

ارتباط پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتر ژن PAI-1 با سندروم سقط مکرر

امین خالقی پرست^۱، سعید مروتی^۲

چکیده

سابقه و هدف

یکی از فاکتورهای مطرح در ایجاد ترومبوفیلی در زنان مبتلا به سقط مکرر، پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتر ژن PAI-1 است. هدف از این تحقیق، بررسی ارتباط این پلی مورفیسم با سندروم سقط مکرر به عنوان یکی از عوامل خطر ژنتیکی برای این سندروم بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه مورد - شاهده، از میان مراجعین بیمارستان بقیه‌اله و مرکز ناباروری ابن سینا، ۳۰ زن با سابقه سقط مکرر خود به خود با علت نامشخص به عنوان گروه بیمار و ۱۰ زن بدون سابقه سقط مکرر و دارای حداقل دو باروری موفق، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتر ژن PAI-1 با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و هضم آنزیمی محصولات PCR با آنزیم‌های اندونوکلاز محدودالانتر (PCR-RFLP) بررسی شدند. نتایج به دست آمده از تعیین ژنوتیپ این پلی مورفیسم با نرم‌افزار SPSS۱۶ و آزمون کای‌دو تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

فراوانی آلل موتانت 4G در زنان دچار سقط مکرر ۴۶/۷٪ و در زنان گروه شاهد ۴۰٪ بود. ۶۰٪ زنان دچار سقط مکرر و ۸۰٪ زنان گروه شاهد، برای پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتر ژن PAI-1 هتروزیگوت بودند. ۵ نفر از زنان دچار سقط مکرر برای این پلی مورفیسم هموزیگوت بودند؛ در حالی که هیچ هموزیگوتی در بین زنان گروه شاهد مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده در این پژوهش نتوانست بین این پلی مورفیسم و سقط مکرر، رابطه معناداری نشان دهد.

کلمات کلیدی: سقط خود به خود، ترومبوفیلی، پلی مورفیسم (ژنتیک)، مهارکننده فعال‌کننده پلاسمینوژن نوع I

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۱۶

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱/۲۱

۱- مؤلف مسئول: کارشناس ارشد زیست‌شناسی ژنتیک - دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی - واحد علوم و تحقیقات تهران - تهران - ایران - کدپستی:

۱۵۷۷۳۴۹۱۸

۲- PhD ژنتیک انسانی - دانشیار مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج) - تهران - ایران

مقدمه

شایع ترین عارضه در سه ماهه اول و دوم حاملگی، سقط جنین است. مفهوم سقط جنین، به ختم بارداری پیش از هفته بیستم اطلاق می شود. در این میان، زنانی که بیش از دو بار سقط جنین پی در پی را تجربه می کنند، دچار سقط مکرر هستند (۱). سقط مکرر بیماری چند عاملی است. در نیمی از موارد، علت ناشناخته باقی می ماند. اساس ژنتیکی سقط مکرر خودبه خودی هنوز به طور دقیق شناخته نشده است؛ اما مطالعه های بافت شناسی جفت نشان داده که ارتباطی بین عوارض بارداری، پاتولوژی جفت و ترومبوفیلی مادر وجود دارد (۲-۴). سلامت جنین، ارتباط مستقیم با گردش خون مادر دارد. هر عاملی که باعث اختلال در این ارتباط شود، برای جنین زیان آور است (۵).

به نظر می رسد که ایجاد لخته نابجا یا ترومبوز می تواند در مویرگ های جفت، باعث اختلال در روند تبادلات مواد بین مادر و جنین شده و نهایتاً منجر به سقط گردد (۶). جهش در پروموتور ژن مهارکننده فعال کننده پلازمینوژن نوع I (PAI-1)، به عنوان یک فاکتور مهم در بروز ترومبوفیلی در نظر گرفته می شود. PAI-1 یک مهارکننده فیزیولوژیک برای فعال شدن پلاسمین در خون است. زمانی که عروق خونی آسیب می بینند، PAI-1 از سلول های آندوتلیال جداره عروق و پلاکت های فعال شده ترشح می شود تا از طریق غیر فعال کردن فعال کننده های پلازمینوژن (t-PA و u-PA)، به طور غیر مستقیم از تبدیل پلازمینوژن به پلاسمین و در نتیجه تخریب لخته فیبرین ممانعت کند. پس از تشکیل لخته، ترومبین به منظور جلوگیری از ترومبوسیس سیستماتیک با اتصال به ترومبودولین موجود در سطح سلول های عروق، پروتئین C را فعال کرده و باعث کاهش تولید خودش می شود. پروتئین C فعال شده (APC) با اثر بر روی سلول های آندوتلیال، موجب ترشح t-PA از این سلول ها می شود. t-PA که فعال کننده اصلی فیبرینولیز است، بر روی پروآنزیم پلازمینوژن موجود در گردش خون اثر کرده و آن را تبدیل به آنزیم پلاسمین می کند. از آنجایی که ترمیم و بازسازی بافت مستلزم حل لخته فیبرینی است، پلاسمین لخته فیبرینی را تخریب کرده و قطعات پپتیدی کوچکی را

به نام فرآورده های تخریبی فیبرین (FDP) باقی می گذارد (۷). PAI-1 در شرایط طبیعی با غلظت پایین در پلاسما حضور دارد و در اثر مسایل کلینیکی، غلظت آن در پلاسما افزایش می یابد. افزایش سطح پلاسمایی PAI-1 با پیشرفت بیماری های ترومبوتیک، انفارکتوس قلبی و ترومبوز شدید وریدی ارتباط دارد (۸-۱۰). ژن ۱۲/۲ کیلو بازی PAI-1 در انسان در باندهای ۲۲q - ۲۱.۳ کروموزوم ۷ قرار گرفته است. این ژن حاوی ۸ اینترون و ۹ اگزون است. انتهای 5' توالی DNA گلیکوپروتئین PAI-1 دارای عناصر ضروری TATAA و CCAAT برای اتصال RNA پلی مرز است. محل شروع رونویسی ۲۵ bp، پایین دست توالی توافقی TATA قرار دارد. رونویسی از ژن PAI-1 توسط عوامل مختلفی شامل هورمون ها، سیتوکین ها (خصوصاً اینترلوکین ها)، فاکتورهای رشد و آسیب های فیزیکی القا می شود (۱۱-۱۳). تنوع ژنتیکی ناشی از پلی مورفیسم در ژن PAI-1 منجر به تغییر میزان پلاسمایی PAI-1 می شود. پلی مورفیسم ناشی از دخول یا حذف گوانوزین (4G/5G) در محل ۶۷۵- در ناحیه پروموتور (راه انداز)، نقش مهمی در تنظیم بیان ژن PAI-1 ایفا می کند. تحت شرایط تحریک با سیتوکین ها (مانند: IL-1)، آلل 4G با افزایش سطح رونویسی ژن موجب افزایش میزان PAI-1 در پلاسما می شود (۱۴، ۱۵). سطح PAI-1 پلاسمایی تحت تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی است. برخی مطالعه ها نشان داده اند که سطح پلاسمایی PAI-1 در افرادی با ژنوتیپ 4G/4G تا ۲۵ درصد بیشتر از افرادی با ژنوتیپ 5G/5G است. مطالعه ها بر روی این پلی مورفیسم، ارتباط آن را با ترومبوز، بیماری تصلب شرایین و دیگر اختلالات وریدی نشان می دهند. هموزیگوتی برای آلل 4G با بیماری شریان کرونری، سکته قلبی و سندروم حاد انسداد شرایین ارتباط دارد. محصول آلل 4G ژن PAI-1 به یک فعال کننده متصل می شود، در حالی که آلل 5G به یک فعال کننده و یک سرکوبگر متصل می شود که با کاهش رونویسی PAI-1 همراه است. به علت ناتوانی آلل 4G برای اتصال به یک پروتئین سرکوبگر رونویسی، بیان mRNA و سطح پروتئین PAI-1 افزایش می یابد (۹). با توجه به اهمیت PAI-1 در هموستاز و نقش آن در ابتلا به ترومبوز وریدی و نیز

ارتباط ترومبوز با افزایش احتمال سقط مکرر، در مطالعه حاضر ارتباط پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتور ژن PAI-1 با سقط مکرر بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه مورد-شاهدی، ۳۰ زن با سابقه سقط مکرر خودبه‌خودی با علت نامشخص، به عنوان گروه بیماران و ۱۰ زن بدون سابقه سقط و دارای حداقل دو باروری موفق، به عنوان گروه شاهد از میان مراجعه‌کنندگان به بیمارستان فوق تخصصی بقیه... (عج) و مرکز ناباروری ابن‌سینا در ماه‌های شهریور تا اسفند سال ۱۳۸۸ با توجه به پرونده پزشکی بیماران و نظر متخصص زنان، انتخاب شدند. معیارهای خروج از مطالعه شامل سایر علل مطرح در سقط از جمله وجود ناهنجاری‌های کروموزومی در جنین، مشکلات آناتومیکی در رحم، اختلالات هورمونی و عفونت‌های مرتبط با سقط بود. جهت ورود به مطالعه و انجام خون‌گیری، از تمامی افراد مورد مطالعه رضایت‌نامه آگاهانه گرفته شد.

بررسی ژنوتیپ‌ها:

DNA ژنومی از نمونه خون‌هایی که در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته شده بود، به روش استاندارد رسوب نمکی استخراج گردید. تعیین ژنوتیپ با استفاده از روش PCR-RFLP صورت گرفت. آغازگرهای مناسب برای هر پلی مورفیسم طراحی شد و سپس واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس (PCR) برای هر جفت آغازگر، بهینه‌سازی شد (جدول ۱). مواد لازم برای واکنش PCR در

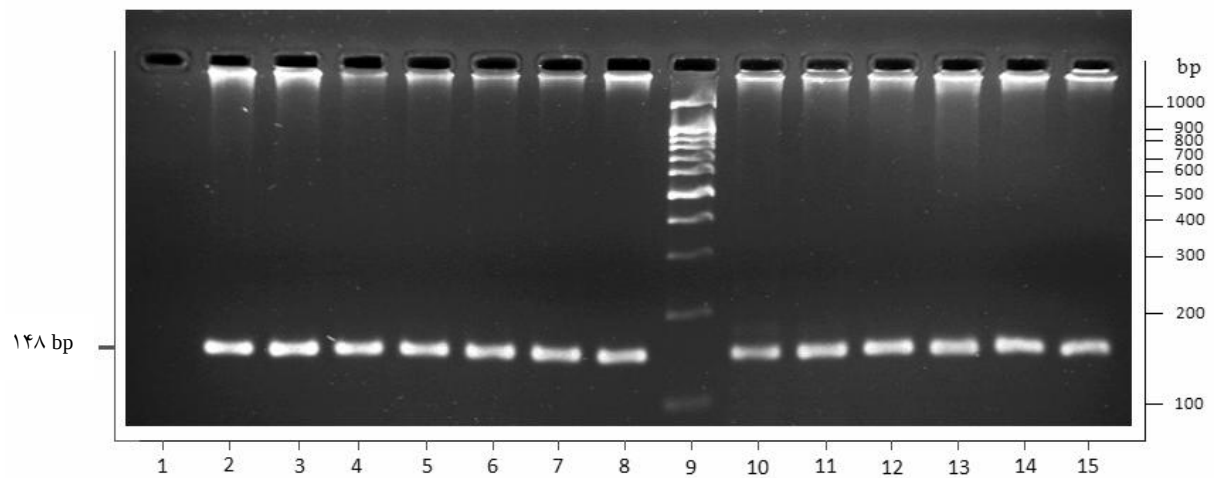
حجم ۲۰ میکرولیتر، شامل ۴۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲ میلی‌مول $MgCl_2$ ، ۰/۲۵ میلی‌مول dNTPs، ۰/۴ میلی‌مول از هر جفت آغازگر و ۱ واحد آنزیم Taq پلی‌مراس بود. مراحل انجام روش PCR به ترتیب زیر بر روی نمونه‌های DNA از دو گروه بیمار و شاهد انجام شد. پس از دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، قطعات DNA برای پلی مورفیسم PAI-1 (4G/5G) در ۳۵ سیکل (۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه) تکثیر یافتند و به دنبال آن، مرحله طول‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. صحت انجام PCR با انجام الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۲ درصد تایید شد. RFLP بر روی محصولات PCR برای پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتور ژن PAI-1 توسط آنزیم‌های محدودالایر BseRI مطابق دستورالعمل شرکت تولیدکننده آنزیم انجام شد. سپس قطعات حاصل از RFLP بر روی ژل آگاروز ۳ درصد الکتروفورز شد و طول قطعات حاصل از هضم آنزیمی مشاهده گردید. محصول PCR برای پلی مورفیسم PAI-1 (4G/5G)، ۱۴۸ bp طول دارد (شکل ۱). آلل نرمال برای آنزیم BseRI هیچ توالی قابل شناسایی ندارد، اما در آلل جهش یافته، به علت جهش رخ داده، یک جایگاه شناسایی برای آنزیم ایجاد می‌شود. حاصل این تغییر، ایجاد دو قطعه ۱۱۰ bp و ۳۸ bp پس از هضم آنزیمی است. باند ۳۸ bp به علت کوچکی اندازه در ژل آگاروز ۳ درصد مشاهده نمی‌شود؛ بنابراین، ملاک بررسی برای تعیین ژنوتیپ 4G/5G، باند ۱۱۰ bp است (شکل ۲).

جدول ۱: توالی آغازگرها، آنزیم‌های محدودالایر و محصولات PCR و RFLP پلی مورفیسم (4G/5G) در پروموتور ژن PAI-1

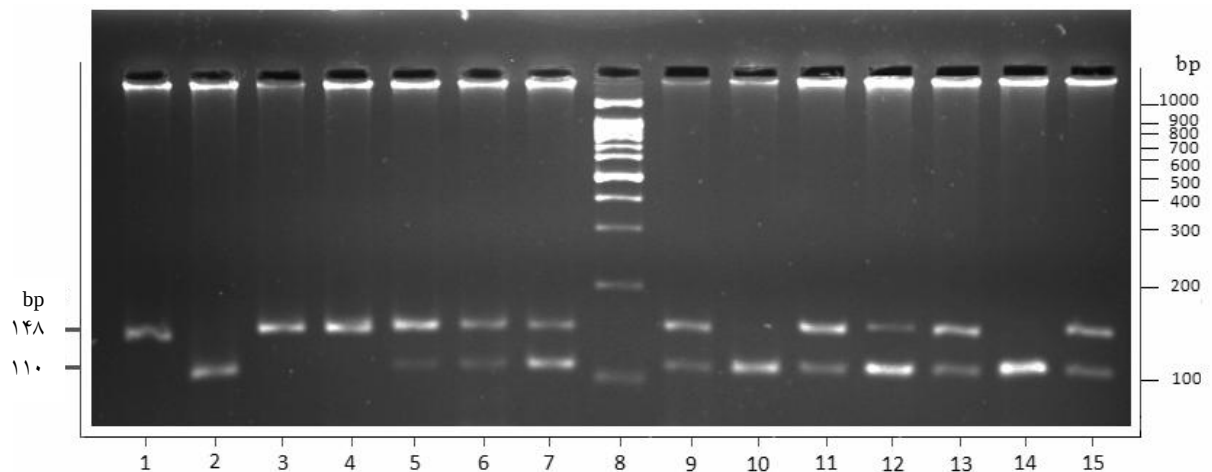
پلی مورفیسم	توالی آغازگرها	محصول PCR (bp)	آنزیم محدودالایر	محصول RFLP (bp)
PAI-1-675 4G/5G	F: 5'-CAC AGA GAG AGTCTG GAC ACG TGA-3' R: 5'-TGC AGC CAG CCA CGT GAT TGT CTA G-3'	۱۴۸	BseRI	(۱۴۸)*
				(۱۱۰، ۳۸)**

* آلل نرمال

** آلل موتانت



شکل ۱: نتایج الکتروفورز محصول PCR برای جفت آغازگر PAI-1 (4G/5G). ۱: کنترل منفی، ۸-۲ و ۱۵-۱۰: باند 148 bp محصول PCR، ۹: DNA Ladder (۱۰۰ bp).



شکل ۲: نتایج الکتروفورز محصولات PCR پس از RFLP برای پلی مورفیسم PAI-1 (4G/5G). ۱: نمونه محصولات PCR قبل از RFLP، ۴، ۳: نرمال، ۱۵، ۱۳، ۱۲، ۱۱، ۹، ۷، ۶، ۵: هتروزیگوت، ۱۴، ۱۰، ۲: هموزیگوت، ۸: DNA Ladder (۱۰۰ bp).

آنالیز آماری:

RFLP، ژنوتیپ هر فرد برای پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتور ژن PAI-1 مشخص شد. فراوانی آلل موتانت 4G در زنان دچار سقط مکرر ۴۶/۷ درصد و در زنان گروه شاهد ۴۰ درصد بود؛ اما این اختلاف به لحاظ آماری معنادار نبود. فراوانی پلی مورفیسم 4G/5G در میان زنان دچار سقط مکرر و زنان گروه شاهد به ترتیب ۷۶/۷ و ۸۰ درصد بود. ۱۸ نفر از زنان دچار سقط مکرر (۶۰٪) و ۸ نفر از زنان گروه شاهد (۸۰٪) برای این پلی مورفیسم هتروزیگوت بودند. ۵ نفر از زنان دچار سقط مکرر برای این پلی مورفیسم هموزیگوت بودند؛ اما هیچ هموزیگوتی

نتایج به دست آمده از تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتور ژن PAI-1 برای سه حالت نرمال، هتروزیگوت و هموزیگوت در دو گروه بیمار و شاهد با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۶ و آزمون کای دو مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج برای این آزمون با $p < 0.05$ معنادار تلقی گردیدند.

یافته‌ها

با توجه به نتایج مشاهده شده در الکتروفورز محصول

در بین زنان گروه شاهد مشاهده نشد. ۷ نفر از ۳۰ زن دچار سقط مکرر (۲۳/۳٪) و ۲ نفر از ۱۰ زن گروه شاهد (۲۰٪) فاقد پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتر ژن PAI-1 بودند (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتر ژن PAI-1 در زنان دچار سقط مکرر و زنان نرمال

ژنوتیپ	نمونه (n= ۳۰)	شاهد (n= ۱۰)
4G/4G + 4G/5G	۲۳ (۷۶/۷)	۸ (۸۰)
4G/4G	۵ (۱۶/۷)	۰ (۰)
4G/5G	۱۸ (۶۰)	۸ (۸۰)
5G/5G	۷ (۲۳/۳)	۲ (۲۰)
آلل		
4G	۲۸ (۴۶/۷)	۸ (۴۰)
5G	۳۲ (۵۳/۳)	۱۲ (۶۰)

در مقایسه بین دو گروه، در هیچ یک از ژنوتیپ‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد.

بحث

برای لانه‌گزینی موفق، تهاجم سیتوتروفوبلاست به عمق مناسب آندومتر رحم حیاتی است. این پدیده، لنگری برای جنین ایجاد می‌کند و سازگاری چرخه جفتی-رحمی را پیش می‌برد. به نظر می‌رسد، u-PA، گیرنده u-PA و PAI-1، پروتئولیز و بازسازی بافت مادر را طی تهاجم تروفوبلاستی بر عهده دارند. در بارداری‌های موفق، این سیستم شدیداً برای ایجاد تعادل مناسب بین تشکیل ماتریکس خارج سلولی و فیبرین، تحت کنترل و تنظیم است. به علاوه، لخته‌های خونی درون وریدی و افزایش فیبرین فضای بین پرزهای جفت، از جمله یافته‌های مورفولوژیک رایج در بافت‌های سقط خود به‌خودی هستند که اختلال در هموستاز را نشان می‌دهند (۱۵). ارتباط بین پلی مورفیسم (4G/5G) ۶۷۵- و سقط مکرر همیشه مورد سؤال بوده است.

گریس و همکاران در فرانسه، غلظت بالاتر PAI-1 را در زنان دچار سقط مکرر اولیه گزارش کرده و نشان دادند که

پروتئولیز وابسته به پلاسمین ناقص از طریق محدود کردن رشد و نمو تروفوبلاست، افزایش جذب فیبرین در چرخه اولیه جفتی و یا هر دو، می‌تواند باعث سقط مکرر شود. غلظت پلاسمایی PAI-1 به پلی مورفیسم (4G/5G) ۶۷۵- مربوط است. هموزیگوت بودن برای ژنوتیپ حذف (4G/5G) با غلظت بالاتر PAI-1 نسبت به ژنوتیپ اضافه شدن (5G/5G) ارتباط دارد و بنابراین باعث کاهش فعالیت فیبرینولیتیک می‌شود (۱۵). هم‌چنین، گوان و همکاران در چین در یک مطالعه گسترده پس از بررسی ۱۲۷ زن با حداقل سه سقط مکرر نامشخص در سه ماهه اول حاملگی و ۱۱۷ زن دارای حداقل یک بارداری بدون سابقه سقط یا دیگر عوارض شدید حاملگی (تشنج حاملگی، تولد نوزاد مرده)، در سال ۲۰۰۵ گزارش دادند که فراوانی ژنوتیپ 4G/4G و آلل 4G در زنان دچار سقط مکرر، بیشتر از گروه کنترل است و نتیجه گرفتند که رابطه معناداری بین ژنوتیپ 4G/4G و سقط مکرر اولیه وجود دارد (۱۶). ورا و همکاران در هند نیز پس از بررسی ۸ زن با سابقه سقط با علت نامشخص در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که سه زن برای آلل 4G هموزیگوت بودند. بررسی هیستومورفولوژی بافت جفت در این سه زن، وجود لخته در رگ و نکروز ناشی از وقفه در گردش خون به علت ایجاد لخته را در بافت پرزها نشان می‌دهد (۱۷).

ولف و همکاران در آلمان، ارتباط بین عوامل دخیل در هیپوفیبرینولیز را با سقط مکرر مورد بررسی قرار دادند و در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که ۵۱٪ زنان دچار سقط مکرر و ۴۹٪ زنان گروه کنترل، برای موتاسیون 4G در ژن PAI-1 هتروزیگوت و ۳۵٪ زنان دچار سقط مکرر و ۳۱٪ زنان گروه کنترل برای این موتاسیون هموزیگوت هستند. با توجه به این نتایج، ارتباط معناداری میان پلی مورفیسم 4G/5G در ژن PAI-1 و سقط مکرر وجود ندارد و سقط جنین با آلل 4G مرتبط نیست (۱۸). سوتیریادیس و همکاران در یونان، شیوع نقص‌های فیبرینولیتیک را در میان زنان دچار سقط مکرر و زنان گروه کنترل مقایسه کرده و در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که پلی مورفیسم (4G/5G) PAI-1 و افزایش فعالیت مهارکننده فعال‌کننده پلاسمینوژن، ارتباط معناداری با سقط مکرر ندارند (۱۹).

زنان گروه کنترل)، ارتباطی بین این موتاسیون و سقط مکرر وجود ندارد.

نتیجه گیری

در این مطالعه با وجود این که شیوع پلی مورفیسم PAI-1 (4G/5G) در زنان دچار سقط مکرر، بیشتر از گروه کنترل است، این اختلاف به لحاظ آماری معنادار نیست. نتایج به دست آمده در این پژوهش نتوانست بین این پلی مورفیسم و سقط مکرر، رابطه معناداری نشان دهد.

تشکر و قدردانی

از آقایان دکتر مهران آزاده و رضا پایون در بیمارستان فوق تخصصی بقیه... (عج) و کارشناسان مرکز تحقیقات بیولوژی - مولکولی - دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج) به ویژه خانم‌ها زهرا سفیری، فاطمه پورعلی و عذرا باقری که در انجام این مطالعه ما را یاری کردند و نیز از هم فکری آقایان دکتر محمود جدی تهرانی و فخرالدین ریحانی ثابت در پژوهشگاه فن‌آوری‌های نوین علوم زیستی جهاد دانشگاهی - ابن سینا، کمال تشکر و امتنان را داریم.

چنک و همکاران در آلمان، پلی مورفیسم PAI-1 (4G/5G) را در میان ۶۹ زن حامله دچار ترومبوز وریدی و ۳۹ زن حامله دچار سقط خودبه‌خودی مورد بررسی قرار دادند و در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که در مقایسه با گروه کنترل، فراوانی آلل‌های 4G (ژنوتیپ 4G/4G یا 4G/5G) در زنان حامله دچار ترومبوز وریدی به طور معناداری بالاتر است. در حالی که این فراوانی در زنان حامله دچار سقط با وجود این که بیشتر از گروه کنترل بود، به لحاظ آماری معنادار نبود. آن‌ها از این یافته‌ها نتیجه می‌گیرند که این ژنوتیپ‌ها در حاملگی فقط با ترومبوز وریدی و نه با سقط ارتباط دارند (۲۰). در مطالعه حاضر نیز، از ۳۰ زن دچار سقط مکرر، ۱۸ نفر (۶۰٪) هتروزیگوت و ۵ نفر (۱۶/۷٪) هموزیگوت برای پلی مورفیسم 4G/5G بودند. در حالی که هیچ هموزیگوتی در میان زنان گروه کنترل مشاهده نشد. فراوانی آلل 4G در زنان دچار سقط مکرر ۴۶/۷٪ و در زنان گروه کنترل ۶۰٪ بود. با توجه به نسبت افراد واجد موتاسیون 4G در ژن PAI-1 در دو گروه از زنان ایرانی مورد بررسی (۷۶/۷٪ در زنان دچار سقط مکرر و ۸۰٪ در

References :

- 1- Aruna M, Reddy BM. Recurrent spontaneous abortions: An overview of the genetic and non-genetic backgrounds. *Int J Hum Genet* 2006; 6(2): 109-117.
- 2- James AH. Venous thromboembolism in pregnancy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29(3): 326-31.
- 3- Kupfermanc MJ. Thrombophilia and pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 111.
- 4- Sierra S, Stephenson M. Genetics of recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med* 2006; 24(1): 17-24.
- 5- Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, *et al.* Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Br J Haematol* 2006; 132(2): 171-96.
- 6- Many A, Schreiber L, Rosner S, Lessing JB, Eldor A, Kupfermanc MJ. Pathologic features of the placenta in women with severe pregnancy complications and thrombophilia. *Obstet Gynecol* 2001; 98(6): 1041-4.
- 7- Southern D, Ens GE. Normal Hemostasis. In: Rodak BF. *Dignostic Hematology*. Philadelphia: W.B.Sanders Company; 1995. p. 466-80.
- 8- Lawrence DA, Strandberg L, Ericson J, Ny T. Structure-function studies of the SERPIN plasminogen activator inhibitor type 1. Analysis of chimeric strained loop mutants. *J Biol Chem* 1990; 265(33): 20293-301.
- 9- Festa A, D'Agostino R, Rich SS, Jenny NS, Tracy RP, Haffner SM. Promoter (4G/5G) plasminogen activator inhibitor-1 genotype and plasminogen activator inhibitor-1 levels in blacks, Hispanics, and non-Hispanic whites. *Circulation* 2003; 107(19): 2422-7.
- 10- Bosma PJ, van den Berg EA, Kooistra T, Siemieniak DR, Slightom JL. Human plasminogen activator inhibitor-1 gene. Promoter and structural gene nucleotide sequences. *J Biol Chem* 1988; 263(19): 9129-41.
- 11- Dupont DM, Madsen JB, Kristensen T, Bodker JS, Blouse GE, Wind T, *et al.* Biochemical properties of plasminogen activator inhibitor-1. *Front Biosci* 2009; 14: 1337-61.
- 12- Healy AM, Gelehrter TD. Induction of plasminogen activator inhibitor-1 in HepG2 human hepatoma cells by mediators of the acute phase response. *J Biol Chem* 1994; 269(29): 19095-100.
- 13- Orfeo T, Jenny NS, Everse SJ, Mann KG, Brummel-Ziedins, Katheleen. Blood cuagulation and fibrinolysis. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM,

- Paraskevas F, Glader B editors. Wintrobe's Clinical Hematology. 11th ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 2004. p. 679-740.[Vol 1]
- 14- Dupont DM, Madsen JB, Kristensen T, Bodker JS, Blouse GE, Wind T, *et al.* Biochemical properties of plasminogen activator inhibitor-1. *Front Biosci* 2009; 14: 1337-61.
- 15- Dossenbach-Glaninger A, van Trotsenburg M, Dossenbach M, Oberkanins C, Moritz A, Krugluger W, *et al.* Plasminogen activator inhibitor 1 4G/5G polymorphism and coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism: impaired fibrinolysis and early pregnancy loss. *Clin Chem* 2003; 49(7): 1081-6.
- 16- Guan LX, Du XY, Wang JX, Gao L, Wang RL, Li HB, *et al.* Association of genetic polymorphisms in plasminogen activator inhibitor-1 gene and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene with recurrent early spontaneous abortion. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2005; 22(3): 330-3.[Article in Chinese]
- 17- Vora S, Shetty S, Khare M, Ghosh K. Placental histomorphology in unexplained foetal loss with thrombophilia. *Indian J Med Res* 2009; 129(2): 144-9.
- 18- Wolf CE, Haubelt H, Pauer HU, Hinney B, Krome-Cesar C, Legler TJ, *et al.* Recurrent pregnancy loss and its relation to FV Leiden, FII G20210A and polymorphisms of plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003; 33(3): 134-7.
- 19- Sotiriadis A, Makriganakis A, Stefanos T, Paraskevaidis E, Kalantaridou SN. Fibrinolytic defects and recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2007; 109(5): 1146-55.
- 20- Schenk JF, Stephan B, Zewinger S, Speer T, Pindur G. Comparison of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism in females with venous thromboembolism during pregnancy or spontaneous abortion. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008; 39(1-4): 329-32.

Original Article

Association between the PAI-1 4G/5G promoter polymorphism and recurrent miscarriage

Khaleghparast A.¹, Morovvati S.²

¹Science and Research Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Research Center of Human Genetic of Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

One of the factors known to cause thrombophilia in women with unexplained recurrent spontaneous abortion (RSA) is the 4G/5G polymorphisms in the promoter region of the plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1). This study aimed to determine the association between RSA and this polymorphism in Iranian patients.

Materials and Methods

In this case-control study, 30 patients with the background of two or more consecutive unexplained abortions and 10 women with at least two live births without a miscarriage who referred to Baqiyatallah hospital and Avicenna Infertility Clinic were analyzed for the PAI-1 4G/5G promoter polymorphism by the PCR-RFLP method. Results achieved from estimating the genotype of this polymorphism were analyzed by the SPSS16 and Chi Square.

Results

4G allele frequency was 46.7 % in the patient group and 40% in the control group. Frequency of the PAI-1 4G/5G promoter polymorphism was 76.7% in patients and 80% in controls. For PAI-1 4G/5G promoter polymorphism, 60% of patients and 80% of controls were heterozygote. Furthermore, 16.7% of patients were homozygote, though there were not any homozygote in controls.

Conclusions

These findings failed to support the relationship between PAI-1 4G/5G promoter polymorphism and the increasing risk of RSA in evaluated Iranian women.

Key words: Spontaneous Abortion, Thrombophilia, Polymorphism(Genetic), Plasminogen Activator Inhibitor 1

Received: 8 Oct 2011

Accepted: 9 Apr 2012

Correspondence: Khaleghparast A., MSc of Biology-Genetics. Faculty of Sciences, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University.

P.O.Box: 157774918, Tehran, Iran. Tel: (+9821)88506576; Fax : (+9821) 88679546

E-mail: keyvan_1878@yahoo.com