

Особенности ассоциаций полиморфных локусов генов матриксных металлопротеиназ с различными молекулярно-биологическими подтипами рака молочной железы

Н.В. Павлова¹, И.В. Пономаренко², М.И. Чурносов^{✉2}

¹ОГБУЗ «Белгородский областной онкологический диспансер», Белгород, Россия;

²ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, Россия

Аннотация

Цель. Изучить особенности ассоциаций полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ (ММП) *MMP3* (*rs679620*), *MMP8* (*rs1940475*) и *MMP9* (*rs17576* и *rs3787268*) с различными молекулярно-биологическими подтипами рака молочной железы (РМЖ).

Материалы и методы. Выборку для исследования составили 285 пациенток с РМЖ различных молекулярно-биологических подтипов (n=153 – люминальный А и В, n=108 – тройной негативный и n=24 – HER2-положительный – HER2+) и 746 женщин контрольной группы. В исследуемых группах проведено генотипирование 4 полиморфных локусов генов *MMP3* (*rs679620*), *MMP8* (*rs1940475*) и *MMP9* (*rs17576* и *rs3787268*).

Результаты. Роль полиморфных локусов генов ММП в формировании РМЖ различных молекулярно-биологических подтипов различается. Протективное значение для развития РМЖ люминального А- и В-подтипов имеет полиморфизм с.836 А>G *MMP9* (*rs17576*, для аллеля G отношение шансов – ОШ 0,67–0,71), подверженность РМЖ тройного негативного молекулярно-биологического подтипа связана с полиморфным локусом с.1331-163 G>А *MMP9* (*rs3787268*, для генотипа АА ОШ 4,51), а с формированием HER2+ РМЖ ассоциированы 2 полиморфизма генов *MMP3* (с.133 Т>С, *rs679620*, для аллеля Т ОШ 0,46–0,49) и *MMP8* (с.259 Т>С, *rs1940475*, для аллеля Т ОШ 0,37–0,48). Согласно данным *in silico*, указанные полиморфные локусы проявляют выраженные функциональные эффекты в органах и тканях, являющихся патогенетически значимыми для заболевания, и в том числе в органе-мишени – молочной железе.

Заключение. Полиморфизм с.836 А>G *MMP9* (*rs17576*) ассоциирован с РМЖ люминального А- и В-подтипов, с.1331-163 G>А *MMP9* (*rs3787268*) связан с тройным негативным РМЖ, а с.133 Т>С *MMP3* (*rs679620*) и с.259 Т>С *MMP8* (*rs1940475*) вовлечен в формирование HER2+ РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, матриксные металлопротеиназы, *MMP3*, *MMP8*, *MMP9*, полиморфизм, молекулярно-биологический подтип, ассоциации

Для цитирования: Павлова Н.В., Пономаренко И.В., Чурносов М.И. Особенности ассоциаций полиморфных локусов генов матриксных металлопротеиназ с различными молекулярно-биологическими подтипами рака молочной железы. Гинекология. 2022;24(5):393–398. DOI: 10.26442/20795696.2022.5.201808

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2022 г.

ORIGINAL ARTICLE

Association of matrix metalloproteinase gene polymorphisms with different biological subtypes of breast cancer

Nadezhda V. Pavlova¹, Irina V. Ponomarenko², Mikhail I. Churnosov^{✉2}

¹Belgorod Regional Oncological Dispensary, Belgorod, Russia;

²Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Abstract

Aim. To investigate the associations of matrix metalloproteinase (MMP) *MMP3* (*rs679620*), *MMP8* (*rs1940475*), and *MMP9* (*rs17576* and *rs3787268*) gene polymorphisms with different biological subtypes of breast cancer (BC).

Materials and methods. The study sample consisted of 285 patients with BC of various biological subtypes (luminal A and B [n=153], triple negative [n=108], and HER2 positive [HER2+, n=24]) and 746 females in the control group. Genotyping of four polymorphic sites of *MMP3* (*rs679620*), *MMP8* (*rs1940475*), and *MMP9* (*rs17576* and *rs3787268*) genes was performed in the study groups.

Results. The role of MMP gene polymorphisms in the BC development of various biological subtypes differs. The c.836 A>G *MMP9* polymorphism (*rs17576*, the odds ratio is 0.67–0.71 for the G allele) has a protective effect on the development of luminal A- and B-subtypes of BC; susceptibility to triple-negative BC is associated with the polymorphic site c.1331-163 G>A *MMP9* (*rs3787268*, OR 4.51 for genotype AA), and two polymorphisms of the *MMP3* (c.133 T>C, *rs679620*, OR 0.46–0.49 for T allele) and *MMP8* (c.259 T>C, *rs1940475*, OR 0.37–0.48 for T allele) genes are associated with HER2+ BC development. According to the *in silico* data, the above polymorphisms have pronounced functional effects in organs and tissues that are pathogenetically significant for the disease, including the target organ, the breast.

Conclusion. The c.836 A>G *MMP9* (*rs17576*) polymorphism is associated with luminal A- and B-subtype of BC; c.1331-163 G>A *MMP9* (*rs3787268*) is associated with triple negative BC, and c.133 T>C *MMP3* (*rs679620*) and c.259 T>C *MMP8* (*rs1940475*) are involved in HER2+ BC development.

Keywords: breast cancer, matrix metalloproteinases, *MMP3*, *MMP8*, *MMP9*, polymorphism, biological subtype, associations

For citation: Pavlova NV, Ponomarenko IV, Churnosov MI. Association of matrix metalloproteinase gene polymorphisms with different biological subtypes of breast cancer. Gynecology. 2022;24(5):393–398. DOI: 10.26442/20795696.2022.5.201808

Информация об авторах / Information about the authors

✉ Чурносов Михаил Иванович – д-р мед. наук, проф., зав. каф. медико-биологических дисциплин Медицинского института ФГАОУ ВО НИУ БелГУ. E-mail: churnosov@bsu.edu.ru; ORCID: 0000-0003-1254-6134

✉ Mikhail I. Churnosov – D. Sci. (Med.), Prof., Belgorod State National Research University. E-mail: churnosov@bsu.edu.ru; ORCID: 0000-0003-1254-6134

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) продолжает оставаться одним из наиболее распространенных и социально значимых заболеваний у женщин [1]. Ежегодно РМЖ обнаруживают более чем у 2 млн женщин во всем мире, и эта цифра не имеет тенденции к снижению [1]. Аналогичная ситуация по заболеваемости РМЖ наблюдается и в России [2]. За период с 2008 по 2018 г. заболеваемость РМЖ (стандартизованный показатель заболеваемости) возросла с 42,83 до 51,63 на 100 тыс. населения при среднегодовом темпе прироста в 1,97% [2]. Максимальные показатели заболеваемости РМЖ в России приходятся на возрастные категории 70–74 года (147,85 на 100 тыс. человек), 65–69 лет (145,35 на 100 тыс. человек) и 75–79 лет (135,76 на 100 тыс. человек) [2]. Не меньшее значение РМЖ имеет и в структуре смертности женского населения России: наиболее высокий удельный вес заболевания в структуре смертности женского населения наблюдается в возрастных группах 45–49 лет (23,01%), 35–39 лет (22,71%), 40–44 года (22,60%), 50–54 года (22,44%). То есть практически каждая 4–5-я женщина, умершая в возрасте 35–54 лет, имеет причиной смерти РМЖ [2].

Согласно современным представлениям, большое значение в формировании РМЖ отводится наследственным факторам [3–5]. На основе результатов крупномасштабных близнецовых исследований в европейских популяциях показано, что причиной возникновения практически 1/3 всех случаев заболевания (31%) служат генетические факторы [3]. В результате полногеномных исследований РМЖ выявлены ассоциации с заболеванием около 200 различных генетических факторов (полиморфизмов), с которыми связано 18% наследуемости заболевания [4]. В рамках этого значения показателя наследуемости на долю высокопенетрантных мутаций в известных генах-кандидатах РМЖ (*BRCA1* и *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2* и др.) приходится около 5% [5]. Таким образом, значительная часть наследственных факторов (≈40%), детерминирующих развитие РМЖ, к настоящему моменту времени остается неизвестной, что определяет актуальность дальнейших исследований по этому вопросу.

Современные данные литературы указывают на большое значение в патогенетике РМЖ генов матриксных металлопротеиназ (ММП) [5–9]. ММП задействованы в каскаде процессов, связанных с ремоделированием внеклеточного матрикса, что предопределяет их вовлеченность в патогенетически значимые для РМЖ процессы роста и инвазии опухоли, ее метастазирование и др. [6, 10]. При этом следует отметить, что, несмотря на убедительную патогенетическую связь ММП с РМЖ, результаты ассоциативных исследований по вопросу вовлеченности функционально значимого полиморфизма генов ММП в формирование заболевания, имеющиеся в настоящее время, неоднозначны и нередко не согласуются между собой [6–9]. Например, аллельный вариант А *rs3787268* *MMP9* продемонстрировал рискованное значение для РМЖ в одной работе [7] и отсутствие ассоциаций с заболеванием в других исследованиях [8, 9]. Такая «неопределенность» в характере ассоциаций полиморфных локусов генов ММП с РМЖ диктует необходимость продолжения исследований в этой области, и в том числе среди населения Российской Федерации.

Цель исследования – изучить особенности ассоциаций полиморфизмов генов *MMP3* (*rs679620*), *MMP8* (*rs1940475*) и *MMP9* (*rs17576* и *rs3787268*) с различными молекулярно-биологическими подтипами РМЖ.

Материалы и методы

Дизайн исследования

Проведено исследование по типу «случай-контроль».

Участники исследования и условия проведения

Для настоящего исследования в профильных хирургическом и поликлиническом отделениях ОГБУЗ «Белгородский областной онкологический диспансер» была сформирована выборка из 285 больных РМЖ (выборку формировали в период 2010–2016 гг.). В исследуемой выборке пациенток с впервые выявленными карциномами молочной железы согласно результатам иммуногистохимического исследования образцов опухолевой ткани, полученных интраоперационно, и определенных в результате этого молекулярно-биологических подтипов РМЖ (исследование выполнено в отделении иммуногистохимии ОГБУЗ «Белгородское патологоанатомическое бюро») сформировали 3 подгруппы больных, имеющих следующие молекулярно-биологические подтипы РМЖ: люминальный А и В (*LumA* и *LumB*; $n=153$), тройной негативный фенотип (triple negative breast cancer, TNBC; $n=108$), HER2-положительный (HER2+; $n=24$). Объединение пациенток с люминальным А и люминальным В молекулярно-биологическими подтипами РМЖ в одну подгруппу вызвано необходимостью формирования репрезентативных по численности подгрупп больных с целью обеспечения необходимой мощности ассоциативного анализа. Контрольная группа (сформировалась в перинатальном центре ОГБУЗ БОКБ при проведении периодических профессиональных осмотров) для 3 указанных подгрупп пациенток с РМЖ оказалась одинакова и включала женщин, не имеющих клинико-анамнестических признаков РМЖ ($n=746$).

Критерии соответствия

В исследуемые выборки больных и группу контроля включали женщин русской национальности (на основе их самоидентификации), родившихся (проживающих) в Центральном-Черноземном районе России, не являющихся родственниками [11]. Из исследуемых выборок исключали индивидуумов не русской национальности, родившихся (проживающих) вне Центрального-Черноземного района, имеющих родственные связи между собой. Возраст исследуемых групп больных и контроля был сопоставим.

Методы оценки целевых показателей

И пациенткам с РМЖ, и женщинам группы контроля выполнено генотипирование 4 полиморфных локусов 3 генов ММП: *MMP3* (*rs679620*), *MMP8* (*rs1940475*) и *MMP9* (*rs17576* и *rs3787268*). Критерием включения вышеуказанных локусов в исследование являлась их связь с РМЖ, подтвержденная в ранее выполненных исследованиях [6–9]. Методики экспериментального исследования ДНК (выделение и генотипирование) описаны в работе, опубликованной ранее [12].

Павлова Надежда Витальевна – зав. поликлиникой ОГБУЗ «Белгородский областной онкологический диспансер». E-mail: doc.ss@mail.ru; ORCID: 0000-0002-7754-5231

Пономаренко Ирина Васильевна – д-р мед. наук, проф. каф. медико-биологических дисциплин Медицинского института ФГАОУ ВО НИУ БелГУ. E-mail: ponomarenko_i@bsu.edu.ru; ORCID: 0000-0002-5652-0166

Nadezhda V. Pavlova – Department Head, Belgorod Regional Oncological Dispensary. E-mail: doc.ss@mail.ru; ORCID: 0000-0002-7754-5231

Irina V. Ponomarenko – D. Sci. (Med.), Belgorod State National Research University. E-mail: ponomarenko_i@bsu.edu.ru; ORCID: 0000-0002-5652-0166

Таблица 1. Распределение полиморфных маркеров генов MMP у пациенток с РМЖ различных молекулярно-биологических подтипов и женщин контрольной группы**Table 1. Distribution of MMP gene polymorphic markers in breast cancer patients of different biological subtypes and control group females**

Локус	Генотипы, аллели, генетические модели	Больные РМЖ различных молекулярно-биологических подтипов, абс. (%); для аллелей данные приведены в %			Контрольная группа (n=746), абс. (%); для аллелей данные приведены в %
		Люминальный А и В (n=153)	Тройной негативный (n=108)	HER2+ (n=24)	
rs679620 MMP3	CC	41 (26,80)	26 (24,30)	9 (39,13)	190 (25,71)
	CT	80 (52,29)	57 (53,27)	13 (56,52)	361 (48,85)
	TT	32 (20,91)	24 (22,43)	1 (4,35)	188 (25,44)
	Минорный аллель Т	47,13	49,08	47,81	49,92
rs1940475 MMP8	CC	40 (26,49)	18 (16,67)	10 (41,67)	210 (28,34)
	CT	76 (50,33)	70 (64,81)	11 (45,83)	337 (45,48)
	TT	35 (23,18)	20 (18,52)	3 (12,50)	194 (26,18)
	Минорный аллель Т	48,29	50,91	51,19	48,94
rs17576 MMP9	AA	68 (45,03)	46 (43,81)	12 (50,00)	284 (38,22)
	AG	66 (43,71)	43 (40,95)	8 (33,33)	340 (45,76)
	GG	17 (11,26)	16 (15,24)	4 (16,67)	119 (16,02)
	Минорный аллель G	33,08	35,68	34,32	38,93
rs3787268 MMP9	GG	94 (61,43)	60 (58,82)	15 (61,18)	451 (61,03)
	GA	49 (32,03)	34 (33,34)	7 (31,82)	258 (34,91)
	AA	10 (6,54)	8 (7,84)	0 (0,00)	30 (4,06)
	Минорный аллель А	22,62	24,47	24,08	21,49

Соответствие принципам этики

Выполнение исследования поддержано Этическим комитетом ФГАОУ ВО НИУ «БелГУ» (протокол №4 от 11.04.2012) и проводилось на основе получения информированного (письменного) согласия всех женщин, включенных в исследование. Одобрение и процедуру проведения протокола получили по принципам Хельсинкской конвенции.

Статистический анализ

Генетико-статистический анализ экспериментальных данных включал оценку наблюдаемого распределения генотипов согласно закономерности Харди-Вайнберга [13], выявление ассоциаций полиморфных локусов с РМЖ разных молекулярно-биологических подтипов с расчетом показателей отношения шансов (ОШ) и его 95% доверительного интервала (95% ДИ) при учете ковариаты «возраст женщины» с подтверждением ассоциации пермутационным тестом [определяет показатель p_{perm} ; расчеты проводили в программном обеспечении gPLINK (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>)]. Статистически значимый уровень соответствовал показателю $p_{perm} \leq 0,05$ [14]. Для полиморфизмов, ассоциированных с РМЖ разных молекулярно-биологических подтипов, детально рассмотрены их функциональные эффекты в организме – использовали метод *in silico* с применением онлайн-ресурсов HaploReg (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>), GTExportal (<https://gtexportal.org/home/>) и Blood eQTL browser (<http://genenetwork.nl/bloodqtlbrowser/>).

Результаты

Данные о распределении полиморфных вариантов генов MMP в изучаемых 3 подгруппах больных и в контрольной группе представлены в табл. 1. Анализ этих популяционно-генетических данных показал, что во всех рассматриваемых подгруппах больных РМЖ с различными молекулярно-биологическими подтипами заболевания (люминальный А и В, тройной негативный фенотип, HER2+) по всем изучаемым молекулярно-генетическим маркерам генов MMP зарегис-

трированное нами распределение генотипических классов согласуется с ожидаемыми параметрами их распределения при выполнении равновесия Харди-Вайнберга с учетом порогового значения уровня статистической значимости $p_{bonf} > 0,004$ ($0,05/(4 \times 3)$) – введена поправка Бонферрони, равная 12, соответствующая числу анализируемых полиморфизмов ($n=4$) и числу сравниваемых подгрупп больных ($n=3$).

При изучении ассоциаций полиморфных локусов генов MMP с РМЖ различных молекулярно-биологических подтипов (табл. 2) установлен ряд особенностей генетической детерминации этих подтипов РМЖ. Так, обнаружено, что с риском развития РМЖ люминального А- и В-подтипов ассоциирован полиморфизм с.836 А>G MMP9 (rs17576) согласно аддитивной (GG vs AG vs AA, ОШ 0,71, 95% ДИ 0,53–0,95, $p=0,022$, $p_{perm}=0,023$) и доминантной (GG и AG vs AA, ОШ 0,67, 95% ДИ 0,45–0,99, $p=0,044$, $p_{perm}=0,044$) генетико-статистическим моделям (см. табл. 2). При этом минорный аллель G rs17576 играет протективную роль в формировании этого подтипа РМЖ (ОШ 0,67–0,71).

Подверженность РМЖ тройного негативного молекулярно-биологического подтипа связана с полиморфным локусом с.1331-163 G>A MMP9 (rs3787268; рецессивная модель AA vs GA и GG, ОШ 4,51, 95% ДИ 1,70–11,97, $p=0,003$, $p_{perm}=0,004$; см. табл. 2). Следует подчеркнуть, что генотип AA rs3787268 MMP9 представляет риск для развития тройного негативного фенотипа РМЖ (ОШ>1).

С формированием HER2+ РМЖ ассоциированы 2 полиморфизма генов MMP MMP3 (с.133 Т>С, rs679620) и MMP8 (с.259 Т>С, rs1940475). Полиморфизм rs679620 MMP3 связан с РМЖ этого подтипа согласно аллельной (Т vs С, ОШ 0,49, 95% ДИ 0,26–0,91, $p=0,021$, $p_{perm}=0,022$) и аддитивной (ТТ vs СТ vs СС, ОШ 0,46, 95% ДИ 0,22–0,97, $p=0,041$, $p_{perm}=0,042$) генетическим моделям, а rs1940475 MMP8 ассоциирован с HER2+ РМЖ в рамках аддитивной (ТТ vs СТ vs СС, ОШ 0,48, 95% ДИ 0,24–1,00, $p=0,050$, $p_{perm}=0,050$) и доминантной (ТТ и СТ vs СС, ОШ 0,37, 95% ДИ 0,15–1,00, $p=0,050$, $p_{perm}=0,050$) генетико-статистических моделей (см. табл. 2).

Таблица 2. Показатели ассоциации полиморфных маркеров генов MMP с РМЖ различных молекулярно-биологических подтипов
Table 2. Association rates of MMP gene polymorphic markers with breast cancer of different biological subtypes

Локус	Генотипы, аллели, генетические модели	РМЖ люминального А- и В-подтипов	РМЖ тройного негативного подтипа	РМЖ HER2+ подтипа
<i>rs679620 MMP3</i>	C vs T (1)	ОШ 0,89 (95% ДИ 0,70–1,14), $p=0,372$	ОШ 0,96 (95% ДИ 0,72–1,28), $p=0,770$	ОШ 0,49 (95% ДИ 0,26–0,91), $p=0,021$
	CC vs CT vs TT (2)	ОШ 0,84 (95% ДИ 0,64–1,11), $p=0,223$	ОШ 0,92 (95% ДИ 0,60–1,42), $p=0,715$	ОШ 0,46 (95% ДИ 0,22–0,97), $p=0,041$
	CC vs CT+TT (3)	ОШ 0,91 (95% ДИ 0,58–1,42), $p=0,677$	ОШ 0,92 (95% ДИ 0,47–1,08), $p=0,800$	ОШ 0,59 (95% ДИ 0,21–1,65), $p=0,316$
	CC+CT vs TT (4)	ОШ 0,68 (95% ДИ 0,41–1,10), $p=0,117$	ОШ 0,88 (95% ДИ 0,42–1,83), $p=0,731$	ОШ 0,01 (95% ДИ 0,00–*), $p=0,992$
<i>rs1940475 MMP8</i>	C vs T (1)	ОШ 0,98 (95% ДИ 0,76–1,25), $p=0,855$	ОШ 1,08 (95% ДИ 0,81–1,44), $p=0,582$	ОШ 0,57 (95% ДИ 0,31–1,04), $p=0,065$
	CC vs CT vs TT (2)	ОШ 1,05 (95% ДИ 0,80–1,38), $p=0,735$	ОШ 1,11 (95% ДИ 0,73–1,68), $p=0,624$	ОШ 0,48 (95% ДИ 0,24–1,00), $p=0,050$
	CC vs CT+TT (3)	ОШ 0,99 (95% ДИ 0,64–1,54), $p=0,980$	ОШ 1,12 (95% ДИ 0,56–2,23), $p=0,742$	ОШ 0,37 (95% ДИ 0,15–1,00), $p=0,050$
	CC+CT vs TT (4)	ОШ 1,15 (95% ДИ 0,73–1,79), $p=0,551$	ОШ 1,18 (95% ДИ 0,60–2,32), $p=0,629$	ОШ 0,39 (95% ДИ 0,09–1,74), $p=0,218$
<i>rs17576 MMP9</i>	A vs G (1)	ОШ 0,78 (95% ДИ 0,60–1,01), $p=0,059$	ОШ 0,87 (95% ДИ 0,65–1,18), $p=0,375$	ОШ 0,79 (95% ДИ 0,43–1,44), $p=0,436$
	AA vs AG vs GG (2)	ОШ 0,71 (95% ДИ 0,53–0,95), $p=0,022$	ОШ 1,14 (95% ДИ 0,74–1,75), $p=0,564$	ОШ 0,80 (95% ДИ 0,40–1,62), $p=0,539$
	AA vs AG+GG (3)	ОШ 0,67 (95% ДИ 0,45–0,99), $p=0,044$	ОШ 1,20 (95% ДИ 0,63–2,27), $p=0,582$	ОШ 0,78 (95% ДИ 0,30–2,03), $p=0,616$
	AA+AG vs GG (4)	ОШ 0,57 (95% ДИ 0,30–1,08), $p=0,083$	ОШ 1,17 (95% ДИ 0,52–2,59), $p=0,709$	ОШ 0,68 (95% ДИ 0,15–3,02), $p=0,612$
<i>rs3787268 MMP9</i>	G vs A (1)	ОШ 1,06 (95% ДИ 0,79–1,43), $p=0,690$	ОШ 1,18 (95% ДИ 0,84–1,67), $p=0,332$	ОШ 0,69 (95% ДИ 0,30–1,56), $p=0,371$
	GG vs GA vs AA (2)	ОШ 0,98 (95% ДИ 0,69–1,38), $p=0,907$	ОШ 1,53 (95% ДИ 0,93–2,51), $p=0,093$	ОШ 0,79 (95% ДИ 0,32–1,99), $p=0,621$
	GG vs GA+AA (3)	ОШ 0,89 (95% ДИ 0,59–1,34), $p=0,569$	ОШ 1,23 (95% ДИ 0,66–2,27), $p=0,515$	ОШ 0,87 (95% ДИ 0,31–2,39), $p=0,782$
	GG+GA vs AA (4)	ОШ 1,61 (95% ДИ 0,67–3,85), $p=0,289$	ОШ 4,51 (95% ДИ 1,70–11,97), $p=0,003$	ОШ 0,01 (95% ДИ 0,00–*), $p=0,997$

Примечание. Данные получены методом логистического регрессионного анализа с коррекцией на возраст. Полу жирным шрифтом выделены статистически значимые различия, подтвержденные пермутационным тестом. Приведены данные по 4 генетическим моделям: аллельной (1), аддитивной (2), доминантной (3), рецессивной (4); * – показатель не определяется.

Вышеприведенные данные указывают на протективное значение редких аллельных вариантов T *rs679620 MMP3* (ОШ 0,46–0,49) и *rs1940475 MMP8* (ОШ 0,37–0,48) при формировании HER2+ РМЖ.

Итак, полученные нами результаты свидетельствуют о наличии существенных генетических особенностей различных молекулярно-биологических подтипов РМЖ по полиморфизмам генов MMP. С риском развития РМЖ люминального А- и В-подтипов ассоциирован полиморфизм с.836 A>G *MMP9* (*rs17576*), подверженность РМЖ тройного негативного молекулярно-биологического подтипа связана с полиморфным локусом с.1331-163 G>A *MMP9* (*rs3787268*), а с формированием HER2+ РМЖ ассоциированы 2 полиморфизма генов *MMP3* (с.133 T>C, *rs679620*) и *MMP8* (с.259 T>C, *rs1940475*).

При изучении функциональных эффектов полиморфных локусов, связанных с формированием различных молекулярно-биологических подтипов РМЖ – с.836 A>G *MMP9* (*rs17576*), с.1331-163 G>A *MMP9* (*rs3787268*), с.133 T>C *MMP3* (*rs679620*) и с.259 T>C *MMP8* (*rs1940475*; использовали анализ *in silico* материалов, представленных в генетической базе данных *haploReg*), – установлена значимая эпигенетическая роль всех 4 вышеуказанных полиморфных локусов генов MMP в органе-мишени при РМЖ. Эти полиморфизмы локализируются в регуляторных участках генома человека (энхансеры), определяющих модуляцию транскрипционной активности соответствующих генов в первичных эпителиальных (Epigenome ID: E119 – *rs17576 MMP9*, *rs1940475 MMP8*; Epigenome ID: E028 – *rs17576* и *rs3787268 MMP9*) и миоэпителиальных (Epigenome ID: E027 – *rs17576* и *rs3787268 MMP9*, *rs679620 MMP3*) клетках молочной железы. Также полиморфизм с.836 A>G *MMP9* (*rs17576*) расположен в участке генома, определяющем эффективность транскрипции гена *MMP9* (промоторный регион данного гена, обеспечивающий связывание ДНК с ферментом РНК-полимеразой, осуществляющим транскрипцию гена) в первичных эпителиальных (Epigenome ID: E119) и миоэпителиальных (Epigenome ID: E027) клетках молочной железы.

Кроме того, 3 полиморфных локуса из 4 изученных – с.836 A>G *MMP9* (*rs17576*), с.259 T>C *MMP8* (*rs1940475*) и с.133 T>C *MMP3* (*rs679620*) – обуславливают несинонимические замены аминокислот в кодируемых ими белках – *MMP9* (Q279R), *MMP8* (K87E) и *MMP3* (K45E) соответственно.

Материалы баз данных GTExportal и Blood eQTL browser указывают на связь всех 4 полиморфизмов, определяющих подверженность РМЖ различных молекулярно-биологических подтипов, с экспрессией и альтернативным сплайсингом различных генов. Так, аллель A *rs3787268*, ассоциированный с высоким риском развития тройного негативного фенотипа РМЖ (ОШ>1), связан с низкой экспрессией генов *AL162458.10-3* и *MMP9* в периферической крови (Z -score=-11,51, $p_{FDR}=0$). Также аллель A *rs3787268 MMP9* связан с низкой интенсивностью экспрессии ряда генов в висцеральной и подкожной жировой ткани – *NEURL2* (нормализованный показатель ассоциации – NES=-0,32, $p<0,001$ и NES=-0,31, $p<0,001$ соответственно), *RP3-337O18.9* (NES=-0,32, $p<0,001$ и NES=-0,23, $p<0,001$ соответственно), *SLC12A5* (NES=-0,40, $p<0,001$ и NES=-0,26, $p=0,00002$ соответственно), *SPATA25* (NES=-0,33, $p<0,001$, висцеральная жировая ткань), *ZSWIM1* (NES=-0,28, $p<0,001$, висцеральная жировая ткань), *PLTP* (NES=-0,14, $p<0,001$, подкожная жировая ткань), *PLTP* во фронтальной коре головного мозга (NES=-0,14, $p<0,001$) и надпочечниках (NES=-0,31, $p<0,001$), а также с высокой экспрессией гена *ZNF335* в периферической крови (NES=0,12, $p<0,001$) и гена *CD40* в подкожной жировой ткани (NES=0,18, $p=0,000022$). Наряду с этим аллель A *rs3787268 MMP9* ассоциирован с высоким уровнем альтернативного сплайсинга гена *PLTP* как в подкожной жировой ткани (NES=0,36, $p<0,001$, ID интрона – 45907904:45909942:clu_30841), так и, что особенно важно, в молочной железе (NES=0,41, $p<0,001$, ID интрона – 45907904:45909942:clu_31248).

Выраженной связью с экспрессией и альтернативным сплайсингом различных генов характеризуется и аллель G *rs17576 MMP9*, ассоциированный с низким риском развития РМЖ люминального А- и В-подтипов (ОШ<1). Дан-

ный аллельный вариант связан с транскрипционной активностью различных генов в висцеральной и подкожной жировой ткани – CD40 (NES=0,17, $p<0,001$ и NES=0,14, $p<0,001$ соответственно), NEURL2 (NES=-0,25, $p<0,001$ и NES=-0,26, $p<0,001$ соответственно), PLTP (NES=-0,17, $p<0,001$ и NES=-0,17, $p<0,001$ соответственно), RP3-337O18.9 (NES=-0,24, $p<0,001$ и NES=-0,23, $p<0,001$ соответственно), SLC12A5 (NES=-0,20, $p<0,001$, подкожная жировая ткань), SPATA25 (NES=-0,26, $p<0,001$, висцеральная жировая ткань), ZSWIM1 (NES=-0,26, $p<0,001$, висцеральная жировая ткань); в надпочечниках – SLC12A5 (NES=-0,49, $p<0,001$) и RP11-465L10.10 (NES=-0,42, $p<0,001$), PLTP (NES=-0,25, $p<0,001$), PCIF1 (NES=0,31, $p<0,001$); в щитовидной железе – PLTP (NES=-0,17, $p<0,001$) и NEURL2 (NES=-0,22, $p<0,001$); гена ZNF335 в периферической крови (NES=0,09, $p<0,001$); гена PLTP в гипофизе (NES=-0,22, $p<0,001$). Вместе с этим аллель G rs17576 MMP9 ассоциирован с высоким уровнем альтернативного сплайсинга гена SLC12A5 в гипофизе (NES=0,63, $p<0,001$, ID интрона – 46021886:46023369:clu_29529) и низким уровнем альтернативного сплайсинга этого же гена в коре головного мозга (NES=-0,45, $p<0,001$, ID интрона – 46023071:46023369:clu_24852).

Установлена ассоциация аллеля T rs1940475 MMP8, играющего защитную роль в формировании HER2+ РМЖ, с низкой экспрессией генов MMP27 и RP11-817J15.3 в периферической крови (NES=-0,24, $p<0,001$ и NES=-0,17, $p<0,001$ соответственно) и высокой экспрессией этих генов в подкожной жировой ткани (MMP7, NES=0,15, $p<0,001$) и печени (RP11-817J15.3, NES=0,44, $p<0,001$). Полиморфизм rs679620 MMP3 связан с транскрипционной активностью гена MMP1 в клеточной культуре трансформированных фибробластов (NES=0,31, $p<0,001$ – для аллеля C).

Обсуждение

Полученные нами данные о вовлеченности полиморфных локусов с.836 A>G MMP9 (rs17576), с.1331-163 G>A MMP9 (rs3787268), с.133 T>C MMP3 (rs679620) и с.259 T>C MMP8 (rs1940475) в развитие РМЖ различных молекулярно-биологических подтипов согласуются с ранее опубликованными материалами по этой теме. Так, в работе S. Chan [15] показана протективная роль минорного аллеля T rs679620 MMP3 (в гетерозиготном состоянии) для тяжелого течения РМЖ с возникновением удаленных метастазов (ОШ<1), что соответствует нашим данным о протективном значении этого аллельного варианта для развития HER2+ РМЖ. В исследованиях других авторов [7, 16] продемонстрирована связь аллеля A rs3787268 MMP9 (в составе генотипов AA и GA) с повышенным риском возникновения РМЖ (ОШ 1,52) [7] и плохой безрецидивной выживаемостью пациенток с РМЖ [16], что в полной мере коррелирует с нашими данными о риском значении генотипа AA rs3787268 MMP9 для развития тройного негативного фенотипа РМЖ (ОШ>1). Протективное значение аллеля T rs1940475 MMP8 (ОШ 0,60) в развитии метастазов при РМЖ установлено в работе J. Decock и соавт. [17]. Следует отметить и наличие работ, в которых не обнаружены ассоциации рассмотренных в данном исследовании полиморфных локусов с РМЖ [8, 9]. Наряду с этим по локусу с.836 A>G MMP9 (rs17576) полученные нами данные о протективной роли аллеля G в формировании РМЖ люминального А- и В-подтипов (ОШ 0,67–0,71) отличаются от результатов работ [18, 19], в которых показано рисковое значение генотипа GG rs17576 для возникновения РМЖ в азиатских популяциях. Различия в характере ассоциаций локуса с.836 A>G MMP9 (rs17576) с РМЖ могут быть связаны с межэтническими различиями в исследуемых выборках (европейская

популяция в нашем исследовании и азиатские популяции в исследованиях [18, 19]).

Современные данные литературы о роли MMP в формировании РМЖ убедительно указывают на их важное патогенетическое значение [20]. Так, MMP3 вовлечен в процессы онкогенеза, что показано как в экспериментальных исследованиях на модели трансгенных мышей (обуславливает возникновение предраковых и злокачественных очагов, инициирует геномную нестабильность в молочной железе и прогрессирование опухоли), так и в клинических исследованиях (наблюдаются изменения концентрации MMP3 в очаге поражения, а также в крови и моче пациенток с РМЖ) [20]. Предлагается использовать MMP3 в качестве биомаркера с целью прогнозирования риска развития метастазов РМЖ [20]. Связь MMP9 с развитием РМЖ тоже не вызывает сомнений: продукция этой MMP в опухоли существенно выше в сравнении с нормальной тканью [6], и уровень MMP9 в организме напрямую коррелирует с прогрессированием заболевания и выживаемостью больных [8]. Предполагается и вовлеченность MMP8 в развитие РМЖ за счет своих противоопухолевых эффектов (расщепление субстрата эфрин-В1, активация PI3K/Akt/Rac1-пути, повышение продукции трансформирующего фактора роста β_1 и др.) [10].

Заключение

Установлены особенности вовлеченности в формирование РМЖ различных молекулярно-биологических подтипов полиморфных локусов генов MMP. С риском развития РМЖ люминального А- и В-подтипов ассоциирован полиморфизм с.836 A>G MMP9 (rs17576), подверженность РМЖ тройного негативного молекулярно-биологического подтипа связана с полиморфным локусом с.1331-163 G>A MMP9 (rs3787268), с формированием HER2+ РМЖ ассоциированы 2 полиморфизма генов – MMP3 (с.133 T>C, rs679620) и MMP8 (с.259 T>C, rs1940475). Согласно данным *in silico*, эти полиморфные локусы проявляют выраженные функциональные эффекты в органах и тканях, являющихся патогенетически значимыми для заболевания, и в том числе в органе-мишени – молочной железе.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ «Изучение генетических факторов репродуктивного здоровья женщин» (МД-3284.2022.1.4).

Funding source. The work was carried out with the financial support of the President of Russian Federation grant "Study of genetic factors of women's reproductive health" (MD-3284.2022.1.4).

Соответствие принципам этики. Выполнение исследования поддержано Этическим комитетом ФГАОУ ВО НИУ «БелГУ» (протокол №4 от 11.04.2012) и проводилось на основе получения информированного (письменного) согласия всех женщин, включенных в исследование. Одобрение и процедуру проведения протокола получали по принципам Хельсинкской конвенции.

Ethics approval. The study was supported by the Ethics Committee of the Belgorod State National Research University

(protocol №4 of 11.04.2012) and was conducted on the basis of obtaining informed (written) consent of all women included in the study. The approval and procedure for the protocol were obtained according to the principles of the Helsinki Convention.

Литература/References

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer*. 2021. DOI:10.1002/ijc.33588
2. Злокачественные новообразования в России в 2018 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М, 2019. Режим доступа: https://glavonco.ru/cancer_register/%D0%97%D0%B0%D0%B1%D0%BE%D0%BB_2018_%D0%AD%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%80.pdf. Ссылка активна на 16.08.2022 [Zlokachestvennye novoobrazovaniia v Rossii v 2018 godu. Pod red. AD Kaprina, VV Starinskogo, GV Petrovoi. Moscow, 2019. Available at: https://glavonco.ru/cancer_register/Zabol_2018_Elekt.pdf. Accessed: 16.08.2022 (in Russian)].
3. Mucci LA, Hjelmberg JB, Harris JR, et al. Familial Risk and Heritability of Cancer Among Twins in Nordic Countries. *JAMA*. 2016;315(1):68-76. DOI:10.1001/jama.2015.17703. Erratum in: *JAMA*. 2016;315(8):822.
4. Michailidou K, Lindström S, Dennis J, et al. Association analysis identifies 65 new breast cancer risk loci. *Nature*. 2017;551(7678):92-4. DOI:10.1038/nature24284
5. Павлова Н.В., Орлова В.С., Батлукская И.В., и др. Роль высокопенетрантных мутаций в генах BRCA1 и CHEK2 в характере ассоциаций полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ с раком молочной железы. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2022;8(2):180-97 [Pavlova NV, Orlova VS, Batlutskaia IV, et al. The role of highly penetrant mutations in BRCA1 and CHEK2 genes in the pattern of associations of matrix metalloproteinase gene polymorphisms with breast cancer. *Research Results in Biomedicine*. 2022;8(2):180-97 (in Russian)]. DOI:10.18413/2658-6533-2022-8-2-0-4
6. Przybyłowska K, Kluczna A, Zadrozny M, et al. Polymorphisms of the promoter regions of matrix metalloproteinases genes MMP-1 and MMP-9 in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2006;95(1):65-72. DOI:10.1007/s10549-005-9042-6
7. Slattery ML, John E, Torres-Mejia G, et al. Matrix metalloproteinase genes are associated with breast cancer risk and survival: The Breast Cancer Health Disparities Study. *PLoS ONE*. 2013;8:e63165. DOI:10.1371/journal.pone.0063165
8. Zhang X, Jin G, Li J, Zhang L. Association between four MMP-9 polymorphisms and breast cancer risk: a meta-analysis. *Med Sci Monit*. 2015;21:1115-23. DOI:10.12659/MSM.893890
9. Xu T, Zhang S, Qiu D, et al. Association between matrix metalloproteinase 9 polymorphisms and breast cancer risk: An updated meta-analysis and trial sequential analysis. *Gene*. 2020;759:144972. DOI:10.1016/j.gene.2020.144972
10. Juurikka K, Butler GS, Salo T, et al. The Role of MMP8 in Cancer: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18):4506. DOI:10.3390/ijms20184506
11. Пономаренко И.В., Полоников А.В., Чурносов М.И. Ассоциация полиморфизма rs4986938 гена ESR2 с развитием гиперплазии эндометрия. *Акушерство и гинекология*. 2019;4:66-72 [Ponomarenko IV, Polonikov AV, Churnosov MI. Association of ESR2 rs4986938 polymorphism with the development of endometrial hyperplasia. *Obstetrics and Gynecology*. 2019;4:66-72 (in Russian)]. DOI:10.18565/aig.2019.4.66-72
12. Пономаренко И.В., Полоников А.В., Чурносов М.И. Полиморфные локусы гена LHCGR, ассоциированные с развитием миомы матки. *Акушерство и гинекология*. 2018;10:86-91 [Ponomarenko IV, Polonikov AV, Churnosov MI. Polymorphic LHCGR gene loci associated with the development of uterine fibroids. *Obstetrics and Gynecology*. 2018;10:86-91 (in Russian)]. DOI:10.18565/aig.2018.10.86-91
13. Свинаярева Д.И. Вклад ген-генных взаимодействий полиморфных локусов матриксных металлопротеиназ в подверженность к первичной открытоугольной глаукоме у мужчин. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2020;6(1):63-77 [Svinareva DI. The contribution of gene-gene interactions of polymorphic loci of matrix metalloproteinases to susceptibility to primary open-angle glaucoma in men. *Research Results in Biomedicine*. 2020;6(1):63-77 (in Russian)]. DOI:10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-6
14. Пономаренко И.В., Решетников Е.А., Полоников А.В., Чурносов М.И. Полиморфный локус rs314276 гена LIN28B ассоциирован с возрастом менархе у женщин Центрального Черноземья России. *Акушерство и гинекология*. 2019;2:98-104 [Ponomarenko IV, Reshetnikov EA, Polonikov AV, Churnosov MI. The polymorphic locus rs314276 of the LIN28B gene is associated with the age of menarche in women of the Central Black Earth Region of Russia. *Obstetrics and Gynecology*. 2019;2:98-104 (in Russian)]. DOI:10.18565/aig.2019.2.98-104
15. Chan SC. Identification and analysis of single nucleotide polymorphisms in matrix metalloproteinase 2 and 3 genes in Malaysian breast cancer patients [doctor's thesis]. Serdang: Universiti Putra Malaysia Institutional Repository, 2013. Available at: <http://psasir.upm.edu.my/id/eprint/38622/> Accessed: 17.08.2022.
16. Fu F, Wang C, Chen LM, et al. The influence of functional polymorphisms in matrix metalloproteinase 9 on survival of breast cancer patients in a Chinese population. *DNA Cell Biol*. 2013;32(5):274-82. DOI:10.1089/dna.2012.1928
17. Decock J, Long JR, Laxton RC, et al. Association of matrix metalloproteinase-8 gene variation with breast cancer prognosis. *Cancer Res*. 2007;67:10214-21. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-07-1683
18. Chahil JK, Munretnam K, Samsudin N, et al. Genetic polymorphisms associated with breast cancer in Malaysian cohort. *Indian J Clin Biochem*. 2015;30(2):134-9. DOI:10.1007/s12291-013-0414-0
19. Oliveira VA, Chagas DC, Amorim JR, et al. Association between matrix metalloproteinase-9 gene polymorphism and breast cancer in Brazilian women. *Clinics (Sao Paulo)*. 2020;75:e1762. DOI:10.6061/clinics/2020/e1762
20. Suhaimi SA, Chan SC, Rosli R. Matrix Metalloproteinase 3 Polymorphisms: Emerging genetic Markers in Human Breast Cancer Metastasis. *J Breast Cancer*. 2020;23(1):1-9. DOI:10.4048/jbc.2020.23.e17

Статья поступила в редакцию / The article received: 16.07.2022

Статья принята к печати / The article approved for publication: 25.10.2022