

**АССОЦИИ КОМБИНАЦИЙ ПОЛИМОРФИЗМОВ МАТРИКСНЫХ
МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ С РАЗВИТИЕМ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

М.И. МОСКАЛЕНКО

*ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный
исследовательский университет», ул. Победы, 85, г. Белгород, 308015, Россия,
e-mail: mariam31011989@yandex.ru*

Аннотация. Эссенциальная артериальная гипертензия – мультифакториальное заболевание, встречающееся у 42% населения старше 35 лет. Эссенциальная гипертензия считается независимым фактором риска для многих сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе инсульта, сердечной недостаточности и инфаркта миокарда. В патогенез эссенциальной гипертензии вовлечены гены матриксных металлопротеиназ, которые представляют собой семейство цинк-зависимых протеолитических ферментов, разрушающих различные компоненты внеклеточного матрикса и опосредующих его ремоделирование в физиологических и патологических процессах.

Настоящее исследование посвящено новым данным о вовлеченности комбинаций полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ в формирование эссенциальной гипертензии. Проведен биоинформатический анализ с помощью программного обеспечения *APSampler*. В результате исследования установлено пять сочетаний локусов генов матриксных металлопротеиназ, ассоциированных с возникновением эссенциальной гипертензии, из них 3 оказывают протективный эффект, а 2 являются факторами риска развития гипертензии. Наиболее значимый вклад в формирование эссенциальной гипертензии демонстрируют полиморфизмы *rs11568818 MMP-7*, *rs11225395 MMP-8* и *rs17577 MMP-9*.

Ключевые слова: эссенциальная гипертензия, матриксные металлопротеиназы, мультифакториальные заболевания.

**ASSOCIATIONS OF POLYMORPHISM COMBINATIONS OF MATRIX METAL PROTEINASE
WITH DEVELOPMENT OF ESSENTIAL HYPERTENSION**

M.I. MOSKALENKO

*Belgorod State University, Pobedy str., 85, Belgorod, 308015, Russia,
e-mail: mariam31011989@yandex.ru*

Abstract. Essential arterial hypertension (EG) is a multifactorial disease that occurs in 42% of the population over 35 years of age. This disease is an independent predisposing factor for cardio-vascular disease, including stroke, congestive heart failure and myocardial infarction. The pathogenesis of essential hypertension involves the genes of matrix metal proteinase (MMP), which are a family of zinc-dependent proteolytic enzymes that degrade various components of extracellular matrix and mediate remodeling in both physiological and pathological processes.

The research is devoted to new data on the involvement of combinations of polymorphisms of matrix metal proteinase in the development of essential hypertension. A bioinformatic analysis was performed using the *APSampler* software. The study identified five combinations of MMP loci associated with the onset of HE, of which 3 had a protective effect, and 2 were risk factors for the development of hypertension. The most significant contribution to the formation of HE is demonstrated by polymorphisms *rs11568818 MMP-7*, *rs11225395 MMP-8* and *rs17577 MMP-9*.

Key words: hypertension, matrix metal proteinase, multifactorial disease.

Введение. В настоящее время эссенциальная гипертензия (ЭГ) считается одним из самых распространенных сердечно-сосудистых заболеваний и ведущей причиной инвалидизации как в Российской Федерации, так и во всем мире. Молекулярно-генетические основы наследственной предрасположенности к эссенциальной гипертензии активно изучаются российскими и зарубежными исследователями, при этом основное внимание уделяется выявлению ассоциаций с заболеванием полиморфных маркеров генов-кандидатов [8, 9]. Наибольшее число работ, имеющих в печати, посвящено изучению вклада отдельных полиморфных маркеров в развитие ЭГ [12, 14], однако, данное заболевание является полигенным, что указывает на необходимость анализа межгенных взаимодействий при формировании к нему наследственной предрасположенности. Исследования последних лет позволили выявить спектр генов, потенциально вовлеченных в развитие эссенциальной гипертензии, в число которых входят *гены мат-*

риксных металлопротеиназ (ММП) [2, 6, 7, 11]. Эти эндопептидазы представляют собой группу протеолитических ферментов, отвечающих за расщепление всех *компонентов внеклеточного матрикса* (ВКМ). В ряде исследований установлено, что изменение экспрессии генов, кодирующих ММП, может приводить к нарушению баланса между синтезом и деградацией ВКМ, что влечет за собой снижение способности сосудистой стенки к ремоделированию [1, 10, 12].

Цель исследования – изучение вовлеченности комбинаций полиморфных маркеров *rs11568818 MMP-7*, *rs11225395 MMP-8*, *rs3025058 MMP-3*, *rs652438 MMP-12*, *rs243865 MMP-2*, *rs17577 MMP-9* в формирование эссенциальной гипертензии.

Материалы и методы исследования. Объем исследуемой выборки составил 1405 человек: 939 больных с ЭГ и 466 индивидуумов контрольной группы. В выборку включались лица русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья РФ и не состоящие в родстве между собой. Пациенты включались в соответствующую группу после подтверждения диагноза эссенциальной гипертензии лабораторно-инструментальными и клиническими методами обследования. Критерием включения в группу больных ЭГ были систолическое АД ≥ 140 мм. рт. ст. и/или диастолическое АД ≥ 90 мм. рт. ст., критерием исключения – наличие у респондента вторичных гипертензий и/или тяжелых хронических заболеваний, а также родство с уже включенными в исследование пациентами. Контрольная группа представлена индивидуумами без сердечно-сосудистой патологии. Средний возраст индивидуумов с ЭГ на момент обследования составлял $58,06 \pm 8,76$ лет, а индивидуумов контрольной группы – $57,81 \pm 8,52$ лет. Исследуемые группы больных с ЭГ и контроля сопоставимы по полу, возрастным характеристикам, месту рождения и национальности. Клинико-лабораторное обследование пациентов проводилось на базе кардиологического и неврологического отделений Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа. Все пациенты подписали информированное согласие о включении в исследование и использовании полученных данных.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенные методом фенол-хлороформной экстракции из лейкоцитов периферической крови, взятой из локтевой вены пробанда. Выделенную ДНК использовали для проведения *полимеразной цепной реакции* (ПЦР) синтеза ДНК с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров. Последующий анализ полиморфизмов проводился методом детекции *Taq-Man* зондов с помощью *real-time* ПЦР. Расчет фенотипических и генных частот проводили стандартными методами. Соответствие наблюдаемого распределения частот генотипов теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга проверяли, используя критерий хи-квадрат Пирсона. Поиск комбинаций полиморфных маркеров генов матриксных металлопротеиназ, ассоциированных эссенциальной гипертензией осуществляли с помощью программного обеспечения *APSampler* (<http://sources.redhat.com/cygwin/>), использующего метод Монте-Карло марковских цепей и байесовскую непараметрическую статистику. Валидация выявленных ассоциаций проводилась с использованием точного критерия Фишера (*OR*, 95% *CI*, $p < 0,05$), комбинации анализировались с применением критерия полного сочетания. Поправку на множественные сравнения осуществляли проведением пермутационного теста: число пермутаций равнялось 100, статистически значимым уровнем считали $p_{\text{perm}} \leq 0,01$.

Результаты и их обсуждение. В ходе анализа полученных результатов выявлено, что для всех исследуемых локусов у больных с ЭГ и у лиц контрольной группы эмпирическое распределение частот генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ($p > 0,05$).

Комплексный анализ носительства сочетаний аллелей и генотипов у больных эссенциальной гипертензией и в контрольной группе выявил пять комбинаций полиморфных вариантов генов *MMP*, из которых 2 являются факторами риска развития эссенциальной гипертензии, а 3 – протективными факторами (табл. 1). Сочетание аллелей *G* (*rs11568818 MMP-7*), *T* (*rs11225395 MMP-8*) и *A* (*rs17577 MMP-9*) оказывает протективный эффект на восприимчивость к гипертензии (*OR*=0,49) и встречается у больных ЭГ в два раза чаще, чем среди индивидуумов контрольной группы ($p_{\text{perm}} = 1,0e-09$). Установлено, что комбинация генетических маркеров *MMP*: аллеля *G* (*rs11568818 MMP-7*), аллеля *A* (*rs17577 MMP-9*) и генотипа *AA* (*rs652438 MMP-12*) также оказывает протективное влияние в развитии ЭГ (*OR*=0,59, $p_{\text{perm}} = 1,793e-05$). Сочетание аллелей *C* (*rs243865 MMP-2*), *G* (*rs11568818 MMP-7*) и *A* (*rs17577 MMP-9*) отмечается у 17,64% больных эссенциальной гипертензией у 26,09% здоровых индивидуумов, данная комбинация является протективным фактором при развитии ЭГ (*OR*=0,61, $p_{\text{perm}} = 0,0002$). Сочетание аллелей *6A* (*rs3025058 MMP-3*), *C* (*rs11225395 MMP-8*) и *G* (*rs652438 MMP-12*) вдвое чаще регистрируется среди больных с ЭГ по сравнению с контрольной группой и является фактором риска развития гипертензии (*OR*=1,96, $p_{\text{perm}} = 0,005$). Выявлено, что комбинация трех полиморфизмов – *6A* (*rs3025058 MMP-3*), *A* (*rs11568818 MMP-7*) и *CC* (*rs11225395 MMP-8*) является рискованной в отношении ЭГ (*OR*=1,54) и достоверно чаще встречается у больных с гипертензией по сравнению с индивидуумами контрольной группы ($p_{\text{perm}} = 0,01$). Следует отметить, что в четырех из пяти сочетаний фигурирует локус *rs11568818 MMP-7*, аллель *G* которого имеет протективный эффект, а носительство аллеля *A* является фактором риска развития ЭГ. Также примечательно, что аллель *A* *rs17577 MMP-9* присутствует во всех комбинациях, оказывающих протективный эффект на развитие ЭГ.

Таблица 1

Комбинации аллелей и генотипов полиморфизмов матричных металлопротеиназ, ассоциированные с развитием эссенциальной гипертензии

Полиморфизмы/ генетические варианты						Больные с ЭГ (n=939)		Контрольная группа (n=466)		P_f P_{perm}	OR (95% CI)
rs11568818MMP-7	rs11225395MMP-8	rs3025058MMP-3	rs652438MMP-12	rs243865MMP-2	rs17577MMP-9	n/N	%	n/N	%		
G	T				A	103/820	11,16	92/360	20,35	5,1e-06 1,0e-09	0,49 (0,36-0,67)
G			AA		A	157/766	17,01	116/333	25,84	0,0001 1,79e-05	0,59 (0,45-0,77)
G				C	A	163/761	17,64	119/337	26,09	0,0002 0,0002	0,61 (0,46-0,79)
	C	6A	G			99/831	10,65	26/429	5,71	0,001 0,005	1,96 (1,25-3,07)
A	CC	6A				207/718	22,37	72/386	15,72	0,002 0,006	1,54 (1,15-2,08)

Примечание: OR (95% CI) – отношение шансов с 95% доверительным интервалом; p_f – уровень значимости по критерию Фишера, p_{perm} – уровень значимости после проведения пермутационного теста

Матричные металлопротеиназы играют значимую роль в деградации компонентов внеклеточного матрикса и определяют его реорганизацию в физиологических и патологических процессах [10]. Протеиназная активность MMP обеспечивает прогрессирующее клеточное мигрирование и инвазии, а также играет решающую роль в формировании и ремоделировании сосудов, что определяет их ассоциации с сердечно-сосудистой патологией [1]. В выявленных нами комбинациях наиболее значимый вклад в формирование ЭГ вносят полиморфизмы *rs11568818 MMP-7*, *rs11225395 MMP-8* и *rs17577 MMP-9*. Матрилизин A (*MMP-7*) индуцирует ангиогенез и модулирует функции эндотелия, взаимодействуя с мембранными рецепторами *VEGF* [6]. В исследовании *SriManjari K.* (2014) установлено, что аллель G полиморфизма *rs11568818 MMP-7* оказывает протективный эффект на развитие ЭГ и ее осложнений у жителей Индии, что согласуется с полученными нами данными. Высокая транскрипционная активность гена *MMP-8* приводит к избыточной деградации экстрацеллюлярного матрикса и патологическому ремоделированию сосудов [3, 11]. При изучении сербского населения выявлены ассоциации варианта T *rs11225395 MMP-8* с возникновением сердечно-сосудистой патологии [2]. Однако в нашем исследовании данный полиморфный вариант, напротив, снижает риск развития ЭГ. Это может объясняться различиями в дизайне исследований и патогенетическими особенностями возникновения и течения ЭГ у лиц с разной этнической принадлежностью [5]. В работах зарубежных авторов показано, что матриксная металлопротеиназа-9 способна активировать пролиферацию эндотелиальных клеток и индуцировать ангиогенез [7, 15]. Согласно данным *Wang W.* (2015), полиморфизм *rs17577 MMP-9* ассоциирован с развитием эссенциальной гипертензии в китайской популяции [13], что согласуется с результатами, полученными в настоящем исследовании.

Выводы:

1. Сочетания генетических вариантов локусов *rs11568818 MMP-7*, *rs11225395 MMP-8*, *rs3025058 MMP-3*, *rs652438 MMP-12*, *rs243865 MMP-2*, *rs17577 MMP-9* вовлечены в формирование эссенциальной гипертензии у населения Центрального Черноземья России.

2. Комбинации аллелей G, T и A (*rs11568818*, *rs11225395*, *rs17577*), аллелей G, A и генотипа AA (*rs11568818*, *rs17577*, *rs652438*), аллелей C, G и A (*rs243865 MMP-2*, *rs11568818*, *rs17577*) оказывают протективное влияние на развитие ЭГ.

3. Сочетания аллелей 6A, C и G (*rs3025058*, *rs11225395*, *rs652438*), а также аллелей 6A, A и генотипа CC (*rs3025058*, *rs11568818*, *rs11225395*) являются факторами риска развития эссенциальной гипертензии.

Заключение. Таким образом, в рамках настоящей работы установлена взаимосвязь комбинаций полиморфных маркеров генов матриксных металлопротеиназ с восприимчивостью к эссенциальной артериальной гипертензии. Полученные данные могут быть использованы для формирования групп повышенного риска развития гипертензии и своевременной реализации в этих группах необходимых лечебно-профилактических мероприятий по предупреждению возникновения ЭГ и ее осложнений.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-00114/16 «Исследование вовлеченности генетических полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ в формирование инсульта на фоне гипертонической болезни у населения Центрального Черноземья России»

Литература

1. Candelario-Jalil E., Yang Y., Rosenberg G.A. Diverse roles of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in neuroinflammation and cerebral ischemia // *Neuroscience*. 2009. №158 (3). P. 983–994.
2. Djuric T., Zivkovic M., Milosevic B. MMP-1, -3 and -8 haplotype is associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract // *Pediatr Nephrol*. 2014. №29 (5). P. 879–884.
3. Greenlee K.J., Werb Z., Kheradmand F. Matrix Metalloproteinases in Lung: Multiple, Multifarious, and Multifaceted // *Physiological Reviews*. 2011. №87 (1). P. 69–98.
4. Hao Y., Tian S., Sun M. Association between matrix metalloproteinase gene polymorphisms and development of ischemic stroke // *Int. J. Clin. Exp. Pathol*. 2015. №8 (9). P. 1647–1652.
5. Hoseini S.M., Kalantari A., Afarideh M. Evaluation of plasma MMP-8, MMP-9 and TIMP-1 identifies candidate cardiometabolic risk marker in metabolic syndrome: results from double-blinded nested case-control study // *Metabolism*. 2015. №64 (4). P. 527–538.
6. Mishra A., Srivastava A., Mittal T. Association of matrix metalloproteinases (MMP2, MMP7 and MMP9) genetic variants with left ventricular dysfunction in coronary artery disease patients // *Clin Chim Acta*. 2012. №413. P. 19–20.
7. Rodríguez-Pérez J.M., Vargas-Alarcón G., Posadas-Sánchez R. rs3918242 MMP9 gene polymorphism is associated with myocardial infarction in Mexican patients // *Genet Mol Res*. 2016. №15 (1). P. 770–776.
8. Sakowicz A., Hejduk P., Pietrucha T. Association between ins4436A in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene and essential hypertension in Polish population // *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2015. №69. P. 1245–1250.
9. Singh M., Singh A.K., Pandey P. Molecular genetics of essential hypertension // *Clin Exp Hypertens*. 2016. №38 (3). P. 268–277.
10. Velho F.M., Cohen C.R., Santos K.G. Polymorphisms of matrix metalloproteinases in systolic heart failure: role on disease susceptibility, phenotypic characteristics, and prognosis // *J Card Fail*. 2011. №17 (2). P. 115–121.
11. Wang H., Parry S., Macones G. Functionally significant SNP MMP-8 promoter haplotypes and preterm premature rupture of membranes (PPROM) // *Hum. Mol. Genet*. 2014. №13 (21). P. 2659–2669.
12. Wang X., Sun Q., Huang Y. Association between CACNB2 gene polymorphisms and essential hypertension // *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2013. №30 (3). P. 340–344.
13. Wang W., Lu J., Yang L., Zhang J. Association of Matrix Metalloproteinase-9 Gene -1562C/T Polymorphism with Essential Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis Article // *Iran J Public Health*. 2015. №44 (11). P. 1445–1452.
14. Ward A.M., Takahashi O., Stevens R. Home measurement of blood pressure and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of prospective studies // *J Hypertens*. 2012. №30. P. 449–456.
15. Wu H.D., Bai X., Chen D.M. Association of genetic polymorphisms in matrix metalloproteinase-9 and coronary artery disease in the Chinese Han population: a case-control study // *Genet Test Mol Biomarkers*. 2013. №17 (9). P. 707–712.

References

1. Candelario-Jalil E, Yang Y, Rosenberg GA. Diverse roles of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in neuroinflammation and cerebral ischemia. *Neuroscience*. 2009;158 (3):983-94.
2. Djuric T, Zivkovic M, Milosevic B. MMP-1, -3 and -8 haplotype is associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Pediatr Nephrol*. 2014;29 (5):879-84.
3. Greenlee KJ, Werb Z, Kheradmand F. Matrix Metalloproteinases in Lung: Multiple, Multifarious, and Multifaceted. *Physiological Reviews*. 2011;87 (1):69-98.
4. Hao Y, Tian S, Sun M. Association between matrix metalloproteinase gene polymorphisms and development of ischemic stroke. *Int. J. Clin. Exp. Pathol*. 2015;8 (9):1647-52.

5. Hoseini SM, Kalantari A, Afarideh M. Evaluation of plasma MMP-8, MMP-9 and TIMP-1 identifies candidate cardiometabolic risk marker in metabolic syndrome: results from double-blinded nested case-control study. *Metabolism*. 2015;64 (4):527-38.
6. Mishra A, Srivastava A, Mittal T. Association of matrix metalloproteinases (MMP2, MMP7 and MMP9) genetic variants with left ventricular dysfunction in coronary artery disease patients. *Clin Chim Acta*. 2012;413:19-20.
7. Rodríguez-Pérez JM, Vargas-Alarcón G, Posadas-Sánchez R. rs3918242 MMP9 gene polymorphism is associated with myocardial infarction in Mexican patients. *Genet Mol Res*. 2016;15 (1):770-6.
8. Sakowicz A, Hejduk P, Pietrucha T. Association between ins4436A in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene and essential hypertension in Polish population. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2015;69:1245-50.
9. Singh M, Singh AK, Pandey P. Molecular genetics of essential hypertension. *Clin Exp Hypertens*. 2016;38 (3):268-77.
10. Velho FM, Cohen CR, Santos KG. Polymorphisms of matrix metalloproteinases in systolic heart failure: role on disease susceptibility, phenotypic characteristics, and prognosis. *J Card Fail*. 2011;17 (2):115-21.
11. Wang H, Parry S, Macones G. Functionally significant SNP MMP-8 promoter haplotypes and preterm premature rupture of membranes (PPROM). *Hum. Mol. Genet*. 2014;13 (21):2659-69.
12. Wang X, Sun Q, Huang Y. Association between CACNB2 gene polymorphisms and essential hypertension. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2013;30 (3):340-4.
13. Wang W, Lu J, Yang L, Zhang J. Association of Matrix Metalloproteinase-9 Gene -1562C/T Polymorphism with Essential Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis Article. *Iran J Public Health*. 2015;44 (11):1445-52.
14. Ward AM, Takahashi O, Stevens R. Home measurement of blood pressure and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *J Hypertens*. 2012;30:449-56.
15. Wu HD, Bai X, Chen DM. Association of genetic polymorphisms in matrix metalloproteinase-9 and coronary artery disease in the Chinese Han population: a case-control study. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2013;17 (9):707-12.

Библиографическая ссылка:

Москаленко М.И. Ассоциации комбинаций полиморфизмов матриксных металлопротеиназ с развитием эссенциальной гипертензии // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2017. №2. Публикация 2-16. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2017-2/2-16.pdf> (дата обращения: 22.05.2017). DOI: 10.12737/article_5922bb446cd2b0.14691350.