

# ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА 735 С>Т ММР-2 В СТРУКТУРЕ РАННИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

*Кот М. О., Гриневич Т. Н.*

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь  
sao-fake@yandex.ru*

**Введение.** В структуре репродуктивных потерь преобладают прерывания беременности на ранних сроках, одна из основных причин которых – нарушения имплантации оплодотворенной яйцеклетки в слизистую матки. Решающую роль во время имплантации эмбриона человека и плацентации играет инвазия клеток трофобласта в материнский эндометрий, что неотъемлемо связано с преобразованием базальной мембраны и экстрацеллюлярного матрикса, в котором принимает участие целый ряд ферментов, в том числе система матриксных металлопротеиназ [1]. На ранних сроках беременности особенно вовлечены в успешную инвазию цитотрофобластов металлопротеиназы 2-го (ММР-2) типа, поскольку они считаются ключевыми ферментами в деградации базальной мембраны, которая в основном состоит из коллагена IV типа [2].

Количество вновь синтезируемых ММР поддается регуляции на уровне транскрипции их структурных генов. При мутациях генов ММР-2 в терминальных ворсинах происходит снижение содержания коллагена IV типа в базальных мембранах, что, вероятно, может приводить к нарушению формирования фетоплацентарного барьера.

**Цель исследования:** изучение роли полиморфных вариантов гена 735 С>Т ММР-2 в структуре ранних репродуктивных потерь у женщин с привычным невынашиванием беременности.

**Материалы и методы.** Всего было обследовано 49 женщин репродуктивного возраста. Из них 26 женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) и ранними репродуктивными потерями (до 12 недель беременности) в анамнезе составили основную группу. Возраст обследуемых опытной группы составил от 25 до 39 лет, медиана (Me) – 31 год, нижняя квартиль (Q25) – 28 лет, верхняя квартиль (Q75) – 35 лет. Критериями включения в исследование были привычное невынашивание беременности, т. е. наличие в анамнезе женщины подряд трех и более самопроизвольных прерываний беременности, отсутствие тяжелой соматической и гинекологической патологии, а также наличие информированного согласия на участие в исследовании.

Контрольную группу составили 23 женщины с тремя и более физиологическими родами в анамнезе. У женщин этой группы был благоприятный акушерский анамнез, отсутствовали самопроизвольные выкидыши и другие акушерские осложнения. Возраст женщин контрольной

группы составил от 22 до 39 лет, медиана (Me) – 35 лет, нижняя квартиль (Q25) – 31 год, верхняя квартиль (Q75) – 39 лет.

Исследование в основной группе проводилось на архивном материале (парафиновых блоках) последов и плацентарных площадок, полученных после спонтанно прервавшихся или ранее замерших беременностей. Контролем служили образцы хориальной ткани, взятые при артифициальном аборте.

ДНК плаценты выделялась из срезов архивных тканей плаценты, фиксированных в формалине и залитых в парафиновые блоки, с использованием фирменного набора QIAamp® DNA FFPE Tissue (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя.

Выявление полиморфных вариантов гена 735 Т>С MMP-2 в тканях плаценты выполнялось методом полимеразной цепной реакции с определением длин рестрикционных фрагментов (PCR-RFLP) на амплификаторе-термоциклере («Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler», США).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q). Критерий Х-квадрат ( $\chi^2$ ) Пирсона использовался для сравнения дискретных величин. Оценка ассоциаций рассчитывалась в значениях показателей ОШ (отношение шансов) и ОР (относительный риск) с указанием 95% доверительного интервала (ДИ).

**Результаты исследования.** Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма 735 С>Т гена MMP-2 представлен в таблице.

Таблица – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма 735 С>Т гена MMP-2 в тканях плаценты у женщин с ПНБ и у женщин с физиологически протекающей беременностью

Генотипы/ Аллели	Опыт (n=26), абс. (%)	Контроль (n=23), абс. (%)	ОР (95% ДИ)	ОШ (95% ДИ)	$\chi^2$	p
СС	22 (84,6)	20 (87)	0,99 (0,8-1,2)	0,25 (0,03-2,42)	3,93	0,14
СТ	1 (3,8)	3 (13,0)	0,29 (0,03-2,6)	0,27 (0,03-2,76)		
ТТ	3 (11,5)	0	-	-		
Аллель С	23 (86)	22 (93,2)	0,93 (0,79-1,09)	0,35 (0,03-3,61)	0,09	0,78
Аллель Т	4 (14)	3 (6,8)	1,18 (0,29-4,73)	1,12 (0,24-9,09)		

Распределение аллельного варианта ТТ (гомозигота по мутантному аллелю) полиморфизма 735 С>Т гена MMP-2 у женщин с ПНБ составила 11,5%, тогда как в контрольной группе мутантный гомозиготный вариант ТТ не встречался (p=0,09). Генотип ТТ является минорным и в общей популяции встречается редко. Частота гетерозигот (генотип СТ) у женщин с ПНБ составила 3,8%, генотипа СС (доминантная модель) – 84,6%. В контрольной группе носительство гетерозиготного генотипа СТ составило 13,0%, «дикого» гомозиготного СС – 87,0%. Показано, что замена цитозина (С) на тимидин (Т) в

позиции 735 прерывает Sp1-связывающий сайт и приводит к снижению транскрипционной деятельности. Поэтому экспрессия белка MMP-2 выше в индивидуумах с генотипом CC относительно тех, в чьем генотипе выявляется TT или CT [3].

Сравнительное исследование аллельных частот полиморфных локусов MMP-2 продемонстрировало, что протективный аллель С незначительно чаще встречался в группе женщин с физиологически протекающей беременностью. В опытной группе несколько чаще (в 14% случаев) наблюдалось носительство минорного аллеля Т гена MMP-2 против 6,8% в контроле. Согласно литературным данным, частота редкого аллельного варианта (Т) значительно ниже в Азиатских популяциях (13,6%), чем в Европейских (23,3%) [4]. Патологическая аллель Т полиморфизма 735 С>Т в гене MMP-2 снижает экспрессию MMP-2, а ее присутствие сопряжено с риском невынашивания беременности ( $\chi^2=0,09$ ,  $p=0,78$ , OR=1,18, 95% ДИ 0,29-4,73).

**Выводы.** Носительство аллеля Т полиморфизма 735 С>Т гена MMP-2 может рассматриваться в качестве одного из потенциальных генетических индикаторов в структуре ранних репродуктивных потерь у женщин с привычным невынашиванием беременности.

#### *Литература*

1. Shah B.H., Matrix metalloproteinases in reproductive endocrinology / B. H. Shah [et al.] // Trends Endocrinol Metab. – 2004. – № 10. – P. 47–49.
2. Salamonsen L.A., Butt A.R., Hammond FR, Garcia S, Zhang J: Production of endometrial matrix metalloproteinases, but not their tissue inhibitors, is modulated by progesterone withdrawal in an in vitro model for menstruation / LA. Salamonsen [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 1997. – № 82. – P. 1409–1415.
3. Nina Pereza, Matrix metalloproteinases 1, 2, 3 and 9 functional single-nucleotide polymorphisms in idiopathic recurrent spontaneous / Nina Pereza [et al.] // Reprod Biomed Online. – 2012. – Vol. 24, № 5. – P. 567–75. doi: 10.1016/j.rbmo.2012.01.008. Epub 2012 Jan 24.
4. Yu C., Functional haplotypes in the promoter of matrix metalloproteinase-2 predict risk of the occurrence and metastasis of esophageal cancer / C. Yu [et al.] // Cancer Res. – 2004. – Vol. 64. – P. 7622-7628.

### **735 C>T MMP-2 GENE POLYMORPHISM IN THE STRUCTURE OF EARLY REPRODUCTIVE LOSSES IN WOMEN WITH RECURRENT MISCARRIAGE**

***Kot M. O., Grinevich T. N.***

*Grodno State Medical University, Grodno, Belarus  
sao-fake@yandex.ru*

The role of Gln279Arg polymorphic variants of the MMP-9 gene in the structure of early reproductive losses in women with habitual miscarriage has been studied. Carriage of the T allele of the 735 C>T polymorphism of the MMP-2 gene

can be considered as one of the potential genetic indicators in the structure of early reproductive losses in women with recurrent miscarriage.

## ПОЛИМОРФИЗМ GLN279ARG ГЕНА MMP-9 В СТРУКТУРЕ РАННИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

*Кот М. О., Гриневич Т. Н., Гладкий М. Л.*

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь  
sao-fake@yandex.ru*

**Введение.** Проблема невынашивания беременности – одна из самых трудных областей в репродуктивной медицине, так как патофизиология данного состояния многообразна, а диагностика причин невынашивания все еще недостаточно эффективна. В структуре репродуктивных потерь преобладают прерывания беременности на ранних сроках, характеризуются интенсивным формированием фетально-материнского интерфейса. Развитие гистологически и функционально нормального эндометрия имеет решающее значение для последующей децидуализации эндометрия, его восприимчивости и имплантации.

Ремоделирование внеклеточного матрикса (ВКМ), необходимое для децидуализации эндометрия, а также имплантации и плацентации трофобласта, осуществляется в первую очередь ферментами – матриксными металлопротеиназами (ММП). Правильная экспрессия и локальная активация ММП как в децидуе, так и во вневорсинчатом трофобласте является важной составляющей в развитии беременности на раннем этапе. Практически все ММП экспрессируются НК-клетками матки и фибробластами в децидуе, где они контролируют имплантацию [1]. ММП-2 и ММП-9 играют важнейшую роль в терминальной дифференцировке стромальных клеток эндометрия (ENSC) человека в децидуальные клетки [2] и, поскольку они обнаруживаются в децидуальных тканях на протяжении всей беременности, им отводится ключевая роль в регуляции инвазии трофобласта и ангиогенеза [3].

**Цель исследования:** изучение роли полиморфных вариантов Gln279Arg гена MMP-9 в структуре ранних репродуктивных потерь у женщин с привычным невынашиванием беременности.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 49 женщин с тремя и более последовательными самопроизвольными абортами неизвестной этиологии до 12-й недели беременности (ПНБ) в возрасте от 25 до 39 лет, медиана (Me) – 31 год, нижняя квартиль (Q25) – 28 лет, верхняя квартиль (Q75) – 35 лет. Из исследования были исключены женщины с эндокринными и метаболическими нарушениями (включая сахарный диабет), аутоиммунными и другими системными заболеваниями в анамнезе, венозной или вено-сосудистой патологией, анатомическими дефектами матки.