

АССОЦИИИ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ С РАЗВИТИЕМ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН ЦЕНТРАЛЬНО-ЧЕРНОЗЕМНОГО РЕГИОНА РОССИИ

© 2023 г. Н. В. Павлова¹, И. В. Пономаренко¹, В. С. Орлова¹,
И. В. Батлуцкая¹, О. А. Ефремова¹, М. И. Чурносов^{1, *}¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, 308015 Россия

*e-mail: churnosov@bsu.edu.ru

Поступила в редакцию 09.04.2022 г.

После доработки 19.05.2022 г.

Принята к публикации 23.06.2022 г.

Изучена ассоциация полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ (*MMP*) с раком молочной железы (РМЖ) у женщин Центрально-Черноземного региона (ЦЧР) России с учетом наличия/отсутствия отягощенного семейного анамнеза. В исследование включены 358 больных РМЖ (у 68 пациенток зарегистрирован отягощенный семейный анамнез) и 746 женщин контрольной группы. Выполнено генотипирование 10 полиморфных локусов генов *MMP* (rs1799750 *MMP1*; rs243865 *MMP2*; rs679620 *MMP3*; rs1940475 *MMP8*; rs17576, rs17577, rs3918242, rs2250889, rs3787268, rs3918249 *MMP9*). Для изучения ассоциаций полиморфных вариантов *MMP*-генов с РМЖ в двух подгруппах с учетом наличия/отсутствия отягощенного семейного анамнеза (контрольная группа для этих двух подгрупп была одинаковой) использовался метод логистического регрессионного анализа. Выявлено, что низкий риск развития заболевания среди женщин с отягощенным семейным анамнезом ассоциирован с полиморфными локусами rs243865 *MMP2* (ОШ = 0.53–0.54, $p_{\text{perm}} \leq 0.03$) и rs2250889 *MMP9* (ОШ = 0.36–0.37, $p_{\text{perm}} \leq 0.04$). У женщин без отягощенной наследственности повышенный риск развития РМЖ ассоциирован с rs3787268 *MMP9* (ОШ = 2.16, $p_{\text{perm}} = 0.03$) и гаплотипами полиморфных локусов гена *MMP9* ($p_{\text{perm}} \leq 0.05$): СА rs3918249–rs17576 (ОШ = 2.15), ССА rs3918242–rs3918249–rs17576 (ОШ = 1.69), ССAG rs3918242–rs3918249–rs17576–rs3787268 (ОШ = 1.69), СAGCG rs3918249–rs17576–rs3787268–rs2250889–rs17577 (ОШ = 3.06). Три гаплотипа ассоциированы с низким риском возникновения РМЖ у женщин без отягощенной наследственности: GG rs17576–rs3787268 (ОШ = 0.60), GGC rs17576–rs3787268–rs2250889 (ОШ = 0.63) и CGG rs3918249–rs17576–rs3787268 (ОШ = 0.62).

Ключевые слова: рак молочной железы, гены матриксных металлопротеиназ, полиморфные локусы, ассоциации, наследственная отягощенность.

DOI: 10.31857/S001667582302008X, EDN: KYAYIZ

Рак молочной железы (РМЖ) является злокачественной опухолью, которая формируется из эпителиальных структур молочной железы [1]. Согласно данным Международного агентства по изучению рака, опубликованным в 2020 г., РМЖ является наиболее часто диагностируемым раком у женщин – на его долю приходится 24.5% в структуре злокачественных заболеваний и ежегодно в мире регистрируется 2.3 миллиона новых случаев болезни [2]. В структуре смертности женского населения в мире в целом удельный вес РМЖ составляет 15.5% (ежегодно данная патология является причиной смерти 685 тыс. женщин) [3]. Согласно материалам официальной статистики, представленным Росстатом РФ [4], в России за последние 15 лет наблюдается существенный рост (на 49%) количества пациентов с установленным впервые

в жизни диагнозом РМЖ – с 49.5 тыс. человек в 2005 г. до и 73.9 тыс. человек в 2019 г. Следует отметить, что РМЖ является ведущим онкологическим заболеванием у женского населения РФ – он занимает первое место как в структуре онкозаболеваемости женщин (20.9%), так и в структуре причин смерти женщин от злокачественных новообразований (16.18%) [5]. При этом важно подчеркнуть, что среди изучаемого в настоящей работе населения ЦЧР России (входит в состав Центрального федерального округа (ЦФО) РФ) показатели заболеваемости РМЖ превышают данные по РФ в целом [5]. Так, в 2018 г. в ЦФО РФ заболеваемость РМЖ среди женщин составила 53.04 на 100 тыс. женского населения (в том числе в областях ЦЧР РФ: Белгородская – 52.77, Курская –

53.64, Воронежская — 51.78), тогда как в РФ в целом этот показатель составил 51.64 [5].

Генетические факторы имеют важное значение в формировании РМЖ: считается, что порядка 30% всех случаев заболевания имеют наследственный характер [6]. Однако конкретные генетические факторы, определяющие развитие РМЖ, остаются в значительной степени неизвестными [6, 7]. Установленные к настоящему времени мутации в генах предрасположенности к РМЖ с высокой и умеренной пенетрантностью (*BRCA1/2*, *CHEK2*, *PALB2*, *ATM* и др.) [6–8] определяют около 5% случаев заболевания и они выявляются лишь у 1/3 больных (30–40%), имеющихотягощенный семейный анамнез [6, 7]. Проведенные многочисленные полногеномные исследования (GWAS) позволили определить около 200 полиморфных локусов, ассоциированных с РМЖ [9], которые определяют порядка 18% его наследуемости [10]. Следует отметить, что показатель наследуемости РМЖ, полученный по GWAS-данным (18%), более чем в 1.7 раза меньше аналогичного показателя, полученного по данным близнецовых исследований (31%) [11].

Одной из “перспективных” для исследования групп генов-кандидатов РМЖ являются гены матриксных металлопротеиназ (*MMP*), белковые продукты которых — матриксные металлопротеиназы имеют большое значение в патофизиологии заболевания [12, 13]. *MMP* являются цинк-зависимыми эндопептидазами, они продуцируются опухолевыми и стромальными клетками, “активно” участвуют в процессах деградациии экстрацеллюлярного матрикса и базальной мембраны, влияя тем самым на рост опухоли, ангиогенез, метастазирование [12, 13]. Показана значительно более высокая продукция *MMP* (*MMP2*, *MMP9* и др.) в опухолевых клетках при РМЖ в сравнении с “нормальными” клетками молочной железы [14, 15].

В литературе представлено достаточно большое количество генетико-эпидемиологических исследований (более 50), посвященных изучению ассоциаций полиморфных локусов генов *MMP* с РМЖ в различных этно-территориальных группах [15–25 и др.]. Однако несмотря на это, полученные в результате проведенных исследований результаты нередко неоднозначны, а для отдельных полиморфных локусов — противоречивы. Так, например, ассоциация локуса rs243865 гена *MMP2* с РМЖ изучена в 17 экспериментальных исследованиях и трех метаанализах, среди которых лишь в восьми работах продемонстрированы “рисковое” значение для заболевания его аллеля *C* или протективная роль аллеля *T*, тогда как в значительном количестве этих исследований локус rs243865 гена *MMP2* не ассоциирован с РМЖ [16–20 и др.]. Еще более противоречивая информация по ассоциации с РМЖ получена для локуса rs3787268 *MMP9*: в ряде исследований фактором риска для

развития болезни является аллель *A* этого локуса [21], по результатам других работ данный полиморфизм не ассоциирован с заболеванием [22, 23] или, наоборот, аллель *A* ассоциирован с низким риском развития РМЖ [24, 25]. Вышеуказанные данные диктуют необходимость продолжения исследований по этой теме с целью установления “значимых” для РМЖ полиморфных локусов генов *MMP* в отдельных популяциях и в том числе Российской Федерации.

Цель настоящей работы — изучить ассоциации полиморфных вариантов генов *MMP* с РМЖ у женщин Центрально-Черноземного региона России с учетом наличия/отсутствия отягощенного семейного анамнеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 358 больных РМЖ (у 68 пациенток зарегистрирован отягощенный семейный анамнез (родственники 1–2 степени родства имели РМЖ (карциному молочной железы)) и 290 пациенток не имели наследственной отягощенности по РМЖ) и 746 женщин контрольной группы без отягощенного семейного анамнеза по РМЖ. Все женщины, включенные в исследование, — русские, родились и проживали в ЦЧР России [26, 27]. Выборка больных РМЖ была сформирована на базе Белгородского областного онкологического диспансера за период 2010–2016 гг. и в нее включали пациенток с впервые выявленными карциномами молочной железы. Диагноз заболевания был подтвержден с помощью патоморфологического исследования образцов опухолевой ткани, полученных интраоперационно [1]. Контрольная группа была сформирована в результате профосмотров, проводимых на базе перинатального центра БОКБ, из женщин аналогичного возраста, не имеющих клинических, клинико-инструментальных и анамнестических признаков РМЖ. Средний возраст больных составил 54.7 ± 12.7 лет (варьировал от 25 до 84 лет), контрольной группы — 55.3 ± 11.2 лет (варьировал от 27 до 82 лет) ($p > 0.05$).

Для генетического исследования использовали образцы ДНК обследуемых (ДНК выделяли из венозной крови). Отбор полиморфных локусов генов *MMP* для настоящего исследования проводили на основе следующих критериев: 1) данные для сравнительного анализа представлены в литературных источниках [15–25 и др.]; 2) значимый регуляторный потенциал (расположение в функционально активных участках генома (энхансеры, промоторы), локализация в регионах связывания с белками-регуляторами и факторами транскрипции и др.). Регуляторный потенциал SNP оценивали *in silico* с помощью биоинформатической базы HaploReg [28] согласно ранее представленной методике [29]. Всего в работе исследовано 10 локусов пяти генов *MMP*: *MMP1*

(rs1799750), *MMP2* (rs243865), *MMP3* (rs679620), *MMP8* (rs1940475), *MMP9* (rs17576, rs17577, rs3918242, rs2250889, rs3787268, rs3918249). Генотипирование полиморфных локусов проводили на амплификаторе CFX96 (фирма-производитель — “Bio-Rad”, США) [30] (использовался метод TaqMan зондов и технология real-time ПЦР; применялись наборы реагентов, разработанные фирмой “Тест-Ген”, Россия). С целью контроля качества генотипирования в работе проводили “слепое” ре-генотипирование около 5% анализируемых образцов ДНК [31], которое показало 100%-ную воспроизводимость результатов.

Для оценки ассоциаций полиморфных вариантов генов *MMP* с РМЖ использовали программу PLINK [32] и общепринятый метод логистической регрессии с проведением расчетов показателей отношения шансов (ОШ) и их 95%-ного доверительного интервала (95%ДИ) [33] в аллельной, доминантной, рецессивной, аддитивной генетико-статистических моделях. С целью коррекции на множественные сравнения (ложноположительные ассоциации) применяли адаптивный пермутационный тест [34] с требуемым уровнем статистической значимости ($p_{\text{perm}} < 0.05$). Локусы *MMP*, показавшие значимые ассоциации с заболеванием, детально проанализированы *in silico* с помощью биоинформатической базы HaploReg [28] и имеющихся литературных данных по этому вопросу на предмет их функциональной значимости [35–37].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено соответствие наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при выполнении равновесия Харди–Вайнберга среди изучаемых групп больных РМЖ (с отягощенным семейным анамнезом и без наследственной отягощенности) и контроля по всем рассматриваемым полиморфным локусам генов *MMP* (при уровне статической значимости с учетом поправки Бонферрони на множественные сравнения согласно числу анализируемых SNP-вариантов ($n = 10$) $p_{\text{bonferroni}} > 0.005$ (0.05/10)) (табл. 1).

В результате проведенного анализа обнаружены различия в наборе полиморфных локусов генов-кандидатов *MMP*, ассоциированных с РМЖ, у женщин, имеющих и не имеющих отягощенный семейный анамнез. Данные, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что у женщин с отягощенным семейным анамнезом по развитию РМЖ ассоциированы локус rs243865 (C>T) гена *MMP2* согласно аллельной (T против C, ОШ = 0.54, 95%ДИ 0.33–0.88, $p_{\text{perm}} = 0.01$), аддитивной (TT против CT против CC, ОШ = 0.54, 95%ДИ 0.34–0.90, $p_{\text{perm}} = 0.01$) и доминантной (TT и CT против CC, ОШ = 0.53, 95%ДИ 0.30–0.92, $p_{\text{perm}} = 0.03$) ге-

нетико-статистическим моделям и локус rs2250889 (C>G) гена *MMP9* в соответствии с аддитивной (GG против CG против CC, ОШ = 0.37, 95%ДИ 0.15–0.94, $p_{\text{perm}} = 0.04$) и доминантной (GG и CG против CC, ОШ = 0.36, 95%ДИ 0.14–0.96, $p_{\text{perm}} = 0.04$) генетико-статистическими моделями. РМЖ без отягощенной наследственности ассоциирован с локусом rs3787268 (G>A) гена *MMP9* в рамках рецессивной генетико-статистической модели (AA против GA и GG, ОШ = 2.16, 95%ДИ 1.08–4.32, $p_{\text{perm}} = 0.04$).

При анализе гаплотипов по шести полиморфным локусам гена *MMP9*, расположенным рядом друг с другом (на дистанции ≈ 7 тыс. пн) на хромосоме 20, обнаружены ассоциации спорадического РМЖ с семью гаплотипами, включающими все шесть рассмотренных в настоящей работе полиморфных локусов гена *MMP9*. Причем большинство (четыре из семи) этих гаплотипов “повышают” риск развития заболевания: CA rs3918249–rs17576 (ОШ = 2.15, $p = 0.009$), CCA rs3918242–rs3918249–rs17576 (ОШ = 1.69, $p = 0.004$), CCAG rs3918242–rs3918249–rs17576–rs3787268 (ОШ = 1.69, $p = 0.005$), CAGCG rs3918249–rs17576–rs3787268–rs2250889–rs17577 (ОШ = 3.06, $p = 0.009$). Три гаплотипа ассоциированы с низким риском возникновения РМЖ: GG rs17576–rs3787268 (ОШ = 0.60, $p = 0.005$), GGC rs17576–rs3787268–rs2250889 (ОШ = 0.63, $p = 0.01$), и CGG rs3918249–rs17576–rs3787268 (ОШ = 0.62, $p = 0.01$). Следует отметить, что показатель p_{perm} для всех семи вышеуказанных гаплотипов соответствует уровню статистической значимости $p_{\text{perm}} < 0.05$. Нами не зарегистрированы статистически подтвержденные ассоциации гаплотипов по исследованным SNP гена *MMP9* с риском развития РМЖ у женщин с отягощенным семейным анамнезом ($p_{\text{perm}} > 0.05$).

Итак, согласно полученным нами данным у женщин Центрально-Черноземного региона РФ с отягощенным семейным анамнезом по РМЖ “протективное” значение для развития заболевания имеют аллели T rs243865 (C>T) *MMP2* (ОШ = 0.53–0.54) и G rs2250889 (C>G) *MMP9* (ОШ = 0.36–0.37, $p_{\text{perm}} \leq 0.04$), а у женщин без отягощенной наследственности повышенный риск возникновения заболевания маркируется генотипом AA rs3787268 (G>A) *MMP9* (ОШ = 2.16), а также различными гаплотипами гена *MMP9*, включающими разные сочетания аллелей шести изученных полиморфных локусов данного гена (rs3918242; rs3918249; rs17576; rs3787268; rs2250889; rs17577).

Сравнительный анализ полученных нами результатов и данных литературы показывает следующее. Ассоциация полиморфизма rs243865 (C>T) *MMP2* с РМЖ активно изучается различными исследовательскими группами в разных этно-территориальных популяциях мира — в литературе имеются результаты 20 исследований, посвящен-

Таблица 1. Данные о распределении аллелей и генотипов полиморфных локусов генов *MMP* в изучаемых группах больных РМЖ и контроле

Полиморфизм гена	Генотипы, редкий аллель	Больные РМЖ		Контрольная группа (<i>N</i> = 746), % (<i>n</i>)
		отягощенный семейный анамнез (<i>N</i> = 68), % (<i>n</i>)	без отягощенного семейного анамнеза (<i>N</i> = 290), % (<i>n</i>)	
rs1799750 <i>MMP1</i>	<i>1G1G</i>	28.36 (19)	27.53 (79)	30.43 (220)
	<i>1G2G</i>	49.25 (33)	51.22 (147)	46.33 (335)
	<i>2G2G</i>	22.39 (15)	21.25 (61)	23.24 (168)
	<i>2G</i>	47.01	46.86	46.40
	<i>p_{HWE}</i>	1.00	0.72	0.07
rs243865 <i>MMP2</i>	<i>CC</i>	71.21 (47)	54.58 (155)	57.24 (419)
	<i>CT</i>	27.27 (18)	39.79 (113)	35.66 (261)
	<i>TT</i>	1.52 (1)	5.63 (16)	7.10 (52)
	<i>T</i>	15.15	25.53	24.93
	<i>p_{HWE}</i>	1.00	0.53	0.20
rs679620 <i>MMP3</i>	<i>CC</i>	22.73 (15)	27.93 (81)	25.71 (190)
	<i>CT</i>	60.61 (40)	49.31 (143)	48.85 (361)
	<i>TT</i>	16.66 (11)	22.76 (66)	25.44 (188)
	<i>T</i>	46.97	47.41	49.86
	<i>p_{HWE}</i>	0.14	0.90	0.55
rs1940475 <i>MMP8</i>	<i>CC</i>	22.06 (15)	25.78 (74)	28.34 (210)
	<i>CT</i>	51.47 (35)	54.01 (155)	45.48 (337)
	<i>TT</i>	26.47 (18)	20.21 (58)	26.18 (194)
	<i>T</i>	52.21	47.21	48.92
	<i>p_{HWE}</i>	1.00	0.19	0.02
rs3918242 <i>MMP9</i>	<i>CC</i>	66.18 (45)	71.33 (204)	69.12 (508)
	<i>CT</i>	30.88 (21)	24.13 (69)	28.43 (209)
	<i>TT</i>	2.94 (2)	4.54 (13)	2.45 (18)
	<i>T</i>	18.38	16.61	16.67
	<i>p_{HWE}</i>	1.00	0.03	0.60
rs3918249 <i>MMP9</i>	<i>TT</i>	43.28 (29)	42.71 (120)	37.55 (276)
	<i>TC</i>	47.76 (32)	41.28 (116)	47.07 (346)
	<i>CC</i>	8.96 (6)	16.01 (45)	15.38 (113)
	<i>C</i>	32.84	36.65	38.91
	<i>p_{HWE}</i>	0.59	0.07	0.82
rs17576 <i>MMP9</i>	<i>AA</i>	44.12 (30)	45.07 (128)	38.22 (284)
	<i>AG</i>	47.06 (32)	40.49 (115)	45.76 (340)
	<i>GG</i>	8.82 (6)	14.44 (41)	16.01 (119)
	<i>G</i>	32.35	34.68	38.90
	<i>p_{HWE}</i>	0.78	0.09	0.32

Таблица 1. Окончание

Полиморфизм гена	Генотипы, редкий аллель	Больные РМЖ		Контрольная группа (N = 746), % (n)
		отягощенный семейный анамнез (N = 68), % (n)	без отягощенного семейного анамнеза (N = 290), % (n)	
rs3787268 <i>MMP9</i>	GG	63.08 (41)	59.30 (169)	61.03 (451)
	GA	33.85 (22)	33.33 (95)	34.91 (258)
	AA	3.07 (2)	3.37 (21)	4.06 (30)
	A	20.00	24.04	21.52
	<i>p</i> _{HWE}	1.00	0.14	0.39
rs2250889 <i>MMP9</i>	CC	86.57 (58)	84.72 (244)	80.14 (589)
	CG	13.43 (9)	13.89 (40)	17.82 (131)
	GG	0.00 (0)	1.39 (4)	2.04 (15)
	G	6.72	8.33	10.95
	<i>p</i> _{HWE}	1.00	0.12	0.02
rs17577 <i>MMP9</i>	GG	62.79 (42)	72.73 (208)	68.73 (499)
	AG	34.33 (23)	23.08 (66)	28.51 (207)
	AA	2.98 (2)	4.19 (12)	2.76 (20)
	A	20.15	15.73	17.01
	<i>p</i> _{HWE}	1.00	0.04	0.89

ных этому вопросу, которые были выполнены за период 2004–2022 гг. Следует отметить, что полученные при этом результаты в разных популяциях неоднозначны. В ряде работ показана ассоциация локуса rs243865 (C>T) гена *MMP2* с РМЖ и отдельными его клиническими проявлениями (наличие метастазов, выживаемость, гистологический тип опухоли и др.) как самостоятельно, так и в составе комбинаций с другими полиморфными локусами генов матриксных металлопротеиназ [17, 20, 38–42]. При этом в этих исследованиях, как и в нашей работе (для группы женщин с отягощенной наследственностью), протективную роль для развития РМЖ имеет аллель T локуса rs243865, а соответственно рискованное значение для возникновения заболевания имеет аллельный вариант C локуса rs243865. Так, в исследованиях, проведенных в Мексике (изучались выборки из 90 больных и 96 контроля) [20] и Саудовской Аравии (работа проведена на выборках, включающих 90 пациентов с РМЖ и 92 контроля) [39], генетическим фактором повышенного риска развития рассматриваемого заболевания является генотип CC (ОШ = 2.15 и ОШ = 2.02 соответственно). В метаанализе обнаружено, что больные РМЖ имеют более высокую частоту генотипа CC (OR = 1.27) и более низкую частоту генотипа CT (OR = 0.78) rs243865 (C>T) *MMP2* в сравнении с контролем [17]. В результате

другого метаанализа (включал 9858 больных РМЖ и 10871 контроля), показано, что генотип CC rs243865 связан с повышенным риском развития РМЖ только в популяции Латинской Америки, но не в Европе и Азии [40]. В работах, выполненных в Китае (анализировались 462 больных РМЖ и 509 контроля) [38] и Тунисе (изучено 210 больных РМЖ и 250 контроля) [41], было показано, что аллель T имеет протективное значение для РМЖ (ОШ = 0.46 и ОШ = 0.49 соответственно).

Наряду с этим в ряде исследований, проведенных в различных популяциях (польской, греческой, бразильской, шведской, китайской, иранской и др.), ассоциаций полиморфизма rs243865 (C>T) гена *MMP2* с РМЖ не выявлено ($p > 0.05$) [19, 21, 43–49]. Не установлено ассоциации локуса rs243865 (C>T) гена *MMP2* с РМЖ и в исследовании у российских женщин (выборка включала 395 больных инфильтрирующим РМЖ и 329 контроля) [50]. При этом следует отметить, что авторы работы зарегистрировали отклонение от равновесия Харди–Вайнберга в исследуемой выборке больных ($p = 0.0089$), что по их мнению вероятно свидетельствует о воздействии какого-либо фактора, связанного с развитием неопластического процесса в этой группе женщин. Также не выявлено ассоциации локуса rs243865 (C>T) гена *MMP2* с РМЖ и метастазами при РМЖ и в двух

Таблица 2. Показатели ассоциации полиморфизма генов MMP с раком молочной железы с учетом наличия/отсутствия отягощенного семейного анамнеза

Полиморфизм гена	Редкий аллель	N	Аллельная модель				Аддитивная модель				Доминантная модель				Рецессивная модель			
			ОШ	95%ДИ		p	ОШ	95%ДИ		p	ОШ	95%ДИ		p	ОШ	95%ДИ		p
				L95	U95			L95	U95			L95	U95			L95	U95	
В группе больных с отягощенным семейным анамнезом																		
rs1799750 MMP1	2G	790	1.03	0.72	1.46	0.89	0.96	0.65	1.42	0.85	0.95	0.51	1.76	0.87	0.95	0.47	1.89	0.88
rs243865 MMP2	T	798	0.54	0.33	0.88	0.01	0.54	0.34	0.90	0.01	0.53	0.30	0.92	0.03	0.27	0.04	2.03	0.20
rs679620 MMP3	T	805	0.89	0.62	1.27	0.52	0.86	0.57	1.30	0.47	1.06	0.53	2.10	0.87	0.60	0.28	1.28	0.18
rs1940475 MMP8	T	809	1.14	0.80	1.62	0.46	1.15	0.77	1.72	0.49	1.16	0.60	2.24	0.67	1.27	0.67	2.40	0.47
rs3918242 MMP9	T	803	1.13	0.71	1.78	0.61	1.05	0.62	1.77	0.86	1.04	0.56	1.92	0.90	1.17	0.25	5.44	0.84
rs3918249 MMP9	C	802	0.77	0.53	1.12	0.17	0.82	0.54	1.25	0.36	0.80	0.45	1.43	0.45	0.71	0.29	1.73	0.45
rs17576 MMP9	G	811	0.75	0.52	1.09	0.13	0.80	0.52	1.22	0.30	0.76	0.42	1.35	0.34	0.73	0.30	1.76	0.48
rs3787268 MMP9	A	804	0.91	0.58	1.43	0.69	1.03	0.61	1.73	0.92	1.01	0.55	1.85	0.98	1.20	0.27	5.33	0.81
rs2250889 MMP9	G	802	0.59	0.29	1.17	0.13	0.37	0.15	0.94	0.04	0.36	0.14	0.96	0.04	0.00	0.00	—	1.00
rs17577 MMP9	A	793	1.23	0.79	1.92	0.36	1.19	0.72	1.98	0.50	1.26	0.69	2.30	0.46	1.10	0.24	5.00	0.91
В группе больных без отягощенной наследственности																		
rs1799750 MMP1	2G	1002	1.02	0.84	1.24	0.85	1.12	0.88	1.41	0.36	1.40	0.95	2.07	0.09	0.94	0.62	1.41	0.76
rs243865 MMP2	T	1005	1.03	0.83	1.29	0.78	0.93	0.70	1.22	0.59	1.01	0.72	1.43	0.94	0.53	0.23	1.21	0.13
rs679620 MMP3	T	1018	0.91	0.75	1.10	0.32	0.86	0.67	1.09	0.20	0.80	0.55	1.17	0.25	0.83	0.56	1.23	0.35
rs1940475 MMP8	T	1017	0.93	0.77	1.13	0.49	1.01	0.80	1.27	0.94	0.91	0.63	1.32	0.63	1.13	0.77	1.66	0.52
rs3918242 MMP9	T	1010	1.00	0.77	1.29	0.97	1.03	0.75	1.41	0.86	0.99	0.69	1.43	0.97	1.37	0.54	3.48	0.50
rs3918249 MMP9	C	1005	0.91	0.74	1.11	0.35	0.97	0.76	1.23	0.80	0.91	0.64	1.29	0.60	1.05	0.66	1.66	0.84
rs17576 MMP9	G	1016	0.83	0.68	1.02	0.08	0.81	0.63	1.04	0.09	0.80	0.57	1.12	0.19	0.68	0.41	1.13	0.13
rs3787268 MMP9	A	1013	1.15	0.92	1.45	0.22	1.17	0.88	1.56	0.27	1.06	0.76	1.50	0.72	2.16	1.08	4.32	0.03
rs2250889 MMP9	G	1012	0.74	0.53	1.04	0.08	0.71	0.47	1.06	0.09	0.65	0.41	1.04	0.07	0.79	0.22	2.84	0.71
rs17577 MMP9	A	1001	0.91	0.70	1.19	0.49	0.90	0.65	1.24	0.50	0.88	0.60	1.27	0.48	0.90	0.34	2.37	0.83

Примечание. ОШ – отношение шансов, 95%ДИ – доверительный интервал отношения шансов (L95 – нижний предел и U95 – верхний предел доверительного интервала), p – уровень значимости, жирным выделены статистически значимые показатели с учетом результатов проведенного пермутационного теста (выполнено 1000 пермутаций).

метаанализах [16, 18]. Следует отметить, что в исследуемой нами группе женщин без отягощенной наследственности полиморфный локус rs243865 (C>T) гена *MMP2* также не был ассоциирован с РМЖ ($p > 0.05$). Полученные нами данные и имеющиеся литературные материалы позволяют предположить, что одним из факторов, который может объяснять неоднозначность результатов ассоциативных исследований локуса rs243865 (C>T) гена *MMP2* с РМЖ в разных популяциях, наряду с такими факторами как различия в генетической структуре рассматриваемых популяций человека, средовых и индивидуальных факторах риска заболевания, может быть различный удельный вес среди изучаемых больных РМЖ индивидуумов с отягощенным семейным анамнезом. Согласно результату настоящей работы у женщин с наследственной отягощенностью по РМЖ полиморфный локус rs243865 (C>T) гена *MMP2* определяет предрасположенность к развитию заболевания, тогда как у женщин без отягощенной наследственности данный локус не связан с риском развития РМЖ.

Согласно результату ранее проведенных экспериментальных исследований полиморфный локус rs243865 гена *MMP2* расположен в промоторном участке (CCACC box) данного гена (–1306C>T) в регионе сайта связывания фактора транскрипции SP-1, при этом нуклеотидная замена C>T приводит к снижению экспрессии белка MMP2 [51]. Данные исследований, посвященных *in silico* оценке функционального потенциала локуса rs243865 гена *MMP2*, указывают на его важную регуляторную роль в геноме человека: регион генома, в котором расположен данный полиморфизм, является мишенью для эпигенетической регуляции экспрессии генов посредством посттрансляционных модификаций гистоновых белков, связан с экспрессией гена *AYTL1* и длинной некодирующей РНК – *RP11-212121.2 (MMP2-AS1)*, является областью “открытого” хроматина (регион гиперчувствительности к ДНКазе) и др. [52, 53]. Согласно базе данных по эпигенетике HaploReg полиморфный вариант rs243865 находится в регионе генома, который является энхансерным регуляторным участком для этого гена (маркируется метилированным вариантом гистоновых белков фракции H3 – H3K4me1) в первичных миоэпителиальных клетках молочной железы (breast myoepithelial primary cells (Epigenome ID: E028, Mnemonic: BRST.MYO)).

Матриксная металлопротеиназа 2 (синоним: желатиназа А) обладает коллагенолитической активностью по отношению к коллагену IV типа и экспрессируется в клетках соединительной ткани [54]. Коллаген IV типа является составной частью базальных мембран и вследствие этого протеолитическая активность матриксной металлопротеиназы 2 приводит в конечном итоге к усилению remodelирования внеклеточного матрикса в мем-

бранных структурах [19]. Литературные данные показывают, что MMP-2 является одним из важнейших факторов, определяющих инвазию и метастазирование опухоли, при этом в очаге поражения РМЖ регистрируется существенно более высокая экспрессия MMP-2 в сравнении с “нормальными” клетками молочной железы, где она минимальна [14]. Важно подчеркнуть, что согласно нашему результату и ряду литературных данных [17, 20, 38–41] аллель T rs243865 имеет протективное значение при РМЖ (ОШ < 1) и нуклеотидная замена C>T (rs243865) в регионе сайта связывания фактора транскрипции SP-1 приводит к снижению экспрессии белка MMP2 [51], что полностью согласуется с вышеприведенными данными о минимально низкой экспрессии MMP-2 в “неопухолевых” клетках (фибробласты и др.) молочной железы при сравнении с опухолевыми клетками [14].

Наряду с полиморфным вариантом rs243865 (C>T) гена *MMP2* значимый вклад в предрасположенность к РМЖ среди женщин Центрально-Черноземного района России, имеющих отягощенный семейный анамнез по данной патологии, вносит полиморфизм rs2250889 (C>G) гена *MMP9*, аллель G которого является протективным фактором для рассматриваемого заболевания (ОШ < 1). Данные литературы по вопросу роли rs2250889 *MMP9* в формировании РМЖ весьма малочисленны и фрагментарны. Так, на настоящий момент в литературе представлены результаты лишь четырех экспериментальных исследований по этой теме, из которых два проведены в китайской популяции (одно исследование включало 1056 больных и 1063 контроля [55], другое исследование выполнено на выборке 249 больных и 255 контроля [56]) и по одному исследованию в малайзийской (выборки для исследования составили по 80 человек среди больных и контроля) [57] и иорданской (в работе анализировались 230 больных и 225 контроля) [58] популяциях. Значимая ассоциация локуса rs2250889 (C>G) гена *MMP9* с РМЖ из этих четырех работ установлена лишь в одном малочисленном исследовании, проведенном среди населения Малайзии: генетическим фактором повышенного риска развития заболевания (OR = 10.84) является генотип GG [57]. Из трех проведенных метаанализов по этому вопросу [22–24] в одном исследовании (основывалось на результатах трех из четырех вышеуказанных работ) показана ассоциация локуса rs2250889 (C>G) гена *MMP9* с РМЖ (рисковое значение для заболевания имеет аллель G, OR = 2.53) [23], а в двух работах (одна из них основывалось на результатах тех же трех из четырех вышеуказанных работ, как и предыдущий метаанализ, а другая включала две работы) такой ассоциации на статистически достоверном уровне выявлено не было ($p > 0.05$) ([24] и [22] соответственно).

Итак, согласно имеющимся литературным данным и полученным нами результатам можно констатировать, что из пяти проведенных исследований по изучению ассоциации rs2250889 (C>G) *MMP9* с РМЖ лишь в двух работах (одна из них наше исследование) показана ассоциация с заболеванием данного локуса. При этом генетическим фактором повышенного риска для азиатской популяции (население Малайзии) является генотип *GG* по локусу rs2250889 (C>G) гена *MMP9*, тогда как для европейской популяции (население Центрально-Черноземного района России с отягощенным семейным анамнезом по РМЖ) аллель *G* rs2250889 (C>G) гена *MMP9* имеет протективный эффект по отношению к рассматриваемому заболеванию (ОШ = 0.36–0.37). Безусловно, этих экспериментальных данных недостаточно, чтобы делать не только окончательные, но и промежуточные выводы о межэтнических особенностях ассоциации локуса rs2250889 (C>G) гена *MMP9* с РМЖ, и требуется проведение дальнейших исследований для уточнения имеющихся данных. Вместе с этим следует отметить, что в литературе имеются достаточно убедительные данные о наличии выраженных межэтнических особенностей ассоциаций ряда генов-кандидатов с многофакторными фенотипами (например, костная масса, глаукома и др.) [59–61] и др.

Литературные материалы [62, 63] и данные онлайн базы HaploReg свидетельствуют о значимой функциональной роли локуса rs2250889 (C>G) гена *MMP9* в организме. Во-первых, данный полиморфизм находится в экзоне 6 гена *MMP9* и замена C>G в с.1721-м положении является несинонимичной и приводит к аминокислотной замене аргинина на пролин в 574-м положении белка *MMP9*. Во-вторых, регион генома, в котором находится полиморфный локус rs2250889, является эволюционно консервативным регионом “открытого” хроматина и выполняет функции энхансера регуляторного участка (маркируется метилированным вариантом гистоновых белков фракции H3 – H3K4me1) в более чем 20 различных тканях и органах и в том числе в разных культурах первичных эпителиальных и миоэпителиальных клеток молочной железы (HMEC mammary epithelial primary cells (Epigenome ID: E119, Mnemonic: BRST.HMEC), breast variant human mammary epithelial cells (vHMEC) (Epigenome ID: E028, Mnemonic: BRST.HMEC.35), breast myoepithelial primary cells (Epigenome ID: E027, Mnemonic: BRST.MYO)). В-третьих, участок ДНК, в котором расположен rs2250889, является местом связывания с белком-регулятором CTCF и фактором транскрипции NRSF. Причем нуклеотидная замена C>G (rs2250889) приводит к снижению афинности регуляторного мотива ДНК к транскрипционному фактору NRSF.

В настоящей работе обнаружено, что у женщин Центрально-Черноземного района России без отягощенной наследственности повышенный риск возникновения РМЖ связан с генотипом *AA* rs3787268 (G>A) гена *MMP9* (ОШ = 2.16). Наши данные согласуются с результатами работы Slatery et al. [21], в которой также показано “рисковое” значение для РМЖ генотипов *AA+GA* в сравнении с генотипом *GG* (ОШ = 1.52) среди женщин США. Также генотипы *AA+GA* ассоциированы с выживаемостью больных РМЖ у населения юго-восточного Китая [56]. Вместе с этим в трех исследованиях – одном экспериментальном [55] и двух метаанализах [22, 23] не было выявлено ассоциации локуса rs3787268 (G>A) гена *MMP9* с заболеванием, а в других двух работах (также экспериментальной (изучалась китайская популяция Han [25]) и метаанализе [24]), наоборот, аллельный вариант *A* rs3787268 имел протективное значение для РМЖ (ОШ = 0.82). Вышеприведенные материалы указывают на противоречивость имеющихся на настоящий момент времени данных об ассоциации локуса rs3787268 (G>A) гена *MMP9* с РМЖ и необходимо проведение дальнейших генетико-эпидемиологических исследований по этому вопросу.

Согласно базе данных по эпигенетике HaploReg и литературным материалам [63] полиморфный вариант rs3787268 находится в интроне (с.1331–163G>A) гена *MMP9*, который является функционально активным регионом генома (регион “открытого” хроматина) и выполняет важную регуляторную роль – является энхансером для этого гена (маркируется метилированным белком-гистоном H3K4me1) в различных тканях и органах и в том числе в первичных эпителиальных и миоэпителиальных клетках молочной железы (breast myoepithelial primary cells (Epigenome ID: E027, Mnemonic: BRST.MYO), breast variant human mammary epithelial cells (vHMEC) (Epigenome ID: E028, Mnemonic: BRST.HMEC.35)). Также регион ДНК, в котором расположен локус rs3787268, является сайтом связывания с шестью факторами транскрипции (Sox, HDAC2, p300, Pou1f1, Mef2 и Zfp105). Следует отметить, что замена нуклеотида G>A в позиции с.1331–163 (rs3787268) обуславливает повышение афинности ко всем шести вышеуказанным факторам транскрипции.

Матриксная металлопротеиназа 9 (синоним: желатиназа В) является коллагеназой IV типа (способна разрушать коллаген IV типа и денатурированные коллагены и приводить за счет этого к разрушению базальных мембран) и вследствие этого имеет важное значение в патофизиологии РМЖ: *MMP9* вовлечена в процессы прогрессирования и метастазирования заболевания [22, 64]. Литературные данные указывают на то, что экспрессия *MMP9* повышена при РМЖ [18], и в опухолевой ткани наблюдаются более высокие концентрации

ММР9 в сравнении с нормальной тканью молочной железы [15]. Экспрессия ММР9 имеет прогностическое значение для общей и безрецидивной выживаемости пациенток РМЖ [22]. В результате проведенного метаанализа (в исследование включены данные о 2344 пациентках с РМЖ из 15 ранее выполненных работ) установлено, что высокая экспрессия ММР9 повышает риск рецидива и ухудшает выживаемость у больных РМЖ [65].

Следует отметить, что генетические варианты *ММР*, которые определяют подверженность РМЖ у женщин Центрально-Черноземного района России, за счет “многогранных” медико-биологических эффектов детерминируемых ими матриксных металлопротеиназ (протеолитическое расщепление различных компонентов соединительнотканного матрикса, изменение продукции ламинина, фибронектина и др.), имеющих “ключевое” значение в ремоделировании внеклеточного матрикса, обладают выраженными плеiotропными эффектами в организме — вовлечены в патофизиологию достаточно широкого спектра часто встречающихся заболеваний человека и в том числе, как показали результаты ранее проведенных исследований в популяции Центрально-Черноземного района России (данная популяция рассматривается в данной работе), таких заболеваний как артериальная гипертензия, цереброваскулярные заболевания, первичная открытоугольная глаукома, язвенная болезнь [52, 53, 62, 63, 66] и др. Эти данные указывают на “ключевую” роль генов матриксных металлопротеиназ в организме как в норме, так и при патологии, и проводимые генетико-эпидемиологические исследования в этой области позволяют установить синтропные и “специфические” генетические варианты генов *ММР*, определяющие подверженность к различным заболеваниям человека.

В результате проведенного исследования обнаружены различия в ассоциациях полиморфных локусов генов-кандидатов *ММР* с РМЖ у женщин с учетом наличия/отсутствия у них отягощенного семейного анамнеза. Среди женщин с отягощенным семейным анамнезом низкий риск развития заболевания связан с полиморфными локусами rs243865 гена *ММР2* (ОШ = 0.53–0.54 для аллеля *T*) и rs2250889 гена *ММР9* (ОШ = 0.36–0.37 для аллеля *G*). У женщин без отягощенной наследственности высокий риск развития РМЖ ассоциирован с rs3787268 *ММР9* (ОШ = 2.16 для аллеля *A*) и гаплотипами шести изученных полиморфных локусов (rs3918242; rs3918249; rs17576; rs3787268; rs2250889; rs17577) гена *ММР9* ($p_{\text{perm}} \leq 0.05$).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ “Изучение генетических факторов репродуктивного здоровья женщин” (МД-3284.2022.1.4).

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национально-го комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Gradishar W.J., Anderson B.O., Blair S.L. et al.* Breast cancer version 3.2014 // J. Natl Compr. Canc. Netw. 2014. V. 12 (4). P. 542–590.
2. *Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I. et al.* Cancer statistics for the year 2020: An overview // Int. J. Cancer. 2021. V. 149. P. 778–789. <https://doi.org/10.1002/ijc.33588>
3. *Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // CA Cancer J. Clin. 2021. V. 71. P. 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
4. Здравоохранение в России. 2021: Стат.сб./Росстат. М., 2021. 171 с.
5. *Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В.* Злокачественные новообразования в России в 2018 г. М., 2019. 250 с.
6. *Lilquist J., Ruddy K.J., Vachon C.M., Couch F.J.* Common genetic variation and breast cancer risk—past, present, and future // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2018. V. 27 (4). P. 380–394. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-17-1144>
7. *Shiovitz S., Korde L.A.* Genetics of breast cancer: A topic in evolution // Ann. Oncol. 2015. V. 26 (7). P. 1291–1299. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv022>
8. *Павлова Я.В., Мингажева Э.Т., Прокофьева Д.С. и др.* Рак яичников в составе наследственных онкологических синдромов (обзор) // Науч. результаты биомед. исследований. 2021. Т. 7. № 4. С. 330–362. <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2021-7-4-0-2>
9. <https://www.ebi.ac.uk/gwas/search?query=breast%20carcinoma>
10. *Michailidou K., Lindström S., Dennis J. et al.* Association analysis identifies 65 new breast cancer risk loci // Nature. 2017. V. 551(7678). P. 92–94. <https://doi.org/10.1038/nature24284>
11. *Mucci L.A., Hjelmborg J.B., Harris J.R. et al.* Familial risk and heritability of cancer among twins in nordic countries // JAMA. 2016. V. 315(1). P. 68–76. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.17703>
12. *Radisky E.S., Radisky D.C.* Matrix metalloproteinases as breast cancer drivers and therapeutic targets // Front Biosci. (Landmark Ed). 2015. V. 20(7). P. 1144–1163. <https://doi.org/10.2741/4364>
13. *Eiro N., Gonzalez L.O., Fraile M. et al.* Breast cancer tumor stroma: Cellular components, phenotypic heterogeneity, intercellular communication, prognostic im-

- plications and therapeutic opportunities // *Cancers* (Basel). 2019. V. 11 (5). P. 664.
<https://doi.org/10.3390/cancers11050664>
14. Baker E.A., Stephenson T.J., Reed M.W., Brown N.J. Expression of proteinases and inhibitors in human breast cancer progression and survival // *Mol. Pathol.* 2002. V. 55(5). P. 300–304.
<https://doi.org/10.1136/mp.55.5.300>
 15. 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. V. 95(1). P. 65–72.
 16. McColgan P., Sharma P. Polymorphisms of matrix metalloproteinases 1, 2, 3 and 9 and susceptibility to lung, breast and colorectal cancer in over 30000 subjects // *Int. J. Cancer.* 2009. V. 125 (6). P. 1473–1478.
<https://doi.org/10.1002/ijc.24441>
 17. Zhou P., Du L.F., Lv G.Q. et al. Current evidence on the relationship between four polymorphisms in the matrix metalloproteinases (MMP) gene and breast cancer risk: A meta-analysis // *Breast Cancer Res. Treat.* 2011. V. 127 (3). P. 813–818.
<https://doi.org/10.1007/s10549-010-1294-0>
 18. Liu D., Guo H., Li Y. et al. Association between polymorphisms in the promoter regions of matrix metalloproteinases (MMPs) and risk of cancer metastasis: A meta-analysis // *PLoS One.* 2012. V. 7 (2). P. e31251.
 19. Białkowska K., Marciniak W., Muszyńska M. et al. Polymorphisms in MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-13 and MT2A do not contribute to breast, lung and colon cancer risk in polish population // *Hered. Cancer Clin. Pract.* 2020. V. 18. P. 16.
 20. Delgado-Enciso I., Cepeda-Lopez F.R., Monrroy-Guizar E.A. et al. Matrix metalloproteinase-2 promoter polymorphism is associated with breast cancer in a Mexican population // *Gynecol. Obstet. Invest.* 2008. V. 65 (1). P. 68–72.
 21. Slattery M.L., 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. V. 8. P. e63165.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063165>
 22. 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. V. 21. P. 1115–1123.
<https://doi.org/10.12659/MSM.893890>
 23. 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. V. 759. P. 144972.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144972>
 24. Yan C., Sun C., Lu D. et al. Estimation of associations between MMP9 gene polymorphisms and breast cancer: Evidence from a meta-analysis // *Int. J. Biol. Markers.* 2022. P. 17246008221076145.
<https://doi.org/10.1177/17246008221076145>
 25. Wang K., Zhou Y., Li G. et al. MMP8 and MMP9 gene polymorphisms were associated with breast cancer risk in a Chinese Han population // *Sci. Rep.* 2018. V. 8(1). P. 13422.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-31664-3>
 26. Tikunova E., Ovtcharova V., Reshetnikov E. et al. Genes of tumor necrosis factors and their receptors and the primary open angle glaucoma in the population of Central Russia // *Int. J. Ophthalmol.* 2017. V. 10. P. 1490–1494.
<https://doi.org/10.18240/ijo.2017.10.02>
 27. Reshetnikov E., Ponomarenko I., Golovchenko O. et al. The VNTR polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and blood pressure in women at the end of pregnancy // *Taiwan J. Obstet. Gynecol.* 2019. V. 58(3). P. 390–395.
<https://doi.org/10.1016/j.tjog.2018.11.035>
 28. Ward L.D., Kellis M. HaploReg v4: Systematic mining of putative causal variants, cell types, regulators and target genes for human complex traits and disease // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44(D1). P. D877–D881.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkv1340>
 29. Ponomarenko I., Reshetnikov E., Polonikov A. et al. Candidate genes for age at menarche are associated with endometrial hyperplasia // *Gene.* 2020. V. 757. P. 144933.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144933>
 30. Reshetnikov E., Zarudskaya O., Polonikov A. et al. Genetic markers for inherited thrombophilia are associated with fetal growth retardation in the population of Central Russia // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2017. V. 43(7). P. 1139–1144.
<https://doi.org/10.1111/jog.13329>
 31. Golovchenko O., Abramova M., Ponomarenko I. et al. Functionally significant polymorphisms of ESR1 and PGR and risk of intrauterine growth restriction in population of Central Russia // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2020. V. 253. P. 52–57.
<https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.07.045>
 32. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K. et al. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses // *Am. J. Hum. Genet.* 2007. V. 81(3). P. 559–575.
<https://doi.org/10.1086/519795>
 33. Ponomarenko I., Reshetnikov E., Polonikov A. et al. Candidate genes for age at menarche are associated with endometriosis // *Reprod. Biomed. Online.* 2020. V. 41(5). P. 943–956.
<https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.04.016>
 34. Che R., Jack J.R., Motsinger-Reif A.A., Brown C.C. An adaptive permutation approach for genome-wide association study: evaluation and recommendations for use // *BioData Min.* 2014. V. 7. P. 9.
<https://doi.org/10.1186/1756-0381-7-9>
 35. Pers T.H., Karjalainen J.M., Chan Y. et al. Biological interpretation of genome-wide association studies using predicted gene functions // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 5890.
<https://doi.org/10.1038/ncomms6890>
 36. Tak Y.G., Farnham P.J. Making sense of GWAS: Using epigenomics and genome engineering to understand the functional relevance of SNPs in non-coding regions of the human genome // *Epigenetics & Chromatin.* 2015. V. 8. P. 57.
<https://doi.org/10.1186/s13072-015-0050-4>
 37. Ponomarenko I., Reshetnikov E., Polonikov A. et al. Candidate genes for age at menarche are associated with uterine leiomyoma // *Front. Genet.* 2021. V. 11. P. 512940.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2020.512940>

38. Zhou Y., Yu C., Miao X. *et al.* Substantial reduction in risk of breast cancer associated with genetic polymorphisms in the promoters of the matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 genes // *Carcinogenesis*. 2004. V. 25(3). P. 399–404.
39. Saeed H.M., Alanazi M.S., Alshahrani O. *et al.* Matrix metalloproteinase-2 C(–1306) T promoter polymorphism and breast cancer risk in the Saudi population // *Acta Biochim. Pol.* 2013. V. 60(3). P. 405–409.
40. Yang L., Li N., Wang S. *et al.* Lack of association between the matrix metalloproteinase-2–1306C>T polymorphism and breast cancer susceptibility: A meta-analysis // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014. V. 15(12). P. 4823–4827.
41. Nájima D.B., Zarkouna Y.B., Gammoudi A. *et al.* Prognostic impact of polymorphism of matrix metalloproteinase-2 and metalloproteinase tissue inhibitor-2 promoters in breast cancer in tunisia: case-control study // *Tumour Biol.* 2015. V. 36(5). P. 3815–3822. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-3023-5>
42. Habel A.F., Ghali R.M., Bouaziz H. *et al.* Common matrix metalloproteinase-2 gene variants and altered susceptibility to breast cancer and associated features in Tunisian women // *Tumour Biol.* 2019. V. 41(4). P. 1010428319845749. <https://doi.org/10.1177/1010428319845749>
43. Lei H., Hemminki K., Altieri A. *et al.* Promoter polymorphisms in matrix metalloproteinases and their inhibitors: Few associations with breast cancer susceptibility and progression // *Breast Cancer Res. Treat.* 2007. V. 103(1). P. 61–69.
44. Zagouri F., Sergeantanis T.N., Gazouli M. *et al.* MMP-2 –1306C>T polymorphism in breast cancer: a case-control study in a south European population // *Mol. Biol. Rep.* 2013. V. 40(8). P. 5035–5040.
45. Roehe A.V., Frazzon A.P., Agnes G. *et al.* Detection of polymorphisms in the promoters of matrix metalloproteinases 2 and 9 genes in breast cancer in South Brazil: preliminary results // *Breast Cancer Res. Treat.* 2007. V. 102. P. 123–124.
46. Beeghly-Fadiel A., Lu W., Long J.R. *et al.* Matrix metalloproteinase-2 polymorphisms and breast cancer susceptibility // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009. V. 18(6). P. 1770–1776. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-09-0125>
47. Ledwoń J.K., Hennig E.E., Maryan N. *et al.* Common low-penetrance risk variants associated with breast cancer in Polish women // *BMC Cancer.* 2013. V. 13. P. 510. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-13-510>
48. Manshadi Z.D., Hamid M., Kosari F. *et al.* The relationship between matrix metalloproteinase gene polymorphisms and tumor type, tumor size, and metastasis in women with breast cancer in Central Iran // *Middle East J. Cancer.* 2018. V. 9 (2). P. 123–131.
49. Ou Y.X., Bi R. Meta-analysis on the relationship between the SNP of MMP-2 –1306C>T and susceptibility to breast cancer // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2020. V. 24(3). P. 1264–1270. https://doi.org/10.26355/eurrev_202002_20181
50. Shevchenko A.V., Konenkov V.I., Garbukov E.Iu., Stakheeva M.N. Associating of polymorphism in the promoter regions of genes of metalloproteinase (MMP2, MMP3, MMP9) with options of the clinical course of breast cancer in Russian women // *Vopr. Onkol.* 2014. V. 60(5). P. 630–635. Russian.
51. Price S.J., Greaves D.R., Watkins H. Identification of novel, functional genetic variants in the human matrix metalloproteinase-2 gene: Role of Sp1 in allele-specific transcriptional regulation // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276(10). P. 7549–7558.
52. 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. V. 120(10). P. 16467–16482. <https://doi.org/10.1002/jcb.28815>
53. 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 // *Sci. Rep.* 2021. V. 11(1). P. 5224. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84645-4>
54. Москаленко М.И. Вовлеченность генов матричных металлопротеиназ в формирование артериальной гипертензии и ее осложнений (обзор) // *Науч. результат. Медицина и фармация.* 2018. Т. 4. № 1. С. 53–69. <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2018-4-1-53-69>
55. Beeghly-Fadiel A., Lu W., Shu X.O. *et al.* MMP9 polymorphisms and breast cancer risk: A report from the shanghai breast cancer genetics study // *Breast Cancer Res. Treat.* 2011. V. 126(2). P. 507–513. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-1119-1>
56. Fu F., Wang C., Chen L.M. *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. V. 32(5). P. 274–282. <https://doi.org/10.1089/dna.2012.1928>
57. Chahil J.K., Munretnam K., Samsudin N. *et al.* Genetic polymorphisms associated with breast cancer in malaysian cohort // *Indian J. Clin. Biochem.* 2015. V. 30(2). P. 134–139. <https://doi.org/10.1007/s12291-013-0414-0>
58. Al-Eitan L.N., Jamous R.I., Khasawneh R.H. Candidate gene analysis of breast cancer in the Jordanian population of arab descent: A case-control study // *Cancer Invest.* 2017. V. 35(4). P. 256–270. <https://doi.org/10.1080/07357907.2017.1289217>
59. Dvornyk V., Liu X.H., Shen H. *et al.* Differentiation of Caucasians and Asians at bone mass candidate genes: Implication for ethnic difference of bone mass // *Ann Hum. Genet.* 2003. V. 67. P. 216–227.
60. Pasutto F., Zenkel M., Hoja U. *et al.* Pseudoexfoliation syndrome-associated genetic variants affect transcription factor binding and alternative splicing of LOXL1 // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. P. 15466. <https://doi.org/10.1038/ncomms15466>
61. Eliseeva N., Ponomarenko I., Reshetnikov E. *et al.* LOXL1 gene polymorphism candidates for exfoliation

- glaucoma are also associated with a risk for primary open-angle glaucoma in a Caucasian population from Central Russia // *Mol. Vis.* 2021. V. 27. P. 262–269.
62. Starikova D., Ponomarenko I., Reshetnikov E. et al. Novel data about association of the functionally significant polymorphisms of the MMP-9 gene with exfoliation glaucoma in the Caucasian population of Central Russia // *Ophthalmic. Res.* 2021. V. 64(3). P. 458–464. <https://doi.org/10.1159/000512507>
 63. Minyaylo O., Ponomarenko I., Reshetnikov E. et al. Functionally significant polymorphisms of the MMP-9 gene are associated with peptic ulcer disease in the Caucasian population of Central Russia // *Sci. Rep.* 2021. V. 11(1). P. 13515. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92527-y>
 64. Jones J.L., Walker R.A. Control of matrix metalloproteinase activity in cancer // *J. Pathol.* 1997. V. 183(4). P. 377–379.
 65. Song J., Su H., Zhou Y.Y., Guo L.L. Prognostic value of matrix metalloproteinase 9 expression in breast cancer patients: a meta-analysis // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2013. V. 14(3). P. 1615–1621.
 66. Moskalenko M.I., Milanova S.N., Ponomarenko I.V. et al. Study of associations of polymorphism of matrix metalloproteinases genes with the development of arterial hypertension in men // *Kardiologiya.* 2019. V. 59(7S). P. 31–39. Russian. <https://doi.org/10.18087/cardio.2598>

Associations of Polymorphic Loci of Matrix Metalloproteinase Genes with the Development of Breast Cancer in Women Central Chernozem Region of Russia

N. V. Pavlova^a, I. V. Ponomarenko^a, V. S. Orlova^a, I. V. Batlutskaya^a,
O. A. Efremova^a, and M. I. Churnosov^a, *

^aBelgorod State University, Belgorod, 308015 Russia

*e-mail: churnosov@bsu.edu.ru

The association of polymorphic variants of matrix metalloproteinase (*MMP*) genes with breast cancer (BC) in women of the Central Chernozem region of Russia, taking into account the presence/absence of a burdened family history, was studied. The study included 358 patients with breast cancer (68 patients had a burdened family history) and 746 women of the control group. Genotyping of 10 polymorphic loci of *MMP* genes (rs1799750 *MMP1*; rs243865 *MMP2*; rs679620 *MMP3*; rs1940475 *MMP8*; rs17576, rs17577, rs3918242, rs2250889, rs3787268, rs3918249 *MMP9*) was performed. To study the associations of polymorphic variants of *MMP* genes with breast cancer in two subgroups, taking into account the presence/absence of a burdened family history (the control group for these two subgroups was the same), the method of logistic regression analysis was used. It was revealed that a low risk of developing the disease among women with a burdened family history is associated with polymorphisms rs243865 *MMP2* (OR = 0.53–0.54, $p_{\text{perm}} \leq 0.03$) and rs2250889 *MMP9* (OR = 0.36–0.37, $p_{\text{perm}} \leq 0.04$). In women without burdened heredity, an increased risk of developing breast cancer is associated with rs3787268 *MMP9* (OR = 2.16, $p_{\text{perm}} = 0.03$) and haplotypes of polymorphic loci of the *MMP9* gene ($p_{\text{perm}} \leq 0.05$): CA rs3918249–rs17576 (OR = 2.15), CCA rs3918242–rs3918249–rs17576 (OR = 1.69), CCAG rs3918242–rs3918249–rs17576–rs3787268 (OR = 1.69), CAGCG rs3918249–rs17576–rs3787268–rs2250889–rs17577 (OR = 3.06). Three haplotypes are associated with a low risk of breast cancer in women without burdened heredity: GG rs17576–rs3787268 (OR = 0.60), GGC rs17576–rs3787268–rs2250889 (OR = 0.63), and CGG rs3918249–rs17576–rs3787268 (OR = 0.62).

Keywords: breast cancer, matrix metalloproteinase genes, polymorphic loci, association, hereditary burden.