

Ekspresja metaloproteinazy MMP-9 oraz tkankowego inhibitora metaloproteinazy TIMP-2 w łożyskach u ciężarnych z wewnątrzmacicznym ograniczeniem wzrastania płodu

Expression of metalloproteinase MMP-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase TIMP-2 in placenta of pregnant women with intrauterine growth restriction

Świerczewski Arkadiusz¹, Kobos Józef², Pasiński Jacek¹, Kowalska-Koprek Urszula¹, Karowicz-Bilińska Agata¹

¹ Klinika Patologii Ciąży I Katedra Ginekologii i Położnictwa Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska
² Zakład Patomorfologii Wieku Rozwojowego Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

Streszczenie

Wstęp: Rozwój ciąży uzależniony jest od wielu czynników. Jednym z nich jest implantacja i rozwój łożyska oraz jego unaczynienie. Prawidłowy przebieg tego procesu zależy od właściwej aktywności enzymów rozkładających elementy macierzy pozakomórkowej i błony podstawnej – metaloproteinaz.

Cel pracy: Ocena ekspresji MMP-9 oraz TIMP-2 w łożyskach u kobiet z hipotrofią wewnątrzmaciczną płodu.

Materiał i metody: Wyodrębniono 2 grupy badane- ciężarne z nieleczoną hipotrofią płodu i z hipotrofią leczoną kwasem acetylosalicylowym i L-argininą oraz grupę kontrolną z prawidłowym odżywieniem wewnątrzmacicznym płodu. Wykonano preparaty mikroskopowe z łożysk znakowane swoistymi przeciwciałami dla MMP-9 i TIMP-2.

Wyniki: Największa intensywność odczynu oraz największa powierzchnia z dodatnim odczynem dla TIMP-2 w kosmku charakteryzowała grupę z nieleczoną hipotrofią płodu. Najsilniejszą ekspresję MMP-9 zaobserwowano w grupie kontrolnej. Najmniejsza powierzchnia z dodatnim odczynem MMP-9 w trofoblaście występowała w grupie nielezionej IUGR.

Wnioski: Wysoka aktywność MMP-9 w łożysku koreluje z prawidłową jego budową i funkcją. Zastosowane leczenie IUGR zmniejsza ekspresję TIMP-2 w kosmkach łożyska.

Słowa kluczowe: **cięża / łożysko / metaloproteinaza / inhibitor metaloproteinazy / hipotrofia płodu /**

Adres do korespondencji:

Agata Karowicz-Bilińska
Klinika Patologii Ciąży I Katedra Ginekologii i Położnictwa Uniwersytet Medyczny w Łodzi,
Polska, 94-029 Łódź, ul. Wileńska 37
Tel./fax.: +48 42 6804725
e-mail: agakar@interia.pl

Otrzymano: 10.01.2012
Zaakceptowano do druku: 14.05.2012

Abstract

Introduction: The development of pregnancy depends on many factors, among other the implantation and the development of the placenta and placental vascularity. The correct course of these processes depends on the proper activity of the enzymes degrading elements of extracellular matrix and basal membrane – metalloproteinases.

Objectives: Assessment of the expression of MMP-9 and TIMP-2 in the placenta of women with intrauterine fetal growth restriction.

Material and methods: Two study groups were distinguished - with untreated IUGR and with IUGR treated with the acetylsalicylic acid and L-arginine and the control group with correct fetal growth and course of pregnancy. Marked microscope preparations from placental samples were made with specific antibodies for MMP-9 and TIMP-2.

Results: The greatest intensity of the reaction and the villous TIMP-2 expression was characteristic of the group with untreated IUGR. Strongest expression MMP-9 was observed in the control group. The smallest surface of the trophoblast with positive MMP-9 reaction appeared in the group with untreated IUGR.

Conclusions: High MMP-9 activity in the placenta correlates with its correct structure and function. Application of IUGR treatment reduces the expression of TIMP-2 in the placental villi.

Key words: **pregnancy / placenta / metalloproteinases / tissue inhibitors of metalloproteinases / intrauterine growth restriction /**

Wstęp

Zespół ograniczonego wzrastania płodu jest nadal jednym z głównych problemów medycyny perinatalnej. Dotyczy ona około 8-10% wszystkich ciąż [1, 2, 3]. Śmiertelność i zachowalność okołoporodowa noworodków hipotroficznymi jest kilka, a nawet kilkanaście razy wyższa w porównaniu z grupą noworodków eutroficznymi. Większą częstość występowania wewnątrzmacicznego ograniczenia wzrastania płodu obserwuje się u kobiet z czynnikami ryzyka (np. nadciśnieniem tętniczym), w ciążach wielopłodowych i u płodów z anomaliami genetycznymi [2, 4, 5].

Prawidłowy rozwój ciąży i płodu uwarunkowany jest przez wiele różnorodnych czynników, pochodzenia matczynego, płodowego i środowiskowego. Wśród nich szczególne miejsce zajmuje trofoblast. Właściwa implantacja trofoblastu i rozwój łożyska uzależnione są od szeregu powiązanych ze sobą czynników, których właściwe proporcje i zależności warunkują prawidłowy przebieg tych procesów. Zaburzenia w implantacji trofoblastu i rozwoju łożyska mogą prowadzić we wczesnej ciąży do poronienia, natomiast w późniejszym okresie ciąży do nadciśnienia tętniczego indukowanego ciążą lub wewnątrzmacicznego ograniczenia wzrastania płodu. Te dwie ostatnie patologie często współwystępują ze sobą [2, 3, 6].

Istotną rolę w implantacji i rozwoju łożyska odgrywają metalloproteinazy maciercowe. Są to metalozależne enzymy proteolityczne trawiące składniki macierzy pozakomórkowej oraz błonę podstawną, zawierające w swoim centrum aktywnym jon cynku. Macierz zewnątrzkomórkowa stanowi gęstą sieć różnorodnych białek i polisacharydów wypełniających w tkankach przestrzeń między komórkami. Spełnia ona w organizmie funkcje strukturalne oraz regulacyjne [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12].

W warunkach fizjologicznych metalloproteinazy regulują procesy rozwoju organizmu, warunkują jego homeostazę, odgrywają też istotną rolę w procesie gojenia, przebudowie tkanek oraz w angiogenezie. Nadmierną i niekontrolowaną ich aktywację obserwuje się w chorobach zapalnych i nowotworowych [7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15].

Metalloproteinazy syntetyzowane są w komórkach w postaci nieaktywnych biologicznie proenzymów i w takiej formie są uwalniane do przestrzeni pozakomórkowej. Niektóre natomiast pozostają związane na powierzchni błony komórkowej.

Aktywacja metalloproteinazy polega na odcięciu propeptydu i odsłonięciu centrum katalitycznego poprzez rozerwanie wiązania między grupą tiolową cysteiny a jodem cynku. Ten główny sposób aktywacji metalloproteinaz przebiega przy udziale innych już aktywnych metalloproteinaz oraz proteaz serynowych (np. elastazy leukocytarnej, katepsyny-6, trypsyny).

Inną drogą aktywacji MMPs jest zmiana budowy przestrzennej cząsteczki metalloproteinazy w pobliżu miejsca aktywnego przez związki reagujące z grupą tiolową, jak np. utleniony glutation. Najprostsza cząsteczka MMP-7 zawiera propeptyd, domenę katalityczną i region zawiasowy. Pozostałe metalloproteinazy mają dodatkowe domeny, które warunkują powinowactwo do substratów oraz funkcję biologiczną poszczególnych enzymów [5, 13, 14, 16].

Aktywność metalloproteinaz regulowana jest zarówno na poziomie transkrypcyjnym, jak i potranskrypcyjnym. Metalloproteinazy podlegają też interakcjom z nieswoistymi inhibitorami enzymów proteolitycznych (np. α -2-makroglobulina) oraz ze specyficznymi dla nich inhibitorami – tkankowymi inhibitorami metalloproteinaz.

Do tej pory poznano 4 tkankowe inhibitory metalloproteinaz (TIMP-1, -2, -3, -4). Występuje zróżnicowanie powinowactwa między inhibitorami a enzymami. TIMP-1 wykazuje silne właściwości blokujące w stosunku do MMP-1 i MMP-9, natomiast słabiej działa na MMP-2. TIMP-2 najsilniej hamuje MMP-2, działając znacznie słabiej na MMP-3, MMP-9. W przypadku TIMP-2 stwierdzono, że w niskich stężeniach aktywuje on MMP-2, podczas gdy w wyższych stężeniach blokuje aktywność enzymu.

Biologiczna rola tkankowych inhibitorów metalloproteinaz nie ogranicza się wyłącznie do regulowania aktywności metalloproteinaz. Działają one również antyapoptotycznie i proliferacyjnie, regulując m. in. organogenezę i steroidogenezę [13, 16, 17].

Wynika z tego, że metalloproteinazy wraz z ich inhibitorami tworzą złożony, sprzężony system proteolityczny. Zaburzenie właściwych relacji pomiędzy jego składnikami może prowadzić do wielu patologii: z jednej strony do nadmiernej proteolizy zewnątrzkomórkowej m. in. w procesie zapalnym lub nowotworowym, a z drugiej do niedostatecznego nasilenia proteolizy np. w implantacji trofoblastu, czy w angiogenezie łożyskowej.

Cel pracy

Ocena ekspresji metaloproteiny MMP-9 oraz tkankowego inhibitora metaloproteiny TIMP-2 w łożyskach u kobiet z wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrastania płodu.

Materiał i metody

Do badania zakwalifikowano 80 kobiet rodzących w terminie okołoporodowym (37-40 tydzień ciąży) w Klinice Patologii Ciąży, I Katedry Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej nr RNN/149/09/KE. Wszystkie kobiety biorące w nich udział wyraziły świadomą, pisemną zgodę. Pacjentki zostały podzielone na trzy grupy (2 grupy badane i grupa kontrolna). Pierwszą grupę badaną stanowiło 39 ciężarnych z wewnątrzmacicznym ograniczeniem wzrastania płodu, u których ze względu na zaawansowanie ciąży nie wdrożono leczenia. Druga grupa badana to 17 ciężarnych z wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrastania płodu leczonych kwasem acetylosalicylowym (Acard 75 mg 1x1 tabl.) i L-argininą (Medargin 3x1g). Grupę porównawczą stanowiły 24 ciężarne o prawidłowym przebiegu ciąży i eutrofii płodu. Celem uzyskania wstępnej standaryzacji grup badano łożyska kobiet, których ciąża została zakończona cięciem cesarskim. Podczas cięcia cesarskiego pobierano fragment łożyska z centralnej części łożyska. Pobrany wycinek łożyska natychmiast umieszczano w pojemniku z 10% zbufozowanym roztworem formaldehydu na 24 godziny, a następnie zatapiano je w bloczkach parafinowych.

Skrawki parafinowe posłużyły do sporządzenia rutynowych preparatów barwionych hematoksyliną i eozyną (H+E) oraz do badań immunohistochemicznych w systemie detekcyjnym DAKO EnVision według metody immunoperoksydazowej z użyciem pierwotnych mysich przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciw MMP-9 (nr katalogowy NCL-MMP9-439) firmy Novocastra Leica Microsystems oraz TIMP-2 (nr katalogowy NCL-TIMP2-487) firmy Novocastra Leica Microsystems zgodnie z protokołem producenta.

Kontrolę negatywną metody stanowiły skrawki, w których zastępowano pierwotne przeciwciała buforem TBS stosując odpowiednią procedurę immunohistochemiczną. Kontrolą pozytywną były skrawki dające znaną wcześniej silnie pozytywną reakcję w kierunku badanego antygenu. We wszystkich reakcjach uzyskiwano brązowe zabarwienie komórek zawierających poszukiwane białko.

Do oceny preparatów mikroskopowych wykorzystano mikroskop MICROPHOT-FXA firmy NIKON zintegrowany z komputerowym systemem morfometrycznej analizy obrazu Multi Scan Base v. 8.08.

Komórki wykazujące dodatnią ekspresję badanego antygenu zliczano w 10 losowo wybranych polach widzenia w każdym skrawku w powiększeniu 200x stosując metodę półilościową. Oznaczano charakter i intensywność wybarwienia oraz powierzchnię syncytiotrofoblastu kosmków łożyska z dodatnią reakcją na poszukiwane białko zgodnie z metodą zaproponowaną przez M. Volma przypisując im punktację w skali 0-3.

Charakter odczynu określano jako: śladowy (0), nierównomierny (1), równomierny (2) lub pełny (3). Intensywność odczynu: brak (0), słaby (1), średni (2) lub silny (3). Powierzchnię syncytiotrofoblastu kosmków łożyska wykazującą dodatnią reakcję w kierunku znakowanego białka zaszeregowano: (0) – 0% powierzchni, (1) – do 25% powierzchni, (2) – do 50% powierzchni, (3) – powyżej 50% powierzchni.

W celu weryfikacji normalności rozkładu badanych cech użyto testu Shapiro-Wilka. Różnice lub brak różnic pomiędzy badanymi grupami zbadano nieparametrycznym testem Kruskala-Wallisa. Hipotezy statystyczne weryfikowano przy poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki

Otrzymane średnie wartości charakteru i intensywności odczynu, powierzchnię syncytiotrofoblastu z dodatnim odczynem barwnym w poszczególnych grupach oraz różnice między badanymi grupami przedstawiają poniższe tabele.

Tabela I. Charakterystyka odczynów TIMP-2.

Grupa	Charakter odczynu	p	Intensywność odczynu	p	Powierzchnia odczynu	p
IUGR nieleczony	1,70 ± 0,73	NS	2,54 ± 0,57	<0,05	2,97 ± 0,30	<0,05
IUGR leczony	1,83 ± 0,74	NS	2,39 ± 0,65	NS	2,89 ± 0,34	NS
Grupa kontrolna	1,66 ± 0,70	NS	2,37 ± 0,55	NS	2,91 ± 0,28	NS

Tabela II. Charakterystyka odczynu MMP-9.

Grupa	Charakter odczynu	p	Intensywność odczynu	p	Powierzchnia odczynu	p
IUGR nieleczony	0,92 ± 0,70	<0,05	1,40 ± 0,54	NS	2,16 ± 0,83	<0,05
IUGR leczony	1,36 ± 0,66	<0,05	1,53 ± 0,58	NS	2,63 ± 0,60	NS
Grupa kontrolna	1,14 ± 0,73	<0,05	2,06 ± 0,73	<0,05	2,48 ± 0,78	NS

W tabeli I przedstawiono charakterystykę i zróżnicowanie badanych cech odczynu dla tkankowego inhibitora metaloproteiny-2 (TIMP-2). (Tabela I).

Nie stwierdzono istotnych różnic w charakterze odczynu TIMP-2 pomiędzy badanymi grupami. Natomiast zaobserwowano istotną statystycznie różnicę w intensywności odczynu barwnego między grupą z nieleczoną hipotrofią wewnątrzmaciczną płodu, a dwiema pozostałymi grupami. Podobnie największą powierzchnię syncytiotrofoblastu objętą dodatnim odczynem dla tkankowego inhibitora metaloproteiny-2 odnotowano w grupie z nieleczonym wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrastania płodu, różnica była istotna statystycznie wobec obydwu pozostałych grup.

W tabeli II przedstawiono charakterystykę i zróżnicowanie badanych cech odczynu dla metaloproteiny-9 (MMP-9). (Tabela II).

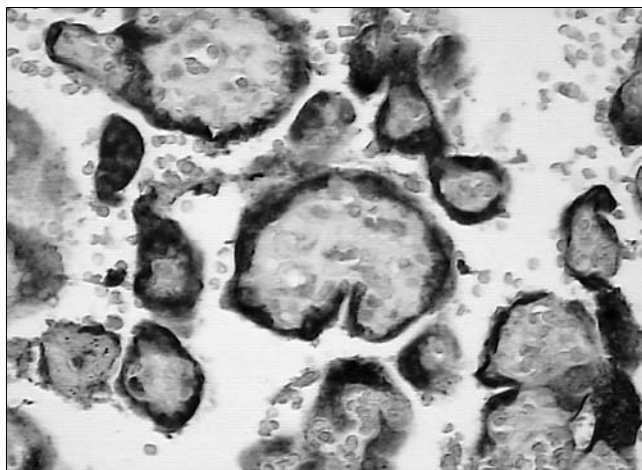
Stwierdzono, że porównywane grupy są najbardziej zróżnicowane pod względem charakteru odczynu dla metaloproteiny-9, a wszystkie uzyskane różnice są istotne statystycznie. Największą intensywność wybarwienia MMP-9 zaobserwowano w grupie kontrolnej. Najmniejszą powierzchnię z ekspresją MMP-9 stwierdzono w grupie z nieleczonym zespołem ograniczonego wewnątrzmacicznego wzrastania płodu. Obie te różnice były statystycznie istotne względem pozostałych grup. Choć największą powierzchnię kosmka zajmowaną przez odczyn dla metaloproteiny dziewiątej stwierdzono w grupie z leczoną hipotrofią płodu, to nie była ona istotnie większa niż uzyskana w grupie kontrolnej.

Dyskusja

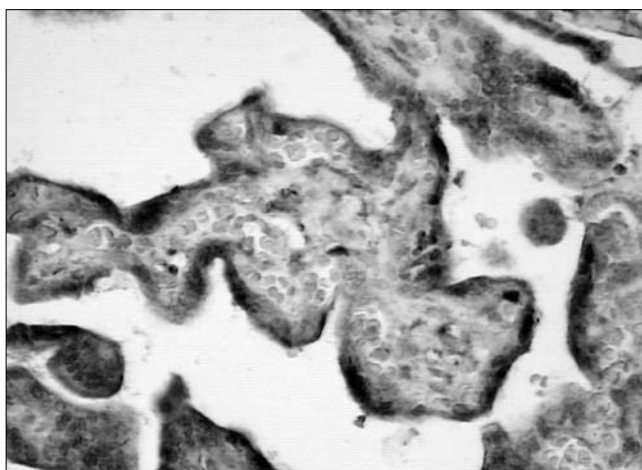
Głównej przyczyny powstania wewnątrzmacicznego ograniczenia wzrastania płodu upatruje się w nieprawidłowym przepływie krwi w obrębie łożyska spowodowanym zaburzeniem przebudowy naczyń krwionośnych. Szczególne znaczenie w procesie przebudowy naczyń, a przez to w zachowaniu odpowiedniej sprawności jednostki maciczno-łożyskowej przypada metaloproteinom MMP-2 i MMP-9, rozkładającym główny składnik macierzy zewnątrzkomórkowej – kolagen typu IV [13, 15, 16, 17, 18, 19, 20].

W przeprowadzonym badaniu zaobserwowano istotnie wyższą aktywność metaloproteiny-9 (MMP-9) w kosmkach łożysk z grupy kontrolnej oraz grupy z leczonym wewnątrzmacicznym ograniczeniem wzrastania płodu w porównaniu do grupy z nieleczoną hipotrofią płodu. Otrzymane wyniki są zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy [16, 17, 18, 19]. Podkreślają oni, że właściwa aktywność metaloproteiny MMP-9 warunkuje prawidłową angiogenezę i przebudowę naczyń wysokooporowych w niskooporowe w obrębie łożyska, co przekłada się na prawidłowy rozwój płodu oraz brak nadciśnienia tętniczego indukowanego ciążą. W wielu publikacjach zwraca się uwagę na fakt, że zmniejszona aktywność metaloproteinaz może być przyczyną zahamowania takich procesów jak: reparacja tkanek, gojenie, angiogeneza. Natomiast nadmierna, a często też niekontrolowana ich ekspresja prowadzi do wielu chorób m. in. procesów zapalnych i nowotworów [1, 4, 5, 13, 15, 17, 19].

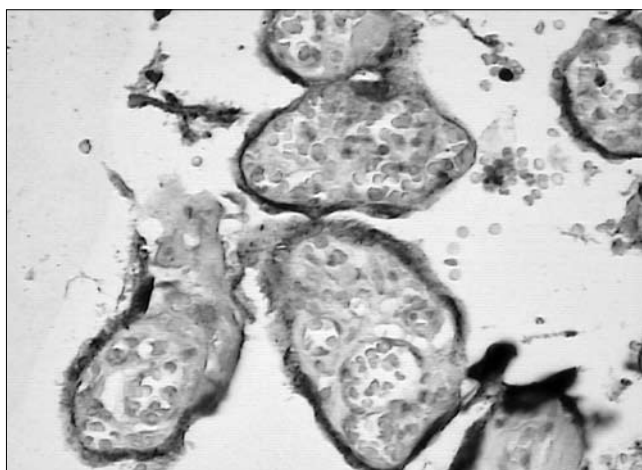
Aktywność metaloproteinaz macierzowych podlega złożonej regulacji. Jednym z elementów tego systemu są swoiste tkankowe inhibitory metaloproteinaz. W prezentowanej pracy stwierdzono istotnie mniejszą ekspresję tkankowego inhibitora metaloprotei-



Rycina 1. Kontrola timp-2 odczyn średni nierównomierny.



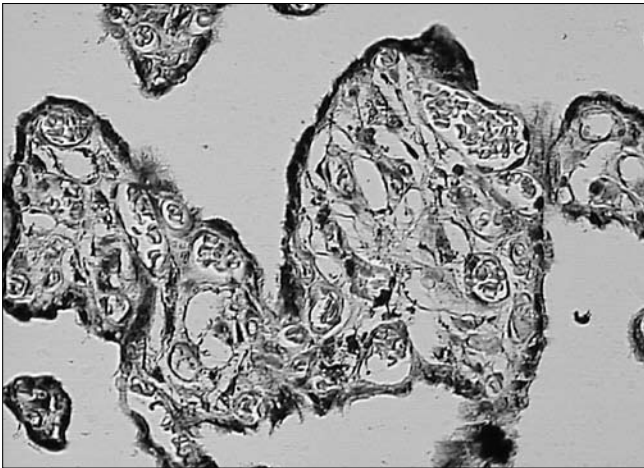
Rycina 2. Kontrola mmp-9 odczyn średni nierównomierny.



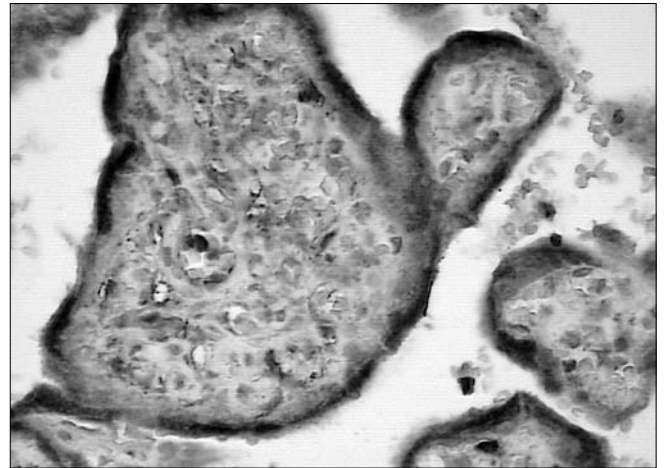
Rycina 3. Kontrola timp-2 odczyn średni równomierny.

nazy-2 (TIMP-2) w grupie kontrolnej i grupie z leczoną hipotrofią wewnątrzmaciczną płodu w porównaniu do grupy nieleczonego IUGR. Niemniej jednak uzyskane wyniki charakteryzujące ekspresję TIMP-2 wymagają dalszych badań.

Ekspresja metaloproteiny MMP-9 oraz tkankowego inhibitora metaloproteiny TIMP-2...



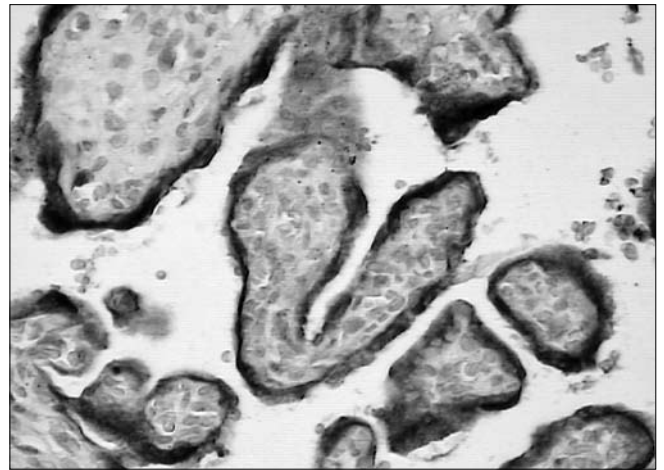
Rycina 4. IUGR mmp-9 odczyn średni, śladowy.



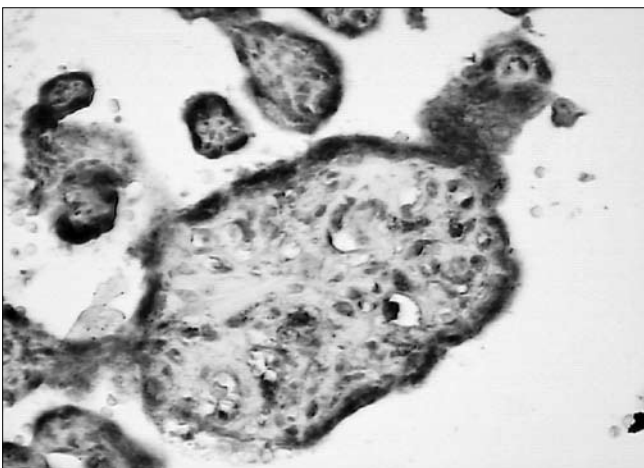
Rycina 7. IUGR po leczeniu mmp-9 odczyn silny, nierównomierny.



Rycina 5. IUGR mmp-9 odczyn słaby, śladowy.



Rycina 8. IUGR po leczeniu timp-2 – odczyn średni, nierównomierny.



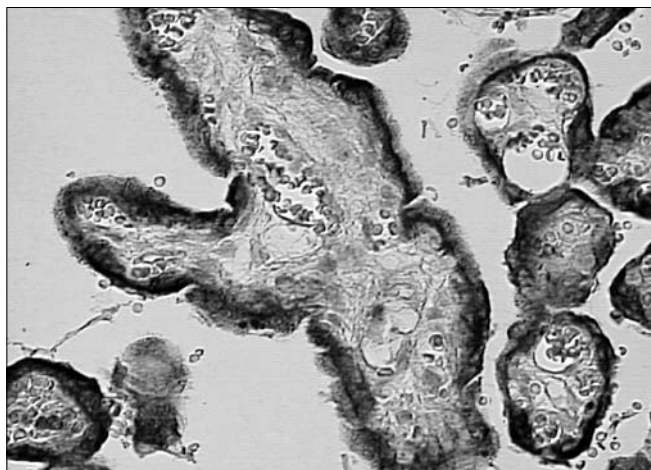
Rycina 6. IUGR po leczeniu mmp-9 odczyn średni nierównomierny.



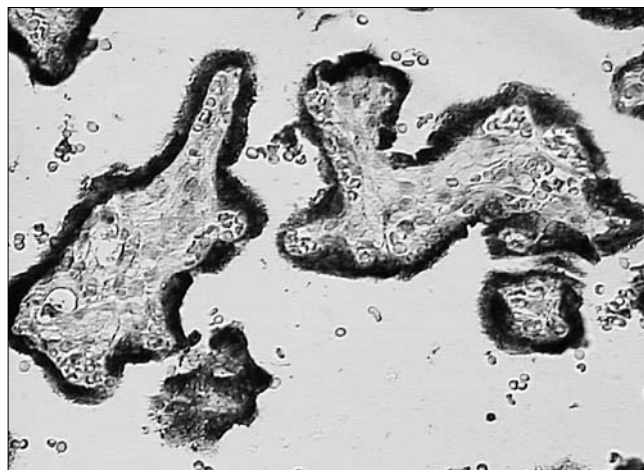
Rycina 9. IUGR po leczeniu timp-2 – odczyn silny, nierównomierny.

W dostępnej literaturze występuje sporo niejasności dotyczących tkankowego inhibitora metaloproteiny-2. Część prac wskazuje na słabszą aktywność TIMP-2 w kosmkach trofoblastu w ciążach przebiegających prawidłowo, a podwyższoną w prze-

biegu nadciśnienia tętniczego i wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu płodu [6, 8, 9, 17]. Inni badacze nie znaleźli jednak różnic w łożyskowej ekspresji TIMP-2 w ciążach powikłanych nadciśnieniem tętniczym lub hipotrofią płodu w porównaniu do



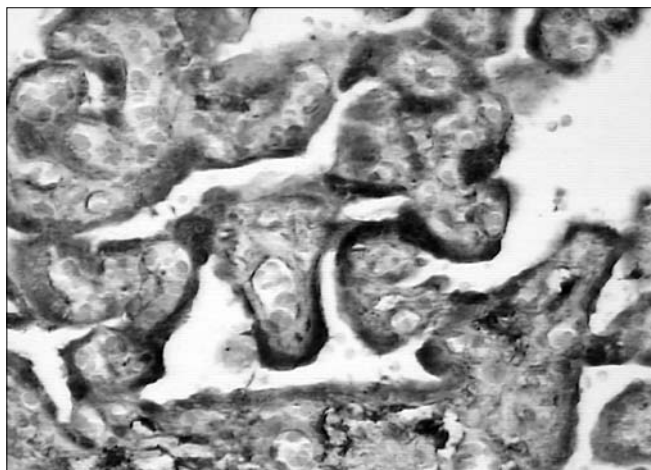
Rycina 10. IUGR tipi-2 odczyn średni, nierównomierny.



Rycina 13. IUGR timp-2 – odczyn silny, pełny.



Rycina 11. IUGR po leczeniu timp-2 – odczyn średni, nierównomierny.



Rycina 12. Kontrola mmp-9 – odczyn średni, równomierny.

prawidłowych ciąż [16, 20]. Wy tłumaczeniem tych rozbieżności może być odkrycie, że w niskich stężeniach TIMP-2 wzmacnia ekspresję MMP-2, natomiast w wysokich stężeniach – blokuje aktywność MMP-2 [13, 14].

Podkreślić też należy, że tkankowy inhibitor metaloproteiny-2 (TIMP-2) regulujący przede wszystkim ekspresję metaloproteiny-2 (MMP-2), reguluje również aczkolwiek słabiej aktywność innych metaloproteinaz (w tym MMP-9) [13, 16, 17, 20]. Skuteczne w odniesieniu do poprawy trofii leczenie stosowane u ciężarnych z zespołem ograniczonego wzrastania płodu wiązało się również ze zmianami ekspresji czynników pro-apoptotycznych, co być może następowało na drodze regulacji aktywności metaloproteinaz i ich inhibitorów [21, 22].

Wnioski

1. Zastosowane leczenie wewnątrzmacicznego ograniczenia wzrastania płodu zmniejsza łożyskową ekspresję tkankowego inhibitora metaloproteiny-2.
2. Wysoka aktywność metaloproteiny-9 stwierdzona w kosmkach łożyska koreluje z prawidłową jego budową i funkcjonowaniem.

Badania finansowane z funduszy KBN nr NN407 242640

Piśmiennictwo

1. Bukowski R. Stillbirth and fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 2010, 53, 673-680.
2. Skotnicki M. Zespół wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu płodu – definicje, etiologia, patogenezę, wybrane elementy diagnostyki, krytyka terapii. W: *IV Kongres Akademii po Dyplomie – Ginekologia Repetytorium.* 2011, 75-87.
3. Karowicz-Bilińska A. Ocena wybranych parametrów biochemicznych w hipotrofii wewnątrzmacicznej płodu. Rozprawa habilitacyjna. Uniwersytet Medyczny w Łodzi. 2003, 9-18.
4. Reister F, Kingdom J, Ruck P, [et al.]. Altered protease expression by periarterial trophoblast cells in severe early-onset preeclampsia with IUGR. *J Perinat Med.* 2006, 34, 272-279.
5. Lian I, Toft J, Olsen G, [et al.]. Matrix metalloproteinase 1 in pre-eclampsia and fetal growth restriction: reduced gene expression in decidua and protein expression in extravillous trophoblasts. *Placenta.* 2010, 31, 615-620.
6. Seval Y, Akkoyunlu G, Demir R, Asar M. Distribution patterns of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and -9 and their inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) in the human decidua during early pregnancy. *Acta Histochem.* 2004, 106, 353-362.

Ekspresja metaloproteiny MMP-9 oraz tkankowego inhibitora metaloproteiny TIMP-2...

KOMUNIKAT

7. Xu P, Wang Y, Zhu S, [et al.]. Expression of matrix metalloproteinase-2, -9, and -14, tissue inhibitors of metalloproteinase-1, and matrix proteins in human placenta during the first trimester. *Biol Reprod.* 2000, 62, 988-994.
8. Xu P, Wang Y, Piao Y, [et al.]. Effects of matrix proteins on the expression of matrix metalloproteinase-2, -9, and -14 and tissue inhibitors of metalloproteinases in human cytotrophoblast cells during the first trimester. *Biol Reprod.* 2001, 65, 240-246.
9. Huppertz B, Kertschanska S, Demir A, [et al.]. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases (MMP), their substrates, and their inhibitors (TIMP) during trophoblast invasion in the human placenta. *Cell Tissue Res.* 1998, 291, 133-148.
10. Polette M, Nawrocki B, Pintiaux A, [et al.]. Expression of gelatinases A and B and their tissue inhibitors by cells of early and term human placenta and gestational endometrium. *Lab Invest.* 1994, 71, 838-846.
11. Wang H, Li Q, Shao L, Zhu C. Expression of matrix metalloproteinase-2, -9, -14, and tissue inhibitors of metalloproteinase-1, -2, -3 in the endometrium and placenta of rhesus monkey (*Macaca mulatta*) during early pregnancy. *Biol Reprod.* 2001, 65, 31-40.
12. Zhao Y, Xiao A, Cao X, Zhu C. Expression of matrix metalloproteinase -2, -9 and tissue inhibitors of metalloproteinase -1, -2, -3 mRNAs in rat uterus during early pregnancy. *Mol Reprod Dev.* 2002, 62, 149-158.
13. Stettner R, Bogusiewicz M, Rechberger T. Rola metaloproteaz macierzowych i ich inhibitorów w progresji raka jajnika – implikacje diagnostyczne i terapeutyczne. *Ginekol Pol.* 2009, 80, 47-53.
14. Właźlak E, Surkont G, Kobos J, Tyliński W, [i wsp.]. Ekspresja metaloproteaz MMP-1, MMP-9 oraz tkankowego inhibitora metaloproteiny TIMP-1 w przypadkach raka endometrium oraz wzrostów błony śluzowej jamy macicy. *Przegląd Menopauzalny.* 2006, 6, 363-366.
15. Hu Z, Fang M, Shen Z, [et al.]. Relationship between expression of vimentin, type IV collagen and fibronectin in human placenta and pregnancy induced hypertension. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2004, 39, 609-611.
16. Zhang H, Lin Q, Qiao C. Expression of trophoblast invasion related genes mRNA and protein in human placenta in preeclampsia. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2006, 41, 509-513.
17. Merchant S, Crocker I, Baker P, [et al.]. Matrix metalloproteinase release from placental explants of pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. *J Soc Gynecol Invest.* 2004, 11, 97-103.
18. Zhan Y, Chen W, Ye Y, Lou Y. Expression of matrix metalloproteinase-9 and tumor necrosis factor-alpha in the placenta of patients with pregnancy-induced hypertension. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao.* 2005, 25, 1070-1074.
19. Shokry M, Orman O, Hassan H, [et al.]. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in human trophoblasts of normal and preeclamptic placentas: preliminary findings. *Exp Mol Pathol.* 2009, 87, 219-225.
20. von Steinburg S, Kruger A, Fischer T, [et al.]. Placental expression of proteases and their inhibitors in patients with HELLP syndrome. *Biol Chem.* 2009, 390, 1199-1204.
21. Karowicz-Bilińska A, Szczerba A, Kowalska-Koprek U, Nawrocka-Kunecka A. Zachowanie się wybranych wskaźników apoptozy w łożyskach z ciążą powikłanych hypotrofią wewnątrzmaciczną. *Ginekol Pol.* 2007, 78, 521-526.
22. Karowicz-Bilińska A, Szczerba A, Kowalska-Koprek U, [et al.]. Expression of caspase-3, Bax and Bcl-2 in placentas from pregnancies complicated by treated and non-treated fetal growth restriction. *Ginekol Pol.* 2009, 80, 652-656.

**Samodzielna Pracownia Cytogenetyki PUM
z Poradnią Genetyki Chorób Nienowotworowych
i Diagnostyki Prenatalnej**

**oraz
Oddział Zachodniopomorski Polskiego
Towarzystwa Ginekologicznego
Zapraszają na:**

III Konferencję Szkoleniową

**OD PRZESIEWOWYCH BADAŃ
PRENATALNYCH
DO NAJNOWSZYCH METOD
GENETYKI MOLEKULARNEJ**

Szczecin 15-09-2012

Hotel Novotel

TEMAT PRZEWODNI KONFERENCJI:

**KARIOTYPOWANIE MOLEKULARNE
W DIAGNOSTYCE PRENATALNEJ**

**Konferencja odbywa się pod patronatem
Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka
pod przewodnictwem prof. Janusza Limona**

Osoby zainteresowane przedstawieniem własnych badań prosimy o kontakt z zespołem organizacyjnym.

**Informacje szczegółowe dotyczące Konferencji
zamieszczone są na stronie internetowej: www.preddiag.com**

Biurowizacja Organizacyjna Konferencji:
Krzysztof Piotrowski
Samodzielna Pracownia Cytogenetyki PUM
Połabska 4; 70-115 Szczecin
tel. 91 466 1831
fax. 91 466 1565
e-mail: prediag@hotmail.com

Oplata zjazdowa wynosi:
300 PLN do 31.06.2012
400 PLN po 31.06.2012 i na miejscu w biurze konferencji
200 PLN opłata dla studentów, doktorantów, lekarzy stażystów lub w trakcie specjalizacji.

