

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 (ММР). Правильная экспрессия и локальная активация ММР как в децидуе, так и во вневорсинчатом трофобласте является важной составляющей в развитии беременности на раннем этапе. Практически все ММР экспрессируются НК-клетками матки и фибробластами в децидуе, где они контролируют имплантацию [1]. ММР-2 и ММР-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.

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 искусственном 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. Генотипирование полиморфных локусов гена MMP-9 rs17576 (Gln279Arg) осуществлялось методом полимеразной цепной реакции (real-time PCR) на амплификаторе «Rotor-Gene Q5» (QIAGEN, Германия). Использовали олигонуклеотидные праймеры и зонды, синтезированные ООО «Синтол» (Россия).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q). Частоты встречаемости представлены в долях (%), 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.** Результаты анализа распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма Gln279Arg гена MMP-9 представлены в таблице.

Таблица – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма Gln279Arg гена MMP-9 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
AA	11 (42,3)	8 (34,78)	1,21 (0,59-2,49)	1,38 (0,43-4,38)	0,291	0,87
AG	13 (50,0)	13 (56,52)	0,89 (0,52-1,5)	0,78 (0,25-2,38)		
GG	2 (7,69)	2 (8,7)	0,89 (0,14-5,8)	0,88 (0,11-6,77)		
Аллель А	24 (67,3)	21 (63)	1,01 (0,86-1,2)	1,14 (0,15-8,84)	0,018	0,89
Аллель G	15 (32,7)	14 (37)	0,95 (0,6-1,5)	0,88 (0,28-2,75)		

Генетическое исследование показало, что частота гомозигот по мутантному аллелю (генотип GG) гена MMP-9 была статистически незначимо выше у женщин с физиологически протекающей беременностью, чем у женщин с ПНБ. Гетерозиготный генотип AG рассматриваемого полиморфного локуса встречался с частотой 50,0% и 56,5%, соответственно, у женщин опытной и

контрольной групп, тем самым несколько чаще у женщин с физиологически протекающей беременностью. Полиморфизм АА, гомозиготный по «дикому» аллелю генотипа, чаще выявлялся у женщин с привычным невынашиванием беременности – 42,3%, по сравнению с контрольной группой, где он встречался у 34,8% женщин ( $\chi^2=0,291$ ,  $p=0,87$ ,  $OR=1,21$ , 95% ДИ 0,59-2,49).

Носительство гомозиготного аллеля G (мутантный аллель) полиморфизма Gln279Arg гена MMP-9 была несколько выше в контрольной группе (37,0%) по сравнению с основной группой (32,7%), однако различия не достигли уровня статистической значимости. Это может свидетельствовать о нормальной функции металлопротеиназы 9-го типа у лиц, носителей аллеля G полиморфизма Gln279Arg гена этого фермента. Аллель А встречался несколько чаще (67,3%) в группе женщин с ПНБ и против 63,0% – в группе контроля ( $\chi^2=0,0148$ ,  $p=0,89$ ,  $OR=1,01$  95% ДИ 0,86-1,2). Можно предположить, что аллель А связана с низкой экспрессией генов матриксной металлопротеиназы 9-го типа, которая отвечает за ферментные системы, утилизирующие коллагеновые образования. Подавление активности MMP-9 может препятствовать деградации внеклеточного матрикса, что негативно сказывается на инвазии цитотрофобласта, кровообращении в системе мать-плацента-эмбрион и развитии эмбриона.

**Выводы.** Носительство аллеля А полиморфизма Gln279Arg гена MMP-9 может быть связано с низкой экспрессией данного гена. Однако для подтверждения полученных результатов и изучения практического значения этой ассоциации требуются дополнительные исследования.

#### *Литература*

1. Anacker J., Human decidua and invasive trophoblasts are rich sources of nearly all human matrix metalloproteinases / J. Anacker [et al.] // Mol. Hum. Reprod. – 2011. – № 17. – P. 637–652.
2. Seval Y., Distribution patterns of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and -9 and their inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) in the human decidua during early pregnancy / Y. Seval [et al.] // Acta Histochem. – 2004. – № 106. – P. 353–362.
3. Staun-Ram E., Expression and importance of matrix metalloproteinase 2 and 9 (MMP-2 and -9) in human trophoblast invasion / E. Staun-Ram [et al.] // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2004. – № 2. – P. 59.

### **Gln279Arg POLYMORPHISM OF THE MMP-9 GENE IN THE STRUCTURE OF EARLY REPRODUCTIVE LOSSES IN WOMEN WITH RECURRENT MISCARRIAGE**

*Kot M. O., Grinevich T. N., Gladky M. L.*  
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 recurrent miscarriage was

studied. Carrying allele A of the Gln279Arg polymorphism of the MMP-9 gene may be associated with low expression of this gene. Additional studies are required to confirm the results obtained and to study the practical significance of this association.

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА 418 G>C ГЕНА TIMP-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.** Матриксные металлопротеиназы (ММП) относятся к классу  $Zn^{2+}$ - и  $Ca^{2+}$ -зависимых эндогенных протеолитических ферментов. Они также являются мембраносвязывающими белками и способны разрушать внеклеточный матрикс (ВММ) и базальную мембрану в нормальных физиологических условиях [1].

Матриксные металлопротеиназы могут вырабатываться разными типами клеток. Уровень белковых отложений ММП повышается под влиянием таких событий, как травма и беременность [2].

Активность ММП контролируется ингибиторами тканевых металлопротеиназ (TIMP), которые блокируют разрушение экстрацеллюлярного матрикса и характеризуются определенной избирательной специфичностью.

Концентрация TIMP зависит от концентрации ММП в тканях и внеклеточной жидкости, ограничивая таким образом протеолитическую активность в фокальном окологклеточном пространстве [3]. Изменение структурной организации коллагенов может быть обусловлено как нарушением синтеза, так и метаболизма самих металлопротеиназ, а также нарушения баланса с их ингибиторами. Потенциальное влияние полиморфизмов генов TIMP-2 на осложнения беременности, такие как выкидыш, остается неизученным [4].

**Цель исследования:** изучение роли полиморфных вариантов 418 G>C гена TIMP-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 лнт, 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