

© Коллектив авторов, 2017

Н.В. ДОЛГУШИНА<sup>1</sup>, Н.В. ДЕСЯТКОВА<sup>1</sup>, А.Е. ДОННИКОВ<sup>1</sup>,  
 М.Ю. ВЫСОКИХ<sup>1</sup>, Ю.А. СУХАНОВА<sup>1</sup>, О.А. ДОЛГУШИН<sup>2</sup>, А.А. ПАРХОМЕНКО<sup>3</sup>

## РОЛЬ АДИПОКИНОВ И ГЕНОВ-РЕГУЛЯТОРОВ АДИПОКИНОВ В ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОГРАММ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ У ПАЦИЕНТОК С ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА

<sup>1</sup>ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России

<sup>2</sup>ФГБУ 3-й Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского Минобороны России, Москва

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

**Цель исследования.** Оценка роли адипокинов и генов-регуляторов адипокинов в эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) у пациенток с избыточной массой тела.

**Материал и методы.** В проспективное когортное исследование были включены 106 пациенток с индексом массы тела (ИМТ)  $\geq 23$  кг/м<sup>2</sup> и 41 пациентка с ИМТ  $< 23$  кг/м<sup>2</sup>. Определение уровня лептина и адипонектина в плазме крови проводили на мультиплексном анализаторе Luminex 200. Анализ полиморфизма генов, регулирующих уровень адипокинов (LEP: -2548 (2453) G>A, LEPR: 818(853) A>G (Gln223Arg) и LEPR: 476 (511) A>G (Lys109Arg)), проводили с помощью аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Первичной конечной точкой было ОШ<sub>кор</sub> наступления клинической беременности и живорождения в зависимости от ИМТ пациенток.

**Результаты.** У пациенток с ИМТ  $\geq 23$  кг/м<sup>2</sup> отмечалось статистически значимо меньшее число клинических беременностей (ОШ<sub>кор</sub>=3,1 (95% ДИ 1,4; 6,6)) и живорождений (ОШ<sub>кор</sub>=2,8 (95% ДИ=1,2; 6,4)) по сравнению с пациентками с ИМТ  $< 23$  кг/м<sup>2</sup>. При ИМТ  $\geq 23$  кг/м<sup>2</sup> наблюдалось значимо более высокое содержание в крови лептина (21,9 $\pm$ 10,5 нг/мл vs. 7,1 $\pm$ 5,6 нг/мл) на фоне снижения уровня адипонектина (9,7 $\pm$ 5,3 мкг/мл vs. 14,3 $\pm$ 6,6 мкг/мл). Также уровень лептина был выше у пациенток, у которых в ходе проведения ЭКО беременность не наступила. Генотип GG гена LEPR с.476 (511) A>G был ассоциирован с более низким уровнем лептина и высоким уровнем адипонектина, а также с большей вероятностью живорождения в программах ВРТ.

**Заключение.** Генотип GG гена LEPR с.476 (511) A>G играет защитную роль в обмене адипокинов и ассоциирован с позитивными исходами программ ВРТ. При наличии данного генотипа вероятность живорождения повышается в 2 раза на фоне снижения ИМТ и уровня лептина.

**Ключевые слова:** экстракорпоральное оплодотворение, вспомогательные репродуктивные технологии, лептин, адипонектин, ожирение, избыточная масса тела.

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Для цитирования: Долгушина Н.В., Десяткова Н.В., Донников А.Е., Высоких М.Ю., Суханова Ю.А., Долгушин О.А., Пархоменко А.А. Роль адипокинов и генов-регуляторов адипокинов в эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с избыточной массой тела. Акушерство и гинекология. 2017; 2: 71-8. <http://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.2.71-8>

N.V. DOLGUSHINA<sup>1</sup>, A.E. DONNIKOV<sup>1</sup>, M.Yu. VYSSOKIKH<sup>1</sup>,  
 N.V. DESIATKOVA<sup>1</sup>, Yu.A. SUHANOVA<sup>1</sup>, O.A. DOLGUSHIN<sup>2</sup>, A.A. PARHOMENKO<sup>3</sup>

## THE ROLE OF ADIPOKINES AND THEIR REGULATORY GENES IN THE EFFECTIVENESS OF ART PROGRAMS IN OVERWEIGHT PATIENTS

<sup>1</sup>Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia,  
 Moscow 117997, Ac. Oparina str. 4, Russia

<sup>2</sup>A.A. Vishnevsky Central Military Clinical Hospital, 143421 Moskovskaya Oblast', Krasnogorsk region,  
 Archangelskoe, settlement Noviy, Russia

<sup>3</sup>M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow 117192, Lomonosovsky Prospekt 31-5, Russia

**Objective.** To assess the role of adipokines and their regulatory genes in the effectiveness of ART programs in overweight patients.

**Subject and methods.** A prospective cohort study enrolled 106 patients with a body mass index (BMI) of  $\geq 23$  kg/m<sup>2</sup> and 41 patients with a BMI of  $< 23$  kg/m<sup>2</sup>. Plasma leptin and adiponectin levels were measured using a Luminex multiplex 200 analyzer. The polymorphism of the genes regulating the level of adipokines (LEP: -2548 (2453) G>A, LEPR: 818(853) A>G (Gln223Arg), and LEPR: 476 (511) A>G (Lys109Arg)) was analyzed by allele-specific polymerase chain reaction. The primary endpoint was an adjusted odds ratio (OR<sub>adj</sub>) for the occurrence of clinical pregnancy and live births in relation to the patients' BMI.

**Results.** The patients with a BMI  $\geq 23$  kg/m<sup>2</sup> were observed to have statistically significantly fewer clinical pregnancies ( $OR_{adj} = 3.1$  (95% CI 1.4; 6.6)) and live births ( $OR_{adj} = 2.8$  (95% CI, 1.2; 6.4)) than those with a BMI of  $< 23$  kg/m<sup>2</sup>. When the patients had a BMI of  $\geq 23$  kg/m<sup>2</sup>, they had significantly higher blood levels of leptin ( $21.9 \pm 10.5$  ng/ml and  $7.1 \pm 5.6$  ng/ml) with the lower level of adiponectin ( $9.7 \pm 5.3$   $\mu$ g/ml vs.  $14.3 \pm 6.6$   $\mu$ g/ml). The leptin levels were also higher in patients in whom pregnancy did not occur with IVF. The GG genotype of LEPR c.476 (511) A>G was associated with the lower level of leptin and with the high one of adiponectin, as well as with a greater probability of live births in the ART programs.

**Conclusion.** The GG genotype of LEPR c.476 (511) A>G plays a protective role in the metabolism of adipokines and is associated with the positive outcomes of ART programs. When this genotype is present, the probability of live births increases two-fold with decreases in BMI and leptin level.

**Key words:** in vitro fertilization, assisted reproductive technologies, leptin, adiponectin, obesity, overweight.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

For citations: Dolgushina N.V., Donnikov A.E., Vyssokikh M.Yu., Desiatkova N.V., Suhanova Yu.A., Dolgushin O.A., Parhomenko A.A. The role of adipokines and their regulatory genes in the effectiveness of ART programs in overweight patients. *Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology*. 2017; (2): 71-8. (in Russian) <http://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.2.71-8>

Ожирение является важной проблемой здравоохранения. Оно широко распространено в различных популяциях людей, в том числе среди женщин репродуктивного возраста [1]. Доказано, что пациентки с индексом массы тела (ИМТ)  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> чаще страдают репродуктивными нарушениями, имеют меньше шансов наступления беременности после экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и более высокий риск различных осложнений беременности по сравнению с женщинами с ИМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup> [2–11]. Одной из возможных причин репродуктивных неудач у пациенток с избыточной массой тела может быть нарушение обмена адипокинов (лептина, адипонектина), которое может быть генетически детерминировано.

Лептин и адипонектин – это пептидные гормоны, синтезируемые жировой тканью, основными функциями которых является регуляция энергетического обмена. В последнее время появились данные о роли адипокинов не только в развитии ожирения и поддержании энергетического гомеостаза, но и в регуляции репродуктивных функций человека [12–19].

Уровень лептина в крови у женщин с высоким ( $> 25$  кг/м<sup>2</sup>) ИМТ повышен, а адипонектина – понижен, что приводит к дисрегуляции половых гормонов, нарушению фолликуло-/оогенеза и раннего эмбриогенеза. Доказано, что лептин может регулировать овуляцию, стимулируя протеолиз и высвобождение содержимого фолликулов [12–15]. Также существуют данные о плейотропном влиянии лептина на репродукцию. Так, усиление экспрессии лептина в плаценте усиливает пролиферацию и дифференцировку трофобластных клеток [16].

Описаны полиморфизмы гена лептина (LEP) и его рецепторов (LEPR), кодирующих уровень и активность адипокинов у человека [20, 21], которые приводят к ожирению [22, 23], нарушению гонадотропной функции гипофиза [24], гестационному сахарному диабету [25], самопроизвольным выкидышам [25], преэклампсии [26] и другим нарушениям репродуктивной функции.

Цель исследования: оценить роль адипокинов и генов-регуляторов адипокинов в эффективности

программ ВРТ у пациенток с избыточной массой тела.

## Материал и методы исследования

В проспективное когортное исследование были включены 147 пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия, нормальным кариотипом, ИМТ  $\geq 18,0$  кг/м<sup>2</sup>, отсутствием противопоказаний к проведению ВРТ и подписанным информированным согласием на участие в исследовании. Критерием исключения было наличие патоспермии у супруга, а также развитие осложнений, требующих отмены переноса эмбрионов в изучаемом цикле.

Перед включением в протокол ЭКО все женщины были обследованы согласно Приказу Минздрава России от 30.08.12 №107н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), противопоказаниях и показаниях к их применению» [27].

Стимуляция функции яичников проводилась с применением рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (рФСГ) или комбинированного препарата рФСГ и лютеинизирующего гормона и назначением антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (ант-ГнРГ). Триггер овуляции вводился при наличии лидирующих фолликулов диаметром 17 мм и более. В качестве триггера использовались человеческий хорионический гонадотропин (ЧХГ) в дозе 7500–10 000 МЕ, а при риске развития синдрома гиперстимуляции яичников – агонист гонадотропин-рилизинг-гормона (а-ГнРГ) в дозе 0,2 мг, или сочетание а-ГнРГ с ЧХГ в дозе 1500 МЕ. Трансвагинальную пункцию яичников (ТВП) осуществляли через 36 часов после введения триггера овуляции. Перенос эмбрионов в полость матки производили на 5-е сутки культивирования. В полость матки переносили один эмбрион лучшего качества. Поддержка лютеиновой фазы индуцированного цикла у всех пациенток проводилась по стандартному протоколу с назначением натурального микроиндуцированного прогестерона интравагинально в дозе

600 мг в сутки после ТВП. Если в качестве триггера овуляции был использован а-ГнРГ, или сочетание а-ГнРГ с ЧХГ в дозе 1500 МЕ, для поддержки лютеиновой фазы назначали эстрадиола валерат в дозе 6 мг в сутки. При наличии подъема уровня сывороточного ЧХГ через 14 дней после переноса эмбрионов в полость матки регистрировали биохимическую беременность, а при визуализации плодного яйца в полости матки через 21 день после переноса – клиническую беременность.

Определение уровня адипокинов (лептина, адипонектина) в плазме крови проводили на мультиплексном анализаторе Luminex 200 (Luminex Corporation, США). Процедуру измерения проводили в соответствии с инструкцией производителя наборов. Расчет концентрации белков в плазме крови осуществляли по калибровочной кривой в программе Luminex 100 IS 2.3 (Luminex Corporation, США).

Анализ полиморфизма генов, регулирующих уровень адипокинов, проводился методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с анализом кривых плавления модифицированным методом «примыкающих проб» (adjacent probes, kissing probes) с помощью коммерческих тест-систем ООО «НПО ДНК-Технология», Россия. Определяли следующие генные варианты: *LEP*: с.-2548 (2453) G>A [rs7799039], *LEPR*: с.818(853) A>G (Gln223Arg) [rs1137101] и *LEPR*: с.476 (511) A>G (Lys109Arg) [rs1137100].

Для статистического анализа использовался пакет статистических программ Statistica 10 (США). Первичной конечной точкой было скорректированное по конфаундерам отношение шансов ( $OШ_{кор}$ ) наступления клинической беременности и живорождения в зависимости от массы тела пациенток, оцененное с помощью многофакторного анализа – логистической регрессии. Статистический анализ проводился с применением  $\chi^2$ -теста для оценки частотных показателей, t-теста и ANOVA для сравнения средних, а также многофакторного регрессионного анализа (логистической регрессии) для расчета  $OШ_{кор}$ . Различия между статистическими величинами считали статистически значимыми при уровне достоверности  $p < 0,05$ .

Исследование было одобрено комиссией по этике ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России.

## Результаты исследования

В исследование были включены 147 пациенток: 82 пациентки с избыточной массой тела и ожирением ( $ИМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$ ) и 65 пациенток с нормальной массой тела ( $ИМТ = 18,0–24,9 \text{ кг/м}^2$ ). Для стратификации на группы нами было найдено пороговое значение ИМТ, ниже которого шансы наступления беременности, а также достоверность модели и площадь под кривой (AUC) были максимальными. При проведении ROC-анализа порогом отсечки с максимальной площадью под кривой стал  $ИМТ = 23 \text{ кг/м}^2$  ( $AUC = 0,606$ ). Группу 1 составили 106 пациенток с  $ИМТ \geq 23 \text{ кг/м}^2$ , группу 2 – 41 пациентка с  $ИМТ < 23 \text{ кг/м}^2$ .

Средний возраст пациенток составил  $32,1 \pm 3,7$  года и  $31,2 \pm 3,1$  года в группах 1 и 2 соответственно ( $p = 0,2059$ ). При анализе антропометрических данных было выявлено различие в показателях веса и, как следствие, ИМТ пациенток ( $p < 0,0001$ ). Пациентки двух групп не отличались по менструальной функции, гинекологической и соматической заболеваемости и паритету. В группе 2 было больше курящих пациенток ( $p = 0,0099$ ). Продолжительность бесплодия была выше у пациенток в группе 1 ( $p = 0,0078$ ). При анализе особенностей протоколов ЭКО было отмечено, что суммарная доза препаратов гонадотропинов, длительность стимуляции суперовуляции и вид протокола стимуляции были сопоставимы в 2 группах. В группе 1 было получено меньше ооцитов ( $p = 0,0047$ ), зрелых ооцитов ( $p = 0,0069$ ) и зигот ( $p = 0,0151$ ). При этом число blastocysts, в том числе отличного качества, было сопоставимо в группах сравнения. У пациенток группы 1 чаще проводили фертилизацию ооцитов методом ИКСИ ( $p = 0,0015$ ) (табл. 1).

У пациенток с  $ИМТ \geq 23 \text{ кг/м}^2$  отмечалось статистически значимо меньшее число клинических беременностей ( $p = 0,0011$ ) и живорождений ( $p = 0,0106$ ) по сравнению с пациентками с  $ИМТ < 23 \text{ кг/м}^2$  (рис. 1).  $OШ_{кор}$  наступления беременности с учетом числа полученных эмбрионов составило 3,4 (95% ДИ 1,6; 7,2),  $OШ_{кор}$  живорождения – 2,8 (95% ДИ=1,2; 6,4).

При оценке уровня адипокинов было выявлено, что у пациенток с  $ИМТ \geq 23 \text{ кг/м}^2$  по сравнению с пациентками с  $ИМТ < 23 \text{ кг/м}^2$  наблюдалось значимо более высокое содержание в крови лептина ( $21,9 \pm 10,5 \text{ нг/мл}$  против  $7,1 \pm 5,6 \text{ нг/мл}$ ) на фоне снижения уровня адипонектина ( $9,7 \pm 5,3 \text{ мкг/мл}$  против  $14,3 \pm 6,6 \text{ мкг/мл}$ )

Таблица 1. Характеристики пациенток, включенных в исследование

Показатели	Группа 1 (n=106)	Группа 2 (n=41)	p-уровень
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	29,7±5,1	20,9±1,3	<0,0001*
Курение, %	6 (14,6%)	2 (1,9%)	0,0022*
Продолжительность бесплодия (лет)	6,2±3,7	4,4±3,3	0,0078*
Среднее число ооцитов	5,9±3,8	7,9±3,7	0,0047*
Среднее число зрелых ооцитов	5,2±3,6	6,9±3,4	0,0069*
ИКСИ, %	62 (58,5%)	12 (29,3%)	0,0015**
Среднее число зигот	4,5±3,1	5,9±3,1	0,0151*
Среднее число blastocysts	3,3±3,5	3,9±3,9	0,3206*

\* t-тест: данные представлены как средние ± стандартное отклонение;

\*\* $\chi^2$ -тест: данные представлены как абсолютные значения и %.

(рис. 2А). Также уровень лептина был выше у пациенток, у которых в ходе проведения ЭКО беременность не наступила (рис. 2Б).

Нами были найдены пороговые значения уровня лептина и адипонектина, ниже и выше которых, соответственно, шансы наступления беременности, а также достоверность модели и площадь под кривой (AUC) были максимальными. При проведении ROC-анализа пороговыми значениями стали уровень лептина  $>18$  нг/мл (AUC=0,600), уровень адипонектина  $\leq 7$  мкг/мл (AUC=0,586).

Среди пациенток, родивших живых детей ( $n=33$ ), значимо чаще отмечалось наличие генотипа AA гена *LEP* с.-2548 (2453) G>A (ОШ=3,0; 95% ДИ=1,3; 7,3), реже – наличие генотипа AA и чаще – генотипа GG гена *LEPR* с.476 (511) A>G (ОШ=2,1; 95% ДИ=1,1; 3,9) (рис. 3).

При оценке уровней адипокинов в зависимости от выявленного полиморфизма генов, более высокий уровень адипонектина и более низкий, хотя и не статистически значимый, уровень лептина отмечался у

пациенток, имеющих генотип GG гена *LEPR* с.476 (511) A>G (табл. 2).

Таким образом, в однофакторном анализе был выявлен ключевой полиморфизм, определяющий эффективность программ ВРТ в зависимости от уровня адипокинов. **Генотип GG гена *LEPR* с.476 (511) A>G** был ассоциирован с более низким уровнем лептина и высоким уровнем адипонектина, а также с большей вероятностью живорождения в программах ВРТ. Таким образом, данный генотип играет защитную роль в обмене адипокинов, а также ассоциирован с позитивными исходами программ ВРТ. Мы проанализировали влияние генотипа GG гена *LEPR* с.476 (511) A>G на исходы программ ВРТ в зависимости от ИМТ, уровня лептина и адипонектина. Данные по оценке сочетанного влияния концентрации ИМТ и SNP гена *LEPR* с.476 (511) A>G на исходы программ ВРТ представлены в табл. 3. Для данного анализа проводился регрессионный скорректированный анализ с учетом уровня лептина и адипонектина. Вероятность живорождения значимо повышалась при понижении ИМТ и уровня лептина. Сочетанный показатель *GG LEPR* с.476\*ИМТ\*Лептин значимо влиял на вероятность живорождения.

## Обсуждение

Ожирение и избыточная масса тела играют важную роль в генезе репродуктивных нарушений, повышая риск бесплодия, неудач ЭКО и неблагоприятных исходов беременности [2–11, 28]. Анализ большой когорты женщин показал, что фертильность значимо снижается при ИМТ  $>23,9$  кг/м<sup>2</sup> [11]. В нашем исследовании пороговым ИМТ, ниже которого вероятность наступления беременности в программах ЭКО была максимальной, был 23 кг/м<sup>2</sup>. При ИМТ  $\geq 23$  кг/м<sup>2</sup> шансы наступления беременности были в 3,4 раза ниже (95% ДИ 1,6; 7,2) по сравнению с ИМТ  $<23$  кг/м<sup>2</sup>, живорождения – в 2,8 раза ниже (95% ДИ=1,2; 6,4). Также у пациенток с более высоким ИМТ в программах ВРТ было



**Таблица 2. Уровень лептина и адипонектина в зависимости от полиморфизма генов, регулирующих уровень адипокинов**

Показатели	Лептин, нг/мл*	Адипонектин, мкг/мл*
<b><i>LEP</i> с.-2548 (2453) G&gt;A</b>		
Генотип GG $n=44$	19,5 $\pm$ 11,3	10,6 $\pm$ 6,4
Генотип GA $n=71$	17,4 $\pm$ 12,1	11,1 $\pm$ 5,5
Генотип AA $n=30$	16,9 $\pm$ 10,5	10,7 $\pm$ 6,7
$p$ -уровень*	0,8472	0,8844
<b><i>LEPR</i> с.818 A&gt;G</b>		
Генотип AA $n=33$	18,5 $\pm$ 12,7	12,9 $\pm$ 5,8
Генотип AG $n=75$	18,6 $\pm$ 10,0	10,0 $\pm$ 5,9
Генотип GG $n=37$	16,1 $\pm$ 9,8	10,9 $\pm$ 5,9
$p$ -уровень*	0,5119	0,0780
<b><i>LEPR</i> с.476 (511) A&gt;G</b>		
Генотип AA $n=65$	18,1 $\pm$ 11,7	10,1 $\pm$ 6,4
Генотип AG $n=68$	18,0 $\pm$ 11,6	9,5 $\pm$ 4,8
Генотип GG $n=12$	16,7 $\pm$ 10,5	12,3 $\pm$ 7,9
$p$ -уровень*	0,9215	0,0296/0,0738

\*данные представлены как средние  $\pm$  стандартное отклонение, ANOVA.

Рис. 2. Коробочный график, отражающий средний уровень лептина (нг/мл) и адипонектина (мкг/мл) у пациенток в зависимости от ИМТ (А) и исходов программ ВРТ (Б)

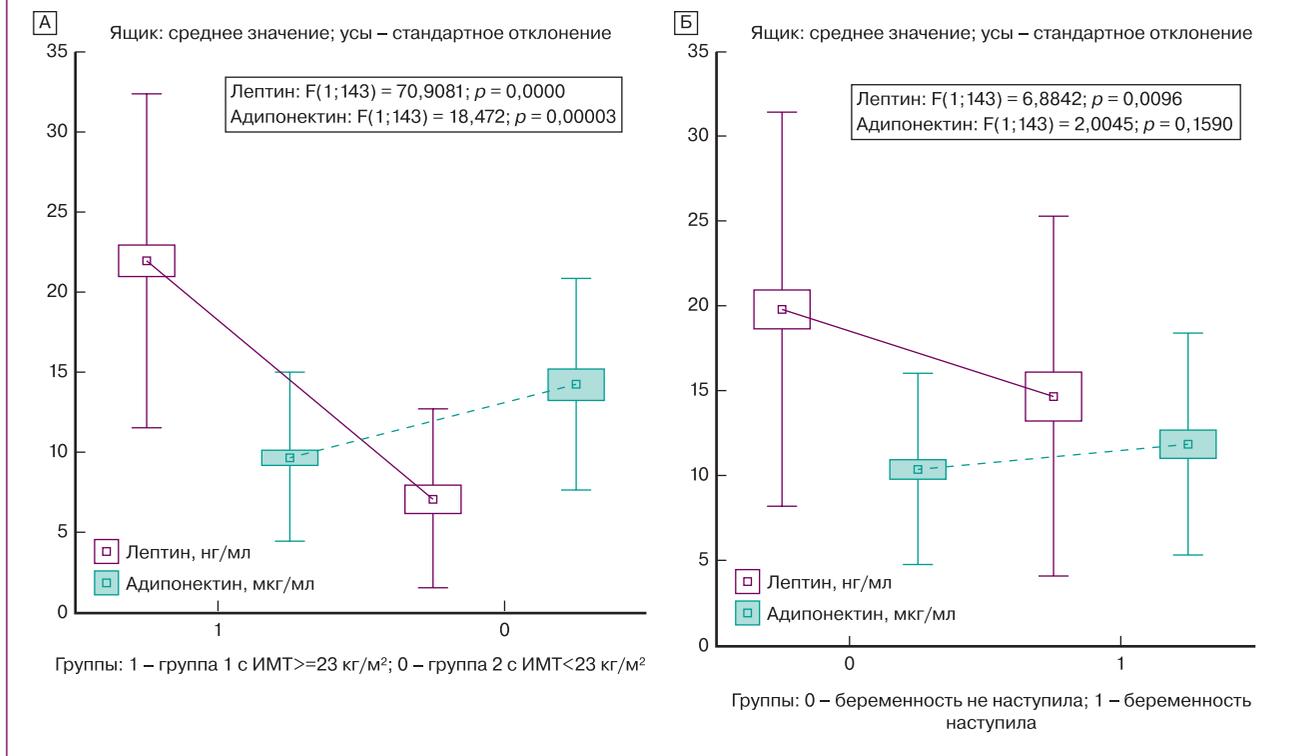
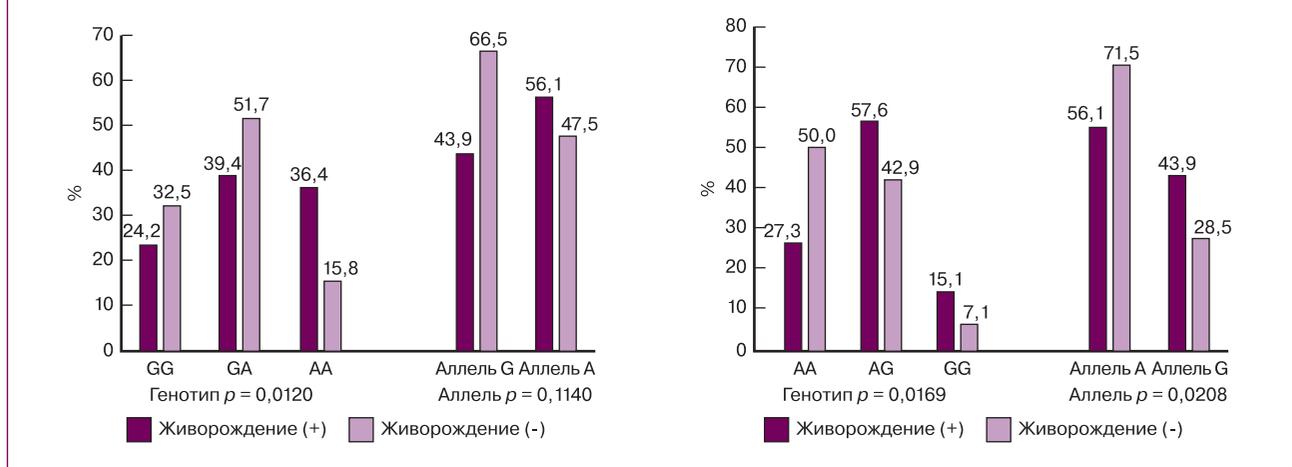


Рис. 3. Ассоциация полиморфизма генов LEP с.-2548 (2453) G>A (генотип AA) (А) и LEPR с.476 (511) A>G (генотип AA и GG) (Б) с живорождением в программах ВРТ



получено меньше ооцитов и зигот, что согласуется с данными других авторов. На фоне избыточной массы тела и ожирения происходит нарушение стероидогенеза в яичниках, развивается инсулинорезистентность, увеличивается периферическая ароматизация андрогенов в эстрогены, что приводит к нарушению фолликуло- и оогенеза [10, 28].

Одной из причин нарушения репродуктивной функции у женщин с избыточной массой тела является нарушение секреции адипокинов [10, 29]. Адипокины – это цитокины, секретируемые преимущественно адипоцитами. К ним относятся лептин и адипонектин, а также неспецифические

для жировой ткани адипокины: фактор некроза опухолей- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), интерлейкин-6 (IL-6) и другие. Нарушение обмена адипокинов приводит к воспалению и аномальной клеточной сигнализации, и как следствие, к нарушению метаболизма и функции клеток [12–19]. Было показано, что у людей с ожирением такие адипокины, как лептин, TNF- $\alpha$  и IL-6 увеличиваются, а «полезные адипокины», такие как адипонектин, снижаются из-за дисфункции жировой ткани [14, 15, 18, 19, 30]. В нашем исследовании у пациенток с ИМТ  $\geq 23$  кг/м<sup>2</sup> по сравнению с пациентками с ИМТ  $< 23$  кг/м<sup>2</sup> наблюдалось значительно более высокое содержание в крови

**Таблица 3. Результаты регрессионного анализа сочетанного влияния ИМТ (кг/м<sup>2</sup>), уровня лептина (нг/мл), адипонектина (мкг/мл) и генотипа GG гена *LEPR* с.476 (511) A>G на вероятность живорождения в программах ВРТ**

Модель*	ОШ*	p-уровень*
GG <i>LEPR</i>	2,6 [1,1; 6,2]	0,0169
<b>Модель 1: связь с ИМТ</b>		
ИМТ ≥ 23 кг/м <sup>2</sup>	2,8 [1,2; 6,4]	0,0124
сочетанный показатель GG <i>LEPR</i> *ИМТ	2,3 [1,4; 4,1]	0,0020
<b>Модель 2: связь с уровнем лептина</b>		
Уровень лептина >18,5 нг/мл	2,7 [1,2; 6,4]	0,0191
сочетанный показатель GG <i>LEPR</i> *Лептин	2,2 [1,2; 4,1]	0,0110
<b>Модель 3: связь с уровнем адипонектина</b>		
Уровень адипонектина >9,7 мкг/мл	0,3 [0,1; 0,9]	0,0409
сочетанный показатель GG <i>LEPR</i> *Адипонектин	0,8 [0,5; 1,4]	0,5990
<b>Модель 4: связь с ИМТ и уровнем лептина</b>		
сочетанный показатель GG <i>LEPR</i> *ИМТ*Лептин	2,1 [1,2; 3,9]	0,0150

\* – ОШ (95% ДИ) логистическая регрессия.

лептина на фоне снижения уровня адипонектина, что согласуется с литературными данными.

Лептин оказывает стимулирующее действие на гипоталамо-гипофизарную ось вследствие инициации сигнала для созревания гипоталамуса. Он ингибирует инсулин-индуцированный стероидогенез в яичниках, воздействуя на тека- и гранулезные клеточные рецепторы, ингибирует ЛГ-зависимый синтез эстрадиола в гранулезных клетках. Еще одним эффектом лептина на репродуктивную функцию является регуляция раннего эмбриогенеза [12]. Адипонектин стимулирует усвоение глюкозы в печени и мышцах, блокирует глюконеогенез в печени, влияет на синтез липидов, энергетический гомеостаз и вазодилатацию, снижает накопление триглицеридов и повышает чувствительность к инсулину [15, 18, 19]. При снижении адипонектина у женщин с ожирением уровень инсулина в плазме крови увеличивается, что приводит к гиперандрогении.

Повышение уровня лептина приводит к нарушению фолликуло- и оогенеза, к дефектам развития эндометрия, а также дефектам имплантации и раннего эмбриогенеза, которые негативно влияют на женскую фертильность [13, 14]. В нашем исследовании уровень лептина был выше у пациенток, у которых беременность в программе ВРТ не наступила, что подтверждает негативное влияние лептина на репродуктивную функцию. Нами также были установлены пороговые значения лептина и адипонектина, выше и ниже которых шансы наступления беременности были максимальными (≤18 нг/мл для лептина и >7 мкг/мл для адипонектина).

Уровень в крови как лептина, так и адипонектина может зависеть от состояния генов-регуляторов адипокинов. Ген лептина (*LEP*) человека экспрессируется в белой жировой ткани, желудке и плаценте. Мутации гена *LEP* изменяют секрецию гормона лептина, что вызывает наследственное ожирение. Ген рецептора лептина (*LEPR*) кодирует трансмембранный рецептор, через который ген лептина (*LEP*) регулирует массу жировой ткани и расходы энергии. Рецепторы лептина присутствуют

не только в жировой ткани, но и в других органах и тканях (гипоталамусе, печени, скелетной мускулатуре, поджелудочной железе, яичниках, плаценте, почках, легких). Точечные мутации в гене *LEPR*: 818(853) A>G и 476 (511) A>G приводят к нарушению сплайсинга и блокируют экспрессию длинной формы рецептора. При таких заменах в гене нарушается синтез рецептора и проведение гормонального сигнала. Единичная точечная замена Gln223Arg или Lys109Arg приводит к аминокислотной замене и, как следствие, к изменению функциональных особенностей рецептора.

Существуют данные по связи SNP гена *LEP*: -2548 (2453) G>A с повышением уровня лептина и риска ожирения. Так, по данным Hoffstedt и соавт. (2002), носители генотипа AA имели уровень сывороточного лептина выше чем, носители генотипов GA/GG. Секреция лептина жировой тканью при генотипе AA увеличивалась в 2 раза, а уровень лептиновой мРНК был на 60% выше. Таким образом, полиморфизм (-2548G>A) гена лептина на транскрипционном уровне влияет на экспрессию лептина [20]. В исследовании EPIC-Heidelberg (2002) была обнаружена роль гомозиготного генотипа гена *LEP*: -2548 AA в развитии ожирения. Полиморфизм коррелировал с уровнем сывороточного лептина и лептиновой мРНК [22]. Также ассоциация полиморфизма с уровнем лептина и ожирением была показана и в других исследованиях [23]. Существуют также данные по связи SNP гена *LEPR*: 818(853) A>G с повышенным уровнем лептина. В исследовании O. Ukkola и соавт. (2000) было выявлено, что генотип AA *LEPR*: 818(853) A>G был связан с повышенным содержанием лептина в плазме и не был связан с повышением ИМТ [21]. В нашем исследовании не было выявлено связи SNP гена *LEP* -2548 G>A и *LEPR*: 818(853) A>G с уровнем адипокинов и массой тела. Однако был отмечен более высокий уровень адипонектина и более низкий, хотя и не статистически значимый, уровень лептина у пациенток, имеющих генотип GG гена *LEPR* с.476 (511) A>G. Мы не нашли данных литературы по связи данного SNP с уровнем адипокинов.

Существуют данные по связи SNP генов LEP и LEPR с негативными исходами беременности и репродуктивными нарушениями. Так, в исследовании J.A. Vaskú и соавт. (2006) было выявлено, что наличие аллеля А (генотипы АА и АG) гена LEP: -2548 (2453) повышало риск развития гестационного сахарного диабета в 2,8 раза. Также генотип АА увеличивал риск самопроизвольного аборта в 2 раза [25]. В работе J. Rigó и соавт. (2006) генотипы АG или GG LEPR 818(853) А>G увеличивали риск развития преэклампсии в 2 раза [26]. В нашем исследовании у пациенток, родивших живых детей, значимо чаще отмечалось наличие генотипа АА гена LEP с.-2548 (2453) G>A, что не согласуется с имеющимися литературными данными. SNP гена LEPR 818(853) А>G не оказывал влияния на наступление беременности и живорождение в нашем исследовании. Также у пациенток, родивших живых детей, в 2,1 раза реже отмечалось наличие генотипа АА и чаще – генотипа GG гена LEPR с.476 (511) А>G. Мы не нашли данных литературы по связи данного гена с репродуктивными нарушениями и исходами беременности.

### Заключение

Таким образом, в нашем исследовании единственным SNP, определяющим эффективность программ ВРТ в зависимости от уровня адипокинов, был генотип GG гена LEPR с.476 (511) А>G, который был ассоциирован с более низким уровнем лептина и высоким уровнем адипонектина, а также с большей вероятностью живорождения в программах ВРТ. Таким образом, данный генотип играет защитную роль в обмене адипокинов, а также ассоциирован с позитивными исходами программ ВРТ. При проведении регрессионного скорректированного анализа вероятность живорождения повышалась в 2,1 раза при понижении ИМТ и уровня лептина при наличии генотипа GG гена LEPR с.476 (511) А>G.

### Литература/References

- World Health Organization. Preventing and managing the global epidemic. Report of the World Health Organization on obesity. Geneva: World Health Organization; 1997.
- Fedorcsák P., Storeng R., Dale P.O., Tanbo T., Abyholm T. Obesity is associated with early pregnancy loss after IVF or ICSI. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2000; 79(1): 43-8.
- Parihar M. Obesity and infertility. Rev. Gynaecol. Pract. 2003; 3(3): 120-6.
- Raatikainen K., Heiskanen N., Heinonen S. Transition from overweight to obesity worsens pregnancy outcome in a BMI dependant manner. Obesity (Silver Spring). 2006; 14(1): 165-71.
- Maheshwari A., Stofberg L., Bhattacharya S. Effect of overweight and obesity on assisted reproductive technology - a systematic review. Hum. Reprod. Update. 2007;13(5): 433-44.
- Brewer C.J., Balen A.H. The adverse effects of obesity on conception and implantation. Reproduction. 2010; 140(3): 347-64.
- Luke B., Brown M.B., Stern J.E., Missmer S.A., Fujimoto Y.Y., Leach R. Female obesity adversely affects assisted reproductive technology (ART) pregnancy and live birth rates. Hum. Reprod. 2011; 26(1): 245-52.

- Jungheim E.S., Travieso J.L., Carson K.R., Moley K.H. Obesity and reproductive functions. Obstet. Gynecol. Clin. North Am. 2012; 39(4): 479-93.
- Kumbak B., Oral E., Bukulmez O. Female obesity and assisted reproductive technologies. Semin. Reprod. Med. 2012; 30(6): 507-16.
- Dağ Z.Ö., Dilbaz B. Impact of obesity on infertility in women. J. Turk. Ger. Gynecol. Assoc. 2015; 16(2): 111-7.
- Hassan M.A., Killick S.R. Negative lifestyle is associated with a significant reduction in fecundity. Fertil. Steril. 2004; 81(2): 384-92.
- Ghizzoni L., Barreca A., Mastorakos G., Furlini M., Vottero A., Ferrari B. et al. Leptin inhibits steroid biosynthesis by human granulosa-lutein cells. Horm. Metab. Res. 2001; 33(6): 323-6.
- Mircea C.N., Lujan M.E., Pierson R.A. Metabolic fuel and clinical implications for female reproduction. J. Obstet. Gynaecol. Can. 2007; 29(11): 887-902.
- Tong Q., Xu Y. Central leptin regulation of obesity and fertility. Curr. Obes. Rep. 2012; 1(4): 236-44.
- Gil-Campos M., Cañete R.R., Gil A. Adiponectin, the missing link in insulin resistance and obesity. Clin. Nutr. 2004; 23(5): 963-74.
- Gambino Y.P., Maymó J.L., Pérez Pérez A., Calvo J.C., Sánchez-Margalet V., Varone C.L. Elsevier Trophoblast Research Award Lecture: Molecular mechanisms underlying estrogen functions in trophoblasts cells – focus on leptin expression. Placenta. 2012; 33(Suppl.): S63-70.
- Moschos S., Chan J.L., Mantzoros C.S. Leptin and reproduction: a review. Fertil. Steril. 2002; 77(3): 433-44.
- Kadowaki T., Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. Endocr. Rev. 2005; 26(3): 439-51.
- Lee B., Shao J. Adiponectin and energy homeostasis. Rev. Endocr. Metab. Disord. 2014; 15(2): 149-56.
- Hoffstedt J., Eriksson P., Mottagui-Tabar S., Arner P. A polymorphism in the leptin promoter region (-2548 G/A) influences gene expression and adipose tissue secretion of leptin. Horm. Metab. Res. 2002; 34(7): 355-9.
- Ukkola O., Tremblay A., Després J.P., Chagnon Y.C., Campfield L.A., Bouchard C. Leptin receptor Gln223Arg variant is associated with a cluster of metabolic abnormalities in response to long-term overfeeding. J. Intern. Med. 2000; 248(5): 435-9.
- Nieters A., Becker N., Linseisen J. Polymorphisms in candidate obesity genes and their interaction with dietary intake of n-6 polyunsaturated fatty acids affect obesity risk in a sub-sample of the EPIC-Heidelberg cohort. Eur. J. Nutr. 2002; 41(5): 210-21.
- Mammès O., Betoulle D., Aubert R., Herbeth B., Siest G., Fumeron F. Association of the G-2548A polymorphism in the 5' region of the LEP gene with overweight. Ann. Hum. Genet. 2000; 64(Pt 5): 391-4.
- Beate K., Joseph N., Nicolas de R., Wolfram K. Genetics of isolated hypogonadotropic hypogonadism: role of GnRH receptor and other genes. Int. J. Endocrinol. 2012; 2012: 147893.
- Vaskú J.A., Vaskú A., Dostálová Z., Bienert P. Association of leptin genetic polymorphism -2548 G/A with gestational diabetes mellitus. Genes Nutr. 2006; 1(2): 117-23.
- Rigó J., Szendei G., Rosta K., Fekete A., Bögi K., Molvarec A. et al. Leptin receptor gene polymorphisms in severely pre-eclamptic women. Gynecol. Endocrinol. 2006; 22(9): 521-5.
- Приказ МЗ РФ №107н от 30 августа 2012 г. „О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению” (с изменениями и дополнениями). [Order of the RF Ministry of Health №107n on August 30, 2012 „On the procedure for the use of assisted reproductive technologies, contraindications and limitations to their use” (as amended). (in Russian)]
- Горшинова В.К., Десяткова Н.В., Беляева Н.А., Смольникова В.Ю., Калинина Е.А. Влияние ожирения на исходы лечения в программе ЭКО, ретроспективное исследование за 2013 г. Акушерство и гинекология. 2015;

- 6: 79-83. [Gorshinova V.K., Desyatkov N.V., Belyaeva N.A., Smolnikova V.Yu., Kalinina E.A. Impact of obesity on treatment outcomes in an in vitro fertilization program: Retrospective study in 2013. *Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology*. 2015; (6): 79-83. (in Russian)]
29. *Передереева Е.В., Лушникова А.А., Фрыкин А.Д., Пароконная А.А.* Гормон лептин и проблемы репродукции. Злокачественные опухоли. 2012; 2(1): 35-9. [Peredereeva E.V., Lushnikova A.A., Fryikin A.D., Parokonnaya A.A. The hormone leptin and reproduction problems. *Zlokachestvennyie opuholi*. 2012; 2(1): 35-9. (in Russian)]
30. *Парфенова Н.С., Тянявский Д.А.* Адипонектин: благоприятное воздействие на метаболические и сердечно-сосудистые нарушения. Артериальная гипертензия. 2013; 19(1): 84-96. [Parfenova N.S., Tanyavskiy D.A. Adiponectin: a beneficial effect on metabolic and cardiovascular disorders. *Arterialnaya gipertenziya*. 2013; 19(1): 84-96. (in Russian)]

Поступила 01.11.2016

Принята в печать 11.11.2016

Received 01.11.2016

Accepted 11.11.2016

**Сведения об авторах:**

*Долгушина Наталья Витальевна*, д.м.н., руководитель службы научно-организационного обеспечения ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. E-mail: n\_dolgushina@oparina4.ru

*Донников Андрей Евгеньевич*, к.м.н., зав. лабораторией молекулярно-генетических методов ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. E-mail: a\_donnikov@oparina4.ru

*Высоких Михаил Юрьевич*, к.б.н., зав. лабораторией митохондриальной медицины, ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. E-mail: m\_vysokikh@oparina4.ru

*Десяткова Нина Владимировна*, аспирант отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия, ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. E-mail: nineks@mail.ru

*Суханова Юлия Алексеевна*, м.н.с. лаборатории митохондриальной медицины ФГБУ НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. E-mail: suhanova\_julia@hotmail.com

*Долгушин Олег Анатольевич*, к.м.н., зав. 18-го кардиологического отделения кардиологического центра ФГБУ 3-й Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневого Минобороны России. Адрес: 143421, Россия, Московская обл., Красногорский р-н, п/о Архангельское, пос. Новый. E-mail: dolgushin70@mail.ru

*Пархоменко Алена Александровна*, студентка 6-го курса факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова. Адрес: 119192, Россия, Москва, ул. Ломоносовский проспект, д. 31, к. 5. E-mail: parmik243542@yandex.ru

**About the authors:**

*Dolgushina Nataliya Vitalievna*, M.D., Ph.D., M.P.H., Head of R&D Department, Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str. 4. E-mail: n\_dolgushina@oparina4.ru

*Donnikov Andrey Evgenievich*, M.D., Ph.D., Head of Molecular-Genetic Laboratory, Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str. 4. E-mail: a\_donnikov@oparina4.ru

*Vysokikh Mikhail Yurievich*, PhD, Head of mitochondrial medicine research group, Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str. 4. E-mail: m\_vysokikh@oparina4.ru

*Desiatkova Nina Vladimirovna*, Post-graduate student, Department of assistive technologies in infertility treatment, Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str. 4. E-mail: nineks@mail.ru

*Suhanova Yuliya Alexeevna*, researcher, mitochondrial medicine research group, Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str. 4. E-mail: suhanova\_julia@hotmail.com

*Dolgushin Oleg Anatolievich*, MD, PhD, Head of 18th Cardiological Department, A.A. Vishnevsky Central Military Clinical Hospital. 143421, Russia, Moskovskaya Oblast', Krasnogorsk region, Archangelskoe, settlement Noviy. E-mail: dolgushin70@mail.ru

*Parhomenko Alena Alexandrovna*, Undergraduate of the Faculty of Fundamental Medicine of Lomonosov Moscow State University. 117192, Russia, Moscow, Lomonosovsky Prospekt 31-5. E-mail: parmik243542@yandex.ru