

**Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет**

САВЧЕНКО Інна Миколаївна

УДК: 618.141-006.03-06-575.113.1:576.311.32:577.112.85:577.15(043.3)

**ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ МАТРИКСНИХ МЕТАЛОП-
РОТЕЇНАЗ З ФАКТОРАМИ РИЗИКУ ТА МЕХАНІЗМАМИ РОЗ-
ВИТКУ ЛЕЙОМІОМИ МАТКИ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Суми – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Сумському державному університеті МОН України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **Атаман Олександр Васильович**, Сумський державний університет МОН України, завідувач кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор **Кононенко Надія Миколаївна**
Національний фармацевтичний університет (м. Харків)
МОЗ України
завідувач кафедри патологічної фізіології

доктор медичних наук, професор **Досенко Віктор Євгенович**
Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України
(м. Київ), завідувач відділу загальної та молекулярної патофізіології

Захист відбудеться «02» грудня 2016 р. об 11⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Сумського державного університету (40007, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2).

Автореферат розісланий «31» жовтня 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради, к.м.н.

О.С. Погорелова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Лейоміома матки – доброякісне пухлинне утворення, що розвивається з гладеньких м'язових клітин цього органа, – є однією з найпоширеніших хвороб жінок і посідає перше місце серед гінекологічних захворювань. За даними проекту глобального дослідження стану здоров'я людей, 171 млн. жінок у світі мають цю недугу (Murray et al., 2015). В економічно розвинених країнах від 20% до 80% жінок віком до 50 років є носіями міоми матки (Laughlin et al., 2010; Aleksandrovych et al., 2015; Wise et al., 2016), а в країнах пострадянського простору частота цієї пухлини складає 12-25% від усіх гінекологічних хвороб (Сидорова І.С., 2003; Вихляева Е.М., 2004; Буянова С.Н. с соавт., 2008). Викликає тривогу те, що останніми роками кількість хворих на лейоміому матки зростає у жінок раннього репродуктивного віку.

Незважаючи на велику поширеність лейоміоми матки та значні зусилля вчених щодо з'ясування її етіології та патогенезу, сьогодні ще немає відчутного прогресу і відповіді на питання про походження та механізми розвитку цієї доброякісної пухлини, а отже, і ефективних засобів її запобігання та консервативного лікування. Єдине, на чому сходяться дослідники і лікарі, – це мультифакторіальність даної хвороби, тобто визнання ролі широкого ряду зовнішніх чинників і спадкової (генетичної) схильності, що вкладається в патофізіологічну концепцію факторів ризику хвороби.

Вагомі здобутки сучасної медично-біологічної науки дають нині можливість вивчати роль генетичних факторів у виникненні і розвитку хвороб на якісно новому, поглибленому рівні. Це стосується і лейоміоми матки. Значення таких досліджень важко переоцінити, оскільки вони важливі як для раннього виявлення пухлини в групах ризику, так і для ефективного добору лікувальних засобів з урахуванням генетичних особливостей організму.

Відкриття і вивчення явища однонуклеотидного поліморфізму генів (SNP) показало, що заміна певних азотистих основ у певних місцях генів, що мають стосунок до розвитку патологічних процесів, може бути важливим чинником спадкової схильності до хвороб, у тому числі і пухлинного походження. Сьогодні зв'язок різних алельних поліморфізмів великої кількості генів, причетних, на думку авторів, до патогенезу лейоміоми, вивчається в багатьох країнах світу (Кулагина Н.В., 2008; Морозова Е.Б., 2009; Al-Hendy and Salama, 2006; Amant et al., 2004; Ates et al., 2013; Denschlag et al., 2006; de Oliveira et al., 2008; Feng et al., 2013; Tsujino et al., 2006; Vieira et al., 2008).

У центрі уваги таких досліджень перебувають гени, з якими пов'язують різні патогенетичні ланки доброякісного пухлинного росту, а саме: продукування і рецепцію гормонів та факторів росту, передавання регуляторних сигналів через відносно прості внутрішньоклітинні посередники (цАМФ, іони кальцію, фосфоліпідні месенджери) і складні каскадні ферментні реакції; запуск і припинення клітинного поділу, апоптоз, власне здійснення проліферативного процесу, забезпечення його ангиогенезом і супроводження утворенням фіброзної капсули тощо (Chang et al., 2010; Denschlag et al., 2006; Hsieh et al., 2007; Pietrowski et al., 2009).

Нині відомо, що залучення структур тканин до формування пухлин різного походження тісно пов'язано з функціонуванням ферментів матриксних металопротеїназ, що здійснюють гідролітичне розщеплення компонентів сполучної тканини (Hua et al., 2011; Kessenbrock et al., 2010). Результати численних досліджень показали, що поліморфізм генів, які кодують структуру цих ферментів, має зв'язок зі спадковою схильністю до цілого ряду недуг і патологічних процесів, у тому числі злоякісних і доброякісних новотворів (Chen et al., 2014; Dedong et al., 2014; Kang et al., 2005; Wang and Kong, 2015; Zhou et al., 2011). Що стосується лейоміоми матки, то таких робіт обмаль (Morosova, 2012; Takemura et al., 2006;), що й спонукало нас до проведення власних досліджень.

Зважаючи на велику кількість представників сімейства матриксних металопротеїназ, нами обрано для вивчення два ензими: *MMP-1* і *MMP-9*, з функціонуванням яких пов'язують патогенез багатьох патологічних процесів. Гени кожного з них мають велику кількість поліморфних варіантів, проте найчастіше асоційованими з хворобами є поліморфізми 1G/2G-1607 гена *MMP-1* і C-1562T гена *MMP-9*. Саме цим і був зумовлений наш вибір варіантів пошуку зв'язку лейоміоми матки з генетично-молекулярними чинниками організму.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертацію виконано відповідно до плану наукових досліджень Сумського державного університету МОН України. Вона є самостійним фрагментом науково-дослідної теми «Значення поліморфізму поодиноких нуклеотидів у розвитку найпоширеніших патологічних процесів і хвороб людини» (№ державної реєстрації 0114U006297).

Мета дослідження. З'ясування ролі одонуклеотидного поліморфізму генів матриксних металопротеїназ *MMP-1* та *MMP-9* у патогенезі лейоміоми матки та визначення можливого внеску поліморфних варіантів цих генів у розвиток доброякісного пухлинного процесу у жінок з різними факторами ризику.

Завдання дослідження.

1. Визначити частоту показників, що характеризують загальні і репродуктивно-гінекологічні фактори ризику лейоміоми матки у жінок основної і контрольної груп, проаналізувати їх з урахуванням окремих характеристик доброякісного пухлинного процесу.

2. Встановити частоту поліморфізмів 1G/2G-1607 гена *MMP-1* та C-1562T гена *MMP-9* у жінок основної і контрольної групи. Проаналізувати зв'язок лейоміоми матки з поліморфними варіантами цих генів.

3. Провести дослідження асоціації алельних варіантів гена *MMP-1* за поліморфізмом 1G/2G-1607 і гена *MMP-9* за поліморфізмом C-1562T із загальними ендogenous та екзогенними факторами ризику лейоміоми матки.

4. Дослідити зв'язок поліморфних варіантів генів *MMP-1* та *MMP-9* з репродуктивно-гінекологічним статусом жінок основної і контрольної груп.

5. Проаналізувати вплив одонуклеотидних поліморфізмів 1G/2G-1607 гена *MMP-1* та C-1562T гена *MMP-9* на клінічні характеристики і перебіг доброякісного пухлинного процесу в матці.

Об'єкт дослідження – причини і механізми розвитку доброякісних пухлин матки.

Предмет дослідження – участь генетичних чинників (поліморфізму генів матриксних металопротеїназ) у розвитку лейоміому матки .

Методи дослідження: клінічні, молекулярно-генетичні, методи статистичного аналізу.

Наукова новизна одержаних результатів.

Уперше встановлено частоту алелів і розподіл генотипів за поліморфізмами 1G/2G-1607 гена *MMP-1* і С-1562Т гена *MMP-9* у представників української популяції. Показано, що у хворих на лейоміому матки і жінок, що не мають цієї пухлини, співвідношення трьох можливих поліморфних варіантів гена *MMP-1* істотно відрізняється.

Уперше виявлено асоціацію між алельним поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* і розвитком лейоміому матки. Показано, що ризик доброякісного пухлинного процесу в міометрії у гомозигот за 2G-алелем у 3,2 рази вищий, ніж у гомозигот за алелем 1G. Водночас зв'язку поліморфізму С-1562Т гена *MMP-9* з розвитком хвороби не виявлено.

Показано, що відмінності в розподілі генотипів за поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* у пацієток з лейоміомою матки і осіб без пухлини залежать від наявності чи відсутності загальних ендо- і екзогенних факторів ризику, а саме: цукрового діабету, артеріальної гіпертензії, порушень мозкового і коронарного кровообігу, Rh-фактору, наявності близьких родичів з онкологічними хворобами .

Встановлено, що розподіл генотипів за поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* істотно відрізняється у пацієток з лейоміомою матки і жінок без пухлини тільки в тих осіб, у яких менархе з'явилася у віці до 15 років; що не мають гіперполіменореї; у яких, за даними анамнезу, були ектопія шийки матки, її конізація, запальні процеси в додатках матки, синдром Штейна-Левенталя в репродуктивному віці.

З'ясовано, що співвідношення генотипів за поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* істотно відрізняється у пацієток з різною локалізацією пухлинних вузлів. За інтрамурального і субсерозного їх розташування частота гетерозигот і гомозигот за 2G алелем вища, ніж при субмукозній локалізації пухлини.

Практичне значення отриманих результатів. Дисертаційна робота є фундаментальним дослідженням. Одержані результати та висновки розширюють наукові уявлення про роль генетичного поліморфізму в патогенезі доброякісних пухлин матки, зокрема лейоміому.

Дані про асоціацію 1G/2G-1607 гена *MMP-1* з лейоміомою матки можуть бути використані для прогнозування ймовірності розвитку хвороби в пацієнтів, що мають різні загальні і репродуктивно-гінекологічні фактори ризику пухлини. Встановлення осіб, генетично схильних до лейоміому матки, сприятиме профілактиці і ранньому виявленню хвороби, що матиме значний соціально-економічний ефект.

Результати наукових досліджень, викладених у дисертації, впроваджено у науково-дослідну роботу і навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету, Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова, Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава), Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського, Дніпропетровської медичної академії МОЗ України, на кафедрі

фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету МОН України.

Особистий внесок здобувача. Автором проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз наукової літератури за темою дисертації, сформульовано мету і завдання роботи, розроблено та обґрунтовано план досліджень. Здобувачем особисто здійснено відбір, клінічне обстеження жінок основної і контрольної груп. Роботи з генотипування пацієнток за досліджуваними поліморфізмами проведено в науковій лабораторії молекулярно-генетичних досліджень Сумського державного університету МОН України (науковий керівник – проф. О.В. Атаман, завідувач лабораторії – проф. В.Ю.Гарбузова). Особисто автором створено базу даних пацієнтів, статистично опрацьовано та проаналізовано одержані результати, написано всі розділи дисертації та сформульовано висновки, а також підготовлено матеріали до публікації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації повідомлено і обговорено на VII науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», м. Тернопіль (2014 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії», м. Харків (24-25 жовтня 2014 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Стан та перспективи розвитку медицини в Україні», м. Київ (20-21 листопада 2014 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Вітчизняна та світова медицина в сучасних умовах», м. Дніпропетровськ (16-17 січня 2015 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Світова медицина: Сучасні тенденції та фактори розвитку», м. Львів (30-31 січня 2015 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я», м. Запоріжжя (26-27 березня 2015 р.); 69-й науково-практичній конференції студентів та молодих учених з міжнародною участю: «Актуальные проблемы современной медицины и фармации», м. Мінськ, Республіка Білорусь (15-17 квітня 2015 р.); X науково-практичній конференції молодих учених та студентів ТГМУ ім. Абу Алі Ібн Сіна з міжнародною участю: «Внедрение достижений медицинской науки в клиническую практику», м. Душанбе, Таджикистан (2015 р.); III Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини», м. Суми (2015 р.); Науково-практичній конференції з міжнародною участю: «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини», м. Одеса (22-24 квітня 2015 р.); XIX Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених, присвяченому пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Л.Я. Ковальчука, м. Тернопіль (27-29 квітня 2015 р.); Науково-практичній конференції «Здоров'я людини у сучасному світі: питання медичної науки та практики», м.Одеса (22-23 травня 2015 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Особливості модернізації предмету досліджень представників медичних наук», м. Київ (5-6 червня 2015 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні». – Організація наукових медичних досліджень «Salutem», м. Дніпропетровськ (12-13 червня 2015 р.); IV Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини». – м. Суми (21 квітня 2016 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових робіт, з них 1 стаття в закордонному виданні, що обліковується наукометричною базою Scopus, 4 – у фахових виданнях, решта – у матеріалах і тезах конгресів та конференцій. 15 наукових робіт опубліковано за одноосібної участі автора.

Обсяг і структура дисертації. Дисертацію викладено на 151 сторінці (основний обсяг становить 123 сторінки). Вона має такі розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, 3 розділи з результатами власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки. Список літератури містить 238 джерел (18 – кирилицею, 220 – латиницею). Роботу ілюстровано 53 таблицями, 15 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження.

Загальна характеристика клінічного матеріалу. У дослідженні взяли участь 108 пацієнток віком від 26 до 60 років (середній вік $47,8 \pm 0,63$) з діагнозом лейоміоми матки (ЛМ), що був гістологічно верифікований в оперованих хворих (основна група). Обстеження пацієнток проводилося в період з 2012 по 2013 роки при лікуванні їх у гінекологічних відділеннях Путивльської та Конотопської ЦРЛ Сумської області, а також міських лікарень №1 та №5 м. Суми, обласного перинатального центру.

Обстеження пацієнток та формулювання діагнозу проводили згідно з Наказом МОЗ України № 582 від 15.12.2003 р. з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини, Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи виконання наукових медичних досліджень за участі людини і Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Усі пацієнтки підписали інформовану згоду на участь у дослідженні, яке передбачало забір венозної крові і подальший генетичний аналіз.

До контрольної групи увійшли 84 жінки менопаузального віку, які проходили обстеження в Конотопській ЦРЛ з приводу щорічного профілактичного огляду чи у зв'язку з лікуванням екстрагенітальних хвороб. Відсутність пухлин у таких жінок підтверджували збиранням анамнестичних даних, результатами УЗД та гінекологічного обстеження.

Контрольна група і група хворих на ЛМ відрізнялися за віком: середній вік першої ($69,8 \pm 0,92$ років) був істотно вищим за вік другої ($47,8 \pm 0,63$). Ця обставина збільшувала надійність контролю, оскільки зменшувала ймовірність розвитку ЛМ у пацієнток контрольної групи в майбутніх періодах їхнього життя.

Молекулярно-генетичні дослідження. Вивчення однонуклеотидного поліморфізму генів (SNP) було проведено в науковій лабораторії молекулярно-генетичних досліджень Сумського державного університету МОН України (науковий керівник – проф., д.м.н. О.В.Атаман, завідувач – проф., д.б.н. В.Ю.Гарбузова). У роботі використано венозну кров пацієнток основної і контрольної груп.

ДНК з лейкоцитів крові виділяли з використанням комерційного набору «Diatom DNA Prep 100» (ООО «Лаборатория «Изоген», Росія). Генотипування за поліморфними варіантами 1G/2G–1607 гена *MMP-1* і C-1562T гена *MMP-9* проводи-

ли методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виявленні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі. Реакція проходила в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США). Праймери для ПЛР синтезовано фірмою "Metabion" (Німеччина) (табл. 1).

Таблиця 1

Умови проведення ПЛР і наступного рестрикційного аналізу

Ген	Поліморфізм	Послідовність нуклеотидів у праймерах	Рестриктази	Фрагменти рестрикції, п.н.
<i>MMP-1</i>	<i>1G/2G-1607</i> <i>rs1799750</i>	П 5'-TGACTTTTAAAACATAGTCTATGTTCA-3' З 5'- TCTTGGATTGATTTGAGATAAGTCATAGA-3'	<i>AluI</i>	269, 241, 28
<i>MMP-9</i>	<i>C-1562T</i> <i>rs3918242</i>	П 5'-GCCTGGCACATAGTAGGCC-3' З 5'- СТТССТАGCCAGCCGGCATC-3'	<i>PaeI</i> (<i>SphI</i>)	436, 242, 194

Статистичний аналіз результатів досліджень проводили за допомогою програми SPSS-17 на персональному комп'ютері. У роботі застосовано перевірку виборок на нормальність розподілу (тест Колмогорова-Смирнова), визначення показника χ^2 Пірсона, відношення шансів (OR – Odds Ratios), t-критерія Стьюдента; однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA), метод логістичної регресії. Статистично значимими вважали тільки ті відмінності між показниками і лише ті зв'язки між ними, для яких величина показника ймовірності похибки Р була меншою за 0,05.

Результати досліджень та їх обговорення.

1. Характеристика загальних і репродуктивно-гінекологічних факторів ризику доброякісних пухлин матки у хворих з лейоміомою і жінок контрольної групи.

Численні чинники, які претендують на роль факторів ризику ЛМ, можуть бути розділені на дві категорії: (1) загальні ендо- та екзогенні і (2) фактори, пов'язані з репродуктивно-гінекологічним статусом.

Серед факторів першої категорії у роботі досліджено індекс маси тіла (ІМТ), наявність ЛМ у матерів і будь-яких злоякісних новоутворень у найближчих родичів, наявність сильних стресорних факторів у побуті і на роботі, а також ряд чинників, що мають стосунок до атеросклеротичного процесу (артеріальна гіпертензія, метаболічний синдром, цукровий діабет, порушення мозкового і коронарного кровообігу), оскільки механізми проліферації ГМК в інтимі артерій мають багато спільного з розмноженням клітин у вузлах ЛМ (Faerstein et al., 2001).

Проведений аналіз не виявив відмінностей в розподілі жінок основної і контрольної груп за індексом маси тіла ($p > 0,05$), проте, за іншими показниками ці групи істотно відрізнялися. Так, у третини хворих з ЛМ (34,3%) матері мали таку ж само пухлину, тимчасом як у жінок контрольної групи цей показник був утричі менший (10,7%). Що стосується злоякісних пухлин будь-якої локалізації у найближчих родичів, то ситуація була протилежною: таких жінок в основній групі було 10,2%, а в контрольній – 29,8%. Наявність сильних стресорних факторів була характерною для 89,8% пацієток з ЛМ і для 66,7% жінок, що не мали такої пухлини ($p < 0,001$).

У контрольній групі частота артеріальної гіпертензії і порушень мозкового та коронарного кровообігу була вищою, ніж у жінок з ЛМ, чого не можна було сказати про частоту цукрового діабету і метаболічного синдрому.

Серед характеристик репродуктивно-гінекологічного статусу було проаналізовано такі показники, як настання менархе до 15 років, статевий дебют після 19 років, наявність гіперполіменореї, ектопії шийки матки та її конізації, запальних процесів у додатках матки, синдрому Штейна-Левенталю в репродуктивному віці, кількість вагітностей, пологів і штучних абортів та деякі інші.

Аналіз показав, що лише за шістьма показниками пацієнтки з ЛМ відрізнялися від жінок контрольної групи. Це стосується таких характеристик, як нерегулярні місячні, кількість вагітностей і пологів, розвиток запального процесу в додатках матки, проведення конізації шийки матки, настання менопаузи до 53 років. У хворих з ЛМ усі ці показники були нижчими, ніж у жінок контрольної групи, за винятком одного – частоти запальних процесів у додатках матки, яка виявилася вдвічі вищою (71,3% проти 38,1%, $p < 0,001$). Один з відомих факторів ризику ЛМ – настання менархе до 15 років – у пацієнток з пухлиною виявлявся частіше (75,9%), ніж у жінок контрольної групи (63,1%), проте показник статистичної вірогідності (P) лише наближався до 95%-порогу і становив 0,054.

Отримані результати дають підстави стверджувати, що у хворих з ЛМ деякі показники, які характеризують наявність факторів, що можуть мати стосунок до виникнення і розвитку доброякісних пухлин матки, є вищими, ніж у жінок контрольної групи. Такими власне є (1) наявність ЛМ у матерів пацієнток, (2) сильні і постійні стресорні фактори в побуті і на роботі, (3) запальні процеси в додатках матки. Водночас немає вагомих підстав, а тому важко сказати, чи зменшують ймовірність розвитку ЛМ такі фактори, як наявність будь-яких злоякісних новоутворень у найближчих родичів, нерегулярні місячні, збільшення кількості вагітностей і пологів, конізація шийки матки і настання менопаузи до 53 років, – чинники, частота яких в основній групі була нижчою, ніж в контролі.

Беручи до уваги поділ ЛМ на типи залежно від різних характеристик пухлини, ми проаналізували частоту загальних і репродуктивно-гінекологічних факторів ризику доброякісних новоутворень матки залежно від локалізації вузлів, швидкості їх росту і наявності супутньої гіперплазії ендометрію. Аналіз не виявив жодного зв'язку між вивченими факторами ризику ЛМ і локалізацією її вузлів. При порівнянні частоти зовнішніх факторів ризику ЛМ у пацієнток зі швидким і відносно повільним ростом пухлини виявлено відмінності тільки двох показників. У хворих зі швидким ростом ЛМ частішою була наявність сильних стресорних факторів (97,4% проти 85,5%, $p = 0,049$), у той же час артеріальна гіпертензія виявлялася у них рідше (28,2% проти 49,3%, $p = 0,033$).

2. Аналіз асоціації поліморфізму 1G/2G-1607 гена MMP-1 з розвитком лейоміоми матки, основними факторами її ризику, перебігом та клінічними проявами.

Результати генотипування показали, що хворі на ЛМ і жінки контрольної групи істотно відрізняються як за співвідношенням алелів, так і за частотою генотипів (рис. 1). Так, у контрольній групі частота алелів 1G і 2G становила відповідно 0,44 і 0,56, тимчасом як у пацієнток з ЛМ – 0,32 і 0,68. При цьому показник статистичної

значимості P дорівнював 0,0199, тобто був меншим за 0,05, що свідчило про високу вірогідність виявлених відмінностей.

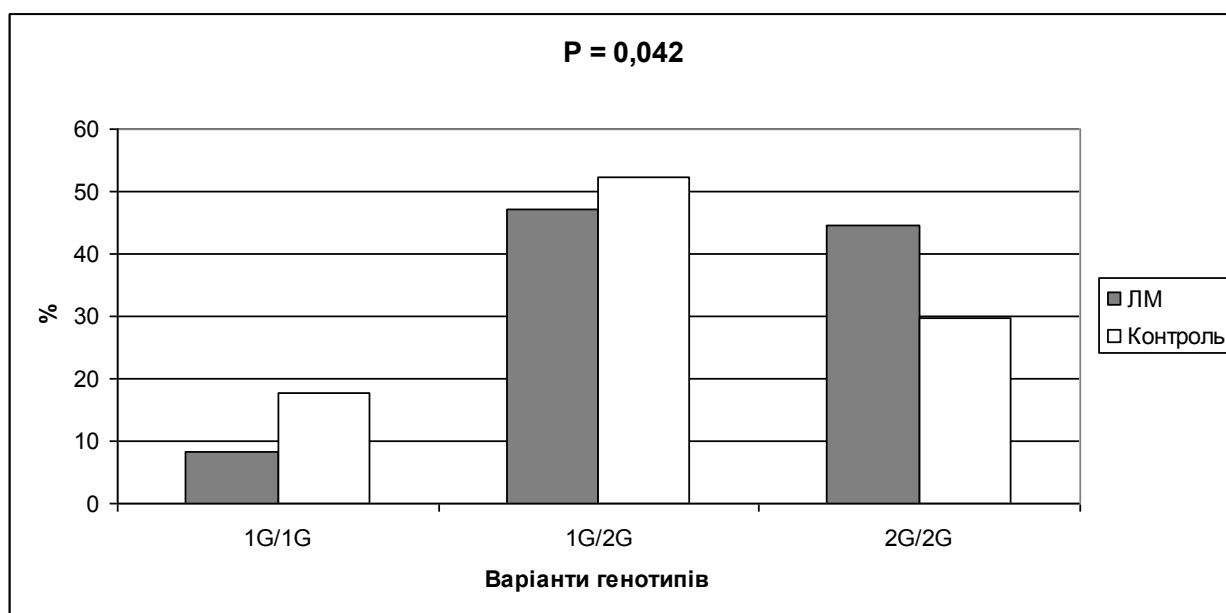


Рис. 1. Розподіл алельних варіантів гена *MMP-1* за поліморфізмом 1G/2G-1607 у хворих з лейоміомою матки (ЛМ) і в контрольній групі. P – статистична значимість відмінностей показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Співвідношення генотипів 1G/1G:1G/2G:2G/2G у жінок контрольної групи становило 17,8%:52,4%:29,8%, а в основній – 8,3%:47,2%:44,5%. Відмінності між цими показниками, проаналізовані за допомогою критерію χ^2 Пірсона, виявилися статистично вірогідними ($P=0,042$). У хворих з ЛМ частота гомозигот за алелем 1G була вищою, а гомозигот за алелем 2G, навпаки, нижчою, якщо порівнювати з жінками контрольної групи.

Методом логістичної регресії встановлено, що ризик розвитку ЛМ у гомозигот за 2G-алелем у 3,2 раза вищий, ніж у гомозигот за алелем 1G.

Поділ пацієнок на підгрупи за величиною ІМТ не виявив жодного зв'язку між розподілом генотипів за 1G/2G-1607 поліморфізмом гена *MMP-1* та ймовірністю розвитку ЛМ як у жінок з показником < 25 кг/м², так і у пацієнок, що мали ІМТ ≥ 25 кг/м².

Подібну картину спостерігали при дослідженні зв'язку генетичного поліморфізму з розвитком ЛМ у пацієнок, матері яких мали й не мали такої пухлини. Проведений аналіз у відповідних підгрупах жінок не виявив жодної асоціації поліморфних варіантів гена *MMP-1* з ЛМ.

Проте, таку асоціацію вдалося встановити при вивченні підгруп жінок, утворених на підставі даних про наявність будь-яких злоякісних пухлин у найближчих родичів (рис. 2). З'ясувалося, що розподіл генотипів за 1G/2G-1607 поліморфізмом у жінок основної і контрольної груп, у яких не було таких родичів, істотно відрізнявся, чого не можна було сказати стосовно жінок, у яких такі родичі були.

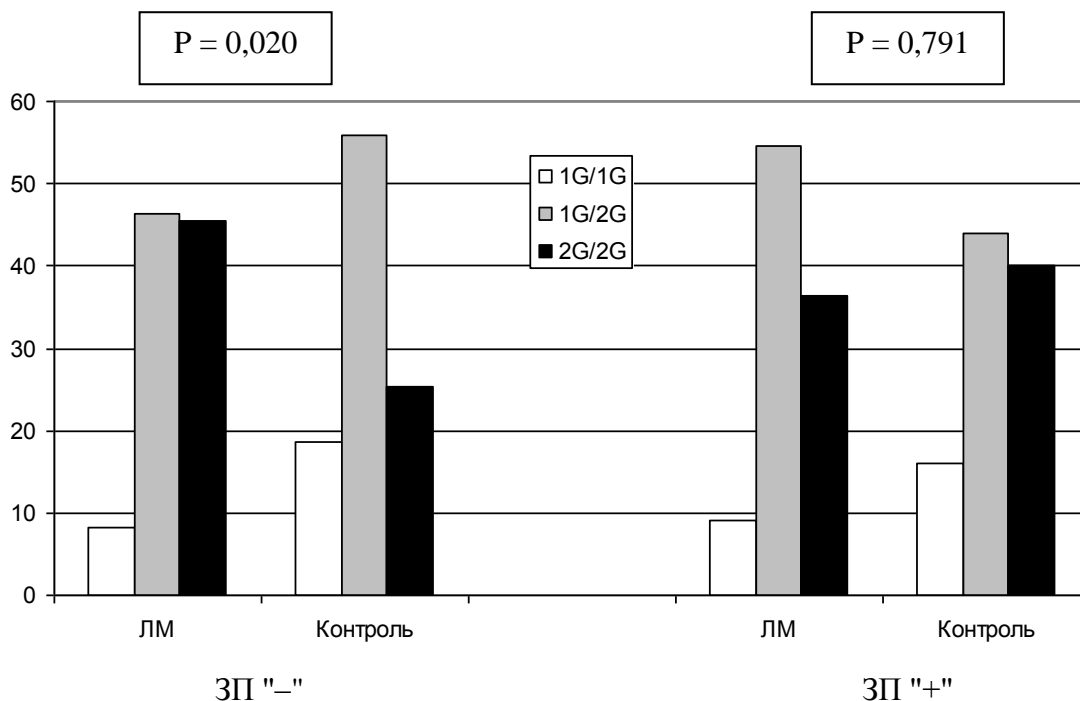


Рис. 2. Розподіл генотипів за поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* у підгрупах жінок, що не мали (ЗП "-") і мали (ЗП "+") найближчих родичів, хворих на злоякісні пухлини будь-якої локалізації. P – статистична значимість відмінностей показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Окрему групу чинників, що можуть мати стосунок до факторів ризику ЛМ, складають порушення метаболізму і ураження серцево-судинної системи, тісно пов'язані з атеросклеротичним процесом.

Результати генотипування за досліджуваним SNP показали, що в жодній з підгруп, утворених з урахуванням наявності метаболічного синдрому, немає зв'язку між розподілом поліморфних варіантів гена *MMP-1* і ЛМ.

Водночас такий зв'язок встановлено у жінок, що не хворіють на цукровий діабет. У них, на відміну від діабетиків, відмінності між частотою генотипів за вивченим SNP в основній і контрольній групі були статистично вірогідними ($P=0,049$). У хворих на ЛМ частота гомозигот 1G/1G виявилася меншою, а гомозигот 2G/2G, навпаки, більшою, ніж у жінок контрольної групи.

Аналіз розподілу генотипів за поліморфізмом 1G/2G-1607 у жінок з нормальним і підвищеним артеріальним тиском дозволив виявити асоціацію між досліджуваним генетичним фактором і розвитком ЛМ тільки у пацієток, що мали артеріальну гіпертензію (АГ) (рис. 3). Так, у хворих з ЛМ та АГ співвідношення між генотипами 1G/1G, 1G/2G і 2G/2G становило 4,4%, 42,2% і 53,3%, а у жінок контрольної групи, що мали підвищений тиск – 17,7%, 48,4% і 33,9% ($P=0,042$). У перших частота гомозигот за основним алелем виявилася меншою, а гомозигот за алелем 2G – більшою, ніж у контролі.

Поділ пацієток на підгрупи залежно від наявності порушень мозкового і коронарного кровообігу дозволив виявити асоціацію поліморфних варіантів гена

MMP-1 з ЛМ тільки у жінок, що не мали таких порушень. Частота генотипів за вивченим SNP у цій підгрупі становила у хворих з ЛМ: 1G/1G – 6,8%, 1G/2G – 51,1%, 2G/2G – 42%; а в контрольній групі: 20,4%, 51,9% і 27,8% відповідно (P=0,030).

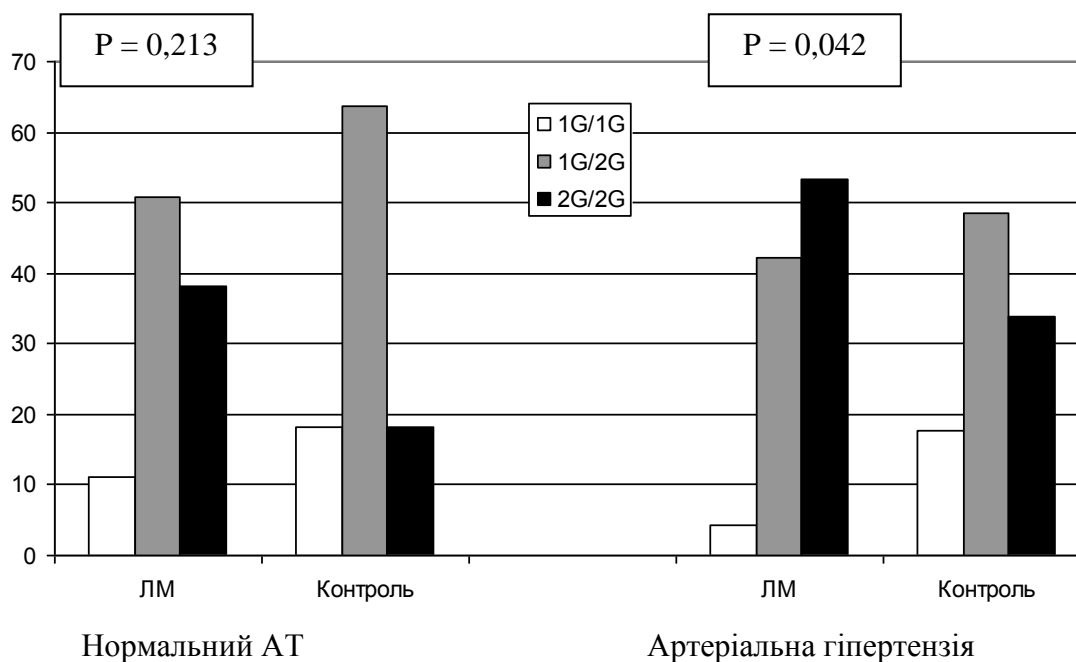


Рис. 3. Розподіл генотипів за поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* у підгрупах жінок, з нормальним артеріальним тиском (АТ) і артеріальною гіпертензією. P – статистична значимість відмінностей показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Крім того, за даними аналізу, з'ясувався ще один цікавий аспект: на відміну від Rh-негативних, у Rh-позитивних пацієток з ЛМ розподіл генотипів за 1G/2G-1607 поліморфізмом істотно відрізнявся від показника Rh-позитивних жінок контрольної групи. Частота гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за альтернативним алелем у перших становила 9,5%, 45,3% і 45,3%, а в других – 16,4%, 57,4% і 26,2% відповідно (P=0,047). У хворих з ЛМ генотипи 1G/1G і 1G/2G зустрічалися рідше, а гомозиготи 2G/2G частіше, ніж у контролі.

При застосуванні методу логістичної регресії статистично значимі показники відношення шансів (OR) було отримано для підгруп пацієток (а) з артеріальною гіпертензією, (б) без порушень мозкового і коронарного кровообігу, а також (в) Rh-позитивних осіб (табл. 2).

У проведених нами дослідженнях вивчався зв'язок між алельним поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* і розвитком ЛМ з урахуванням різних характеристик репродуктивно-гінекологічного статусу жінок основної і контрольної груп.

Було встановлено, що розподіл генотипів за цим поліморфізмом істотно відрізняється у пацієток з ЛМ і жінок без пухлини тільки в тих осіб, у яких менархе з'явилася у віці до 15 років (рис. 4). Що стосується жінок, у яких настання менархе відбулося після 15 років, то таких відмінностей не виявлено.

Аналіз ризику лейоміоми матки залежно від генотипу за 1G/2G-1607 поліморфізмом гена *MMP-1* у підгрупах жінок, відібраних за деякими показниками

Генотип	KP	СП	CB	P	OR	95% ДІ для OR
Артеріальна гіпертензія є						
1G/2G	1,248	0,823	2,301	0,129	3,483	0,695 – 17,470
2G/2G	1,838	0,825	4,968	0,026	6,286	1,248 – 31,650
Порушень мозкового і коронарного кровообігу немає						
1G/2G	1,081	0,562	3,701	0,054	2,946	0,980 – 8,860
2G/2G	1,509	0,593	6,482	0,011	4,522	1,415 – 14,449
Rh-позитивні жінки						
1G/2G	0,311	0,513	0,368	0,544	1,365	0,500 – 3,729
2G/2G	1,094	0,545	4,031	0,045	2,986	1,026 – 8,687

Примітка: порівняння відносно генотипу 1G/1G. KP – коефіцієнт регресії, СП – стандартна похибка, CB – статистика Вальда, P – статистична значимість, OR – відношення шансів, ДІ – довірчий інтервал

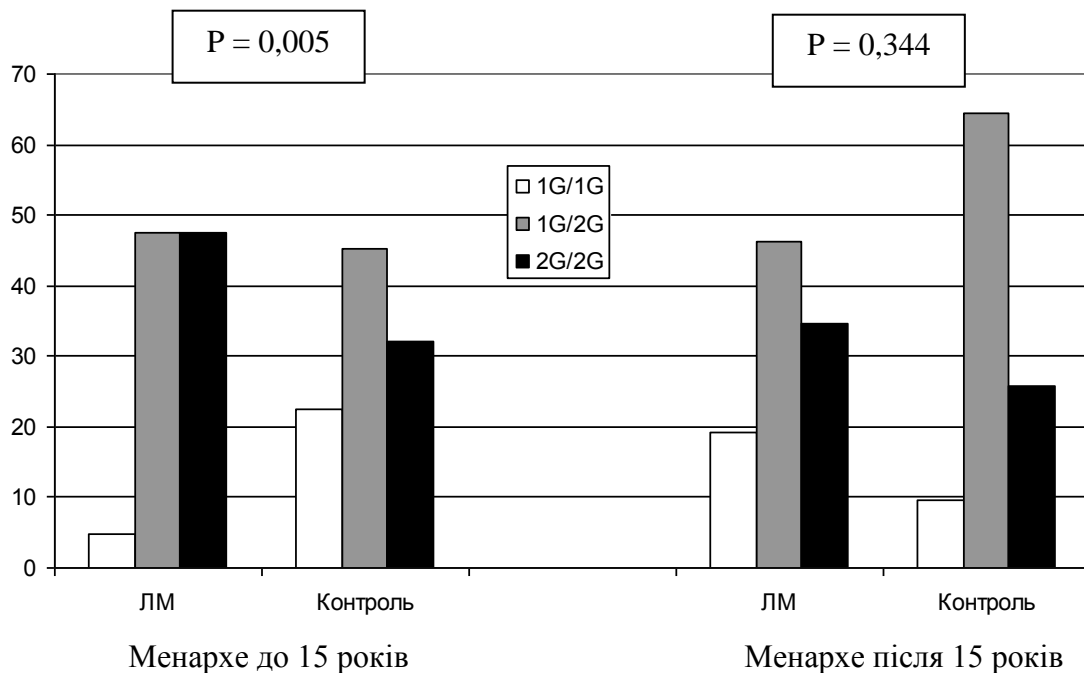


Рис. 4. Розподіл генотипів за поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* у жінок з настанням менархе до і після 15 років. P – статистична значимість відмінностей показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Одним із частих порушень статевої функції жінок була гіперполіменорея (ГПМ). Аналіз показав, що тільки у жінок, що не мали ГПМ, розподіл трьох можливих генотипів відрізнявся в основній і контрольній групах. Так, частота поліморфних варіантів гена *MMP-1* за вивченим SNP становила у пацієток з ЛМ 8%, 42% і 50%, а у жінок без пухлини – 18,8%, 58,3% і 22,9% відповідно. В основній групі значно нижчою була відносна кількість носіїв алеля 1G (1G/1G + 1G/2G), водночас вищою – частота гомозигот 2G/2G, якщо порівнювати з контролем ($P=0,016$).

Існують суттєві відмінності в розподілі генотипів за вивченим SNP у тих жінок основної і контрольної груп, у яких у попередні роки було діагностовано ектопію шийки матки (ЕШМ). Так, у пацієток з ЛМ, що увійшли в цю підгрупу, співвідношення генотипів 1G/1G : 1G/2G : 2G/2G у відсотках дорівнювало 10,5 : 33,3 : 56,1, а у жінок контрольної групи – 23,9 : 52,2 : 23,9 ($P=0,004$). Відмінності всередині контрольної групи між пацієтками з ЕШМ і без неї виявилися статистично не достовірними ($P > 0,05$), а в основній, навпаки, статистично значимими ($P=0,009$).

Проведений аналіз виявив певний вплив конізації шийки матки (КШМ) на асоціацію 1G/2G-1607 поліморфізму гена *MMP-1* з розвитком ЛМ. Статистично вірогідну асоціацію вдалося виявити тільки серед тих пацієток, яким така операція не проводилася ($P=0,027$). У жінок, у яких було хірургічне втручання на шийці матки, розподіл генотипів у пацієток основної і контрольної груп майже не відрізнявся ($P=0,295$).

Розвиток запальних процесів у додатках матки (ЗПД) також впливав на асоціацію поліморфних варіантів за вивченим SNP з ЛМ. За наявності ЗПД відзначалася статистично значима відмінність у частоті різних генотипів між пацієтками з ЛМ і жінками без цієї недуги. Цього не можна сказати про пацієток, у яких ЗПД не було.

Проведений аналіз виявив статистично вірогідні відмінності в частоті генотипів між основною і контрольною групою серед тих жінок, що мали синдром Штейна-Левенталя (СШЛ) у репродуктивному віці ($P=0,009$). При відсутності СШЛ такі відмінності не мали статистичної значимості ($P=0,228$).

Методом логістичної регресії встановлено, що у жінок, у яких менархе настала до 15 років, носійство 2G алеля істотно збільшує ризик ЛМ, якщо порівнювати з гомозиготами за основним алелем 1G. Так, цей ризик зростає у гетерозигот у 4,9 рази ($P=0,012$), а у гомозигот за 2G алелем – у 6,9 рази ($P=0,003$). У жінок з генотипом 2G/2G, що не мали гіперполіменореї, імовірність розвитку ЛМ була в 5,1 рази вищою, ніж у гомозигот за основним алелем ($P=0,020$). При наявності ектопії шийки матки в анамнезі ризик ЛМ у жінок, гомозиготних за 2G алелем, був у 5,3 рази більшим, якщо порівнювати з пацієтками, що мали генотип 1G/1G ($P=0,007$). Якщо у додатках матки розвиваються запальні процеси, то ймовірність ЛМ у жінок з генотипом 2G/2G збільшується у 6 разів при порівнянні з гомозиготами за 1G алелем ($P=0,020$). І нарешті, за наявності синдрому Штейна-Левенталя в репродуктивному віці носійство 2G алеля збільшує ризик ЛМ у 9,5 рази (для гетерозигот) і в 10,7 рази (для гомозигот) відносно жінок, гомозиготних за 1G алелем (P дорівнює відповідно 0,12 і 0,10).

Встановлено, що частота генотипів за вивченим SNP істотно відрізняється у пацієток з різною локалізацією пухлинних вузлів ($P=0,005$). Відсоток гомозигот за 1G алелем виявився набагато вищим при субмукозній формі ЛМ (36,4%), тимчасом

як при субсерозній – хворих з таким генотипом взагалі не було. Натомість за інтрамуральної і субсерозної локалізації частота гетерозигот і гомозигот за 2G алелем була вищою, ніж при субмукозному розташуванні пухлини. Не виявлено зв'язку поліморфних варіантів гена *MMP-1* з типом пухлинного процесу, зі швидкістю росту пухлини і наявністю супутньої гіперплазії ендометрію.

3. *Зв'язок поліморфізму C-1562T гена MMP-9 з розвитком лейоміоми матки, основними факторами її ризику, перебігом та клінічними проявами.*

Результати генотипування пацієнток основної і контрольної груп за даним поліморфізмом показали, що за частотою С- і Т-алеля ці групи не відрізняються між собою ($P=0,397$). Що стосується розподілу генотипів, то і тут відмінності між пацієнтками з ЛМ і жінками без пухлини виявилися статистично мало вірогідними. Так, в основній групі частота гомозигот за основним алелем складала 60,2%, гетерозигот – 33,3% і гомозигот за мінорним алелем – 6,5%. Відповідні показники у контрольній групі були 64,3%, 33,3% і 2,4% ($P=0,402$).

Проведений аналіз не виявив статистично значимих відмінностей в розподілі генотипів С/С і С/Т+Т/Т між основною і контрольною групами при врахуванні як загальних (ІМТ, метаболічний синдром, цукровий діабет, артеріальна гіпертензія, порушення мозкового і коронарного кровообігу, наявність ЛМ у матерів і будь-яких злоякісних пухлин у найближчих родичів, сильні стресорні впливи), так і репродуктивно-гінекологічних (пооява менархе до 15 років, гіперполіменорея, ектопія шийки матки і її конізація, запальні процеси в додатках, синдром Штейна-Левенталя в репродуктивному віці) факторів ризику доброякісних пухлин м'язового шару матки.

Вивчений поліморфізм не впливав на основні характеристики ЛМ (локалізацію, тип, швидкість росту, наявність супутньої гіперплазії ендометрію), а також частоту клінічних симптомів пухлини (менорагії, метрорагії, тазові болі, ірадіацію болю в сечовий міхур).

Таки чином, з двох вивчених генетичних поліморфізмів тільки один – 1G/2G-1607 гена *MMP-1* – має стосунок до ЛМ. Виявлена асоціація потребує пояснень можливого зв'язку цього генетичного чинника з патофізіологічними механізмами доброякісного пухлинного процесу. Спробу такого аналізу представлено на поданій нижче схемі (рис. 5).

Суть поліморфізму 1G/2G-1607 гена *MMP1* полягає в тому, що в певній позиції промотора цього гена додається гуанілова азотиста основа. Наявність двох таких основ (2G) замість однієї (1G) створює додатковий сайт для транскрипційного фактору Ets і веде до збільшення продукції початкового білкового продукту MMP-1 (Rutter, 1998). Посилення експресії гена спричиняється до збільшення кількості молекул відповідної матриксної металопротеїнази, а отже, виявляє себе посиленням ферментної активності.

Для розвитку пухлинного процесу може мати значення гідролітичне розщеплення цілої низки протеїнів позаклітинного матриксу, а саме: (а) колагену I-III типів, (б) *Fas*-лігандів і *Fas*-рецепторів, (в) позаклітинного компонента рецепторів, що їх активують протеїнази (PAR), (г) трансформуючого ростового фактору бета (TGF- β), (д) судинно-ендотеліального ростового фактору (VEGF). Перетворення названих білків під впливом MMP-1 у різний спосіб можуть впливати на основні механізми пу-

хлинного росту: (а) посилення проліферативних сигналів, (б) послаблення гальмівних впливів на поділ клітин і (в) стимулювання васкуляризації тканини.

Усі ці патофізіологічні механізми на тлі дії більш-менш потужних факторів ризику можуть скласти патогенетичну основу переходу фізіологічного проліферативного процесу в доброякісний пухлинний ріст.

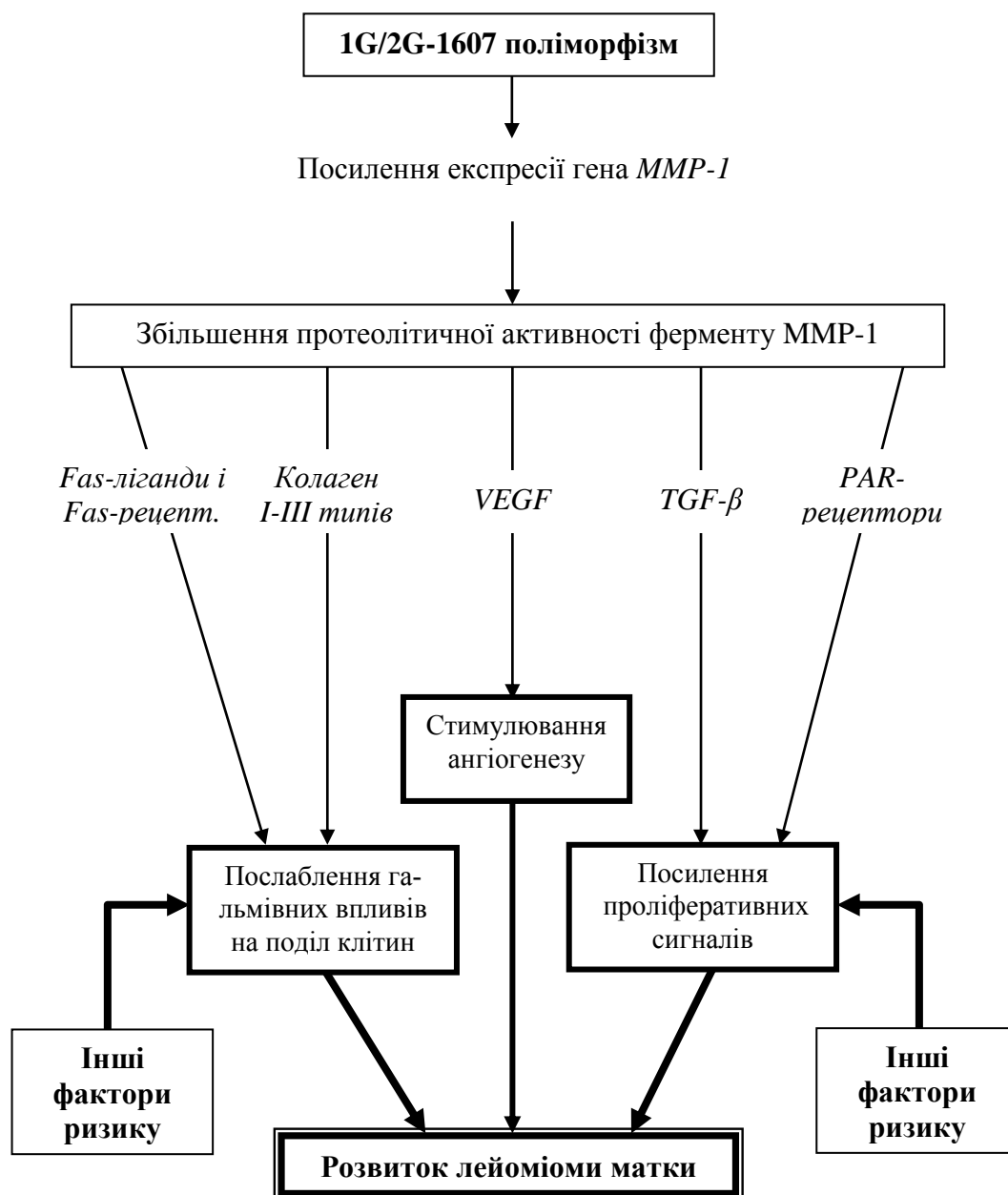


Рис. 5. Можливий вплив поліморфізму 1G/2G-1607 гена *MMP-1* на розвиток доброякісного пухлинного процесу в матці. ГМК – гладкі м'язові клітини

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нові результати, що розв'язують наукове завдання, суть якого полягає у з'ясуванні зв'язку алельного поліморфізму генів *MMP-1* і *MMP-9* з розвитком лейоміоми матки у жінок, що мають різні фактори її ризику.

1. У хворих з лейоміомою матки частота деяких показників, що характеризують потенційні фактори ризику пухлини, була вищою, ніж у жінок контрольної групи. Це стосується наявності міоми у минулому в матерів пацієнток (34,3% проти 10,7%, $p < 0,001$), сильних і постійних стресорних факторів у побуті і на роботі (89,9% проти 66,7%, $p < 0,001$), запальних процесів у додатках матки (71,3% проти 38,1%, $p < 0,001$). Не встановлено зв'язків між вивченими факторами ризику лейоміоми і локалізацією її вузлів.

2. Частота алелів і розподіл генотипів за поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* у хворих на лейоміому матки і жінок, що не мають цієї пухлини, істотно відрізняються. Співвідношення гомозигот за G1-алелем, гетерозигот і гомозигот за 2G-алелем в основній групі становило 8,3%, 47,2% і 44,5%, тимчасом як у контрольній – 17,8%, 52,4% і 29,8% ($P = 0,042$). Водночас частота алелів і варіантів генотипу за поліморфізмом C-1562T гена *MMP-9* при порівнянні основної і контрольної груп не мали статистично значимих відмінностей.

3. Існує асоціація між алельним поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* і розвитком лейоміоми матки. Ризик доброякісного пухлинного процесу в міометрії у гомозигот за 2G-алелем у 3,2 раза вищий, ніж у гомозигот за алелем 1G ($P = 0,017$). Зв'язку поліморфізму C-1562T гена *MMP-9* з розвитком лейоміоми матки не виявлено.

4. Відмінності в розподілі генотипів за поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* у пацієнток з лейоміомою матки і осіб без пухлини встановлено в деяких підгрупах жінок, утворених з урахуванням наявності загальних ендо- і екзогенних факторів ризику, а саме: у тих, що не мали близьких родичів з онкологічними хворобами ($P = 0,020$), не хворіли на цукровий діабет ($P = 0,049$), мали артеріальну гіпертензію ($P = 0,042$), не зазнавали порушень мозкового і коронарного кровообігу ($P = 0,030$), були Rh-позитивними ($P = 0,047$). У жінок, що мають стійкий підвищений тиск, наявність генотипу 2G/2G збільшує ризик лейоміоми в 6,3 раза, якщо порівнювати з носіями генотипу 1G/1G ($P = 0,026$).

5. Розподіл генотипів за поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* істотно відрізняється у пацієнток з лейоміомою матки і жінок без пухлини тільки в тих осіб, у яких менархе з'явилася у віці до 15 років ($P = 0,005$); що не мають гіперполіменореї ($P = 0,016$); у яких, за даними анамнезу, були ектопія шийки матки ($P = 0,004$), її конізація ($P = 0,027$), запальні процеси в додатках матки ($P = 0,023$), синдром Штейна-Левенталя в репродуктивному віці ($P = 0,009$). У жінок, у яких перша менструація настала до 15 років, носійство 2G-алеля істотно збільшує ризик лейоміоми, якщо порівнювати з гомозиготами за основним алелем 1G (у гетерозигот – у 4,9 раза, у гомозигот за 2G алелем – у 6,9 раза).

6. Співвідношення генотипів за поліморфізмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* істотно відрізняється у пацієнток з різною локалізацією пухлинних вузлів. За інтраму-

рального і субсерозного їх розташування частота гетерозигот і гомозигот за 2G-алелем була вищою, ніж при субмукозній локалізації пухлини ($P=0,005$). Не виявлено зв'язку поліморфних варіантів гена *MMP-1* з типом пухлинного процесу, зі швидкістю росту пухлини і наявністю супутньої гіперплазії ендометрію. Генотип хворих на лейоміому істотно не впливає на товщину ендометрію та частоту основних клінічних симптомів хвороби (менорагії, метрорагії, тазові болі, іррадіацію болю в сечовий міхур).

7. Алельний поліморфізм С-1562Т гена *MMP-9* не пов'язаний з розвитком лейоміоми матки у жодній з категорій жінок, виділених за наявністю і відсутністю потенційних загальних ендо- і екзогенних факторів ризику пухлини, а також за репродуктивним і гінекологічним статусом жінок. Не виявлено зв'язку цього поліморфізму з різними варіантами лейоміоми та клінічними її симптомами.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Савченко І.Н., Гарбузова В.Ю. Роль однонуклеотидного поліморфізму С-1562Т гена матричної металопротеїнази-9 в розвитку лейоміоми матки у жінок з патологією шийки матки // *Georgian Medical News*. – 2015. – V. 329, No. 2. – P. 18-23. (обліковується наукометричною базою *Scopus*) (здобувач провела набір клінічного матеріалу, аналіз результатів молекулярно-генетичних досліджень, підготувала статтю до друку).

2. Савченко І.М., Гарбузова В.Ю. Аналіз впливу поліморфізму 1G/2G-1607 гена матричної металопротеїнази-1 на розвиток лейоміоми матки у жінок із різними факторами її ризику // *Вісник проблем біології і медицини*. – 2014. – №4 (116). – С. 267-271. (здобувач провела набір клінічного матеріалу, аналіз результатів молекулярно-генетичних досліджень, підготувала статтю до друку).

3. Савченко І.М. Асоціація поліморфізму 1G/2G-1607 гена матричної металопротеїнази-1 у жінок з лейоміомою матки із супутньою патологією // *Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень*. – 2014. – №2 (4). – С. 442-449.

4. Савченко І.М., Гарбузова В.Ю. Зв'язок однонуклеотидного поліморфізму С-1562Т гена матричної металопротеїнази-9 у жінок з лейоміомою матки з екстрагенітальною патологією // *Світ медицини та біології*. – 2015. – №1 (48). – С. 72-77. (здобувач провела набір клінічного матеріалу, аналіз результатів молекулярно-генетичних досліджень, підготувала статтю до друку).

5. Савченко І.М., Гарбузова В.Ю. Асоціація поліморфізму 1G/2G-1607 гена матричної металопротеїнази-1 із фоновими процесами шийки матки серед жінок із лейоміомою // *Клінічна та експериментальна патологія*. – 2015. – №1 (51). – С. 127-130. (здобувач провела набір клінічного матеріалу, аналіз результатів молекулярно-генетичних досліджень, підготувала статтю до друку).

6. Савченко І.М., Атаман О.В. Вивчення 1G/2G-1607 поліморфізму гена *MMP-1* у жінок з лейоміомою матки // *Матеріали VII науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм»*. – Тернопіль: Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2014. – №2. – С. 265.

7. Савченко І.М. Вивчення зв'язку поліморфізму 1G/2G-1607 гена матричної металопротеїнази-1 у жінок з лейоміомою матки із запальними хворобами додатків матки // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні питання сучасної медицини». – Харків, 24-25 жовтня 2014 р. – С. 53.

8. Савченко І.М. Дослідження зв'язку поліморфізму 1G/2G-1607 гена матричної металопротеїнази-1 у жінок з лейоміомою матки із синдромом Штейна-Левенталя // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Стан та перспективи розвитку медицини в Україні». – Київ, 20-21 листопада 2014 р. – С. 62.

9. Савченко І.М. Вплив С-1562Т поліморфізму гена ММР-9 на перебіг симптомної лейоміоми матки // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Вітчизняна та світова медицина в сучасних умовах». – Дніпропетровськ, 16-17 січня 2015 р. – С. 16.

10. Савченко І.М. Роль однонуклеотидного поліморфізму С-1562Т гена ММР-9 у розвитку доброякісних пухлин матки серед жінок з артеріальною гіпертензією // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку». – Львів, 30-31 січня 2015 р. – С. 116.

11. Савченко І.М. Дослідження впливу 1G/2G-1607 поліморфізму гена ММР-1 у жінок з лейоміомою матки на стан шийки матки // Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів «Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я». – Запоріжжя, 26-27 березня 2015 р. – С. 64.

12. Савченко І.Н. Влияние полиморфизма С-1562Т гена металло матричной протеиназы-9 у женщин, имеющих лейомиому матки, на развитие гипертиреоза // Материалы 69-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины и фармации». – Минск, БГМУ, 15-17 апреля 2015 г. – С. 1162.

13. Савченко І.Н. Раннее менархе как фактор риска развития лейомиомы матки у женщин с полиморфизмом 1G/2G-1607 гена металло матричной протеиназы-1 // Материалы X научно-практической конференции студентов и молодых ученых ТГМУ им. Абу Али Ибн Сина с международным участием «Внедрение достижений медицинской науки в клиническую практику». – Душанбе, 2015 г. – С. 301.

14. Савченко І.М. Вивчення С-1562Т поліморфізму гена ММР-9 у жінок з лейоміомою матки // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 85-річчю з дня заснування Студентського наукового товариства ОНМедУ «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини». – Одеса, 22-24 квітня 2015 р. – С. 86.

15. Савченко І.М. Аналіз впливу однонуклеотидного поліморфізму С-1562Т гена ММР-9 на розвиток лейоміоми матки у жінок, що мають кістозно змінені яєчники // Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини». – Суми, 23-24 квітня 2015 р. – С. 116.

16. Савченко І.М. Порушення менструальної функції у жінок з лейоміомою матки залежно від частоти однонуклеотидного поліморфізму С-1562Т гена ММР-9 // Матеріали XIX Міжнародного конгресу студентів і молодих вчених, присвяченого

пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука. – Тернопіль, 27-29 квітня 2015 р. – С. 302.

17. Савченко І.М. Диспластичні зміни шийки матки у жінок з лейоміомою залежно від однонуклеотидного поліморфізму 1G/2G-1607 С гена MMP-1 // Матеріали науково-практичної конференції «Здоров'я людини у сучасному світі: питання медичної науки та практики». – Одеса, 22-23 травня 2015 р. – С. 124.

18. Савченко И.Н. Влияние полиморфизма С-1562Т гена матричной металлопротеиназы-9 на развитие лейомиомы матки у женщин с ранним половым дебютом // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Особливості модернізації предмету досліджень представників медичних наук». – Київ, 5-6 червня 2015 р. – С. 12.

19. Савченко I.M. The significance of the C-1562T polymorphism matrix metalloproteinase-9 gene in women with uterine leiomyoma in the osteochondrosis development // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні». – Дніпропетровськ, 12-13 червня 2015 р. – С. 29.

20. Савченко І.М. Асоціація однонуклеотидного поліморфізму С-1562Т гена MMP-9 з хронічним сальпінгофоритами у жінок з лейоміомою матки // Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини». – Суми, 21 квітня 2016 р. – С. 123.

АНОТАЦІЯ

Савченко І.М. Зв'язок поліморфізму генів матричних металопротеїназ з факторами ризику та механізмами розвитку лейоміоми матки. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Сумський державний університет МОН України, Суми, 2016.

За допомогою полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів визначено частоту алелів і розподіл генотипів за поліморфізмами 1G/2G-1607 гена *MMP-1* і С-1562Т гена *MMP-9* у пацієнток з лейоміомою матки і жінок контрольної групи. Встановлено асоціацію першого поліморфізму з доброякісною пухлиною. Ризик її розвитку в гомозигот за 2G-алелем у 3,2 рази вищий, ніж у гомозигот за алелем 1G. Загальні фактори ризику (наявність пухлин у близьких родичів і факторів атерогенезу: артеріальної гіпертензії, цукрового діабету), а також репродуктивно-гінекологічний статус жінок (пооява менархе до 15 років, гіперполіменорея, ектопія шийки матки та її конізація, запальні процеси в додатках матки, синдром Штейна-Левенталя в репродуктивному віці) впливають на виявлений зв'язок між поліморфними варіантами гена *MMP-1* і доброякісним пухлинним ростом. Не встановлено асоціації С-1562Т гена *MMP-9* з лейоміомою матки і факторами її ризику.

Ключові слова: поліморфізм генів, матричні металопротеїнази, лейоміома матки, фактори ризику, спадкова схильність.

АННОТАЦИЯ

Савченко И.Н. Связь полиморфизма матриксных металлопротеиназ с факторами риска и механизмами развития лейомиомы матки.– На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Сумский государственный университет МОН Украины, Сумы, 2016.

С помощью полимеразной цепной реакции с последующим анализом длины рестрикционных фрагментов определено частоту аллелей и распределение генотипов по полиморфизмам 1G/2G-1607 гена *MMP-1* и C-1562T гена *MMP-9* у пациенток с лейомиомой матки (ЛМ) и женщин контрольной группы.

Установлено, что у больных с ЛМ частота некоторых показателей, характеризующих потенциальные факторы риска опухоли, была более высокой, чем у женщин контрольной группы. Это касалось наличия миомы в прошлом у матерей пациенток (34,3% против 10,7%, $p < 0,001$), сильных и постоянных стрессорных воздействий в быту и на работе (89,9% проти 66,7%, $p < 0,001$), воспалительных процессов в придатках (71,3% проти 38,1%, $p < 0,001$). Не установлено связи между изученными факторами риска ЛМ и локализацией ее узлов.

Частота аллелей и распределение генотипов по полиморфизму 1G/2G-1607 гена *MMP-1* у больных с ЛМ и женщин без опухоли существенно отличались. Соотношение гомозигот по G1-аллели, гетерозигот и гомозигот по 2G-аллели в основной группе составило 8,3%, 47,2% и 44,5%, в то время как в контрольной – 17,8%, 52,4% и 29,8% ($P=0,042$). Частота аллелей и вариантов генотипа по полиморфизму C-1562T гена *MMP-9* при сравнении основной и контрольной групп не имели статистически значимых различий.

Выявлена ассоциация между аллельным полиморфизмом 1G/2G-1607 гена *MMP-1* и развитием ЛМ. Риск доброкачественного опухолевого процесса в миометрии у гомозигот по 2G-аллели в 3,2 раза выше, чем у гомозигот по аллели 1G ($P=0,017$). Связи полиморфизма C-1562T гена *MMP-9* с развитием ЛМ не установлено.

Различия в распределении генотипов по полиморфизму 1G/2G-1607 гена *MMP-1* у пациенток с ЛМ и женщин без опухоли выявлены в некоторых подгруппах, образованных с учетом наличия общих эндо- и экзогенных факторов риска, а именно: у не имеющих близких родственников с онкологическими болезнями ($P=0,020$), не болеющих сахарным диабетом ($P=0,049$), имеющих артериальную гипертензию ($P=0,042$); у тех, у кого не выявлены нарушения мозгового и коронарного кровообращения ($P=0,030$); у Rh-положительных особей ($P=0,047$). У женщин с артериальной гипертензией наличие генотипа 2G/2G увеличивает риск ЛМ в 6,3 раза, если сравнивать с носителями генотипа 1G/1G ($P=0,026$).

Распределение генотипов по полиморфизму 1G/2G-1607 гена *MMP-1* существенно отличается у пациенток с ЛМ и женщин без опухоли только у тех, у кого менархе произошла в возрасте до 15 лет ($P=0,005$), у которых не было гиперполименореи ($P=0,016$), у которых, по данным анамнеза, были эктопия шейки матки ($P=0,004$), ее конизация ($P=0,027$), воспалительные процессы в придатках ($P=0,023$), синдром Штейна-Левенталя в репродуктивном возрасте ($P=0,009$). У женщин, у которых первая менструация произошла до 15 лет, носительство 2G-

аллели существенно увеличивает риск ЛМ по сравнению с гомозиготами по основной аллели 1G (у гетерозигот – в 4,9 раза, у гомозигот по 2G-аллели – в 6,9 раза).

Соотношение генотипов по полиморфизму 1G/2G-1607 гена *MMP-1* существенно отличается у пациенток с разной локализацией опухолевых узлов. При интрамуральном и субсерозном их расположении частота гетерозигот и гомозигот по 2G-аллели была более высокой, чем при субмукозной локализации опухоли ($P=0,005$). Не выявлено связи полиморфных вариантов гена *MMP-1* с типом опухолевого процесса, скоростью роста опухоли и наличием сопутствующей гиперплазии эндометрия. Генотип больных с ЛМ существенно не влиял на толщину эндометрия и частоту основных клинических симптомов заболевания (менорагии, метрорагии, тазовые боли, иррадиацию боли в мочевого пузыря).

Аллельный полиморфизм C-1562T гена *MMP-9* не связан с развитием ЛМ ни в одной категории женщин, выделенных по наличию и отсутствию потенциальных общих эндо- и экзогенных факторов риска опухоли, а также по репродуктивному и гинекологическому статусу обследованных.

Ключевые слова: полиморфизм генов, матриксные металлопротеиназы, лейомиома матки, факторы риска, наследственная предрасположенность.

ANNOTATION

Savchenko I.N. Association of matrix metalloproteinases genes polymorphism with risk factors and mechanisms of uterine leiomyoma development.– Manuscript.

The dissertation for the degree of candidate of medical sciences on specialty 14.03.04 - pathological physiology. – Sumy State University, Sumy, 2016.

In this study, using polymerase chain reaction with subsequent analysis of restriction fragment length, the allele frequency and genotype distribution of polymorphic 1G/2G-1607 variants of *MMP-1* gene and polymorphic C-1562T variants of *MMP-9* gene in patients with uterine leiomyoma (UL) and women of the control group were defined. The first of the above mentioned polymorphisms was established to be associated with UL. In 2G-homozygotes risk of this benign tumor was 3.2-fold higher than in 1G-homozygous women.

General risk factors such as presence of cancer in close relatives, some factors of atherogenesis (hypertension, diabetes), as well as reproductive and gynecological status of women (the appearance of menarche to 15 years, hyperpolymenorrhea, cervical ectopia and conization, inflammatory processes in adnexa uteri, Stein-Leventhal syndrome in reproductive age) affected the relationship between the polymorphic variants of the *MMP-1* gene and benign tumor growth.

There was no association between C-1562T polymorphism of *MMP-9* gene and UL as well as its risk factors.

Key words: gene polymorphism, matrix metalloproteinases, uterine leiomyoma, risk factors, genetic predisposition.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЛМ – лейомиома матки; *MMP-1* – ген матриксної металопротеїнази 1-го типу; *MMP-9* – ген матриксної металопротеїнази 9-го типу; SNP – single nucleotide polymorphism