

Роль ген-генных и генно-средовых взаимодействий полиморфных локусов матриксных металлопротеиназ в формировании риска развития ишемического инсульта на фоне артериальной гипертензии у мужчин

© М.И. КАЛИНИНА, И.В. ПОНОМАРЕНКО, О.А. ЕФРЕМОВА, И.В. БАТЛУЦКАЯ, М.И. ЧУРНОСОВ

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, Россия

Резюме

Цель исследования. Анализ роли генетических полиморфизмов матриксных металлопротеиназ (ММР), их ген-генных и генно-средовых взаимодействий при формировании ишемического инсульта (ИИ) у мужчин с артериальной гипертензией (АГ).

Материал и методы. В исследование вошли 523 мужчины с АГ: 201 — с ИИ и 322 — без инсульта. Связь локусов ММР с формированием инсульта на фоне АГ определяли методом логистического регрессионного анализа в доминантной, рецессивной, аддитивной генетических моделях в программе PLINK v.2.050. Для пяти однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), совместно расположенных на хромосоме 11 (314.3 kb), проводили гаплотипический анализ, связь гаплотипов с развитием инсульта определяли по EM-алгоритму. Ген-генные и генно-средовые взаимодействия ММР с курением и употреблением алкоголя при развитии инсульта оценивали методом Generalized Multifactor Dimensionality Reduction (GMDR) с помощью программного обеспечения GMDR v.0.9.

Результаты. Полиморфный локус rs3025058 ассоциирован с ИИ у мужчин в доминантной и аддитивной генетических моделях ($OR=0,63-0,74$, $p_{perm}=0,03$). Четыре гаплотипа ММР оказывают протективный эффект при развитии инсульта на фоне АГ ($OR=0,48-0,50$, $p_{perm}=0,02-0,03$). Четыре модели ген-генных взаимодействий полиморфных локусов ММР ($OR=2,19-2,55$, $p_{perm}<0,001$) и три четырехфакторные модели генно-средовых взаимодействий ММР со злоупотреблением алкоголем ($OR=2,82-3,11$, $p_{perm}<0,001$) ассоциированы с высоким риском развития ИИ у мужчин с АГ. Наибольший вклад в ген-генные и генно-средовые взаимодействия при формировании ИИ демонстрируют rs3025058, rs1320632, rs11225395 и rs1799750.

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о том, что при развитии инсульта на фоне АГ у мужчин значимую роль играют взаимодействия генов ММР между собой и с модифицируемыми факторами среды.

Ключевые слова: ишемический инсульт, матриксные металлопротеиназы, генно-средовые взаимодействия.

Информация об авторах:

Калинина М.И. — <https://orcid.org/0000-0003-0769-4095>

Пономаренко И.В. — <https://orcid.org/0000-0002-5652-0166>

Ефремова О.А. — <https://orcid.org/0000-0002-6395-1626>

Батлуцкая И.В. — <https://orcid.org/0000-0003-0068-6586>

Чурносков М.И. — <https://orcid.org/0000-0003-1254-6134>

Автор, ответственный за переписку: Калинина М.И. — e-mail: mariam31011989@yandex.ru

Как цитировать:

Калинина М.И., Пономаренко И.В., Ефремова О.А., Батлуцкая И.В., Чурносков М.И. Роль ген-генных и генно-средовых взаимодействий полиморфных локусов матриксных металлопротеиназ в формировании риска развития ишемического инсульта на фоне артериальной гипертензии у мужчин. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2022;122(8 вып. 2):41–47. <https://doi.org/10.17116/jnevro202212208241>

The role of gene-gene and gene-environmental interactions of polymorphic matrix metalloproteinases loci in the formation of the risk of stroke in men with hypertension

© M.I. KALININA, I.V. PONOMARENKO, O.A. EFREMOVA, I.V. BATLUTSKAYA, M.I. CHURNOSOV

Belgorod National Research University, Belgorod, Russia

Abstract

Objective. Analysis of the role of genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases (MMPs), their gene-gene and gene-environment interactions in the formation of ischemic stroke in men with arterial hypertension (AH).

Material and methods. The study included 523 men with arterial hypertension: 201 patients with ischemic stroke and 322 patients without stroke. The association of MMPs loci with stroke with hypertension was determined by logistic regression analysis

in dominant, recessive, additive genetic models in PLINK v.2.050. For five SNPs co-located on chromosome 11 (314.3 kb), haplotypic analysis was performed, the relationship of haplotypes with stroke development was determined by the EM algorithm. Gene-gene and gene-environment interactions of *MMPs* with smoking and alcohol consumption during stroke development were evaluated by GMDR (Generalized Multifactor Dimensionality Reduction) using GMDR v.0.9 software.

Results. Polymorphic locus rs3025058 is associated with stroke in men in dominant and additive genetic models (OR=0.63—0.74, $p_{perm}=0.03$). Four haplotypes of *MMPs* have a protective effect on the development of stroke with hypertension (OR=0.48—0.50, $p_{perm}=0.02—0.03$). Four models of gene-gene interactions of polymorphic *MMPs* loci (OR=2.19—2.55, $p_{perm}<0.001$) and three four-factor models of gene-environment interactions of *MMPs* with alcohol abuse (OR=2.82—3.11, $p_{perm}<0.001$) are associated with a high risk of ischemic stroke in men with hypertension. rs3025058, rs1320632, rs11225395 and rs1799750 demonstrate the greatest contribution to gene-gene and gene-environment interactions in the formation of AI.

Conclusion. Thus, the results of the study indicate that the interactions of *MMPs* genes with each other and with modifiable environmental factors play a significant role in the development of stroke with hypertension in men.

Keywords: ischemic stroke, matrix metalloproteinases, gene-environment interactions.

Information about the authors:

Kalinina M.I. — <https://orcid.org/0000-0003-0769-4095>

Ponomarenko I.V. — <https://orcid.org/0000-0002-5652-0166>

Efremova O.A. — <https://orcid.org/0000-0002-6395-1626>

Batlutskaya I.V. — <https://orcid.org/0000-0003-0068-6586>

Churnosov M.I. — <https://orcid.org/0000-0003-1254-6134>

Corresponding author: Kalinina M.I. — e-mail: mariam31011989@yandex.ru

To cite this article:

Kalinina MI, Ponomarenko IV, Efremova OA, Batlutskaya IV, Churnosov MI. The role of gene-gene and gene-environmental interactions of polymorphic matrix metalloproteinases loci in the formation of the risk of stroke in men with hypertension. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2022;122(8 vyp 2):41—47. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro202212208241>

В Российской Федерации в структуре общей смертности на долю инсультов приходится свыше 20% [1]. В возрастной группе 65 лет и старше через полгода после инсульта у 46% пациентов регистрируется когнитивный дефицит, а 26% постоянно нуждаются в посторонней помощи [2]. С учетом коррекции на возраст частота ишемического инсульта (ИИ) у мужчин на 30% выше, чем у женщин [3, 4].

Главным фактором риска развития инсульта является артериальная гипертензия (АГ). Между артериальным давлением (АД) и развитием инсульта существует прямопропорциональная, дифференцированная, прогностически и этиологически значимая связь [5, 6]. В настоящее время активно изучаются и генетические факторы риска развития острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), в том числе роль генетических полиморфизмов матричных металлопротеиназ (ММП) [7, 8]. Отвечая за расщепление компонентов внеклеточного матрикса, ММП задействованы во всех реакциях нейровоспалительного каскада, сопровождающих инфаркт мозга [9]. В ряде исследований установлено, что степень поражения при инсульте коррелирует с уровнем экспрессии генов *MMP* [10, 11]. Однако остается малоизученным вклад взаимодействия генетических полиморфизмов между собой и средовыми факторами при развитии цереброваскулярной патологии.

Цель настоящего исследования — изучение роли генетических полиморфизмов *MMP*, их ген-генных и генно-средовых взаимодействий при формировании риска развития ИИ у мужчин с АГ.

Материал и методы

Выборка для исследования сформирована на базе Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа (неврологическое и кардиологическое отделен-

ия) в 2013—2016 гг. Анализировались результаты обследования 523 мужчин: 201 — с ИИ на фоне АГ и 322 — с АГ, не имеющих острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) в анамнезе (контрольная группа).

Критерии включения: лица русской национальности, уроженцы Центрального Черноземья, не состоящие в родстве между собой, систолическое АД ≥ 140 мм рт.ст. и/или диастолическое АД ≥ 90 мм рт.ст.

Критерии невключения: наличие симптоматических и вторичных АГ, печеночной и почечной недостаточности, отказ от участия в исследовании. Более детально критерии включения и невключения были описаны нами ранее [8].

ИИ диагностировался специалистами неврологического отделения клинической больницы Святителя Иоасафа на основании неврологического осмотра, жалоб пациента, КТ или МРТ головного мозга. У мужчин атеротромботический подтип зарегистрирован у 81 (40,29%), кардиоэмболический — у 46 (22,89%), гемодинамический — у 50 (24,87%), лакунарный — у 24 (11,95%). Среди обследуемых не было пациентов с артерио-артериальными эмболиями и инсультом по типу гемореологической микроокклюзии.

Диагноз АГ устанавливался в соответствии с рекомендациями по диагностике и лечению АГ Всероссийского научного общества кардиологов [12]. Для всех респондентов регистрировали индекс массы тела (ИМТ, кг/м²), общий холестерин (ОХС), холестерин липопротеидов высокой (ХС-ЛВП) и низкой (ХС-ЛНП) плотности, триглицериды (ТГ), статус курения, злоупотребление алкоголем. Кровь для биохимического анализа отбиралась после 8-часового голодания, анализ проводился в БОКБ Святителя Иоасафа. Курение определялось как выкуривание одной или более сигарет ежедневно в течение последнего года. Злоупотребление алкоголем определялось как употребление 50 г алкоголя в день в течение 1 года и более [13].

Таблица 1. Клинические характеристики пациентов с ИИ и мужчин контрольной группы

Table 1. Clinical characteristics of patients with IS and men of the control group

Показатель	Пациенты с ИИ (n=201)	Пациенты без ИИ (n=322)	p
Возраст, годы	58,11±7,09	57,18±7,62	0,42
ИМТ, кг/м ²	30,29±5,27	31,29±3,95	0,17
ОХС, ммоль/л	5,55 [5,00—6,60]	5,33 [4,80—6,20]	0,04*
ХС-ЛВП, ммоль/л	1,17 [0,99—1,60]	1,30 [1,06—1,55]	0,04*
ХС-ЛНП, ммоль/л	3,85 [3,10—4,80]	3,60 [2,93—4,20]	0,002*
ТГ, ммоль/л	2,01 [1,45—2,87]	1,62 [1,21—2,22]	0,001*
Курение, n (%)	124 (62,00)	182 (56,70)	0,27
Злоупотребление алкоголем, n (%)	30 (15,23)	12 (3,92)	0,001*

Примечание. Данные представлены в виде абсолютного числа больных (n) и %, среднего значения ± стандартного отклонения (M±SD), медианы и межквартильного размаха (Me [Q₁—Q₃]); * — статистически значимые отличия между группами.

Note. The data are presented in the form of an absolute number of patients (n) and %, mean ± standard deviation (M±SD), median and interquartile range (Me [Q₁—Q₃]); * — statistically significant differences between groups.

Таблица 2. Ассоциации генотипов полиморфных локусов генов MMP с риском развития ИИ на фоне АГ у мужчин

Table 2. Associations of genotypes of polymorphic loci of genes of MMPs with ischemic stroke in the presence of hypertension in men

Полиморфизм	Модель	OR (95% ДИ)	p _{perm}
rs11568818 MMP7	Доминантная (AG/GG vs AA)	0,76 (0,51—2,14)	0,18
	Рецессивная (GG vs AG/AA)	0,71 (0,42—1,19)	0,19
	Аддитивная (AG vs GG vs AA)	0,79 (0,60—1,05)	0,11
rs1320632 MMP8	Доминантная (AG/GG vs AA)	1,46 (0,87—2,45)	0,15
	Рецессивная (GG vs AG/AA)	1,42 (0,27—2,58)	0,68
	Аддитивная (AG vs GG vs AA)	1,39 (0,87—2,20)	0,17
rs11225395 MMP8	Доминантная (CT/TT vs CC)	0,90 (0,59—1,36)	0,61
	Рецессивная (TT vs CT/CC)	1,01 (0,79—2,17)	0,33
	Аддитивная (CT vs TT vs CC)	1,03 (0,79—1,35)	0,82
rs1799750 MMP1	Доминантная (1G2G/2G2G vs 1G1G)	1,31 (0,86—2,01)	0,21
	Рецессивная (2G2G vs 1G2G/1G1G)	1,22 (0,77—1,94)	0,40
	Аддитивная (1G2G vs 2G2G vs 1G1G)	1,20 (0,91—1,57)	0,19
rs3025058 MMP3	Доминантная (5A6A/5A5A vs 6A6A)	0,63 (0,42—0,95)	0,03*
	Рецессивная (5A5A vs 5A6A/6A6A)	0,72 (0,44—1,18)	0,20
	Аддитивная (5A6A vs 6A6A vs 5A5A)	0,74 (0,56—0,97)	0,03*
rs652438 MMP12	Доминантная (GA/GG vs AA)	1,14 (0,65—2,01)	0,64
	Рецессивная (GG vs GA/AA)	2,10 (0,18—4,36)	0,55
	Аддитивная (GA vs GG vs AA)	1,17 (0,69—1,96)	0,57
rs243865 MMP2	Доминантная (TC/TT vs CC)	1,29 (0,88—1,90)	0,19
	Рецессивная (TT vs TC/CC)	1,63 (0,79—3,39)	0,19
	Аддитивная (TC vs TT vs CC)	1,28 (0,94—1,73)	0,12

Примечание. OR — показатель отношения шансов, 95% ДИ — его 95% доверительный интервал, * — статистически значимые отличия.

Note. OR — the odds ratio indicator, 95% CI — its 95% confidence interval, * — significant differences.

Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования был рассмотрен и одобрен Этическим комитетом медицинского института НИУ «БелГУ» (протокол №8 от 10 апреля 2013 г.). От всех пациентов было получено информированное согласие на проведение исследования. Клинические характеристики мужчин, включенных в исследование, представлены в **табл. 1**. Пациенты с инсультом и пациенты с АГ без ИИ сопоставимы по возрасту, ИМТ и курению ($p > 0,05$), однако значительно отличались по показателям липидного профиля и злоупотреблению алкоголем ($p < 0,05$).

Следует отметить, что у обследованных мужчин чаще всего регистрировалась тяжелая (39,7%) и умеренная (26,9%) АГ, при этом только 34,9% респондентов пост-

янно принимали антигипертензивные препараты. Среди осложнений АГ чаще всего встречались кардиальные (54,7%), а у 23,8% мужчин с АГ диагностирована ишемическая болезнь сердца.

Генетический анализ. Пациентам, включенным в исследование, проведено генотипирование семи полиморфных локусов (rs1799750, rs243865, rs3025058, rs11568818, rs1320632, rs11225395, rs652438), отобранных ввиду их регуляторного потенциала и влияния на экспрессию генов [14, 15]. Методы выделения геномной ДНК и генотипирования были представлены нами ранее [8].

Статистический анализ. Оценку соответствия частот генотипов равновесию Харди—Вайнберга проводили с использованием критерия χ^2 . Связь полиморфных локусов MMP с формированием риска развития инсульта на фоне АГ у мужчин определяли методом логистического регрес-

Таблица 3. Гаплотипы MMP, ассоциированные с развитием ИИ на фоне АГ у мужчин
Table 3. The haplotypes of MMPs associated with the development of ischemic stroke in the presence of hypertension in men

№	Полиморфные локусы				Частота гаплотипа		OR	p_{perm}	
	rs1320632 MMP8	rs11225395 MMP8	rs1799750 MMP1	rs3025058 MMP3	rs652438 MMP12	Пациенты с ИИ ($n=203$), %			Пациенты без ИИ ($n=322$), %
H1		C	IG	5A		12,09	18,13	0,50	0,03
H2		C	IG	5A	A	11,20	17,16	0,49	0,02
H3	A	C	IG	5A		12,31	19,08	0,50	0,03
H4	A	C	IG	5A	A	11,15	18,14	0,48	0,03

Примечание. Получено методом логистической регрессии с поправкой на ИМТ, ОХС, ХС-ЛВП, ХС-ЛНП, ТГ, злоупотребление алкоголем.
Note. Adjusted for BMI, TC, HDL-C, LDL-C, TG, alcohol abuse.

сионного анализа (доминантная, рецессивная, аддитивная генетические модели) в программе PLINK v.2.050 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/plink2.shtml>). Для SNP rs11568818, rs1320632, rs11225395, rs1799750 и rs3025058, совместно расположенных на хромосоме 11 (314.3 kb), проводили гаплотипический анализ. Частоты комбинаций и их связь с развитием инсульта определяли по EM-алгоритму, гаплотипы с частотой <5% исключались из анализа. Полученные результаты корректировали с помощью адаптивного пермутационного теста, статистически значимым уровнем считали $p_{perm} < 0,05$. Ген-генные и генно-средовые взаимодействия MMP с употреблением алкоголя при развитии инсульта у мужчин оценивали методом Generalized Multifactor Dimensionality Reduction (GMDR) с помощью программного обеспечения GMDR (v0.9, <https://www.uab.edu/hcgs/bioinformatics>). Отбирались трех- и четырехфакторные модели взаимодействий, воспроизводимость (CVC) которых составляла не менее 9/10, а точность предсказания (ТВА) — >55%, при уровне значимости $p < 0,0107$. Полученные результаты валидировались проведением пермутационного теста, выполнялось 1000 пермутаций при 10 кросс-валидациях, что обеспечивает $p_{perm} < 0,001$. Характер и силу взаимодействия генов MMP между собой и с факторами среды при формировании риска развития инсульта оценивали в % энтропии методом MDR, далее взаимодействия визуализировали в виде графа (программа MDR, vers. 3.0.2) (<http://sourceforge.net/projects/mdr>).

Результаты

Частоты аллелей и генотипов в обеих группах для всех однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) соответствовали равновесию Харди—Вайнберга ($p > 0,05$) и были сопоставимы с частотами по этим локусам в европейских популяциях. Результаты логистического регрессионного анализа представлены в **табл. 2**. Полиморфный локус rs3025058 ассоциирован с ИИ у мужчин в доминантной и аддитивной моделях ($p_{perm} = 0,03$) и оказывает протективное влияние при развитии заболевания (OR=0,63—0,74).

Установлены четыре гаплотипа MMP, частота которых достоверно отличается в группах мужчин с инсультом на фоне АГ и лиц без ОНМК ($p_{perm} = 0,02—0,03$) (**табл. 3**). Все выявленные комбинации оказывают протективный эффект на формирование инсульта у их носителей (OR=0,48—0,50).

С помощью метода GMDR установлены четыре наиболее значимые модели ген-генных взаимодействий MMP, связанные с развитием инсульта у мужчин ($p_{perm} < 0,001$) (**табл. 4**). При этом rs11225395 присутствует во всех выявленных моделях, а сочетание rs1320632 и rs11225395 входит в состав двух из четырех моделей.

При анализе генно-средовых взаимодействий полиморфных локусов MMP со злоупотреблением алкоголем установлены три четырехфакторные модели, ассоциированные с высоким риском развития инсульта у мужчин (OR=2,82—3,11, $p_{perm} < 0,001$) (**табл. 5**). Следует отметить, что в выявленные комбинации входят rs3025058, rs1320632, rs11225395 и rs1799750, которые ранее демонстрировали межгенные взаимодействия при формировании риска развития инсульта на фоне АГ.

Сила и направленность взаимодействий между полиморфными генами MMP и злоупотреблением алкоголем при развитии инсульта представлены в виде графа (**см. рисунок на цв. вклейке**). Показано, что между по-

Таблица 4. Модели ген-генных взаимодействий MMP, ассоциированные с развитием ИИ у мужчин (n=523)

Table 4. Gene-gene interaction models of MMPs associated with the development of ischemic stroke in men (n=523)

Модели ген-генных взаимодействий	OR (95% ДИ)	Test Bal. Acc. (%)	p
rs1799750 <i>MMP1</i> ×rs3025058 <i>MMP3</i> ×rs11225395 <i>MMP8</i>	2,55 (1,49—4,37)	57,00	0,01
rs3025058 <i>MMP3</i> ×rs1320632 <i>MMP8</i> ×rs11225395 <i>MMP8</i>	2,45 (1,44—4,18)	58,70	0,01
rs1799750 <i>MMP1</i> ×rs1320632 <i>MMP8</i> ×rs11225395 <i>MMP8</i>	2,19 (1,28—3,74)	56,93	0,01
rs1799750 <i>MMP1</i> ×rs11568818 <i>MMP7</i> ×rs11225395 <i>MMP8</i>	2,40 (1,40—4,11)	56,60	0,01

Примечание. Получено методом GMDR с учетом ковариат; Test Bal. Acc. — точность предсказания модели (%), при проведении пермутационного теста выполнено 1000 пермутаций при 10 кросс-валидациях, что обеспечивает $p_{\text{perm}} < 0,001$.

Note. Obtained by GMDR method including covariates; Test Bal. Acc. — Test account balance (%), during the permutation test 1000 permutations were performed with 10 cross-validations, which provides $p_{\text{perm}} < 0.001$.

Таблица 5. Модели генно-средовых взаимодействий MMP, ассоциированные с формированием риска развития ИИ у мужчин (n=523)

Table 5. Gene-environmental interaction models of MMPs associated with the development of IS in men (n=523)

Модели генно-средовых взаимодействий	OR (95% ДИ)	Test Bal. Acc. (%)	p
Alcohol abuse×rs1799750 <i>MMP1</i> ×rs3025058 <i>MMP3</i> ×rs11225395 <i>MMP8</i>	3,11 (1,83—5,29)	56,71	0,01
Alcohol abuse×rs3025058 <i>MMP3</i> ×rs1320632 <i>MMP8</i> ×rs11225395 <i>MMP8</i>	3,02 (1,78—5,13)	57,99	0,01
Alcohol abuse×rs1799750 <i>MMP1</i> ×rs1320632 <i>MMP8</i> ×rs11225395 <i>MMP8</i>	2,82 (1,65—4,84)	59,76	0,001

Примечание. Получено методом GMDR с учетом ковариат; alcohol abuse — злоупотребление алкоголем; при проведении пермутационного теста выполнено 1000 пермутаций при 10 кросс-валидациях, что обеспечивает $p_{\text{perm}} < 0,001$.

Note. Obtained by GMDR method including covariates; during the permutation test 1000 permutations were performed with 10 cross-validations, which provides $p_{\text{perm}} < 0.001$.

треблением алкоголя и rs11225395, rs3025058, rs11568818, rs243865 выраженный антагонистический тип взаимодействий (от $-1,70\%$ до $-2,24\%$ энтропии). Примечательно, что сочетание rs3025058 и rs11225395 встречается в двух из трех выявленных нами моделей, что подтверждает вклад данных SNP и их взаимодействий с потреблением алкоголя в формирование предрасположенности к инсульту у мужчин.

Таким образом, шесть из семи изученных SNP ассоциированы с развитием ИИ у мужчин, при этом наибольший вклад демонстрируют локусы rs3025058, rs11225395 и rs1799750. Нами не было установлено значимых ассоциаций с развитием инсульта у мужчин rs652438.

Обсуждение

MMP являются одними из основных модуляторов внеклеточного матрикса, обеспечивают протеолиз его компонентов в норме и при патологических процессах, а также расщепляют молекулы клеточной адгезии, нейротрофины и цитокины [16, 17]. Ранняя активация *MMP* в острую фазу ИИ опосредует гибель нейронов и нарушение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), что ведет к геморрагическому повреждению и инфильтрации воспалительных клеток в область инфаркта [18]. Предшествующие исследования демонстрируют связь генов *MMP* с развитием сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний [19—25]. В настоящем исследовании установлено, что в формирование риска развития ИИ на фоне АГ у мужчин вовлечены rs3025058, rs11568818, rs1320632, rs11225395, rs652438 и rs1799750, при этом SNP генов *MMP3*, *MMP8* и *MMP1* демонстрируют наибольший вклад.

Полиморфный локус rs3025058 *MMP3* ассоциирован с развитием ИИ как самостоятельно, так и в составе гаплотипов и моделей ген-генных и генно-средовых взаимодействий ($p=0,01—0,03$). Данный генетический вариант обусловлен вставкой (6A) или делецией (5A) нуклеотида

в положении -1612 промотора гена *MMP3*, кодирующего одноименный белок. *MMP3* является ключевым членом семейства *MMP*, способным активировать другие протеолитические ферменты, включая *MMP1*, *MMP8*, *MMP9* и *MMP13* [26]. Последние данные свидетельствуют о том, что повышенная экспрессия *MMP3* в атеросклеротических бляшках приводит к увеличению их уязвимости и разрыву, что является основной причиной ИИ [27]. Полученные нами данные согласуются с исследованиями других популяций. Так, среди итальянского населения частота аллеля 6A rs3025058 была достоверно выше в группе пациентов с ОНМК по сравнению с контрольной группой (OR=1,58, $p<0,02$) [21], а в работе R. Sherva и соавт. [22] был установлен протективный эффект генотипа 5A/5A rs3025058 при развитии ИИ в американской популяции (OR=0,51, $p=0,017$). В то же время в исследовании Q. Zhang [23], напротив, не было установлено связи rs3025058 с развитием ИИ, что может быть обусловлено различиями в дизайне исследований.

Генетические полиморфизмы rs11225395 и rs1799750 входят в состав большинства гаплотипов и моделей ген-генных и генно-средовых взаимодействий, ассоциированных с развитием инсульта. Полиморфный вариант rs11225395 обусловлен заменой C на T в позиции -799 промотора гена *MMP8*, а rs1799750 — вставкой дополнительно гуанина в позиции -1607 промоторного участка *MMP1*. Согласно данным исследования, в тайваньской популяции rs11225395 *MMP8* ассоциирован с развитием ИИ в рецессивной генетической модели (OR=1,24, $p<0,01$), а также в комбинации со злоупотреблением алкоголем (OR=1,40, $p<0,05$) [28]. При изучении итальянской популяции G. Ghilardi и соавт. [21] показан синергичный эффект вариантов 2G rs1799750 *MMP1* и 6A rs3025058 *MMP3* при развитии цереброваскулярной патологии (OR=2,66, $p=0,016$), что также согласуется с нашими результатами. В то же время в туниской популяции ассоциация полиморфного локуса

rs1799750 *MMP1* с заболеваемостью ИИ не достигала статистически значимого уровня ($p=0,074$) [29]. В доступной печати лишь единичные работы посвящены изучению роли взаимодействий генов *MMP* между собой и с факторами внешней среды при формировании предрасположенности к ИИ, что диктует необходимость дальнейших исследований этого вопроса. Так, F. Hsieh и соавт. [28] установлено, что комбинированное влияние полиморфных локусов *MMP7*, *MMP8*, *MMP26* и модифицируемых факторов риска, в том числе курения и употребления алкоголя, значительно повышает риск развития ИИ ($OR=5,75$, $p<0,05$).

В настоящем исследовании были установлены генно-средовые взаимодействия *MMP* со злоупотреблением алкоголем при развитии инсульта. Известно, что алкоголь выступает самостоятельным фактором риска развития церебральных сосудистых заболеваний. Так, в работе K. Reynolds и соавт. [30] установлена связь между употреблением пациентами более 60 г алкоголя в день и относительным риском ИИ ($OR=1,69$, 95% ДИ 1,34–2,15, $p<0,01$). Также установлено, что под действием этанола значительно увеличивается концентрация *MMP1*, *MMP2*, *MMP3*, *MMP7* [31]. Этанол-индуцированный окислительный стресс в тканях мозга запускает молекулярные каскады, опосредующие актива-

цию *MMP*, что ведет к нарушению ГЭБ и повышает восприимчивость клеток к ишемическому повреждению [32, 33].

Заключение

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что в формировании риска развития инсульта на фоне АГ у мужчин значимую роль играют взаимодействия генов *MMP* между собой и со злоупотреблением алкоголем. Выявлены четыре гаплотипа ($p_{perm}=0,02-0,03$), четыре модели ген-генных и три модели генно-средовых взаимодействий *MMP* с алкоголем ($p_{perm}<0,001$), ассоциированные с развитием ИИ. Установлены направленность и сила взаимодействия между генами *MMP* и алкоголем при формировании ИИ. Наше исследование имеет некоторые ограничения. Так, в выборку для исследования включались только мужчины; было проанализировано только семь полиморфных локусов шести генов *MMP*; при анализе генно-средовых взаимодействий не были изучены другие, потенциально значимые средовые факторы риска ИИ.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.**

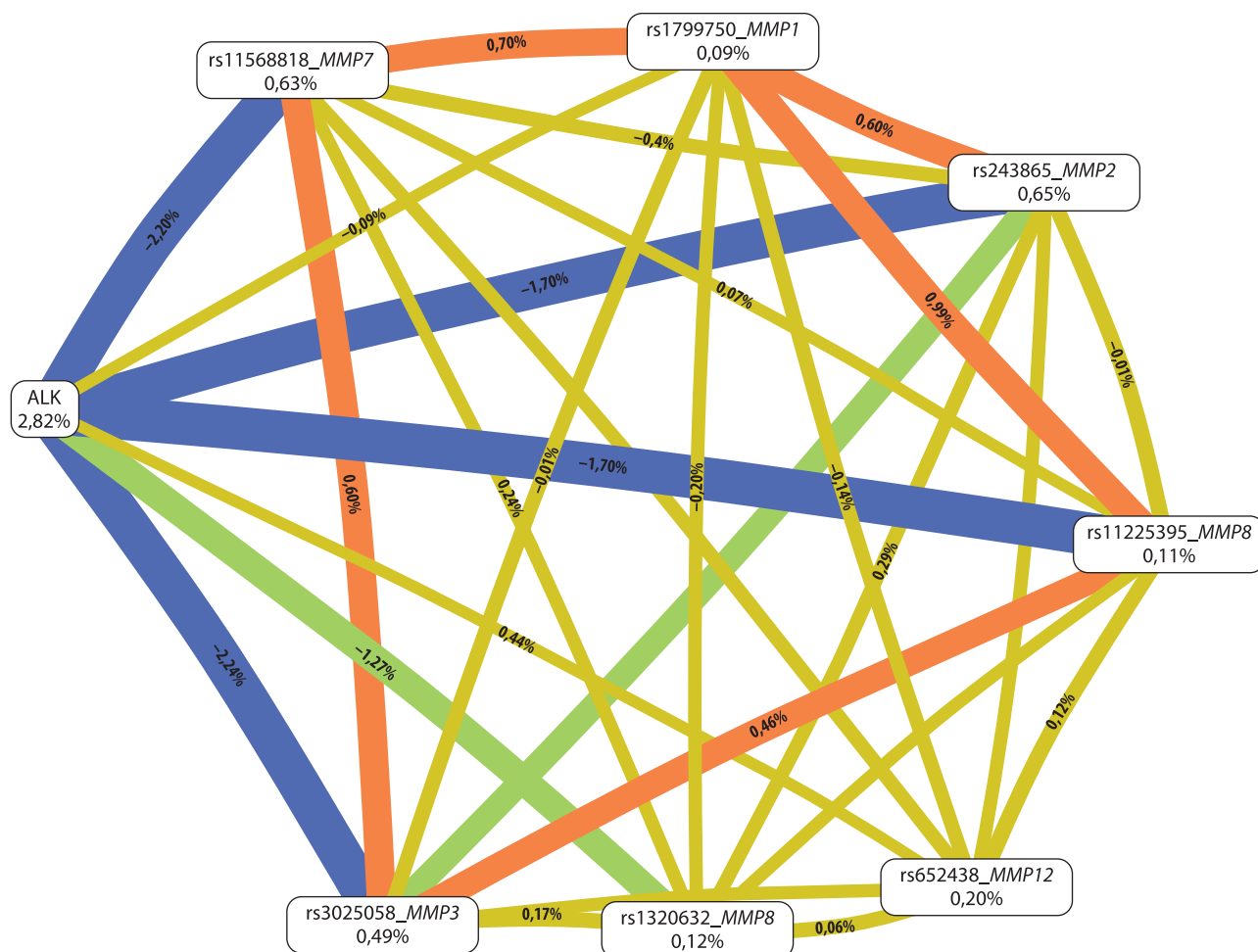
ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Special report from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Classification of cerebrovascular diseases III. *Stroke*. 1990;21(4):637-676. <https://doi.org/10.1161/01.str.21.4.637>
- Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, et al. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee Heart disease and stroke statistics — 2014 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2014;129:e28-e292. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000441139.02102.80>
- Madsen TE, Khoury J, Alwell K, et al. Sex-specific stroke incidence over time in the Greater Cincinnati/Northern Kentucky Stroke Study. *Neurology*. 2017;89(10):990-996. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004325>
- Barker-Collo S, Bennett DA, Krishnamurthi RV, et al. GBD 2013 Writing Group; GBD 2013 Stroke Panel Experts Group. Sex differences in stroke incidence, prevalence, mortality and disability-adjusted life years: results from the Global Burden of Disease Study 2013. *Neuroepidemiology*. 2015;45(3):203-214. <https://doi.org/10.1159/000441103>
- Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003;289:2560-2572. <https://doi.org/10.1001/jama.289.19.2560>
- Polonikov AV, Ushachev DV, Ivanov VP, et al. Altered erythrocyte membrane protein composition mirrors pleiotropic effects of hypertension susceptibility genes and disease pathogenesis. *Journal of Hypertension*. 2015;33(11):2265-2277. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000699>
- Moskalenko M, Ponomarenko I, Reshetnikov E, et al. Polymorphisms of the matrix metalloproteinase genes are associated with essential hypertension in a Caucasian population of Central Russia. *Scientific Reports*. 2021;11(1):5224. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84645-4>
- Москаленко М.И., Пономаренко И.В., Полоников А.В. и др. Роль стрессового фактора в реализации генетической предрасположенности к развитию инсульта на фоне гипертонической болезни. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019;119(3 вып. 2):11-17.
- Moskalenko MI, Ponomarenko IV, Polonikov AV, et al. The role of the stress factor in the realization of the genetic predisposition to the development of stroke in patients with essential hypertension. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii im. S.S. Korsakova*. 2019;119(3 вып 2):11-17. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro201911903211>
- Gori AM, Giusti B, Piccardi B. Inflammatory and metalloproteinases profiles predict three-month poor outcomes in ischemic stroke treated with thrombolysis. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2017;37(9):3253-3261. <https://doi.org/10.1177/0271678X17695572>
- Müller A, Krämer SD, Meletta R, et al. Gene expression levels of matrix metalloproteinases in human atherosclerotic plaques and evaluation of radiolabeled inhibitors as imaging agents for plaque vulnerability. *Nucl Med Biol*. 2014;41(7):562-569. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2014.04.085>
- Montaner J, Ramiro L, Simats A, et al. Matrix metalloproteinases and ADAMs in stroke. *Cell Mol Life Sci*. 2019;76(16):3117-3140. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03175-5>
- Бритов А.Н., Поздняков Ю.М. Кардиоваскулярная профилактика. Национальные рекомендации. ВНОК. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2011;10(6):57. Britov AN, Pozdnyakov YM. Cardiovascular prevention. National recommendations. VNOK. *Cardiovascular Therapy Prevention*. 2011;10(6):57. (In Russ.). ISSN: 1728-8800.
- Hoepfer MM, Bogaard HJ, Condliffe R, et al. Definitions and Diagnosis of Pulmonary Hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;62(25):42-50. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.10.032>
- Москаленко М.И. Вовлеченность генов матриксных металлопротеиназ в формирование артериальной гипертензии и ее осложнений (обзор). *Научный результат. Медицина и фармация*. 2018;4(1):53-69. Moskalenko MI. The involvement of genes of matrix metalloproteinases in the development of arterial hypertension and its complication (review). *Research Result. Medicine and Pharmacy*. 2018;4(1):53-69. (In Russ.). <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2018-4-1-53-69>
- Полоников А.В., Клесова Е.Ю., Азарова Ю.Э. Биоинформатические инструменты и интернет-ресурсы для оценки регуляторного потенциала полиморфных локусов, установленных полногеномными ассоциативными исследованиями мультифакториальных заболеваний (обзор). *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2021;7(1):15-31.

- Polonikov AV, Klyosova EYu, Azarova IE. Bioinformatic tools and internet resources for functional annotation of polymorphic loci detected by genome wide association studies of multifactorial diseases (review). *Research Results in Biomedicine*. 2021;7(1):15-31. (In Russ.).
https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-2
16. Rivera S, Khrestchatisky M, Kaczmarek L, et al. Metzincin proteases and their inhibitors: foes or friends in nervous system physiology? *J Neurosci*. 2010;30(46):15337-15357.
https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3467-10.2010
 17. Vafadari B, Salamian A, Kaczmarek L. MMP-9 in translation: from molecule to brain physiology, pathology, and therapy. *J Neurochem*. 2016;139(suppl 2):91-114.
https://doi.org/10.1111/jnc.13415
 18. Jin R, Yang G, Li G. Molecular insights and therapeutic targets for blood-brain barrier disruption in ischemic stroke: critical role of matrix metalloproteinases and tissue-type plasminogen activator. *Neurobiol Dis*. 2010;38:376-385.
https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.03.008
 19. Москаленко М.И., Пономаренко И.В., Верзилина И.Н. и др. Роль ген-генных и генно-средовых взаимодействий полиморфных локусов MMP в формировании артериальной гипертензии у женщин. *Артериальная гипертензия*. 2020;26(5):518-525.
Moskalenko MI, Ponomarenko IV, Verzilina IN, et al. The role of gene-gene and geneenvironment interactions of polymorphic locuses of MMPs in the formation of hypertension in women. *Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2020;26(5):518-525. (In Russ.).
https://doi.org/10.18705/1607-419X-2020-26-5-518-525
 20. Zhang G, Li W, Guo Y, et al. MMP Gene Polymorphisms, MMP-1-1607 1G/2G, -519 A/G, and MMP-12-82 A/G, and Ischemic Stroke: A Meta-Analysis. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2018;27(1):140-152.
https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.08.021
 21. Ghilardi G, Biondi ML, DeMonti M, et al. Matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-3 gene promoter polymorphisms are associated with carotid artery stenosis. *Stroke*. 2002;33(10):2408-2412.
https://doi.org/10.1161/01.str.0000031929.05665.da
 22. Sherva R, Ford CE, Eckfeldt JH, et al. Pharmacogenetic effect of the stromelysin (MMP3) polymorphism on stroke risk in relation to antihypertensive treatment: The GenHAT Study. *Stroke; a Journal of Cerebral Circulation*. 2011;42(2):34-38.
https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.593798
 23. Zhang QW. Association of the matrix metalloproteinase-3 polymorphisms rs679620 and rs3025058 with ischemic stroke risk: a meta-analysis. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2018;14:419-427.
https://doi.org/10.2147/NDT.S152256
 24. Polonikov AV, Ponomarenko IV, Bykanova MA, et al. A comprehensive study revealed SNP-SNP interactions and a sex-dependent relationship between polymorphisms of the CYP2J2 gene and hypertension risk. *Hypertens Res*. 2019;42(2):257-272.
https://doi.org/10.1038/s41440-018-0142-1
 25. Polonikov, A, Rymarova, L, Klyosova, E, et al. Matrix metalloproteinases as target genes for gene regulatory networks driving molecular and cellular pathways related to a multistep pathogenesis of cerebrovascular disease. *J Cell Biochem*. 2019;120:16467-16482.
https://doi.org/10.1002/jcb.28815
 26. Zhao JH, Xu YM, Xing HX. Associations between matrix metalloproteinase gene polymorphisms and the development of cerebral infarction. *Genet Mol Res*. 2016;14(4):19418-19424.
https://doi.org/10.4238/2015.December.30.3
 27. Clee SM. A role for MMP-3 genetic variation in atherosclerosis susceptibility? *Atherosclerosis*. 2010;208:30-31.
https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2009.09.019
 28. Hsieh FI, Chiou HY, Hu CJ, et al. Combined Effects of MMP-7, MMP-8 and MMP-26 on the Risk of Ischemic Stroke. *J Clin Med*. 2019;8(11):2011.
https://doi.org/10.3390/jcm8112011
 29. Chehaibi K, Hrirra MY, Nouira S, et al. Matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-12 gene polymorphisms and the risk of ischemic stroke in a Tunisian population. *J Neurol Sci*. 2014;342:107-113.
https://doi.org/10.1016/j.jns.2014.04.036
 30. Reynolds K, Lewis B, Nolen JD, et al. Alcohol consumption and risk of stroke: a meta-analysis. *JAMA*. 2003;289(5):579-588.
https://doi.org/10.1001/jama.289.5.579
 31. Liu J, Khalil RA. Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Investigational and Therapeutic Tools in Unrestrained Tissue Remodeling and Pathological Disorders. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2017;148:355-420.
https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.04.003
 32. Осипова О.А., Гостева Е.В., Белоусова О.Н. и др. Динамика маркеров фиброза и дисфункции эндотелия сосудистой стенки при применении бета-адреноблокаторов у пожилых пациентов с гипертонической болезнью после перенесенного ишемического инсульта. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021;20(8):3087.
Osipova OA, Gosteva EV, Belousova ON, et al. Dynamics of fibrotic and vascular endothelial dysfunction markers in elderly hypertensive patients after ischemic stroke receiving beta-blockers. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(8):3087. (In Russ.).
https://doi.org/10.15829/1728-8800-2021-3087
 33. Haorah J, Schall K, Ramirez SH, et al. Activation of protein tyrosine kinases and matrix metalloproteinases causes blood-brain barrier injury: Novel mechanism for neurodegeneration associated with alcohol abuse. *Glia*. 2008;56(1):78-88.
https://doi.org/10.1002/glia.20596

Поступила 02.02.2022
Received 02.02.2022
Принята к печати 02.02.2022
Accepted 02.02.2022

К статье М.И. Калининой и соавт. «Роль ген-генных и генно-средовых взаимодействий полиморфных локусов матриксных металлопротеиназ в формировании риска развития инсульта на фоне артериальной гипертензии у мужчин»



Граф генно-средовых взаимодействий MMP с алкоголем (ALK) при развитии ИИ у мужчин с АГ.

Цвет линий отражает характер взаимодействия при формировании фенотипа: синий — выраженный антагонизм, коричневый — аддитивное взаимодействие; оранжевый — умеренный синергизм, зеленый — умеренный антагонизм. Сила и направленность взаимодействия выражены в % энтропии.

Graph of genetic-environmental interactions of MMPs with alcohol (ALK) in the development of ischemic stroke in men with hypertension.

The color of the lines reflects the nature of the interaction during the formation of the phenotype: blue — antagonism, brown — additive interaction; orange — synergy, green — moderate antagonism. The strength and direction of the interaction are expressed in % of entropy.