

# THE ROLE OF TISSUE INHIBITOR OF MATRIX METALLOPROTEINASE-2 POLYMORPHISM IN DEVELOPMENT PROFESSIONALLY CAUSED CHRONIC PULMONARY OBSTRUCTIVE DISEASE

Dolinchuk L.V.

## РОЛЬ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ІНГІБІТОРА МАТРИКСНОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-2 У РОЗВИТКОВІ ПРОФЕСІЙНО ЗУМОВЛЕНОГО ХРОНІЧНОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

# Л

ронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) має тенденції до швидкого поширення серед професійних захворювань у вугільній, гірничо-видобувній та металургійній галузях промисловості, умови праці в яких характеризуються комплексним впливом небезпечних чинників на організм працівника [1].

Нині ХОЗЛ розглядають як одне з найпоширеніших і обтяжливих захворювань, що призводить до непрацездатності, інвалідності, смертності та значних соціально-економічних витрат як в Україні, так і в усьому світі [2-4]. За прогнозами експертів ВООЗ, до 2030 року ХОЗЛ стане третьою провідною причиною смерті на планеті [3]. Сучасна епідеміологічна ситуація характеризується захворюваністю на ХОЗЛ на рівні 7% населення України, що становить приблизно 3 млн. осіб, при цьому показники смертності та інвалідності зростають насамперед серед чоловіків працездатного віку [5].

ХОЗЛ належить до мультифакторних захворювань з полігенним типом успадкування, що виникають у результаті спільної дії генетичних та екогенних чинників. На сьогодні проведено численні дослідження щодо вивчення генетичної схильності ризику розвитку ХОЗЛ, предметом яких є поліморфізм генів, що кодують ос-

новні патогенетичні ланки зазначеного захворювання. Перспективним напрямком наукового пошуку є вивчення поліморфних варіантів генів, експресія яких впливає на активність системи протеоліз-антипротеоліз [6-8]. До таких генів належить інгібітор матриксної металопротеїнази-2 (TIMP-2), продукт якого значною мірою регулює активність протеолітичних ферментів при запальних реакціях у легенях [7-9].

**Мета дослідження.** Визначити роль генетичного поліморфізму (rs9900972) гена TIMP-2 у розвитку ХОЗЛ з метою удосконалення ранньої діагностики та первинної профілактики захворювання.

**Матеріали та методи.** У дослідження було взято 151 шахтаря основних підземних професій, які перебували на стаціонарному лікуванні у клініці професійних захворювань ДУ "Інститут медицини праці НАМН України". Середній вік обстежених становив  $53,7 \pm 4,7$  років, середній стаж —  $21,8 \pm 6,1$  років. До дослідної групи увійшли 72 гірники, хворі на ХОЗЛ. Контрольну групу склали 79 шахтарів, які не мають патології бронхолегеневої системи, але стаж та умови праці яких відповідали таким, що були у шахтарів дослідної групи. Респонден-

**ДОЛІНЧУК Л.В.**  
ДУ "Інститут медицини праці НАМН України", м. Київ

УДК 616.24-057:575.1

**Ключові слова:**  
ХОЗЛ, TIMP-2, генетична схильність.

**РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИНГИБИТОРА МАТРИКСНОЙ МЕТАЛОПРОТЕИНАЗЫ-2 В РАЗВИТИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНО ОБУСЛОВЛЕННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ**  
**Долинчук Л.В.**

ГУ "Институт медицины труда НАМН Украины", г. Киев

**Цель исследования.** Определить роль полиморфизма (rs9900972) гена TIMP-2 в развитии генетической предрасположенности к ХОБЛ с целью усовершенствования ранней диагностики и первичной профилактики заболевания.

**Материалы и методы исследования.** Материалом для исследования была венозная кровь шахтеров, больных ХОБЛ (n=72), и шахтеров без патологии органов дыхания (n=79). Группы респондентов исследования были сопоставимы по возрасту и стажу работы. Изучение полиморфизма гена TIMP2 (rs9900972)

проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Определена частота распределения аллелей и генотипов по гену TIMP-2. Определена величина OR и установлена ассоциация между генотипами TIMP-2\*GA (OR=1,77; 95%CI: 0,83-3,77) и TIMP-2\*AA (OR=3,29; 95%CI: 0,35-30,94) с высоким риском развития ХОБЛ в группе исследования. Также установлено, что у носителей генотипа TIMP-2\*GG формируется резистентность к развитию ХОБЛ (OR=0,51; 95%CI: 0,24-1,06).

**Выводы.** Установлена протективная роль доминантного аллеля TIMP-2\*G и генотипа TIMP-2\*GG ( $p < 0,05$ ) у шахтеров, работающих в условиях воздействия высоких концентраций угольной пыли. Показана ассоциация минорного генотипа TIMP-2\*AA с риском развития ХОБЛ в группе исследования.

**Ключевые слова:** ХОБЛ, TIMP-2, генетическая предрасположенность.

© Долінчук Л.В. СТАТТЯ, 2014.

THE ROLE OF TISSUE INHIBITOR OF MATRIX METALLOPROTEINASE-2 POLYMORPHISM IN DEVELOPMENT PROFESSIONALLY CAUSED CHRONIC PULMONARY OBSTRUCTIVE DISEASE  
**Dolinchuk L.V.**

SI "Institute of Occupational Health of NAMS of Ukraine", Kyiv

**The Objective.** Define the role of TIMP-2 gene polymorphism (rs9900972) in the development of a genetic predisposition to COPD in order to improve early detection and primary prevention of disease.

**Materials and methods.** The genotypes of the TIMP-2 gene polymorphisms (rs9900972) was determined in 72 patients with COPD and 79 healthy controls. Real-time polymerase chain reaction (PCR) was used for genotyping of polymorphisms in TIMP-2 gene.

**Results and discussion.** The study determined frequency distribution of alleles and genotypes for gene TIMP-2. Determined the amount of OR and identified an association between genotypes TIMP-2\*GA (OR = 1,77; 95% CI: 0,83-3,77) and TIMP-2\*AA (OR = 3,29; 95% CI: 0,35-30,94) at high risk of developing COPD in the study group. We also have found that genotype TIMP-2\*GG cause the resistance to the development of COPD (OR = 0,51; 95% CI: 0,24-1,06).

**Conclusions.** The protective role of the dominant allele TIMP-2\*G and genotype TIMP-2\*GG ( $p < 0,05$ ) in miners working in conditions of high concentrations of coal dust was founded. Shown, that the minor genotype TIMP-2\*AA can be associated with the risk of COPD in the study group.

**Keywords:** COPD, TIMP-2, genetic predisposition.

ти, включені у дослідження, працювали в умовах впливу підвищеної концентрації вугільно-породного пилу у шахтах Львівсько-Волинського вугільного басейну та Донбасу.

ДНК для молекулярно-генетичних досліджень виділяли з лейкоцитів периферичної крові стандартним методом за допомогою комерційної тест-системи "ДНК-сорб-В" ("АмпліСенс", Росія).

Визначення алельного поліморфізму гена TIMP2 (rs9900972) проводили з застосуванням реактивів TaqMan® SNP Assay C\_29843677\_10 і 7500 Fast Real time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, USA) методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі. Програма ампліфікації складалася з 50 циклів (денатурація — 92°C, 15 с, гібридизація та елонгація — 60°C, 1 хв.), після чого проводився аналіз дискримінації алелей.

Для статистичного аналізу отриманих даних використовували стандартний метод ксі-квадрату ( $\chi^2$ ) та співвідношення шансів (Odds Ratio (OR), для визначення вірогідності відмінностей у розподілі алельних варіантів та генотипів у процесі розвитку ХОЗЛ обчислення проводили за допомогою статистичної програми Statistica 8.0.

**Результати дослідження та обговорення.** Аналіз даних поширеності алелів гена TIMP-2 показав, що частота домінантного алеля TIMP-2\*G у шахтарів, хворих на ХОЗЛ, становила 111 (71,1%), а у контрольній групі — 136 (86,1%) (табл. 1). Частота мінорного алеля TIMP-2\*A у дослідній групі становила 33 (22,9%), у контрольній групі — 22 (13,9%). Отримане значення частоти алеля TIMP-2\*A у

популяції шахтарів було близьким до популяційного значення в європеїдів — 9,7% [10].

При статистичному аналізі отриманих даних було визначено величину OR для домінантного алеля TIMP-2\*G (OR=0,54; 95%CI: 0,29-1,03) та показано, що наявність зазначеного алеля у генотипі може зумовлювати протективну роль для його носіїв щодо ризику розвитку ХОЗЛ. Аналіз величини OR мінорного алеля TIMP-2\*A у шахтарів, хворих на ХОЗЛ, щодо контрольної групи (OR=1,84; 95%CI: 0,97-3,48) свідчить про кореляційні носійства зазначеного алеля з відносним ризиком розвитку ХОЗЛ.

При обчисленні результатів за допомогою методу  $\chi^2$  у шахтарів досліджуваних груп встановлено статистично достовірну різницю поширеності частот алелів гена TIMP-2 ( $p < 0,05$ ).

Для вивчення асоціації певних генотипів за геном TIMP-2 з ризиком розвитку ХОЗЛ було визначено їхні частоти в обстежених шахтарів дослідної і контрольної груп (рис.).

Дослідженням встановлено, що поширеність гомозигот TIMP-2\*GG у групі хворих становила 48 (58,4%); гетерозигот TIMP-2\*GA — 27 (37,4%), гомозигот TIMP-2\*AA — 3 (4,2%). У контрольній групі поширеність генотипів становила 58

(73,4%), 20 (25,32%) та 1 (1,3%) відповідно (табл. 2).

Відповідність розподілу генотипів до закону Харді-Вайнберга у контрольній групі була перевірена за допомогою тесту ксі-квадрат з 1 ступенем свободи, з використанням корекції Йетса. Розподіл генотипів у контрольній групі відповідає закону Харді-Вайнберга ( $p > 0,05$ ).

При обчисленні результатів за допомогою методу  $\chi^2$  було встановлено статистично вірогідну різницю у розподілі частот генотипу TIMP-2\*GG ( $\chi^2 = 3,19$ ;  $p < 0,05$ ) між шахтарями дослідної та контрольної груп.

За допомогою методу співвідношення шансів було визначено величини OR та встановлено асоціації між генотипами TIMP-2\*GA (OR=1,77; 95%CI: 0,83-3,77) та TIMP-2\*AA (OR =3,29; 95%CI: 0,35-30,94) і високим ризиком розвитку ХОЗЛ серед шахтарів дослідної групи. Крім того, встановлено, що носійство генотипу TIMP-2\*GG чинить відносну резистентність до розвитку ХОЗЛ (OR=0,51; 95%CI: 0,24-1,06).

Отже, аналіз отриманих результатів показав, що в осіб, у генотипі яких присутній мінорний А-алель поліморфізму (rs9900972) гена TIMP-2, визначається підвищений ризик до розвитку ХОЗЛ. Зазначене можна пояснити тим, що наяв-

Таблиця 1  
**Частота (%) поширеності алелів G і A поліморфізму (rs9900972) гена TIMP-2 у популяції шахтарів**

Група обстежених	G	A
Дослідна (n=144)	77,1 (n=111)*	22,9 (n=33)*
Контроль (n=158)	86,1 (n=136)	13,9 (n=22)
OR, 95% CI	0,54 (0,29-1,03)	1,84 (0,97-3,48)

Примітка до таблиць 1 і 2: \* —  $P < 0,05$  порівняно з контролем.

ність даного алеля зумовлює зменшення функціональної активності білкового продукту гена TIMP-2. Відомо, що для запобігання пошкодженню легеневої паренхіми продукується фермент антипротеаза у кількості, необхідній для достатньої протидії високій активності матриксних металопротеїназ. Порушення синтезу даного інгібітора може також призвести до накопичення позаклітинного матриксу з розвитком фіброзу, що є однією з морфологічних характеристик ХОЗЛ. Особливо важливим цей механізм стає на стадії ремоделювання дихальних шляхів при даній патології. Таким чином, коректна експресія гена TIMP-2 має істотне значення для фізіологічної функції легень [9].

**Висновки**

1. У результаті проведеного дослідження було визначено значення OR для носіїв домінантного алеля TIMP-2\*G (OR = 0,54; 95%CI: 0,29-1,03) та генотипу TIMP-2\*GG (OR = 0,51; 95%CI: 0,21-1,06), що свідчать про відносно протективну роль даного генотипу щодо ризику розвитку ХОЗЛ. Також встановлено статистично достовірну різницю частот алеля G гена TIMP-2 ( $\chi^2 = 3,51, p < 0,05$ ) та генотипу TIMP-2\*GG ( $\chi^2 = 3,19; p < 0,05$ ) між шахтарями дослідної і контрольної груп. Отже, ці

поліморфні варіанти гена TIMP-2 можуть бути включеними до переліку біомаркерів резистентності ризику розвитку ХОЗЛ.

2. Встановлено асоціацію між міноним алелем TIMP-2\*A (OR = 1,84; 95%CI: 0,97-3,48) та генотипом TIMP-2\*AA (OR = 3,29; 95%CI: 0,35-30,94) з ризиком розвитку ХОЗЛ у шахтарів підземних шахт України.

3. Отримані результати досліджень відкривають нові можливості для удосконалення заходів первинної і вторинної профілактики ХОЗЛ з урахуванням визначення генетичної схильності до даного захворювання.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Кундієв Ю.І. Професійна захворюваність в Україні у динаміці довгострокового спостереження / Ю.І. Кундієв, А.М. Нагорна // Укр. журн. з проблем медицини праці. — 2006. — № 1. — С. 3-12.
2. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections / A.D. Lopez, K. Shibuya, C. Rao et al. // Eur. Respir. J. — 2006. — Vol. 27. — P. 397-412.
3. Mathers C.D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030 / C.D. Mathers, D. Loncar // PLoS Med. — 2006. — Vol. 3. — № 11. — P. 442.
4. The occupational burden of chronic obstructive pulmonary disease / L. Trupin, G. Earnest, M. San Pedro et al. // Eur. Respir. J. — 2003. — Vol. 22 (3). — P. 462-469.

5. Кундієв Ю.І. Професійні захворювання, що виникають внаслідок впливу пилу / Ю.І. Кундієв, А.М. Нагорна, А.В. Басанець // Професійне здоров'я в Україні / Ю.І. Кундієв (ред.). — Київ: Авіценна, 2006. — С. 99-124.

6. Association of MMP — 12 polymorphisms with severe and very severe COPD: A case control study of MMPs — 1, 9 and 12 in a European population / I. Haq, S. Chappell, S.R. Johnson et al. // BMC Med. Genet. — 2010. — № 11. — P. 7.

7. Association analysis of tissue inhibitor of metalloproteinase2 gene polymorphisms with COPD in Egyptians / A.E. Hegab, T. Sakamoto, Y. Uchida et al. // Respir. Med. — 2005. — Vol. 99. — P. 107-110.

8. Tissue inhibitor of metalloproteinases-2 gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease / K. Hirano, T. Sakamoto, Y. Uchida et al. // Eur. Respir. J. — 2001. — Vol. 18. — P. 748-52.

9. Murphy G. Tissue inhibitors of metalloproteinases / G. Murphy // Genome Biology. — 2011. — Vol. 12, № 11. — P. 233.

10. National Center for Biotechnology Information. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>

**REFERECES**

1. Kundiev Y.I., Nahorna A.M. Ukr. zhurnal z problem medytsyny pratsi. 2005 ; 1 : 3 — 12 (in Ukrainian).

2. Lopez A.D, Shibuya K., Rao C., Mathers C.D., Hansell A.L., Held L.S. et al. Eur Respir. J. 2006; 27 : 397-412.

3. Mathers C.D., Loncar D. PLoS Med. 2006 ; 3(11) : e442.

4. Trupin L., Earnest G., San Pedro M., Balmes J.R., Eisner M.D., Yelin E. et al. Eur Respir J. 2003; 22(3) : 462-469.

5. Kundiev Y.I., Nahorna A.M., Basanets A.V. Profesiini zakhvoriuvannia, shcho vynykaiut vnaslidok vplyvu pylu [Occupational Diseases that Arise due to Dust]. In: Profesiinne zdorovia v Ukraini [Occupational Health in Ukraine]. Kyiv : Avitsenna; 2006 : 99-124 (in Ukrainian).

6. Haq I., Chappell S., Johnson S.R., Loty J., Daly L., Morgan K. et al. BMC Med Genet. 2010; 11: 7.

7. Hegab A.E., Sakamoto T., Uchida Y., Nomura A., Ishii Y., Morishima Y. et al. Respir. Med. 2005; 99 : 107-10.

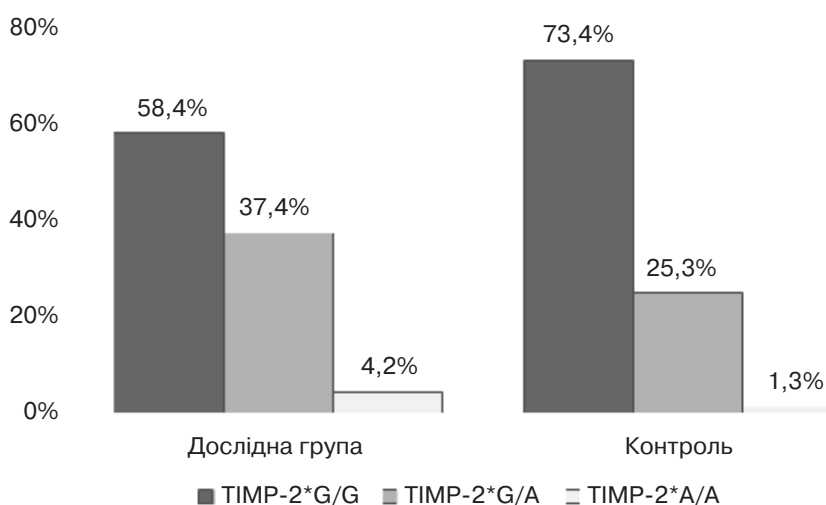
8. Hirano K., Sakamoto T., Uchida Y., Morishima Y., Masuyama K., Ishii Y. et al. Eur Respir J. 2001; 18 : 748-52.

9. Murphy G. Genome Biology. 2011 ; 12 (11) : 233.

10. National Center for Biotechnology Information. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>.

Надійшла до редакції 10.09.2014

**Розподіл частот генотипів гена TIMP-2 у популяції шахтарів**



Таблиця 2

**Поширеність генотипів поліморфізму (rs9900972) гена TIMP-2 у популяції шахтарів**

Група обстежених	G/G	G/A	A/A
Дослідна (n=72)	58,4 (n=42)*	37,4 (n=27)	4,2 (n=3)
Контрольна (n=79)	73,4 (n=58)	25,3 (n=20)	1,3 (n=1)
OR, 95% CI	0,51 (0,24-1,06)	1,77 (0,83-3,77)	3,29 (0,35-30,94)