

АКТИВНОСТЬ ОВАРИАЛЬНОЙ АРОМАТАЗЫ: МЕТОДЫ ОЦЕНКИ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ В ПРОТОКОЛАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

© П.П. Яковлев, Ю.С. Крылова, И.Д. Мекина, В.О. Полякова, И.М. Кветной, М.А. Тарасова, И.Ю. Коган, А.М. Гзгзян, В.Р. Родичкина

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

Для цитирования: Яковлев П.П., Крылова Ю.С., Мекина И.Д., и др. Активность овариальной ароматазы: методы оценки и клиническое значение в протоколах экстракорпорального оплодотворения // Журнал акушерства и женских болезней. — 2018. — Т. 67. — № 2. — С. 61–69. doi: 10.17816/JOWD67261-69

Поступила в редакцию: 05.03.2018

Принята к печати: 16.04.2018

■ **Введение.** Ароматаза цитохром P450 является ключевым ферментом биосинтеза эстрогенов из андрогенов. Ряд гинекологических заболеваний сопровождается изменением активности овариальной ароматазы. Кроме того, изменение активности ароматазы яичников может влиять на протоколы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). На данный момент разработан метод определения активности овариальной ароматазы, позволяющий достаточно эффективно определять ее активность, не прибегая к забору ткани яичника.

Цель исследования заключалась в сравнении методов определения уровня ароматазы в яичниках. Для этого использовали метод определения активности овариальной ароматазы с помощью соотношения эстрадиола к антимюллерову гормону на 2-й день менструального цикла и метод иммуноцитохимической оценки ароматазы в кумулюсных клетках.

Материал и методы. В зависимости от активности овариальной ароматазы, вычисленной на 2-й день менструального цикла, 16 пациенток, проходящих протоколы ЭКО, были разделены на три группы: с низкой активностью — 8 пациенток, нормальной — 4 пациентки и высокой — 4 женщины. Пациентки не отличались по возрасту и индексу массы тела. Проведена иммуноцитохимическая оценка экспрессии ароматазы в кумулюсных клетках исследуемых групп пациенток, полученных при трансвагинальной пункции в протоколе ЭКО.

Результаты. Интенсивность флуоресценции в группе с низкой активностью составила 134 (122–161), в группе с нормальной активностью — 238 (201–251), в группе с высокой активностью — 259 (240–299). Различия между данными группами были статистически значимыми ($p = 0,008$). Имелась выраженная положительная корреляционная связь между активностью овариальной ароматазы, вычисленной на 2-й день менструального цикла, и интенсивностью флуоресценции ароматазы в кумулюсных клетках (Spearman, $r = 0,75$, $p = 0,001$, $n = 16$).

■ **Ключевые слова:** овариальная ароматаза; экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО); кумулюсные клетки; бесплодие.

OVARIAN AROMATASE ACTIVITY: EVALUATION METHODS AND THE CLINICAL SIGNIFICANCE IN IVF PROTOCOLS

© P.P. Yakovlev, Ju.S. Krylova, I.D. Mekina, V.O. Polyakova, I.M. Kvetnoy, M.A. Tarasova, I.Yu. Kogan, A.M. Gzgzyan, V.R. Rodichkina

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

For citation: Yakovlev PP, Krylova JuS, Mekina ID, et al. Ovarian aromatase activity: Evaluation methods and the clinical significance in IVF protocols. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2018;67(2):61-69. doi: 10.17816/JOWD67261-69

Received: 05.03.2018

Accepted: 16.04.2018

■ **Introduction.** Cytochrome P450 aromatase is a key enzyme in the biosynthesis of estrogens from androgens. Some gynecological diseases are accompanied with changes in the activity of ovarian aromatase. Moreover, changes in the activity of ovarian aromatase are associated with the response to standard gonadotrophin stimulation in women undergoing

in vitro fertilization. A new effective method determining the activity of ovarian aromatase without using ovarian tissue biopsy has been developed.

The purpose of the present study was to compare the detection of ovarian aromatase activity using the ratio of estradiol to AMH on the second day of the menstrual cycle through the immunocytochemical evaluation of aromatase expression in cumulus cells.

Methods. Depending on the activity of the ovarian aromatase, calculated on the second day of the menstrual cycle, 16 patients undergoing IVF protocols were categorized into three groups: eight patients with low activity, four with normal activity, and four with high activity. The patients did not differ in age and BMI. The expression of aromatase in cumulus cells obtained through transvaginal puncture was investigated by the immunocytochemical method.

Results. The fluorescence intensities in the low, normal, and high activity groups were 134 (122–161), 238 (201–251), and 259 (240–299), respectively. Differences between these groups were statistically significant ($p = 0.008$). There was a pronounced positive correlation between the activity of ovarian aromatase, calculated on day two of the menstrual cycle, and the intensity of aromatase fluorescence in cumulus cells (Spearman, $r = 0.75$, $p = 0.001$, $n = 16$).

▪ **Keywords:** ovarian aromatase; *in vitro* fertilization; cumulus cell; infertility.

Введение

Ароматаза P450 является ключевым ферментом синтеза эстрадиола (Э2) в антральных фолликулах яичника. Она играет важную роль в определении динамики фолликулогенеза и качества получаемых ооцитов при стимуляции суперовуляции яичников гонадотропинами в протоколах ЭКО. Активность ароматазы зависит от множества факторов как внегонадного, так и внутрияичникового происхождения [1]. Достаточный уровень Э2 необходим для правильного развития ооцитов, поскольку незрелые ооциты человека имеют Э2-зависимые механизмы цитоплазматического созревания [2, 3]. Ароматазная активность клеток гранулезы, полученных в протоколе экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) у забеременевших пациенток, по мнению ряда авторов, значительно выше, чем у незабеременевших, после переноса одинакового числа эмбрионов [4]. Ооциты, полученные из фолликулов с более высоким уровнем Э2 в фолликулярной жидкости, имели большую частоту оплодотворения [5–7]. Также большее соотношение Э2 к тестостерону, более высокий уровень Э2 в фолликулярной жидкости и больший объем фолликулов в момент пункции ассоциирован с наступлением беременности у пациенток, проходящих протоколы ЭКО [7–9]. В то же время низкое содержание интрафолликулярного Э2 у пациентов, например, с дефицитом 17 α -гидроксилазы в протоколе ЭКО сопровождается задержкой эмбрионального развития *in vitro* и, как следствие, ассоциировано с худшими исходами [10].

По данным литературы, имеется связь между изменением ароматазной активности с полиморфизмом гена *CYP19A1* [11–13] и исхо-

дом контролируемой овариальной стимуляции у женщин в протоколах ЭКО [14, 15]. Кроме того, ряд гинекологических заболеваний сопровождается изменением активности овариальной ароматазы [1].

В настоящее время разработаны методики определения активности овариальной ароматазы, позволяющие достаточно эффективно определять ее активность, не прибегая к биопсии яичника [16]. К одной из них относится определение коэффициента активности ароматазы овариальных фолликулов по соотношению Э2 и антимюллерова гормона (АМГ), отражающего число антральных фолликулов, на 2-й день менструального цикла (д. м. ц.) [17].

В данной работе мы сопоставили коэффициент активности ароматазы овариальных фолликулов, определенный на 2-й д. м. ц., с результатами оценки экспрессии ароматазы P450 в кумулюсных клетках фолликулов пациенток, полученных при проведении протоколов ЭКО.

Материалы и методы исследования

В исследование было включено 16 пациенток, отвечающих следующим критериям: возраст — 20–35 лет, наличие бесплодия, требующего применения ЭКО (ЭКО/ИКСИ), АМГ — более 1,0 нг/мл. Критериями исключения явились: ИМТ — менее 18 кг/м² и более 35 кг/м², наружный генитальный эндометриоз III/IV ст., сахарный диабет 1-го типа, наличие противопоказаний для проведения ЭКО согласно приказу МЗ от 30.08.2012 № 107н (ред. от 11.06.2015).

Перед вступлением в протокол (на 2-й д. м. ц.) у всех пациенток в сыворотке крови определяли содержание ФСГ, ЛГ, ТТГ, пролактина, Э2 и АМГ с последующим вычислением ароматазной активности яичников по формуле

КА = Э2/АМГ, где КА — коэффициент активности ароматазы овариальных фолликулов; Э2 — базальный уровень эстрадиола в крови на 2-й д. м. ц. в пмоль/л; АМГ — уровень антимюллерова гормона в крови на 2-й д. м. ц. в нг/мл. При КА меньше 37,8 овариальная ароматазная активность оценивалась как низкая; при КА от 37,8 до 90,7 — нормальная; при КА больше 90,7 — высокая [17].

В зависимости от ароматазной активности фолликулов пациентки были разделены на три группы: I группа с низкой ($n = 8$, 50 %), II группа с нормальной ($n = 4$, 25 %) и III группа с высокой активностью овариальной ароматазы ($n = 4$, 25 %). Группы были сопоставимы по возрасту, длительности бесплодия, индексу массы тела.

С целью стимуляции суперовуляции использовали протокол с антагонистами ГнРГ. Введение рекомбинантного ФСГ проводили ежедневно со 2–3-го д. м. ц. Введение гонадотропинов начинали при возникновении условий для начала стимуляции суперовуляции по данным ультразвукового исследования: отсутствие кист яичников, толщина эндометрия не более 5 мм. В процессе контролируемой стимуляции суперовуляции выполняли ультразвуковой мониторинг роста фолликулов и эндометрия. На 5-й день стимуляции овуляции корректировали дозу гонадотропинов и решали вопрос о назначении антагонистов ГнРГ для предотвращения преждевременного пика ЛГ при достижении одним или несколькими лидирующими фолликулами среднего размера 14 мм. Критерием назначения триггера финального созревания ооцитов являлось достижение тремя лидирующими

фолликулами среднего размера не менее 17 мм. В качестве триггера овуляции использовали препарат хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) в дозе 10 000 МЕ (прегнил, Organon, Нидерланды). Через 36 часов после введения триггера овуляции проводили трансвагинальную пункцию фолликулов и аспирацию ооцитов под давлением 140 мм рт. ст. с использованием однопросветной иглы диаметром 17G (Cook Medical, Bloomington, IN, USA).

Определение экспрессии овариальной ароматазы в кумулюсных клетках иммуноцитохимическим методом

Полученные ооцит-кумуляные комплексы промывали 3–4 раза в среде Flushing Medium (Origio, Дания). После чего часть кумулюсных клеток отделяли от ооцит-кумуляного комплекса, промывали в фосфатном буфере и помещали на стекла с полилизинным покрытием, высушивали и фиксировали 4 % раствором параформальдегида. Для промывки применяли фосфатно-солевой буфер с Tween x20. Клетки инкубировали в течение 30 минут с блокирующей сывороткой при комнатной температуре. После промывки наносили первичные антитела к Aromatase (Abcam (ab18995) разведение 1 : 400), инкубировали 1 час при комнатной температуре. В качестве вторичных антител использовали Alexa fluor 647®, Abcam. После отмывки срезы докрашивали DAPI, appliChem. Положительная реакция с ароматазой имела красную флуоресценцию, ядра — синюю (рис. 1). Все образцы были заключены в монтирующую среду DACO. Образцы исследовали на конфокальном лазерном сканирующем микроско-

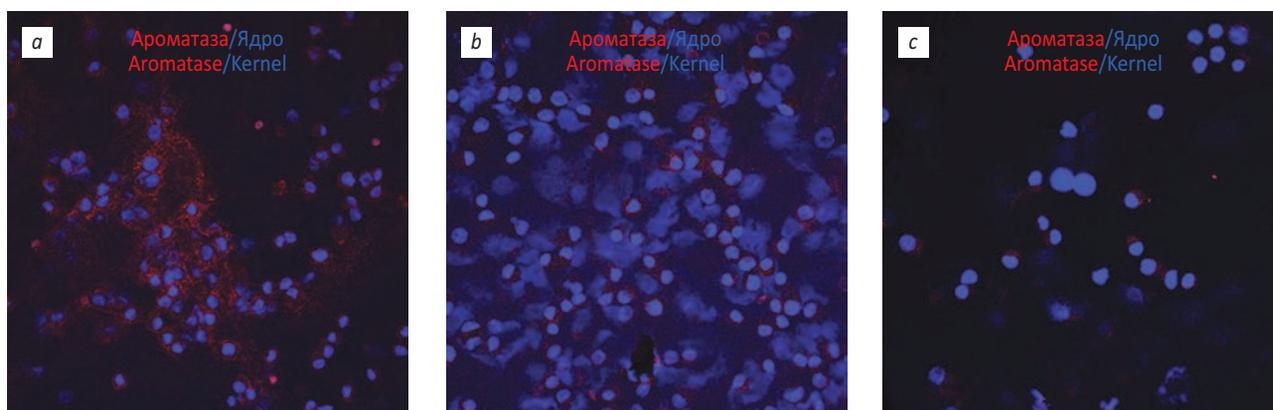


Рис. 1. Иммуноцитохимия, $\times 400$, экспрессия ароматазы в кумулюсных клетках (красная флюоресценция): *a* — высокая интенсивность; *b* — нормальная; *c* — низкая

Fig. 1. Immunocytochemistry, $\times 400$, the aromatase expression in cumulus cells (red fluorescence): *a* — high intensity; *b* — normal intensity; *c* — low intensity

пе Olympus FV1000D. Для изучения объектов определяли интенсивность флюоресценции в условных единицах. Оценку и подсчет проводили в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета прикладных программ STATISTICA v 10.0 for Windows (Statsoft Inc., США). Методами описательной статистики для количественных признаков с распределением, отличающимся от нормального, рассчитывали медиану, 25-й и 75-й процентиля. Для сравнительного анализа данных, полученных в двух группах, использовали критерий *U* Манна – Уитни, в нескольких группах — критерий ANOVA по Краскелу – Уоллису. Корреляционный анализ осуществляли при помощи коэффициента корреляции Спирмана. Различия между группами считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования

При сравнении клинико-анамнестических характеристик обследованных женщин пациентки были сопоставимы по возрасту, индексу

массы тела, структуре и длительности течения бесплодия. У пациенток с низкой активностью овариальной ароматазы основной причиной бесплодия являлся синдром поликистозных яичников (СПЯ). В группе с нормальной и высокой активностью ароматазы определяющими причинами бесплодия были мужской и трубно-перитонеальный факторы (табл. 1).

Уровень АМГ в группе с низкой ароматазной активностью был наибольшим среди обследуемых групп, тогда как в группе с высокой активностью овариальной ароматазы был наименьшим. Базальный уровень ФСГ и ЛГ, так же как и уровни пролактина и ТТГ в крови, достоверно не отличались в обследованных группах (табл. 2).

При иммуноцитохимической оценке экспрессии ароматазы в кумулюсных клетках интенсивность флюоресценции в группе с низкой активностью овариальной ароматазы ($n = 8$) составила 134 (122–161) (рис. 1, *c*), в группе с нормальной активностью ($n = 4$) — 238 (201–251) (рис. 1, *b*), в группе с высокой активностью

Таблица 1 / Table 1

Характеристика исследуемых групп Basic characteristics of the patients

Параметр	Ароматазная активность яичников			<i>p</i>
	низкая ($n = 8$)	нормальная ($n = 4$)	высокая ($n = 4$)	
Трубно-перитонеальный фактор	1	1	1	–
Синдром поликистозных яичников	5	–	–	–
Мужской фактор бесплодия	2	3	3	–
Индекс массы тела	22 (20–25,5)	22 (19,5–24,5)	21 (19,5–24,5)	0,91
Возраст (годы)	32,25 (28,5–35)	31 (29,5–32,5)	33,2 (30,5–36)	0,56

Таблица 2 / Table 2

Результаты гормонального исследования женщин Hormonal levels in the study groups

Параметр	Ароматазная активность яичников			<i>p</i>
	низкая ($n = 8$)	нормальная ($n = 4$)	высокая ($n = 4$)	
АМГ, нг/мл	7,1 (5,6; 9,4)	5,0 (3,5; 5,7)	1,5 (1,2; 2,6)	–
Эстрадиол, пмоль/л	161,5 (137,5; 176,0)	208,5 (167,0; 304,5)	288,5 (173,5; 450,0)	–
ФСГ, МЕ/л	5,3 (4,4; 7,4)	5,8 (5,5; 6,6)	7,2 (2,2; 8,0)	0,35
Пролактин, мМЕ/л	332,0 (142,0; 363,0)	307,5 (268,0; 367,0)	255,5 (194,0; 317,0)	0,53
ЛГ, МЕ/л	5,5 (5,0; 6,1)	5,0 (4,3; 7,8)	5,0 (4,4; 5,2)	0,72
ТТГ, мМЕ/л	1,3 (1,2; 2,4)	1,8 (1,0; 4,0)	2,0 (2,0; 2,0)	0,48

Таблица 3 / Table 3

Интенсивность экспрессии ароматазы в клетках кумулюса в исследуемых группах
Aromatase expression in cumulus cells of the study groups

Параметр	Ароматазная активность яичников			Kruskal – Wallis ANOVA	Mann – Whitney U Test
	низкая (n = 8)	нормальная (n = 4)	высокая (n = 4)		
Интенсивность флуоресценции	134,5 (122; 161)	238 (201; 251)	259 (240; 299)	$p = 0,0087$	$p_{I-II} = 0,021$ $p_{I-III} = 0,19$ $p_{II-III} = 0,008$

($n = 4$) — 259 (240–299) (рис. 1, а). Различия между данными группами были статистически значимыми ($p = 0,008$). При попарном сравнении экспрессия ароматазы P450 в кумулюсных клетках в группе с низкой активностью была достоверно меньше, чем в группе с нормальной и высокой активностью (табл. 3).

В результате корреляционного анализа коэффициента активности ароматазы овариальных фолликулов с иммуноцитохимической оценкой экспрессии ароматазы в гранулезных клетках была выявлена высокая положительная корреляционная взаимосвязь (Spearman, $r = 0,75$, $p = 0,001$, $n = 16$) (рис. 2).

Клинические результаты циклов ЭКО. В группе с низкой активностью овариальной ароматазы перенос эмбрионов (ПЭ) проведен у четырех пациенток. Клиническая беременность была зафиксирована у двух пациенток. У трех пациенток ПЭ был отменен в связи с высоким риском синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) средней и тяжелой степеней, у одной по причине проведения предимплантационного генетического тестирования (ПГТ). В группе с нормальной активностью ПЭ совершен у трех пациенток, клиническая беременность была зафиксирована у одной. У одной пациентки ПЭ был отменен в связи с проведением ПГТ. В группе с высокой активностью овариальной ароматазы беременности диагностированы не были.

Обсуждение

В настоящее время активность ароматазы в тканях определяют различными методами, например, радиометрическим методом, основанным на превращении меченного тритием андростендиона в «тяжелую воду» [18], с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), в том числе ПЦР с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР) [19, 20]. Для определения количества белка ароматазы P450 может быть использован Вестерн-блоттинг (белковый блоттинг) [21]. Также экспрессию ароматазы опре-

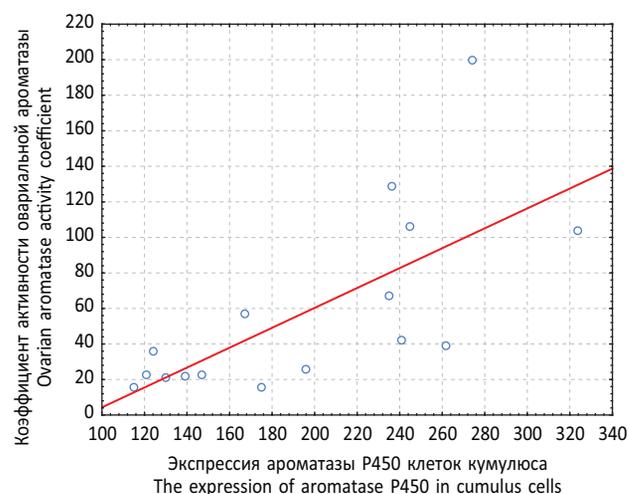


Рис. 2. Зависимость между коэффициентом активности овариальной ароматазы и экспрессией ароматазы P450 в клетках кумулюса

Fig. 2. The dependence between the coefficient of the ovarian aromatase activity and the expression of the aromatase P450 in cumulus cells

деляют при помощи иммуногистохимического метода [22, 23]. Вышеперечисленные методики эффективны и позволяют точно оценивать активность ароматазы p450. Однако недостатком данных методов является необходимость получения биопсийного материала яичника, что требует оперативного вмешательства.

Полученные результаты оценки активности овариальной ароматазы с использованием двух методов позволяют заключить, что коэффициент активности овариальной ароматазы (представляющий собой отношение уровня Э2 к уровню АМГ, вычисляемое на 2-й д. м. ц.) совпадает с активностью этого фермента в крупных полостных фолликулах после стимуляции суперовуляции, оцененной иммуноцитохимическим методом. Высокая корреляционная связь экспрессии ароматазы в кумулюсных клетках пациенток, проходящих протоколы ЭКО с коэффициентом активности ароматазы, позволяет рекомендовать использование гормонального метода как основного в клини-

ческой практике, учитывая его точность и неинвазивность.

Оценка активности овариальной ароматазы может отражать качество фолликулогенеза и при ее изменении, вероятно, играть определенную роль при неудачах оплодотворения и имплантации. Известно, что качество ооцита зависит от многих факторов, к одним из которых относятся фолликулярная микросреда, в том числе достаточный уровень эстрадиола в фолликулярной жидкости, наличие адекватной связи между яйцеклеткой и клетками гранулезы, окружающими ооцит [24]. Гранулезные клетки, включая кумулюсные, принимают активное участие в дифференцировке фолликулов, что важно для оптимального развития ооцитов, овуляции, оплодотворения и последующей имплантации [25]. Ароматаза присутствует в клетках гранулезы и играет фундаментальную роль в созревании фолликулов и качестве ооцитов [26].

На активность овариальной ароматазы могут влиять различные факторы, отражающие как физиологические, так и патологические состояния.

Полиморфизм гена *CYP19* является одной из причин, приводящих к изменению ароматазной активности яичников. Так, при изучении аллельного варианта (ТТТА)*n* в 4-м интроне гена *CYP19*, содержащего от 7 до 13 повторов, обнаружено, что наличие более низкого числа повторов (ТТТА)*n* ассоциировано со снижением ферментативной активности ароматазной активности, а увеличение числа повторов — с повышением активности фермента [13, 27].

Кроме того, ряд гинекологических заболеваний связан с изменением ароматазной активности яичников. При наружном генитальном эндометриозе большинство исследователей сходятся во мнении о снижении экспрессии овариальной ароматазы [19, 28]. При этом некоторые авторы публикуют данные, по которым НГЭ не оказывает существенного влияния на экспрессию гена *CYP19A1* в клетках гранулезы яичника [20].

Также дефицит овариальной ароматазы выполняет одну из патогенетических функций при нормогонадотропной ановуляции [22, 29]. Результаты большого числа исследований свидетельствуют о снижении экспрессии ароматазы гранулезных клеток яичников при СПЯ [21, 30]. Все пациентки с СПЯ, участвовавшие в нашем исследовании, также имели сниженную активность овариальной ароматазы. По другим

данным, только у половины (48,8 %) больных с СПЯ определяется сниженная ароматазная активность фолликулов, что косвенно отражает патогенетическую неоднородность этого состояния [31]. У пациенток с СПЯ в протоколах ЭКО наличие аллеля *CYP19* (ТТТА)*7*, свидетельствующее о снижении ароматазной активности, связано с более низким уровнем Э2 на 3-й д. м. ц., сниженным количеством больших фолликулов при контролируемой овариальной стимуляции (КОС), более низким числом полученных ооцитов, но с более высокими показателями беременности по сравнению с носителями данного аллеля [32].

У женщин с мужским фактором бесплодия наличие аллеля *CYP19* (ТТТА)*7* ассоциировалось с меньшим числом крупных фолликулов и меньшим числом полученных ооцитов в протоколах ЭКО. Сниженное число фолликулов и полученных ооцитов у аллельных носителей *CYP19* (ТТТА)*7* указывает на возможную связь этого аллеля с более плохим ответом на контролируемую овариальную стимуляцию, и, следовательно, требуется увеличение количества гонадотропинов для достижения аналогичных результатов с носителями данного аллеля [32]. Altmäe et al. показали, что женщины с более короткими (ТТТА)*n*-повторами имеют меньшие размеры яичников, меньшее число антральных фолликулов и сниженную чувствительность яичников к стандартной стимуляции гонадотропинами [15]. L. Lazaros et al. продемонстрировали, что у пациенток с мужским или трубным фактором бесплодия гомозиготных по коротким аллелям *CYP19* (ТТТА)*n* или носителей аллеля *CYP19* (ТТТА)*7* также отмечается меньшее количество растущих фолликулов при КОС по сравнению с женщинами с другими генотипами *CYP19*, что предполагает связь сниженной ароматазной активности яичников с более слабым ответом в протоколах ЭКО [14].

Таким образом, выявленная по результатам нашего исследования достоверная и высокая корреляционная зависимость между интенсивностью флуоресценции овариальной ароматазы, определяемой при иммуноцитохимическом исследовании клеток кумулюса, и коэффициентом активности ароматазы, вычисляемым по результатам определения эстрадиола и АМГ в крови больных на 2-й д. м. ц., свидетельствует о возможности использования последнего метода для адекватной оценки активности овариальной ароматазы в циклах ЭКО. Дополнительные исследования (увели-

чение числа обследуемых больных, изучение содержания стероидных гормонов в фолликулярной жидкости, оценка исходов протоколов ЭКО у пациенток с различной активностью овариальной ароматазы) позволят уточнить практическое значение коэффициента активности овариальной ароматазы в прогнозе эффективности протоколов ЭКО.

Литература

1. 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. [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. (In Russ.)]. doi: 10.17816/JOWD66546-55.
2. Tesarik J, Mendoza C. Nongenomic effects of 17 beta-estradiol on maturing human oocytes: relationship to oocyte developmental potential. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(4):1438-1443. doi: 10.1210/jcem.80.4.7714121.
3. Tesarik J. Direct non-genomic effects of follicular steroids on maturing human oocytes: oestrogen versus androgen antagonism. *Hum Reprod Update*. 1997;3(2):95-100. doi: 10.1093/humupd/3.2.95.
4. Neal MS, Younglai EV, Holloway AC, Foster WG. Aromatase activity in granulosa cells as a predictor of pregnancy potential. *Int Congr Ser*. 2004;1271:139-142. doi: 10.1016/j.ics.2004.05.022.
5. Lamb JD, Zamah AM, Shen S, et al. Follicular fluid steroid hormone levels are associated with fertilization outcome after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2010;94(3):952-957. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.04.010.
6. Mendoza C. Relationship between fertilization results after intracytoplasmic sperm injection, and intrafollicular steroid, pituitary hormone and cytokine concentrations. *Hum Reprod*. 1999;14(3):628-635. doi: 10.1093/humrep/14.3.628.
7. Carpintero NL, Suarez OA, Mangas CC, et al. Follicular steroid hormones as markers of oocyte quality and oocyte development potential. *J Hum Reprod Sci*. 2014;7(3):187-193. doi: 10.4103/0974-1208.142479.
8. Andersen CY. Characteristics of human follicular fluid associated with successful conception after *in vitro* fertilization. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;77(5):1227-1234. doi: 10.1210/jcem.77.5.7521343.
9. Mendoza C. Follicular fluid markers of oocyte developmental potential. *Hum Reprod*. 2002;17(4):1017-1022. doi: 10.1093/humrep/17.4.1017.
10. Rabinovici J, Blankstein J, Goldman B, et al. *In vitro* fertilization and primary embryonic cleavage are possible in 17 alpha-hydroxylase deficiency despite extremely low intrafollicular 17 beta-estradiol. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;68(3):693-697. doi: 10.1210/jcem-68-3-693.
11. 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 Metab*. 1998;83(4):1348-1357. doi: 10.1210/jcem.83.4.4697.
12. 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(4):578-585. doi: 10.1038/oby.2003.81.
13. Haiman CA, Hankinson SE, Spiegelman D, et al. A tetranucleotide repeat polymorphism in CYP19 and breast cancer risk. *Int J Cancer*. 2000;87(2):204-210. doi: 10.1002/1097-0215(20000715)87:2<204::aid-ijc8>3.0.co;2-3.
14. Lazaros LA, Hatzi EG, Xita NV, et al. Aromatase (CYP19) gene variants influence ovarian response to standard gonadotrophin stimulation. *J Assist Reprod Genet*. 2012;29(2):203-209. doi: 10.1007/s10815-011-9673-y.
15. 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(5):651-657. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60009-0.
16. Тимофеева Е.М., Мишарина Е.В., Николаенков И.П., и 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, et al. 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.
17. Патент РФ на изобретение № 2619345/15.05.17. Бюл. № 14. Потин В.В., Тарасова М.А., Ярмолинская М.И. и др. Способ оценки ароматазной активности антральных фолликулов яичников. [Patent RUS № 2619345/15.05.17. Byul. No 14. Potin VV, Tarasova MA, Jarmolinskaja MI, et al. Method for ovaries antral follicles aromatase activity assessment. (In Russ.)]
18. Younglai EV, Holloway AC, Lim GE, Foster WG. Synergistic effects between FSH and 1,1-dichloro-2,2-bis(P-chlorophenyl)ethylene (P,P'-DDE) on human granulosa cell aromatase activity. *Hum Reprod*. 2004;19(5):1089-1093. doi: 10.1093/humrep/deh252.
19. Barcelos ID, Donabella FC, Ribas CP, et al. Down-regulation of the CYP19A1 gene in cumulus cells of infertile women with endometriosis. *Reprod Biomed Online*. 2015;30(5):532-541. doi: 10.1016/j.rbmo.2015.01.012.
20. 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):177-182. doi: 10.5301/JE.2012.9070.
21. Yang F, Ruan YC, Yang YJ, et al. Follicular hyperandrogenism downregulates aromatase in luteinized granulosa

- cells in polycystic ovary syndrome women. *Reproduction*. 2015;150(4):289-296. doi: 10.1530/REP-15-0044.
22. Савина В.А. Овариальная ароматаза p450 при нормогонадотропной недостаточности яичников // Журнал акушерства и женских болезней. — 2012. — Т. 61. — № 1. — С. 84–89. [Savina VA. Ovarian aromatase p450 and normogonadotropic ovarian deficiency. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2012;61(1):84-89. (In Russ.)]
 23. Sternberger LA, Hardy PH, Jr., Cuculis JJ, Meyer HG. 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(5):315-333. doi: 10.1177/18.5.315.
 24. Makabe S, Naguro T, Stallone T. Oocyte-follicle cell interactions during ovarian follicle development, as seen by high resolution scanning and transmission electron microscopy in humans. *Microsc Res Tech*. 2006;69(6):436-449. doi: 10.1002/jemt.20303.
 25. Adashi EY. Endocrinology of the ovary. *Hum Reprod*. 1994;9(5):815-827. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a138602.
 26. Hamel M, Dufort I, Robert C, et al. Identification of differentially expressed markers in human follicular cells associated with competent oocytes. *Hum Reprod*. 2008;23(5):1118-1127. doi: 10.1093/humrep/den048.
 27. Xita N, Georgiou I, Lazaros L, et al. The synergistic effect of sex hormone-binding globulin and aromatase genes on polycystic ovary syndrome phenotype. *Eur J Endocrinol*. 2008;158(6):861-865. doi: 10.1530/EJE-07-0905.
 28. 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):1105-1113. doi: 10.1007/s10815-016-0727-z.
 29. Самойлович Я.А., Потин В.В., Тарасова М.А., и др. Дефицит овариальной ароматазы как причина нормогонадотропной ановуляции // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2015. — Т. 15. — № 2. — С. 25–30. [Samoilovich YA, Potin VV, Tarasova MA, et al. Ovarian aromatase deficiency as a cause of normogonadotropic anovulation. *Rossiiskii vestnik akushera-ginekologa*. 2015;15(2):25-30. (In Russ.)]
 30. Савина В.А., Кветной И.М., Клещев М.А., и др. Овариальная ароматаза p450 при синдроме поликистозных яичников // Медицинский академический журнал. — 2012. — Т. 12. — № 1. — С. 66–72. [Savina VA, Kvetnoy IM, Kleshhev MA, et al. Ovarian aromatase p450 in polycystic ovary syndrome. *Med Akad Z*. 2012;12(1):66-72. (In Russ.)]
 31. Николаенков И.П., Потин В.В., Тарасова М.А., и др. Активность овариальной ароматазы у больных с синдромом поликистозных яичников // Журнал акушерства и женских болезней. — 2014. — Т. 63. — № 1. — С. 10–16. [Nikolaenkov IP, Potin VV, Tarasova MA, et al. Ovarian aromatase activity in polycystic ovarian syndrome. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2014;63(1):10-16. (In Russ.)] doi: 10.17816/JOWD63110-16
 32. Lazaros L, Xita N, Hatzi E, et al. *CYP19* gene variants affect the assisted reproduction outcome of women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2013;29(5):478-482. doi: 10.3109/09513590.2013.774359.

■ Адреса авторов для переписки (Information about the authors)

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

Юлия Сергеевна Крылова — канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория клеточной биологии, отдел патоморфологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** emerald2008@mail.ru.

Ирина Дмитриевна Мекина — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отделения вспомогательных репродуктивных технологий. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург.

Виктория Олеговна Полякова — профессор, д-р биол. наук, зав. лабораторией клеточной биологии, отдела патоморфологии ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** vopol@yandex.ru.

Игорь Моисеевич Кветной — д-р мед. наук, заслуженный деятель науки, профессор, руководитель отдела патоморфологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** igor.kvetnoy@yandex.ru.

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

Julia S. Krylova — PhD, MD, Scientist. Laboratory of Cell Biology, Department of Pathomorphology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russia. **E-mail:** emerald2008@mail.ru.

Irina D. Mekina — Candidate of Biological Sciences. Research Fellow of Department Reproductive Technologies. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russia.

Victoria O. Polyakova — Professor, Dr. Sc., Head of Laboratory of Cell Biology, Department of Pathomorphology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russia. **E-mail:** vopol@yandex.ru.

Igor M. Kvetnoy — MD, Professor. Head of the Pathomorphology Department. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russia. **E-mail:** igor.kvetnoy@yandex.ru.

Марина Анатольевна Тарасова — д-р мед. наук, профессор. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург.
E-mail: tarasova@ott.ru.

Игорь Юрьевич Коган — д-р мед. наук, член-корр. РАН, профессор, ученый секретарь. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** ikogan@mail.ru.

Александр Мкртичевич Гзгзян — д-р мед. наук, руководитель отделения вспомогательных репродуктивных технологий. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург.
E-mail: iagmail@ott.ru.

Валерия Руслановна Родичкина — младший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии отдела патоморфологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург.
E-mail: rolerus@mail.ru.

Marina A. Tarasova — MD, PhD, Professor. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russia. **E-mail:** tarasova@ott.ru.

Igor Yu. Kogan — PhD, AM RAM, Scientific Secretary. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russia. **E-mail:** ikogan@mail.ru.

Alexander M. Gzgzyan — MD, Head of Department Reproductive Technologies. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russia.
E-mail: iagmail@ott.ru.

Valeriia R. Rodichkina — Junior Research Scientist of the Pathomorphology Department. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russia. **E-mail:** rolerus@mail.ru.