


DOI 10.18699/vjgb-24-49

Полиморфизм генов факторов регуляции ангиогенеза (*VEGF/VEGFR*), генов ремоделирования внеклеточного матрикса (*MMP/TIMP*) и уровни соответствующих белков во внеклеточных тканях пациентов с первичной и вторичной лимфедемой

В.И. Коненков , В.В. Нимаев , А.В. Шевченко  , В.Ф. Прокофьев 

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

 shalla64@mail.ru

Аннотация. Клетки различных органов и систем осуществляют свои функции и межклеточные взаимодействия не в инертной среде, а в микроокружении тканевых жидкостей. Нарушения нормального дренажа тканевых жидкостей сопровождаются лимфедемой. Важный механизм регуляции ангиогенеза и васкулогенеза в подкожной клетчатке – выработка и рецепция факторов роста эндотелия сосудов в сочетании с регуляцией матриксных металлопротеиназ. Цель настоящего исследования: сравнительный анализ полиморфизма генов фактора роста эндотелия сосудов и его рецепторов вместе с генами матриксных металлопротеиназ при двух формах лимфедемы; анализ взаимосвязи полиморфизма этих генов с уровнем фактора роста эндотелия сосудов и матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови и пораженных тканях. Полиморфизм *VEGF* (rs699947, rs3025039), рецепторов к нему *KDR* (rs10020464, rs11133360), *NRP2* (rs849530, rs849563, rs16837641), матриксных металлопротеиназ *MMP2* (rs2438650), *MMP3* (rs3025058), *MMP9* (rs3918242), ингибитора металлопротеиназ *Timp1* (rs6609533) и их комбинаций проанализирован методами анализа длин рестрикционных фрагментов и TaqMan RT-PCR. Уровень белков в сыворотке и тканевой жидкости определяли с использованием тест-систем ELISA. Показаны изменения частот распределения генотипов *MMP2* при первичной и *MMP3* при вторичной лимфедеме. Высокостатистически значимые различия частот генотипов *NRP2* обнаружены при сравнении первичной и вторичной лимфедемы. Выявлены особенности распределения «комплексных» генотипов при первичной и вторичной лимфедеме. Корреляционный анализ показал взаимозависимость концентрации исследуемых белковых продуктов *MMP*, *TIMP* и *VEGF* и выраженные различия в структуре корреляционных матриц пациентов с обеими формами лимфедемы. Продемонстрировано, что при первичной лимфедеме выявляются генотипы, ассоциированные с низкими значениями *MMP2* и *TIMP2* в сыворотке крови и тканевой жидкости, а при вторичной лимфедеме – иные связи концентраций исследуемых белков с комбинированными генетическими признаками.


Ключевые слова: лимфедема первичная; лимфедема вторичная; *VEGF*; *MMP*; *TIMP*; *KDR*; *NRP*.

Для цитирования: Коненков В.И., Нимаев В.В., Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф. Полиморфизм генов факторов регуляции ангиогенеза (*VEGF/VEGFR*), генов ремоделирования внеклеточного матрикса (*MMP/TIMP*) и уровни соответствующих белков во внеклеточных тканях пациентов с первичной и вторичной лимфедемой. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(4):433-442. DOI 10.18699/vjgb-24-49

Polymorphism of angiogenesis regulation factor genes (*VEGF/VEGFR*), and extracellular matrix remodeling genes (*MMP/TIMP*), and the levels of their products in extracellular tissues of patients with primary and secondary lymphedema

V.I. Konenkov , V.V. Nimaev , A.V. Shevchenko  , V.F. Prokofiev 

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

 shalla64@mail.ru

Abstract. Cells of various organs and systems perform their functions and intercellular interactions not in an inert environment, but in the microenvironment of tissue fluids. Violations of the normal drainage of tissue fluids accompany lymphedema. An important mechanism of angiogenesis and vasculogenesis regulation in tissue fluids is the produc-

tion and reception of vascular endothelial growth factors in combination with the regulation of matrix metalloproteinases. The aim of the work was to perform: a comparative analysis of some polymorphisms of vascular endothelial growth factor and their receptors and the genes encoding matrix metalloproteinases in two forms of lymphedema; an analysis of the relationship of these genes' polymorphisms with the levels of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinases and their inhibitors in serum and affected tissues. Polymorphism of *VEGF* (rs699947, rs3025039), *KDR* (rs10020464, rs11133360), *NRP2* (rs849530, rs849563, rs16837641), matrix metalloproteinases *MMP2* (rs2438650), *MMP3* (rs3025058), *MMP9* (rs3918242), *Timp1* (rs6609533) and their combinations were analyzed by the Restriction Fragment Length Polymorphism method and TaqMan RT-PCR. The serum and tissue fluid levels were determined using the ELISA test system. Changes in the frequency distribution of *MMP2* genotypes in primary and *MMP3* in secondary lymphedema are shown. Significant frequency differences in *NRP2* genotypes were revealed by comparing primary and secondary lymphedema. Features of the distribution of complex genotypes in primary and secondary lymphedema were revealed. The correlation analysis revealed the interdependence of the concentrations of the MMP, TIMP and VEGF products and differences in the structure of the correlation matrices of patients with both forms of lymphedema. It was shown that, in primary lymphedema, genotypes associated with low *MMP2* and *TIMP2* in serum and tissue fluid are detected, while in secondary lymphedema, other associations of the production levels with combined genetic traits are observed.

Key words: primary lymphedema; secondary lymphedema; *VEGF*; *MMP*; *TIMP*; *KDR*; *NRP*.

For citation: Kononkov V.I., Nimaev V.V., Shevchenko A.V., Prokofiev V.F. Polymorphism of angiogenesis regulation factor genes (*VEGF/VEGFR*), and extracellular matrix remodeling genes (*MMP/TIMP*), and the levels of their products in extracellular tissues of patients with primary and secondary lymphedema. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(4):433-442. DOI 10.18699/vjgb-24-49

Введение

Интерес исследователей к состоянию внеклеточного матрикса и погруженного в него сосудистого русла кровеносной и лимфатической систем постоянно растет. Число научных публикаций за последние 40 лет выросло более чем в 5–6 раз в год. Это связано с пониманием того, что клетки различных органов и систем, со своим сложным внутренним метаболизмом, осуществляют важнейшие функции и межклеточные взаимодействия не в инертной среде, а в постоянном микроокружении тканевых жидкостей, несущих огромное число регуляторных факторов самой разнообразной секретируемой и мембран-ассоциированной природы.

Нарушение нормального дренажа тканевых жидкостей приводит к тканевой гипоксии и разнообразным отечным синдромам, сопровождающим различные патологические изменения в диапазоне от воспаления до опухолевого роста. Яркий пример нарушения дренажа тканевой жидкости – лимфедема (Miller, 2020). Она представлена как преимущественно генетически обусловленной «первичной», так и «вторичной» формой, связанной с постмастэктомическими последствиями или хронической венозной недостаточностью (Повещенко и др., 2010; Quirion, 2010). По некоторым оценкам, от 140 до 200 млн человек во всем мире страдают лимфедемой (Forte et al., 2019). Несмотря на столь широкое распространение данного заболевания и многочисленные исследования в этой области, основными методами лечения являются комплексная физическая противоотечная терапия и пожизненное поддерживающее использование компрессионного трикотажа (Vignes, 2017; Executive Committee..., 2020). Один из факторов такой, условно говоря, патогенетической терапии, на наш взгляд, – отсутствие четких представлений о сосудистых нарушениях в функционировании кровеносного и лимфатического русла и их взаимодействие с внеклеточным матриксом, приводящее к препятствованию физиологического оттока тканевой жидкости в пораженных регионах.

Важнейший механизм регуляции ангиогенеза и васкулогенеза в подкожной клетчатке – продукция и рецепция системы факторов роста сосудистого эндотелия VEGF, представленных VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, PGF, и семейства рецепторов VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (Flk-1/KDR), VEGFR-3 (Flt-4) к ним (Vaahromeri et al., 2017; Rauniyar et al., 2018). Их взаимодействие обеспечивает рост, ремоделирование и функционирование кровеносной и лимфатической систем. Гены этих белков являются полиморфными, что оказывает влияние на уровень их экспрессии, аффинности и функциональной активности (Luo et al., 2019; Yap et al., 2019).

Как установлено, лиганд VEGF-A связывается и передает сигналы через рецепторы VEGFR-1 и VEGFR-2, тогда как VEGF-B – исключительно через VEGFR-1, а VEGF-C и VEGF-D обладают высокой аффинностью к VEGFR-3. Кроме того, существует два рецептора нейропиллина, представляющие собой трансмембранные гликопротеины, функционирующие на оси VEGF-VEGFR. Нейропилин-1 (NRP-1), некиназный корецептор для VEGFR-2, функционирует для усиления связывания и передачи сигналов, определенных изоформ VEGF-A, а NRP-2 – некиназный корецептор для VEGFR-3 (Mucka et al., 2016; Stevens, Oltean, 2019; Gao Y. et al., 2020). Понимание генетических механизмов, лежащих в основе эндотелиального апоптоза и лимфангиогенеза, позволит пролить свет на роль нарушения этих процессов в развитии хронического воспаления и трансформации соединительной ткани при лимфедеме (Saik et al., 2019).

Непосредственно с процессами ангиогенеза и активностью регуляторных факторов роста сосудистого эндотелия связано семейство матриксных металлопротеиназ (ММР). Активность этих тканевых ферментов контролируется системой их тканевых ингибиторов (TIMP) (Cabral-Pacheco et al., 2020). Кодирующие их гены также обладают широким полиморфизмом, а белковые продукты экспрессированы на лимфатических эндотелиальных клетках и

деградируют коллаген эндотелиальной выстилки сосудов (Detry et al., 2012). Ранее получены многочисленные данные о влиянии полиморфизма генов регуляторных факторов на экспрессию и продукцию клетками (Watson et al., 2000; Gao X. et al., 2019).

Цель настоящего исследования – сравнительный анализ полиморфизма генов фактора роста эндотелия сосудов и его рецепторов вместе с генами матриксных металлопротеиназ при двух формах лимфедемы и оценка взаимосвязи полиморфизма этих генов с уровнем фактора роста эндотелия сосудов и матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови и пораженных тканях.

Материалы и методы

Пациенты. В исследование были включены пациенты с подтвержденным диагнозом лимфедемы конечностей. Набор пациентов осуществлялся на базе НИИ клинической и экспериментальной лимфологии (НИИКЭЛ) в период с января 2017 г. по ноябрь 2018 г. Выборка 174 пациента (18–81 год, медиана 52 года) разделена на первичную (72 человека) и вторичную лимфедему конечностей (102 человека). Разделение групп на первичную и вторичную лимфедему основано на этиологических признаках согласно клиническим рекомендациям (Executive Committee..., 2020).

Критериями первичной лимфедемы конечностей считались: развитие клинических проявлений без связи с такими этиологическими факторами, как удаление лимфатических узлов, лучевая терапия, травма или хирургическое вмешательство в проекции лимфатических коллекторов, а также появление клинически значимого отека вследствие однократного эпизода рожи, считающегося провоцирующим фактором на фоне недостаточности функционального резерва лимфатического региона. Выборка пациентов со вторичной лимфедемой включала пациентов с поражением как верхних, так и нижних конечностей. Большинство пациентов со вторичной лимфедемой верх-

них конечностей перенесли комплексное лечение рака молочной железы (66 пациенток – 97.1 %); у двух пациентов причиной отека верхней конечности стало комбинированное лечение лимфосаркомы всех групп периферических лимфоузлов и средостения IIIA стадии, лимфогранулематоза с поражением шейных и подмышечных лимфатических узлов. Появление отека после неоднократных рецидивов рожи относили ко вторичной поствоспалительной лимфедеме.

Все пациенты, включенные в исследование, не имели прогрессирования или рецидива злокачественной опухоли, относились к 3-й клинической группе диспансерного наблюдения. По классификации Международного общества лимфологов преобладала вторая стадия заболевания. Третья стадия заболевания составляла 7 % в группе первичной лимфедемы и 8.9 % – в группе вторичной лимфедемы. Информированное согласие на участие в исследовании было подписано каждым участником исследования. Протокол клинического исследования был одобрен локальным этическим комитетом НИИКЭЛ (первичный протокол No 127 от 13.01.2017). Забор сыворотки крови и интерстициальной жидкости проводили в утренние часы, натощак у пациентов, поступивших в клинику НИИКЭЛ для проведения курса комплексной противоотечной терапии, до его начала. Пациенты с текущей или недавно перенесенной рожой в исследование не включались (табл. 1).

Группу сравнения составили 339 человек, сопоставимые по полу и возрасту, жители Новосибирской области. Родственники ни в группы пациентов, ни в группу сравнения не включались.

Генотипирование *VEGF-2578* (rs699947) и *MMP9-1562* (rs3918242) осуществляли методом рестриктивного анализа продуктов амплификации. Структура праймеров, эндонуклеазы рестрикции и размер полученных продуктов указаны в табл. 2.

Полиморфизм генов *VEGF+936* (rs3025039), *NRP2 13581* (rs849530), *NRP2 68279* (rs849563), *NRP2 92646*

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов с первичной и вторичной лимфедемой

Клинические параметры	Вторичная лимфедема (n = 102)	Первичная лимфедема (n = 72)	P
Возраст (Me)	58 [51; 65]	40 [30; 59]	P < 0.001
Ж	97 (96.1 %)	53 (74.6 %)	P < 0.001
М	4 (3.9 %)	18 (25.4 %)	P < 0.001
ИМТ (Me)	32.9 [28.6; 38.6]	27 [24.1; 39.3]	P = 0.04
Продолжительность заболевания (мес.) (Me)	56.5 [20.5; 132.3]	192 [84; 300]	
Возраст начала заболевания (Me)	51.5 [44.59]	25 [15.5; 33.5]	P < 0.001
Рожа в анамнезе	51 (51 %)	32 (45.1 %)	P = 0.54
ГБ	47 (46.5 %)	13 (18.3 %)	P < 0.001
СД 2-типа	19 (18.6 %)	11 (15.5 %)	P = 0.685
Гипотиреоз	16 (15.7 %)	4 (5.6 %)	P = 0.053
ИБС	7 (6.9 %)	3 (4.2 %)	P = 0.529
Остеохондроз	14 (13.7 %)	2 (2.8 %)	P = 0.016
ХВН	2 (2 %)	1 (1.4 %)	P = 1.000

Примечание. Me – медиана; в квадратных скобках указан интерквартильный размах; в круглых скобках – проценты.

Таблица 2. Генотипирование методом анализа полиморфизма длин рестриционных фрагментов

Полиморфная позиция	Структура праймеров	Эндонуклеаза рестрикции	Продукты гидролиза, п. н.	
			Аллель «дикого» типа	Минорный аллель
<i>MMP9-1562</i> C→T	5' GCCTGGCACATAGTAGGCC 3' 5' CTCCTAGCCAGCCGGCATC 3'	<i>Sph I</i>	435	247; 188
<i>VEGFA-2578</i> C→A	5' GGGCCTTAGGACACCATACC 3' 5' TGCCCCAGGGAACAAAGT 3'	<i>Bgl II</i>	267	208; 60

(rs16837641), *KDR 17693* (rs10020464), *KDR 14011* (rs11133360), *MMP2-1306* (rs2438650), *MMP3-1171* (rs3025058), *Timp1* (rs6609533) анализировали ПЦР в реальном времени с использованием коммерческих тест-систем методом TaqMan-зондов («Синтол», Россия) на амплификаторе «ДТ-96» («ДНК-Технология», Россия) согласно инструкции фирмы-производителя.

Иммуноферментный анализ. Количественное определение фактора роста эндотелия сосудов, металлопротеиназ и их ингибиторов осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием стандартизованных наборов ELISA (нг/мл) согласно инструкции Human VEGF (Quantikine ELISA, R&D Systems, США) MMP-3 (AESKU Diagnostics, Германия), TIMP-3 (Brand Owner CLOUD-CLONE CORP., США), MMP-2 и TIMP-2 (Quantikine ELISA, R&D Systems, США) на автоматическом фотометре для планшетов ELx800 (BioTek, Тайвань).

Математический анализ данных. Статистическую обработку выполняли с помощью специализированного пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 23 (США) и пакета программ объемной обработки биоинформации, включая многомерный генетический анализ. При статистическом анализе результатов генетического исследования рассчитывали частоту встречаемости аллелей, генотипов и их полилокусных комбинаций, отношение шансов (OR), 95 % доверительный интервал для OR (OR's 95 % CI).

Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга. Уровень значимости различий частот распределения генетических признаков в сравниваемых группах определяли по двустороннему критерию точного метода Фишера для четырехпольных таблиц с учетом поправки Бонферрони. Учитывая, что распределение большинства изученных количественных признаков было отличным от нормального, применяли методы непараметрической статистики. Межгрупповые различия оценивали с помощью U-теста Манна–Уитни и ANOVA Краскела–Уоллиса. Внутригрупповые различия оценивали с использованием критерия знаковых рангов Уилкоксона для связанных выборок. Для анализа силы и направления корреляционной связи между парами признаков применяли метод ранговой корреляции Спирмена.

Описание количественных переменных представлено в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (интервал между 25-м [Q 0.25] и 75-м [Q 0.75] процентилями). Проверку гипотезы о нормальном распределении количественных параметров проводили с использованием критерия Шапиро–Уилка и критерия Колмогорова–Смирнова

с поправкой Лиллиефорса. Математическую обработку связи генетических признаков с количественными лабораторными показателями осуществляли в соответствии с методическими подходами квантильного анализа. При данном подходе в качестве параметров повышенной концентрации показателей принимали диапазоны выше p75 (верхний квартиль, Q3), а сниженной – ниже p25 (нижний квартиль, Q1). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0.05.

Результаты

Анализ распределения изучаемых комплексных генетических признаков среди пациентов с первичной лимфедемой выявил целый ряд выраженных отличий от условно «нормального» распределения, установленного нами при исследовании значительной группы здоровых лиц без признаков лимфатических отеков конечностей. При анализе степени различий отдельных вариантов исследуемых генетических параметров они установлены лишь для одного полиморфизма гена *MMP2-1306*, связанного с преобладанием среди пациентов варианта C ($p = 0.029$). Наряду с этим при анализе частоты встречаемости комбинированных генетических признаков, включающих полиморфные варианты генов и *MMP*, и *VEGF*, отмечаются значительно более выраженные различия при сравнении групп пациентов с первичной лимфедемой и здоровых лиц (табл. 3).

В основном эти различия связаны с возрастанием в группе пациентов практически всех рассмотренных признаков с уровнем достоверности различий в интервале от 0.048 до 0.001 согласно двустороннему критерию точного метода Фишера. При этом такие варианты, как сочетания генотипов *VEGF-2578 CA: VEGF+936 TT: MMP9-1562 CT* и сочетания генотипов *VEGF-2578 CA: VEGF+936 TT: MMP2-1306 CC: MMP9-1562 CT*, ни разу не обнаружены среди представителей значительной группы здоровых лиц и выявлены исключительно среди пациентов с первичной лимфедемой. С известной долей вероятности их можно отнести к генетическим маркерам конституциональной предрасположенности индивида к развитию первичной лимфедемы. При дальнейших исследованиях предполагается проверка этой гипотезы.

При проведении подобного анализа со вторичной лимфедемой, при развитии которой большее значение имеют анатомические факторы, возникающие при оперативном повреждении лимфатических и кровеносных путей оттока тканевой жидкости, мы получаем отличную от предыдущей группы картину. В этой группе пациентов уже не об-

Таблица 3. Частота распределения отдельных и комплексных генотипов *MMP* и *VEGF* среди пациентов с первичной и вторичной лимфедемой

Комбинации генов	Генотипы	Пациенты с лимфедемой	Группа сравнения		OR*	OR's 95 % CI	P(tmF ₂)
			n (%)	N			
Первичная лимфедема (N = 72 чел.)							
<i>VEGF-2578:VEGF+936:MMP9-1562</i>	<i>CA-TT-CT</i>	2(2.78)	0(0.00)	339	14.37	1.47–140.12	0.0303
<i>VEGF-2578:VEGF+936:MMP2-1306:MMP9-1562</i>	<i>CA-TT-CC-CT</i>	2(2.78)	0(0.00)	288	12.21	1.25–119.15	0.0396
<i>VEGF+936:MMP9-1562</i>	<i>TT-CT</i>	3(4.17)	2(0.58)	346	7.48	1.23–45.60	0.0379
<i>VEGF-2578:VEGF+936:MMP2-1306:MMP3-1171</i>	<i>CA-CC-CC-6A6A</i>	10(13.89)	2(2.35)	85	6.69	1.42–31.65	0.0127
<i>VEGF-2578:VEGF+936:MMP2-1306:MMP3-1171:MMP9-1562</i>	<i>CA-CC-CC-6A6A-CC</i>	8(11.11)	2(2.35)	85	5.19	1.06–25.27	0.0445
<i>VEGF+936:MMP3-1171:MMP9-1562</i>	<i>CC-5A5A-CC</i>	15(20.83)	6(6.82)	88	3.60	1.32–9.83	0.0104
<i>VEGF-2578:VEGF+936:MMP2-1306:MMP9-1562</i>	<i>CA-CC-CC-CC</i>	22(30.56)	39(13.54)	288	2.81	1.53–5.14	0.0013
<i>MMP3-1171:MMP9-1562</i>	<i>5A5A-CC</i>	16(22.22)	9(10.23)	88	2.51	1.03–6.08	0.0488
<i>VEGF-2578:VEGF+936:MMP2-1306</i>	<i>CA-CC-CC</i>	27(37.50)	60(20.62)	291	2.31	1.33–4.02	0.0051
<i>VEGF+936:MMP2-1306:MMP9-1562</i>	<i>CC-CC-CC</i>	31(43.06)	75(25.51)	294	2.21	1.29–3.77	0.0055
<i>VEGF+936:MMP2-1306</i>	<i>CC-CC</i>	41(56.94)	120(40.40)	297	1.95	1.16–3.28	0.0121
<i>MMP2-1306</i>	<i>CC</i>	51(70.83)	182(57.05)	319	1.83	1.05–3.18	0.0338
<i>VEGF-2578:VEGF+936:MMP9-1562</i>	<i>CA-CC-CC</i>	27(37.50)	84(24.78)	339	1.82	1.06–3.12	0.0399
<i>VEGF-2578:MMP2-1306:MMP9-1562</i>	<i>CA-CC-CC</i>	24(33.33)	66(21.64)	305	1.81	1.03–3.17	0.0453
<i>MMP2-1306:MMP9-1562</i>	<i>CC-CC</i>	37(51.39)	117(37.62)	311	1.75	1.05–2.94	0.0338
<i>VEGF-2578:VEGF+936</i>	<i>CA-CC</i>	35(48.61)	123(35.76)	344	1.70	1.02–2.84	0.0457
Вторичная лимфедема (N = 102 чел.)							
<i>VEGF-2578:VEGF+936:MMP2-1306:MMP9-1562</i>	<i>CC-CC-TT-CC</i>	4(3.92)	1(0.35)	288	11.71	1.29–106.07	0.0178
<i>VEGF-2578:VEGF+936:MMP9-1562</i>	<i>AA-CT-CT</i>	4(3.92)	2(0.59)	339	6.88	1.24–38.11	0.0277
<i>VEGF-2578:VEGF+936:MMP2-1306</i>	<i>CC-CC-TT</i>	4(3.92)	2(0.69)	291	5.90	1.06–32.70	0.0416
<i>VEGF-2578:MMP2-1306:MMP9-1562</i>	<i>CC-TT-CC</i>	5(4.90)	4(1.31)	305	3.88	1.02–14.73	0.0475
<i>VEGF+936:MMP3-1171:MMP9-1562</i>	<i>CC-5A5A-CC</i>	20(19.80)	6(6.82)	88	3.37	1.29–8.84	0.0110
<i>MMP3-1171:MMP9-1562</i>	<i>5A5A-CC</i>	23(22.77)	9(10.23)	88	2.59	1.13–5.95	0.0314
<i>VEGF+936:MMP2-1306:MMP3-1171</i>	<i>CC-CC-5A5A</i>	22(21.78)	9(10.23)	88	2.44	1.06–5.64	0.0478
<i>VEGF+936:MMP3-1171</i>	<i>CC-5A5A</i>	31(30.69)	15(17.05)	88	2.16	1.07–4.33	0.0408
<i>VEGF-2578:VEGF+936:MMP9-1562</i>	<i>CA-CC-CT</i>	15(14.71)	26(7.67)	339	2.08	1.05–4.09	0.0496
<i>MMP3-1171</i>	<i>5A5A</i>	35(34.65)	18(20.45)	88	2.06	1.07–99.00	0.0353
<i>MMP9-1562</i>	<i>CT</i>	37(36.27)	97(25.00)	388	1.71	1.07–2.72	0.0252
<i>VEGF+936:MMP2-1306</i>	<i>CC-CC</i>	53(51.96)	120(40.40)	176	1.60	1.01–2.51	0.0490
<i>VEGF+936:MMP9-1562</i>	<i>CT-CC</i>	9(8.82)	59(17.05)	297	0.47	0.22–0.99	0.0421
<i>MMP2-1306:MMP3-1171:MMP9-1562</i>	<i>TC-5A6A-CC</i>	7(6.93)	15(17.05)	88	0.36	0.14–0.94	0.0401
<i>VEGF+936:MMP2-1306:MMP3-1171</i>	<i>CC-TC-6A6A</i>	1(0.99)	8(9.09)	88	0.10	0.01–0.82	0.0131

Примечание. Группа сравнения для первичной и вторичной формы лимфедемы N = 339 чел.; OR – отношение шансов; OR's 95 % CI – 95 % доверительный интервал для OR; P(tmF₂) – уровень статистической значимости (p) различий по точному методу Фишера (двусторонняя).

* Данные в таблице отсортированы по убыванию величины OR. Жирным шрифтом выделены достоверные различия при p < 0.01.

наруживаются ассоциативные связи развития заболевания с вариантами гена *MMP2*, а выявляются отклонения от «нормального» распределения вариантов генов *MMP3* и *MMP9* в анализируемых сайтах. Отмечено преобладание *MMP3-1171 5A5A* и *MMP9-1562 CT* генотипов. Частота комбинаций этих гомозиготных генотипов также в два

раза выше среди пациентов относительно контрольной группы.

Включение в анализ вариантов гена *VEGF* увеличивает степень различий между группой пациентов и контроля. Так, частота комбинированного генетического признака, представленного сочетанием гомозиготных вариантов

Таблица 4. Сравнительный анализ распределения отдельных и комплексных генотипов анализируемых генов между группами с первичной и вторичной лимфедемой

Комбинации полиморфизмов генов	Генотипы	Первичная лимфедема			Вторичная лимфедема			OR*	OR's 95 % CI	P(tmF ₂)	P_cor
		n	N	%	n	N	%				
		<i>NRP2 13581:NRP2 92646:KDR 14011</i>	<i>TT-GG-TC</i>	9	72	12.50	0				
<i>MMP3-1171:NRP2 13581:NRP2 92646</i>	<i>6A6A-TT-GG</i>	9	72	12.50	1	101	0.99	14.29	1.77–115.49	0.0018	0.0432
<i>MMP2-1306:MMP3-1171:NRP2 13581:NRP2 92646</i>	<i>CC-6A6A-TT-GG</i>	8	72	11.11	0	101	0.00	14.12	1.75–114.10	0.0007	0.0354
<i>MMP2-1306:NRP2 13581:NRP2 92646:KDR 17693</i>	<i>CC-TT-GG-CC</i>	8	72	11.11	1	102	0.98	12.63	1.54–103.34	0.0040	0.1760
<i>MMP2-1306:NRP2 13581:NRP2 92646:KDR 14011</i>	<i>CC-TT-GG-TC</i>	7	72	9.72	0	102	0.00	12.48	1.53–102.13	0.0017	0.0851
<i>NRP2 68279:NRP2 13581</i>	<i>CC-TT</i>	7	72	9.72	0	102	0.00	12.48	1.53–102.13	0.0017	0.0156
<i>MMP3-1171:MMP9-1562:NRP2 13581:NRP2 92646</i>	<i>6A6A-CC-TT-GG</i>	7	72	9.72	0	101	0.00	12.36	1.51–101.15	0.0018	0.0833
<i>MMP2-1306:NRP2 68279:NRP2 13581</i>	<i>CC-CC-TT</i>	6	72	8.33	0	102	0.00	10.76	1.29–89.46	0.0044	0.0973
<i>MMP9-1562:NRP2 13581:NRP2 92646:KDR 14011</i>	<i>CC-TT-GG-TC</i>	6	72	8.33	0	102	0.00	10.76	1.29–89.46	0.0044	0.2079
<i>VEGF+936:NRP2 13581:KDR 14011</i>	<i>CT-TT-TC</i>	6	72	8.33	0	102	0.00	10.76	1.29–89.46	0.0044	0.0884
<i>VEGF+936:NRP2 68279:NRP2 13581</i>	<i>CC-CC-TT</i>	6	72	8.33	0	102	0.00	10.76	1.29–89.46	0.0044	0.0884
<i>MMP3-1171:NRP2 13581:NRP2 92646:KDR 14011</i>	<i>6A6A-TT-GG-TC</i>	6	72	8.33	0	101	0.00	10.66	1.28–88.59	0.0046	0.2748
<i>MMP3-1171:NRP2 13581:NRP2 92646:KDR 17693</i>	<i>6A6A-TT-GG-CC</i>	6	72	8.33	0	101	0.00	10.66	1.28–88.59	0.0046	0.2428
<i>MMP9-1562:KDR 14011:FOXC2-512</i>	<i>CC-TC-CT</i>	10	42	23.81	2	55	3.64	8.28	1.71–40.22	0.0040	0.0725
<i>MMP2-1306:MMP3-1171:NRP2 68279:NRP2 13581</i>	<i>CC-6A6A-AA-TT</i>	10	72	13.89	2	101	1.98	7.98	1.69–37.65	0.0042	0.2078
<i>MMP2-1306:NRP2 13581:NRP2 92646</i>	<i>CC-TT-GG</i>	12	72	16.67	3	102	2.94	6.60	1.79–24.34	0.0020	0.0426
<i>MMP2-1306:MMP3-1171:NRP2 13581</i>	<i>CC-6A6A-TT</i>	15	72	20.83	4	101	3.96	6.38	2.02–20.16	0.0008	0.0195
<i>MMP3-1171:NRP2 13581</i>	<i>6A6A-TT</i>	17	72	23.61	5	101	4.95	5.93	2.08–16.97	0.0004	0.0034
<i>MMP3-1171:NRP2 68279:NRP2 13581</i>	<i>6A6A-AA-TT</i>	11	72	15.28	3	101	2.97	5.89	1.58–21.96	0.0045	0.1069
<i>VEGF+936:MMP3-1171:NRP2 13581</i>	<i>CC-6A6A-TT</i>	11	72	15.28	3	101	2.97	5.89	1.58–21.96	0.0045	0.0935
<i>MMP9-1562:NRP2 13581</i>	<i>CC-TT</i>	25	72	34.72	14	102	13.73	3.34	1.59–7.04	0.0016	0.0124
<i>NRP2 13581</i>	<i>TT</i>	34	72	47.22	26	102	25.49	2.62	1.38–4.97	0.0036	0.0109
<i>NRP2 13581</i>	<i>GT</i>	28	72	38.89	62	102	60.78	0.41	0.22–0.76	0.0055	0.0167
<i>TIMP1-536:NRP2 13581:KDR 14011</i>	<i>CC-GT-TC</i>	0	15	0.00	13	32	40.63	0.09	0.01–0.75	0.0039	0.0386
<i>VEGF+936:TIMP1-536:NRP2 13581:KDR 14011</i>	<i>CC-CC-GT-TC</i>	0	15	0.00	13	32	40.63	0.09	0.01–0.75	0.0039	0.0463
<i>VEGF-2578:VEGF+936:NRP2 68279:KDR 17693</i>	<i>CC-CC-AA-CC</i>	1	72	1.39	14	102	13.73	0.09	0.01–0.69	0.0046	0.2022

Примечание. OR – отношение шансов; OR's 95 % CI – 95 % доверительный интервал для OR; P(tmF₂) – уровень статистической значимости (p) различий по точному методу Фишера (двусторонняя); P_cor – скорректированное значение P(tmF₂) (с учетом поправки Бонферрони).

* Данные в таблице отсортированы по убыванию величины OR.

VEGF+936 CC: MMP3-1171 5A5A: MMP9-1562 CC в геноме одного индивида, среди пациентов со вторичной лимфедемой превышает частоту аналогичного показателя в группе контроля более чем в 3 раза (OR = 3.37, $p = 0.0110$). Еще более «широкий» комбинированный генетический признак, включающий в себя сочетание гомозиготных вариантов генов *VEGF-2578 CC: VEGF+936 CC: MMP2-1306 TT: MMP9-1562 CC*, чаще выявляется среди пациентов со вторичной лимфедемой и характеризуется величиной показателя OR = 11.71 ($p = 0.0178$). Наряду с этим частота другого генетического признака, представленного сочетанием вариантов *VEGF+936 CC: MMP2-1306 TC: MMP3-1171 6A6A* в группе пациентов снижена почти в 10 раз – с 9.09 % в контрольной группе до 0.99 % в группе пациентов (OR = 0.10, $p = 0.0131$). Наличие данного сочетания в геноме человека в какой-то мере может считаться протективным фактором.

С целью более детального анализа различий между структурными параметрами генов регуляции ангиогенеза нами проведено исследование характера распределения в обеих группах пациентов с первичной и вторичной лимфедемой комбинированных признаков. В настоящей работе включены результаты по полиморфизмам генов *KDR* в двух полиморфных позициях, гена *NRP* – в трех полиморфных позициях и гена *TIMP1*. Для более четкого представления данных о полученных различиях приведены результаты с уровнем достоверности двухстороннего точного метода Фишера менее 0.005 (табл. 4).

При оценке результатов обращает на себя внимание наличие в обеих группах пациентов комбинированных генетических признаков, которые альтернативно не выявляются в сопоставляемых выборках. Так, в группе с первичной лимфедемой полностью отсутствуют генетические признаки *TIMP1-536 CC: NRP2 13581 GT: KDR 14011*

TC и *VEGF+936 CC: TIMP1-536 CC: NRP2 13581 GT: KDR 14011 TC*. В обоих случаях эти комбинации достаточно широко представлены (более 40 %) в группе пациентов со вторичной лимфедемой ($p = 0.0039$). В противовес этим данным, в группе пациентов со вторичной лимфедемой полностью отсутствуют генетические комбинированные признаки, представленные сочетаниями *NRP2 13581 TT: NRP2 92646 GG: KDR 14011 TC; MMP2-1306 CC: MMP3-1171 6A6A: NRP2 13581 TT: NRP2 92646 GG; MMP2-1306 CC: NRP2 13581 TT: NRP2 92646 GG: KDR 14011 TC; MMP3-1171 6A6A: MMP9-1562 CC: NRP2 13581 TT: NRP2 92646 GG* и ряда других. Уровень значимости достоверности различий по этим выборкам колеблется в интервале от 0.0003 до 0.005.

Учитывая ранее полученные многочисленные данные о влиянии полиморфизма генов регуляторных факторов на экспрессию и продукцию, мы провели исследование концентраций белков MMP 1, 2, 3, 9; их тканевых ингибиторов TIMP 1, 2, 3, а также VEGF, который не показал достоверных различий между группами пациентов с первичной и вторичной лимфедемой по медианному двустороннему U-критерию Манна–Уитни. При этом проведение сплошного корреляционного анализа выявило не только взаимозависимость концентрации изучаемых белковых продуктов MMP, TIMP и VEGF, но и выраженные различия в структуре корреляционных матриц пациентов с обеими формами лимфедемы.

При первичной лимфедеме наиболее значимые корреляционные отношения отмечаются между содержанием в сыворотке крови MMP2 и тканевого ингибитора TIMP2 ($OR = 0.703, p < 0.01$), тогда как концентрация VEGF в сыворотке крови обратно коррелирует с концентрацией MMP3 в том же субстрате ($OR = -0.629, p < 0.05$). При вторичной лимфедеме наиболее значимые взаимозависимости выявляются между концентрациями MMP2 и TIMP2 в тканевой жидкости ($OR = 0.727, p < 0.01$). Концентрация VEGF в сыворотке крови обратно коррелирует с содержанием этого ростового фактора и MMP9 в тканевой жидкости (данные в таблицах не представлены). Отмечаются и иные прямые и обратные корреляционные связи между признаками, что, вероятно, указывает на функционирование единой системы гуморальных факторов, участвующих в процессах ангиогенеза и лимфангиогенеза.

С учетом представленных данных о выраженной ассоциативной связи между анализируемыми комплексными генетическими признаками и различными формами течения лимфедемы мы провели дополнительный анализ зависимости высоких или низких уровней концентрации белков MMP 1, 2, 3, 9; их тканевых ингибиторов TIMP 1, 2, 3 и VEGF от наличия различных комбинированных генотипов у пациентов обеих групп (табл. 5).

Проведенный квантильный анализ показал, что при первичной лимфедеме выявляются генотипы, ассоциированные исключительно с низкими значениями MMP2 и TIMP2 как в сыворотке крови, так и в тканевой жидкости пациентов. В группе пациентов со вторичной лимфедемой показаны иные разнонаправленные ассоциативные связи уровней исследуемых белков с комбинированными генетическими признаками, которые в группе пациентов с первичной лимфедемой отсутствуют.

Обсуждение

Первичная лимфедема возникает в результате изолированной или развивающейся в составе синдрома врожденной аномалии лимфатической системы и связана с дисплазией, гипоплазией или гиперплазией компонентов лимфатической системы. Нижние конечности поражаются при первичной лимфедеме в большинстве случаев (Gordon et al., 2021). Вторичная же лимфедема развивается как осложнение другого заболевания или вмешательства в результате нарушения анатомической целостности или облитерации лимфатических коллекторов, удаления или поражения лимфатических узлов с последующим нарушением оттока лимфы, стазом лимфы в лимфатических сосудах и повышением эндолимфатического давления (Executive Committee..., 2020). Поэтому важно понимание генетических особенностей этих нарушений.

При первичной лимфедеме нами установлено повышение частоты *MMP2-1306C* аллельного варианта гена, гомозиготного варианта *CC* в единичном генотипе и в составе еще 10 из 17 комбинированных генетических признаков, частота которых выше при этой форме заболевания с очевидной генетической предрасположенностью (Повещенко и др., 2010; Шевченко и др., 2020).

MMP2 – одна из семейства цинк-зависимых эндопептидаз, которые впервые были обнаружены как протеазы, нацеленные на внеклеточные белки и расщепляющие их. Однако последние 20 лет обсуждается и внутриклеточное значение MMP, расширяется исследование нового аспекта их функций (Bassiouni et al., 2021). Полиморфизм гена *MMP2-1306* играет заметную роль в канцерогенезе, в частности вариант *C* ассоциирован с протективной ролью в развитии рака простаты (Zhang et al., 2017), его частота выше среди пациентов с бронхиальной астмой (Chen et al., 2020). Есть целый ряд сообщений об изменении частоты встречаемости вариантов этого полиморфного гена в промоторном регионе и с другими заболеваниями, однако данные об его ассоциации с развитием первичной лимфедемы представляются нами впервые.

Приводятся впервые данные об изменениях частоты выявления при лимфедеме вариантов *5A* и *6A* в полиморфной точке гена *MMP3-1171*. Так, среди пациентов со вторичной лимфедемой характерно присутствие вариантов *5A5A* в составе комбинированных признаков, частота которых выше при этой форме заболевания наряду с присутствием вариантов *6A6A* в составе признаков, частота которых ниже при вторичной лимфедеме. При первичной лимфедеме такой закономерности нет. Дискриминирующая роль наличия гомозиготного варианта *6A6A* гена *MMP3-1171* ярко проявляется при анализе данных сравнения характера распределения комбинированных генетических признаков между группами пациентов с первичной и вторичной формами лимфедемы. Мы полагаем, что обнаруженный феномен требует дальнейшего изучения и более подробного клинического анализа.

Согласно полученным нами данным, представленным в табл. 3, вариант *6A6A* гена *MMP3* в позиции *-1171* как единый признак, так и в составе ряда комбинированных генетических признаков, ассоциирован с низкими значениями содержания MMP2 и TIMP2 в сыворотке крови пациентов с первичной лимфедемой. Гомозиготный вариант

Таблица 5. Связь полиморфизма исследуемых генов с различным уровнем содержания лабораторных показателей в сыворотке и тканях пациентов с первичной и вторичной лимфедемой

Полиморфизмы	Генотипы	Лабораторные показатели	Уровень лабораторного показателя						OR	OR's 95 % CI	P(tmF ₂)
			Высокий			Низкий					
			n	N	%	n	N	%			
Первичная лимфедема (N = 44 чел.)											
<i>MMP3-1171</i>	6A6A	MMP2-сыв	2	7	28.57	7	8	87.50	0.06	0.00–0.82	0.0406
<i>MMP3-1171</i>	6A6A	TIMP2-сыв	0	7	0.00	7	8	87.50	0.03	0.00–0.42	0.0014
<i>MMP2-1306:KDR 14011</i>	CC-TC	MMP2-сыв	0	7	0.00	5	8	62.50	0.08	0.01–0.95	0.0256
<i>MMP3-1171:KDR 14011</i>	6A6A-TC	MMP2-сыв	0	7	0.00	6	8	75.00	0.05	0.00–0.64	0.0070
<i>MMP2-1306:MMP3-1171</i>	CC-6A6A	TIMP2-сыв	0	7	0.00	5	8	62.50	0.08	0.01–0.95	0.0256
<i>MMP3-1171:KDR 17693</i>	6A6A-CC	TIMP2-сыв	0	7	0.00	5	8	62.50	0.08	0.01–0.95	0.0256
<i>MMP3-1171:KDR 14011</i>	6A6A-TC	TIMP2-сыв	0	7	0.00	5	8	62.50	0.08	0.01–0.95	0.0256
Вторичная лимфедема (N = 66 чел.)											
<i>KDR 17693</i>	CT	VEGF-сыв	4	5	80.00	0	6	0.00	17.50	1.22–250.37	0.0152
<i>NRP2 68279</i>	AA	TIMP3-тка	11	11	100.0	3	10	30.00	24.00	2.25–255.95	0.0010
<i>VEGF 2578:MMP9-1562</i>	CA-CC	MMP1-сыв	5	7	71.43	1	9	11.11	20.00	1.42–282.46	0.0350
<i>MMP2-1306:MMP9-1562</i>	TC-CC	MMP1-сыв	4	7	57.14	0	9	0.00	12.50	1.09–143.44	0.0192
<i>MMP9-1562:KDR 17693</i>	CC-CC	MMP2-сыв	6	11	54.55	0	10	0.00	12.83	1.26–130.52	0.0124
<i>MMP9-1562:KDR 17693</i>	CC-CC	MMP3-сыв	8	14	57.14	1	11	9.09	13.33	1.32–134.62	0.0330
<i>NRP2 92646:KDR 17693</i>	GG-CT	VEGF-сыв	4	5	80.00	0	6	0.00	17.50	1.22–250.37	0.0152
<i>VEGF+936:NRP2 13581</i>	CC-GT	VEGF-тка	5	6	83.33	3	11	27.27	13.33	1.07–166.38	0.0498
<i>MMP2-1306:MMP9-1562</i>	TC-CC	VEGF-тка	3	6	50.00	0	11	0.00	12.00	1.02–141.34	0.0294
<i>MMP9-1562:NRP2 13581</i>	CC-GT	VEGF-тка	5	6	83.33	1	11	9.09	50.00	2.56–977.02	0.0054
<i>MMP9-1562:KDR 14011</i>	CC-TC	VEGF-тка	4	6	66.67	1	11	9.09	20.00	1.39–287.61	0.0276
<i>NRP2 13581:NRP2 92646</i>	GT-GA	VEGF-тка	3	6	50.00	0	11	0.00	12.00	1.02–141.34	0.0294
<i>MMP9-1562:NRP2 92646</i>	CC-GG	TIMP3-сыв	7	13	53.85	0	9	0.00	11.43	1.15–113.12	0.0167
<i>VEGF+936:NRP2 68279</i>	CC-AA	TIMP3-тка	10	11	90.91	3	10	30.00	23.33	1.99–273.31	0.0075
<i>MMP2-1306:NRP2 68279</i>	CC-AA	TIMP3-тка	8	11	72.73	0	10	0.00	24.75	2.33–262.60	0.0010
<i>MMP9-1562:NRP2 68279</i>	CC-AA	TIMP3-тка	7	11	63.64	1	10	10.00	15.75	1.42–174.25	0.0237
<i>NRP2 68279:NRP2 92646</i>	AA-GG	TIMP3-тка	8	11	72.73	1	10	10.00	24.00	2.06–279.64	0.0075
<i>MMP2-1306</i>	CC	MMP3-сыв	6	14	42.86	10	11	90.91	0.08	0.01–0.76	0.0330
<i>NRP2 68279</i>	AC	TIMP3-тка	0	11	0.00	6	10	60.00	0.06	0.01–0.62	0.0039
<i>MMP2-1306:NRP2 92646</i>	CC-GG	MMP3-сыв	3	14	21.43	9	11	81.82	0.06	0.01–0.45	0.0048

Примечание. OR – отношение шансов; OR's 95 % CI – 95 % доверительный интервал для OR; P(tmF₂) – уровень статистической значимости (p) различий по точному методу Фишера (двусторонняя); сыв – в сыворотке крови; тка – в тканевой жидкости.

MMP2-1306 CC в составе комбинированных генетических признаков также ассоциирован с низкими значениями уровня MMP2 и TIMP2 в сыворотке крови при первичной лимфедеме.

У пациентов с развитием вторичной лимфедемы *MMP2 C* ассоциирован уже с высоким содержанием MMP1 и MMP3 в сыворотке крови, с высоким содержанием VEGF и TIMP3 в тканевой жидкости. Зависимости уровня ни одного из анализируемых количественных признаков от вариантов гена *MMP3-1171* при вторичной лимфедеме, в отличие от ее первичной формы, не установлено.

Можно заключить, что в развитии первичной лимфедемы значительную роль играют генетические факторы, связанные с семейством генов *VEGF* и их рецепторов *VEGFR*, участвующих в регуляции и развитии сосудистых сетей лимфатической и кровеносной систем.

Рецептор третьего типа VEGFR3 выполняет основную функцию в развитии и становлении лимфатической системы. Аутосомно-доминантные мутации *VEGFR3*, препятствующие функционированию рецептора как гомодимера, не только вызывают одну из основных форм наследственного первичного лимфостаза, собственно первичную лимфедему (болезнь Милроя), но и участвуют в предрас-

положенности к развитию распространенных цианотических врожденных пороков сердца, демонстрируя новую функцию VEGFR3 в раннем развитии тканей сердца (Monaghan et al., 2021). Отсюда становится понятным интерес к исследованию роли целого ряда генов семейства VEGFR (особенно *NRP-2*), связанных с развитием ангиогенеза и васкулогенеза, генов ростового фактора эндотелия *VEGF*, металлопротеиназ межклеточной основы сосудистого русла *MMP* и их тканевых ингибиторов *TIMP*.

В результате исследований появляется все больше данных о том, что в развитии вторичной лимфедемы, развивающейся вследствие оперативных нарушений сосудистого русла типа мастэктомии, определенную роль играют и генетические факторы предрасположенности к развитию лимфатических отеков конечностей, что позволяет надеяться на создание прогностических критериев выявления групп повышенного риска их развития и проведения профилактических мероприятий. Практическая значимость и перспективность таких исследований заключаются в позитивных результатах разрабатываемой терапии лимфедемы, в том числе и с помощью индукторов лимфангиогенеза препаратами VEGF (Forte et al., 2019).

Заключение

Среди пациентов как с первичной, так и вторичной лимфедемой отмечаются достоверные отклонения от нормативных показателей, установленных для контрольной группы здоровых лиц, в частоте распределения целого ряда комплексных генотипов генов *MMP 2, 3, 9* и *VEGF*, что указывает на существенное влияние исследованного фрагмента генотипа пациента на предрасположенность к этим типам лимфатического отека конечностей.

Группы пациентов с первичной и вторичной лимфедемой существенно различаются между собой по характеру распределения ряда комплексных генотипов генов *MMP 2, 3, 9* и *VEGF*, что свидетельствует о многочисленных путях реализации генетической предрасположенности к развитию этих патологических состояний.

Сравнительный анализ не выявил достоверных различий в концентрациях матричных металлопротеиназ, их тканевых ингибиторов и факторов роста сосудистого эндотелия в сыворотке крови и тканевой жидкости пациентов с первичной и вторичной лимфедемой.

Как при первичной, так и при вторичной лимфедеме установлены различные ассоциативные связи между исследуемыми комбинированными генотипами полиморфизма генов факторов регуляции ангиогенеза и уровнем концентрации белковых продуктов этих генов в сыворотке крови и тканевой жидкости, что, в свою очередь, указывает на наличие определенных геномно-метаболических механизмов реализации генетической предрасположенности к развитию лимфатических отеков.

Получены данные о повышении частоты встречаемости гомозиготного варианта *CC* в полиморфной точке *-1306* гена *MMP2* и при первичной лимфедеме и повышении частоты гомозиготного варианта гена *MMP3-1171 5A5A* при вторичной лимфедеме. Оба эти полиморфизма ассоциированы с количественными показателями содержания белковых продуктов *MMP, TIMP* и *VEGF* при различных вариантах развития лимфедемы конечностей.

Список литературы / References

- Повешенко А.Ф., Нимаев В.В., Любарский М.С., Коненков В.И. Медицинские и генетические аспекты лимфедемы. *Мед. генетика*. 2010;9(9):3-9
- [Poveshchenko A.F., Nimaev V.V., Lyubarsky M.S., Konenkov V.I. Medical and genetical aspects of lymphedema. *Meditsinskaya Genetika = Medical Genetics*. 2010;9(9):3-9 (in Russian)]
- Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Коненков В.И., Хапаев Р.С., Нимаев В.В. Полиморфизм генов фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и матричных металлопротеиназ (*MMP*) при первичной лимфедеме конечностей. *Мед. иммунология*. 2020;22(3):497-506. DOI 10.15789/1563-0625-POV-1913
- [Shevchenko A.V., Prokofyev V.F., Konenkov V.I., Khapaev R.S., Nimaev V.V. Polymorphism of vascular endothelial growth factor gene (*VEGF*) and matrix metalloproteinase (*MMP*) genes in primary limb lymphedema. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology*. 2020;22(3):497-506. DOI 10.15789/1563-0625-POV-1913 (in Russian)]
- Bassiouni W., Ali M., Schulz R. Multifunctional intracellular matrix metalloproteinases: implications in disease. *FEBS J*. 2021;288(24):7162-7182. DOI 10.1111/febs.15701
- Cabral-Pacheco G.A., Garza-Veloz I., Castruita-De la Rosa C., Ramirez-Acuña J.M., Perez-Romero B.A., Guerrero-Rodriguez J.F., Martinez-Avila N., Martinez-Fierro M.L. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. *Int. J. Mol. Sci*. 2020;21(24):9739. DOI 10.3390/ijms21249739
- Chen L.-H., Chiu K.-L., Hsia T.-C., Lee Y.-H., Shen T.-C., Li C.-H., Shen Y.-C., Chang W.-S., Tsai C.-W., Bau D.-T. Significant association of MMP2 promoter genotypes to asthma susceptibility in Taiwan. *In Vivo*. 2020;34(6):3181-3186. DOI 10.21873/invivo.12153
- Detry B., Ericpim C., Paupert J., Blacher S., Maillard C., Bruyère F., Pendeville H., Remacle T., Lambert V., Balsat C., Ormenese S., Lamaye F., Janssens E., Moons L., Cataldo D., Kridelka F., Carmeliet P., Thiry M., Foidart J.M., Struman I., Noël A. Matrix metalloproteinase-2 governs lymphatic vessel formation as an interstitial collagenase. *Blood*. 2012;119(21):5048-5056. DOI 10.1182/blood-2011-12-400267
- Executive Committee of the International Society of Lymphology. The diagnosis and treatment of peripheral lymphedema: 2020 Consensus Document of the International Society of Lymphology. *Lymphology*. 2020;53(1):3-19
- Forte A.J., Boczar D., Huayllani M.T., Lu X., McLaughlin S.A. Pharmacotherapy agents in lymphedema treatment: A systematic review. *Cureus*. 2019;11(12):e6300. DOI 10.7759/cureus.6300
- Gao X., Ma F., Hao H., Dai Y., Liu W., Xiao X., Gao P., Li S. Association of *VEGFA* polymorphisms with necrotizing enterocolitis in Chinese Han population. *Pediatr. Neonatol*. 2019;60(2):129-134. DOI 10.1016/j.pedneo.2018.07.002
- Gao Y., Lee Y., Almazyad A., Birsner A., Li D., Wong S., Wen A., D'Amato R., Adam R.M., Dixon J.B., Srinivasan R.S., Chen H., Bielenberg D.R. Loss of neuropilin 2 in adult lymphatic endothelium promotes lymphedema. *FASEB J*. 2020;34(S1):1. DOI 10.1096/fasebj.2020.34.s1.06345
- Gordon K., Mortimer P.S., van Zanten M., Jeffery S., Ostergaard P., Mansour S. The St George's classification algorithm of primary lymphatic anomalies. *Lymphat. Res. Biol*. 2021;19(1):25-30. DOI 10.1089/lrb.2020.0104
- Luo Y., Luo J., Peng H. Associations between genetic polymorphisms in the *VEGFA, ACE*, and *SOD2* genes and susceptibility to diabetic nephropathy in the Han Chinese. *Genet. Test. Mol. Biomarkers*. 2019;23(9):644-651. DOI 10.1089/gtmb.2018.0320
- Miller A. Lymphedema-clinical picture and therapy. Review. *Hautarzt*. 2020;71(1):32-38. DOI 10.1007/s00105-019-04523-z
- Monaghan R.M., Page D.J., Ostergaard P., Keavney B.D. The physiological and pathological functions of VEGFR3 in cardiac and lymphatic development and related diseases. *Cardiovasc. Res*. 2021;117(8):1877-1890. DOI 10.1093/cvr/cvaa291

- Mucka P., Levonyak N., Geretti E., Zwaans B., Li X., Adini I., Klagsbrun M., Adam R., Bielenberg D. Inflammation and lymphedema are exacerbated and prolonged by neuropilin 2 deficiency. *Am. J. Pathol.* 2016;186(11):2803-2812. DOI 10.1016/j.ajpath.2016.07.022
- Quirion E. Recognizing and treating upper extremity lymphedema in postmastectomy/lumpectomy patients: a guide for primary care providers. *J. Am. Acad. Nurse. Pract.* 2010;22(9):450-459. DOI 10.1111/j.1745-7599.2010.00542.x
- Rauniyar K., Jha S.K., Jeltsch M. Biology of vascular endothelial growth factor C in the morphogenesis of lymphatic vessels. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2018;6:7. DOI 10.3389/fbioe.2018.00007
- Saik O.V., Nimaev V.V., Usmonov D.B., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Lavrik I.N., Ivanisenko V.A. Prioritization of genes involved in endothelial cell apoptosis by their implication in lymphedema using an analysis of associative gene networks with ANDSytem. *BMC Med. Genomics.* 2019;12(Suppl. 2):47. DOI 10.1186/s12920-019-0492-9
- Stevens M., Oltean S. Modulation of receptor tyrosine kinase activity through alternative splicing of ligands and receptors in the VEGF-A/VEGFR axis. *Cells* 2019;8(4):288. DOI 10.3390/cells8040288
- Vaahntomeri K., Karaman S., Mäkinen T., Alitalo K. Lymphangiogenesis guidance by paracrine and pericellular factors. *Genes Dev.* 2017;31(16):1615-1634. DOI 10.1101/gad.303776.117
- Vignes S. Lymphedema: from diagnosis to treatment. *Rev. Med. Interne.* 2017;38(2):97-105. DOI 10.1016/j.revmed.2016.07.005
- Watson C.J., Webb N.J.A., Bottomley M.J., Brenchley P.E.C. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: Correlation with variation in VEGF protein production. *Cytokine.* 2000;12(8):1232-1235. DOI 10.1006/cyto.2000.0692
- Yap R.W.K., Lin M.H., Shidoji Y., Yap W.S. Association of stress, mental health, and *VEGFR-2* gene polymorphisms with cardiometabolic risk in Chinese Malaysian adults. *Nutrients.* 2019;11(5):1140. DOI 10.3390/nu11051140
- Zhang K., Chen X., Zhou J., Yang C., Zhang M., Chao M., Zhang L., Liang C. Association between *MMP2-1306 C/T* polymorphism and prostate cancer susceptibility: a meta-analysis based on 3906 subjects. *Oncotarget.* 2017;8(27):45020-45029. DOI 10.18632/oncotarget.16972

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 05.12.2023. После доработки 26.02.2024. Принята к публикации 26.02.2024.