

УДК 575.174.015.3:616.831-005.4(470.31)

DOI: 10.18413/2075-4728-2018-41-2-280-287

**АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ
МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ 1 И 2 ТИПОВ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ
ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ У ЖИТЕЛЕЙ
ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ**

**ANALYSIS OF ASSOCIATION STUDY BETWEEN POLYMORPHIC VARIANTS
OF GENES ENCODING MATRIX METALLOPROTEINASES TYPES 1 AND 2
AND THE RISK OF ISCHEMIC STROKE: PILOT STUDY IN THE CENTRAL
RUSSIA POPULATION**

**Л.В. Рымарова¹, Е.Ю. Клёсова¹, А.В. Волкова², О.Ю. Бушуева¹, Ю.Э. Азарова¹,
В.Б. Ласков¹, А.В. Полоников¹**
**L.V. Rymarova¹, E.Yu. Klyosova¹, A.V. Volkova², O.Yu. Bushueva¹, I.E. Azarova¹,
V.B. Laskov¹, A.V. Polonikov¹**

¹ Курский государственный медицинский университет, Россия, 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3

² Академия биологии и биотехнологии имени Д.И. Ивановского Южного федерального университета, Россия, 344090, Rostov-on-Don, проспект Стачки, 194/1

¹ Kursk State Medical University, 3 Karl Marx St, Kursk, 305041, Russia

² Academy of Biology and Biotechnologies Southern Federal University, 194/1 Stachki Ave., Rostov-on-Don, 344090, Russia

E-mail: polonikov@rambler.ru

Аннотация

Полиморфные варианты генов матриксных металлопротеиназ представляют собой привлекательный объект для тестирования ассоциаций с риском развития ишемического инсульта. До настоящего времени исследований по вовлеченности полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ в развитие ишемического инсульта в российских популяциях не проводилось. Целью настоящего исследования является анализ ассоциации полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ 1 (*MMP1* rs1799750) и 2 (*MMP2* rs243865) типов с риском развития ишемического инсульта (ИИ) у жителей Центральной России. Результаты настоящего исследования, а также исследований, выполненных в других популяциях мира, демонстрируют важнейшую роль синергизма во взаимодействии полиморфных вариантов различных генов матриксных металлопротеиназ в формировании предрасположенности к ишемическому инсульту, диктуя необходимость дальнейших исследований в данном направлении.

Abstract

Polymorphic variants of matrix metalloproteinase genes are an attractive object for testing associations with the risk of ischemic stroke. To date, no studies have been done to assess the contribution of polymorphisms of matrix metalloproteinase genes in the development of ischemic stroke in Russians. The purpose of this study was to analyze the association between polymorphic variants of the genes encoding matrix metalloproteinases type 1 (*MMP1* rs1799750) and 2 (*MMP2* rs243865) and the risk of ischemic stroke (IS) in Russians from Central Russia. The results of this study, as well as studies performed in other populations clearly demonstrate the crucial role of synergy in the interaction between polymorphic variants of matrix metalloproteinase genes in the predisposition to ischemic stroke, thereby dictating the need for further research in this direction.

Ключевые слова: ишемический инсульт, генетическая предрасположенность, матриксные металлопротеиназы, однонуклеотидный полиморфизм, анализ ассоциации

Keywords: ischemic stroke, genetic predisposition, matrix metalloproteinases, single nucleotide polymorphism, association analysis.

Введение

Сосудистые заболевания головного мозга остаются актуальной медико-социальной проблемой. На сегодняшний день около 9 миллионов человек в мире страдают цереброваскулярными болезнями, ежегодно регистрируется более 15 миллионов новых случаев инсульта, причем более половины пациентов умирают в течение первого года после развития болезни и около 80% выживших больных остаются инвалидами [Суслина и др., 2009]. Наиболее распространенной цереброваскулярной патологией является ишемический инсульт, подавляющее большинство случаев которого развивается на фоне атеросклероза мозговых артерий. Многочисленными исследованиями отечественных и зарубежных учёных было показано, что генетические факторы играют значимую роль в развитии и течении ишемического инсульта [Давиденкова и др., 2006; P. Sharma et al., 2013; Lindgren, 2014]. К настоящему времени идентифицирован широкий спектр полиморфных вариантов генов, ассоциированных с развитием ишемического инсульта в различных популяциях мира. К таким генам можно отнести гены системы гемостаза, включая ген фибриногена, тромбоцитарного гликопротеина GP IIb/IIIa, V, VIII и XII факторов свертывания, протромбина; гены, регулирующие фибринолиз (tPA, PAI-1), гены ренин-ангиотензиновой системы, NO-синтазы, метаболизма сывороточных липидов и гомоцистеина [Sharma et al., 2013].

Известно, что одним из пусковых механизмов развития ишемического инсульта является дестабилизация атеросклеротических бляшек и тромбообразование в сонных артериях [Stoll et al., 2008; Пигаревский и др., 2015]. Предполагается, что в формировании указанных патологических процессов могут участвовать матриксные металлопротеиназы – внеклеточные цинк- и кальций-зависимые ферменты эндопептидазы, способные гидролизировать все типы белков внеклеточного матрикса и таким образом ремоделировать соединительную ткань посредством разрушения ее органических компонентов [Nagase et al., 1999; Турна и др., 2009]. К настоящему времени известно 28 представителей семейства матриксных металлопротеиназ, характеризующихся разнообразными биологическими функциями и специфической экспрессией в органах и тканях. В этой связи полиморфные варианты генов матриксных металлопротеиназ стали привлекательным объектом для тестирования ассоциаций с риском развития ишемического инсульта [Пигаревский и др., 2015; Пальцын, 2017]. Однако подавляющее большинство генетико-ассоциативных исследований выполнено по поиску патогенетической взаимосвязи ишемического инсульта с полиморфными вариантами генов матриксных металлопротеиназ 1, 3 и 9 типов [Wen et al., 2014; Chang et al., 2016]. Анализ доступных литературных данных свидетельствует о том, что до настоящего времени исследований по вовлеченности полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ в развитие ишемического инсульта в российских популяциях не проводилось.

Целью настоящего исследования является анализ ассоциации полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ 1 (*MMP1* rs1799750) и 2 (*MMP2* rs243865) типов с риском развития ишемического инсульта (ИИ) у жителей Центральной России.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужила выборка неродственных индивидов из числа жителей Центральной России (преимущественно уроженцев Курской области) русской национальности общей численностью 870 человек, включая 481 больного ишемическим инсультом атеротромботического типа (276 мужчин и 205 женщин, средний возраст – 60.7 ± 10.1 лет) и 389 лиц контрольной группы (214 мужчин и 175 женщин, средний возраст – 59.8 ± 9.5 лет). Больные ИИ находились на стационарном лечении в неврологических отделениях Курской областной клинической больницы и городской больницы скорой медицинской помощи, как описано нами ранее [Polonikov et al., 2012; Бушуева и др., 2015; Стецкая и др., 2017]. Контрольная группа включала относительно здоровых добровольцев, не имеющих каких-либо хронических заболеваний. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании, протокол исследования был одобрен Региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете

(протокол № 4 от 14.04.2014 г.). Пациенты включались в соответствующую группу больных ИИ только после установления диагноза заболевания, подтвержденного с помощью клинических и лабораторно-инструментальных методов обследования, включая неврологический статус и данные компьютерной томографии головного мозга. Группы больных ИИ и здоровых индивидов не отличались как по полу, так и по возрасту ($P > 0.05$).

У всех пациентов проводился забор венозной крови в пробирки с 0.5М раствором ЭДТА, после чего кровь замораживали при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до выделения ДНК. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции и преципитации 96% этанолом. Генотипирование полиморфных вариантов rs1799750 гена *MMP1* и rs243865 гена *MMP2* осуществлялось на амплификаторе CFX96 (BioRad, США) методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan-зондов согласно протоколам, опубликованным в литературе [Okuyama et al., 2005; Wallace et al., 2006]. Праймеры и TaqMan-зонды были синтезированы компанией «Синтол» (г. Москва). Структура праймеров и TaqMan-зондов для генотипирования исследуемых полиморфных вариантов генов представлена в таблице 1.

Для оценки качества выполненного генотипирования случайным образом было отобрано 95 образцов, которые использовались для проведения повторного генотипирования по исследуемым полиморфизмам. Результаты повторного генотипирования отобранных образцов ДНК полностью соответствовали первоначальным данным генотипирования. Молекулярно-генетические исследования проводились в лаборатории геномных исследований НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии Курского государственного медицинского университета (директор – доктор медицинских наук, профессор А.В. Полоников).

Таблица 1
Table 1

Структура праймеров и TaqMan-зондов для генотипирования
исследуемых полиморфных вариантов генов
Structure of primers and TaqMan probes for genotyping of polymorphic variants of genes

Ген SNP ID	Последовательности праймеров и TaqMan-зондов
<i>MMP1</i> C/- (rs1799750)	F: 5'-ACATGTTATGCCACTTAGATGAGGAAA-3'
	R: 5'-GCGTCAAGACTGATATCTTACTCATAAACAATA-3'
	5'- FAM-TTGAGATAAGTCATATCTTTCTA-RTQ1-3'
	5'- ROX-TTGAGATAAGTCATATCCTTTCTA-BHQ-3'
<i>MMP2</i> C/T (rs243865)	F: 5'-GCCATTGTCAATGTTCCCTAAAACA-3'
	R: 5'-TGACTTCTGAGCTGAGACCTGAA-3'
	5'- FAM-CTAAAGAGGTAGAGTGCT-RTQ1-3'
	5'- ROX-CTAAAGAGGTGGAGTGCT-BHQ2-3'

Для анализа ассоциаций аллелей и генотипов с риском развития ИИ использовался логистический регрессионный анализ. Для анализа ассоциации ДНК-маркеров и риска развития ИИ рассчитывались показатели отношения шансов и 95%-й доверительные интервалы с коррекцией по возрасту. Статистический анализ проводился с использованием статистического пакета SNPstats [Solé et al., 2006].

Результаты

Частоты генотипов соответствовали распределению Харди-Вайнберга в обеих группах ($P > 0.05$). Данные о частотах аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов *MMP1* и *MMP2* у больных ишемическим инсультом и здоровых индивидов представлены в таблице 2.

Таблица 2
Table 2

Частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов *MMP1* и *MMP2*
у больных ишемическим инсультом и здоровых индивидов
Frequencies of alleles and genotypes of polymorphic variants of *MMP1* and *MMP2* genes
in patients with ischemic stroke and healthy individuals

Ген (SNP ID)	Генотип, аллель	N (%)		P-уровень	OR (95% CI) ¹
		здоровые	больные ИИ		
<i>MMP1</i> (rs1799750)	-/-	102 (27.8)	132 (27.6)	0.57	1.00
	-/C	196 (53.4)	243 (50.8)		0.95 (0.69-1.31)
	C/C	69 (18.8)	103 (21.6)	0.55	1.15 (0.77-1.72)
	C	334 (46.5)	449 (47.0)		1.06 (0.87-2.29)
<i>MMP2</i> (rs243865)	C/C	230 (61.0)	297 (62.5)	0.85	1.00
	C/T	132 (35.0)	161 (33.9)		0.94 (0.70-1.25)
	T/T	15 (4.0)	17 (3.6)	0.63	0.86 (0.42-1.75)
	T	162 (21.0)	195 (21.0)		1.06 (0.87-2.29)

Примечание: ¹ – отношение шансов и 95%-й доверительный интервал, скорректированные по возрасту.

Как видно из представленных в таблице 2 данных, между группами больных ИИ и контроля не наблюдалось статистически значимых различий как в частотах аллелей, так и генотипов ($P > 0.05$). Сравнительный межгрупповой анализ частот аллелей и генотипов, стратифицированный по полу (табл. 3), также не выявил статистически значимых ассоциаций полиморфных вариантов rs1799750 гена *MMP1* и rs243865 гена *MMP2* с развитием ишемического инсульта как у мужчин, так и у женщин ($P > 0.05$).

Также нами не были установлены различия в частотах аллелей и генотипов между группами больных ИИ и здоровых индивидов, стратифицированных по фактору риска мозгового инсульта – курению (данные не представлены).

Таблица 3
Table 3

Частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов *MMP1* и *MMP2*
у больных ишемическим инсультом и здоровых индивидов (стратификация по полу)
Frequencies of alleles and genotypes of polymorphic variants of *MMP1* and *MMP2* genes
in patients with ischemic stroke and healthy individuals (sex stratification)

Ген (SNP ID)	Генотип, аллель	Мужчины, N (%)				Женщины, N (%)			
		здоровые	больные ИИ	P-уровень	OR (95% CI) ¹	здоровые	больные ИИ	P-уровень	OR (95% CI) ¹
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>MMP1</i> (rs1799750)	-/-	52 (26.5)	76 (27.6)	0.55	1.00	50 (29.2)	56 (27.6)	0.90	1.00
	-/C	106 (54.1)	136 (49.5)		0.87 (0.56-1.35)	90 (52.6)	107 (52.7)		1.05 (0.66-1.69)
	C/C	38 (19.4)	63 (22.9)	0.61	1.15 (0.67-1.96)	31 (18.1)	40 (19.7)	0.66	1.14 (0.62-2.08)
	C	182 (46.4)	262 (47.6)		1.05 (0.81-1.36)	152 (44.4)	187 (46.1)		1.07 (0.80-1.43)

Окончание табл. 3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>MMP2</i> (rs243865)	C/C	126 (60.9)	169 (62.1)	0.29	1.00	104 (61.2)	128 (63.1)	0.32	1.00
	C/T	70 (33.8)	96 (35.3)		1.02 (0.69-1.50)	62 (36.5)	65 (32.0)		0.84 (0.54-1.30)
	T/T	11 (5.3)	7 (2.6)		0.46 (0.17-1.22)	4 (2.4)	10 (4.9)		2.00 (0.61-6.57)
	T	92 (22.2)	110 (20.2)	0.45	0.89 (0.65-1.21)	70 (20.6)	85 (20.9)	0.91	1.02 (0.72-1.46)

Примечание: ¹ – отношение шансов и 95%-й доверительный интервал, скорректированные по возрасту.

Для оценки вклада межгенных взаимодействий в развитие ИИ нами был проведен анализ ассоциации парных сочетаний генотипов *MMP1* и *MMP2* с риском развития болезни (табл. 4). Как можно увидеть из таблицы 4, статистически значимых различий в частотах парных сочетаний генотипов *MMP1* и *MMP2* между группами больных ишемическим инсультом и здоровых индивидов не наблюдалось ($P>0.05$). Однако была выявлена отчетливая тенденция к накоплению среди больных ИИ сочетаний генотипов *MMP1* и *MMP2* по аллелям дикого типа ($P=0.066$).

Таблица 4

Table 4

Анализ ассоциации парных сочетаний генотипов *MMP1* и *MMP2*
с риском развития ишемического инсульта
Analysis of the Association of paired combinations of *MMP1* and *MMP2* genotypes
with risk of ischemic stroke

Сочетания генотипов	Здоровые		Больные ИИ		P-уровень	OR (95% CI)
	N	%	N	%		
<i>MMP1</i> C/C × <i>MMP2</i> C/C	34	9.6	65	13.8	0.07	1.51 (0.97-2.34)
<i>MMP1</i> C/C × <i>MMP2</i> C/T	31	8.7	33	7.0	0.35	0.79 (0.47-1.31)
<i>MMP1</i> C/C × <i>MMP2</i> T/T	3	0.8	4	0.8	1.00	1.00 (0.22-4.51)
<i>MMP1</i> C/- × <i>MMP2</i> C/C	121	34.1	150	31.8	0.48	0.90 (0.67-1.21)
<i>MMP1</i> C/- × <i>MMP2</i> C/T	64	18.0	78	16.5	0.57	0.90 (0.63-1.29)
<i>MMP1</i> C/- × <i>MMP2</i> T/T	6	1.7	10	2.1	0.66	1.26 (0.45-3.50)
<i>MMP1</i> -/- × <i>MMP2</i> C/C	62	17.5	79	16.7	0.78	0.95 (0.67-1.37)
<i>MMP1</i> -/- × <i>MMP2</i> C/T	28	7.9	50	10.6	0.19	1.38 (0.85-2.25)
<i>MMP1</i> -/- × <i>MMP2</i> T/T	6	1.7	3	0.6	0.15	0.37 (0.09-1.50)

Обсуждение

Матриксные металлопротеиназы представляют собой привлекательный объект для генетических исследований молекулярных механизмов развития атеросклероза, и в частности ишемического инсульта, в связи с широким спектром их физиологических и патологических эффектов в органах и тканях, включая влияние на ангиогенез, пролиферацию, миграцию и дифференциацию клеток, апоптоз, участие в активации и деактивации хемокинов и цитокинов [Пигаревский и др., 2015; Nagase et al., 1999]. *MMP1* – внутритканевая коллагеназа, синтезируемая фибробластами, хондроцитами, остеобластами, макрофагами, кера-

тиноцитами и эндотелиальными клетками, принимает участие в деградации коллагеновых нитей в процессе ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса [Nagase et al., 1999]. Субстратами для MMP1 являются коллагены I, II, III, VII, VIII и X типов, желатин, агрекан, протеогликан-связанный белок, α 1-антитрипсин, L-селектин, интерлейкин-1, белки, связывающие инсулиноподобный фактор роста, а также металлопротеиназы 2 и 9 типов [Nagase et al., 1999; Турна и др., 2009; Шадрина и др., 2017]. MMP2 – желатиназа-A, экспрессирующаяся преимущественно в мезенхимальных клетках в процессе развития и регенерации ткани. Она гидролизует коллагены I, IV, V, VII, X XI и XIV типов, эластин, фибронектин, ламинины, некоторые цитокины (интерлейкин-1), металлопротеиназы 1, 9 и 13 типов. По информации порта bioGPS (<http://biogps.org>), максимальный уровень экспрессии гена *MMP1* имеет место в гладкомышечных клетках и кардиомиоцитах, тогда как уровень экспрессии гена *MMP2* – в гладкомышечных клетках, теле матки, кардиомиоцитах и жировых клетках. Учитывая столь широкий спектр биологических эффектов, матриксные металлопротеиназы 1 и 2 типов могут быть патогенетически связаны с развитием ишемического инсульта как посредством влияния на процесс формирования атерогенеза в сосудах (развитие атеросклероза каротидных артерий), так и обуславливая разрыв атеросклеротических бляшек и формирование тромбозов (осложнение атеросклероза).

В рамках настоящего исследования впервые у жителей Центральной России проведен анализ ассоциации полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ, а именно rs1799750 гена *MMP1* и rs243865 гена *MMP2*, с риском развития ишемического инсульта. Хотя нами и не выявлено статистически значимых ассоциаций исследуемых генетических вариантов с развитием инсульта, тем не менее, частота носительства генотипов по аллелям дикого типа была несколько выше у больных, чем у здоровых индивидов.

Полиморфизм rs1799750 (также известен как полиморфизм -1607 1G/2G) расположен в промоторе гена *MMP1* и характеризуется дупликацией нуклеотида G (в антисмысловой цепи) или C (в смысловой цепи), сопровождающейся усилением транскрипционной активности гена вследствие создания сайта узнавания для транскрипционного фактора E26 [11]. Так же, как в нашем исследовании, ассоциация данного полиморфизма с риском развития ИИ не была обнаружена и у жителей Туниса [Chehaibi et al., 2014]. В то же самое время следует отметить, что данный полиморфизм в синергизме с полиморфными вариантами гена *MMP3* показал значимую ассоциацию с атеросклерозом каротидных артерий у итальянцев [Chang et al., 2016].

Полиморфизм rs243865 (-1306C>T) также расположен в промоторной области гена *MMP2*, и генотип C/C ассоциирован с более высокой экспрессией гена в большеберцовой артерии (данные получены из GTEx portal, www.gtexportal.org) и плазме крови [Nie et al., 2014], в сравнении с другими генотипами. В китайской популяции не была обнаружена ассоциация полиморфизма rs243865 с риском развития ИИ [Nie et al., 2014]. В то же время авторы данного исследования выявили статистически значимую ассоциацию ишемического инсульта с носительством другого промоторного варианта гена *MMP2* (-735C), усиливающего его транскрипционную активность [Nie et al., 2014]. Таким образом, интерпретируя возможную патогенетическую взаимосвязь исследованных нами генетических маркеров, следует отметить, что носительство функционально активных полиморфных вариантов rs1799750 гена *MMP1* и rs243865 гена *MMP2*, а именно сочетания генотипов по аллелям дикого типа (*MMP1* C/C \times *MMP2* C/C), может характеризоваться более высокой активностью обоих ферментов в сравнении с другими сочетаниями генотипов.

Заключение

Полиморфные варианты rs1799750 гена *MMP1* и rs243865 гена *MMP2* не ассоциированы с риском развития ИИ у русских жителей Центральной России. Результаты настоящего исследования, а также исследований, выполненных в других популяциях мира,

наглядно демонстрируют важнейшую роль синергизма во взаимодействии полиморфных вариантов различных генов матриксных металлопротеиназ в формировании предрасположенности к ишемическому инсульту. Тем не менее, выдвинутое нами предположение о патогенетической значимости исследованных полиморфизмов требует подтверждения в независимых исследованиях. Дальнейшие исследования, касающиеся оценки вовлеченности генов матриксных металлопротеиназ в патогенез ишемического инсульта должны быть выполнены на выборках значительно большего объема с целью увеличения мощности статистического анализа и с привлечением более широкого спектра однонуклеотидных полиморфизмов генов, кодирующих различные матриксные металлопротеиназы. Использование такого комплексного подхода позволит дать всестороннюю оценку совместной роли данного класса генов в формировании предрасположенности к ишемическому инсульту и обозначить новые молекулярные мишени для терапии и профилактики заболевания.

Авторы статьи декларируют отсутствие конфликта интересов

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение №15-15-10010).

Список литературы References

1. Бушуева О.Ю., Стецкая Т.А., Корогодина Т.В., Иванов В.П., Полоников А.В. 2015. Влияние полиморфизма E298D гена эндотелиальной синтазы оксида азота на риск развития мозгового инсульта в зависимости от статуса курения. *Генетика*, 51(2): 256–262.
Bushueva O.Ju., Steckaja T.A., Korogodina T.V., Ivanov V.P., Polonikov A.V. 2015. Vlijanie polimorfizma E298D gena jendotelial'noj sintazy oksida azota na risk razvitija mozgovogo insul'ta v zavisimosti ot statusa kurenija [Influence of E298D polymorphism of gene of endothelial synthase nitric oxide on the risk of stroke, depending on the status of Smoking]. *Genetika*, 51(2): 256–262. (in Russian)
2. Давиденкова Е.Ф., Колосова Н.П., Либберман И.С. 2006. Медико-генетическое консультирование в системе профилактики ишемической болезни сердца и инсультов. *Л., Медицина*, 199 с.
Davidenkova E.F., Kolosova N.P., Liberman I.S. 2006. Mediko-geneticheskoe konsul'tirovanie v sisteme profilaktiki ishemicheskoy bolezni serdca i insul'tov [Medical and genetic counseling in the system of prevention of coronary heart disease and strokes]. *L., Medicina*, 199 s. (in Russian)
3. Пальцын А.А. 2017. Матриксные протеиназы при инсульте. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, 61 (3): 110–115.
Pal'cyn A.A. 2017. Matriksnye proteiny pri insul'te. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija* [Matrix proteinases in stroke. Pathological physiology and experimental therapy]. 61 (3): 110–115. (in Russian)
4. Пигаревский П.В., Мальцева С.В., Снегова В.А., Давыдова Н.Г., Яковлева О.Г., Ворожбит Р.А. 2015. Роль матриксной металлопротеиназы 1 типа в дестабилизации атеросклеротической бляшки у человека. *Медицинский академический журнал*, 4: 54–58.
Pigarevskij P.V., Mal'ceva S.V., Snegova V.A., Davydova N.G., Jakovleva O.G., Vorozhbit R.A. 2015. Rol' matriksnoj metalloproteinazy 1 tipa v destabilizacii ateroskleroticheskoy bljashki u cheloveka [The role of matrix metalloproteinases type 1 in the destabilization of atherosclerotic plaques in humans]. *Medicinskij akademicheskij zhurnal*, 4: 54–58. (in Russian)
5. Стецкая Т.А., Полоников А.В., Солдатов В.О., Бирюков А.Е., Ласков В.Б., Иванов В.П., Бушуева О.Ю. 2017. Полиморфизм +1675G>A гена AGTR2 ассоциирован с развитием ишемического инсульта. *Медицинская генетика*, 16 (3): 33–36.
Steckaja T.A., Polonikov A.V., Soldatov V.O., Birjukov A.E., Laskov V.B., Ivanov V.P., Bushueva O.Ju. 2017. Polimorfizm +1675 G>A gena AGTR2 associirovan s razvitiem ishemicheskogo insul'ta [Polymorphism +1675 G>A of the gene AGTR2 associated with the development of ischemic stroke]. *Medicinskaja genetika*, 16 (3): 33–36. (in Russian)

6. Суслина З.А., Варакин Ю.А., Верещагин Н.В. 2009. Сосудистые заболевания головного мозга. Эпидемиология. Патогенетические механизмы. Профилактика [Vascular diseases of the brain. Epidemiology. Pathogenetic mechanism. Prevention]. Ozon. ru, 356 с.

Suslina Z.A., Varakin Ju.A., Vereshhagin N.V. 2009. Sosudistye zabolevaniya golovnogo mozga. Jepidemiologija. Patogeneticheskie mehanizmy. Profilaktika. Ozon. ru, 356 s. (in Russian)

7. Турна А.А., Тогузов Р.Т. 2009. Матриксные металлопротеиназы и сердечно-сосудистые заболевания. Артериальная гипертензия, (5): 8–14.

Turna A.A., Toguzov R.T. 2009. Matriksnyye metalloproteinazy i serdechno-sosudistye zabolevaniya. Arterial'naja gipertenzija [Matrix metalloproteinases and cardiovascular diseases. Arterial hypertension], (5): 8–14. (in Russian)

8. Шадрина А.С., Плиева Я.З., Кушлинский Д.Н., Морозов А.А., Филипенко М.Л., Чанг В.Л., Кушлинский Н.Е. 2017. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матриксных металлопротеиназ в норме и при патологии. Альманах клинической медицины, 45 (4): 266–7.

Shadrina A.S., Plieva Ja.Z., Kushlinskij D.N., Morozov A.A., Filipenko M.L., Chang V.L., Kushlinskij N.E. 2017. Klassifikacija, reguljacija aktivnosti, geneticheskij polimorfizm matriksnyh metalloproteinaz v norme i pri patologii [Classification, regulation of activity, genetic polymorphism of matrix metalloproteinases in normal and pathological conditions]. Al'manah klinicheskoy mediciny, 45 (4): 266–7. (in Russian)

9. Chang J.J., Stanfill A., Pourmotabbed T. 2016. The Role of Matrix Metalloproteinase Polymorphisms in Ischemic Stroke. *Int. J. Mol. Sci.* 12, 17 (8): 1323.

10. Chehaibi K., Hrira M.Y.; Noura S.; Maatouk F.; Ben Hamda K.; Slimane M.N. 2014. Matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-12 gene polymorphisms and the risk of ischemic stroke in a Tunisian population. *J. Neurol. Sci.* 342: 107–113.

11. Lindgren A. 2014. Sep Stroke genetics: a review and update. *J. Stroke*, 16 (3): 114–123.

12. Nagase H., Woessner J.F. Jr. 1999. Matrix metalloproteinases. *J. Biol. Chem.* 30, 274 (31): 21491–21494.

13. Nie S.W., Wang X.F., Tang Z.C. 2014. Correlations between MMP-2/MMP-9 promoter polymorphisms and ischemic stroke. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 15, 7 (2): 400–404.

14. Okayama N., Hamanaka Y., Suehiro Y., Hasui Y., Nakamura J., Hinoda Y. 2005. Association of interleukin-10 promoter single nucleotide polymorphisms -819 T/C and -592 A/C with aging. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 60 (12): 1525–1529.

15. Polonikov A.V., Vialykh E.K., Vasileva O.V., Bulgakova I.V., Bushueva O.Y., Illig T., Solodilova M.A. 2012. Genetic variation in glutathione S-transferase genes and risk of nonfatal cerebral stroke in patients suffering from essential hypertension. *Journal of Molecular Neuroscience*, 47 (3): 511–513.

16. Sharma P., Yadav S., Meschia J.F. 2013. Genetics of ischaemic stroke. *J. Neurol. Neurosurg Psychiatry.* 84 (12): 1302–1308.

17. Solé X., Guinó E., Valls J., Iñiesta R., Moreno V. 2006. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics.* 22 (15): 1928–1929.

18. Stoll G, Kleinschnitz C, Nieswandt B. 2008. Molecular mechanisms of thrombus formation in ischemic stroke: novel insights and targets for treatment. *Blood.* 112 (9): 3555–3562.

19. Wallace H.J., Vandongen Y.K., Stacey M.C. 2006. Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphism associated with increased susceptibility to venous leg ulceration. *J. Invest. Dermatol.*, 126 (4): 921–925.

20. Wen D., Du X., Nie S.P., Dong J.Z., Ma C.S. 2014. Association between matrix metalloproteinase family gene polymorphisms and ischemic stroke: a meta-analysis. *Mol. Neurobiol.*, 50 (3): 979–985.