

АССОЦИАЦИЯ ВАРИАНТОВ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА *ADIPOQ* С ПЛАЗМЕННЫМ УРОВНЕМ АДИПОНЕКТИНА, СТЕПЕНЬЮ ВЫРАЖЕННОСТИ КОРОНАРНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА И ЧАСТОТОЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Сметнев С. А., Мешков А. Н., Климушина М. В., Гаврилова Н. Е., Ершова А. И., Киселева А. В., Метельская В. А., Драпкина О. М.

Цель. Поиск генетических маркеров гена *ADIPOQ*, ассоциированных с уровнем адипонектина и развитием коронарного атеросклероза.

Материал и методы. В исследование включались пациенты, которым была проведена диагностическая коронароангиография в 2011-2012 гг. в ФГБУ НМИЦ ПМ Минздрава России с оценкой степени выраженности коронарного атеросклероза. Уровень адипонектина определяли в плазме крови с применением тест-системы на основе иммуноферментного анализа (BioVendor, Чехия). Генетические варианты rs17300539, rs182052 и rs266729 гена *ADIPOQ* определялись методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (Applied Biosystems, 7500 Real Time PCR System). Аллели исследуемых вариантов суммировались в единой шкале генетического риска (ШГР).

Результаты. В исследование было включено 447 пациентов, из них 319 мужчин (70,7%). Медиана возраста составляла 61 [55-69] год. Все пациенты были разделены на 2 группы по значению ШГР (≤ 2 и > 2 , соответственно). Группы различались по уровню адипонектина 7,64 против 8,29 мкг/мл ($p=0,01$), общего холестерина 4,60 против 5,00 ммоль/л ($p=0,03$), холестерина липопротеинов низкой плотности 2,8 против 3,09 ммоль/л ($p=0,03$), а также частоте развития нестабильной стенокардии 2,15% против 6,8% ($p=0,02$) и сахарного диабета 2 типа 11,8% против 21,1% ($p=0,01$), соответственно. Различий между группами по выраженности коронарного атеросклероза и показателям Syntax и Gensini score получено не было.

Заключение. Генетическая шкала на основе трех вариантов гена *ADIPOQ* определяет плазменный уровень адипонектина и риск наличия нестабильной стенокардии и сахарного диабета, но не степень выраженности коронарного атеросклероза.

Российский кардиологический журнал. 2018;23(8):25–31

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2018-8-25-31>

Ключевые слова: адипонектин, коронарный атеросклероз, ген *ADIPOQ*, генетические маркеры, шкала генетического риска, SCORE.

Конфликт интересов: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-315-00272.

ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр профилактической медицины Минздрава России, Москва, Россия.

Сметнев С. А.* — лаборант-исследователь лаборатории молекулярной генетики, ORCID: 0000-0002-8493-4761, Мешков А. Н. — к.м.н., руководитель лаборатории молекулярной генетики, ORCID: 0000-0001-5989-6233, Климушина М. В. — к.б.н., с.н.с. отдела изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0002-7876-9325, Гаврилова Н. Е. — д.м.н., главный врач, с.н.с. отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики, ORCID: 0000-0001-8963-5325, Ершова А. И. — к.м.н., с.н.с. лаборатории молекулярной генетики, ORCID: 0000-0001-7989-0760, Киселева А. В. — к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной генетики, ORCID: 0000-0003-4765-8021, Метельская В. А. — д.б.н., профессор, руководитель отдела изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0001-8665-9129, Драпкина О. М. — член-корр. РАН, д.м.н., профессор, директор, ORCID: 0000-0002-4453-8430.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): stefancom@mail.ru

IL-1 — интерлейкин-1, IL-6 — интерлейкин-6, TNF- α — фактор некроза опухоли альфа, ВНП — вариант нуклеотидной последовательности, ИМТ — индекс массы тела, КАГ — коронароангиография, СД — сахарный диабет, ХС-ЛНП — холестерин липопротеидов низкой плотности, ШГР — шкала генетического риска.

Рукопись получена 14.06.2018

Рецензия получена 02.07.2018

Принята к публикации 12.07.2018

ASSOCIATION OF THE VARIANTS OF NUCLEOTIDE SEQUENCE OF THE GENE *ADIPOQ* WITH PLASMATIC LEVEL OF ADIPONECTIN, THE GRADE OF CORONARY ATHEROSCLEROSIS SEVERITY AND RATE OF CARDIOVASCULAR DISEASES

Smetnev S. A., Meshkov A. N., Klimushina M. V., Gavrilova N. E., Ershova A. I., Kiseleva A. V., Metelskaya V. A., Drapkina O. M.

Aim. The search for genetic markers of *ADIPOQ*, associated with the level of adiponectin and development of coronary atherosclerosis.

Material and methods. To the study, patients included, who had undergone diagnostic coronary arteriography in 2011-2012 in the NMRCPM with assessment of the severity of coronary atherosclerosis. The level of adiponectin was measured in plasma with the test-system based on the immune enzyme analysis. Genetic variants rs17300539, rs182052 and rs266729 gene *ADIPOQ* were measured real-time (Applied Biosystems, 7500 Real Time PCR System). Alleles of the studied variants were summarized by a unified score of genetic risk (SGR).

Results. To the study, 447 patients included, of those 319 males (70,7%). Median of age was 61 [55-69] y.o. All patients were selected to 2 groups by SGR (≤ 2 and > 2 , respectively). Groups differed by the level of adiponectin 7,64 vs 8,29 mcg/mL ($p=0,01$), total cholesterol 4,60 vs 5,00 mM/L ($p=0,03$), cholesterol of low density lipoproteides 2,8 vs 3,09 mM/L ($p=0,03$), and the rate of unstable angina development 2,15% vs 6,8% ($p=0,02$) and type 2 diabetes 11,8% vs 21,1% ($p=0,01$), respectively. There was no difference in the groups by Syntax and Gensini score.

Conclusion. Genetic score based on the three variants of *ADIPOQ* does determine the plasmatic level of adiponectin and risk of unstable angina and diabetes, but not the grade of coronary atherosclerosis.

Russ J Cardiol. 2018;23(8):25–31

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2018-8-25-31>

Key words: adiponectin, coronary atherosclerosis, gene *ADIPOQ*, genetic markers, scale of genetic risk, SCORE.

Conflicts of Interest: supported by Russian Foundation for Fundamental Research, № 18-315-00272.

National Medical Research Center of Preventive Medicine, Moscow, Russia.

Smetnev S. A. ORCID: 0000-0002-8493-4761, Meshkov A. N. ORCID: 0000-0001-5989-6233, Klimushina M. V. ORCID: 0000-0002-7876-9325, Gavrilova N. E. ORCID: 0000-0001-8963-5325, Ershova A. I. ORCID: 0000-0001-7989-0760, Kiseleva A. V. ORCID: 0000-0003-4765-8021, Metelskaya V. A. ORCID: 0000-0001-8665-9129, Drapkina O. M. ORCID: 0000-0002-4453-8430.

Коронарный атеросклероз и его осложнения продолжают оставаться основной причиной смерти в РФ. Применяемые в настоящее время системы стратификации риска в ряде случаев могут занижать риск пациентов, в виду небольшого числа используемых критериев оценки. Поэтому продолжает оставаться актуальным поиск новых маркеров риска развития атеросклероза и его осложнений. В настоящее время внимание исследователей направлено на изучение роли регуляторных пептидов, в частности адипонектина, в развитии коронарного атеросклероза. Показано, что регуляторные пептиды коррелируют с распространенностью атеросклероза у пациентов, влияют на физиологические и воспалительные процессы в сосудистой стенке [1, 2]. Адипонектин — это гормон, регулирующий уровень глюкозы и окисление жирных кислот, который способен оказывать влияние на энергетический гомеостаз, имеет противовоспалительный и антиатерогенный эффекты и косвенно может влиять на активность провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли-альфа (TNF- α) с приоритетом на его снижение, учитывая тот факт, что его повышенный уровень ведет к гипергликемии и инсулинорезистентности [3]. Гормон локализуется в висцеральной жировой ткани. Жировая ткань является источником не только специфических пептидных гормонов, таких как адипонектин, но также и источником провоспалительных медиаторов (TNF- α , IL-1, IL-6 и др.), секретируемых макрофагами. Все это способствует развитию инсулинорезистентности и, в конечном итоге, сахарного диабета (СД) 2 типа [4]. Помимо всего прочего, инсулинорезистентность оказывает влияние на состояние эндотелия сосудов, что также является важным механизмом атеросклероза.

Не менее важную роль в развитии атеросклероза и его осложнений играет наследственная предрасположенность. Показан вклад как частых, так и редких вариантов нуклеотидной последовательности (ВНП) генов, связанных с обменом липопротеинов плазмы крови, регуляцией артериального давления (АД), воспалением и т.д. в развитии атеросклероза [5, 6]. Уровень адипонектина также во многом зависит от генетических особенностей пациента, вклад наследственности оценивается от 30 до 50% [7]. В проекте UK10K Consortium была показана ассоциация гипертриглицеридемии с редкими вариантами гена *ADIPOQ*, а учитывая связь гипертриглицеридемии с развитием атеросклероза, можно предполагать и влияние вариантов гена *ADIPOQ* на его развитие [8, 9]. Также показана ассоциация ряда ВНП гена *ADIPOQ* с уровнем адипонектина [7, 10-13] и со степенью выраженности атеросклероза [14]. В то же время, имеются данные о различном влиянии одних и тех же ВНП в разных популяциях на уровень адипонектина в крови и развитие СД [7, 12, 15-17].

Учитывая, что исследований ассоциации уровня адипонектина с атеросклерозом и СД по РФ не проводилось, а также отсутствие работ, где была бы показана связь уровня адипонектина крови с ВНП гена *ADIPOQ*, целью данной работы являлся поиск вариантов гена *ADIPOQ*, ассоциированных с уровнем адипонектина и развитием коронарного атеросклероза и его осложнений в российской популяции.

Материал и методы

В исследование включались пациенты, которые были госпитализированы в ФГБУ “НМИЦ ПМ” Минздрава России за период с 12.05.2011 по 03.06.2012гг и которым была проведена диагностическая коронароангиография (КАГ). Показаниями к КАГ являлись: положительная проба с физической нагрузкой, положительная стресс-эхокардиография, нарушения ритма сердца, наличие стенокардии напряжения, наличие патологических изменений на электрокардиограмме с невозможностью выполнять физические упражнения или высокий индекс Дюка. Критериями исключения были: перенесенное менее 6 месяцев назад острое клиническое осложнение атеросклероза; любое острое воспалительное заболевание; хроническая болезнь почек III и более стадии (скорость клубочковой фильтрации <60 мл/мин/1,73 м²); СД обоих типов в стадии декомпенсации (уровень гликированного гемоглобина $>11\%$ или уровень глюкозы в течение суток $\geq 11,0$ ммоль/л); фракция выброса левого желудочка $<40\%$; онкологические заболевания; заболевания крови и иммунной системы, беременность или период лактации. Более подробно включение пациентов, а также материалы и методы отбора пациентов рассмотрены в ранее опубликованных работах [18, 19].

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской Декларации. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

При включении в исследование измеряли рост и вес пациентов, рассчитывали индекс массы тела (ИМТ) по формуле: вес (кг)/рост (м²). Массу тела измеряли с точностью до 0,1 кг, рост — с точностью до 0,5 см. При ИМТ ≥ 30 кг/м² диагностировали ожирение. АД измеряли на правой руке в положении пациента сидя после 5-10-минутного отдыха 2 раза через 5 мин, в анализ включали среднее двух измерений; частоту сердечных сокращений измеряли в течение 60 сек в положении пациента сидя после отдыха. Пробу с физической нагрузкой проводили на тредмиле на аппарате Schiller Cardiovit (Швейцария) пациентам с синусовым ритмом на электрокардиограмме по протоколу, разработанному в ФГБУ “НМИЦ ПМ” Минздрава России. Показаниями

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов

Показатели	Общая группа (N=451)
Возраст, (лет)*	61,0 [55,0-69,0]
Мужчины, %	70,73
Вес, (кг)*	84,75 [75,00-95,00]
ИМТ, (кг/м ²)*	28,73 [26,22-32,83]
Объем талии, (см)*	100 [94,00-106,00]
Курение, %	16,41
АГ, %	97,55
СД 2 типа, %	17,29
ОХ, (моль/л)*	4,8 [4,00-5,70]
ХС-ЛПОНП, (ммоль/л)*	0,71 [0,52-0,95]
ХС-ЛНП, (ммоль/л)*	2,96 [2,27-3,87]
ХС-ЛПВП, (ммоль/л)*	0,97 [0,84-1,14]
ТГ, (ммоль/л)*	1,58 [1,14-2,11]
Адипонектин, (мкг/мл ^{×10})*	7,89 [5,64-11,83]
СРБ, (мг/л)*	2,70 [1,20-5,80]
ЛП (а), (мг/дл)*	16,60 [7,45-44,35]
Количество пораженных магистральных артерий*	2,0 [1,0-3,0]
Количество пораженных коронарных артерий, включая ветви 1-2 порядка*	2,5 [1,0-4,0]
SYNTAX Score*	12,00 [5,00-22,00]
GENSINI Score*	34 [8-72]
ИБС, %	41,46
ПИКС, %	41,46
Нестаб, %	4,88
ЧКВ+стентирование, %	15,52
ИБС (ПИКС+нестаб+ЧКВ), %	50,33
Рестеноз после ЧКВ, %	6,87

Примечание: * — данные представлены в виде медианы (25-75 перцентиль).

Сокращения: ИМТ — индекс массы тела, АГ — артериальная гипертензия, СД — сахарный диабет, ОХ — общий холестерин, ХС-ЛПОНП — холестерин липопротеидов очень низкой плотности, ХС-ЛНП — холестерин липопротеидов низкой плотности, ХС-ЛПВП — холестерин липопротеидов высокой плотности, ТГ — триглицериды, СРБ — С-реактивный белок, ЛП (а) — липопротеин (а), ИБС — ишемическая болезнь сердца, ПИКС — постинфарктный кардиосклероз, нестаб — нестабильная стенокардия, ЧКВ — чрескожное вмешательство.

Результаты

Всего в исследование был включен 451 пациент, доля мужчин и женщин составила 70,73% (n=319) и 29,27% (n=132), соответственно. Клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 1. Примерно 98% пациентов имели артериальную гипертонию.

Изучаемые нами ВНП гена *ADIPOQ* были ассоциированы с плазменным уровнем адипонектина и выраженностью коронарного атеросклероза (табл. 2). Так, для rs182052 (G/A (-10066)) в группе пациентов с генотипами GA и AA уровень адипонектина был достоверно ниже, чем в группе пациентов с генотипом GG (7,67 [5,35-10,77] мкг/мл против 8,15 [6,10-12,64] мкг/мл, соответственно, (p=0,027)). Для rs266729 (C/G (-11365)) в группе пациентов с генотипами CC и CG

к проведению тредмил-теста служили рекомендации, составленные рабочей группой экспертов секции хронической ишемической болезни сердца Всероссийского научного общества кардиологов [20]. Всем пациентам была проведена КАГ по методике Judkins (1967г) с использованием, как правило, трансфеморального доступа в условиях рентгеноперационной на ангиографических установках “Philips Integris Allura” и “General Electric Innova 4100”. Для количественной оценки стенозов применяли компьютерную программу установки “General Electric Innova 4100”.

Определение биохимических параметров проводили в сыворотке или плазме крови, полученной стандартными методами из венозной крови, взятой после 12-часового голодания перед проведением КАГ. Уровень адипонектина определяли с помощью иммуноферментного анализа согласно инструкции производителя: (BioVendor, Чехия). Геномную ДНК выделяли с помощью набора QIAamp® DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Германия). Концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре Nano Photometer (IMPLEN, Германия). Для анализа были выбраны 4 ВНП (rs17300539, rs182052, rs266729, rs2241766), которые, как было показано ранее, оказывают влияние на уровень сывороточного адипонектина [7, 12, 13]. Генотипирование ВНП осуществляли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на приборе Applied Biosystems, 7500 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием методики TaqMan. Генотипирование rs17300539, rs182052, rs266729 и rs2241766 осуществляли с помощью наборов фирмы СИНТОЛ (Россия) в соответствии с протоколом фирмы производителя. Аллели трех исследуемых ВНП (rs17300539 G/A (-11391); rs182052 (G/A (-10066)); rs266729(C/G (-11365)) с однонаправленным эффектом объединяли в единую шкалу генетического риска (ШГР) посредством суммирования по формуле:

Суммарный балл ШГР = N (количество) минорного аллеля (rs17300539)*1 + N минорного аллеля (rs182052) + N минорного аллеля (rs266729)*1. Таким образом, минимальное значение ШГР для изучаемой выборки составило 0 баллов, максимальное 6 баллов.

Соответствие частот генотипов ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга оценивали по критерию χ^2 с помощью программы Rodriguez [21]. Статистический анализ результатов проводили с использованием пакетов статистических программ Statistica v.6.0. Данные представлены медианой (M) и 25-75 квартилем распределения (Q 25-75). При сравнении групп по количественному признаку использовали критерий Манна-Уитни. При сравнении групп по качественному признаку использовался критерий χ^2 и точный критерий Фишера (для бинарных признаков). Тестировали рецессивную и доминантную модель для каждого ВНП. Статистически достоверными считали различия при p<0,05.

Таблица 2

Ассоциация ВНП гена *ADIPOQ* с плазменным уровнем адипонектина и атеросклерозом

rs17300539 (<i>ADIPOQ</i>)										
Показатель	GG+GA		AA		p-value	GG		GA+AA		p-value
	N	медиана (25-75); n=0	N	медиана (25-75); n=1		N	медиана (25-75); n=0	N	медиана (25-75); n=1	
Возраст, (лет)	449	61,0 [55,0-69,0]	2	51,0 [49,0-53,0]	0,077	388	61,0 [55,0-69,0]	63	63,0 [57,0-71,0]	0,158
Адипонектин	446	7,92 [5,63-11,83]	2	7,02 [6,26-7,78]	0,635	385	7,79 [5,54-11,48]	63	8,44 [6,60-12,31]	0,084
Syntax score	449	12,00 [5,00-22,00]	2	10,25 [4,00-16,50]	0,669	388	12,00 [5,00-21,75]	63	12,00 [4,00-24,00]	0,948
Gensini score	449	34,00 [8,00-70,00]	2	57,75 [32,00-83,50]	0,514	388	34,00 [8,00-71,00]	63	40,00 [3,00-77,00]	0,854
Количество пораженных магистральных артерий	449	2,0 [1,0-3,0]	2	1,50 [1,0-2,0]	0,714	388	2,0 [1,0-3,0]	63	2,0 [1,0-3,0]	0,726
Количество пораженных коронарных артерий, включая ветви 1-2 порядка	448	2,50 [1,0-4,0]	2	2,0 [1,0-3,0]	0,677	387	3,0 [1,0-4,0]	63	2,0 [1,0-4,0]	0,711

rs182052 (<i>ADIPOQ</i>)										
Показатель	GG+GA		AA		p-value	GG		GA+AA		p-value
	N	медиана (25-75); n=0	N	медиана (25-75); n=1		N	медиана (25-75); n=0	N	медиана (25-75); n=1	
Возраст, (лет)	377	61,0 [55,0-69,0]	74	62,0 [57,0-70,0]	0,168	180	61,0 [55,0-69,0]	271	62,0 [55,0-69,0]	0,667
Адипонектин	374	7,95 [5,79-12,06]	74	7,63 [5,01-10,53]	0,131	178	8,15 [6,10-12,64]	270	7,67 [5,35-10,77]	0,027
Syntax score	377	12,00 [5,00-21,50]	74	14,25 [8,00-23,50]	0,208	180	12,00 [4,00-20,75]	271	12,00 [5,00-23,00]	0,449
Gensini score	377	34,00 [7,00-70,00]	74	39,00 [17,00-80,00]	0,339	180	35,50 [5,50-72,00]	271	34,00 [9,00-70,00]	0,884
Количество пораженных магистральных артерий	377	2,0 [1,0-3,0]	74	2,0 [1,0-3,0]	0,747	180	2,0 [1,0-3,0]	271	2,0 [1,0-3,0]	0,419
Количество пораженных коронарных артерий, включая ветви 1-2 порядка	376	2,0 [1,0-4,0]	74	3,0 [1,0-4,0]	0,798	179	2,0 [1,0-4,0]	271	3,0 [1,0-4,0]	0,736

rs2241766 (<i>ADIPOQ</i>)										
Показатель	TT+TG		GG		p-value	TT		TG+GG		p-value
	N	медиана (25-75); n=0	N	медиана (25-75); n=1		N	медиана (25-75); n=0	N	медиана (25-75); n=1	
Возраст, (лет)	449	61,0 [55,0-69,0]	2	69,0 [64,0-74,0]	0,192	395	61,0 [55,0-69,0]	56	61,0 [56,0-66,0]	0,875
Адипонектин	446	7,89 [5,65-11,83]	2	7,61 [4,16-11,06]	0,638	392	7,80 [5,63-11,39]	56	8,18 [5,82-15,29]	0,220
Syntax score	449	12,00 [5,00-22,00]	2	33,25 [24,50-42,00]	0,061	395	12,00 [5,00-22,50]	56	10,00 [5,50-19,50]	0,298
Gensini score	449	34,00 [8,00-70,00]	2	137,00 [98,00-176,00]	0,036	395	35,00 [8,00-70,00]	56	34,00 [4,50-77,00]	0,899
Количество пораженных магистральных артерий	449	2,0 [1,0-3,0]	2	2,50 [2,0-3,0]	0,347	395	2,0 [1,0-3,0]	56	1,0 [1,0-2,0]	0,067
Количество пораженных коронарных артерий, включая ветви 1-2 порядка	448	2,0 [1,0-4,0]	2	4,0 [3,0-5,0]	0,218	394	3,0 [1,0-4,0]	56	2,0 [1,0-3,0]	0,125

rs266729 (<i>ADIPOQ</i>)										
Показатель	CC+CG		GG		p-value	CC		CG+GG		p-value
	N	медиана (25-75); n=0	N	медиана (25-75); n=1		N	медиана (25-75); n=0	N	медиана (25-75); n=1	
Возраст, (лет)	398	61,0 [55,0-69,0]	53	62,0 [55,0-70,0]	0,412	243	61,0 [55,0-70,0]	208	62,0 [56,0-67,0]	0,701
Адипонектин	395	7,95 [5,80-12,31]	53	6,77 [4,97-9,54]	0,037	241	7,95 [6,03-12,19]	207	7,87 [5,29-11,08]	0,162
Syntax score	398	12,00 [5,00-22,00]	53	13,00 [9,00-22,00]	0,494	243	11,00 [4,00-22,00]	208	13,00 [5,00-22,00]	0,386
Gensini score	398	35,00 [8,00-72,00]	53	32,00 [16,00-66,00]	0,875	243	35,00 [8,00-74,00]	208	34,00 [8,00-66,50]	0,890
Количество пораженных магистральных артерий	398	2,0 [1,0-3,0]	53	2,0 [1,0-3,0]	0,888	243	2,0 [1,0-3,0]	208	2,0 [1,0-3,0]	0,534
Количество пораженных коронарных артерий, включая ветви 1-2 порядка	397	2,0 [1,0-4,0]	53	3,0 [1,0-3,0]	0,583	242	2,0 [1,0-4,0]	208	3,0 [1,0-4,0]	0,817

Таблица 3

Клиническая характеристика пациентов в зависимости от значений ШГР

Показатель	I группа пациентов Генетическая шкала (0-2) (N=186)	II группа пациентов Генетическая шкала (3-6) (N=265)	p-value
Мужчины, %	71,51	70,19	0,762
Возраст, (лет)*	61,0 [55,0-69,0]	62,0 [55,0-68,0]	0,727
Вес, (кг)*	83,00 [74,00-90,00]	86,00 [76,00-95,00]	0,153
ИМТ, (кг/м ²)*	28,08 [25,71-32,64]	29,39 [26,50-33,09]	0,062
Объем талии, (см)*	98,00 [94,00-104,00]	101,00 [96,00-107,00]	0,068
Курение, %	12,37	19,24	0,201
АГ, %	98,39	96,98	0,248
СД 2 типа, %	11,83	21,13	0,010
ОХ, (моль/л)*	4,60 [3,90-5,50]	5,00 [4,00-5,90]	0,029
ХС-ЛПОНП, (ммоль/л)*	0,69 [0,50-0,89]	0,72 [0,54-0,98]	0,127
ХС-ЛНП, (ммоль/л)*	2,80 [2,22-3,69]	3,09 [2,31-4,06]	0,032
ХС-ЛПВП, (ммоль/л)*	0,97 [0,86-1,17]	0,97 [0,81-1,12]	0,316
ТГ, (ммоль/л)*	1,50 [1,09-1,95]	1,62 [1,18-2,20]	0,085
Адипонектин, (мкг/мл ¹⁰)*	8,29 [6,17-12,63]	7,64 [5,34-10,61]	0,012
IL-6, (пг/мл)*	0,86 [0,26-2,82]	0,93 [0,21-2,70]	0,824
Эндотелин, (фмоль/мл)*	1,41 [0,79-2,75]	1,65 [0,94-3,04]	0,298
Инсулин, (мкЕд/мл)*	10,25 [7,15-13,95]	10,50 [7,50-15,00]	0,287
СРБ, (мг/л)*	3,15 [1,40-6,15]	2,55 [1,10-5,60]	0,204
ЛП (а), (мг/дл)*	16,35 [8,60-45,00]	16,95 [6,40-42,30]	0,307
Количество пораженных магистральных артерий*	2 [1-3]	2 [1-3]	0,396
Количество пораженных коронарных артерий, включая ветви 1-2 порядка*	2 [1-4]	3 [1-4]	0,747
SYNTAX Score*	11,50 [4,00-20,50]	12,00 [5,00-23,00]	0,311
GENSINI Score*	34,50 [6,00-72,00]	34,00 [9,00-70,00]	0,728
ИБС, %	40,86	41,89	0,828
ПИКС, %	40,86	41,89	0,828
Нестаб, %	2,15	6,79	0,024
ЧКВ+стентирование, %	14,51	16,23	0,622
ИБС (ПИКС+нестаб+ЧКВ), %	46,77	52,83	0,206
Рестеноз, %	8,60	5,66	0,225

Примечание: * — данные представлены в виде медианы (25-75 перцентиль).

Сокращения: ИМТ — индекс массы тела, АГ — артериальная гипертензия, СД — сахарный диабет, ОХ — общий холестерин, ХС-ЛПОНП — холестерин липопротеидов очень низкой плотности, ХС-ЛНП — холестерин липопротеидов низкой плотности, ХС-ЛПВП — холестерин липопротеидов высокой плотности, ТГ — триглицериды, СРБ — С-реактивный белок, ЛП (а) — липопротеин (а), ИБС — ишемическая болезнь сердца, ПИКС — постинфарктный кардиосклероз, нестаб — нестабильная стенокардия, ЧКВ — чрескожное коронарное вмешательство.

уровень адипонектина был достоверно выше, чем в группе пациентов с генотипом GG (7,95 [5,80-12,31] мкг/мл против 6,77 [4,97-9,54] мкг/мл, соответственно, (p=0,037)). Для ВВП rs 2241766 (A/G (+349)) значение Gensini score в группе пациентов с генотипом GG было достоверно выше, чем в группе пациентов с генотипами TT и TG (137 [98,00-176,00] против 34 [8,00-70,00], соответственно, (p=0,036)), однако генотип GG имели всего 2 пациента. Поэтому для исключения случайных находок в виду малого числа гомозигот, результаты генотипирования трех ВВП гена *ADIPOQ* были объединены в единую ШГР. Клиническая характеристика пациентов в зависимости от значений ШГР показана в таблице 3. Все пациенты были

разделены на 2 группы по значению ШГР (≤ 2 и > 2). Группа со значениями ≤ 2 достоверно отличалась от группы со значениями > 2 : по уровню адипонектина — 8,29 [6,17-12,63] мкг/мл против 7,64 [5,34-10,61] мкг/мл (p=0,012), общего холестерина — 4,60 [3,90-5,50] ммоль/л против 5,00 [4,00-5,90] ммоль/л (p=0,029), ХС-ЛНП — 2,80 [2,22-3,69] ммоль/л против 3,09 [2,31-4,06] ммоль/л (p=0,031), а также частоте СД 2 типа — 11,83% против 21,13% (p=0,01) и частоте развития нестабильной стенокардии — 2,15% против 6,79% (p=0,024), соответственно. Различий между группами по выраженности коронарного атеросклероза и показателям Syntax и Gensini score получено не было.

Обсуждение

Выбранные нами для исследования ВНП rs17300539, rs182052, rs2241766 и rs266729 гена *ADIPOQ* ранее показали ассоциацию с плазменным уровнем адипонектина в различных популяциях [15-17]. В нашей работе мы также выявили ассоциацию двух ВНП: rs182052 и rs266729 с плазменным уровнем адипонектина, еще для одного ВНП rs17300539 имелась тенденция. Мы не выявили ассоциаций изучаемых ВНП с наличием и степенью выраженности коронарного атеросклероза. Только rs2241766 ассоциировался с показателем Gensini score в рецессивной модели, однако минорный генотип GG имели всего 2 пациента и полученные различия могут быть случайны и требуют подтверждения. Для повышения мощности исследования мы объединили два ВНП, показавших ассоциацию с плазменным уровнем адипонектина и ВНП rs17300539 для которого имелась тенденция к ассоциации в единую ШГР и впервые показали ее ассоциацию как с уровнем адипонектина, так и с наличием нестабильной стенокардии. Кроме того, ШГР была ассоциирована с наличием СД 2 типа, уровнем общего холестерина и холестерином липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛНП). Варианты гена *ADIPOQ* в ранее проведенных исследованиях показывали ассоциацию не только с плазменным уровнем адипонектина, но и с СД 2 типа и с ожирением [7, 12, 15-17]. В частности, в работе Hui S, et al. была показана протективная роль генотипа GA полиморфизма rs182052 при развитии СД 2 типа [16]. В исследовании Ramya K, et al. также была выявлена связь с гиперадипонектинемией для ряда минорных аллелей ВНП rs17300539, rs3774261, rs2241767 у пациентов с нормальной толерантностью к глюкозе и у пациентов без ожирения. Такая же связь наблюдалась у пациентов с ожирением для минорных аллелей для вышеперечисленных ВНП. Что касается ассоциации с СД, то из 8 вариантов четыре ВНП, а именно: +276 G/T (rs1501299), -4522 C/T (rs822393), -11365 C/G (rs266729) и +712 G/A (rs3774261) были значительно связаны с СД 2 типа в данной популяции. ВНП -3971 A/G (rs822396) и -11391 G/A (rs17300539) были связаны с СД 2 типа опосредованно через ожирение (ассоциация с СД потеряна после коррективы на ИМТ). Выявлена независимая ассоциация +276 G/T (rs1501299) и -3971 A/G (rs822396) ВНП с генерализованным ожирением и +349 A/G (rs2241767) с центральным ожирением [7]. В исследо-

вании Al Saleh A, et al. у белых европейцев были выявлены как низкие (rs1501299), так и высокие (rs182052) уровни сывороточного адипонектина после коррективы на возраст, ИМТ и пол. Было показано, что у гомозигот rs182052 с возрастом уровень сывороточного адипонектина повышается при диете, обогащенной высоко мононенасыщенными жирными кислотами и снижается при обезжиренной диете [13].

Muiya N, et al. установили корреляцию ряда ВНП 3'UTR области гена *ADIPOQ* с метаболическими факторами риска и сердечно-сосудистыми заболеваниями, тем самым показав важность этого локуса гена в патогенезе атеросклероза [14].

Таким образом, ряд проведенных ранее работ показывает наличие четкой ассоциативной связи между ВНП гена *ADIPOQ* с уровнем адипонектина, а также атеросклерозом и СД 2 типа в разнообразных популяциях при различных условиях.

В нашей же работе, проведенной на выборке пациентов из российской популяции, не удалось найти прямой связи отобранных ВНП с коронарным атеросклерозом, но, тем не менее, была подтверждена устойчивая связь ряда ВНП с СД 2 типа и уровнем плазменного адипонектина крови, а также выявлена корреляция ШГР с нестабильной стенокардией. Рассматривая связь ШГР с нестабильной стенокардией, обнаруженную в настоящей работе, и с выраженностью коронарного атеросклероза, мы можем сделать заключение, что, несмотря на отсутствие прямой связи, ШГР связана с атеросклерозом косвенно, посредством ассоциации последней с последствиями и исходами атеросклероза, которые проявились конкретно у данной выборки, и протекающими в виде нестабильной стенокардии. Требуется дальнейшее изучение данного вопроса с возможным расширением выборки пациентов и включения в исследование большего числа женщин.

Заключение

Генетическая шкала на основе трех ВНП гена *ADIPOQ* определяет плазменный уровень адипонектина и риск наличия нестабильной стенокардии и СД, но не степень выраженности коронарного атеросклероза.

Конфликт интересов. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-315-00272.

Литература

- Kumada M, Kihara K, Sumitsuji S, et al. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:85-9. doi:10.1161/01.ATV.0000048856.22331.50.
- Hao G, Li W, Guo R, et al. Serum total Adiponectin level and the risk of cardiovascular disease in general population: a meta-analysis of 17 prospective studies. *Atherosclerosis.* 2013;228:29-35. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.02.018.
- Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, et al. Adiponectin: More than Just Another Fat Cell Hormone. *Diabetes Care.* 2003 Aug;26(8):2442-50. doi:10.2337/diacare.26.8.2442.
- Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(2):85-97. doi:10.1038/nri2921.
- Meshkov AN, Sherbakova NV. Molecular genetic diagnosis of predisposition to the development of coronary heart disease: the current state of the problem. *Consilium Medicum.* 2016;18(12):22-6. (In Russ.) Мешков А. Н., Щербакоева Н. В. Молекулярно-генетическая диагностика предрасположенности к развитию ишемической болезни сердца: современное состояние проблемы. *Consilium Medicum.* 2016;18(12):22-6.
- Meshkov AN, Malyshev PP, Kuharchuk VV. Family hypercholesterolemia in Russia: genetic and phenotypic characteristics. *Ther. arch.* 2009;81(9):23-8. (In Russ.) Мешков А. Н., Малышев П. П., Кухарчук В. В. Семейная гиперхолестеринемия в России: генетическая и фенотипическая характеристика. *Терапевтический архив.* 2009;81(9):23-8.
- Ramya K, Ayyappa KA, Ghosh S, et al. Genetic association of *ADIPOQ* gene variants with type 2 diabetes, obesity and serum adiponectin levels in south Indian population. *Gene.* 2013 Dec 15;532(2):253-62. doi:10.1016/j.gene.2013.09.012.
- Walter K, Min JL, Huang J, et al. The UK10K project identifies rare variants in health and disease. *Nature.* 2015;526(7571):82-90. doi:10.1038/nature14962.
- Chepetova TV, Meshkov AN. Hypertriglyceridemia: etiology, pathogenesis, diagnosis. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2006;5(5):94-100. (In Russ.) Четова Т. В., Мешков А. Н. Гипертриглицеридемия: этиология, патогенез, диагностика. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2006;5(5):94-100.
- Pei Y, Xu Y, Niu W. Causal relevance of circulating adiponectin with cancer: a meta-analysis implementing Mendelian randomization. *Tumor Biol.* 2015;36:585-94. doi:10.1007/s13277-014-2654-x.
- Ghoshal K, Bhattacharyya M. Adiponectin: Probe of the molecular paradigm associating diabetes and obesity. *World J Diabetes.* 2015 February 15;6(1):151-66. doi:10.4239/wjd.v6.i1.151.
- Mackevics V, Heid IM, Wagner SA, et al. The adiponectin gene is associated with adiponectin levels but not with characteristics of the insulin resistance syndrome in healthy Caucasians. *European Journal of Human Genetics.* 2006;14:349-56. doi:10.1038/sj.ejhg.5201552.
- AlSaleh A, O'Dell SD, Frost GS, et al. Single nucleotide polymorphisms at the *ADIPOQ* gene locus interact with age and dietary intake of fat to determine serum adiponectin in subjects at risk of the metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2011;94:262-9. doi:10.3945/ajcn.111.014209.
- Muiya N, Al-Najai M, Tahir AI, et al. The 3'-UTR of the adiponectin Q gene harbours susceptibility loci for atherosclerosis and its metabolic risk traits. *BMC Med Genet.* 2013;14:127. doi:10.1186/1471-2350-14-127.
- Miraoui N, Ezzidi I, Turki A, et al. Single-nucleotide polymorphisms and haplotypes in the adiponectin gene contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in Tunisian Arabs. *Diabetes Res Clin Pract.* 2012 Aug;97(2):290-7. doi:10.1016/j.diabres.2012.02.015.
- Hui S, Ying L, Juan D, et al. Application of Back Propagation Artificial Neural Network on Genetic Variants in Adiponectin *ADIPOQ*, Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ , and Retinoid X Receptor- α Genes and Type 2 Diabetes Risk in a Chinese Han Population. *Diabetes Technol Ther.* 2012 Mar;14(3):293-300. doi:10.1089/dia.2011.0071.
- Richardson DK, Schneider J, Fourcaudot MJ, et al. Association between variants in the genes for adiponectin and its receptors with insulin resistance syndrome (IRS)-related phenotypes in Mexican Americans. *Diabetologia.* 2006 Oct;49(10):2317-28. doi:10.1007/s00125-006-0384-3.
- Gumanova NG, Metelskaya VA, GavriloVA NE, et al. Ratios of leptin to insulin and adiponectin to endothelin are sex-dependently associated with extent of coronary atherosclerosis. *Biomarkers.* 2017;22(3-4):239-45. doi:10.1080/1354750X.2016.1201539.
- GavriloVA NE, Metelskaya VA, Ozerova IN, et al. Features of the sub-fraction spectrum of apolipoprotein B-containing lipoproteins in patients with carotid and or coronary atherosclerosis. *Russ J Cardiol.* 2016;21(10):64-70. (In Russ.) Гаврилова Н. Е., Метельская В. А., Озерова И. Н., и др. Особенности субфракционного спектра аполипопротеин В-содержащих липопротеинов у больных с каротидным и/или коронарным атеросклерозом. *Российский кардиологический журнал.* 2016;21(10):64-70. doi:10.15829/1560-4071-2016-10-64-70.
- Diagnosics and therapy of stable angina. Russian guidelines. 2nd revision. *Cardiovascular therapy and prevention.* 2008;7(6), suppl. 4, p. 40. (In Russ.) Диагностика и лечение стабильной стенокардии. Российские рекомендации. 2 пересмотр. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2008;7(6), прил. 4, с. 40.
- Rodriguez S, Gaunt TR, Day INM. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. *Am J Epidemiol.* 2009;169(4):505-14. doi:10.1093/aje/kwn359.