

Кафедра акушерства и гинекологии
№1 Санкт-Петербургской медицинской
академии последипломного образования

Антимюллеровский фактор - яичниковый гормон, который относится к группе трансформирующих факторов роста-*b*. АМФ продуцируется и мужской и женской гонадами - клетками Сертоли яичка и гранулезными клетками яичника. В процессе эмбриогенеза мужского организма АМФ вызывает регресс мюллеровых протоков, а тестостерон-дифференцировку вольфовых протоков. В женском организме в процессе эмбриогенеза отсутствие АМФ и тестостерона приводит к регрессу вольфовых протоков, но способствует дифференцировке мюллеровых протоков и развитию из них внутренних женских половых органов. АМФ продолжает продуцироваться гранулезными клетками на протяжении репродуктивного периода женщины.

Выяснено, что он ингибирует возобновление мейоза в овоцитах. Кроме того, АМФ влияет на стероидогенез, он снижает активность ароматазы, вызывая уменьшение продукции эстрадиола и повышение уровня андрогенов в фолликуле. АМФ угнетает митозы в гранулезных клетках и снижает число ЛГ-рецепторов на них. АМФ является антагонистом эпидерmalного фактора роста и может ингибировать стимулированный им тканевой активатор плазминогена, играющий важную роль в процессе разрыва фолликула при овуляции. Таким образом, АМФ обладает ингибирующими влиянием на все компоненты фолликула, включая рост гранулезных клеток, стероидогенез, созревание яйцеклетки и разрыв фолликула. Сделано предположение об определенной роли АМФ в патогенезе синдрома поликистозных яичников.

Антимюллеровский фактор (АМФ) - гормон, который вырабатывается в гонадах в процессе половой дифференцировки зародыша по мужскому типу и вызывает регресс мюллеровых протоков (предшественников женских внутренних половых органов).

A. Jost впервые выдвинул предположение наличие тестикулярного фактора, подавляющего развитие мюллеровых протоков в 1947 году [27]. Антимюллеровский фактор (антимюллеровский гормон) был идентифицирован, выделен и рекомбинантно синтезирован [5, 12, 25, 30].

Он относится к группе трансформирующих факторов роста *b* (*transforming growing factor-b*), участвующих в росте и дифференцировке клеток. Гликопротеины этого семейства синтезируются в виде неактивных димеров-предшественников и для активации подвергаются посттрансляционному процессингу - расщеплению и диссоциации субъединиц.

Ген АМФ у человека находится на коротком плече 19 хромосомы [8].

АМФ вырабатывается в гонадах обоих полов - клетками Сертоли яичек и гранулезными клетками яичника [12, 30].

Физиологические функции АМФ в мужском организме

Инволюция мюллеровых протоков. В процессе эмбриогенеза по мужскому типу АМФ вызывает инволюцию мюллеровых протоков у зародыша, в то время как тестостерон стимулирует дифференцировку вольфовых

протоков. Уровень АМФ в сыворотке крови новорожденных мужского пола - около 30 нг/мл. Это несколько выше, чем у недоношенных детей. В первый год жизни этот показатель несколько увеличивается, достигая максимума около 50 нг/мл. Затем уровень АМФ постепенно снижается (после 5-11-летнего возраста) до базального уровня 2-5 нг/мл, который наблюдается в юношеском и взрослом возрасте [18].

Опущение яичек. Имеются данные о влиянии АМФ на опущение яичек в мужском организме. Выделяют 3 стадии опущения яичек в норме [21]:

1. Перемещение гонад во время раннего эмбриогенеза, которое происходит у обоих полов.

2. Трансабдоминальное перемещение яичек вследствие роста *gubernaculum*.

3. Продвижение через паховый канал.

Считается, что в регуляции второй стадии существует АМФ, а в третьей - андрогены. При развитии синдрома нечувствительности к андрогенам, когда действие АМФ не нарушено, опущение яичек у большинства пациентов происходит до пахового кольца [23]. В то же время при синдроме персистирующих мюллеровых протоков, когда отсутствует действие АМФ, а действие андрогенов не нарушено, яички остаются в брюшной полости [17]. Механизм действия АМФ на *gubernaculum* (по видимости - мишень АМФ) точно не установлен.

Созревание легочной ткани. Синдром дыхательных рас-

стройств у новорожденных вследствие недостаточной продукции сурфактанта чаще случается у мальчиков. Возможное объяснение этого факта заключается в том, что андрогены и АМФ подавляют синтез фосфатидихолина - основного компонента сурфактанта, продукцируемого фибробластами легочной ткани [6].

Физиологические функции АМФ в женском организме

При развитии плода по женскому типу дифференцировка мюллеровых протоков происходит спонтанно, вследствие отсутствия АМФ, а инволюция вольфовых структур - вследствие отсутствия тестостерона. В норме в эмбриональном периоде АМФ не вырабатывается у плодов женского пола, и яичники до рождения девочки не подвергаются воздействию АМФ. В яичниках продукция АМФ начинается после рождения и увеличивается в период половой зрелости и у взрослых женщин [3,37].

В течение первых лет жизни АМФ не определяется в сыворотке крови у девочек. Он начинает определяться, начиная приблизительно с 20-летнего возраста, и составляет около 2 нг/мл. Концентрация АМФ сыворотки крови в репродуктивном периоде сравнима с таковой у взрослых мужчин - 2-5 нг/мл. Такой же уровень АМФ определяется в фолликулярной жидкости, полученной во время ЭКО [28].

Выработка АМФ не ограничивается только эмбриональным периодом. Тот факт, что секреция АМФ у женщин продолжается на протяжении всего репродуктивного периода, дает повод предположить, что данный фактор роста выполняет определенные функции в репродуктивной системе женщины [28].

Известно, что АМФ синтезируется гранулезными клетками фолликулов у женщин репродуктивного и более старшего возраста. Однако роль, которую он

выполняет в организме женщины, точно не установлена.

Механизм действия АМФ. Молекулярный механизм действия АМФ до конца не изучен. Считается, что он связан с дефосфорилированием клеточных рецепторов [22]. Доказано, что АМФ блокирует вызываемое эпидермальным фактором роста (EGF) фосфорилирование тирозина клеточных мембран, а также аутофосфорилирование рецепторов EGF [7,39]. АМФ является антагонистом эпидермального фактора роста (EGF).

Функции EGF:

1) *EGF и TGF_a* (трансформирующий фактор роста-*a*) рассматриваются как основные внутрияичниковые стимуляторы деления фолликулярных клеток (в частности - митоза гранулезы) [24,32,33].

2) EGF стимулирует созревание (реинициацию мейоза) ооцитов [9,14,32].

3) EGF стимулирует выработку клетками гарнгулезы активатора тканевого плазминогена (*TP_A*), играющего важную роль в процессе овуляторного разрыва фолликула (*tissue-type plasminogen activator*) [16].

Все вышеперечисленные действия EGF в фолликулах могут блокироваться АМФ, тем более, если содержание последнего повышенено [32].

Рецепторы АМФ гомологичны рецепторам активина и трансформирующего фактора роста (TGF)-*b2* [29,31]. Они были локализованы (методом *in situ hybridization*) на мезенхимальных клетках, окружающих мюллеровы протоки, а также на развивающихся ооцитах и клетках гранулезы в преандральних и антральных фолликулах [28].

АМФ был обнаружен в яичниках и фолликулярной жидкости и животных, и человека. Его синтез осуществляют клетки гранулезы [4,26]. По данным Baarends W.M. et al., [1] экспрессия РНК АМФ и рецепторов АМФ 2-го типа наблюдается в гранулезных

клетках небольших преандральных фолликулов; интенсивность экспрессии достигает максимальной величины в больших преандральных фолликулах, а затем снижается и в небольших антральных фолликулах становится в 2,5-3 раза ниже, чем в больших преандральных. В последующем экспрессия РНК АМФ и рецепторов АМФ 2-го типа продолжает снижаться и практически исчезает в больших антральных фолликулах, в фолликулах, находящихся на конечной стадии созревания, и в желтых телах [19].

Таким образом, перед овуляцией, когда ооциты должны возобновлять мейотическое деление, окраска АМФ в предовуляторных фолликулах исчезает [20,40]. В связи с этим было высказано предположение о влиянии АМФ на процесс созревания половых клеток. Такое предположение подтверждается данными о способности АМФ ингибировать реинициацию мейоза ооцитов [8,36].

АМФ и реинициация мейоза ооцитов. Ооциты плода вступают в первое деление мейоза незадолго или сразу после родов, но деление останавливается в конце профазы I деления (стадия диплотены). Возобновление мейотического деления происходит за несколько часов до овуляции и вызывается предовуляторным пиком гонадотропинов (ЛГ).

Считается, что в фолликуле вырабатываются факторы, тормозящие реинициацию мейоза ооцита и поддерживающие это торможение до момента, когда преовуляторный пик ЛГ преодолевает их ингибирующее влияние. Так как ооцит не имеет ЛГ-рецепторов, действие ЛГ по "разблокированию" мейоза, по-видимому, передается на ооцит через другие клетки фолликула.

Различные факторы рассматриваются как возможные ингибиторы реинициации мейоза ооцита:

- фактор, ингибирующий созревание (мейоз) ооцита (ФИС),
- циклический аденоzinмоно-

фосфат (цАМФ),

- стероиды,
- пурины,
- АМФ.

Наиболее изучена роль цАМФ в регуляции мейоза ооцитов [36]. Мейотическое деление ооцита регулируется внутриклеточным содержанием цАМФ. Ингибирующее количество цАМФ вырабатывается не самим ооцитом, а поступает из клеток гранулезы и кумулюсных клеток фолликула через межклеточные контакты. Вслед за предовуляторным пиком ЛГ в фолликулах нарушаются межклеточные контакты клеток гранулезы, кумулюсных клеток и ооцита. В результате происходит падение уровня цАМФ в ооците. Это делает возможным реинициацию мейоза ооцита и начало второго деления мейоза.

Механизм действия ФИС связан с цАМФ, синтезируемым кумулюсными клетками фолликула [38].

Способность АМФ ингибировать мейоз как изолированных ооцитов, так и в комплексах "ооцит-кумулюсные клетки", а также результаты других исследований [36] говорят о том, что АМФ действует на ооцит не через другие клетки фолликула и не за счет цАМФ-зависимого механизма. Как предполагается, механизм воздействия АМФ связан с угнетением тирозин киназы ооцита, ответственной за вступление ооцита в мейоз [22].

Нейтрализация действия АМФ на реинициацию мейоза ооцитов при помощи антиАМФ-антител и эпидерmalного фактора роста (EGF) подтверждает специфичность воздействия АМФ [38,39].

Интересно, что АМФ препятствует реинициации мейоза ооцитов в фолликулах, которые не достигли финальной стадии роста [28]. В связи с этим заслуживают внимания данные M.Follat et al.[15], которые обнаружили повышение уровня АМФ в сыворотке крови и фолликулярной жидкости, полученной при ЭКО

у пациенток с синдромом поликистозных яичников.

Воздействие на изолированные ооциты ФСГ, ЛГ, прогестерона, 17b-эстрadiола и тестостерона не повлияло на угнетение созревания ооцита, вызванного АМФ [36]. Это подтверждает то, что действие АМФ не связано с цАМФ и его продукцией кумулюсными клетками, и говорит о том, что гонадотропины *in vitro* не в состоянии преодолеть ингибирующее влияние АМФ.

АМФ и ЛГ-рецепторы гранулезы. Согласно экспериментальным данным АМФ обладает еще одним свойством, а именно: снижает количество ЛГ-рецепторов на гранулезных клетках [11].

АМФ и стероидогенез в яичниках. Отсутствие воздействия АМФ является необходимым для развития нормального стероидогенеза в яичниках. Воздействие АМФ на женский плод в раннем эмбриональном периоде вызывает агенезию мюллеровых структур и "изменение гормонального пола яичников" [2,41,42]. Согласно экспериментальным данным, при воздействии на яичники плода в эмбриональном периоде, АМФ угнетал репликацию оогоний и активность ароматазы гранулезных клеток [10,41,42], что приводило к изменению гормональной среды фолликула ("изменение гормонального пола яичника") - снижение уровня эстрогенов и повышение уровня андрогенов.

В незрелой ткани яичников при культивации с АМФ наблюдается пониженная активность ароматазы, и как следствие - снижение синтеза эстрadiола и повышенная продукция тестостерона [41]. При изучении влияния АМФ на морфогенез гонад у мышей было обнаружено, что при воздействии высокой концентрации АМФ у особей женского пола наблюдалась вирилизация наружных гениталий, развитие слепого влагалища, отсутствие матки или яйцеводов; их гонады представляли собой тяжеподобные

образования, похожие на семявыносящие протоки, содержащие незначительное количество половых клеток.

Ингибирование роста клеток. АМФ способен ингибировать рост клеток. Есть сведения об угнетении АМФ клеток гангрезы [35]. Экспериментально было показано, что рост клеток карциномы яичника ингибировался частично очищенным бычьим АМФ. Эта опухоль из поверхностного эпителия яичника - производного целомического эпителия - развивается преимущественно в постменопаузе, когда продукция АМФ резко снижается [13]. Также в эксперименте было показано, что АМФ действует на клетки A431 - клетки, выделенные из плоскоклеточной карциномы шейки матки и имеющие большое количество EGF-рецепторов. Действие АМФ в этом случае объясняют угнетением EGF- зависимой тирозин киназы [22].

Было высказано предположение о возможном воздействии АМФ на ткань мюllerовых структур в постнатальном периоде с целью предотвращения их злокачественной трансформации и в связи с этим об использовании АМФ в качестве лечебного антиопухолевого агента.

Заключение

Помимо общезвестного влияния на дегенерацию мюllerовых протоков у мальчиков, АМФ имеет значение на определенных стадиях опущения яичек и, возможно, влияет на созревание сурфактанта.

Как показывают результаты исследований, АМФ в женском организме оказывает ингибирующее воздействие на все компоненты фолликула, влияя на процесс созревания ооцита, рост и развитие фолликула, механизм овуляции. И так, АМФ:

1) ингибирует реинициацию мейоза ооцитов; механизм этого воздействия не является цАМФ- зависимым. Экспериментальные данные [36] показали что *in vitro*

гонадотропины не смогли преодолеть это ингибирующее воздействие;

2) нарушает стероидогенез в фолликулах. За счет угнетения ароматазы гранулезных клеток в фолликулах значительно снижается уровень эстрадиола, а уровень тестостерона растет [10,41,42];

3) угнетает митоз клеток гранулезы [35];

4) снижает количество ЛГ-рецепторов на клетках гранулезы [11];

5) является антагонистом EGF и снижает выработку активатора тканевого тромбопластина, который играет важную роль в процессе овуляторного разрыва фолликула [16].

Следовательно гиперпродукция АМФ в женском организме может привести к нарушению половой дифференцировки зародыша и в последующем нарушить механизм роста и развития фолликула. С учетом данных M.Follat с соавт.[15] наиболее вероятно предположить, что АМФ имеет непосредственное отношение к патогенезу синдрома поликистозных яичников.

ЛИТЕРАТУРА

1. Baarends W.M., Uilenbroek J.T., Kramer P., Hoogerbrugge J.W. et al. AMH and AMH type 2 receptor mRNA expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle and gonadotropin-induced follicle growth // Endocrinology, 1995.- Vol. 136. -№11- P.4951-4954
2. Behringer R.R., Cate R.L., Froelick G.J., Palmiter R.D., Brinster E. Abnormal sexual development in transgenic mice // Nature, 1990.- Vol.345. - P.167-170
3. Bezard J., Vigier B. et al. Immunocytochemical study of AMH in sheep ovaries follicles during fetal and post-natal development // J. Reprod. Fert., 1987.- Vol.80. -P.509-512
4. Cate R.L., Donahoe P.K., MacLaughlin D.T. MIS, Peptide growth factors and their receptors. Berlin, 1990
5. Cate R.L., Ninfa E.G. et al. Development of MIS as an anticancer drug // Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 1986.-Vol.51.- P.641-643
6. Catlin E.A., Manganaro T.F., Donahoe P.K. MIS depresses accumulation in vitro of disaturated phosphatidylcholine in fetal rat lung. // Am. J. Obstetr. Gynec., 1988.- Vol. 159. -P.1299-1302
7. Catlin E.A., Uitvlugt N.D., Donahoe P.K. Mullerian inhibiting substance blocks EGF receptor phosphorylation in fetal rat lung membranes. // Metabolism, 1991.-Vol.40. -P.1178-1183
8. Cohen-Haguener O., Picard J.Y. et al. Mapping of the gene for AMF to the short arm of human chromosome 19. // Cytogenet. Cell. Genet., 1987.- Vol. 44.-P.2-4
9. Dekel N., Sherizly I. EGF induces maturation of rat follicle-enclosed oocytes. // Endocrinology, 1985.- Vol. 116.-P.406-409
10. Di Clemente N., Ghaffari S. et al. A quantitative and interspecific test for biological activity of AMH: the fetal ovary aromatase assay. // Development, 1992.-Vol. 114. - P.721-724
11. di Clemente N., Goxx B., Remy J.J. et al. Inhibitory effect of AMH upon the expression of aromatase and LH receptors by cultured granulosa cells of rat and porcine immature ovaries.// Endocrine, 1994.-Vol.2.-P.553-557
12. Donahoe P.K., Cate R.L., Epstein J. et al. MIS: gene structure and mechanism of action. // Recent Prog. Horm. Res., 1987.- Vol.43.-P.431-435
13. Donahoe P.K., Swann D.A. et al. Mullerian duct regression in the embryo correlated with cytotoxic activity against human ovarian cancer. // Science, 1979.-Vol.205. - P.913-916
14. Downs S.M. Specificity of EGF action on maturation of the murine oocyte and cumulus oophorus in vitro. // Biol. Reprod., 1989.- Vol.41.- P.371-376.
15. Fallat M. et al. MIS in follicular fluid and serum: a comparison of patients with tubal factor infertility, PCOS and endometriosis. // Fert. Ster., 1997. - Vol.67. - P.5962 -5964
16. Galaway A.B., Oikawa M., Ny T. et al. EGF stimulates tPA activity and mRNA levels in cultured granulosa cells: mediation by pathways independent of protein kinases A and C. // Endocrinology, 1989. -Vol. 115.- P.126 -129
17. Guerrier D., Tran D. et al. The persistent Mullerian duct syndrome: a molecular approach. // J. Clin. Endocrinol. Metab., 1989. -Vol.68.- P.46-47
18. Hadson P.L., Dougas J., Donahoe P.K. et al. An immunoassay to detect MIS in males and females during normal development. // J. Clin. Endocr. Metab., 1990. - Vol.70.- P.16-19
19. Hirobe S., He W-W. et al. MIS gene expression in the cycling rat ovary correlates with recruited or graafian follicle selection. // Biol. Reprod., 1994. - Vol.50. - P.1238-1241
20. Hirobe S., He W-W. et al. Expression of MIS mRNA in granulosa and Sertoli cells coincides with its mitotic activity. // Endocrinol., 1992.- Vol. 131.-P. 854-857
21. Hutson J.M., Donahoe P.K. Hormonal control of testicular descent. // Endocr. Rev., 1986.-Vol. 7. P.-270-275
22. Hutson J.M., Fallat M.E., Kamagata S., Donahoe P.K. et al. Phosphorylation events during mullerian duct regression. // Science, 1984. - Vol.223.- P.-586-589
23. Hutson J.M. Testicular feminization: a model for testicular descent in mice and men. // J. Pediatr. Surg., 1986. -Vol.211.- P.195-198
24. Jones K.L., Gospodarowicz D. Biological activity of a growth factor for ovarian cells. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 1974. - Vol.71. - P.3372-3375
25. Josso N. AMH: new prospectives for a sexist molecule. // Endocr. Rev., 1986.-Vol.7. - P.421-425
26. Josso N., Picard J.Y. AMH. // Physiol. Rev., 1986.- Vol.66. - P.1038-1041

27. Jost A., *Recherches sur la differentiation sexuelle de l'embryon de lapin.* // *Arch. Anat. Morphol. Exp.*, 1947.- Vol.36.- P.271-275
28. Lee Mary M., Donahoe P.K. *MIS: a gonadal hormone with multiple functions.*// *Endocrine Reviews*, 1993.-Vol.14.- P.152-155
29. Lin H.Y., Wang X.F. et al. *Expression cloning of the TGF- β 2 receptor, a functional transmembrane serine/threonine kinase.* // *Cell*, 1992.-Vol.68.- P.1-4
30. MacLaughlin D.T., Epstein J., Donahoe P. *Bioassay, purification, cloning and expression of MIS.* // *Methods Enzymol.*, 1991.-Vol.198.- P.358-362
31. Mathews L.S., Vale W.W. *Expression cloning of an activin receptor, a predicted transmembrane serine kinase.* // *Cell*, 1991.- Vol.65.- P.973-974
32. Mulheron G.W., Schomberg D.W. *The intraovarian TGF system, from the Ovary* EY Adashi, PCK Leung, 1993
33. Nakano R., Mizuno T. et al. *Growth of ovarian follicles in rats in the absence of gonadotropins.* // *J. Reprod. Fert.*, 1975.- Vol.45. - P.545-548
34. Rey R.A., C. Lhomme et al. *AMH as serum marker of granulosa cell tumours of the ovary: comparative study with serum α -inhibin and estradiol.* 1996
35. Speroff L., Glass R.H., Kase N. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, 1994
36. Takahashi M., Koide S., Donahoe P.K. *MIS as oocyte meiosis inhibitor.* // *Molecular and Cellular Endocrinology*, 1986.-Vol.47.- P.225-227
37. Teng C.S. *Qualification of MIS in developing chick gonads by a competitive enzyme-linked immunosorbent assay.* // *Dev. Biol.*, 1987.- Vol.123.- P.255-258
38. Tsafirri A., Pomarantz S.H. *Oocyte maturation inhibitor.* // *Clin. Endocr. Metab.*, 1986.- Vol.15.- P.157-159
39. Ueno S., Manganaro T.F., Donahoe P.K. *Human recombinant MIS inhibition of rat oocyte meiosis is reversed by epidermal growth factor in vitro.* // *Endocrinology*, 1988.- Vol.123.- P.1652-1654
40. Ueno S., Takahashi M., Manganaro T., Ragin R., Donahoe P.K. *Cellular localization of MIS in the developing rat ovary.* // *Endocrin.*, 1989.-Vol.124.-№2.- P.1000-1002
41. Vigier B., Forest M.G., Eychenne B. et al. *AMH produces endocrine sex reversal of fetal ovaries.* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 1989.- Vol.86.- P.3684-3687
42. Vigier B., Watrin F., Magre S., Tran D., Josso N. *Purified bovine AMH induces a characteristic freemartin effect on fetal rat prospective ovaries exposed to it in vitro.* // *Development*, 1987.- Vol.100. - P.43-45