Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

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

Raziyeh Gooshki [1], Leila Kohan [1,2*]

[1] Dept of Biology, Arsanjan branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran
[2] Yong 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

A B S T R A C T

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 (*MMP*s) 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.

© The Author(s)
Publisher: Ilam University of Medical Sciences

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

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

راضیه گوشکی [۱]، **لیلا کهن** [۱و۲*]

[۱] گروه زیست‌شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران

[۲] باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران

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

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

چکیده

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

مواد و روش‌ها: این مطالعهٔ 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. تجزیه‌وتحلیل 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، OR: 11.33) میان گروه کنترل و بیمار وجود داشت و آلل *MMP-9* G با افزایش خطر ابتلا به اندومتریوز همراه بود (P<0.001)؛ همچنین ارتباط معنیداری میان پلی‌مورفیسم *MMP-2* rs7201 و EMS مشاهده شد. ژنوتیپ *MMP-2* AC اثر حفاظتی بر اندومتریوز داشت (OR:0.27, 95% CI:0.15-.049, P <0.001) و آلل A *MMP-2* با کاهش خطر ابتلا به اندومتریوز 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 اندومتریوز در جمعیت مطالعه‌شده در ایران را نشان داد. برای تأیید نتایج این مطالعه، به مطالعات دیگری با تعداد نمونهٔ بیشتر در گروه‌های نژادی مختلف نیاز است.

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

استناد: گوشکی راضیه ، کهن لیلا. همراهی میان چندشکلی‌های ژنتیکی *MMP-2* rs7201 و *MMP-9* rs17576 و ابتلا به بیماری اندومتریوز. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، مرداد ۱۴۰۳؛۳۲(۳): ۷۵-۶۵.

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

مقدمه

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

اندومتریوز 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 اندومتریوز پیشنهادشده است که ازجملهٔ آن‌ها می‌توان به کاشته شدن نابجای بافت اندومتر، متاپلازی سلومیک، نظریهٔ بیماری‌های خودایمنی، نظریهٔ انتشار عروقی، عامل‌های هورمونی، آلودگی محیط‌زیست و زمینه های ژنتیکی در ابتلا به بیماری اندومتریوز اشاره کرد (۳).

ماتریکس متالوپروتئینازها (*MMP*ها) خانواده‌ای از اندوپپتیدازهای 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 مادهٔ اصلی غشایی پایه است (۵). اندومتریوز با تخمک‌گذاری نکردن، تکامل و رشد غیرطبیعی تخمک و کاهش میزان استرادیول پیش از مرحلهٔ تخمک‌گذاری همراه است (۶). این عوامل موجب می‌شوند که مراحل فولیکولوژنز، لقاح و لانه‌گزینی جنین در خانم‌هایی که در مرحلهٔ پیشرفت بیماری هستند، دچار مشکل گردد. برای چسبیدن، تهاجم و گسترش قطعات آندومتریال، باید تغییر وضع وسیعی در لایهٔ 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).

مطالعات نشان داده است که *MMP-2*و *MMP-9* در مایعات فولیکولی اثر مستقیم بر رشد فولیکول و پارگی دیوارهٔ فولیکول طی چرخهٔ 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 کدکنندهٔ آن در انسان بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۶، موقعیت q1216 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 اندومتریوز نسبت به بافت‌های یوتوپیک 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 اندومتریوز باعث می‌شود که بافت آندومتر در زنان مبتلا به اندومتریوز نسبت به زنان سالم مورد تهاجم قرار گیرد؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد که *MMP-9* نقش مهمی در پیشرفت اندومتریوز ایفا می‌کند (۱۳). پلی‌مورفیسم ژنی *MMP-9* rs17576 یک پلی‌مورفیسم عملکردی در اگزون ۶ ژن *MMP-9* است (۱۵). پلی‌مورفیسم ژنی rs7201 *MMP-2* در جایگاه اتصال miR-520 در ناحیهٔ UTR'۳ 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*، مطالعهٔ حاضر به بررسی نقش دو پلی‌مورفیسم عملکردی rs7201 در ژن *MMP-2* و rs17576 در ژن *MMP-9* و خطر ابتلا به اندومتریوز 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. نمونهٔ خون مربوط به گروه‌های کنترل و بیمار از بیمارستان زینبیهٔ شیراز گرفته شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل تشخیص بیماری اندومتریوز توسط پزشک متخصص و رضایت افراد برای شرکت در

مطالعه و معیارهای خروج از مطالعه نیز عدم تشخیص اندومتریوز، سابقهٔ کارسینومای اندومتر، یائسگی و نبودِ اطلاعات بالینی کافی بود. گروه کنترل نیز از افرادی انتخاب شده‌اند که مشکل جسمی و ایمونولوژی نداشتند و از اعضای خانواده بیماران گروه مورد نبودند. این تحقیق در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد واحد ارسنجان با شناسهٔ 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 پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) استفاده شد.

برای طراحی پرایمرهای Tetra ARMS PCR، ابتدا توالی‌های ژنومیک ژن‌های *MMP*-۲ و *MMP*-۹ به‌همراه توالی اطراف ناحیهٔ پلی‌مورفیک مدنظر بهمنظور طراحی پرایمرها از سایت اینترنتی NCBI دریافت گردید؛ سپس به کمک نرم‌افزار طراحی پرایمر و سرویس اطلاعاتی آنلاین که در سال ۲۰۱۲ توسط Colics and Ke معرفی‌شده (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 استفاده‌شده در جدول شمارهٔ ۱ آمده است.

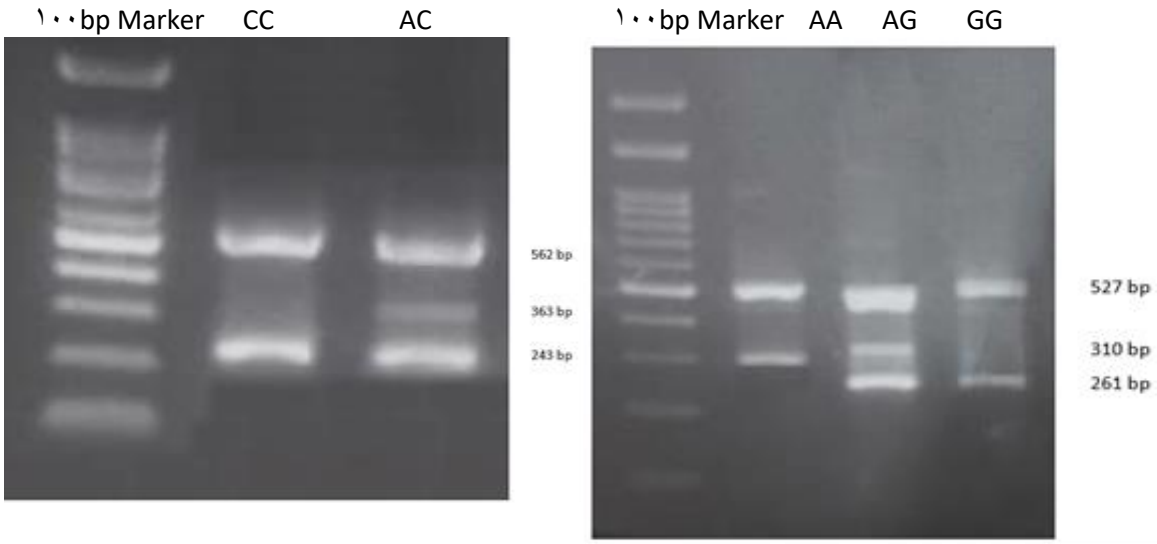
جدول شماره ۱. پرایمرهای استفاده‌شده برای انجام Tetra ARMS PCR

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

مواد مورد نیاز برای انجام Tetra ARMS PCR برای rs7201 و rs17576 به‌ترتیب در جدول شمارهٔ ۲ آورده شده است؛ همچنین پس از انجام تکنیک Tetra ARMAS PCR، به‌منظور تعیین ژنوتیپ از ژل آگارز و دستگاه تصویربرداری از ژل استفاده گردیده است (شکل شمارهٔ ۱).

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

ماده	حجم مورد نیاز μl *MMP-2* rs7201	حجم مورد نیاز μl *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 پلی‌مورفیسم‌های مطالعه‌شده با استفاده از تکنیک Tetra-ARMS PCR

برای اطمینان از خوانش صحیح و تکرارپذیری ژنوتیپ‌ها، حدود ۲۰ درصد نمونه‌ها دوباره تعیین ژنوتیپ شدند. درنهایت، ارتباط میان استعداد ابتلا به EMS و پلی مورفیسم‌های مطالعه‌شده با استفاده از آنالیز آماری کای اسکوئر (χ^2)، رگرسیون لجستیک و محاسبهٔ OR با فاصلهٔ اطمینان ۹۵ درصد انجام گردید؛ همچنین به‌منظور مقایسهٔ 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، دامنهٔ سنی افراد ۶۰-۱۷ سال و میانگین (انحراف معیار) سنی جمعیت مطالعه‌شده (۷/۷۸) ۳۳/۳۴ سال بود. مطالعه به‌صورت مورد-شاهدی انجام شد که در آن، ۱۰۰ زن مبتلا به اندومتریوز و ۱۰۰ زن سالم به‌عنوان گروه کنترل، باهم مقایسه گردیدند. در گروه بیمار، ۳۹ نفر از افراد در مرحلهٔ I و II و ۶۱ نفر در مرحله III و IV بیماری اندومتریوز بودند. مقایسهٔ میانگین سنی در دو گروه کنترل (۷/۴۱±۳۱/۷ سال) و بیمار (۸/۰۷±۳۲/۹۱ سال) نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری میان میانگین سنی دو گروه مطالعه‌شده وجود ندارد (P=0.1).

تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم‌های *MMP-2* rs7201 و *MMP-9* rs17576: پس از تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم‌های مطالعه‌شده، الگوی باندهای حاصل بر روی ژل آگارز ۲ درصد مطابق شکل شمارهٔ ۱ بود. در مورد rs7201 برای آلل C قطعهٔ bp۲۴۳، آلل A قطعهٔ bp۳۶۳ و کنترل داخلی قطعهٔ bp۵۶۲ روی ژل مشاهده شد، درحالی‌که پلی‌مورفیسم rs17576 برای آلل G قطعهٔ bp۲۶۱، آلل A قطعهٔ bp۳۱۰ و کنترل داخلی قطعهٔ bp۵۲۷ را تولید کرد. برای حدود ۲۰ درصد از نمونه‌ها مجدداً Tetra ARMS PCR انجام و نتایج تأیید گردید.

بررسی ارتباط میان پلی‌مورفیسم *MMP-9* و ابتلا به اندومتریوز: توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم *MMP-9* در دو گروه بیمار و کنترل در جدول شمارهٔ ۳ آمده است. بررسی توزیع ژنوتیپ‌ها نشان داد که گروه کنترل در تعادل هاردی-واینبرگ است (P=0.12، df=1 و $\chi2$=2.41).

اختلاف آماری معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ‌های AG (P<0.001، 95%CI: 2.13-7.91، OR: 4.11) و GG (P<0.001، 95% CI: 4.23-30.3، OR: 11.33) میان گروه کنترل و بیمار وجود داشت، به‌طوری‌که 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 (P<0.001، 95% CI: 2.72-6.68، OR: 4.26).

جدول شماره ۳. بررسی ارتباط میان پلی‌مورفیسم *MMP-9* و خطر ابتلا به اندومتریوز

MMP-9	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

بررسی ارتباط میان پلی‌مورفیسم *MMP-2* و ابتلا به اندومتریوز: فراوانی ژنوتیپ‌های CC و AC در گروه کنترل به‌ترتیب ۳۸ و ۶۲ و در گروه بیمار به‌ترتیب ۶۹ و ۳۱ بود. ژنوتیپ AA در جمعیت مطالعه‌شده مشاهده نگردید. بررسی توزیع ژنوتیپ‌ها نشان داد که گروه کنترل در تعادل هاردی–واینبرگ نیست (P=0.0007، df=1 و $\chi2$=20.18). همان‌طور که در جدول شمارهٔ ۴ دیده می‌شود، فراوانی ژنوتیپ AC در گروه کنترل و بیمار اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد. نتایج نشان می‌دهند که افراد دارای ژنوتیپ AC در خطر کمتری برای ابتلا به اندومتریوز هستند (P<0.001، 95%CI: 0.15-0.49، OR:0.27). علاوه بر این، آلل Aاثر حفاظتی علیه بیماری اندومتریوز دارد (P<0.001، 95%CI:0.25-0.66، OR:0.41).

جدول شماره ٤. بررسی ارتباط میان پلی‌مورفیسم *MMP-2* و خطر ابتلا به اندومتریوز

MMP-2	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

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعهٔ حاضر، ارتباط پلی‌مورفیسم‌های rs7201 *MMP-2* و *MMP-9* rs17576 با خطر ابتلا به اندومتریوز بررسی شد و نتایج نشان داد که این دو پلی‌مورفیسم عملکردی

با ابتلا به اندومتریوز مرتبط هستند. در مطالعات پیشین گزارش‌شده که اندومتریوز 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 به دام افتادن تخمک ناکامل در تخمدان به چرخهٔ بازآرایی ماتریکس‌های خارج سلولی (ECM) وابسته است. این تغییرات در محیط خارج سلولی تخمدان‌ها بر عهدهٔ *MMP*ها است (۱۸). *MMP*ها بافت آندومتری مهاجم را قادر می‌سازند تا ماتریکس خارج سلولی صفاقی و بافت پیوندی زیرین آن را هضم کنند؛ درنتیجه، افزایش سطح *MMP*ها در بافت نابجای اندومتریوزی باعث تشدید فعالیت‌های رگ‌زایی و متاستازی در بافت مدنظر می شود و موجب عود بیماری می‌گردد (۱۹). رشد فولیکول در اولین مرحلهٔ فولیکولی با تکثیر سلول‌های گرانولوزا و تخریب غشای پایهٔ میان بخش‌های گرانولوزا آغاز می‌شود. تعداد فولیکول‌های بالغ تقریباً ۴۰۰ برابر بیشتر از فولیکول‌های پیش‌ساز اولیه است (۲۰). مشخص‌شده 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 mRNAهای 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* به‌هم وابسته هستند (۲۲).

مایع فولیکولی محیط مناسبی برای رشد تخمک است؛ اما سرشار از آنزیم‌های پروتئولیتیک ازجمله متالوپروتئینازها مانند کلاژن نوع IV است که برای تحلیل غشای پایهٔ سلول‌های گرانولوزا ضروری است. طی فرایند تخمک‌گذاری تحت تأثیر LH، مقدار ممانعت‌کننده‌های متالوپروتئین تغییر می‌یابد و به فعال شدن متالوپروتئینازها ازجمله کلاژن نوع IV منجر می‌شود (۲۳). کو و همکارانش در سال ۲۰۱۱ دریافتند که نبودِ تعادل میان *MMP*s 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) تاپیا و همکارانش 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 اندومتریوز 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 اندومتریوز می‌تواند محیط اطراف و مایع فولیکولی تخمک را تحت تأثیر قرار دهد و باعث ناباروری حاصل از اندومتریوز 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 ۷۲۰۱rs و خطر ابتلا به اندومتریوز نشان داد، فراوانی ژنوتیپ AC در گروه کنترل و بیمار اختلاف آماری معنی‌داری نشان می‌دهد. علاوه بر این، آلل A اثر حفاظتی علیه بیماری اندومتریوز دارد. جایگاه پلی‌مورفیسم ژنی rs7201در 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 UTR'۳ 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 درنتیجه، افزایش سطح بیان *MMP-2* همراه است (۱۶). *MMP-2* به‌طورمعمول کلاژن نوع‌های (XI, X, VII, V, IV)، 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 اندومتریوز افزایش می‌یابد و این افزایش مرتبط با تغییرات اپی‌ژنتیک نظیر متیلاسیون DNA نیست (۲۷). تسای و همکاران در سال ۲۰۱۳، نقش واریانت

های ژنی *MMP-2* را در بروز اندومتریوز بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که rs243832 و rs7201 از ریسک‌فاکتورهای اندومتریوز است و با ابتلا به آن ارتباط دارد. آنان همچنین دریافتند که miR۵۲۰- و پلی‌مورفیسم rs7201 در تنظیم بیان ژن *MMP-2* نقش مهمی دارند و خطری برای ابتلا به اندومتریوز محسوب می‌شوند (۱۶). چانگ و همکاران (۲۰۰۲) افزایش بیان *MMP-2* در آندومتر زنان مبتلا به اندومتریوز را نشان دادند و همچنین پیشنهاد کردند که بیان *MMP-2* در بیماران مبتلا به اندومتریوز تغییر کرده است، به‌گونه‌ای که سطح بیان آن با افراد طبیعی متفاوت است؛ ازاین‌رو، اهمیت *MMP-2* در پاتوژنز اندومتریوز را نشان دادند (۲۸).

MMP-9 تنها عضوی است که قابلیت هضم ژلاتین (یکی از مهم‌ترین ترکیبات بافت غشای پایه) را دارد (۱۰). سیلم و همکاران سطح بسیار بالایی از *MMP-9* در سلول‌های آندومتر بیماران مبتلا به اندومتریوز را گزارش کردند. آنان بیان کردند، افزایش بیان *MMP-9* در اندومتریوز نشان می‌دهد که بافت اندومتر ممکن است ذاتاً تهاجمی باشد (۲۹). علاوه بر این، لیو و همکاران با بررسی ۱۰۰ بیمار مبتلا به اندومتریوز گزارش کردند که سطح *MMP-9* در سرم و بافت اندومتریوم بیماران مبتلا به اندومتریوز 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-β و *MMP-9* مانع پیشرفت اندومتریوز در سلول‌های استرومایی اندومتریال شود (۳۲). ژن *MMP-9* در ناحیهٔ کروموزومی q11-q13۲۰ قرار دارد و پلی‌مورفیسم rs17576 در اگزون شمارهٔ ۶ نوکلئوتید ۸۳۶ باعث تغییر اسید آمینهٔ گلوتامین به آرژنین در موقعیت ۲۷۹ این پروتئین می‌شود که این تغییر روی فعالیت *MMP-9* به‌عنوان کلاژناز تأثیر می‌گذارد (۳۱). در تحقیق حاضر، پلی‌مورفیسم rs17576A>G به‌عنوان یک پلی‌مورفیسم عملکردی در بیماران مبتلا به اندومتریوز مطالعه شد و نتایج نشان داد که آلل G در این جایگاه با افزایش خطر ابتلا به اندومتریوز همراه است. ازجمله محدودیت‌های مطالعهٔ حاضر کم بودن تعداد نمونهٔ پژوهش به علت شیوع پایین این بیماری بود که طی بازهٔ زمانی دوساله، علی‌رغم مشاهدهٔ پروندهٔ 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 نمونهٔ بالا می‌تواند به بالا بردن قدرت آزمون آماری کمک کند. دربارهٔ پلی‌مورفیسم 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 نمونهٔ مطالعه‌شده و فراوانی ناچیز این ژنوتیپ در جمعیت ایرانی نسبت داد؛ زیرا توزیع ژنوتیپ‌های یک پلی‌مورفیسم می‌تواند تحت تأثیر جمعیت نژادی و شیوهٔ زندگی افراد آن منطقه قرار گیرد. این احتمال وجود دارد که جنسیت نیز در فراوانی توزیع ژنوتیپ ها 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.

به‌طورکلی، نتایج مطالعهٔ حاضر بیان‌کنندهٔ ارتباط معنی‌دار پلی‌مورفیسم‌های ژنی *MMP-9* rs17576 و *MMP-2* rs7201 با خطر ابتلا به اندومتریوز است. با توجه به تفاوت شیوهٔ 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 پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد رشتهٔ ژنتیک است که با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان انجام شده و با شناسهٔ اخلاق IR.IAU.A.REC.1399.013 در کمیتهٔ اخلاق دانشگاه آزاد واحد ارسنجان مصوب گردیده است. نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی را از افراد شرکت‌کننده در مطالعه بیان می دارند.

تعارض منافع

نویسندگان بدین وسیله اعلام می دارند هیچ گونه تضاد منافعی در تنظیم این مقاله وجود نداشته است.

کد اخلاق

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

حمایت مالی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد رشتهٔ 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 جمع آوری اطلاعات و مراحل آزمایشگاهی و عملی نقش داشته اند. نویسندگان، مقاله را در نهایت خوانده و با ارسال آن به مجله علوم پزشکی ایلام موافقت نمودند.

References

1. 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.
2. Monnin N, Fattet AJ, Koscinski I. Endometriosis: Update of Pathophysiology, (Epi) Genetic and Environmental Involvement. Biomedicines 2023;11:978. doi: 10.3390/biomedicines11030978.
3. Allaire C, Bedaiwy MA, Yong PJ. Diagnosis and management of endometriosis. CMAJ 2023;195:E363-E371. doi : 10.1503/cmaj.220637.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. Gaide Chevronnay HP, Selvais C, Emonard H, Galant C, Marbaix E, Henriet 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.
9. 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.
10. Vandooren J, Van den Steen PE, Opdenakker 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Tsai EM, Wang YS, Lin CS, Lin WY, Hsi E, Wu MT, et al. A microRNA-520 mirSNP at the *MMP*2 gene influences susceptibility to endometriosis in Chinese women. J Hum Genet 2013;58:202-9. doi: 10.1038/jhg.2013.1.
17. 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.
18. 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.
19. Gaide Chevronnay HP, Selvais C, Emonard H, Galant C, Marbaix E, Henriet 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.
20. 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 *MMP*2, *MMP*9, 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.