MMP1 генийн rs17997508 болон *MMP2* генийн rs11646643, rs243864 полиморфизмуудыг уушгины архаг бөглөрөлт өвчинтэй холбон судалсан нь

Г.Марал[1], Ж.Жамбалдорж[1], Г.Чимэдлхамсүрэн[1], Б.Баярлах[1], М.Энхбилэг[1], Б.Агарзандан[3], Т.Сувд[1], Д.Үүрийнцолмон[1], Д.Ичинноров[2], Ж.Сарантуяа[1]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Молекул биологи Удамзүйн тэнхим
[2]АШУҮИС, АУС, Уушги харшил судлалын тэнхим
[3]АШУҮИС, Био-АС, Биологийн тэнхим
Цахим шуудан: Ganbilegmaral889@gmail.com, Утас: 86181202

Түлхүүр үг:

Нэг нуклеотидийн полиморфизм
Матрикс металлопротеаз
Аллель өвөрмөц полимеразын гинжин урвал
Эмфизем
Тамхидалт

Товч утга:

Үндэслэл: Уушгины архаг бөглөрөлт өвчин (УАБӨ) нь гадаад болон дотоод хүчин зүйлсийн нөлөөгөөр гуурсан хоолойн үрэвсэлт ба бүтцийн өөрчлөлттэй хэлбэрээр явагддаг дэлхий нийтэд өргөн тархсан амьсгалын эрхтэн тогтолцооны архаг өвчин. Судалгааны баг олон генүүд нь дангаар болон хамтдаа УАБӨ-ний эрсдэлт хүчин зүйл болж байгааг тогтоосон. **Зорилго:** *MMP1* генийн rs17997508 болон *MMP2* генийн rs11646643, rs243864 полиморфизмуудыг уушгины архаг бөглөрөлт өвчинтэй холбоо хамааралтай эсэхийг судлахаар зорилго тавьлаа. **Арга, аргачлал:** Бид судалгааны тохиолдлын бүлэгт 181, хяналтын бүлэгт 292, нийт 473 хүнийг хамруулж *MMP1* генийн rs1799750 полиморфизмыг харьцуулан судлав. Оролцогсдоос ерөнхий мэдээлэл, багажийн шинжилгээний үзүүлэлтийг асуумжаар авсан. MMP1 генийн rs1799750, MMP2-ын rs11646643, rs243864 полиморфизмыг тодорхойлоход өвөрмөц праймерын тусламжтай аллель өвөрмөц полимеразын гинжин урвалын аргаар бүтээгдэхүүнийг олшруулж, үр дүнг 1.5%-ийн агароз гельд гүйлгэн зургийг авч тодорхойлов. **Үр дүн:** Судалгааны үр дүнд бүлэг хооронд нас, хүйс, БЖИ, боловсролын түвшингийн хувьд ялгаа ажиглагдсангүй ($p>0.05$). Харин тамхи таталт, уушгины амьдралын үзүүлэлтүүд ялгаатай байв ($p<0.05$). MMP1 генийн rs1799750 полиморфизмын аллель, генотипийн давтамж статистик ач холбогдол илэрсэнгүй. MMP2 генийн rs243864 полиморфизм хяналтын болон тохиолдлын бүлгүүдэд статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай илэрсэн. **Дүгнэлт:** MMP1 генийн rs1799750 полиморфизм тухайн популяцид уушгины архаг бөглөрөлт өвчнийг нөхцөлдүүлэх хүчин зүйл болж чадахгүй байгааг тогтоолоо. Хаин Харин MMP2 генийн rs243864 полиморфизм уушгины архаг бөглөрөлт өвчний удмын хүчин зүйл болж болох боломжтойг тогтоолоо.

Үндэслэл: УАБӨ урьдчилан сэргийлэх, харьцангуй эмчлэх боломжтой өвчин хэдий ч дэлхий даяар үхэл эндэгдлийн хамгийн гол шалтгаануудын нэг болж байна.[1,2] Эмгэг жамын хувьд уушгины агаар дамжуулах замын нарийн гуурсанцаруудад хүрэх агаар дамжилт саатахад уушгины эдийн бүтцийн эвдрэл, үрэвслийн процесс, салст давхаргын зузаарал, салст шингэнээр бөглөрөх гэх зэрэг үйл явц бий болдог. УАБӨ-ийн эрсдэлт хүчин зүйлд тамхидалт, агаарын бохирдол голлох нөлөөтэй гадаад хүчин зүйлс бол уушгины төрөлхийн дутуу хөгжил, насжилт, удамшил дотоод хүчин зүйлс болдог.[3] Хэдийгээр тамхи татдаггүй ч уушгины архаг бөглөрөлт өвчнөөр өвчлөх, хүндрэх тохиолдол цөөнгүй нь дотоод хүчин зүйлийн нөлөө хүчтэйг илтгэж байна.[4] Судлаачид дэлхий даяар үрэвслийн тогтолцооны, хоргүйжүүлэх тогтолцооны, судасны хана бусад тогтолцооны олон генүүд уушгины архаг бөглөрөлт өвчний үүсэл, хөгжилд нөлөөлж байгааг тогтоосон. Манай судалгааны баг үрэвслийн, хоргүйжүүлэх тогтолцооны хэд хэдэн генүүдийг

УАБӨ-тэй холбоотойг тогтоосон билээ.[5,6] Үүнээс гадна металлопротеаз хэмээх пептидаз эсгэгийн бүлэгт харьяалагдах бөгөөд хучуур эсийн шилжилт, нөхөн төлжилт, ялтаст эсийн бөөгнөрөл, эсийн өсөлт, цитокины зохицуулга, хавдрын эмгэг жамд оролцдог эдгээр уургууд уушгины эдийн гэмтэл, үрэвсэлтэй холбоотой болох нь тогтоогдсон байна.[7]

Бид *MMP9, MMP12* генийн полиморфизмууд гуурсан хоолойн багтраа, эмфизем өвчний үрэвслийн үед эдийн завсарт металлопротеаз эсгэгийн идэвхийг нэмэгдүүлж, улмаар TNF, IL-1 зэрэг үрэвслийн цитокины ялгарлыг ихэсгэж, улмаар үрэвслийн үйл явцыг даамжруулдаг болохыг тогтоосон.[8] Жижиг гуурсанцар, альвеолын хананд фиброз үүсэлтийг нэмэгдүүлж сорвижилт бий болсноор альвеолын тэлэх чадвар алдагдаж, уушгины агаарын хийн солилцоо буурч, УАБӨ-өөр өвчлөх, хүндрэх эрсдэл нэмэгддэг байна.[9,10]

Зорилго: Бид *MMP1* генийн rs17997508 *MMP2* генийн rs11646643, rs243864 полиморфизмуудыг уушгины архаг бөглөрөлт өвчинтэй холбоо хамааралтай эсэхийг судлахаар зорьлоо.

Арга, аргачлал: Энэхүү төслийг АШУҮИС-ийн ШУТДС-ийн санхүүжилттэй 1/18 тоот дугаартай төсөл, БШУЯ-ны Шинжлэх Ухаан Технологийн Сангийн 2020/48 тоот дугаартай төслүүдийн хүрээнд хийж гүйцэтгэсэн болно. Уг төслийн хүрээнд *MMP1* генийн rs17997508 *MMP2* генийн rs11646643, rs243864 полиморфизмыг уушгины архаг бөглөрөлт өвчинтэй холбоо хамааралын судалсан. Судалгааг тохиолдол хяналтын загвараар гүйцэтгэв. Судалгаанд уушгины архаг бөглөрөлт өвчтэй буюу тохиолдлын бүлэгт 181, харьцангуй эрүүл буюу хяналтын бүлэгт 292 хүнийг таниулах зөвшөөрлийн дагуу сайн дурын үндсэн дээр хамруулсан. Судалгаанд хамруулахдаа АШУҮИС-ийн Судалгааны Ёс Зүйн Хяналтын хорооны зөвшөөрөл авсан болно. (Протокол №2021/3-02) Уушгины архаг бөглөрөлт өвчтэй хүмүүсийг судалгаанд хамруулахад мэргэжлийн эмчийн үзлэг оношилгоонд тулгуурлан уушгины архаг бөглөрөлт өвчний олон улсын GOLD шалгуурт нийцүүлсэн болно.[11] Оролцогсдоос ерөнхий мэдээлэл, багажийн шинжилгээний үзүүлэлтийг асуумжаар авч, хураагуур судаснаас 3-5 мл цусыг үл бүлэгнүүлэгч бүхий хуруу шилэнд халдвар хамгааллын дэглэмийг баримтлан авсан. Геномын ДНХ-ийг стандарт аргачлалын дагуу ялгаж, цэвэршүүлэв. MMP1 генийн rs1799750, MMP2-ын rs11646643, rs243864 полиморфизмыг тодорхойлоход өвөрмөц праймерын тусламжтай аллель өвөрмөц полимеразын гинжин урвалын аргаар бүтээгдэхүүнийг олшруулж, үр дүнг 1.5%-ийн агароз гельд гүйлгэн зургийг авч тодорхойлов. (Хүснэгт 1.) Статистик боловсруулалтанд Microsoft Excel 2010, STATA 13.0 программ ашигласан.

Хүснэгт 1. *MMP1* генийн бай дарааллыг олшруулах праймерын дараалал

Ген	ННП	Праймерын дараалал	Бай дараалал
MMP1	rs1799750	5’- GACTTTTAAAACATAGTCTATGTTCA–3’ 5’-TCTTGGATTGATTTGAGATAAGTCATAGC–3’	269 х.н
MMP2	rs11646643	5’- TGACTTCTAAAGCCCTCTG–3’ 5’-AACTGTGCTGTCTGTCCTAC–3’	375 х.н
	rs243864	5’-GGGTCTTTTGTGACCTCGATC –3’ 5’-GGTAAATGAGGCTGAGACCTG–3’	236 х.н

Тайлбар: *ННП – нэг нуклеотидын полиморфизм, х.н., хос нуклеотид*

Үр дүн: Судалгаанд нийт 473 хүн хамрагдсанаас тохиолдлын болон хяналтын бүлгүүдийн дундаж нас, хүйсийн харьцаа, биеийн жингийн индекс, боловсролын байдал, ажлын байрны нөхцөл ойролцоо байсан ($p>0.05$) бол тамхидалт, уушгины амьсгалын үзүүлэлтүүд ялгаатай байв ($p<0.05$). (Хүснэгт 2.)

Хүснэгт 2. Судалгаанд оролцогчдын ерөнхий мэдээлэл

Үзүүлэлт	Тохиолдлын бүлэг N=181	Хяналтын бүлэг N=292	P утга
Нас (жилээр)	63.57±9.66	63.23±9.33	0.702[a]
Хүйс			
Эрэгтэй	119 (65.7)	175 (59.9)	0.205[b]
Эмэгтэй	62 (34.3)	117 (40.1)	
БЖИ (кг/м^2)	25.3±2.41	25.48±2.36	0.426[a]
Тамхидалт			
Тийм	146 (80.7)	208 (71.2)	**0.022**[b]
Үгүй	35 (19.3)	84 (28.8)	
Өдөрт татах тамхи (тоогоор)	18.38±9.57	14.94±7.55	**0.0002**[a]
Тамхи татсан хугацаа (жилээр)	34.63±13.17	32.43±11.82	0.087[a]
Жилд татах тамхины тоо (хайрцагаар)	33.03±22.1	25.05±16.41	**0.00076**[c]
Спирометрийн үзүүлэлтүүд			
FEV_1 (L)	1.36±0.54	2.86±0.41	**<0.0001**[c]
FEV_1 (%)	48.41±14.92	89.91±7.23	**<0.0001**[c]
FVC (L)	2.82±0.88	3.59±0.58	**<0.0001**[c]
FVC (%)	77.03±18.84	87.70±10.54	**<0.0001**[c]
FEV_1/FVC	0.49±0.12	0.80±0.12	**<0.0001**[c]

Тайлбар: *Хэмжилтийн утгууд нь тоо эсвэл дундаж ± стандарт хазайлт, P утгыг [a]Стюдентийн t тест, [b]Хи квадрат (x^2) тест, [c]Манн-Уитней тестээр тооцоолсон. Боловсролбн ба ажлын хортой нөхцлийн үр дүн хүснэгтэнд оруулаагүй болно.*
Товчлол: *FEV_1, эхний секундэд хүчилсэн амьсгалын эзэлхүүн; FVC, хүчилсэн амьсгалын эзэлхүүн*

Судалгааны үр дүнгээр хяналт болон тохиолдлын бүлгүүдэд MMP1 генийн rs1799750 полиморфизмын CC/CC аллелийн давтамж (OR=1.12; 95% ИИ 0.77-1.64; p=0.564) ойролцоо байлаа. Харин CC аллелийн давтамж (OR=1.06; 95% ИИ 0.81-1,40; p=0.664) тохиолдол олон хяналтын бүлгүүдэд статистик ач холбогдол бүхий ялгаа илэрсэнгүй. Судалгааны үр дүнгээр хяналт болон тохиолдлын бүлгүүдэд MMP2 генийн rs11646643 полиморфизмын G аллелийн давтамж (OR=1.06; 95% ИИ 0.79-1.42; p=0.676) ойролцоо байлаа. Харин rs243864 полиморфизмын G аллелийн давтамж (OR=1.36; 95% ИИ 0.93-1,97; p=0.109) тохиолдол олон хяналтын бүлгүүдэд статистик ач холбогдол бүхий ялгаа илэрсэнгүй. (Хүснэгт 3.)

Хүснэгт 3. *MMP1, MMP2* генийн полиморфизмын бүлэг хоорондын аллелийн давтамжыг тооцсон дүн

SNP ID	Байршил	Генотип	Case N=362	Control N=584	cOR	95%CI	P value
rs1799750	Промотер	CC	0.671	0.657	1.06	0.81-1.40	0.664
rs11646643	Интрон	G	0.304	0.291	1.06	0.79-1.42	0.676
rs243864	Промотор	G	0.16	0.123	1.36	0.93-1.97	0.109

Тайлбар: *P утгыг Хи квадрат (x^2) тестээр тооцоолсон. cOR,Crude odd's ratio*

rs1799750 полиморфизмийн генотипын давтамж тохиолдол хяналтын бүлгийн хооронд ялгаа ажиглагдсангүй (Харьцуулсан харьцаа =1.04, ИИ 95%: 0.69-1.73, p=0.611). (Хүснэгт 4.) *MMP2* генийн rs11646643 (A>G) полиморфизмын бүлэг хоорондын генотипын давтамж тохиолдол хяналтын бүлгийн хооронд ялгаа ажиглагдсангүй (Харьцуулсан харьцаа =1.91 95% ИИ 0.93-3.93, p=0.077). Харин MMP2 генийн rs243864 (T>G) бүлэг хоорондын генотипын давтамж тохиолдол хяналтын бүлгийн хооронд Статистик ач холбогдол бүхий ялгаа илэрсэн. (Хүснэгт 4.)

Хүснэгт 4. *MMP1, MMP2* генийн полиморфизмын бүлэг хоорондын генотипийн давтамжыг тооцсон дүн

SNP ID	Генетик загвар	Эрсдэлт генотип	Генотипийн давтамж		cOR	95%CI	P value
			УАБӨ N=181	Хяналт N=292			
rs1799750	Ноёлогдох	CC/CC	0.40	0.377	1.12	0.77-1.64	0.564
rs11646643	Ноёлогдох	G/G	0.09	0.05	1.91	0.93-3.93	0.077
rs243864	Ноёлогдох	G/G	0.039	0.009	5.83	1.19-2.84	**0.029**

Тайлбар: *P утгыг Хи квадрат (x2) тестээр тооцоолсон. cOR, Crude odd's ratio*

Хэлцэмж: Дэлхий даяар УАБӨ-ний өвчний тоо жилээс жилд нэмэгдэж байгаа нь цөөнгүй улс орны тулгамдаж буй асуудлын нэг билээ. ДЭМБ-ын 2017 оны тооцооллоор УАБӨ-өөр 391.9 сая хүн өвчилж, жилд дунджаар 3 сая хүн нас бардаг байна.[7] Монгол оронд 2011 оны байдлаар Улаанбаатар хотод УАБӨ-ний нийт тархалт өмнөх оноос 3.1%-аар ихэссэн байна. Судалгаанд хамрагдсан хүн амын тохиолдлын бүлэгт *MMP1* генийн rs1799750 полиморфизм бүлэг хооронд нас, хүйс, биеийн жингийн индекс, хортой нөхцөл ижил байв. Stankovic нарын 2017 оны судалгааны дүнд *MMP1* генийн GG/GG генотип (p=0.036, OR=2.50) хамааралгүй гэсэн үр дүн гарсан нь манай судалгааны үр дньэй нийцэж байна.[7]

MMP2 генийн rs243864 полиморфизм хяналтын болон тохиолдлын бүлгүүдэд статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай илэрсэн. Montaya нарын 2015 онд Мексикийн хүн амд хийсэн судаогааны дүнд *MMP2* генийн rs243864 полиморфизм УАБӨ-д холбоо хамааралгүй (OR: 7.44; 95% CI: 3.62–15.26) гарсан манйа багийн судалгааны үр дүгнээс ялгаатай байлаа.

Дүгнэлт: *MMP1* генийн rs1799750, *MMP2* генийн rs11646643 полиморфизм ба уушгины архаг бөглөрөлт өвчний хооронд уялдаа холбоо ажиглагдсангүй хэдий ч *MMP2* генийн rs243864 полиморфизм хяналтын болон тохиолдлын бүлгүүдэд статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай илэрсэн нь уушгины архаг бөглөрөлт өвчний удмын хүчин зүйл болж болох боломжтойг тогтоолоо.

Талархал: Энэхүү төслийг АШУҮИС-ийн ШУТДС-ийн санхүүжилттэй 1/18 тоот дугаартай төсөл, БШУЯ-ны Шинжлэх Ухаан Технологийн Сангийн 2020/48 тоот дугаартай төслүүдийн хүрээнд хийж гүйцэтгэсэн болно.

Ном зүй:

1. *Raherison C, Girodet P-O. Epidemiology of COPD. European Respiratory Review. 2009;18(114):213-221)*
2. *Kochanek KD, Xu J, Murphy SL, Minino AM, Kung HC. Deaths: preliminary data for 2009. National vital statistics reports Mar 2011;59(4):1-5*
3. *de Marco R, Accordini S, Marcon A, Cerveri I, Antó JM, Gislason T, Heinrich J, Janson C, Jarvis D, Kuenzli N, Leynaert B, Sunyer J, Svanes C, Wjst M, Burney P; European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). Risk factors for chronic obstructive pulmonary disease in a European cohort of young adults. Am J Respir Crit Care Med. 2011 Apr 1;183(7):891-7.*
4. *Strange C. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Associated COPD. Clin Chest Med. 2020 Sep;41(3):339-345.*
5. *Ganbold C, Jamiyansuren J, Tumurbaatar A, Bayarmaa A, Enebish T, Dashtseren I, Jav S. The Cumulative Effect of Gene–Gene Interactions Between GSTM1, CHRNA3, CHRNA5 and SOD3 Gene Polymorphisms Combined with Smoking on COPD Risk. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2021;16:2857-2868*
6. *Ganbold C, Jamyansuren J, Puntsag O, Batjargal O, Dashtseren I, Jav S. ADRB2 and ACE Gene Polymorphisms in COPD Susceptibility. CAJMS 2016;2:127-133*
7. *Stankovic M, Nikolic A, Nagorni-Obradovic L, Petrovic-Stanojevic N, Radojkovic D. Gene-Gene Interactions Between Glutathione S-Transferase M1 and Matrix Metalloproteinases 1, 9, and 12 in Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Serbians. COPD. 2017 Dec;14(6):581-589.*
8. *Crosby LM, Waters CM. Epithelial repair mechanisms in the lung. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2010 Jun;298(6):L715-31.*
9. *Wells JM, Gaggar A, Blalock JE. MMP generated matrikines. Matrix Biol. 2015 May-Jul;44-46:122-9.*
10. *Kraen M, Frantz S, Nihlén U, Engström G, Löfdahl CG, Wollmer P, Dencker M. Matrix Metalloproteinases in COPD and atherosclerosis with emphasis on the effects of smoking. PLoS One. 2019 Feb 21;14(2):e0211987.*
11. *Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. Ameri jour respir crit care med Sep 15 2007;176(6):532-555.*

Polymorphisms of *MMP1* and *MMP2* in chronic obstructive pulmonary disease

Maral G[1], Jambaldorj J[1], Chimedlkhamsuren G[1], Bayarlakh B[1], Enkhbileg M[1], Agarzandan B[3], Suvd T[1], Uuriintsolmon D[1], Ichinnorov D[2], Sarantuya J[1]

[1]Department of Molecular biology and Genetics, School of Biomedicine, MNUMS
[2] Department of Pulmonology, School of Medicine, MNUMS
[3] Department of Biology, School of Biomedicine, MNUMS
E-mail: Ganbilegmaral889@gmail.com, Tel: +976-86181202

Background: Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a commonly spread chronic respiratory disorder, characterized by inflammatory disease and structural changes in bronchiolitis impacted by intrinsic and extrinsic factors. Our team is identifying multiple gene polymorphisms related to the risk of lung disorder development.
Aim: We aimed to study the association of rs1799750 (*MMP1*), rs11646643 and rs243864 between the case (181 patients) and control (292 healthy) groups. Age, gender, body mass index, educational status, and environmental pollution showed no differences between the two groups.
Materials and Methods: We compared the MMP1 gene rs1799750 polymorphism among 181 case group and 292 control group, totaling 473 people. General information and instrument analysis parameters were obtained from the participants through a questionnaire. To determine rs1799750 of MMP1 gene, rs11646643, and rs243864 of MMP2 polymorphism, the product was amplified by allele-specific polymerase chain reaction with the help of specific primers, and the results were analyzed by scanning in 1.5% agarose gel.
Results: Age, gender, body mass index, educational status, and environmental pollution showed no differences between the two groups. However, smoking and parameters of pulmonary function tests had significant differences between the case and control groups.
Conclusion: We have found the association of rs243864 (MMP2) with COPD

Keywords: Single nucleotide polymorphism, Matrix metalloprotease, Allele specific polymerase chain reaction, Emphysema, Smoking