



New Day in Medicine
Новый День в Медицине

NDM



TIBBIOVIYOTDA YANGI KUN

Ilmiy referativ, marifiy-ma'naviy jurnal



AVICENNA-MED.UZ



ISSN 2181-712X.
EISSN 2181-2187

12(50)2022

Сопредседатели редакционной коллегии:

**Ш. Ж. ТЕШАЕВ,
А. Ш. РЕВИШВИЛИ**

Ред. коллегия:

М.И. АБДУЛЛАЕВ
А.А. АБДУМАЖИДОВ
А.Ш. АБДУМАЖИДОВ
Р.Б. АБДУЛЛАЕВ
М.М. АКБАРОВ
Х.А. АКИЛОВ
М.М. АЛИЕВ
С.Ж. АМИНОВ
Ш.Э. АМОНОВ
Ш.М. АХМЕДОВ
Ю.М. АХМЕДОВ
Т.А. АСКАРОВ
Ж.Б. БЕКНАЗАРОВ (главный редактор)
Е.А. БЕРДИЕВ
Б.Т. БУЗРУКОВ
Р.К. ДАДАБАЕВА
М.Н. ДАМИНОВА
К.А. ДЕХКОНОВ
Э.С. ДЖУМАБАЕВ
А.Ш. ИНОЯТОВ
С. ИНДАМИНОВ
А.И. ИСКАНДАРОВ
С.И. ИСМОИЛОВ
Э.Э. КОБИЛОВ
Д.М. МУСАЕВА
Т.С. МУСАЕВ
Ф.Г. НАЗИРОВ
Н.А. НУРАЛИЕВА
Б.Т. РАХИМОВ
Ш.И. РУЗИЕВ
С.А. РУЗИБОЕВ
С.А. ГАФФОРОВ
Ж.Б. САТТАРОВ
Б.Б. САФОЕВ (отв. редактор)
И.А. САТИВАЛДИЕВА
Д.И. ТУКСАНОВА
М.М. ТАДЖИЕВ
А.Ж. ХАМРАЕВ
А.М. ШАМСИЕВ
А.К. ШАДМАНОВ
Н.Ж. ЭРМАТОВ
Б.Б. ЕРГАШЕВ
Н.Ш. ЕРГАШЕВ
И.Р. ЮЛДАШЕВ
Д.Х. ЮЛДАШЕВА
А.С. ЮСУПОВ
М.Ш. ХАКИМОВ
К.А. ЕГЕЗАРЯН (Россия)
DONG JINCHENG (Китай)
КУЗАКОВ В.Е. (Россия)
Я. МЕЙЕРНИК (Словакия)
В.А. МИТИШ (Россия)
В.И. ПРИМАКОВ (Беларусь)
О.В. ПЕШИКОВ (Россия)
А.А. ПОТАПОВ (Россия)
А.А. ТЕПЛОВ (Россия)
Т.Ш. ШАРМАНОВ (Казахстан)
А.А. ЩЕГОЛОВ (Россия)
Prof. Dr. KURBANHAN MUSLUMOV (Azerbaijan)
Prof. Dr. DENIZ UYAK (Germany)

www.bsmi.uz

<https://newdaymedicine.com>

E: ndmuz@mail.ru

Тел: +99890 8061882

**ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН
НОВЫЙ ДЕНЬ В МЕДИЦИНЕ
NEW DAY IN MEDICINE**

Илмий-рефератив, маънавий-маърифий журнал

*Научно-реферативный,
духовно-просветительский журнал*

УЧРЕДИТЕЛИ:

**БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ООО «ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН»**

Национальный медицинский
исследовательский центр хирургии имени
А.В. Вишневского является генеральным
научно-практическим
консультантом редакции

Журнал был включен в список журнальных
изданий, рецензируемых Высшей
Аттестационной Комиссией
Республики Узбекистан
(Протокол № 201/03 от 30.12.2013 г.)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

М.М. АБДУРАХМАНОВ (Бухара)
Г.Ж. ЖАРЫЛКАСЫНОВА (Бухара)
А.Ш. ИНОЯТОВ (Ташкент)
Г.А. ИХТИЁРОВА (Бухара)
Ш.И. КАРИМОВ (Ташкент)
У.К. КАЮМОВ (Тошкент)
Ш.И. НАВРУЗОВА (Бухара)
А.А. НОСИРОВ (Ташкент)
А.Р. ОБЛОКУЛОВ (Бухара)
Б.Т. ОДИЛОВА (Ташкент)
Ш.Т. УРАКОВ (Бухара)

12 (50)

2022

декабрь



Received: 20.11.2022
Accepted: 29.11.2022
Published: 20.12.2022

УДК 617.58-007.64

ВЛИЯНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМОВ rs1799750 ГЕНА MMP1 И rs2276109 ГЕНА MMP-12 НА РАЗВИТИЕ ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ И ЕЕ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ

¹Яриев А.А., ²Бобоев К.Т., Таджибаев А.Т.

¹Сырдарьинского филиала Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи МЗ РУз

²Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра гематологии МЗ РУз

³Сырдарьинский филиал Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи МЗ РУз

✓ Резюме

Цель. Оценка влияния полиморфизмов rs1799750 гена MMP1 и rs2276109 гена MMP12 в развитии варикозной болезни нижних конечностей (ВБНК) и ее тромботических осложнений.

Материал и методы. Всего в исследовании были задействовано 316 человек, из них 161 больных с ВБНК и венозными тромбозами были включены в основную группу, в контрольную группу вошло 155 условно здоровых лиц, без сосудистых патологий НК. У всех обследуемых лиц исследовали частоту выявления полиморфизмов rs1799750 гена MMP1 и rs2276109 гена MMP-12, с использованием метода Real-time ПЦР.

Результаты. Исследование распределения мутантного гомозиготного генотипа 2G/2G rs1799750 гена MMP1 показало наличие выраженной тенденции к его преобладанию в подгруппе пациентов с венозными тромбозами, где его доля составила 30.0%, относительно контрольной группы, где он был выявлен в 18.7%, случаев соответственно ($\chi^2=3.5$; $p=0.06$; $OR=2.3$; 95%CI:0.95-5.4). Мутантный гомозиготный генотип G/G rs2276109 гена MMP12 был выявлен всего у одного пациента с ВБНК осложненной венозными тромбозами: 2.0% против 0.6%, соответственно ($\chi^2=0.6$; $p=0.4$; $RR=2.0$; 95%CI:0.5-8.1; $OR=3.0$, 95%CI:0.2-48.2).

Заключение. Носительство генотипического варианта 2G/2G полиморфизма rs1799750 гена MMP1 ассоциировано не только с формированием ВБНК, но и с развитием венозных тромбозов.

Наличие неблагоприятного аллельного варианта полиморфизма rs2276109 гена MMP-12 не может служить самостоятельным ранним маркером развития структурных изменений стенки вен и ВБНК, а также, развитию тромбоза глубоких вен нижней конечности (ТГВНК).

Ключевые слова: rs1799750 гена MMP1, rs2276109 гена MMP-12, ВБНК, ТГВНК, венозный тромбоз, флеботромбоз, тромботические осложнения.

STUDY OF THE ASSOCIATION OF THE POLYMORPHISM RSL799750 GENE MMP1 AND RS2276109 GENE MMP12 WITH THE DEVELOPMENT OF VARICOSIS OF THE LEG AND ITS TROMBOTHIC COMPLICATIONS

¹Yariev A.A., ²Boboev K.T., ³Tadjibaev Alisher Tyxta-Pylatovic

¹ Syrdarya branch of the Republican Scientific Center of Emergency Medicine (RRCEM) MoH RUz

²Head of Laboratory of Medical Genetics, Republican Specialized Scientific-Practical Medical Center of Hematology (RSSPMCH) MoH RUz,

³Surgeon of Syrdarya branch of the Republican Scientific Center of Emergency Medicine (RRCEM) MoH RUz

✓ **Resume**

Assessment of the contribution of the rs1799750 polymorphism of the MMP1 gene of the rs2276109 and locus of the MMP12 gene to the development of lower limb varicose veins (VVLE) and its thrombotic complications.

Material and methods. A total of 316 people were enrolled in the study, 161 patients with VVLE and venous thrombosis were included in the main group, and 155 conditionally healthy individuals were included in the control group. The frequency of detection of the rs1799750 polymorphism of the MMP1 gene and rs2276109 of the MMP12 was investigated in all subjects using the Real-time PCR method.

Results. Study of the distribution of the mutant homozygous 2G/2G rs1799750 genotype of the MMP1 gene revealed a marked tendency for its prevalence in the subgroup of patients with venous thrombosis, where its proportion was 30.0%, versus the control group, where it was detected in 18.7% of cases, respectively ($\chi^2=3.5$; $p=0.06$; $RR=1.8$; 95% CI: 0.97-3.5 OR=2.3; 95% CI: 0.95-5.4). A mutant homozygous G/G rs2276109 genotype in the MMP12 gene was detected in one patient with VVLE complicated by venous thrombosis: 2.0% versus 0.6%, respectively ($\chi^2=0.6$; $p=0.4$; $RR=2.0$; 95% CI: 0.5-8.1; OR=3.0, 95% CI: 0.2-48.2).

Conclusions: Carriage of 2G/2G genotypic variant of rs1799750 polymorphism of MMP1 gene is reliably associated not only with VVLE formation but also with the development of venous thrombosis.

The presence of unfavorable allelic variant of rs7123600 polymorphism of MMP-12 gene may not serve as an early marker of development of structural changes of vein wall and VVLE of lower limbs as well as development of thrombotic complications.

Keywords: rs1799750, MMP1 gene, rs2276109, MMP12 gene, VVLE, complications, venous thrombosis, thrombotic complications.

MMP1 GENI RSI799750 POLIMORFIZM VA MMP-12 GENI RS2276109 POLIMORFIZM ASSOSIYASINING PASTI OVOQOTLARINING VARİKOS KASALLIKLARI VA UNING TOMPLOTLARINI RIVOJLANISHIGA TA'SIRI

¹Yariev A.A., ²Boboev K.T., ³Tojiboev A.T.

¹O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi Respublika shoshilinch tibbiy yordam ilmiy markazi Sirdaryo filiali

²O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi Respublika ixtisoslashtirilgan gematologiya ilmiy-amaliy tibbiyot markazi

³O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi Respublika shoshilinch tibbiy yordam ilmiy markazi Sirdaryo filiali

✓ **Resume**

Maqsad: MMP1 genining rs1799750 va MMP12 genining rs2276109 polimorfizmlarining pastki oyoq varikoz tomirlari (LVLV) rivojlanishiga va uning trombotik asoratlarga ta'sirini baholash.

Materiallar va usullar. Tadqiqotda jami 316 kishi ishtirok etdi, ulardan LVLE va venoz tromboz bilan og'rigan 161 bemor asosiy guruhga kiritilgan, nazorat guruhiga LE qon tomir patologiyasi bo'lmagan 155 sog'lom odam kiritilgan. Barcha tekshirilgan shaxslarda MMP1 genining rs1799750 va MMP-12 genining rs2276109 polimorfizmlarini aniqlash chastotasi Real-time PCR usuli yordamida o'rganildi.

Natijalar. MMP1 genining mutant homozigot genotipi 2G/2G rs1799750 tarqalishini o'rganish venoz trombozi bo'lgan bemorlarning kichik guruhida uning tarqalishining aniq tendentsiyasini ko'rsatdi, bu erda uning nisbati nazorat guruhiga nisbatan 30,0% ni tashkil etdi. mos ravishda 18,7% hollarda aniqlangan ($\chi^2 = 3,5$; $p=0,06$; OR=2,3; 95% CI: 0,95-5,4). MMP12 genining mutant homozigot genotipi G/G rs2276109 venoz tromboz bilan asoratlangan VLVD bilan og'rigan faqat bitta bemorda aniqlandi: mos ravishda 0,6% ga nisbatan 2,0% ($\chi^2=0,6$; $p=0,4$; RR=2,0; 95,0%) -8,1;=3,0, 95%CI:0,2-48,2).

Xulosa: MMP1 genining rs1799750 polimorfizmining 2G/2G genotipik variantini tashish nafaqat VVLE shakllanishi, balki venoz trombozning rivojlanishi bilan ham ishonchli bog'liq.

MMP-12 genining rs7123600 polimorfizmining noqulay allel variantining mavjudligi tomir devori va pastki oyoq-qo'llarning VVLE strukturaviy o'zgarishlar rivojlanishining, shuningdek trombotik asoratlarning rivojlanishining erta belgisi bo'lib xizmat qila olmaydi.

Kalit so'zlar: rs1799750, MMP1 geni, rs2276109, MMP12 geni, VVLE, asoratlar, venoz tromboz, trombotik asoratlar.

Актуальность

Несмотря на длительную историю изучения ВБНК и её тромботических осложнений, заболевание считается мультифакториальной и многие вопросы до сих пор окончательно не изучены, особенно в диагностическом и прогностическом плане. В связи с чем, значимость генетических предикторов в развитии данной патологии до сих пор остается предметом для проведения более глубоких и расширенных исследований.

В развитых странах мира проводят крупномасштабные клинические исследования, направленные на улучшение результатов терапии ВБНК, которые не проходят без определения генетических маркёров. Однако в Узбекистане до настоящего времени эта проблема не была изучена, что послужило поводом для проведения данного исследования.

Наибольшая встречаемость данной патологии приходится на возрастной период старше сорока лет. Если в среднем в мире распространенность ВБНК нижних конечностей (ВБНК) достигает 10-15% от численности трудоспособного населения, то в экономически развитых странах – например, в США и странах западной Европы – до четверти населения [1, 2; 3; 4]. Из других источников известно, что в среднем у 40% обследованных регистрируют клинически выраженные изменения подкожных вен. При этом примерно у 1% обследованных больных с ВБНК могут быть выявлены осложнения в виде трофических расстройств (язвенных дефектов). Ежегодный рост заболеваемости ВБНК составляет около 3,0% [4, 5, 6; 7].

Значительную роль в этиопатогенезе ВБНК играют генетические нарушения в регуляции компонентов внеклеточного матрикса, в частности его деградация под действием синтезируемых клетками эндотелия и макрофагами протеолитических энзимов. Также немаловажную роль играют ферменты матриксные металлопротеиназы (MMPs) [8; 9]. Регулирование экспрессии и активности MMPs, это важная часть гомеостаза внеклеточного матрикса [10]. Все еще недостаточно данных, о влиянии дефектов генов MMPs на клиническое течение и возникновение осложнений при ВБНК, несмотря на многочисленные работы, посвященные исследованию значения матриксных металлопротеиназ в развитии ВБНК, в частности были описаны результаты исследований транскрипционной активности генов металлопротеиназ *in vivo* и *in vitro* [11; 12; 13].

С известной металлопротеиназой – MMP12, в которой уже показана связь полиморфизма rs2276109 (A-82G) гена MMP12 с развитием онкопатологии, эндометриоза и ишемической болезни сердца было проведено много работ [12; 14; 15].

Выделение индуцированными макрофагами матриксной металлопротеиназы 12 (MMP12) приводит к разрушению нескольких компонентов ВМ, что способствует проникновению макрофагов в место тканевого повреждения [8; 16]. Развивающаяся местная воспалительная реакция, приводит к активации свободно радикального окисления, и высвобождению ферментов-протеаз приводящих к разрушению коллагеновых волокон стенки вен. Это в свою очередь приводит к увеличению активности пролиферативной, активности миоцитов гладкой мускулатуры. Однако вновь синтезированные молодые миоциты в значительно большем количестве синтезируют составляющие межклеточного матрикса и наоборот в меньшем количестве сократительные элементы, что отражается как на морфологическом строении, так и на функциональных возможностях венозной стенки. Морфологически это приводит к утолщению и дезорганизации соединительной ткани венозной стенки, что снижает её возможности к выполнению каркасной функции и понижению общей сократимости вены. Как итог данные изменения приводят к патологической перестройке и расширению вен [17, 23].

В работе представлены результаты исследования ассоциации полиморфных локусов rs1799750 гена MMP1 и rs2276109 гена MMP12 при развитии ВБНК и её тромботических осложнений.

Цель. Дана оценка участия полиморфизмов rs1799750 гена MMP1 и rs2276109 гена MMP12 в развитии ВБНК и её тромботических осложнений.

Материал и методы

Всего в исследовании были задействовано 316 человек, которые были распределены в следующие подгруппы (рисунок 1):

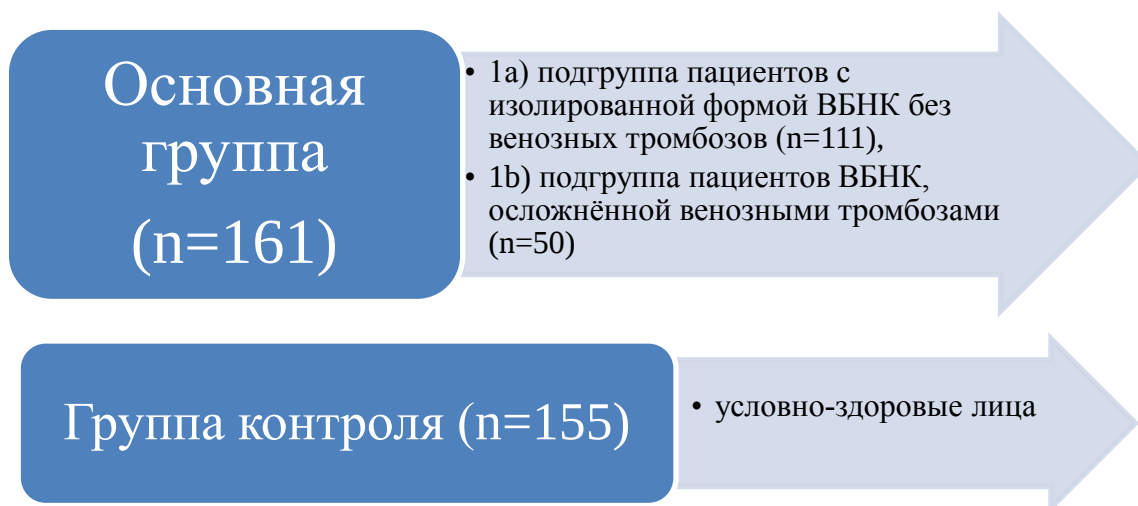


Рис. 1. Схема исследования – распределение обследуемых пациентов и группы контроля

У всех обследуемых лиц основной и контрольной групп исследовали частоту выявления полиморфизмов rs1799750 гена MMP1 и rs2276109 гена MMP-12. Для исследования у всех обследуемых производили забор крови в вакуумные пробирки с ЭДТА (КЗ EDTA, 5 мл). Был проведен ПЦР-анализ отобранного биоматериала методом Real-Time PCR. Выделение ДНК из лимфоцитов периферической крови проводили при помощи набора «Ампли Прайм РИБО-преп» (ООО «Некст Био», Россия). Детекцию полиморфизма проводили с использованием тест-систем ООО НПФ Литех (Россия) по инструкции производителя. Амплификацию проводили с помощью прибора «Rotor Gene Q», (Quagen, Германия).

В качестве инструмента вычислений, полученных данных использовали пакет прикладных программ «Open Epi 2009, Version 2.9».

Результат и обсуждения

В таблицах 1-4 представлены результаты исследования частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1799750 гена MMP1 в основной группе пациентов, больных с ВБНК и флеботромбозами в сравнении с контрольной выборкой.

Частота дикого аллеля 1G полиморфизма rs1799750 гена MMP1 составила 48.8% в основной группе, против 59.0% в контрольной группе ($\chi^2=6.7$; $p=0.01$; $RR=0.8$; 95% CI:0.7-0.95; $OR=0.7$, 95% CI:0.5-0.9) (табл. 2). Частота неблагоприятного аллеля 2G превалировала в основной группе по сравнению контрольной выборке – 51.2% против 41.0%, соответственно ($\chi^2=6.7$; $p=0.01$; $RR=1.2$; 95% CI: 1.1-0.4; $OR=1.5$, 95% CI:1.1-2.1) (табл. 2).

Таблица 1.

Распределение аллелей и генотипов полиморфизма rs1799750 гена MMP1 в группах пациентов и контроля

№	Группа	n	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
			1G		2G		1G/1G		1G/2G		2G/2G	
			n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	Основная группа из них:	161	157	48.8	165	51.2	43	26,7	71	44,1	47	29.2
1a	ВБНК(ВБНК)	111	109	49.1	113	50.9	30	27.0	49	44.1	32	28.8
1b	Венозный тромбоз	50	48	48.0	52	52.0	13	26.0	22	44.0	15	30.0
2	Контрольная группа	155	183	59.0	127	41.0	57	36.8	69	44.5	29	18.7

Частота, тенденция носительства дикого генотипа 1G/1G была ниже в основной группе по сравнению с группой контроля – 26,7% против 36,8% соответственно ($\chi^2=3.7$; $p=0.05$; $RR=0.8$; 95% CI:0.6-1.1; $OR=0.63$; 95% CI:0.4-1.0). Степень выявления гетерозиготного генотипа 1G/2G статистически незначимо превалировала среди пациентов основной группы с ВБНК и венозными тромбозами по сравнению с группой контроля - 44,1% против 44,5%, соответственно. ($\chi^2=1.4$; $p=0.2$; $RR=1.2$; 95% CI:0.9-1.6; $OR=1.4$, 95% CI:0.8-2.3). Неблагоприятный гомозиготный генотип 2G/2G статистически значимо преобладал в группе пациентов основной группы с ВБНК и флеботромбозами – 29,2% против 18,7%, соответственно. ($\chi^2=6.1$; $p=0.01$; $RR=1.4$; 95% CI:1.1-1.9; $OR=2.1$, 95% CI:1.2-4.0).

Таблица 2.

Ассоциативная связь полиморфизма rs1799750 гена MMP1 в основной группе относительно группы контроля

Аллели и генотипы	Основная группа (n=161)	Контроль (n=155), %	Статистическое различие					
			Relative risk		Odds ratio		χ^2	p-value
			RR	95% CI:	OR	95% CI:		
1G	48.8	59.0	0.8	0.7–0.95	0.7	0.5–0.9	6.7	0.01
2G	51.2	41.0	1.2	1.1–1.4	1.5	1.1–2.1		
1G/1G	26,7	36.8	0.8	0.6–1.1	0.6	0.4–1.0	3.7	0.05
1G/2G	44,1	44.5	1.2	0.9–1.6	1.4	0.8–2.3	1.4	0.2
2G/2G	29.2	18.7	1.4	1.1-1.9	2.1	1.2-4.0	6.1	0.01

В ходе исследования частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1799750 гена MMP1 на наличие различий в подгруппах пациентов с ВБНК, венозными тромбозами и в контрольной группе было установлено, что носительство гомозиготного мутантного генотипа 2G/2G достоверно повышает риск развития заболевания более чем в 2 раза ($OR=2.1$; 95% CI:1.2-3.95; $\chi^2=6.1$; $p=0.01$).

Также был проведен сравнительный анализ частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1799750 гена MMP1 в подгруппе пациентов с ВБНК и в контрольной группе, результаты исследования которых, представлены в таблице 3.

Дикий аллель 1G в подгруппе пациентов с ВБНК и в контрольной выборке был выявлен в 49,1% и 59,0% случаях, соответственно ($\chi^2=5.1$; $p=0.02$; $RR=0.8$; 95% CI:0.7-0.97; $OR=0.7$; 95% CI:0.5-0.95). Частота неблагоприятного аллеля 2G у больных с ВБНК и среди условно-здоровых лиц составила: 50,9% и 41,0% соответственно, ($\chi^2=5.1$; $p=0.02$; $RR=1.3$; 95% CI:1.0-1.5; $OR=1.5$; 95% CI:1.1-2.1) (табл. 1 и 3).

Доля 1G/1G, 1G/2G, 2G/2G генотипов rs1799750 в гене MMP1 в 1 подгруппе, состоящей из больных с ВБНК составили: 27,0%, 44,1% и 28,8% по сравнению с 36,8%, 44,5% и 18,7% соответственно в контрольной группе (табл. 1). Генотип 1G/1G был выявлен незначимо реже – с частотой 27,0%, среди пациентов с ВБНК, относительно группы контроля, где его доля составила 36,8% ($\chi^2=1.4$; $p=0.2$; $RR=0.8$; 95% CI:0.6-1.2; $OR=0.7$; 95% CI:0.4-1.2). Доля гетерозиготного генотипа 1G/2G при ВБНК составила 44,1%, что крайне незначительно и статистически незначимо ниже, чем в контрольной группе, где его частота составила 44,5% ($\chi^2=1.0$; $p=0.3$; $RR=1.2$; 95% CI:0.8-1.7; $OR=1.4$; 95% CI:0.8-2.4). Гомозиготный генотип 2G/2G был выявлен в группе с ВБНК с частотой 28,8%, что статистически достоверно превосходило частоту его выявления в контрольной группе, составлявшую 18,7% ($\chi^2=4.8$; $p=0.03$; $RR=1.5$; 95% CI:1.1-2.2; $OR=2.1$, 95% CI:1.1-4.1).

Таблица 3.

Ассоциативная связь полиморфизма rs1799750 гена MMP1 в подгруппе пациентов с ВБНК, относительно группы контроля

Алели и генотипы	ВБНК (n=111), %	Контроль (n=155), %	Статистическое различие					
			Relative risk		Odds ratio		χ^2	p-value
			RR	95% CI:	OR	95% CI:		
1G	49.1	59.0	0.8	0.7–0.97	0.7	0.5–0.95	5.1	0.02*
2G	50.9	41.0	1.3	1.0–1.5	1.5	1.1–2.1		
1G/1G	27.0	36.8	0.8	0.6–1.2	0.7	0.4–1.2	1.4	0.2
1G/2G	44.1	44.5	1.2	0.8–1.7	1.4	0.8–2.4	1.0	0.3
2G/2G	28.8	18.7	1.5	1.1–2.2	2.1	1.1–4.1	4.8	0.03*

Далее, в таблице 4 представлены результаты исследования частоты распределения полиморфизма rs1799750 в гене MMP1 среди пациентов с установленным диагнозом венозного тромбоза. Проведенные исследования показали выраженную тенденцию к преобладанию дикого типа 1G-аллеля в группе контроля, где его частота составила 59.03%, относительно 48.0% в группе пациентов с венозным тромбозом ($\chi^2=3.7$; $p=0.05$; $RR=0.7$; 95% CI:0.5-1.0; $OR=0.6$; 95% CI:0.4-1.0), в то время как 2G-аллель преобладала среди больных с венозными тромбозами, составляя 52.0%, относительно 41.0% в группе контроля ($\chi^2=3.7$; $p=0.05$; $RR=1.4$; 95% CI:0.99-2.0; $OR=1.6$; 95% CI:0.99-2.5).

Исследование распределения частот генотипов полиморфного локуса rs1799750 гена MMP1 показало более низкий уровень выявления дикого генотипа 1G/1G среди пациентов с тромботическими осложнениями составивший 26.0%, относительно группы контроля, где он был выявлен с незначимо большей частотой в 36.8% ($\chi^2=1.9$; $p=0.2$; $RR=0.7$; 95% CI:0.4-1.2; $OR=0.6$; 95% CI:0.3-1.2).

Статически значимых отличий в выявлении гетерозиготного генотипа 1G/2G в группе больных с венозными тромбозами, относительно контрольной группы практически не выявлено. Встречаемость генотипа 1G/2G в исследуемых группах составила 44.0% и 44.5% соответственно ($\chi^2=0.7$; $p=0.4$; $RR=1.3$; 95% CI:0.7-2.4; $OR=1.4$, 95% CI:0.7-3.0).

Исследование распределения мутантного гомозиготного генотипа 2G/2G показало наличие выраженной тенденции к его преобладанию в подгруппе пациентов с венозными тромбозами, где его доля составила 30.0%, относительно контрольной группы, где он был выявлен в 18.7%, случаев соответственно ($\chi^2=3.5$; $p=0.06$; $RR=1.8$; 95% CI:0.97-3.5 $OR=2.3$; 95% CI:0.95-5.4) (табл. 4).

Таблица 4.

Ассоциативная связь полиморфизма rs1799750 гена MMP1 в подгруппе пациентов с венозным тромбозом, относительно группы контроля

Алели и генотипы	Венозный тромбоз (n=50), %	Контроль (n=155), %	Статистическое различие					
			Relative risk		Odds ratio		χ^2	p-value
			RR	95% CI:	OR	95% CI:		
1G	48.0	59.0	0.7	0.5–1.0	0.6	0.4–1.0	3.7	0.05
2G	52.0	41.0	1.4	0.99–2.0	1.6	0.99–2.5		
1G/1G	26.0	36.8	0.7	0.4–1.2	0.6	0.3–1.2	1.9	0.2
1G/2G	44.0	44.5	1.3	0.7–2.4	1.4	0.7–3.0	0.7	0.4
2G/2G	30.0	18.7	1.8	0.97-3.5	2.3	0.95-5.4	3.5	0.06

В таблицах 5-8 представлены результаты исследования частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs2276109 в гене MMP12 на наличие различий в их распределении в основной группе пациентов с наследственной предрасположенностью к ВБНК, флеботромбозам и в контрольной выборке.

В ходе проведенного исследования было установлено равномерное распределение аллелей А и G данного полиморфного локуса среди пациентов основной группы, разделенной на две подгруппы и контрольной группах. Частота генотипов А/А, А/Г и G/G в основной группе пациентов и контроля составили: 85.7%, 13.6% и 0.6% против 85.8%, 13.5% и 0.6%, соответственно. По полученным данным отсутствовали статистически значимые различия в выявлении аллелей А и G (табл. 6).

Таблица 5.

Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма А-82G в гене MMP12 в основной группе пациентов и в группе контроля

Группа	n	Частота распределения									
		аллелей				генотипов					
		A		G		A/A		A/G		G/G	
		n	%	n	%	n	%	N	%	n	%
Основная группа	161	298	92.5	24	7.4	138	85.7	22	13.6	1	0.6
Контрольная группа	155	287	92.5	23	7.4	133	85.8	21	13.5	1	0.6

Так в основной и контрольной группах практически одинаково преобладала А-аллель с частотой выявления – 92.5% и значительно реже была выявлена G аллель – в 7.4% случаев ($p=0.9$; RR=1.0; 95% CI: 0.8–1.3; OR=1.0; 95% CI:0.6-1.8) (табл. 6).

Генотип А/А был выявлен практически с одинаковой частотой как в основной группе, так и в контрольной группах: 85.7% против 85.8%, соответственно ($p=0.9$; RR=1.0; 95% CI:0.7-1.4; OR=1.0; 95% CI:0.5-1.9).

Гетерозиготный генотип А/Г встречался примерно с одинаковой частотой среди пациентов и группой контроля: 13.6% против 13.5%, соответственно ($p=0.9$; RR=1.0; 95% CI:0.7- 1.4; OR=1.0; 95% CI:0.5-1.9).

Таблица 6.

Ассоциативная связь между полиморфизмом rs2276109 в гене MMP12 в основной группе пациентов и в группе контроля

Аллели и генотипы	Основная группа (n=161), %	Группа контроля, (n=155), %	Статистическое различие					
			Relative risk		Odds ratio		χ^2	p-value
			RR	95% CI:	OR	95% CI:		
A	92.5	92.5	1.0	0.8–1.3	1.0	0.6–1.8	<3.84	0.9
G	7.4	7.4	1.0	0.8–1.3	1.0	0.6–1.8		
A/A	85.7	85.8	1.0	0.7–1.4	1.0	0.5–1.9	<3.84	0.9
A/G	13.6	13.5	1.0	0.7–1.4	1.0	0.5–1.9	<3.84	0.9
G/G	0.6	0.6	1.0	0.2–3.9	1.0	0.1–15.6	<3.84	0.9

Частота мутантного гомозиготного генотипа G/G также была одинаковой в обеих группах: 0.6% против 0.6%, соответственно ($p=0.9$; $RR=1.0$; 95% CI:0.2-3.9; $OR=1.0$, 95% CI:0.1-15.6) (табл. 6).

В таблице 7 представлены результаты исследования частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs2276109 в гене MMP12 в группах пациентов с ВБНК и в контрольной группе.

Полученные в ходе проведения исследований результаты показали статистически незначимые различия в распределении А и G аллелей данного полиморфизма в группе пациентов с варикозной болезнью и в контрольной группе.

Таблица 7.

Ассоциативная связь между полиморфизмом rs2276109 в гене MMP12 в группах пациентов с ВБНК и в контрольной группе

Аллели и генотипы	ВБНК (n=111), %	Группа контроля, (n=155), %	Статистическое различие					
			Relative risk		Odds ratio		χ^2	p-value
			RR	95% CI:	OR	95% CI:		
A	91.9%	92.5%	1.0	0.7–1.4	0.9	0.5–1.7	0.1	0.8
G	8.1%	7.4%	1.1	0.7–1.5	1.1	0.6–2.1		
A/A	83.8%	85.8%	0.9	0.6-1.3	0.9	0.4-1.7	0.2	0.6
A/G	16.2%	13.5%	1.1	0.8–1.6	1.1	0.6–2.4	0.3	0.6
G/G	0.0%	0.6%	0.0	-	0.0	-	0.7	0.4

Доля А аллеля в группе пациентов с ВБНК и в группе контроля составила 91.9% и 92.5%, соответственно ($\chi^2=0.1$; $p=0.8$; $RR=1.0$; 95% CI:0.7-1.4; $OR=0.9$; 95% CI:0.5-1.7). G аллель в группе пациентов с ВБНК и в группе контроля выявляли с частотой 8.1% против 7.4%, соответственно ($\chi^2=0.1$; $p=0.8$; $RR=1.1$; 95% CI:0.7-1.5; $OR=1.1$; 95% CI:0.6-2.1).

Частота выявления дикого генотипа А/А была незначимо выше в контрольной группе: 83.8% против 85.8%, соответственно ($\chi^2=0.2$; $p=0.6$; $RR=0.9$; 95% CI:0.6-1.3; $OR=0.85$; 95% CI:0.4-1.7). Гетерозиготный генотип А/Г чаще выявляли среди пациентов с ВБНК (16.2% против 13.5%, соответственно $\chi^2=0.34$; $p=0.5$; $RR=1.1$; 95% CI:0.8-1.6; $OR=1.1$, 95% CI:0.6-2.4). Мутантный гомозиготный генотип G/G не был выявлен в группе пациентов с ВБНК (0.0% против 0.6%, соответственно, $\chi^2=0.7$; $p=0.4$).

В таблице 8 представлены результаты исследования частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs2276109 гена MMP12 в группах пациентов с венозными тромбозами и в контрольной выборке.

Доля А аллеля в группе пациентов с венозным тромбозом и группой контроля составила 94.0% против 92.5% соответственно ($\chi^2=0.2$; $p=0.6$; $RR=1.2$; 95% CI:0.6-2.5), а G-аллеля в группе пациентов с венозным тромбозом и группой контроля составила 6.0% против 7.4%, соответственно ($\chi^2=0.2$; $p=0.6$; $RR=1.2$; 95% CI:0.1-2.5; $OR=1.3$; 95% CI:0.5-3.2) (рис. 8).

Генотипы А/А, А/Г и G/G полиморфизма rs2276109 в гене MMP12 в группе пациентов с ВБНК и контроля были распределены следующим образом: 90.0%, 8.0% и 2.0% против 85.8%, 13.5% и 0.65% соответственно.

Частота выявления дикого генотипа А/А была незначимо выше в контрольной группе: 90.0% против 85.8%, соответственно ($\chi^2=0.6$; $p=0.4$; $RR=1.4$; 95% CI:0.6-3.1; $OR=1.5$; 95% CI:0.3-4.2).

Частота выявления гетерозиготного генотипа А/Г была статистически незначимо выше в контрольной группе, по сравнению выборкой пациентов с варикозной болезнью: 8.0% против 13.5%, соответственно ($\chi^2=1.0$; $p=0.3$; $RR=0.6$; 95% CI:0.3-1.6; $OR=0.6$; 95% CI: 0.2-1.7).

Мутантный гомозиготный генотип G/G был выявлен у одного пациента с ВБНК осложненной венозными тромбозами: 2.0% против 0.6%, соответственно ($\chi^2=0.6$; $p=0.4$; $RR=2.0$; 95% CI:0.5-8.1; $OR=3.0$, 95% CI:0.2-48.2) (табл. 8).

Таблица 8.

Ассоциативная связь между полиморфизмом rs2276109 в гене MMP12 в группах пациентов с венозным тромбозом и в контрольной группе

Аллели и генотипы	Венозный тромбоз (n=50), %	Группа контроля, (n=155), %	Статистическое различие					
			Relative risk		Odds ratio		χ^2	p-value
			RR	95% CI:	OR	95% CI:		
A	94.0	92.5	1.2	0.57–2.48	1.3	0.50–3.18	0.2	0.6
G	6.0	7.4	1.2	0.12–2.48	1.3	0.50–3.18		
A/A	90.0	85.8	1.4	0.59–3.13	1.5	0.53–4.16	0.6	0.4
A/G	8.0	13.5	0.6	0.3–1.6	0.6	0.18–1.73	1.0	0.3
G/G	2.0	0.65	2.0	0.5-8.1	3.0	0.2-48.2	0.6	0.4

По полученным результатам в ходе проведения исследования частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs2276109 в гене MMP12 на наличие различий в группе пациентов с венозным тромбозом было установлено, что носительство генотипа G/G в 3 раза незначимо повышает риск развития флелотромбоза. ???

Обсуждение:

Различные исследования были посвящены изучению процессам, опосредующим структурным и морфологическим изменениям стенок вен, нарушающих их функцию [18]. В ряде работ [19,20] внимание было сфокусировано на генах, различных матриксных металлопротеиназ (MMP1, MMP2, MMP3, MMP9, MMP13).

По данным D. Gillespie и соавт., 2002 [4] исследовавших образцы биоматериала полученных от пациентов с ВБНК, несмотря на отсутствие достоверных различий в экспрессии генов MMP1 и MMP13 и отсутствие экспрессии гена MMP3, методом Вестерн-блоттинга было установлено увеличение количества белкового продукта MMP1↑. В то же время, по данным P. Sansilvestri-Morel и соавт. (2005) [21] была показана повышенная экспрессия гена MMP2↑ и методом иммуноферментного анализа было выявлено увеличение концентрации белкового продукта MMP3↑, а Y. Xu и соавт., 2017 [19] определили повышенную экспрессию генов-кандидатов MMP2↑, MMP9↑ у пациентов с ВБНК.

Так, по данным Shadrina A.S. и соавт. (2019) ни для одного из изучаемых ими полиморфизмов генов, в числе которых был исследован и полиморфизм rs1799750 гена MMP1 не было найдено ассоциации с ВБНК [22]. Однако это может быть связано с выбранной популяцией, размерами выборки, особенностями методологии исследования.

«В целом система внеклеточного матрикса при ВБНК гораздо лучше изучена в ген-кандидатных исследованиях на уровне белков, чем на уровне мРНК, и, несмотря на некоторые противоречия в результатах, данные о нарушении баланса в этой системе весьма убедительны» [13].

Проведенные нами исследования, напротив, выявили ассоциацию между отдельными аллелями и генотипами полиморфизма rs1799750 гена MMP1 и развитием ВБНК.

В ходе проведенного исследования частот распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1799750 гена MMP1 на наличие различий в подгруппе пациентов с ВБНК и в контрольной выборке было установлено, что носительство гомозиготного мутантного генотипа 2G/2G повышает риск развития венозного тромбоза более чем в 2 раза.

На сегодняшний день исследований, посвященных изучению роли матриксных металлопротеиназ в развитии заболеваний различных органов и систем достаточно много, однако в структуре научных работ крайне мало материала о взаимосвязи нарушения активности, внеклеточно-существующей матриксной металлопротеиназы MMP-12, а именно представителя цинк-зависимых эндопептидаз. Одной из значимых функций MMP12 – гидролиз эластина. Её гиперактивация и уменьшение активности её тканевых ингибиторов в условиях при ВБНК в конечном итоге ведет к потере и разрыву эластина в структуре волокон коллагена и уменьшению тонуса и дилатации венозных стенок [17].

По данным исследователей у пациентов с рецидивом ВБНК наблюдался высокий уровень встречаемости патологического гена MMP12 в 80.0% - как в гомо- так и гетерозиготном вариантах генотипа, в то время как у впервые обратившихся пациентов – только в трети случаев (33.3%) [12, 22]. Авторы установили статистически достоверную взаимосвязь между ВБНК и данным геном (MMP12). Также данными авторами определена взаимосвязь между классом ВБНК и частотой выявления мутации в гене MMP12.

Различия в экспрессии протеина MMP-12 у больных ВБНК в норме подтверждалась зарубежными авторами методами иммуноблотинга и иммуногистохимии [23].

По данным Slonková V. et al. (2017), занимавшимися исследованием взаимосвязи другого полиморфизма – rs7123600 гена MMP-12 и хронической венозной недостаточностью было установлено, что аллель G в 2.1 раза чаще выявлялся при ССЗ, у женщин, по сравнению с контролем, а также была установлена ассоциация между наличием изучаемого полиморфизма данного гена у женщин с изъязвлениями при ССЗ в 3,2 раза, относительно женщин, не имевших изъязвлений. Выявляемость генотипа A/G полиморфизма rs7123600 гена MMP-12 была выше в 4.7 раза у женщин с ССЗ (стадия С6) [9].

Однако, эти данные не согласуются с результатами проведенного нами исследования, по данным которого носительство неблагоприятного генотипического варианта данного полиморфизма статистически не значимо ассоциируется с повышенным риском развития ВБНК и флеботромбоза. Это может быть связано с особенностями местной популяционной выборки.

Выводы

1. Аллель 1G полиморфизма rs1799750 гена MMP1 является протективным фактором в отношении развития ВБНК и венозных тромбозов.
2. Установлена значимая ассоциация между носительством 2G-аллеля полиморфизма rs1799750 гена MMP1 с риском развития ВБНК и венозных тромбозов. Носительство генотипического варианта 2G/2G данного полиморфизма достоверно ассоциировано не только с формированием ВБНК, но и с развитием венозных тромбозов.
3. Наличие неблагоприятного аллельного варианта полиморфизма rs7123600 гена MMP-12 не может служить самостоятельным маркером развития структурных изменений стенки вен и ВБНК нижних конечностей, а также, развитию ТГВНК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Bharath V., Kahn S.R., Lazo-Langner A. Genetic polymorphisms of vein wall remodeling in chronic venous disease: a narrative and systematic review //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2014. – Т. 124. – №. 8. – С. 1242-1250.
2. Fukaya E., Flores A.M., Lindholm D., Gustafsson S., Zanetti D., Ingelsson E., Leeper N.J. Clinical and Genetic Determinants of Varicose Veins. //Circulation. 2018 Dec 18; 138(25): 2869-2880.
3. Ghaffarzadeh A., Bagheri M., Khadem-Vatani K., Abdi Rad I. Association of MMP-1 (rs1799750)-1607 2G/2G and MMP-3 (rs3025058)-1612 6A/6A Genotypes With Coronary Artery Disease Risk Among Iranian Turks. //J. Cardiovasc Pharmacol. 2019;74(5):420-425.
4. Gillespie D., Patel A., Fileta B., Chang A., Barnes S., Flagg A., Kidwell M., Villavicencio J., Rich N. Varicose veins possess greater quantities of MMP-1 than normal veins and demonstrate regional variation in MMP-1 and MMP-13. //J Surg Res. 2002;106(2):233-238.

5. Gomez I., Benyahia C., Louedec L., Leséche G., Jacob M.P., Longrois D., Norel X. Decreased PGE content reduces MMP-1 activity and consequently increases collagen density in human varicose vein. //PLOS One. 2014;5;9(2):88021.
6. Görmüş U., Kahraman O., Isbir S., Tekeli A., Isbir T. MMP2 gene polymorphisms and MMP2 mRNA levels in patients with superficial varices of lower extremities. //In Vivo. 2011;25(3):387-391 [19]
7. Görmüş U., Timirci-Kahraman O., Ergen A., Kunt A., Isbir S., Dalan A., Isbir T. Expression levels of elastin and related genes in human varicose veins. //Folia Biol. 2014;60(2):68-73. [17]
8. Hollingsworth S.J., Powell G.I., Barker S.G., Cooper D.G. Primary varicose veins: altered transcription of VEGF and its receptors (KDR, fl t-1, soluble fl t-1) with sapheno-femoral junction incompetence //Eur J Vasc Endovasc Surg. 2004. Vol. 27, no. 3. pp. 259-268.
9. Slonková V. et al. Genetic predisposition for chronic venous insufficiency in several genes for matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9, MMP-12) and their inhibitor TIMP-2 //Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. – 2017. – T. 31. – №. 10. – C. 1746-1752.
10. Jang-Young Kim. Polymorphisms of MMP-3, MMP-9, MMP-12, and TIMP-1 genes as a determinant of isolated coronary artery ectasia: дис. – Graduate School, Yonsei University, 2007. – C. 1-41.
11. Joseph N., Mohamed Faizan Thouseef A.B., Devi U.M., Abna A., Juneja I. A multicenter review of epidemiology and management of varicose veins for national guidance. //Annals of medicine and surgery. 2016;8:21-27.
12. Klupp F., Neumann L., Kahlert C. et al. Serum MMP7, MMP10 and MMP12 level as negative prognostic markers in colon cancer patients. //BMC Cancer 16, 494 (2016) 1-9.
13. Kowalewski R., Sobolewski K., Wolanska M., Gacko M. Matrix metalloproteinases in the vein wall. //Int Angiol. 2004;23(2):164-169.
14. Su L., Zhou W., Asomaning K., Lin X., Wain J.C., Lynch T.J., Liu G., Christiani D.C. Genotypes and haplotypes of matrix metalloproteinase 1, 3 and 12 genes and the risk of lung cancer //Carcinogenesis. 2006. no. 27. pp. 1024–1029.
15. Ye S., Eriksson P., Hamsten A., Kurkinen M., Humphries S.E., Henney A.M. Progression of coronary atherosclerosis is associated with a common genetic variant of the human stromelysin-1 promoter which results in reduced gene expression //J Biol Chem. 1996. no. 271. pp. 13055–13060.
16. Shapiro S.D., Kobayashi D.K., Ley T.J. Cloning and characterization of a unique elastolytic metalloproteinase produced by human alveolar macrophages //J Biol Chem. 1993. no. 268. pp. 23824-23829.
17. Seryapina Y.U.V. et al. The genetic predictors of varicose veins of small pelvis: a pilot study //Flebologiya. – 2018. – T. 12. – №. 1. – C. 25-29.
18. Nüllen H., Noppeney T. Diagnosis and treatment of varicose veins. Part 1: definition, epidemiology, etiology, classification, clinical aspects, diagnostic and indications. //Der Chirurg; Zeitschrift für Alle Gebiete der Operativen Medizin. 2010; 81(11):1035-1044.
19. Xu Y., Bei Y., Li Y., Chu H. Phenotypic and functional transformation in smooth muscle cells derived from varicose veins. //J Vasc Surgery Venous Lymphat Disord. 2017; 5(5):723-733.
20. Lim C., Davies A. Pathogenesis of primary varicose veins. //Br J Surg. 2009; 96(11):1231-1142. <https://doi.org/10.1002/bjs.6798> [8]
21. Sansilvestri-Morel P., Rupin A., Jullien N., Lembrez N., Mestries-Dubois P., Fabiani J., Verbeuren T. Decreased production of collagen type III in cultured smooth muscle cells from varicose vein patients is due to a degradation by MMPs: possible implication of MMP-3. //J Vasc Res. 2005;42(5):388-398. <https://doi.org/10.1159/000087314> [15]
22. Shadrina A.S., Sodbo Z., Sharapov, Tatiana I. Shashkova, Yakov A. Tsepilov Varicose veins of lower extremities: Insights from the first large-scale genetic study. //PLOS genetics. 2019; 15(4):e1008110.
23. Woodside K.J. et al. Morphologic characteristics of varicose veins: possible role of metalloproteinases //Journal of vascular surgery. – 2003. – T. 38. – №. 1. – C. 162-169.

Поступила 20.11.2022