

# Особенности гемодинамики матки у пациенток с полиморфизмом гена MMP2

Т.Е. Филипенкова<sup>✉1</sup>, Л.Н. Щербакова<sup>1,2</sup>, А.В. Балацкий<sup>2,3</sup>, Л.М. Самоходская<sup>2</sup>, О.Б. Панина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБУ «Федеральный центра мозга и нейротехнологий» ФМБА России, Москва, Россия

## Аннотация

Цель. Изучить влияние аллельного полиморфизма гена MMP2 на перфузию матки у пациенток, планирующих беременность.

Материалы и методы. Обследовали 95 женщин, планирующих беременность. Проведены клинико-лабораторное обследование, анализ однонуклеотидных полиморфизмов rs2285052(-955A/C) и rs243865(-1306C/T) гена MMP2, ультразвуковое исследование на 18–25-й день менструального цикла с оценкой пульсационного индекса кровотока сосудов матки и качественной оценкой перфузии эндометрия и субэндометриальной зоны. В зависимости от выявленного генотипа пациенток разделили на 3 группы: 1-я – носительницы гаплотипа rs2285052(A)rs243865(T), 2-я – с rs2285052(A)rs243865(C) и 3-я – контрольная группа с генотипом rs2285052(C/C)rs243865(C/C).

Результаты. Снижение перфузии в субэндометриальной зоне выявили у 40,6, 44,4, 19,4% пациенток в 1, 2 и 3-й группах соответственно; в эндометрии – у 68,8, 55,6 и 36,1% обследованных в этих же группах. Отсутствие визуализации спиральных артерий – у 28,1, 14,8 и 11,1% пациенток в 1, 2 и 3-й группах соответственно. Не обнаружено статистических различий пульсационного индекса кровотока сосудов матки в зависимости от генотипа.

Заключение. У пациенток с носительством аллелей А rs2285052 и Т rs243865 гена MMP2 статистически значимо чаще выявлялись качественные нарушения кровотока на уровне мелких сосудов, выражавшиеся в обеднении сосудистого рисунка эндометрия и субэндометриальной зоны, что может приводить к отсутствию наступления беременности. Эти ассоциации сильнее выражены для полиморфизма rs2285052. Одновременное определение полиморфизмов rs2285052 и rs243865 не дает дополнительной информации по сравнению с определением только rs2285052.

**Ключевые слова:** однонуклеотидный аллельный полиморфизм, гаплотип, матриксная металлопротеиназа 2, доплерометрия, маточные артерии

**Для цитирования:** Филипенкова Т.Е., Щербакова Л.Н., Балацкий А.В., Самоходская Л.М., Панина О.Б. Особенности гемодинамики матки у пациенток с полиморфизмом гена MMP2. Гинекология. 2021; 23 (5): 413–420. DOI: 10.26442/20795696.2021.5.201056

ORIGINAL ARTICLE

## Uterine perfusion in patients with MMP2 gene polymorphisms

Tatiana E. Filipenkova<sup>✉1</sup>, Liia N. Shcherbakova<sup>1,2</sup>, Aleksandr V. Balatskiy<sup>2,3</sup>, Larisa M. Samokhodskaya<sup>2</sup>, Olga B. Panina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Family Planning and Reproduction Center, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies, Moscow, Russia

## Информация об авторах / Information about the authors

✉ **Филипенкова Татьяна Евгеньевна** – врач ультразвуковой диагностики ГБУЗ ЦПСиР. E-mail: arvensa@list.ru; ORCID: 0000-0003-1443-8671

✉ **Tatiana E. Filipenkova** – ultrasound doctor, Family Planning and Reproduction Center. E-mail: arvensa@list.ru; ORCID: 0000-0003-1443-8671

**Щербакова Лия Ниязовна** – д-р мед. наук, врач – акушер-гинеколог ГБУЗ ЦПСиР, доц. каф. акушерства и гинекологии фак-та фундаментальной медицины, ст. науч. сотр. Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова». E-mail: liya.fbm@gmail.com; ORCID: 0000-0003-2681-4777

**Liia N. Shcherbakova** – D. Sci. (Med.), Family Planning and Reproduction Center, Lomonosov Moscow State University. E-mail: liya.fbm@gmail.com; ORCID: 0000-0003-2681-4777

**Балацкий Александр Владимирович** – канд. мед. наук, врач клинико-лабораторной диагностики клинико-диагностической лаборатории Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», ст. науч. сотр. лаб. нейротехнологий ФГБУ ФЦМН. E-mail: balatsky@fbm.msu.ru; ORCID: 0000-0002-6694-2231

**Aleksandr V. Balatskiy** – Cand. Sci. (Med.), Lomonosov Moscow State University, Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies. E-mail: balatsky@fbm.msu.ru; ORCID: 0000-0002-6694-2231

**Самоходская Лариса Михайловна** – канд. мед. наук, доц., зав. отд. лабораторной диагностики Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова». E-mail: slm61@mail.ru; ORCID: 0000-0001-6734-3989

**Larisa M. Samokhodskaya** – Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Lomonosov Moscow State University. E-mail: slm61@mail.ru; ORCID: 0000-0001-6734-3989

**Панина Ольга Борисовна** – д-р мед. наук, проф. каф. акушерства и гинекологии фак-та фундаментальной медицины, зав. отд. гинекологии и репродуктивной медицины Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова». E-mail: olgapanina@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-1397-6208

**Olga B. Panina** – D. Sci. (Med.), Lomonosov Moscow State University. E-mail: olgapanina@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-1397-6208

## Abstract

**Aim.** To investigate the effect of allelic polymorphisms of the MMP2 gene on uterine perfusion in patients planning pregnancy.

**Materials and methods.** 95 women planning pregnancy were examined. The patients underwent clinical and laboratory examination, analysis of single nucleotide polymorphisms rs2285052 and rs243865 of the MMP2 gene, ultrasound examination on days 18–25 of the menstrual cycle with an assessment of the pulsatility index of blood flow of the uterine vessels and a qualitative assessment of endometrial and subendometrial perfusion. Depending on the genotype, the patients were divided into 3 groups: first – with haplotype rs2285052(A)rs243865(T), second – with haplotype rs2285052(A)rs243865(C), and a third control group with rs2285052(C/C)rs243865(C/C) genotype.

**Results.** Decreased perfusion in the subendometrial zone was found in 40.6, 44.4 and 19.4% of patients in the 1, 2 and 3 groups, respectively; decreased perfusion of endometrium – in 68.8, 55.6 and 36.1% of patients in the 1, 2 and 3 groups, respectively. Spiral arteries were not visualized in 28.1, 14.8 and 11.1% of patients in the 1, 2 and 3 groups, respectively. No statistical differences were found in the pulsatility index of uterine blood flow depending on the genotype.

**Conclusion.** In patients with the A rs2285052 and T rs243865 alleles of the MMP2 gene poor vascular patterns of the endometrium and subendometrial zone of the uterus were statistically significantly more frequent, which can lead to infertility. These associations are more pronounced for the rs2285052 polymorphism. The simultaneous determination of the rs2285052 and rs243865 polymorphisms does not provide additional information compared to the definition of rs2285052 alone.

**Keywords:** single nucleotide polymorphism, haplotypes, matrix metalloproteinase 2, doppler ultrasonography, uterine artery

**For citation:** Filipenkova TE, Shcherbakova LN, Balatskiy AV, Samokhodskaya LM, Panina OB. Uterine perfusion in patients with MMP2 gene polymorphisms. *Gynecology*. 2021; 23 (5): 413–420. DOI: 10.26442/20795696.2021.5.201056

## Введение

Адекватное кровоснабжение матки является необходимым фактором наступления и вынашивания беременности. К настоящему времени многочисленные исследования показали, что снижение перфузии эндометрия и субэндометриальной зоны ассоциировано с уменьшением частоты наступления беременности (ЧНБ) [1–3].

Одним из факторов, воздействующих на перфузию эндометрия и субэндометриальной зоны, а также влияющих на наступление и вынашивание беременности, является матриксная металлопротеиназа 2 (MMP2). MMP2 расщепляет коллаген IV типа эндометрия – основной компонент базальных мембран [4]. MMP2 воздействует на ангиогенез посредством деградации базальных мембран, а также может ингибировать ангиогенез путем превращения плазминогена в ангиостатин, который угнетает пролиферацию и усиливает апоптоз клеток эндотелия [5]. MMP2 также регулирует агрегацию тромбоцитов [6]. Считается, что в ранние сроки беременности MMP2 является ключевым ферментом инвазии трофобласта [7]. Воздействие MMP2 увеличивает миграционную способность клеток трофобласта и влияет на вынашивание беременности [4, 8].

На работу фермента MMP2 в свою очередь влияют в том числе изменения в структуре гена MMP2. Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) rs243865(-1306C/T) и rs2285052(-955A/C) локализованы в промоторной области гена MMP2. Т-аллель rs243865(-1306C/T) может значительно снижать уровень транскрипции MMP2 по сравнению с генотипом С/С [9]. Возможным механизмом, объясняющим более высокую промоторную активность С-варианта rs243865, служит то, что фактор транскрипции SP1 связывается с ДНК в области полиморфного локуса с С-аллелем и не соединяется при наличии аллеля Т [9]. Полиморфизм rs2285052(-955A/C) может влиять на промоторную активность [10], однако механизм действия на данный момент остается неизученным.

В опубликованной ранее работе авторы установили, что SNP rs2285052(-955A/C) и rs243865(-1306C/T) гена MMP2 ассоциированы с риском бесплодия: наличие аллелей А rs2285052 и Т rs243865 гена MMP2 связаны с повышенным риском бесплодия [11]. В китайской популяции С/Т-генотип и Т-аллель rs243865 значимо повышали риск невынашивания беременности [12]. В. Borghese и соавт. отметили ассоциацию вариантов rs243865 с эндометриозом преимущественно глубокой инфильтративной формы [13].

В настоящем исследовании впервые предпринята попытка выяснить, каким образом наличие SNP гена MMP2 (по-видимому, изменяющих экспрессию данной протеазы)

влияет на перфузию матки у пациенток, планирующих беременность.

**Цель исследования** – изучение влияния аллельного полиморфизма гена MMP2 на перфузию матки у пациенток, планирующих беременность.

## Материалы и методы

Работа проводилась на кафедре акушерства и гинекологии факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова. Клинический материал получили у пациенток ГБУЗ ЦПСиР.

В проспективное исследование включили 95 женщин, планирующих беременность. Всем пациенткам провели клинико-лабораторное обследование, ультразвуковое исследование (УЗИ) выполнялось на 5–8-й день менструального цикла и на 5–8-й день после произошедшей овуляции, что соответствовало 18–25-му дню менструального цикла, осуществлялся забор венозной крови с последующим извлечением ДНК. Спустя 6–18 мес после обследования проводился опрос пациенток на тему наступления беременности.

**Критерии включения** в исследование: возраст от 18 до 42 лет, регулярный менструальный цикл с наличием овуляции, существование активной половой жизни без использования методов контрацепции в течение 6 мес после обследования, нормальная спермограмма у постоянного партнера пациентки, подписанная форма информированного согласия.

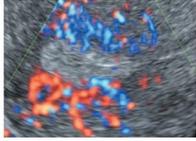
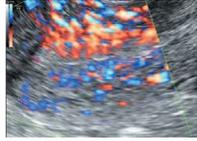
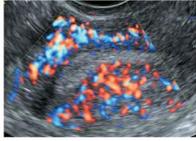
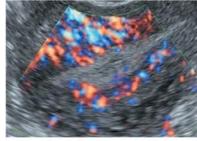
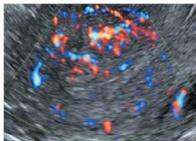
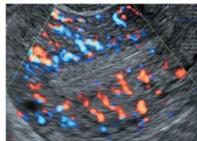
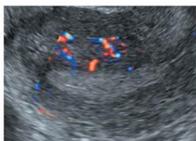
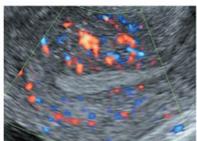
**Исключили** женщин с выявленными причинами бесплодия: крупными миоматозными/аденомиозными узлами (больше 2,5 см в диаметре) или узлами с субмукозной локализацией, патологией эндометрия, непроходимостью маточных труб, тяжелыми соматическими заболеваниями, пороками развития половых органов и т.д.

**Эхографическое исследование** органов малого таза осуществляли с помощью ультразвукового аппарата Voluson E6 (GE) с трансвагинальным датчиком RIC5-9D (3,7–9,3 МГц). Оценка гемодинамики сосудов матки проводилась на 5–8-й день после овуляции (18–25-й день менструального цикла) и включала в себя цветное доплеровское картирование и спектральную доплерометрию. Осуществлялась визуализация маточных, радиальных, базальных, спиральных артерий (СА) с оценкой пульсационного индекса (PI) кровотока в исследуемых сосудах.

Качественная оценка перфузии проводилась отдельно для эндометрия и субэндометриальной зоны. По интенсивности перфузии авторы статьи разделяли интенсивную (0–1 балл) и сниженную перфузию (2–3 балла) по критериям, указанным в табл. 1.

**Генотипирование** по SNP rs2285052 и rs243865 гена MMP2 осуществлялось методом полимеразной цепной ре-

**Таблица 1. Качественная оценка интенсивности перфузии эндометрия и субэндометриальной зоны**  
**Table 1. Qualitative assessment of the intensity of endometrial and subendometrial perfusion**

Баллы	Перфузия субэндометриальной зоны	Перфузия эндометрия
<b>Интенсивная перфузия</b>		
0	 Равномерная и интенсивная перфузия субэндометриальной зоны	 Равномерная и интенсивная перфузии, часть сосудов визуализируется у срединной линии
1	 Неравномерная перфузия субэндометрия с небольшими или значительными аваскулярными участками	 Неравномерная перфузия эндометрия с небольшими или значительными аваскулярными участками
<b>Сниженная перфузия</b>		
2	 Неравномерная перфузия зоны, прилежащей к эндометрию, со значительными аваскулярными участками	 Визуализация единичных СА
3	 Отсутствие визуализации сосудов в субэндометриальной зоне или визуализация единичных сосудов	 Отсутствие визуализации СА

акции в реальном времени наборами компании «ДНК-Технология» согласно рекомендации производителя.

Генотип – совокупность генов данного организма. Также генотипом называют комбинацию аллелей конкретного гена или локуса. Гаплотип – совокупность аллелей на локусах одной хромосомы, обычно наследуемых вместе. Генотип определенных генов человека состоит из двух гаплотипов, расположенных на двух хромосомах, полученных от матери и отца соответственно. Как правило, каждый гаплотип встречается в популяции с частотой, которую можно ожидать на основе частот аллелей в локусах, создающих этот гаплотип. Вместе с тем в случае близко расположенных локусов (расстояние менее 10 тыс. пар нуклеотидов) SNP часто наследуются вместе сцепленно, и гаплотипы имеют частоту, отличающуюся от статистически ожидаемой на основе частот аллелей [14].

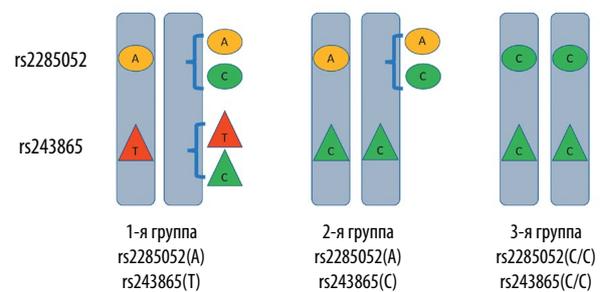
Большинство существующих исследований анализирует связь между наличием заболевания и несколькими конкретными однонуклеотидными полиморфизмами. Одним из современных подходов выявления генетических предикторов многофакторного заболевания является анализ не одного локуса, а области генов-кандидатов, обнаружение связанных с болезнью гаплотипов и их SNP [14, 15]. Эффекты

**Таблица 2. Распределение пациенток по группам в зависимости от гаплотипов rs2285052 и rs243865 гена MMP2**  
**Table 2. The patients were divided into 3 groups depending on the haplotypes rs2285052 and rs243865 of the MMP2 gene**

	1-я группа rs2285052(A) rs243865(T)		2-я группа rs2285052(A) rs243865(C)		3-я группа rs2285052(C/C) rs243865(C/C)
rs2285052	A/A	A/C	A/A	A/C	C/C
rs243865	T/T	C/T	C/C	C/C	C/C
Пациентки	2	8	22	4	23
Всего пациенток	32		27		36

**Рис. 1. Распределение пациенток по группам в зависимости от гаплотипов rs2285052 и rs243865 гена MMP2.**

**Fig. 1. The patients were divided into 3 groups depending on the haplotypes rs2285052 and rs243865 of the MMP2 gene.**



отдельных маркеров могут быть невелики и соединены не с самим изучаемым маркером, а со сцепленным с ним функционально значимым вариантом (мутацией или полиморфизмом). В силу этого анализ ассоциаций на уровне гаплотипов может оказаться более мощным и информативным средством, чем изучение отдельных однонуклеотидных полиморфизмов. Кроме того, обнаружены блоки сцепленных генов, которые обычно распространяются на протяженные участки хромосомы, и, предположительно, тестирования одного SNP в каждом блоке на предмет ассоциации с заболеванием может быть достаточно, чтобы указать на связь с каждым SNP в этом блоке, что позволяет уменьшить количество тестируемых SNP [14].

В опубликованном ранее исследовании авторы статьи обнаружили ассоциацию аллеля A rs2285052 и аллеля T rs243865 гена MMP2 с наличием женского бесплодия [11].

SNP rs2285052 и rs243865 находятся в гене MMP2 и могут наследоваться совместно, т.е. быть неравновесно сцеплены. Уровень неравновесности сцепления для двух аллелей A и B рассчитывается как  $D = p_{AB} - p_{A}p_{B}$ , где  $p_{AB}$  – наблюдаемая частота совместной встречаемости аллелей, а  $p_{A}p_{B}$  – теоретическая частота совместной встречаемости аллелей, являющаяся произведением их частот. При  $D \neq 0$  можно говорить о неравновесном сцеплении аллелей. Однако D зависит от частот аллелей и не позволяет оценить меру неравновесности сцепления, поэтому также применяется параметр  $D'$ , являющийся отношением наблюдаемого D к максимальному теоретически возможному [16]. Соответственно, чем ближе модуль данного параметра к 1, тем больше мера неравновесности сцепления.  $|D'|=1$  можно охарактеризовать как полное неравновесное сцепление, при котором ассоциация аллелей настолько сильна, насколько это возможно, учитывая часто-

**Таблица 3. Клиническая характеристика пациенток из исследуемых групп****Table 3. Clinical characteristics of patients in study groups**

	1-я группа rs2285052(A) rs243865(T)	2-я группа rs2285052(A) rs243865(C)	3-я группа (контрольная) rs2285052(C/C) rs243865(C/C)
Возраст, лет	32,00 (29,25; 35,00)	32,00 (30,00; 34,00)	32,00 (28,00; 35,75)
<i>Акушерский анамнез, %</i>			
Бесплодие	34,4	37,0	33,4
Привычное невынашивание беременности	31,3	44,4	36,1
Имевшие беременность	75,0	82,2	69,4
Наличие родов в анамнезе	34,4	48,1	33,3
Своевременные роды здоровым ребенком	21,9	25,9	22,2
Преждевременные роды	15,6	18,5	8,3
Пре- и интранатальная гибель плода	9,4	11,1	0,0
Постнатальная гибель новорожденного	12,5	7,4	11,1
Задержка роста плода	15,6	7,4	5,6
<i>Гинекологический анамнез, %</i>			
Одно и более выскабливаний полости матки	71,9	74,1	55,6
Урогенитальные инфекции	18,8	18,5	13,9

**Таблица 4. Значение PI кровотока в сосудах матки****Table 4. The pulsatility index of the uterine vessels**

Значение PI	1-я группа rs2285052(A) rs243865(T)	2-я группа rs2285052(A) rs243865(C)	3-я группа (контрольная) rs2285052(C/C) rs243865(C/C)	p
Маточные артерии	2,54±0,76	2,44±0,53	2,39±0,61	>0,05
Радиальные артерии	1,18 (1,02; 1,50)	1,07 (0,92; 1,30)	1,16 (0,98; 1,37)	>0,05
Базальные артерии	0,80±0,17	0,80±0,19	0,82±0,17	>0,05
СА	0,74±0,17	0,70±0,15	0,70±0,17	>0,05

ты аллелей в двух локусах. В настоящей работе D=0,1101, а D'=0,9993, что говорит о сильном неравновесном сцеплении аллелей. В выборке авторов вариант rs243865(T) встречался только у носительниц rs2285052(A) и не обнаружен при rs2285052(C/C). По этой причине для анализа использовались гаплотипы, а не отдельные генотипы.

В зависимости от выявленного гаплотипа пациенток сформировали в 3 группы (табл. 2, рис. 1).

- В 1-ю группу вошли 32 человека с наличием гаплотипа rs2285052(A)rs243865(T). При этом оба минорных аллеля, включенных в генотип rs2285052(A/A)rs243865(T/T), обнаружили в 2 наблюдениях.
- Во 2-ю группу включили 27 женщин с гаплотипом rs2285052(A)rs243865(C).
- В 3-ю группу (контрольную) вошли 36 пациенток с генотипом rs2285052(C/C)rs243865(C/C).

Гаплотип rs2285052(C)rs243865(C) был наиболее частым, а гаплотип rs2285052(C)rs243865(T) не встречался в исследованной выборке, поэтому при анализе данных проводилось сравнение носительниц гаплотипа rs2285052(C)rs243865(C)

с другими пациентками. Также сопоставлялись между собой группы носительниц гаплотипов rs2285052(A)rs243865(C) и rs2285052(A)rs243865(T) для того, чтобы определить, дает ли исследование полиморфизма rs243865 какую-либо дополнительную информацию.

Статистический анализ проводился с помощью программ IBM SPSS Statistics 27.0 и SNPStats [17]. Количественные непрерывные переменные проверялись на нормальное распределение при помощи критерия Колмогорова–Смирнова. Результаты представлялись как среднее ± стандартное отклонение в случае нормального распределения и как медиана (интерквартильный размах) в случае отклонения распределения от нормального. При сравнении групп использовали однофакторный дисперсионный анализ и критерий Краскела–Уоллиса. Категориальные переменные оценивали при помощи критериев  $\chi^2$ ,  $\chi^2$  с поправкой Йетса, Фишера. Статистически значимыми считали результаты при  $p < 0,05$ . В работе также представлены отношения шансов (ОШ) возникновения тех или иных признаков и 95% доверительный интервал (ДИ). ОШ является статистически значимым, если 95% ДИ не включает 1.

## Результаты

Клиническая характеристика пациенток представлена в табл. 3. Статистически значимых различий между подгруппами по всем изученным параметрам не обнаружили ( $p > 0,05$ ).

Следует отметить, что пре- и интранатальная гибель плода в анамнезе встречались в выборке авторов только у пациенток с носительством минорных аллелей (1 и 2-я группы).

При проведении УЗИ группы статистически значимо не различались по толщине М-Эхо (толщина эндометрия). В 1-й группе среднее значение М-Эхо составило 8,10 ( $\pm 1,90$ ), 2-й – 8,47 ( $\pm 2,27$ ), 3-й – 8,50 ( $\pm 1,83$ );  $p > 0,05$ .

Среднее значение PI сосудов матки представлено в табл. 4, статистических различий PI кровотока на всех уровнях не обнаружили ( $p > 0,05$ ). Для оценки кровотока в маточных артериях использовалось среднее значение PI в правой и левой маточных артериях, количественная оценка кровотока в СА приведена для 78 (82,10%) пациенток, у которых они визуализировались.

Качественные нарушения перфузии в эндометрии и субэндометриальной зоне чаще встречались у пациенток с носительством минорных аллелей (табл. 5).

В 1-й группе по сравнению с 3-й значимо чаще выявлено снижение кровотока в эндометрии (2–3 балла);  $p = 0,014$ , отсутствие беременности ( $p = 0,029$ ) и отмечалась меньшая частота родов ( $p = 0,010$ ). При использовании критериев  $\chi^2$  и Фишера по остальным параметрам 1, 2 и 3-я группы статистически не различались ( $p > 0,05$ ).

В 1, 2 и 3-й группах отмечалось снижение васкуляризации субэндометриальной зоны у 40,6, 44,4 и 19,4% пациенток соответственно и эндометрия – у 68,8, 55,6 и 36,1% женщин. СА не визуализировались при проведении УЗИ у 28,1, 14,8 и 11,1% обследованных пропорционально данным группам.

ЧНБ через 6 мес после обследования составила 34,4, 48,1 и 63,9% согласно 1, 2 и 3-й группам, а частота репродуктивных потерь в I триместре – 12,5, 11,1 и 8,33% относительно указанных групп.

Авторы решили выяснить связь каждого SNP с частотой возникновения нарушения перфузии и ЧНБ (табл. 6).

У пациенток с носительством аллеля А по rs2285052 (1 и 2-я группы) по сравнению с носительницами аллеля С (3-я группа) статистически значимо чаще отмечались качественные нарушения кровотока на уровне субэндометриальной зоны и эндометрия. Также у женщин с носительством

**Таблица 5. Внутриматочная перфузия и ЧНБ в зависимости от гаплотипов гена MMP2****Table 5. Endometrial and subendometrial perfusion and pregnancy rate depending on MMP2 gene haplotypes**

	1-я группа rs2285052(A) rs243865(T)		2-я группа rs2285052(A) rs243865(C)		3-я группа (контрольная) rs2285052(C/C) rs243865(C/C)	
	%	ОШ (95% ДИ)	%	ОШ (95% ДИ)	%	ОШ (95% ДИ)
Сниженный субэндометриальный кровоток (2–3 балла)	40,6	2,13 (0,89–5,08)	44,4	<b>3,18 (1,42–7,14)</b>	19,4	1,00
Сниженный кровоток эндометрия (2–3 балла)	68,8*	<b>2,73 (1,15–6,48)</b>	55,6	1,94 (0,90–4,17)	36,1*	1,00
Отсутствие визуализации СА	28,1	<b>2,90 (1,07–7,83)</b>	14,8	1,61 (0,62–4,18)	11,1	1,00
Отсутствие беременности	65,6*	<b>3,08 (1,29–7,38)</b>	51,9	1,94 (0,91–4,16)	36,1*	1,00
Потери в I триместре	12,5	<b>1,18 (0,34–4,11)</b>	11,1	1,00 (0,30–3,27)	8,3	1,00
Роды	21,9*	<b>0,26 (0,10–0,69)</b>	37,0	0,49 (0,22–1,10)	55,6*	1,00

\*Статистически значимые различия между группами с использованием критериев  $\chi^2$  и Фишера.**Таблица 6. Внутриматочная перфузия и ЧНБ в зависимости от SNP rs2285052 и rs243865 гена MMP2****Table 6. Endometrial and subendometrial perfusion and pregnancy rate depending on SNP rs2285052 and rs243865 of the MMP2 gene**

	rs2285052(A) 1 и 2-я группы	rs2285052(C) 3-я группа	p	ОШ (95% ДИ)	rs243865(T) 1-я группа	rs243865(C) 2 и 3-я группы	p	ОШ (95% ДИ)
	%	%			%	%		
Сниженный субэндометриальный кровоток (2–3 балла)	42,4	19,4	<b>0,038</b>	<b>3,05 (1,15–8,06)</b>	40,6	30,2	>0,05	1,58 (0,65–3,85)
Сниженный кровоток эндометрия (2–3 балла)	62,7	36,1	<b>0,021</b>	<b>2,98 (1,26–7,04)</b>	68,8	44,4	<b>0,043</b>	<b>2,75 (1,12–6,75)</b>
Отсутствие визуализации СА	22,0	11,1	>0,05	2,26 (0,68–7,57)	28,1	12,7	>0,05	2,69 (0,92–7,84)
Отсутствие беременности	59,3	36,1	<b>0,047</b>	<b>2,58 (1,10–6,07)</b>	65,6	42,9	0,060	<b>2,55 (1,05–6,16)</b>
Потери в I триместре	11,9	8,3	>0,05	1,48 (0,36–6,13)	12,5	9,5	>0,05	1,36 (0,35–5,20)
Роды	28,8	55,6	<b>0,017</b>	<b>0,32 (0,14–0,77)</b>	21,9	47,6	<b>0,027</b>	<b>0,31 (0,12–0,82)</b>

**Таблица 7. Внутриматочная перфузия и ЧНБ при носительстве rs2285052(A) в зависимости от SNP rs243865****Table 7. Endometrial and subendometrial perfusion and pregnancy rate in patients with rs2285052(A) depending on SNP rs243865 of the MMP2 gene**

	1-я группа rs2285052(A) rs243865(T)	2-я группа rs2285052(A) rs243865(C)	p	ОШ (95% ДИ)
	%	%		
Сниженный субэндометриальный кровоток (2–3 балла)	40,6	44,4	>0,05	0,855 (0,303–2,411)
Сниженный кровоток эндометрия (2–3 балла)	68,8	55,6	>0,05	1,760 (0,606–5,107)
Отсутствие визуализации СА	28,1	14,8	>0,05	2,250 (0,606–8,355)
Отсутствие беременности, %	65,6	51,9	>0,05	1,773 (0,620–5,065)
Потери в I триместре, %	12,5	11,1	>0,05	0,476 (0,151–1,497)
Роды, %	21,9	37,0	>0,05	1,143 (0,232–5,622)

аллеля А по rs2285052 в сопоставлении с носительницами аллеля С значимо реже наступали беременность и роды.

Сходные тенденции обнаружены при наличии полиморфизма rs243865: у пациенток с носительством rs243865(T) из 1-й группы по сравнению с женщинами rs243865(C) – группа 2+3 – чаще обнаруживался сниженный кровоток в эндометрии, а также отмечался меньший шанс наступления беременности и родов.

Полиморфизмы rs243865 и rs2285052 сцеплены между собой, и вследствие этого наличие одного аллеля часто определяет присутствие другого. Если выявление одного из генотипов с высокой долей вероятности означает наличие второго, установление второго полиморфизма может не давать дополнительной диагностической информации. Для

оценки клинической значимости идентификации полиморфизма rs243865 авторы провели сравнение 1 и 2-й групп, т.е. определили значение носительства аллеля rs243865(T) при наличии у пациентки rs2285052(A). Статистически значимых различий между группами не выявили (табл. 7).

Как следует из табл. 7, при наличии аллеля А rs2285052 носительство аллеля Т rs243865 значимо не влияет на интенсивность перфузии эндометрия и субэндометриальной зоны, ЧНБ и родов.

### Обсуждение

Как показали результаты исследования авторов, наличие минорных аллелей гена MMP2 не оказывало статистически значимого влияния на толщину М-Эхо, количественные по-

казатели оценки кривых скоростей кровотока сосудов матки, однако вызывало существенные качественные нарушения кровотока на уровне мелких сосудов, выражавшиеся в обеднении сосудистого рисунка эндометрия и субэндометриальной зоны.

В ранние сроки беременности MMP2 представляет собой ключевой фермент инвазии трофобласта [7]. Важным параметром, влияющим на имплантацию, является значение толщины эндометрия. Так, показано, что толщина эндометрия выше в циклах, завершившихся беременностью, по сравнению с циклами, в которых она не наступила [18, 19]. По данным метаанализа 23 клинических исследований, при наличии тонкого эндометрия  $\leq 7$  мм в день переноса эмбриона ЧНБ в циклах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) была значимо ниже, чем у пациенток с толщиной эндометрия более 7 мм [18]. Также у женщин с тонким эндометрием наблюдалась тенденция к снижению продолжительности беременности и меньшее число живорожденных. По мнению других авторов, толщина М-Эхо не всегда коррелирует с ЧНБ [20].

Одними из критериев, влияющих на ЧНБ и вынашивание беременности, по мнению ряда ученых, являются количественные параметры кривых скоростей кровотока сосудов матки [21–23]. Значение количественных показателей гемодинамики сосудов матки в прогнозировании наступления и исхода беременности изучалось преимущественно у пациенток с привычным невынашиванием беременности или при проведении ВРТ. Многие авторы отмечают, что у женщин с привычным невынашиванием беременности в анамнезе значение PI, систоло-диастолическое отношение, индекс резистентности (RI) сосудов матки значимо выше, чем у здоровых женщин [21, 22]. М. Ivanovski и соавт. выявили, что пациентки с наступившей впоследствии беременностью имели статистически значимо более низкие средние значения PI и RI маточных артерий по сравнению с пациентками без беременности [23]. Напротив, по данным некоторых ученых, при проведении ВРТ количественные показатели гемодинамики маточных артерий не влияют на ЧНБ, репродуктивных потерь, внематочной беременности, нормальных родов, преждевременных родов, осложнений беременности (задержка внутриутробного развития плода, преэклампсия) [24, 25].

Более достоверным критерием, коррелирующим с частотой наступления беременности, по мнению многих авторов, является интенсивность перфузии субэндометриального и эндометриального слоев при проведении УЗИ [1–3]. Показано, что интенсивность перфузии субэндометрия и эндометрия достоверно чаще снижена у пациенток с бесплодием неясного генеза по сравнению с фертильными женщинами [2]. L. Chien и соавт. отметили, что ЧНБ у пациенток с визуализацией как эндометриального, так и субэндометриального кровотока была выше, чем у женщин только с субэндометриальным кровотоком, и самой низкой – у пациенток без эндометриально-субэндометриального кровотока [3].

Перспективным методом определения предрасположенности к многофакторному заболеванию является выявление связанных с болезнью гаплотипов [14, 15]. В данной работе впервые описана частота нарушений перфузии в зависимости от гаплотипов rs2285052(-955A/C) и rs243865(-1306C/T) гена MMP2 у женщин, планирующих беременность. Авторам не удалось обнаружить другие работы, изучающие влияние гаплотипов, а не отдельных полиморфизмов гена MMP2, на ЧНБ и возникновение бесплодия, но существует ряд исследований, оценивавших ассоциацию различных гаплотипов гена MMP2 с другими акушерско-гинекологическими про-

блемами (эндометриозом, привычным невынашиванием беременности и гипертензивными расстройствами при беременности), выявлена ассоциация некоторых гаплотипов гена MMP2 с риском привычного невынашивания беременности и эндометриозом [12, 26, 27].

Важным итогом проведенного исследования авторов явилось обнаружение связи между носительством аллеля A rs2285052(-955A/C) гена MMP2 и более низкой ЧНБ. Ранее эту взаимосвязь в литературе не описывали. Также авторы статьи подтвердили ранее рассматриваемое в исследованиях негативное влияние носительства аллеля T rs243865. Однако совместное определение полиморфизмов rs2285052 и rs243865, по-видимому, не дает дополнительной информации о прогнозе. Носительство аллеля A rs2285052 ассоциировано с более низкими (по сравнению с T rs243865) шансами наступления беременности и высокими шансами развития нарушений перфузии эндометрия. При наличии аллеля A rs2285052 носительство аллеля T rs243865 не приводит к статистически значимому изменению этих шансов. Таким образом, обнаруженная авторами статьи ассоциация говорит о том, что определение полиморфизма rs2285052(-955A/C) гена MMP2 для диагностики и прогнозирования может быть более предпочтительно, чем определение rs243865.

Об изменении экспрессии MMP2 при наличии аллельного полиморфизма в локусах rs243865 и rs2285052 гена MMP2 указывается в ряде исследований [9, 10, 28].

Известно, что при наличии T-аллеля rs243865 экспрессия MMP2 снижается [9]. В китайской популяции C/T-генотип и T-аллель rs243865 значимо повышали риск невынашивания беременности: при сравнении генотипа C/T с C/C ОШ (95% ДИ) составило 1,926 (1,101–3,368); аллеля T в сопоставлении с C – 1,751 (1,146–2,676), что может свидетельствовать о неблагоприятном влиянии низких уровней MMP2 [12]. В другом исследовании инвазивная способность клеток трофобласта на сроке беременности 6–8 нед была снижена с помощью антител к MMP2, что также говорит о благоприятной роли низких уровней MMP2 [7].

Как низкий, так и чрезмерно высокий уровни MMP2 являются неблагоприятными, а успешная имплантация может зависеть от баланса между активацией и ингибированием MMP. N. Yoshii и соавт. связывают повторные неудачи имплантации при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) с неблагоприятными для имплантации условиями в полости матки, возникающими из-за чрезмерно повышенной активности MMP2 [29]. Она часто наблюдается при хроническом эндометрите, когда возрастает уровень воспалительного цитокина интерлейкина-1 $\beta$ , индуктора MMP2 [29, 30]. N. Inagaki и соавт. также сообщили о значительно более высокой внутриматочной активности MMP2 у женщин с повторными неудачами имплантации при ЭКО по сравнению с фертильными женщинами [30]. В данном исследовании повышенные уровни интерлейкина-1 $\beta$  и MMP2 выявили у пациенток с повторными неудачами имплантации, у которых при гистологическом исследовании не было признаков хронического эндометрита.

Напротив, некоторые источники свидетельствуют об отсутствии ассоциации уровня MMP2 с наступлением беременности. V. Maia-Filho и соавт. не обнаружили корреляции между экспрессией MMP2 в эндометрии в период окна имплантации в цикле, предшествующем ЭКО, и результатом ЭКО [31]. D. Ramu и соавт. говорят об отсутствии ассоциации между вариантами rs243865 (-1306 C/T) гена MMP2 и наличием у пациентки привычного невынашивания беременности [32]. S. Neto и соавт. изучали влияние уровня

ММР2 на особенности материнского и плодового кровотока у беременных после 12 нед (оценивались PI в маточных артериях и RI в артерии пуповины и средней мозговой артерии плода) [33]. Ученые не обнаружили изменений уровня ММР2 в зависимости от срока беременности и не выявили его корреляции с параметрами материнского и плацентарного кровотока у беременных.

Авторы статьи предполагают, что одной из причин снижения фертильности у пациенток с аллельным полиморфизмом гена ММР2 могут быть нарушения перфузии матки, связанные с изменением активности ММР2, опосредованно влияющей на ангиогенез.

## Заключение

Таким образом, у пациенток с носительством аллелей A rs2285052 и T rs243865 гена ММР2 статистически значимо чаще выявляются качественные нарушения кровотока на уровне мелких сосудов, выражающиеся в обеднении сосудистого рисунка эндометрия и субэндометриальной зоны, что может приводить к бесплодию. Эти ассоциации сильнее выражены для полиморфизма rs2285052, что продемонстрировано впервые. Одновременное определение полиморфизма rs2285052 и rs243865 не дает дополнительной информации по сравнению с определением только rs2285052.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова» и с использованием оборудования, приобретенного по программе научного развития университета.

**Funding.** This study was conducted under the state assignment for Lomonosov Moscow State University using the equipment acquired as part of the Scientific Development Program of Lomonosov MSU.

## Литература/References

- Sardana D, Upadhyay A, Deepika K, et al. Correlation of subendometrial-endometrial blood flow assessment by two-dimensional power Doppler with pregnancy outcome in frozen-thawed embryo transfer cycles. *J Hum Reprod Sci.* 2014;7(2):130.
- Троскина Е.Ю. Бесплодие неясного генеза. Значение внутриматочной перфузии. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2014 [Troskina E. Besplodie nejasnogo geneza. Znachenie vnutrimatichnoj perfuzii. Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Moscow, 2014 (in Russian)].
- Chien LW, Au HK, Chen PL, et al. Assessment of uterine receptivity by the endometrial-subendometrial blood flow distribution pattern in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril.* 2002;78(2):245-51. DOI:10.1016/s0015-0282(02)03223-5
- Jokimaa V, Oksjoki S, Kujari H, et al. Altered expression of genes involved in the production and degradation of endometrial extracellular matrix in patients with unexplained infertility and recurrent miscarriages. *Mol Hum Reprod.* 2002;8(12):1111-6. DOI:10.1093/molehr/8.12.1111
- O'Reilly MS, Wiederschain D, Stetler-Stevenson WG, et al. Regulation of Angiostatin Production by Matrix Metalloproteinase-2 in a Model of Concomitant Resistance. *J Biol Chem.* 1999;274(41):29568-71.
- Fernandez-Patron C, Martinez-Cuesta MA, Salas E, et al. Differential regulation of platelet aggregation by matrix metalloproteinases-9 and -2. *Thromb Haemost.* 1999;82(6):1730-5.
- Staun-Ram E, Goldman S, Gabarin D, Shalev E. Expression and importance of matrix metalloproteinase 2 and 9 (MMP-2 and -9) in human trophoblast invasion. *Reprod Biol Endocrinol.* 2004;2:59. DOI:10.1186/1477-7827-2-59
- Salamonsen L. Role of proteases in implantation. *Rev Reprod.* 1999;4(1):11-22.
- Price SJ, Greaves DR, Watkins H. Identification of novel, functional genetic variants in the human matrix metalloproteinase-2 gene. Role of Sp1 in allele-specific transcriptional regulation. *J Biol Chem.* 2001;276(10):7549-58. DOI:10.1074/jbc.M010242200
- Xu E, Xia X, Lü B, et al. Association of matrix metalloproteinase-2 and -9 promoter polymorphisms with colorectal cancer in Chinese. *Mol Carcinog.* 2007;46(11):924-9.
- Филипенкова Т.Е., Щербакова Л.Н., Балацкий А.В. и др. Полиморфизм генов, влияющих на ремоделирование соединительной ткани, у пациенток с бесплодием. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева.* 2020;7(3):158-64 [Filipenkova TE, Shcherbakova LN, Balatskii AV, et al. Polimorfizm genov, vliiaushchikh na remodelirovanie soedinitel'noi tkani, u patsientok s besplodiem. *Arkhiv akusherstva i ginekologii im. V.F. Snegireva.* 2020;7(3):158-64 (in Russian)]. DOI:10.17816/2313-8726-2020-7-3-158-164
- Li L, Liu J, Qin S, Li R. The association of polymorphisms in promoter region of MMP2 and MMP9 with recurrent spontaneous abortion risk in Chinese population. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(40):e12561. DOI:10.1097/MD.00000000000012561
- Borghese B, Chiche JD, Vernerey D, et al. Genetic polymorphisms of matrix metalloproteinase 12 and 13 genes are implicated in endometriosis progression. *Hum Reprod.* 2008;23(5):1207-13. DOI:10.1093/humrep/den007
- Carlson CS, Eberle MA, Rieder MJ, et al. Selecting a Maximally Informative Set of Single-Nucleotide Polymorphisms for Association Analyses Using Linkage Disequilibrium. *Am J Hum Genet.* 2004;74(1):106-20.
- Трифоновна Е.А., Спиридонова М.Г., Габидулина Т.В., и др. Анализ структуры неравновесия по сцеплению и ассоциации полиморфных вариантов гена MTHFR с коронарным атеросклерозом. *Генетика.* 2012;48(10):1207-20 [Trifonova EA, Spiridonova MG, Gabidulina TV, et al. Analiz struktury neravnesiia po stseplenii i assotsiatsii polimorfnykh variantov gena MTHFR s koronarnym aterosklerozom. *Genetika.* 2012;48(10):1207-20 (in Russian)].
- Lewontin RC. The Interaction of Selection and Linkage. I. General Considerations; Heterotic Models. *Genetics.* 1964;49(1):49-67.
- Sole X, Guino E, Valls J, et al. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics.* 2006;22(15):1928-9.
- Kasius A, Smit JG, Torrance HL, et al. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2014;20(4):530-41. DOI:10.1093/humupd/dmu011
- Richter KS, Bugge KR, Bromer JG, Levy MJ. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos. *Fertil Steril.* 2007;87(1):53-9.
- Mercé LT, Barco MJ, Bau S, Troyano J. Are endometrial parameters by three-dimensional ultrasound and power Doppler angiography related to in vitro fertilization/embryo transfer outcome? *Fertil Steril.* 2008;89(1):111-7.
- Mansour GM, Hussein SH, Abd El Hady RM, et al. Uterine artery flow velocity waveform (FVW) type and subendometrial vascularity in recurrent pregnancy loss. *J Matern Neonatal Med.* 2020;33(4):527-32. DOI:10.1080/14767058.2018.1495190
- Yang W, Wu Z, Yu M, et al. Characteristics of midluteal phase uterine artery hemodynamics in patients with recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol Res.* 2019;45(7):1230-5. DOI:10.1111/jog.13944
- Ivanovski M, Damcevski N, Radevska B, Doicev G. Assessment of uterine artery and arcuate artery blood flow by transvaginal color Doppler ultrasound on the day of human chorionic gonadotropin administration as predictors of pregnancy in an in vitro fertilization program. *Akush Ginekol (Sofia).* 2012;51(2):55-60.
- Hoozemans DA, Schats R, Lambalk NB, et al. Serial uterine artery Doppler velocity parameters and human uterine receptivity in IVF/ICSI cycles. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31(4):432-8.

25. Isaksson R, Tiitinen A, Cacciatore B. Uterine artery impedance to blood flow on the day of embryo transfer does not predict obstetric outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000;15(6):527-30. DOI:10.1046/j.1469-0705.2000.00133.x
26. Cho YJ, Kim NH, Jeong KA, et al. Association Between MMP-2 and TIMP-2 Gene Polymorphisms and Advanced-Stage Endometriosis in Korean Women. *Am J Reprod Immunol.* 2013;69(1):73-84.
27. Palei AC, Sandrim VC, Amaral LM, et al. Effects of Matrix Metalloproteinase (MMP)-2 Polymorphisms on Responsiveness to Antihypertensive Therapy of Women with Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2012;111(4):262-7.
28. Singh N, Hussain S, Sharma U, et al. The protective role of the -1306C>T functional polymorphism in matrix metalloproteinase-2 gene is associated with cervical cancer: implication of human papillomavirus infection. *Tumor Biol.* 2016;37(4):5295-303.
29. Yoshii N, Hamatani T, Inagaki N, et al. Successful implantation after reducing matrix metalloproteinase activity in the uterine cavity. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11(1):37.
30. Inagaki N, Stern C, McBain J, et al. Analysis of intra-uterine cytokine concentration and matrix-metalloproteinase activity in women with recurrent failed embryo transfer. *Hum Reprod.* 2003;18(3):608-15. DOI:10.1093/humrep/deg139
31. Maia-Filho VO, Rocha AM, Ferreira FP, et al. Matrix Metalloproteinases 2 and 9 and E-Cadherin Expression in the Endometrium During the Implantation Window of Infertile Women Before In Vitro Fertilization Treatment. *Reprod Sci.* 2015;22(4):416-22.
32. Ramu D, Venkatesan V, Paul SFD, Koshy T. Genetic variation in matrix metalloproteinase MMP2 and MMP9 as a risk factor for idiopathic recurrent spontaneous abortions in an Indian population. *J Assist Reprod Genet.* 2017;34(7):945-9. DOI:10.1007/s10815-017-0939-x
33. Neto SDJ, Machado JS, Araujo Júnior E, et al. Longitudinal assessment of maternal-fetal Doppler parameters and maternal plasma level of matrix metalloproteinases 2 and 9. *J Matern Neonatal Med.* 2016;29(24):3967-70. DOI:10.3109/14767058.2016.1152247

Статья поступила в редакцию / The article received: 03.03.2021

Статья принята к печати / The article approved for publication: 25.10.2021



OMNIDOCTOR.RU