

5. Киреева, Ю. А. Событийный туризм как новое направление на современном туристском рынке / Ю. А. Киреева // Научный вестник МГИИТ. – 2010. – № 6. – С. 16–21.

ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ДЕВЯТОГО ТИПА В ПЛАЦЕНТАРНОЙ ТКАНИ У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Гриневич Т.Н.

Гродненский государственный медицинский университет

Актуальность. Матриксные металлопротеиназы (ММР) – это семейство цинк-зависимых ферментов, способных разрушать компоненты внеклеточного матрикса и тем самым способствовать разрушению соединительной ткани. ММР участвуют во многих биологических процессах, таких как восстановление и ремоделирование тканей, эмбриогенез, ангиогенез, пролиферация и миграция клеток, заживление ран и апоптоз.

Металлопротеиназы, в частности желатиназы ММР-2 и ММР-9, связаны с различными аспектами беременности благодаря их участию в деградации коллагена IV типа, основного компонента материнской базальной мембраны [1]. Исследования показывают, что ММР-9 способствует инвазии трофобласта, улучшая его способность проникать и разрушать базальную мембрану матки, что является важным аспектом успешной имплантации и беременности и подчеркивает ее значение на ранних сроках беременности [2].

К сожалению, исследования по иммуногистохимии плацент и маточно-плацентарной области ограничены. Важно отметить, что результаты исследований могут варьировать в зависимости от конкретного организма и характера исследования. По некоторым данным, уровень ММР-9 может быть повышен у женщин с невынашиванием беременности [3]. Хотя в другом исследовании было обнаружено, что уровень ММР-9 значительно выше у женщин с физиологической беременностью [4]. Кроме того, исследования показывают, что экспрессия ММР-9 может отсутствовать или быть слабой при преэклампсии [5].

Цель. Оценить уровень экспрессии и ММР-9 в плацентарной ткани у женщин с привычным невынашиванием беременности.

Методы исследования. Обследовано 49 женщин репродуктивного возраста. Основную группу составили 26 пациенток с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) и ранними репродуктивными потерями (до 12 недель беременности). Возраст испытуемых в этой группе составил от 25 до 39 лет, медиана (Me) – 31 год (Q25 – 28 лет, Q75 – 35 лет). Критериями включения в исследование были привычное невынашивание беременности, определяемое как три и более последовательных самопроизвольных

прерывания беременности до 22 недель гестации, а также отсутствие тяжелой соматической и гинекологической патологии.

Контрольную группу составили 23 женщины с тремя и более физиологическими родами в анамнезе. Акушерский анамнез женщин был благоприятный, без самопроизвольных выкидышей и других акушерских осложнений. Возраст женщин контрольной группы составлял от 22 до 39 лет, медиана (Me) – 35 лет, интерквартильный размах (Q25 – Q75) – от 31 до 39 лет.

Анализировался архивный материал (парафиновые блоки) последов и плацентарных площадок, полученных после самопроизвольного аборта или ранее замерших беременностей. В качестве контроля использовались образцы хориальной ткани, полученные при искусственном аборте.

Для определения генотипа полиморфных локусов гена MMP-9 Gln279Arg использовался метод полимеразной цепной реакции (real-time PCR) с применением реагентов от ООО «Синтол» (Россия).

Иммуногистохимическое исследование проводили по стандартной методике с использованием антител к MMP-9 (FNab05247, 1:200, FineTest) и Expose mouse and Rabbit Specific HRP/DAB Detection System (ab80436, Abcam) с определением положительных и отрицательных контрольных реакций. Срезы контрокрашивались гематоксилином Майера и заключались в монтирующую среду (Glassel-Synt). Для оценки степени окрашивания с антителами использовалась программа Aperio Image Scope, автоматически измеряющая интенсивность окраски продуктов реакции диаминобензидина (DAB). При оценке количества клеток в плаценте, экспрессирующих маркер, использовали ручной подсчет. Уровень экспрессии оценивали полуколичественным способом в баллах: 0 – отрицательная реакция, 1 балл – слабо выраженная, 2 балла – умеренно выраженная, 3 балла – резко выраженная реакция с исследуемыми антителами.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q). Результаты статистической обработки представлены в виде величины верхней (Q75) и нижней (Q25) квартилей и медианы (Me) в формате Me (Q25–Q75), частоты встречаемости – в долях % с указанием 95% доверительного интервала (ДИ). Для сравнения переменных использовались непараметрические критерии: Манна-Уитни (для двух независимых групп) и Краскела-Уоллиса (для трех и более независимых групп).

Результаты и их обсуждение. Данные о частоте генотипов и аллелей полиморфных вариантов Gln279Arg гена MMP-9 в тканях плаценты женщин основной и контрольной групп представлены в таблице 1.

Статистически значимой разницы в частоте гомозиготности по мутантному аллелю (генотип GG) полиморфизма Gln279Arg гена MMP-9 между женщинами с физиологической беременностью и женщинами с ПНБ не обнаружено ($p < 0,05$). Гетерозиготный генотип AG по данному полиморфному локусу встречался у 50,0 и 56,52 % женщин в основной и контрольной группах, соответственно, и был несколько чаще у женщин с физиологической беременностью в анамнезе. Частота гомозиготного полиморфизма AA по

аллелю дикого типа была выше у женщин с ПНБ (42,3%), чем в контрольной группе (34,8%).

Таблица 1 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизмов Gln279Arg гена MMP-9 в тканях плаценты у женщин с ПНБ и у женщин с физиологически протекающей беременностью

Генотип /Аллель	Частоты генотипов (аллелей), % (ДИ)	
	женщины с ПНБ	контрольная группа
AA	42,3 (26,23-58,37)	34,78 (27,63-41,93)
AG	50,0 (40,29-59,71)	56,52 (44,84-68,2)
GG	7,69 (4,93-10,45)	8,7 (6,99-10,41)
Аллель А	0,673	0,63
Аллель G	0,327	0,37

Уровень экспрессии MMP-9 в основной группе образцов статистически значимо не отличался от уровня экспрессии этой желатиназы в группе контроля.

Полуколичественные показатели интенсивности экспрессии металлопротеиназы 9-го типа в образцах плацентарной ткани, полученные из обеих групп, представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Интенсивность экспрессии металлопротеиназ 9-го типа в препаратах плацентарной ткани у женщин с ПНБ и контрольной группы (в баллах)

Группа	Уровень экспрессии в баллах, n (%)			
	0	1	2	3
Основная группа	4 (16,67)	15 (62,5)	5 (20,83)	0
Контрольная группа	5 (22,73)	6 (27,27)	6 (27,27)	5 (22,73)

При анализе степени экспрессии MMP-9 в образцах плацентарной ткани женщин основной группы слабая экспрессия (1 балл) этого маркера наблюдалась в большинстве случаев (62,5%), тогда как резко выраженная реакция с исследуемыми антителами не выявлена (3 балла); отрицательная реакция (0 баллов) и умеренно выраженная экспрессия (2 балла) MMP-9 в плаценте от женщин с ПНБ были выявлены в 16,67% и 20,83% соответственно. В контрольной группе показатели экспрессии MMP-9 были распределены почти равномерно: 22,73% (0 и 3 балла) и 27,27% (1 и 2 балла), соответственно.

Далее нами был проведен сравнительный анализ данных иммуногистохимического и молекулярно-биологического исследований в основной группе женщин. Результаты распределения частот генотипов анализируемого полиморфизма и аллелей в зависимости от степени экспрессии MMP-9 в плацентарной ткани в группе женщин с ПНБ представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Распределение частот генотипов и аллелей (%) полиморфизма Gln279Arg гена MMP-9 в зависимости от выраженности экспрессии MMP-9 в плаценте женщин с ПНБ

Генотип/аллель	Уровень экспрессии MMP-9 в баллах			
	0	1	2	3
A/A	22,22	55,56	22,22	0
A/G	15,38	69,23	15,38	0
G/G	0	50,0	50,0	0
Аллель А	18,18	63,64	18,18	0
Аллель G	13,33	66,67	20,0	0

В ходе исследования связи между интенсивностью иммуноэкспрессии MMP-9 с частотами и аллелями полиморфизма Gln279Arg гена MMP-9 в плацентарной ткани женщин с ПНБ не выявлено ($p < 0,05$).

Выводы. Характер экспрессии MMP-9 в плаценте женщин с ПНБ и физиологически протекающей беременностью статистически значимо не различался. Ассоциаций между интенсивностью иммуноэкспрессии матричной металлопротеиназы девятого типа и полиморфизмом Gln279Arg гена MMP-9 у женщин с ПНБ не обнаружено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Design and structural evolution of matrix metalloproteinase inhibitors / T. Fischer [et al.] // Chemistry. – 2019. – Vol. 25, № 34. – P. 7960–80. <https://doi.org/10.1002/chem.201805361>.
2. Matrix metalloproteinases improves trophoblast invasion and pregnancy potential in mice / S. Zhang [et al.] // Theriogenology. – 2020. – Vol. 151. – P. 144–150. doi: 10.1016/j.theriogenology.2020.02.002.
3. Circulating matrix metalloproteinase MMP-9 and MMP-2/TIMP-2 complex are associated with spontaneous early pregnancy failure / R. Nissi [et al.] // Reproductive Biology and Endocrinology. – 2013. – Vol. 15, № 11. – P. 2. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-2>.
4. Nikolov, A. Role of Gelatinases MMP-2 and MMP-9 in Healthy and Complicated Pregnancy and Their Future Potential as Preeclampsia Biomarkers / A. Nikolov, N. Popovski // Diagnostics. – 2021. – Vol. 11, № 3. – P. 480. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11030480>
5. Maryam, T. Abbas Role of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) concentration in the pathogenesis of preeclampsia / T. Abbas Maryam, Ali M. Mourad // Aca.Intl. J. Med. Sci. – 2022. – Vol. 1, № 1. – P. 32-58. <https://doi.org/10.56981/M0000115>.