НГЭ экспрессия гена *CYP19A1* значительно ниже по сравнению с пациентками без НГЭ. Эти данные соответствуют результатам Barcelos et al. о низком уровне мРНК ароматазы в кумулюсных клетках пациенток с НГЭ [66].

Таким образом, ароматаза, будучи ключевым ферментом в образовании Э2 в полостных фолликулах, играет важную роль в определении динамики фолликулогенеза и получении ооцитов надлежащего качества при стимуляции яичников препаратами гонадотропинов. Активность ароматазы служит одним из определяющих факторов успешного созревания ооцитов и зависит от множества факторов как внутрияичникового, так и внегонадного происхождения. Определение активности овариальной ароматазы может оказать существенную помощь в подборе индивидуализированного подхода к проведению контролируемой стимуляции овуляции в протоколах ЭКО.

Литература

- Kamat A, Hinshelwood MM, Murry BA, et al. Mechanisms in tissue-specific regulation of estrogen biosynthesis in humans. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2002;13(3):122-8. doi: 10.1016/S1043-2760(02)00567-2.
- Stocco C. Aromatase expression in the ovary: hormonal and molecular regulation. *Steroids*. 2008;73(5):473-87. doi: 10.1016/j.steroids.2008.01.017.
- Suzuki T, Sasano H, Sasaki H, et al. Quantitation of P450 aromatase immunoreactivity in human ovary during the menstrual cycle: relationship between the enzyme activity and immunointensity. *J Histochem Cytochem*. 1994;42:1565-73. doi: 10.1177/42.12.7983357.
- Shaw ND, Srouji SS, Welt CK, et al. Compensatory increase in ovarian aromatase in older regularly cycling women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(9):3539-47. doi: 10.1210/JC.2015-2191.
- Kitawaki J, Kusuki I, Koshihara H, et al. Detection of aromatase cytochrome P-450 in endometrial biopsy specimens as a diagnostic test for endometriosis. *Fertil Steril*. 1999;72(6):1100-6. doi: 10.1016/S0015-0282(99)00424-0.
- Lin L, Ercan O, Raza J, et al. Variable phenotypes associated with aromatase (CYP19) insufficiency in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92:982-90. doi: 10.1210/jc.2006-1181.
- 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. Soderzhanie beta-jendorfina, jestrone i androstendiona v krvi zhenshhin s ozhireniem i nedostatochnost'ju jaichnikov. Aktual'nye voprosy fiziologii i patologii reproductivnoj 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.)]
- 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.
- Патент на изобретение № 2481587/ 10.05.2013. Бюл. № 13. Потин В.В., Тарасова М.А., Ярмолинская М.И., и др. Способ оценки ароматазной активности. [Patent RUS No 2481587/ 10.05.2013, Bjul. No 13. Potin VV, Tarasova MA, Jarmolinskaja MI, et al. Sposob ocenki aromataznoj aktivnosti. (In Russ.)]
- 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, Yarmolinskaya MI. The method of determination of ovarion aromatase activity in women of reproductiv age. *Vestnik Rossijskoj voenno-meditsinskoj akademii*. 2014;2(46):58-62. (In Russ.)]
- Тимофеева Е.М., Мишарина Е.В., Николаенков И.П., др. Методические подходы к определению овариальной ароматазы при синдроме поликистозных яичников // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – Т. 65. – № 1. – С. 54–61. [Timofeeva EM, Misharina EV, Nikolaenkov IP. Methodological approaches to the definition of ovarian aromatase in polycystic ovary syndrome. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2016;65(1):54-61. (In Russ.)]. doi: 10.17816/JOWD65154-61.
- Hillier SG, Tetsuka M, Fraser HM. Location and developmental regulation of androgen receptor in primate ovary. *Hum Reprod*. 1997;12:107-111. doi: 10.1093/humrep/12.1.107.
- Luo W, Wiltbank MC. Distinct regulation by steroids of messenger RNAs for FSHR and CYP19A1 in bovine granulosa cells. *Biol Reprod*. 2006;75:217-25. doi: 10.1095/biolreprod.105.047407.
- Shiina H, Matsumoto T, Sato T, et al. Premature ovarian failure in androgen receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:224-9. doi: 10.1073/pnas.0506736102.
- Wu YG, Bennett J, Talla D, et al. Testosterone, not 5 α -dihydrotestosterone, stimulates LRH-1 leading to FSH-independent expression of Cyp19 and P450scc in granulosa cells. *Mol Endocrinol*. 2011;25:656-8. doi: 10.1210/me.2010-0367.
- Nielsen ME, Rasmussen IA, Kristensen SG, et al. In human granulosa cells from small antral follicles, androgen receptor mRNA and androgen levels in follicular fluid correlate with FSH receptor mRNA. *Mol Hum Reprod*. 2011;17:63-70. doi: 10.1093/molehr/gaq073.
- Di Nardo G, Gilardi G. Human aromatase: perspectives in biochemistry and biotechnology. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2013;60(1):92-101. doi: 10.1002/bab.1088.
- Prapa E, Vasilaki A, Dafopoulos K, et al. Effect of Anti-Mullerian hormone (AMH) and bone morphogenetic protein 15 (BMP-15) on steroidogenesis in primary-cultured human luteinizing granulosa cells through Smad5 signalling. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32:1079-88. doi: 10.1007/s10815-015-0494-2.
- Pellatt L, Rice S, Dilaver N, et al. Anti-Mullerian hormone reduces follicle sensitivity to follicle-stimulating hormone in human granulosa cells. *Fertil Steril*. 2011;96:1246-51. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.08.015.

20. Chang HM, Klausen C, Leung PC. Anti-Mullerian hormone inhibits follicle-stimulating hormone-induced adenyl cyclase activation, aromatase expression, and estradiol production in human granulosa-lutein cells. *Fertil Steril*. 2013;100:585-92. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.04.019.
21. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, et al. Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001;142:4891-99. doi: 10.1210/endo.142.11.8486.
22. Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, et al. Anti-Mullerian hormone and anti-Mullerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinology*. 1995;136:4951-62. doi: 10.1210/endo.136.11.7588229.
23. Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW, et al. Which follicles make the most anti-Mullerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Mol Hum Reprod*. 2013;19:519-27. doi: 10.1093/molehr/gat024.
24. Dumesic DA, Lesnick TG, Stassart JP, et al. Intrafollicular anti-Mullerian hormone levels predict follicle responsiveness to follicle-stimulating hormone (FSH) in normoandrogenic ovulatory women undergoing gonadotropin releasing-hormone analog/recombinant human FSH therapy for in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril*. 2009;92:217-21. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.04.047.
25. Grynberg M, Pierre A, Rey R, et al. Differential regulation of ovarian anti-Mullerian hormone (AMH) by estradiol through alpha- and beta-estrogen receptors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97: E1649-E1657. doi: 10.1210/jc.2011-3133.
26. Hagen CP, Aaksgaede L, Sorensen K, et al. Individual serum levels of anti-Mullerian hormone in healthy girls persist through childhood and adolescence: a longitudinal cohort study. *Hum Reprod*. 2012;27:861-66. doi: 10.1093/humrep/der435.
27. Weintraub A, Margalioth EJ, Chetrit AB, et al. The dynamics of serum anti-Mullerian-hormone levels during controlled ovarian hyperstimulation with GnRH-antagonist short protocol in polycystic ovary syndrome and low responders. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014;176:163-7. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.02.020.
28. Andersen CY, Lossl K. Increased intrafollicular androgen levels affect human granulosa cell secretion of anti-Mullerian hormone and inhibin-B. *Fertil Steril*. 2008;89:1760-5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.05.003.
29. Gnoth C, Roos J, Broomhead D, et al. Antimüllerian hormone levels and numbers and sizes of antral follicles in regularly menstruating women of reproductive age referenced to true ovulation day. *Fertil Steril* 2015;104:1535-43. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.08.027.
30. Monga R, Ghai S, Datta TK, et al. Tissue-specific promoter methylation and histone modifications regulate CYP19 gene expression during folliculogenesis and luteinization in buffalo ovary. *General and Comparative Endocrinology*. 2011;173:205-15. doi: 10.1016/j.ygcen.2011.05.016.
31. Couse JF, Yates MM, Deroo BJ, et al. Estrogen receptor-beta is critical to granulosa cell differentiation and the ovulatory response to gonadotropins. *Endocrinology*. 2005;146:3247-62. doi: 10.1210/en.2005-0213.
32. Fitzpatrick SL, Richards JS. Regulation of cytochrome P450 aromatase messenger ribonucleic acid and activity by steroids and gonadotropins in rat granulosa cells. *Endocrinology*. 1991;129:1452-62. doi: 10.1210/endo-129-3-1452.
33. Lee HS, Kim KH, Hwang JS. Association of aromatase (TTA)n repeat polymorphisms with central precocious puberty in girls. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014;81(3):395-400. doi: 10.1111/cen.12439.
34. Berstein LM, Imyanitov EN, Kovalevskij AJ, et al. CYP17 and CYP19 genetic polymorphisms in endometrial cancer: association with intratumoral aromatase activity. *Cancer Lett*. 2004;207:191-6. doi: 10.1016/j.canlet.2004.01.001.
35. Stratakis CA, Vottero A, Brodie A, et al. The aromatase excess syndrome is associated with feminization of both sexes and autosomal dominant transmission of aberrant P450 aromatase gene transcription. *J Clin Endocrinol Metabol*. 1998;83:1348-57.
36. Xita N, Lazaros L, Georgiou I, et al. CYP19 gene: a genetic modifier of polycystic ovary syndrome phenotype. *Fertil Steril*. 2010;94:250-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.01.147.
37. Baghaei F, Rosmond R, Westberg L, et al. The CYP19 gene and associations with androgens and abdominal obesity in premenopausal women. *Obes Res*. 2003;11:578-85. doi: 10.1038/oby.2003.81.
38. Haiman CA, Hankinson SE, Spiegelman D, et al. A tetranucleotide repeat polymorphism in CYP19 and breast cancer risk. *Int J Cancer*. 2000;87:204-10. doi: 10.1002/1097-0215(20000715)87:2<204::AID-IJC8>3.0.CO;2-3.
39. Lazaros L, Hatz E, Xita N, et al. Aromatase (CYP19) gene variants influence ovarian response to standard gonadotrophin stimulation. *J Assist Reprod Genet*. 2012;29:203-209. doi: 10.1007/s10815-011-9673-y.
40. Altmäe S, Haller K, Peters M, et al. Aromatase gene (CYP19A1) variants, female infertility and ovarian stimulation outcome: a preliminary report. *Reprod Biomed Online*. 2009;18:651-7. doi: 10.1016/S1472-6483(10)60009-0.
41. Roulier R, Chabert-Orsini V, Sitri MC, et al. Depot GnRH agonist versus the single dose GnRH an-

- tagonist regimen (cetrorelix, 3 mg) in patients undergoing assisted reproduction treatment. *Reprod Biomed Online*. 2003;7:185-189. doi: 10.1016/S1472-6483(10)61749-X.
42. Garcia-Velasco JA, Isaza V, Vidal C, et al. Human ovarian steroid secretion *in vivo*: effects of GnRH agonist versus antagonist (cetrorelix). *Hum Reprod*. 2001;16:2533-2539. doi: 10.1093/humrep/16.12.2533.
 43. Khalaf M, Mitre H, Levallet J, et al. GnRH agonist and GnRH antagonist protocols in ovarian stimulation: differential regulation pathway of aromatase expression in human granulosa cells. *Reprod Biomed Online*. 2010;21:56-65. doi: 10.1016/j.rbmo.2010.03.017.
 44. Winkler N, Bukulmez O, Hardy DB, et al. Gonadotropin releasing hormone antagonists suppress aromatase and anti-Mullerian hormone expression in human granulosa cells. *Fertil Steril*. 2010;94(5):1832-1839. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.09.032.
 45. Neal MS, Younglai EV, Holloway AC, et al. Aromatase activity in granulosa cells as a predictor of pregnancy potential. *International Congress Series*. 2004;1271:139-42. doi: 10.1016/j.ics.2004.05.022.
 46. Bahçeci M, Ulug U, Turan E, et al. Comparisons of follicular levels of sex steroids, gonadotropins and insulin like growth factor-1 (IGF-1) and epidermal growth factor (EGF) in poor responder and normoresponder patients undergoing ovarian stimulation with GnRH antagonist. *Uropean Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*. 2007;130:93-98. doi: 10.1016/j.ejogrb.2006.04.032.
 47. Hurst BS, Zacur HA, Schlaff WD, et al. Use of granulosa-luteal cell culture to evaluate low and high clinical responses to menotropin stimulation. *Journal of Endocrinological Investigation*. 1992;15:567-572. doi: 10.1007/BF03344926.
 48. Neal MS, Reade CJ, Younglai EV, et al. Granulosa cell aromatase activity in women undergoing IVF: a comparison of good and poor responders. *J Obstet Gynaecol Can*. 2008;30:138-142. doi: 10.1016/S1701-2163(16)32737-2.
 49. Takekida S, Matsuo H, Maruo T. GnRH agonist action on granulosa cells at varying follicular stages. *Mol Cell Endocrinol*. 2003;202:155-164. doi: 10.1016/S0303-7207(03)00077-7.
 50. Ireland JJ, Richards JS. Acute effects of estradiol and follicle-stimulating hormone on specific binding of human [125I] iodofollicle-stimulating hormone to rat ovarian granulosa cells *in vivo* and *in vitro*. *Endocrinol*. 1978;102:876-83. doi: 10.1210/endo-102-3-876.
 51. Wang XN, Greenwald GS. Synergistic effects of steroids with FSH on folliculogenesis, steroidogenesis and FSH- and hCG-receptors in hypophysectomized mice. *J Reprod Fertil*. 1993;99:403-13. doi: 10.1530/jrf.0.0990403.
 52. Chang X, Wu J. Effects of luteal estradiol pre-treatment on the outcome of IVF in poor ovarian responders. *Gynecological Endocrinology*. 2013;29(3):196-200. doi: 10.3109/09513590.2012.736558.
 53. IVF Worldwide Survey. (2012). Poor responders: How to define, diagnose and treat? Retrieved from www.IVF-Worldwide.com.
 54. Kotb MM, Hassan AM, Awadallah AM. Does dehydroepiandrosterone improve pregnancy rate in women undergoing IVF/ICSI with expected poor ovarian response according to the Bologna criteria? A randomized controlled trial. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2016;200:11-5. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.02.009.
 55. Tartagni M, Cicinelli MV, Baldini D, et al. Dehydroepiandrosterone decreases the age-related decline of the *in vitro* fertilization outcome in women younger than 40 years old. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2015;13:18. doi: 10.1186/s12958-015-0014-3.
 56. ElBeltagy K, Honda K, Ozaki K, et al. *In vitro* effect of dehydroepiandrosterone sulfate on steroid receptors, aromatase, cyclooxygenase-2 expression, and steroid hormone production in preovulatory human granulosa cells. *Fertil Steril*. 2007;88(Suppl.4):1135-42. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.01.008.
 57. Catteau-Jonard S, Jamin SP, Leclerc A, et al. Anti-Mullerian hormone, its receptor, FSH receptor, and androgen receptor genes are overexpressed by granulosa cells from stimulated follicles in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:4456-61. doi: 10.1210/jc.2008-1231.
 58. Yang F, Ruan YC, Yang YJ, et al. Follicular hyperandrogenism downregulates aromatase in luteinized granulosa cells in polycystic ovary syndrome women. *Reproduction*. 2015;150:289-96. doi: 10.1530/REP-15-0044.
 59. Coffler MS, Patel K, Dahan MH, et al. Evidence for abnormal granulosa cell responsiveness to follicle-stimulating hormone in women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2003;88:1742-47. doi: 10.1210/jc.2002-021280.
 60. Jakimiuk AJ, Weitsman SR, Brzechffa PR, et al. Aromatase mRNA expression in individual follicles from polycystic ovaries. *Molecular Human Reproduction*. 1998;4:1-8. doi: 10.1093/molehr/4.1.1.
 61. Lu X, Wu Y, Gao X-H, et al. Effect of letrozole on estradiol production and P450 aromatase messenger RNA expression of cultured luteinized granulosa cells from women with and without endometriosis. *Fertil Steril*. 2012;98(1):131-5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.03.055.
 62. De Abreu LG, Romão GS, Reis RMD, et al. Reduced aromatase activity in granulosa cells of women with endometriosis undergoing assisted reproduction

- techniques. *Gynecol Endocrinol.* 2006;22(8):432-6. doi: 10.1080/09513590600902937.
63. Harlow C, Cahill D, Maile L, et al. Reduced pre-ovulatory granulosa cell steroidogenesis in women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(1):426-9.
64. De Abreu LG, Silveira VS, Scrideli CA, et al. Endometriosis does not alter aromatase gene expression (CYP19A1) in mural lutein-granulosa cells of women undergoing assisted reproduction techniques – a pilot study. *J Endometriosis.* 2011;3(4):177-82. doi: 10.5301/JE.2012.9070.
65. Hosseini E, Mehraein F, Shahhoseini M, et al. Epigenetic alterations of *CYP19A1* gene in Cumulus cells and its relevance to infertility in endometriosis. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33(8):1105-13. doi: 10.1007/s10815-016-0727-z.
66. Barcelos IDE, Donabella FC, Ribas CP, et al. Down-regulation of the *CYP19A1* gene in cumulus cells of infertile women with endometriosis. *RBM Online.* 2015;30(5):532-41. doi: 10.1016/j.rbmo.2015.01.012.

■ Адрес автора для переписки (*Information about the author*)

Павел Павлович Яковлев — аспирант, отделение вспомогательных репродуктивных технологий. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** iakovlevpp@gmail.com.

Pavel P. Yakovlev — PhD student. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** iakovlevpp@gmail.com.