

УДК 575.224.22:599.9

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ С РЕПРОДУКТИВНЫМИ ПОТЕРЯМИ В I ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ

© 2016 г. Е. В. Машкина, К. А. Коваленко, Т. А. Мараховская, К. Н. Сараев, А. А. Беланова, Т. П. Шкурат

Южный федеральный университет, кафедра генетики, Ростов-на-Дону 344090

e-mail: lenmash@mail.ru

Поступила в редакцию 02.10.2015 г.

В результате исследования определены частоты генотипов и аллелей по полиморфным вариантам генов-кандидатов, ассоциированных с повышением риска невынашивания беременности в первом триместре, в том числе – *1607insG* гена *MMP1*, *A-8202G* гена *MMP9*, *C536T* гена *TIMP1*. Установлено, что среди женщин с невынашиванием беременности в первом триместре в 2 раза увеличена доля гомозигот по аллелю *A-8202* гена *MMP9*. Выявлены значимые модели взаимодействия генов *MMPs*, *TIMP1*; определены генотипы по генам *MMP1* (rs1799750), *MMP9* (rs11697325), *TIMP1* (rs11551797), повышающие риск спонтанного прерывания беременности в первом триместре.

Ключевые слова: полиморфизм генов, металлопротеиназы, невынашивание беременности, межгенные взаимодействия.

DOI: 10.7868/S0016675816080087

Физиологическое течение беременности определяется активными процессами деления и дифференцировки клеток, согласованными в пространстве и во времени. Формирование и поддержание нормальной беременности зависит от сложного взаимодействия между клетками материнской части плаценты и клетками трофобласта, которые синтезируют регуляторные факторы, способствующие имплантации бластоцисты. Процесс инвазии включает в себя деградацию компонентов базальной мембраны и внеклеточного матрикса и миграцию через эродированные ткани стромы. Способность клеток трофобласта проникнуть в ткани стенки матки определяется активностью и балансом матриксных металлопротеиназ (ММР), их активаторов и ингибиторов [1–3].

Семейство ММР включает цинк-зависимые эндопептидазы, которые способны разрушать компоненты внеклеточного матрикса соединительной ткани, а также обеспечивать взаимодействие между клетками и их окружением [4]. Матриксная металлопротеиназа ММР1 является одной из наиболее распространенных металлопротеиназ. Интерстициальные коллагеназы типа ММР1 расщепляют тройную спираль фибриллярного коллагена, который затем разрушают желатиназы ММР2 и ММР9. Белок ММР1 локализуется в интралюминальном и интрамуральном цитотрофобласте.

Эти данные указывают на участие ММР1 экстраэмбриональных тканей в миграции клеток трофобласта в просвет спиральных артерий [5]. ММР1 способствует имплантации бластоцисты. Подтверждения такой роли ММР1 были получены Lian и соотр. [6], которые обнаружили, что снижение уровня ММР1 в децидуальной ткани сопровождает неполную инвазию трофобласта в спиральные артерии при внутриутробной задержке роста плода и гестозе. ММР1 участвует в ангиогенезе, а ингибирование ее функции ассоциировано с плацентарной недостаточностью [7].

Фермент, кодируемый геном *MMP9*, разрушает коллагены IV и V типа, фибронектин. ММР9 принимает участие в процессах воспаления, ремоделирования тканей и репарации, мобилизации матрикс-связанных факторов роста и процессинга цитокинов [8]. В эндометрии мРНК *MMP9* не детектируется, в том числе при беременности (по крайней мере, у *Bos taurus*) [9], но аналогично ММР1 белок ММР9 локализуется в интралюминальном и интрамуральном цитотрофобласте [5]. Ингибирование активности ММР9 предотвращает инвазию цитотрофобласта, нарушает кровообращение в системе мать–плацента–эмбрион и, как следствие, приводит к эмбриональной смертности [10, 11].

Активность металлопротеиназ подавляется тканевыми ингибиторами металлопротеиназ

(TIMP), которые характеризуются определенной избирательной специфичностью. Белок TIMP1 действует путем образования комплексов с металлопротеиназами (MMP2, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9 и др.) и необратимой инактивации их из-за связывания каталитического кофактора — цинка. Несмотря на то что TIMP изначально характеризуются как ингибиторы MMP, они обладают и другими видами биологической активности, в том числе способны влиять на клеточную пролиферацию, миграцию клеток, инвазию, процессы ангиогенеза и апоптоза [12].

В настоящее время различные виды самопроизвольного прерывания беременности рассматривают в качестве мультифакторных заболеваний, развитие которых может быть запущено комбинацией нескольких факторов [13, 14]. Большая часть этиологических факторов невынашивания беременности оказывает влияние на морфологические и функциональные свойства формирующейся плаценты, уровень пролиферации и апоптоза клеток [15]. Нарушение процессов гистологического и функционального развития эндометрия, процессов децидуализации, имплантации и плацентации характерно для большинства случаев спонтанного прерывания беременности в первом триместре [16–18]. В основе данных отклонений может быть нарушение процессов перестройки внеклеточного матрикса, что, в свою очередь, обусловлено особенностями генотипа клеток по генам *MMP* и *TIMP*. Данные литературы об ассоциации аллельных вариантов генов *MMP* и *TIMP* с репродуктивными потерями в первом триместре беременности немногочисленны и противоречивы. Целью данной работы было исследование ассоциации полиморфных вариантов генов металлопротеиназ — *1607insG* (rs1799750) *MMP1*, *A-8202G* (rs11697325) *MMP9*, *C536T* (rs11551797) *TIMP1* с невынашиванием беременности в I триместре.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для молекулярно-генетического исследования использовали образцы ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови 134 женщин с невынашиванием беременности в первом триместре (средний возраст 29.2 лет). Среди них — 69 женщин с неразвивающейся беременностью и 65 женщин со спонтанным абортom. В контрольную группу вошли 145 женщин (средний возраст 30.1 года) с физиологически протекающей беременностью, у которых в анамнезе отсутствовали спонтанный аборт и/или неразвивающаяся беременность. Все женщины подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Критериями исключения из исследования были ранее диагностированные артериальная гипертензия, диабет, заболевания щитовидной же-

лезы и аутоиммунная патология, а также инфекционные заболевания во время беременности. Кроме того были исключены женщины с аномалиями матки и синдромом поликистозных яичников (диагностированные трансвагинальной ультразвукографией). В сравниваемых группах отсутствовали женщины с экзогенными факторами риска — злоупотребление алкоголем, контакт с вредными факторами производства (электромагнитное излучение, шум, вибрация, химическое производство).

Для выделения ДНК использовали набор реагентов *DIAtom™ DNA Prep 100* (ООО “Центр молекулярной генетики”). Аллельные варианты — *1607insG* (rs1799750) гена *MMP1*, *A-8202G* (rs11697325) гена *MMP9*, *C536T* (rs11551797) гена *TIMP1* исследовали с использованием наборов реагентов SNP-экспресс (Литех, Москва). Анализ основан на проведении реакций амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Разделение продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 3%-ном агарозном геле. Анализ электрофореграмм проводили на трансиллюминаторе *GelDoc* (BioRad).

Соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга определяли с использованием *Hardy–Weinberg equilibrium calculator* в программе www.oege.org/software/Hardy-Weinberg [19]. Оценку различий в распределении аллельных вариантов генов в обследованных группах осуществляли по критерию χ^2 . О риске развития невынашивания беременности судили по отношению шансов (odds ratio — OR). OR указан с 95%-ным доверительным интервалом (CI) [20].

Для анализа взаимодействий генов-кандидатов использовали биоинформатический подход — *Multifactor Dimensionality Reduction* (программа *MDR*, v. 1.1.0 www.epistasis.org/mdr.html) для моделирования геномных взаимодействий высокого порядка.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту — *1607insG* гена *MMP1* представлены в табл. 1. Распределение частот генотипов и аллелей в лейкоцитах периферической крови по исследованному полиморфизму в обеих группах женщин соответствует равновесию Харди–Вайнберга. Среди женщин преобладают гетерозиготы по исследуемому полиморфизму. Доля гомозигот по inserции гуанина в промоторном участке гена *MMP1* составляет 29%. Частота аллеля — *1607insG* в контрольной группе составила 0.524. Среди женщин с невынашиванием беременности в первом триместре характер распределения частот генотипов и аллелей по полиморфизму — *1607insG* гена *MMP1* соответ-

Таблица 1. Частота аллелей и генотипов (абс. (%)) по полиморфному варианту –1607insG гена *MMP1* в клетках крови женщин с невынашиванием беременности

Генотип, аллель	Контроль	НБ	$\chi^2 (p)$
<i>G/G</i>	35 (24.1)	27 (20.1)	0.71 (0.7)
<i>G/GG</i>	68 (46.9)	68 (50.7)	
<i>GG/GG</i>	42 (29.0)	39 (29.1)	
Аллель –1607GG	0.524	0.545	0.24 (0.63)

Примечание. НБ – невынашивание беременности; χ^2 – сравнение частот генотипов и аллелей с контролем. *p* – уровень значимости (для табл. 1–3).

Таблица 2. Частота аллелей и генотипов (абс. (%)) по полиморфному варианту *A-8202G* гена *MMP9* в клетках крови женщин с невынашиванием беременности

Генотип, аллель	Контроль	НБ	OR (95% CI)	$\chi^2 (p)$
<i>AA-8202</i>	27 (18.6)	52 (38.8)	2.77 (1.61–4.77)	14.4 (0.0007)
<i>A-8202G</i>	83 (57.2)	54 (40.3)	0.5 (0.31–0.81)	
<i>–8202GG</i>	35 (24.1)	28 (20.9)	0.83 (0.47–1.46)	
Аллель –8202G	0.528	0.41	0.62 (0.45–0.87)	7.67 (0.006)

стует контрольной группе. Различий между двумя группами женщин не выявлено.

Результаты исследования частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту *A-8202G* гена *MMP9* представлены в табл. 2. Распределение частот генотипов и аллелей по исследованному полиморфизму в группах женщин соответствует равновесию Харди–Вайнберга. В контрольной группе преобладают гетерозиготы *A-8202G* по исследуемому полиморфизму – частота данного генотипа составила 57.2%. Частота аллеля –8202G в контрольной группе равна 0.528. Среди женщин с невынашиванием беременности в первом триместре в 2 раза увеличена доля гомозигот по аллелю *A-8202* гена *MMP9*. Для женщин с таким генотипом выявлено повышение относительного риска спонтанного прерывания беременности в 2.8 раза (табл. 2). Характер распределения частот генотипов среди женщин с потерей беременности в первом триместре статистически значимо отличается от такового для контрольной группы (табл. 2).

Частота аллеля –8202G среди женщин с невынашиванием беременности составила 0.41, что статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой женщин (табл. 2).

Исследование частот генотипов и аллелей по полиморфизму *C536T* гена *TIMP1* в клетках крови женщин показало, что исследуемый полиморфный вариант гена *TIMP1* выявляется в гетерозиготном состоянии в единичных случаях. Статистически значимых различий в частотах генотипов и аллелей по полиморфному варианту *C536T* гена *TIMP1* между исследуемыми группами женщин не выявлено (табл. 3).

Таблица 3. Частота аллелей и генотипов (абс. (%)) по полиморфному варианту *C536T* гена *TIMP1* в клетках крови женщин с невынашиванием беременности

Генотип, аллель	Контроль	НБ	$\chi^2 (p)$
<i>CC</i>	142 (97.9)	126 (94.0)	2.8 (0.25)
<i>CT</i>	3 (2.1)	8 (6.0)	
<i>TT</i>	0	0	
Аллель <i>536T</i>	0.01	0.03	2.74 (0.1)

При одновременном наличии полиморфных вариантов нескольких генов-кандидатов, продукты которых задействованы в выполнении общих функций, может произойти нарушение всего процесса за счет аддитивного эффекта, когда незначительные, но многочисленные изменения приводят к формированию нового фенотипа. В связи с этим проведен анализ межгенных взаимодействий с помощью алгоритма снижения размерности (Multifactor Dimensionality Reduction – MDR). Модель межгенных взаимодействий считали валидной, если ее согласованность (Cross Validation Consistency) была не меньше 9/10. Результаты анализа представлены в табл. 4. Выявлены значимые двух- и трехлокусные модели взаимодействия генов *MMPs* и *TIMP* при спонтанном прерывании беременности в первом триместре.

Как двухлокусная, так и трехлокусная модели взаимодействия генов *MMPs* и *TIMP* выявляют значимые для повышения риска невынашивания беременности генотипы (табл. 5).

Таблица 4. Анализ межгенных взаимодействий *MMPs* и *TIMP* при невынашивании беременности в первом триместре методом MDR

Значимая комбинация локусов в модели	Сбалансированная точность	Воспроизводимость	<i>p</i>
<i>MMP9</i> (rs11697325), <i>TIMP1</i> (rs11551797)	0.63	10/10	0.0001
<i>MMP1</i> (rs1799750), <i>MMP9</i> (rs11697325), <i>TIMP1</i> (rs11551797)	0.64	10/10	0.0001

Таблица 5. Генотипы по исследуемым аллельным вариантам генов *MMP*, *TIMP* с повышенным риском невынашивания беременности в первом триместре

Генотип	OR (95% CI)	<i>p</i>
<i>MMP9</i> (A/A), <i>TIMP1</i> (C/C)	3.69 (2.01–6.78)	<0.0001
<i>MMP1</i> (G/GG), <i>MMP9</i> (A/A), <i>TIMP1</i> (C/C)	2.49 (1.09–5.73)	0.029
<i>MMP1</i> (GG/GG), <i>MMP9</i> (A/A), <i>TIMP1</i> (C/C)	3.37 (1.28–8.82)	0.015

Таким образом, установлено, что гомозиготность по аллелю *A-8202* гена *MMP9* ассоциирована с повышением риска невынашивания беременности в первом триместре (OR 2.77, 95% CI 1.61–4.77) (табл. 2). Риск потери беременности возрастает, если женщина одновременно является гомозиготой по аллелю *C536* гена *TIMP1* (OR 3.69, 95% CI 2.01–6.78) (табл. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ

Нормально развивающаяся беременность сопровождается перестройкой тканей в материнском организме. Для эмбриона характерны еще более выраженные изменения структуры, включающие не только деление клеток и связанную с этим закладку тканей и органов, но и миграцию клеток, инвазию экстраэмбриональных тканей в материнские ткани, плацентацию. Все эти процессы требуют перестройки межклеточного пространства и клеточной структуры тканей, что, в свою очередь, обусловлено работой системы протеолитических ферментов – металлопротеиназ – и их ингибиторов [21, 22].

Концентрация *MMP* и их ингибиторов, а также уровень активности определяются аллельными вариантами кодирующих данные ферменты генов. Как повышение, так и снижение уровня экспрессии исследуемых генов могут приводить к развитию патологических состояний. Повышение уровня экспрессии *MMP1* выявлено в плодных оболочках при синдроме их преждевременного разрыва [23]. Wang и коллеги [24] обнаружили, что одним из вариантов полиморфизма, ассоциированных с этим синдромом, является SNP *T3447C*, причем минорный *C*-аллель всегда метилирован в фибробластах амниона *in vivo*, что обуславливает снижение экспрессии гена и пониженный риск преждевременно-

го разрыва оболочек плода. Повышение продукции *MMP1* обуславливается не только аллелем *T3447*, но и снижением уровня метилирования сайта –1538 регуляторной области *MMP1* [24].

Наличие дополнительного гуанина в промоторном участке –1607 гена *MMP1* создает сайт связывания для ETS семейства транскрипционных факторов, 5'-GGAT-3', что приводит к увеличению уровня транскрипции гена [25, 26]. Fujimoto и соавт. [27] обнаружили, что аллель –1607GG обуславливает гиперактивацию гена *MMP1* в амниотических мезенхимальных клетках, что ассоциировано с повышением риска преждевременного разрыва плодных оболочек. Это указывает на значимость фетального генотипа по исследуемому полиморфизму.

В нашем исследовании не выявлено ассоциации полиморфизма –1607G/GG гена *MMP1* с невынашиванием беременности. Подобные результаты получены и в других исследованиях. Peregza с коллегами [28] не выявили ассоциации полиморфизма –1607G/GG гена *MMP1* с идиопатическим привычным невынашиванием беременности. В то же время статистически значимые различия между данной группой женщин и контрольной группой были выявлены для генотипов –735CT гена *MMP2* и –1562CC гена *MMP9* [28].

Замена *C* на *T* в положении –1562 и повышение копийности микросателлита (*CA*)_{*n*} в регуляторной области приводят к повышению экспрессии гена *MMP9* [29]. Генотип по локусу –1562 гена *MMP9* определяет скорость деградации клеток трофобласта на ранних сроках беременности [30]. Peregza и коллеги [28] обнаружили, что полиморфизм *C-1562T* гена *MMP9* у женщин ассоциирован с идиопатическим привычным невынашиванием беременности, но в других исследованиях такой связи не обнаружено [28, 31]. В исследова-

ниях Gremlich и коллег [29, 32] ассоциации между этим полиморфизмом и развитием беременности после экстракорпорального оплодотворения или задержкой внутриутробного развития плода обнаружено не было. Установлена ассоциация некоторых аллельных вариантов гена *MMP9* с генитальным эндометриозом, для которого характерна инвазия брюшины клетками эндометрия [33].

В нашем исследовании установлена ассоциация аллеля *A-8202* гена *MMP9* с потерей беременности в первом триместре. Данных литературы о влиянии исследуемого нами полиморфизма *A-8202G* в 5'-нетранслируемой области гена *MMP9* на характер течения ранних стадий эмбрионального развития человека нет. Известно, что частота аллеля *-8202G* гена *MMP9* повышена среди лиц с аневризмой аорты и расслоением аорты [34]. Авторы предполагают, что наличие аллеля *-8202G* гена *MMP9* приводит к усилению экспрессии гена. В то же время Karasneh с соавт. [35] показали, что среди больных с рецидивирующим афтозным стоматитом повышена доля лиц, гомозиготных по аллелю *-8202A* гена *MMP9*. Эффекты SNP в некодирующих участках, способных содержать регуляторные элементы генома, могут быть обусловлены влиянием на процессы транскрипции, процессинг РНК, стабильность РНК, трансляцию. Детальные молекулярные механизмы влияния данного полиморфизма на уровень и активность *MMP9* не известны и требуют дальнейших исследований.

Помимо SNP собственно в генах *MMP* другим возможным механизмом влияния на уровень металлопротеиназ является изменение экспрессии генов тканевых ингибиторов металлопротеиназ. Дефицит *TIMP1* или синтез измененного варианта данной белковой молекулы может приводить к усилению протеолитических процессов в тканях за счет повышения активности *MMP*. Снижение экспрессии *TIMP1* ассоциировано с тяжелым гестозом [36], с синдромом преждевременного разрыва плодных оболочек [23].

К SNP, влияющим на уровень экспрессии гена *TIMP1*, относится полиморфизм *T-9830G*. При генотипе *TG* наблюдаются более высокие уровни *TIMP1* [37]. *GG*-генотип ассоциирован с пониженными уровнями *MMP9* и соотношения *MMP9/TIMP1* в плазме, по сравнению с *TT*-генотипом. *G*-аллель и *GG*-генотип ассоциированы с тяжелым гестозом [37, 38].

Pereza и соавт. [39] не было обнаружено ассоциации между полиморфизмом *TIMP1 C-372T* и идиопатическим привычным невынашиванием беременности в словенской популяции. Song и соавт. [40] не обнаружили ассоциации между полиморфизмом *TIMP1 rs4898* и идиопатическим привычным невынашиванием беременности у супружеских пар китайской популяции Хан.

Данных литературы о влиянии исследуемого нами полиморфизма *C536T* гена *TIMP1* на ранние стадии эмбрионального развития человека нет. Lose с коллегами [41] исследовали ассоциацию четырех аллельных вариантов гена *TIMP1* с риском развития астмы у жителей Австралии. Авторами было показано, что синонимичная замена *536C/T (Ile158Ile)* в гене *TIMP1* ассоциирована с повышенным риском развития бронхиальной астмы у женщин [41]. Было высказано предположение, что данный SNP может оказывать ингибирующий эффект на структурно-функциональные свойства сайта связывания *TIMP1* с *MMP9*. Van Diemen et al. [42] показали, что число гетерозигот *C536T* гена *TIMP1* увеличено среди лиц с хроническими легочными заболеваниями.

В нашей работе исследование полиморфизма *C536T (rs11551797)* *TIMP1* не выявило ассоциации с невынашиванием беременности в первом триместре. Однако анализ межгенных взаимодействий показал, что риск невынашивания беременности возрастает более чем в 3 раза при генотипе *MMP9 -8202AA/TIMP1 536CC*.

Повышение риска невынашивания беременности при сочетании данных аллелей в одном генотипе может быть обусловлено изменением активности системы протеолитических ферментов и их ингибиторов. Изменение уровня *MMP9* в тканях-мишенях, обусловленное полиморфными вариантами регуляторных участков гена, само по себе способно нарушать процессы инвазии и ангиогенеза. Эффект зависит и от эффективности ингибирования металлопротеиназы ферментом *TIMP1*.

С другой стороны, по данным литературы известно, что синтез металлопротеиназ может быть активирован интерлейкинами, трансформирующими ростовыми факторами (*EGF*, *HGF*, *TGFβ*) или фактором некроза опухолей (*TNFα*) [43]. Показано, что в цитотрофобласте активность *MMP9* связана с фактором роста эндотелия сосудов (*VEGF*) [38]. Также известно, что, например, *MMP9* является *TP53*-зависимой. Поэтому изменение активности гена может происходить из-за мутаций сайт-специфичных транскрипционных факторов *TP53* в регуляторной области *MMP9* [44].

Изменение экспрессии генов *MMPs* как на уровне мРНК, так и на уровне функционально активного белка приводит к нарушению процесса инвазии трофобласта. Большая часть ранних потерь беременности сопровождается анатомическим дефектом плацентации, который характеризуется тонким и фрагментированным трофобластом, нарушением инвазии цитотрофобласта в оболочку матки и неполным закрытием спиральных артерий, что приводит к преждевременному избыточному кровенаполнению развивающейся плаценты [16, 45]. Чрезмерное наполнение кро-

вью межворсинчатого пространства вызывает как прямое механическое воздействие на ворсинчатую ткань, так и кислород-зависимое повреждение трофобласта, которое сопровождается активацией апоптоза [18, 46]. В результате возможны нарушение функционирования синцитиотрофобласта и отслойка плаценты.

Таким образом, выявленные нами различия в частотах генотипов и аллелей по полиморфному локусу гена *MMP9* в группе женщин с невынашиванием беременности в первом триместре и в контрольной группе, а также данные, полученные MDR методом, свидетельствуют о значимом вкладе генов металлопротеиназ и их ингибиторов в формирование репродуктивных потерь у человека. Сочетание неблагоприятных аллельных вариантов генов *MMP9* и *TIMP1*, ассоциированное, вероятно, с измененной активностью данных ферментов, может нарушать эффективность процессов имплантации, ангиогенеза, плацентации. Специфическая экспрессия и местная активация MMPs в децидуа и во внеклеточном трофобласте являются одним из ключевых компонентов на ранних этапах беременности. Однако характер экспрессии генов *MMPs* и *TIMP*, особенно во взаимодействии с другими компонентами генной сети невынашивания беременности, требует дальнейших исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект 6.98.2014/К).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Anacker J., Segerer S., Hagemann C. et al. Human decidua and invasive trophoblasts are rich sources of nearly all human matrix metalloproteinases // *Mol. Hum. Reprod.* 2011. V. 17. P. 637–652. doi 10.1093/molehr/gar033
2. Estella C., Herrero I., Atkinson S.P. et al. Inhibition of histone deacetylase activity in human endometrial stromal cells promotes extracellular matrix remodelling and limits embryo invasion // *PLoS One.* 2012. V. 7. Is. 1. P. e30508. doi 10.1371/journal.pone.0030508
3. Halasz M., Polgar B., Berta G. et al. Progesterone-induced blocking factor differentially regulates trophoblast and tumor invasion by altering matrix metalloproteinase activity // *Cell Mol. Life Sci.* 2013. V. 70. Is. 23. P. 4617–4630. doi 10.1007/s00018-013-1404-3
4. Sternlicht M., Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior // *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 2001. V. 17. P. 463–516. doi 10.1146/annurev.cellbio.17.1.463
5. Blankenship T.N., Enders A.S. Trophoblast cell-mediated modifications to uterine spiral arteries during early gestation in the macaque // *Acta Anatomica.* 1997. V. 158. P. 227–236.
6. Lian I.A., Toft J.H., Olsen G.D. et al. Matrix metalloproteinase 1 in pre-eclampsia and fetal growth restriction: reduced gene expression in decidual tissue and protein expression in extravillous trophoblasts // *Placenta.* 2010. V. 31. № 7. P. 615–620. doi 10.1016/j.placenta.2010.04.003
7. Goyal R., Yellon S.M., Longo L.D., Mata-Greenwood E. Placental gene expression in a rat 'model' of placental insufficiency // *Placenta.* 2010. V. 31. № 7. P. 568–575. doi 10.1016/j.placenta.2010.05.004
8. Parks W., Wilson C., López-Boado Y. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity // *Nat. Rev. Immunol.* 2004. V. 4. P. 617–629. doi 10.1038/nri1418
9. Mishra B., Kizaki K., Koshi K. et al. Expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) and its related extracellular matrix degrading enzymes in the endometrium during estrous cycle and early gestation in cattle // *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2010. V. 8. P. 60. doi 10.1186/1477-7827-8-60
10. Yamamoto H., Flannery M., Kupriyanov S. et al. Defective trophoblast function in mice with a targeted mutation of *Ets2* // *Genes Dev.* 1998. V. 12. P. 1315–1326.
11. Dubois B., Arnold B., Opdenakker G. Gelatinase B deficiency impairs reproduction // *J. Clin. Invest.* 2000. V. 106. P. 627–628. doi 10.1172/JCI10910
12. Sbardella D., Fasciglione G., Gioia M. et al. Human matrix metalloproteinases: An ubiquitous class of enzymes involved in several pathological processes // *Mol. Asp. Med.* 2012. V. 33. P. 119–208. doi 10.1016/j.mam.2011.10.015
13. Rull K., Nagirnaja L., Laan M. Genetics of recurrent miscarriage: challenges, current knowledge, future directions // *Frontiers in Genetics.* 2012. V. 3. doi 10.3389/fgene.2012.00034
14. Vaiman D. Genetic regulation of recurrent spontaneous abortion in humans // *Biomed. J.* 2014. V. 37. doi 10.4103/2319-4170.133777
15. Qumsiyeh M.B., Kim K.R., Ahmed M.N., Bradford W. Cytogenetics and mechanisms of spontaneous abortions: increased apoptosis and decreased cell proliferation in chromosomally abnormal villi // *Cytogenet. Cell Genet.* 2000. V. 88. P. 230–235.
16. Jauniaux E., Zaidi J., Jurkovic D. et al. Comparison of color Doppler features and pathologic findings in complicated early pregnancy // *Hum. Reprod.* 1994. V. 9. P. 243–247.
17. Jauniaux E., Burton G. Pathophysiology of histological changes in early pregnancy loss // *Placenta.* 2005. V. 26. P. 114–123. doi 10.1016/j.placenta.2004.05.011
18. Jauniaux E., Poston L., Burton G. Placental-related diseases of pregnancy: involvement of oxidative stress and implications in human evolution // *Hum. Reprod.* 2006. V. 12. P. 747–755. doi 10.1093/humupd/dml016
19. Rodriguez S., Gaunt T., Day I. Hardy–Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies // *Am. J. Epidemiol.* 2009. doi 10.1093/aje/kwn359
20. Petrie A., Bulman J.S., Osborn J.F. Further statistics in dentistry. Part 8: systematic reviews and meta-analyses // *British Dental J.* 2003. V. 194. P. 73–78.
21. Bosc D.G., Goueli B.S., Janknecht R. HER2/Neu-mediated activation of the ETS transcription factor ER81 and its target gene MMP-1 // *Oncogene.* 2001. V. 20. № 43. P. 6215–6224.

22. *Shibahara H., Suzuki T., Kikuchi K. et al.* Serum matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase concentrations in infertile women achieved pregnancy following IVF-ET // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2005. V. 54. № 4. P. 186–192. doi 10.1111/j.1600-0897.2005.00297.x
23. *Айламазян Э.К., Болотских В.М., Костючек И.Н., Кветной И.М.* Особенности строения последа и экспрессии коллагена-6, матриксной металлопротеиназы-1 и ее ингибитора в плодных оболочках у беременных с преждевременным излитием околоплодных вод // *Архив патологии.* 2012. Т. 74. № 1. С. 42–45.
24. *Wang H., Ogawa M., Wood J.R. et al.* Genetic and epigenetic mechanisms combine to control MMP1 expression and its association with preterm premature rupture of membranes // *Hum. Mol. Genet.* 2008. V. 17. № 8. P. 1087–1096. doi 10.1093/hmg/ddm381
25. *Joos L., He J., Shepherdson M. et al.* The role of matrix metalloproteinase polymorphisms in the rate of decline in lung function // *Hum. Mol. Genet.* 2002. V. 11. P. 569–576. doi 10.1093/hmg/11.5.569
26. *Titeux M., Pendaries V., Tonasso L. et al.* A frequent functional SNP in the MMP1 promoter is associated with higher disease severity in recessive dystrophic epidermolysis bullosa // *Hum. Mutat.* 2008. V. 29. P. 267–276. doi 10.1002/humu.20647
27. *Fujimoto T., Parry S., Urbanek M. et al.* A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) promoter influences amnion cell MMP-1 expression and risk for preterm premature rupture of the fetal membranes // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. № 8. P. 6296–6302.
28. *Pereza N., Ostojić S., Volk M. et al.* Matrix metalloproteinases 1, 2, 3 and 9 functional single-nucleotide polymorphisms in idiopathic recurrent spontaneous abortion // *Reprod. Biomed. Online.* 2012. V. 24. № 5. P. 567–575. doi 10.1016/j.rbmo.2012.01.008
29. *Gremlich S., Nguyen D., Reymondin D. et al.* Fetal MMP2/MMP9 polymorphisms and intrauterine growth restriction risk // *J. Reprod. Immunol.* 2007. V. 74. № 1–2. P. 143–151. doi 10.1016/j.jri.2007.02.001
30. *Coolman M., de Maat M., Van Heerde W.L. et al.* Matrix metalloproteinase-9 gene –1562C/T polymorphism mitigates preeclampsia // *Placenta.* 2007. V. 28. № 7. P. 709–713. doi 10.1016/j.placenta.2006.06.017
31. *Singh K., Nair R., Khanna A.* Functional SNP –1562C/T in the promoter region of *MMP9* and recurrent early pregnancy loss // *Reprod. Biomed. Online.* 2012. V. 24. № 1. P. 61–65. doi 10.1016/j.rbmo.2011.09.007
32. *Gremlich S., Fratta S., Rebellato E. et al.* Interleukin-1 receptor antagonist gene (IL-1RN) polymorphism is a predictive factor of clinical pregnancy after IVF // *Hum. Reprod.* 2008. V. 23. № 5. P. 1200–1206. doi 10.1093/humrep/den034
33. *Ярмолинская М.И., Молотков А.С., Беженарь В.Ф. и др.* Ассоциация полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ *MMP3* и *MMP9* с развитием генитального эндометриоза // *Генетика.* 2014. Т. 50. № 2. С. 230–235. doi 10.7868/S0016675814010123
34. *Chen L., Wang X., Carter S. et al.* A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase 9 gene (–8202A/G) is associated with thoracic aortic aneurysms and thoracic aortic dissection // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2006. V. 131. P. 1045–1052. doi 10.1016/j.jtcvs.2006.01.003
35. *Karasneh J., Bani-Hani M., Alkhateeb A. et al.* Association of MMP but not TIMP-1 gene polymorphisms with recurrent aphthous stomatitis // *Oral. Dis.* 2014. V. 20. P. 693–699. doi 10.1111/odi.12190
36. *Mousa A., Cappello R., Estrada-Gutierrez G. et al.* Preeclampsia is associated with alterations in DNA methylation of genes involved in collagen metabolism // *Am. J. Pathol.* 2012. V. 181. № 4. P. 1455–1463. doi 10.1016/j.ajpath.2012.06.019
37. *Luizon M., Palei A., Sandrim V. et al.* Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 polymorphism, plasma TIMP-1 levels, and antihypertensive therapy responsiveness in hypertensive disorders of pregnancy // *Pharmacogenomics J.* 2014. V. 14. № 6. P. 535–541. doi 10.1038/tpj.2014.26
38. *Luizon M., Sandrim V., Palei A. et al.* Epistasis among eNOS, MMP-9 and VEGF maternal genotypes in hypertensive disorders of pregnancy // *Hypertens Res.* 2012. V. 35. P. 917–921. doi 10.1038/hr.2012.60
39. *Pereza N., Volk M., Zrakić N. et al.* Genetic variation in tissue inhibitors of metalloproteinases as a risk factor for idiopathic recurrent spontaneous abortion // *Fertil. Steril.* 2013. V. 99. P. 1923–1929. doi 10.1016/j.fertnstert.2013.02.018
40. *Song G., Yan J., Zhang Q. et al.* Association of tissue inhibitor of metalloproteinase gene polymorphisms and unexplained recurrent spontaneous abortions in Han Chinese couples // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2014. V. 181. P. 84–88. doi 10.1016/j.ejogrb.2014.07.013
41. *Lose F., Thompson P., Duffy D. et al.* A novel tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) polymorphism associated with asthma in Australian women // *Thorax.* 2005. V. 60. P. 623–628. doi 10.1136/thx.2004.026930
42. *Van Diemen C., Postma D., Siedlinski M. et al.* Genetic variation in TIMP1 but not MMPs predict excess FEV1 decline in two general population-based cohorts // *Respir Res.* 2011. V. 12. doi 10.1186/1465-9921-12-57
43. *Bhupinder S.* Matrix metalloproteinases – an overview // *Res. Rep. Biol.* 2010. V. 1. P. 1–20.
44. *Cohen M., Wuillemin C., Irion O., Bischof P.* Regulation of MMP-9 by p53 in first trimester cytotrophoblastic cells // *Hum. Reprod.* 2008. V. 23. № 10. P. 2273–2281. doi 10.1093/humrep/den264
45. *Hustin J., Jauniaux E., Schaaps J.P.* Histological study of the materno–embryonic interface in spontaneous abortion // *Placenta.* 1990. V. 11. P. 477–486.
46. *Kokawa K., Shikone T., Nakano R.* Apoptosis in human chorionic villi and decidua during normal embryonic development and spontaneous abortion in the first trimester // *Placenta.* 1998. V. 19. P. 21–26. doi 10.1016/S0143-4004(98)90094-7

Association of Gene Polymorphisms of Matrix Metalloproteinases with Reproductive Losses in the First Trimester of Pregnancy

E. V. Mashkina, K. A. Kovalenko, T. A. Marakhovskaya,
K. N. Saraev, A. A. Belanova, and T. P. Shkurat

Department of Genetics, Southern Federal University, Rostov-on-Don, 344090 Russia

e-mail: lenmash@mail.ru

Abstract—In the present study, the frequencies of genotypes and alleles of candidate genes with respect to polymorphisms associated with increased pregnancy loss in the first trimester of pregnancy, including *MMP1*–1607insG, *MMP9* A–8202G, and *TIMP1* C536T, were reported. The frequency of homozygotes for allele *MMP9* A–8202 was increased by a factor of two among women with miscarriage in the first trimester compared to the control. Significant models of interaction of genes *MMPs* and *TIMP1* were revealed. The genotypes of genes *MMP1* (rs1799750), *MMP9* (rs11697325), and *TIMP1* (rs11551797) increasing the risk of pregnancy loss in the first trimester were determined. English translation of the paper published in Russian Journal of Genetics, 2016, Vol. 52, No. 8, is available ONLINE by subscription from: <http://www.springer.com/>, <http://link.springer.com>.

Keywords: gene polymorphism, metalloproteinase, pregnancy loss, interaction of genes.