

Association of *MMP-2(rs7201)* and *MMP-9(rs17576)* genetic polymorphisms with the risk of endometriosis

Raziyeh Gooshki¹ , Leila Kohan^{1,2*} 

¹Dept of Biology, Arsanjan branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran

²Yong researchers and elite club, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran

Article Info

Article type:

Research article

Article History:

Received: Jul. 09, 2023

Revised: Jan. 14, 2024

Accepted: Apr. 22, 2024

Published Online: July.
30,2024

* Correspondence to:

Leila Kohan

Dept of Biology, Arsanjan
branch, Islamic Azad
University, Arsanjan, Iran
Yong researchers and elite
club, Arsanjan Branch,
Islamic Azad University,
Arsanjan, Iran

Email:

Leila.Kohan@iau.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: Endometriosis (EMS) is a female reproductive system disease in which uterine-like cells grow in other areas of the body and outside the uterus. Matrix metalloproteinases (MMPs) play a major role in the degradation of the extracellular matrix and the pathogenesis of endometriosis. The present study is the first to investigate the possible association of *MMP-2* (rs7201) and *MMP-9* (rs17576) genetic variants with susceptibility to EMS in Iran.

Material & Methods: This case-control study was performed on 100 healthy control women and 100 patients with EMS. The *MMP-2* and *MMP-9* genotypes were determined using the Tetra amplification-refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) Technique. Data were analyzed in SPSS software.

Results: There were statistically significant differences in the distribution of *MMP-9* AG (OR: 4.11, 95% CI: 2.13-7.91, P<0.001) and GG (OR: 11.33, 95% CI: 4.23-30.3; P<0.001) genotypes between the control and patient groups. The *MMP-9* G allele was associated with an increased risk of endometriosis (P<0.001). Moreover, a significant association was detected between *MMP-2* rs7201 polymorphism and EMS. *MMP-2* AC genotype had a protective effect on endometriosis (OR: 0.27, 95% CI: 0.15-49%; P<0.001), and the *MMP-2* A allele was associated with decreased risk of endometriosis (P<0.001).

Discussion & Conclusion: As evidenced by the results of this study, *MMP-9* rs17576 and *MMP-2* rs7201 polymorphisms were associated with EMS in the studied population in Iran. Further studies with larger samples of different ethnicities need to confirm these results.

Keywords: Endometriosis, *MMP-9*, *MMP-2*, rs7201, rs17576

How to cite this paper

Gooshki R, Kohan L. Association of *MMP-2(rs7201)* and *MMP-9(rs17576)* genetic polymorphisms with the risk of endometriosis. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2024;32(3): 65-75.



همراهی میان چندشکلی‌های ژنتیکی *MMP-2(rs7201)* و *MMP-9(rs17576)* و ابتلا به بیماری اندومتريوز

راضیه گوشکی^۱، لیلا کهن^{۱*} ID

^۱ گروه زیست‌شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران
^۲ باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۱۸

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۳

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۵/۰۹

مقدمه: اندومتريوز (EMS) یکی از بیماری‌های دستگاه تولیدمثل زنان است که در آن، سلول‌های شبه‌رحم در دیگر نواحی بدن و خارج از رحم رشد می‌کنند. ماتریکس متالوپروتئینازها (MMPها) نقش مهمی در تخریب ماتریکس خارج سلولی و پاتوژنز اندومتريوز دارند. مطالعه حاضر اولین پژوهش برای بررسی ارتباط احتمالی میان واریانت‌های ژنتیکی *MMP-2 rs7201* و *MMP-9 rs17576* و خطر ابتلا به اندومتريوز در ایران است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد-شاهدی روی ۱۰۰ زن سالم و ۱۰۰ بیمار مبتلا به EMS انجام شد. تعیین ژنوتیپهای *MMP-9* و *MMP-2* با استفاده از تکنیک Tetra ARMS PCR انجام گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS صورت گرفت.

یافته‌های پژوهش: اختلاف آماری معنی‌داری در توزیع ژنوتیپهای *MMP-9 AG* ($P < 0.001$)، $95\% CI: 2.13-7.91$ ، $OR: 4.11$ و GG ($P < 0.001$)، $95\% CI: 4.23-30.3$ ، میان گروه کنترل و بیمار وجود داشت و آلل *MMP-9 G* با افزایش خطر ابتلا به اندومتريوز همراه بود ($P < 0.001$)؛ همچنین ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم *MMP-2 rs7201* و EMS مشاهده شد. ژنوتیپ *MMP-2 AC* اثر حفاظتی بر اندومتريوز داشت ($P < 0.001$) و آلل *MMP-2 A* با کاهش خطر ابتلا به اندومتريوز همراه بود ($P < 0.001$).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم‌های *MMP-9 rs17576* و *MMP-2 rs7201* و خطر ابتلا به اندومتريوز در جمعیت مطالعه‌شده در ایران را نشان داد. برای تأیید نتایج این مطالعه، به مطالعات دیگری با تعداد نمونه بیشتر در گروه‌های نژادی مختلف نیاز است.

نویسنده مسئول:

لیلا کهن

گروه زیست‌شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران
 باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران

Email:

Leila.Kohan@iau.ac.ir

واژه‌های کلیدی: اندومتريوز، *MMP-9*، *MMP-2*، *MMP-9 rs17576*، *MMP-2 rs7201*

استناد: گوشکی رضیه، کهن لیلا. همراهی میان چندشکلی‌های ژنتیکی *MMP-2 rs7201* و *MMP-9 rs17576* و ابتلا به بیماری اندومتريوز. مجله

دانشگاه علوم پزشکی ایلام، مرداد ۱۴۰۳؛ ۳۲(۳): ۶۵-۷۵.



مطالعات نشان داده است که *MMP-2* و *MMP-9* در مایعات فولیکولی اثر مستقیم بر رشد فولیکول و پارگی دیواره فولیکول طی چرخه قاعدگی دارد (۹). *MMP-9* یک پروتئین ۹۲ کیلو دالتونی با فعالیت پروتئازی است که سوبسترای اصلی آن ماتریکس خارج سلولی و اتصالات بافت غشای پایه است (۱۰). پروتئین ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ ژلاتیناز نوع A است که ژن کدکننده آن در انسان بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۶، موقعیت q12۱۶ قرار دارد. این آنزیم‌های پروتئولیتیک نقش مهمی در کنترل وقایع تولیدمثلی همچون تخمک گذاری، لانه‌گزینی جنین، تنظیم سیکل‌های قاعدگی و تکثیر آندومتر بر عهده دارند (۱۲). بر اساس مطالعات انجام‌شده، بیان *MMP-2* در آندومتر به نسبت به بافت‌های یوتویک طبیعی افزایش می‌یابد (۱۳)؛ همچنین محققان نشان داده‌اند که برای تهاجم توموری و آنژیوژنز حضور *MMP-9* در سطح سلول لازم و ضروری است (۱۴). افزایش بیان *MMP-9* در بیماران آندومتریوز باعث می‌شود که بافت آندومتر در زنان مبتلا به آندومتریوز نسبت به زنان سالم مورد تهاجم قرار گیرد؛ بنابراین به نظر می‌رسد که *MMP-9* نقش مهمی در پیشرفت آندومتریوز ایفا می‌کند (۱۳). پلی‌مورفیسم ژنی *MMP-9* rs17576 یک پلی‌مورفیسم عملکردی در اگرون ۶ ژن *MMP-9* است (۱۵). پلی‌مورفیسم ژنی rs7201 *MMP-2* در جایگاه اتصال miR-520 در ناحیه 3' UTR ژن *MMP-2* قرار دارد. miRNA520 با اتصال به جایگاه خود بیان *MMP-2* را غیرفعال می‌کند (۱۶). با توجه به اهمیت نقش عملکردی *MMP*، مطالعه حاضر به بررسی نقش دو پلی‌مورفیسم عملکردی rs7201 در ژن *MMP-2* و rs17576 در ژن *MMP-9* و خطر ابتلا به آندومتریوز پرداخته است.

مواد و روش‌ها

جمعیت پژوهش شامل ۲۰۰ زن (۱۰۰ زن مبتلا به EMS و ۱۰۰ زن سالم به‌عنوان گروه شاهد) بودند که از لحاظ سن و جنس همسان‌سازی گردیدند. نمونه خون مربوط به گروه‌های کنترل و بیمار از بیمارستان زینبیه شیراز گرفته شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل تشخیص بیماری آندومتریوز توسط پزشک متخصص و رضایت افراد برای شرکت در

آندومتریوز (EMS) یک بیماری خوش‌خیم و مربوط به زنان است که ۵-۱۰ درصد از زنان جهان در سن باروری به آن مبتلا می‌شوند (۱). این بیماری را می‌توان به‌صورت وجود بافت طبیعی آندومتر در خارج از حفره رحم به‌ویژه لوله‌های فالوپ، تخمدان‌ها یا لگنچه تعریف کرد. اگرچه علائم بیماری متفاوت است؛ اما رایج‌ترین آن‌ها شامل درد لگنچه‌ای، پیوندهای دردناک و گاهی ناباروری است.

آندومتریوز یک بیماری پلی‌ژنتیک است که برهم‌کنش ژن‌ها از یک‌سو و برهم‌کنش عوامل محیطی از سوی دیگر بر بروز آن مؤثر است (۲). نظریه‌های متعددی برای توضیح علت ایجاد آندومتریوز پیشنهاد شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به کاشته شدن نابجای بافت آندومتر، متاپلازی سلومیک، نظریه بیماری‌های خودایمنی، نظریه انتشار عروقی، عامل‌های هورمونی، آلودگی محیط‌زیست و زمینه‌های ژنتیکی در ابتلا به بیماری آندومتریوز اشاره کرد (۳).

ماتریکس متالوپروتئینازها (*MMP*) خانواده‌ای از آندوپتیدازهای وابسته به روی هستند که نقش مهمی در تخریب و تغییر ماتریکس خارج سلولی دارند (۴). مطالعات نشان داده است که *MMP*‌ها در رشد، تکامل و آنژیوژنز نقش حیاتی ایفا می‌کنند. *MMP-2* و *MMP-9* از مهم‌ترین *MMP*‌هایی هستند که در فرایند مهاجرت سلولی و تهاجم دخالت دارند. این دو نوع *MMP* کلاژن تیپ IV را تخریب می‌کنند که ماده اصلی غشای پایه است (۵). آندومتریوز با تخمک‌گذاری نکردن، تکامل و رشد غیرطبیعی تخمک و کاهش میزان استرادیول پیش از مرحله تخمک‌گذاری همراه است (۶). این عوامل موجب می‌شوند که مراحل فولیکولوژنز، لقاح و لانه‌گزینی جنین در خانم‌هایی که در مرحله پیشرفت بیماری هستند، دچار مشکل گردد. برای چسبیدن، تهاجم و گسترش قطعات آندومتریال، باید تغییر وضع وسیعی در لایه مزوتلیال صفاقی وجود داشته باشد که همانند قاعدگی طبیعی، این تغییر وضع نیازمند فعال شدن *MMP*‌ها است (۷). *MMP*‌ها بافت آندومتری مهاجم را قادر می‌سازد تا ماتریکس صفاقی و بافت پیوندی زیرین آن را هضم کند (۸).

برای طراحی پرایمرهای Tetra ARMS PCR، ابتدا توالی‌های ژنومیک ژن‌های MMP-۲ و MMP-۹ به همراه توالی اطراف ناحیه پلی مورفیک مدنظر به منظور طراحی پرایمرها از سایت اینترنتی NCBI دریافت گردید؛ سپس به کمک نرم افزار طراحی پرایمر و سرویس اطلاعاتی آنلاین که در سال ۲۰۱۲ توسط Colics and Ke معرفی شده (۱۷) و در سایت اینترنتی <http://primer1.soton.ac.uk/primer1.html> موجود است، پرایمرهای داخلی و خارجی Tetra ARMS PCR طراحی گردیدند. توالی پرایمرهای استفاده شده در جدول شماره ۱ آمده است.

مطالعه و معیارهای خروج از مطالعه نیز عدم تشخیص اندومتريوز، سابقه کارسینوماى اندومتر، یائسگی و نبود اطلاعات بالینی کافی بود. گروه کنترل نیز از افرادی انتخاب شده‌اند که مشکل جسمی و ایمونولوژی نداشته‌اند و از اعضای خانواده بیماران گروه مورد نبودند. این تحقیق در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد واحد ارسنجان با شناسه اخلاق IR.IAU.A.REC.1399.013 به تصویب رسیده است. پس از استخراج DNA از خون محیطی به روش salting out، تکنیک Tetra ARMS PCR برای تشخیص وجود پلی مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) استفاده شد.

جدول شماره ۱. پرایمرهای استفاده شده برای انجام Tetra ARMS PCR

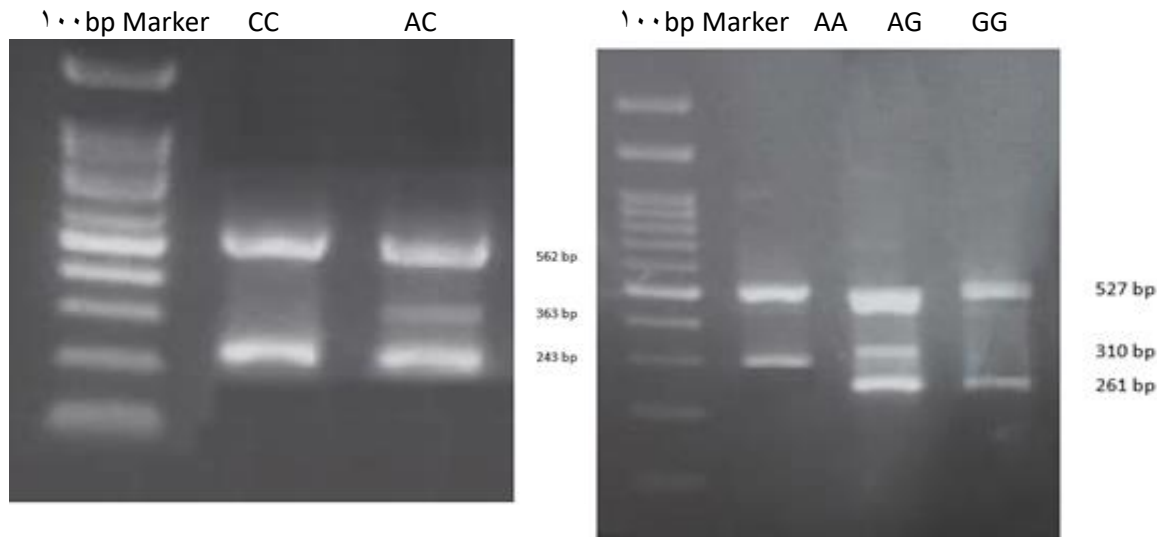
پلی مورفیسم	Primers	Sequence(5'to3')	دمای انلینگ
MMP-9 rs17567	FI(Callele): RI(A allele): FO RO	CGCCCCAGGACTCTACACACG GTTTCCCATCAGCATTGCCGTA CTTCTGCCCCAGCGAGAGTGAG TGGGAGGGAAGAGCCGCGTTTTG	۶۶° C
MMP-2 rs7201	FI(Callele): RI(A allele): FO RO	CAGAGCCACCCCTAAAGAGGTC GGCTGCGTTGAAAATATCAAGGT GCCTATTACCTGAAGCTGGAGAAC TAAGGCAGCCAGCAGTGAAAAG	۶۲° C

به منظور تعیین ژنوتیپ از ژل آگارز و دستگاه تصویربرداری از ژل استفاده گردیده است (شکل شماره ۱).

مواد مورد نیاز برای انجام Tetra ARMS PCR برای rs7201 و rs17567 به ترتیب در جدول شماره ۲ آورده شده است؛ همچنین پس از انجام تکنیک Tetra ARMS PCR،

جدول شماره ۲. میزان مواد مورد نیاز برای تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم MMP-2 rs7201 و MMP-9 rs1757

ماده	حجم مورد نیاز μ l MMP-2 rs7201	حجم مورد نیاز μ l MMP-9 rs1757
D.W	۰/۲۵	۲/۷۵
Master mix (ampliqon)	۶/۲۵	۶/۲۵
FO	۰/۵	۰/۲۵
RO	۰/۵	۰/۲۵
FI	۲	۱
RI	۲	۱
DNA	۱	۱
حجم نهایی	۱۲/۵	۱۲/۵



شکل شماره ۱. تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم‌های مطالعه‌شده با استفاده از تکنیک Tetra-ARMS PCR

مطالعه‌شده، الگوی باندهای حاصل بر روی ژل آگارز ۲ درصد مطابق شکل شماره ۱ بود. در مورد rs7201 برای آلل C قطعه ۲۴۳ bp، آلل A قطعه ۳۶۳ bp و کنترل داخلی قطعه ۵۶۲ bp روی ژل مشاهده شد، درحالی‌که پلی مورفیسم rs17576 برای آلل G قطعه ۲۶۱ bp، آلل A قطعه ۳۱۰ bp و کنترل داخلی قطعه ۵۲۷ bp را تولید کرد. برای حدود ۲۰ درصد از نمونه‌ها مجدداً Tetra ARMS PCR انجام و نتایج تأیید گردید.

بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم *MMP-9* و ابتلا به اندومتریوز: توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم *MMP-9* در دو گروه بیمار و کنترل در جدول شماره ۳ آمده است. بررسی توزیع ژنوتیپ‌ها نشان داد که گروه کنترل در تعادل هاردی-واینبرگ است ($\chi^2=2.41$ و $df=1$, $P=0.12$).

اختلاف آماری معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ‌های AG (OR: 4.11, 95% CI: 2.13-7.91, $P<0.001$) و GG (OR: 11.33, 95% CI: 4.23-30.3, $P<0.001$) میان گروه کنترل و بیمار وجود داشت، به طوری‌که این ژنوتیپ‌ها افزایش خطر ابتلا به اندومتریوز را نشان می‌دادند. علاوه بر این، مشخص شد که حاملان آلل G در خطر بیشتری برای ابتلا به اندومتریوز هستند (OR: 2.72-6.68, 95% CI: 2.72-6.68, $P<0.001$). (4.26)

برای اطمینان از خوانش صحیح و تکرارپذیری ژنوتیپ‌ها، حدود ۲۰ درصد نمونه‌ها دوباره تعیین ژنوتیپ شدند. در نهایت، ارتباط میان استعداد ابتلا به EMS و پلی مورفیسم‌های مطالعه‌شده با استفاده از آنالیز آماری کای اسکوئر (χ^2)، رگرسیون لجستیک و محاسبه OR با فاصله اطمینان ۹۵ درصد انجام گردید؛ همچنین به منظور مقایسه میانگین‌ها، از آزمون T استفاده شد. تحلیل‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS vol.20 صورت گرفته است.

یافته‌های پژوهش

ویژگی‌های افراد مطالعه‌شده: تعداد کل افراد مطالعه‌شده در این تحقیق ۲۰۰ نفر، دامنه سنی افراد ۶۰-۱۷ سال و میانگین (انحراف معیار) سنی جمعیت مطالعه‌شده (۷/۷۸) (۳۳/۳۴) سال بود. مطالعه به صورت مورد-شاهدی انجام شد که در آن، ۱۰۰ زن مبتلا به اندومتریوز و ۱۰۰ زن سالم به عنوان گروه کنترل، باهم مقایسه گردیدند. در گروه بیمار، ۳۹ نفر از افراد در مرحله I و II و ۶۱ نفر در مرحله III و IV بیماری اندومتریوز بودند. مقایسه میانگین سنی در دو گروه کنترل (۳۱/۷±۷/۴۱) سال و بیمار (۳۲/۹۱±۸/۰۷) سال نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری میان میانگین سنی دو گروه مطالعه‌شده وجود ندارد ($P=0.1$).

تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم‌های *MMP-2* rs7201 و *MMP-9* rs17576: پس از تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم‌های

جدول شماره ۳. بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم *MMP-9* و خطر ابتلا به اندومتريوز

<i>MMP-9</i>	گروه کنترل	گروه مورد	OR (95% CI)	P
هم بارز				
AA	۶۸	۲۸	۱	-
AG	۲۶	۴۴	۴/۱۱ (۲/۱۳-۷/۹۱)	<۰/۰۰۱
GG	۶	۲۸	۱۱/۳۳ (۴/۲۳-۳۰/۳۶)	<۰/۰۰۱
غالب				
AA	۶۸	۲۸	۱	-
AG+GG	۳۲	۷۲	۵/۴۶ (۲/۹۸-۱۰/۰۱)	<۰/۰۰۱
مغلوب				
AA+AG	۹۴	۷۲	۱	
GG	۶	۲۸	۶/۰۹ (۲/۴۰-۱۵/۴۰)	<۰/۰۰۱
آلل				
A	۱۶۲ (۸۱ درصد)	۱۰۰ (۵۰ درصد)	۱	-
G	۳۸ (۱۹ درصد)	۱۰۰ (۵۰ درصد)	۴/۲۶ (۲/۷۲-۶/۶۸)	<۰/۰۰۱

گروه کنترل و بیمار اختلاف آماری معنی داری را نشان داد. نتایج نشان می‌دهند که افراد دارای ژنوتیپ AC در خطر کمتری برای ابتلا به اندومتريوز هستند ($P < 0.001$ ، 95% CI: 0.15-0.49، OR: 0.27). علاوه بر این، آلل A اثر حفاظتی علیه بیماری اندومتريوز دارد ($P < 0.001$ ، 95% CI: 0.25-0.66، OR: 0.41).

بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم *MMP-2* و ابتلا به اندومتريوز: فراوانی ژنوتیپ‌های CC و AC در گروه کنترل به ترتیب ۳۸ و ۶۲ و در گروه بیمار به ترتیب ۶۹ و ۳۱ بود. ژنوتیپ AA در جمعیت مطالعه شده مشاهده نگردید. بررسی توزیع ژنوتیپ‌ها نشان داد که گروه کنترل در تعادل هاردی-واینبرگ نیست ($\chi^2 = 20.18$ و $df = 1$ ، $P = 0.0007$). همان‌طور که در جدول شماره ۴ دیده می‌شود، فراوانی ژنوتیپ AC در

جدول شماره ۴. بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم *MMP-2* و خطر ابتلا به اندومتريوز

<i>MMP-2</i>	گروه کنترل (درصد)	گروه بیمار (درصد)	OR (95% CI)	P
ژنوتیپ				
CC	۳۸	۶۹	رفرنس	-
AC	۶۲	۳۱	۰/۲۷ (۰/۱۵-۰/۴۹)	<۰/۰۰۱
آلل				
C	۱۳۸ (۶۹ درصد)	۱۶۹ (۸۴ درصد)	رفرنس	-
A	۶۲ (۳۱ درصد)	۳۱ (۱۶ درصد)	۰/۴۱ (۰/۰-۲۵/۶۶)	<۰/۰۰۱

MMP-9 و *MMP-2* با rs17576 خطر ابتلا به اندومتريوز بررسی شد و نتایج نشان داد که این دو پلی مورفیسم عملکردی

بحث و نتیجه‌گیری
در مطالعه حاضر، ارتباط پلی مورفیسم‌های rs7201

در سال ۲۰۱۴ دریافتند که با کاهش هورمون گنادوتروپین جفتی، TIMP1 و MMP-9 ترشح می‌شود؛ بنابراین، حملهٔ تروفوبلاست به آندومتر مادر در شرایط آزمایشگاهی تسهیل می‌گردد که این امر نقش مهمی در لانه‌گزینی دارد (۲۲). آثار نامطلوب بیماری آندومتر یوز بر کیفیت مایع فولیکولی اطراف تخمک سبب می‌شود، رشد تخمک ضعیف گردد و تشکیل جنین با مشکل مواجه شود (۷). سطح بالای بیان MMP-2 طی بیماری آندومتر یوز می‌تواند محیط اطراف و مایع فولیکولی تخمک را تحت تأثیر قرار دهد و باعث ناباروری حاصل از آندومتر یوز گردد (۲۵). اسکزی پیزاک و همکارانش در سال ۲۰۰۷، با بررسی غلظت TIMP و MMP-9 و سایر عامل‌ها در مایع رحمی زنان مبتلا به ناباروری و سقط‌های مکرر ناشناخته دریافتند که تغییر در عملکرد ماتریکس خارج سلولی ممکن است علتی بر تغییر حالت نامناسب آندومتر باشد (۲۶). در مطالعهٔ حاضر، بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم ۷۲۰۱ rs و خطر ابتلا به آندومتر یوز نشان داد، فراوانی ژنوتیپ AC در گروه کنترل و بیمار اختلاف آماری معنی‌داری نشان می‌دهد. علاوه بر این، آلل A اثر حفاظتی علیه بیماری آندومتر یوز دارد. جایگاه پلی‌مورفیسم ژنی rs7201 در انتهای ۳ ژن MMP-2 است که محل اتصال miR ۵۲۰- است و بنابراین می‌تواند از طریق تغییر در محل اتصال این microRNA بیان ژن MMP-2 را تحت تأثیر قرار دهد. مطالعات پیشین نشان دادند که در حضور آلل A، microRNA-520 می‌تواند به ناحیهٔ ۳' UTR محصول mRNA این ژن متصل شود و تنظیم منفی بر بیان آن داشته باشد، درحالی‌که حضور آلل C در این جایگاه، با از دست رفتن تنظیم بیان ژن و در نتیجه، افزایش سطح بیان MMP-2 همراه است (۱۶). MMP-2 به‌طور معمول کلاژن نوع‌های (IV, V, VII, X, XI)، فیبرونکتین، الاستین و ژلاتین را تخریب می‌کند. به‌طور خاص، MMP-2 مسئول تخریب کلاژن نوع IV (یکی از اجزای مهم غشای پایه) است. زاهراه و همکاران در سال ۲۰۲۱ نشان دادند که بیان ژن MMP-2 در بافت صفاقی آندومتر یوز افزایش می‌یابد و این افزایش مرتبط با تغییرات اپی‌ژنتیک نظیر متیلاسیون DNA نیست (۲۷). تسای و همکاران در سال ۲۰۱۳، نقش واریانت

با ابتلا به آندومتر یوز مرتبط هستند. در مطالعات پیشین گزارش شده که آندومتر یوز با تخمک‌گذاری نکردن، تکامل و رشد غیرطبیعی تخمک و کاهش میزان استرادیول پیش از مرحلهٔ تخمک‌گذاری همراه است (۷). در طول هر چرخهٔ جنسی، تکامل فولیکول‌ها، تخم‌گذاری و به‌دام افتادن تخمک ناکامل در تخمدان به چرخهٔ بازآرایی ماتریکس‌های خارج سلولی (ECM) وابسته است. این تغییرات در محیط خارج سلولی تخمدان‌ها بر عهدهٔ MMPها است (۱۸). MMPها بافت آندومتری مهاجم را قادر می‌سازند تا ماتریکس خارج سلولی صفاقی و بافت پیوندی زیرین آن را هضم کنند؛ در نتیجه، افزایش سطح MMPها در بافت نابجای آندومتر یوزی باعث تشدید فعالیت‌های رنگ‌زایی و متاستازی در بافت مدنظر می‌شود و موجب عود بیماری می‌گردد (۱۹). رشد فولیکول در اولین مرحلهٔ فولیکولی با تکثیر سلول‌های گرانولوزا و تخریب غشای پایهٔ میان‌بخش‌های گرانولوزا آغاز می‌شود. تعداد فولیکول‌های بالغ تقریباً ۴۰۰ برابر بیشتر از فولیکول‌های پیش‌ساز اولیه است (۲۰). مشخص شده است که MMP-2 و MMP-9 در مایعات فولیکولی بر رشد فولیکول و پارگی دیوارهٔ فولیکول طی چرخهٔ قاعدگی اثر مستقیم دارد (۲۱). محل قرارگیری mRNهای ژلاتینازهای MMP-2 و MMP-9 در لایهٔ پوششی فولیکول‌های در حال رشد و به سمت استروما است؛ همچنین کیفیت فولیکول‌های در حال رشد و ترشح MMP-9 به هم وابسته هستند (۲۲).

مایع فولیکولی محیط مناسبی برای رشد تخمک است؛ اما سرشار از آنزیم‌های پروتئولیتیک از جمله متالوپروتینازها مانند کلاژن نوع IV است که برای تحلیل غشای پایهٔ سلول‌های گرانولوزا ضروری است. طی فرایند تخمک‌گذاری تحت تأثیر LH، مقدار ممانعت‌کننده‌های متالوپروتین تغییر می‌یابد و به فعال شدن متالوپروتینازها از جمله کلاژن نوع IV منجر می‌شود (۲۳). کو و همکارانش در سال ۲۰۱۱ دریافتند که نبود تعادل میان MMPs و مهارکننده‌های آن‌ها یا TIMPs در مکان‌هایی که لانه‌گزینی نابجا وجود دارد، ممکن است به تخریب زیان‌آور گسترده‌ای از ماتریکس خارج سلولی منجر گردد (۲۴) تا پیا و همکارانش

های ژنی *MMP-2* را در بروز اندومتريوز بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که rs243832 و rs7201 از ریسک فاکتورهای اندومتريوز است و با ابتلا به آن ارتباط دارد. آنان همچنین دریافتند که miR5۲۰- و پلی مورفیسم rs7201 در تنظیم بیان ژن *MMP-2* نقش مهمی دارند و خطری برای ابتلا به اندومتريوز محسوب می‌شوند (۱۶). چانگ و همکاران (۲۰۰۲) افزایش بیان *MMP-2* در آندومتر زنان مبتلا به اندومتريوز را نشان دادند و همچنین پیشنهاد کردند که بیان *MMP-2* در بیماران مبتلا به اندومتريوز تغییر کرده است، به گونه‌ای که سطح بیان آن با افراد طبیعی متفاوت است؛ از این رو، اهمیت *MMP-2* در پاتوژنز اندومتريوز را نشان دادند (۲۸).

MMP-9 تنها عضوی است که قابلیت هضم ژلاتین (یکی از مهم‌ترین ترکیبات بافت غشای پایه) را دارد (۱۰). سلیم و همکاران سطح بسیار بالایی از *MMP-9* در سلول‌های آندومتر بیماران مبتلا به اندومتريوز را گزارش کردند. آنان بیان کردند، افزایش بیان *MMP-9* در اندومتريوز نشان می‌دهد که بافت آندومتر ممکن است ذاتاً تهاجمی باشد (۲۹). علاوه بر این، لیو و همکاران با بررسی ۱۰۰ بیمار مبتلا به اندومتريوز گزارش کردند که سطح *MMP-9* در سرم و بافت آندومتريوم بیماران مبتلا به اندومتريوز بیشتر از افراد سالم است (۳۱)؛ همچنین عرابلو و همکاران در سال ۲۰۲۱ گزارش کردند که ماده‌ای به نام ریسوراترول می‌تواند با کاهش بیان VEGF، $TGF-\beta$ و *MMP-9* مانع پیشرفت آندومتريوز در سلول‌های استرومایی آندومتر باشد (۳۲). ژن *MMP-9* در ناحیه کروموزومی q11-q13۲۰ قرار دارد و پلی مورفیسم rs17576 در آگزون شماره ۶ نوکلئوتید ۸۳۶ باعث تغییر اسید آمینه گلوتامین به آرژنین در موقعیت ۲۷۹ این پروتئین می‌شود که این تغییر روی فعالیت *MMP-9* به‌عنوان کلاژناز تأثیر می‌گذارد (۳۱). در تحقیق حاضر، پلی مورفیسم rs17576A>G به‌عنوان یک پلی مورفیسم عملکردی در بیماران مبتلا به آندومتريوز مطالعه شد و نتایج نشان داد که آلل G در این جایگاه با افزایش خطر ابتلا به آندومتريوز همراه است. از جمله محدودیت‌های مطالعه حاضر کم بودن تعداد نمونه پژوهش به

علت شیوع پایین این بیماری بود که طی بازه زمانی دوساله، علی‌رغم مشاهده پرونده بیمار و تماس تلفنی با بیماران برای اخذ رضایت برای شرکت در مطالعه، تنها تعداد محدودی نمونه حاصل شد. باید متذکر گردید که در مطالعات پلی مورفیسم، طراحی مطالعه با حجم نمونه بالا می‌تواند به بالا بردن قدرت آزمون آماری کمک کند. درباره پلی مورفیسم rs7201 *MMP-2* ذکر این نکته اهمیت دارد که برخوردار نبودن از تعادل هاردی واینبرگ و فراوانی صفر از یک ژنوتیپ AA را می‌توان به حجم پایین نمونه مطالعه شده و فراوانی ناچیز این ژنوتیپ در جمعیت ایرانی نسبت داد؛ زیرا توزیع ژنوتیپ‌های یک پلی مورفیسم می‌تواند تحت تأثیر جمعیت نژادی و شیوه زندگی افراد آن منطقه قرار گیرد. این احتمال وجود دارد که جنسیت نیز در فراوانی توزیع ژنوتیپ‌ها تأثیرگذار بوده باشد (۳۳)؛ زیرا در مطالعات پیشین که در بیماری‌های مشترک میان دو جنس کار شده بود، فراوانی ژنوتیپ AA کم اما صفر نبوده است؛ بنابراین، برای رفع این محدودیت و تأیید نتایج این مطالعه لازم است که تحقیق حاضر در جمعیت‌های وسیع‌تر با تعداد نمونه بیشتر مجدد تکرار گردد.

به‌طور کلی، نتایج مطالعه حاضر بیان‌کننده ارتباط معنی‌دار پلی مورفیسم‌های ژنی *MMP-9* rs17576 و *MMP-2* rs7201 با خطر ابتلا به آندومتريوز است. با توجه به تفاوت شیوه زندگی افراد در جمعیت‌های مختلف بهتر است مطالعه در سطح وسیع‌تر و در جمعیت‌های نژادی متفاوت تکرار و نتایج تأیید شود.

سپاس‌گزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته ژنتیک است که با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان انجام شده و با شناسه اخلاق IR.IAU.A.REC.1399.013 در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد واحد ارسنجان مصوب گردیده است. نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی را از افراد شرکت‌کننده در مطالعه بیان می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان بدین وسیله اعلام می‌دارند هیچ گونه تضاد منافی در تنظیم این مقاله وجود نداشته است.

کد اخلاق

این پژوهش با شناسه اخلاق IR.IAU.A.REC.1399.013 در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان ثبت شد.

حمایت مالی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته ژنتیک است که با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان انجام شده است.

مشارکت نویسندگان

لیلا کهن طراحی مقدماتی مقاله، آنالیز آماری مقاله را انجام داده و مقاله را با دید انتقادی مورد بازبینی قرار داده است و راضیه گوشکی نیز در جمع‌آوری اطلاعات و مراحل آزمایشگاهی و عملی نقش داشته‌اند. نویسندگان، مقاله را در نهایت خوانده و با ارسال آن به مجله علوم پزشکی ایلام موافقت نمودند.

References

- Chen LH, Lo WC, Huang HY, Wu HM. A Lifelong Impact on Endometriosis: Pathophysiology and Pharmacological Treatment. *Int J Mol Sci* 2023;24:7503. doi: 10.3390/ijms24087503.
- Monnin N, Fattet AJ, Kosciński I. Endometriosis: Update of Pathophysiology, (Epi) Genetic and Environmental Involvement. *Biomedicines* 2023;11:978. doi: 10.3390/biomedicines11030978.
- Allaire C, Bedaiwy MA, Yong PJ. Diagnosis and management of endometriosis. *CMAJ* 2023;195:E363-E371. doi : 10.1503/cmaj.220637.
- Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, Ramirez-Acuña JM, Perez-Romero BA, Guerrero-Rodriguez JF, et al. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases. *Int J Mol Sci* 2020;21:9739. doi : 10.3390/ijms21249739.
- Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2017;147:1-73. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.005.
- Czyzyk A, Podfigurna A, Szeliga A, Meczekalski B. Update on endometriosis pathogenesis. *Minerva Ginecol* 2017;69:447-61. doi: 10.23736/S0026-4784.17.04048-5.
- Macer ML, Taylor HS. Endometriosis and infertility: a review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2012;39:535-49. doi: 10.1016/j.ogc.2012.10.002.
- Gaide Chevronnay HP, Selvais C, Emonard H, Galant C, Marbaix E, Henriët P. Regulation of matrix metalloproteinases activity studied in human endometrium as a paradigm of cyclic tissue breakdown and regeneration. *Biochim Biophys Acta* 2012;1824:146-56. doi: 10.1016/j.bbapap.2011.09.003.
- Mousazadeh S, Ghaheri A, Shahhoseini M, Aflatoonian R, Afsharian P. The Effect of Imbalanced Progesterone Receptor-A/-B Ratio on Gelatinase Expressions in Endometriosis. *Int J Fertil Steril* 2019;13:127-34. doi: 10.22074/ijfs.2019.5604.
- Vandooren J, Van den Steen PE, Opendakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9): the next decade. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2013;48:222-72. doi: 10.3109/10409238.2013.770819.
- Yang WJ, Liu FC, Hsieh JS, Chen CH, Hsiao SY, Lin CS. Matrix metalloproteinase 2 level in human follicular fluid is a reliable marker of human oocyte maturation in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Reprod Biol Endocrinol* 2015;13:102. doi: 10.1186/s12958-015-0099-8.
- Hadler-Olsen E, Fadnes B, Sylte I, Uhlin-Hansen L, Winberg JO. Regulation of matrix metalloproteinase activity in health and disease. *FEBS J* 2011;278:28-45. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07920.x.
- Chung HW, Wen Y, Chun SH, Nezhat C, Woo BH, Lake Polan M. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 mRNA expression in ectopic and eutopic endometrium in women with endometriosis: a rationale for endometriotic invasiveness. *Fertil Steril* 2001;75:152-9. doi: 10.1016/s0015-0282(00)01670-8.
- Huang H. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a Cancer Biomarker and MMP-9 Biosensors: Recent Advances. *Sensors* 2018;18:3249. doi: 10.3390/s18103249.
- Yuan M, Zhan Q, Duan X, Song B, Zeng S, Chen X, et al. A functional polymorphism at miR-491-5p binding site in the 3'-UTR of MMP-9 gene confers increased risk for atherosclerotic cerebral infarction in a Chinese population. *Atherosclerosis* 2013;226:447-52. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.11.026.
- Tsai EM, Wang YS, Lin CS, Lin WY, Hsi E, Wu MT, et al. A microRNA-520 mirSNP at the MMP2 gene influences susceptibility to endometriosis in Chinese women. *J Hum Genet* 2013;58:202-9. doi: 10.1038/jhg.2013.1.
- Collins A, Ke X. Primer1: primer design web service for tetra-primer ARMS-PCR. *Open Bioinform J* 2012;6:55-8. doi: 10.2174/1875036201206010055.
- Curry TE Jr, Osteen KG. The matrix metalloproteinase system: changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle. *Endocr Rev* 2003;24:428-65. doi: 10.1210/er.2002-0005.
- Gaide Chevronnay HP, Selvais C, Emonard H, Galant C, Marbaix E, Henriët P. Regulation of matrix metalloproteinases activity studied in human endometrium as a paradigm of cyclic tissue breakdown and regeneration. *Biochim Biophys Acta* 2012;1824:146-56. doi: 10.1016/j.bbapap.2011.09.003.
- Nagyová E, Němcová L, Camaioni A. Cumulus Extracellular Matrix Is an Important Part of Oocyte Microenvironment in Ovarian Follicles: Its Remodeling and Proteolytic Degradation. *Int J Mol Sci* 2021;23:54. doi: 10.3390/ijms23010054.

21. Mousazadeh S, Ghaheri A, Shahhoseini M, Aflatoonian R, Afsharian P. The Effect of Imbalanced Progesterone Receptor-A/B Ratio on Gelatinase Expressions in Endometriosis. *Int J Fertil Steril* 2019;13:127-34. doi: 10.22074/ijfs.2019.5604.
22. Tapia-Pizarro A, Figueroa P, Brito J, Marín JC, Munroe DJ, Croxatto HB. Endometrial gene expression reveals compromised progesterone signaling in women refractory to embryo implantation. *Reprod Biol Endocrinol* 2014;12:92. doi: 10.1186/1477-7827-12-92.
23. McCord LA, Li F, Rosewell KL, Brännström M, Curry TE. Ovarian expression and regulation of the stromelysins during the periovulatory period in the human and the rat. *Biol Reprod* 2012;86:78. doi: 10.1095/biolreprod.111.095588.
24. Qiu X, Xie Y, Chen L, Gemzell-Danielsson K. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors at the feto-maternal interface in unruptured ectopic tubal pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2011;90:966-71. doi: 10.1111/j.1600-0412.2011.01206.x.
25. Xie Y, Mustafa A, Yerzhan A, Merzhakupova D, Yerlan P, et al. Nuclear matrix metalloproteinases: functions resemble the evolution from the intracellular to the extracellular compartment. *Cell Death Discov* 2017;3:17036. doi: 10.1038/cddiscovery.2017.36.
26. Skrzypczak J, Wirstlein P, Mikołajczyk M, Ludwikowski G, Zak T. TGF superfamily and *MMP2*, *MMP9*, *TIMP1* genes expression in the endometrium of women with impaired reproduction. *Folia Histochem Cytobiol* 2007;45 Suppl 1:S143-8.
27. Zahrah A, Muharam R, Satria Marwali ML, Ocktariyana, Deraya IE, Asmarinah. mRNA expression and DNA methylation level of the *MMP-2* gene in peritoneal endometriosis. *J Pak Med Assoc* 2021;71(Suppl 2)(2):S112-S115.
28. Chung HW, Lee JY, Moon HS, Hur SE, Park MH, Wen Y, et al. Matrix metalloproteinase-2, membranous type 1 matrix metalloproteinase, and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in ectopic and eutopic endometrium. *Fertil Steril* 2002;78:787-95. doi: 10.1016/s0015-0282(02)03322-8.
29. Sillem M, Prifti S, Koch A, Neher M, Jauckus J, Runnebaum B. Regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors in uterine endometrial cells of patients with and without endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;95:167-74. doi: 10.1016/s0301-2115(00)00415-2.
30. Liu H, Wang J, Wang H, Tang N, Li Y, Zhang Y, et al. Correlation between matrix metalloproteinase-9 and endometriosis. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8:13399-404.
31. Singh R, Srivastava P, Srivastava A, Mittal RD. Matrix metalloproteinase (*MMP-9* and *MMP-2*) gene polymorphisms influence allograft survival in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:3393-401. doi: 10.1093/ndt/gfq174.
32. Arablou T, Aryaeian N, Khodaverdi S, Kolahdouz-Mohammadi R, Moradi Z, Rashidi N, et al. The effects of resveratrol on the expression of VEGF, TGF- β , and *MMP-9* in endometrial stromal cells of women with endometriosis. *Sci Rep* 2021;11:6054. doi: 10.1038/s41598-021-85512-y.
33. Stephens S, Seto MC, Goodwill AM, Cantor JM. The Relationships Between Victim Age, Gender, and Relationship Polymorphism and Sexual Recidivism. *Sex Abuse* 2018;30:132-46. doi: 10.1177/1079063216630983.