

ارتباط پلی مورفیسم 4G/5G در ژن مهار کننده فعال کننده پلاسمینوژن-۱ (PAI-1) با ترومبوز شریانی در عروق کرونر

مریم سخته^۱، بهزاد پویک^۲، ناصر امیری زاده^۳، احمد رضا شمشیری^۴، عبدالحمید باقری^۵، محمد فرانش^۶

چکیده

سابقه و هدف

فاکتورهای مستعدکننده ارثی و اکتسابی متعددی برای ترومبوز شریانی که از بارزترین انواع آن انفارکتوس میوکارد است، مطرح می‌باشند. از جمله عوامل ژنتیکی مرتبط، می‌توان به پلی مورفیسم 4G/5G PAI-1 اشاره کرد. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط این پلی مورفیسم با بیماری‌های قلبی-عروقی ناشی از ترومبوز شریانی در عروق کرونری در افراد ایرانی بود.

مواد و روش‌ها

با طراحی یک مطالعه مورد-شاهد، ۶۱ بیمار مبتلا به ترومبوز در عروق کرونری، شامل ۴۵ مرد و ۱۶ زن و هم‌چنین ۹۲ فرد اهداکننده سالم، شامل ۷۴ مرد و ۱۸ زن از نظر این پلی مورفیسم به روش PCR و با روش ARMS ارزیابی شدند. کلیه داده‌ها با برنامه SPSS نسخه ۱۹ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و نتایج به دست آمده با مطالعه‌های مشابه مقایسه شدند.

یافته‌ها

شیوع پلی مورفیسم‌های 4G/4G، 4G/5G و 5G/5G برای ژن PAI-1 در گروه بیمار به ترتیب ۲۴/۶٪، ۴۵/۹٪ و ۲۹/۵٪ و نیز در گروه کنترل ۲۰/۷٪، ۴۲/۴٪ و ۳۷٪ بود و از نظر پلی مورفیسم مورد بررسی میان گروه بیمار و کنترل تفاوت معناداری مشاهده نشد، اما در مورد فاکتورهای خطر مرسوم نظیر فشار خون، دیابت، هایپرلیپیدمی، مصرف سیگار و چاقی بررسی‌های انجام شده نشان‌دهنده تفاوت معناداری میان گروه کنترل و بیمار بود (p=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می‌دهند میان پلی مورفیسم 4G/4G در ژن PAI-1 و افزایش استعداد ابتلا به ترومبوز شریانی در جمعیت مورد مطالعه ارتباطی وجود ندارد.

کلمات کلیدی: ترومبوز شریان کرونر، انفارکتوس میوکارد، بیماری عروق قلبی، PAI-1

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۲۳

تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۲۰

- ۱- کارشناس ارشد هماتولوژی - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران
- ۲- PhD هماتولوژی و بانک خون - استادیار دانشکده پیراپزشکی - واحد علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی - تهران - ایران
- ۳- PhD هماتولوژی و بانک خون - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران
- ۴- PhD اپیدمیولوژی - استادیار مرکز تحقیقات دندانپزشکی - دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران - تهران - ایران
- ۵- متخصص قلب و عروق - استادیار مرکز پزشکی، آموزشی و درمانی شهید مدرس - دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید بهشتی - تهران - ایران
- ۶- مؤلف مسئول: فوق تخصص خون و آنکولوژی - دانشیار دانشگاه علوم پزشکی ایران - بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص) - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۴۱۶۶-۱۱۵۷

مقدمه

سیستم فیبرینولیز، یک مکانیسم داخلی مهم در مقابل ترومبوز داخل عروقی می‌باشد. فعالیت فیبرینولیتیک عروقی در نتیجه برقراری تعادل بین فعال‌کننده پلاسمینوژن (فعال‌کننده اولیه بافتی پلاسمینوژن t-PA = tissue-type Plasminogen Activator) و مهارکننده فعال‌کننده پلاسمینوژن (PAI-1 = Plasminogen Activator Inhibitor-1) می‌باشد. هر دو جزء اشاره شده در دیواره عروق ساخته می‌شوند، نیمه عمر کوتاهی دارند و با غلظت پایینی در گردش خون حضور دارند. فعال‌کننده پلاسمینوژن بافتی و اوروکینازی (u-PA = urokinase-type Plasminogen Activator و t-PA) در ترکیب با ترومبومدولین، نقش مهمی در جلوگیری از ایجاد ترومبوز در سیستم کرونری دارند (۱). بنابراین مقدار بالای مهارکننده فعال‌کننده پلاسمینوژن می‌تواند خطر ترومبوز در عروق کرونری را بالا ببرد (۲). مطالعه‌هایی جهت نشان دادن ارتباط میان هیپوفیبرینولیز، در نتیجه بالا بودن PAI-1 و بیماری‌های قلبی - عروقی انجام شده است (۳، ۴). به علاوه مطالعه بر روی بیماران مبتلا به آنژین صدری و یا پس از انفارکتوس میوکارد نشان می‌دهد این افراد فعالیت فیبرینولیتیک کمتری نسبت به افراد کنترل دارند و هم چنین میزان PAI-1 در پلاسما آن‌ها بالاتر می‌باشد (۴). ژن PAI-1 بر روی کروموزوم ۷ (بازوی q21 تا q22) به طول ۱۲/۲ Kb قرار دارد و شامل ۸ و یا ۹ اگزون است. غلظت پلاسمایی PAI-1 می‌تواند تحت تاثیر پلی‌مورفیسم‌های متعددی در منطقه پروموتور این ژن قرار گیرد. مانند پلی‌مورفیسم شایع تک بازی ۴ و یا ۵ گوانین که ۶۷۵ جفت باز بالا دست نقطه شروع همانندسازی می‌باشد و برای اولین بار توسط داسون و همکارانش در سال ۱۹۹۲ شرح داده شد (۵). PAI-1 4G/5G جزء آن دسته از پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی قرار می‌گیرد که تصور می‌شود سبب افزایش استعداد ابتلا به ترومبوزهای شریانی هم چون انفارکتوس میوکارد شود (۶). افرادی که برای آلل 4G هموزیگوت باشند، غلظت PAI-1 در پلاسما خونشان ۲۵ درصد بالاتر از افرادی است که برای آلل 5G هموزیگوت باشند و تصور می‌شود این افراد بیش از افراد کنترل مستعد ترومبوز در عروق کرونری

هستند (۷).

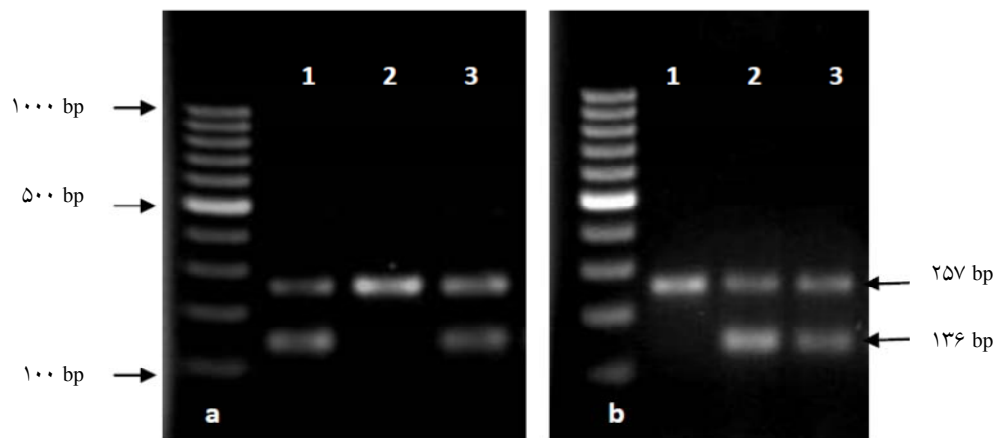
تاکنون مطالعه‌هایی با حجم نمونه کم و زیاد و هم چنین متآنالیزهایی در نقاط مختلف دنیا برای نشان دادن ارتباط این پلی‌مورفیسم و وقوع ترومبوز در شریان‌های کرونری انجام شده است. با توجه به فقدان مطالعه‌های کافی در ایران، مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط این پلی‌مورفیسم و وقوع ترومبوز در شریان کرونری انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع مورد-شاهد بوده و نمونه‌گیری از دو گروه شامل ۹۲ فرد سالم و ۶۱ نفر که دچار ترومبوز در شریان‌های کرونری قلبی شده بودند، انجام شد. گروه اول از بین اهداکنندگان سالم مراجعه‌کننده به سازمان انتقال خون انتخاب شدند (۷۴ مرد و ۱۸ زن با میانگین سنی ۵۱/۵ سال) و گروه دوم شامل افرادی بودند که با علایم درد قفسه صدری جهت بررسی آنژیوگرافی به بخش کت لب بیمارستان شهید مدرس تهران ارجاع شده بودند و در تمام موارد ترومبوز شریانی در عروق کرونری توسط آنژیوگرافی تایید شده بود (۴۵ نفر مرد و ۱۶ نفر زن با میانگین سنی ۵۸/۵ سال). کلیه نمونه‌گیری‌ها با رعایت موازین اخلاقی هلسینکی، پس از تکمیل فرم شامل مشخصات فردی و اطلاعات سلامت فرد و خانواده توسط کارشناس و رضایت‌نامه اخلاقی توسط بیمار انجام شد. نمونه گرفته شده ۳ میلی‌لیتر خون با ضد انعقاد K₂EDTA بود.

استخراج DNA ژنومیک پس از جداسازی بافی‌کوت، از لکوسیت‌ها بر اساس روش Salting Out انجام شد و غلظت DNA استخراج شده در ۲۶۰ nm مورد خوانش و کنترل کیفی قرار گرفت. بررسی ژنوتایپ نمونه‌ها برای پلی‌مورفیسم PAI-1 4G/5G به روش PCR = Polymerase Chain Reaction (ARMS) با آغازگرهای اختصاصی انجام شد.

دو واکنش برای هر نمونه به طور جداگانه و برای هر آلل انجام شد. نحوه تشکیل باندها به این ترتیب می‌باشد که یک باند کنترل در منطقه ۲۵۷ bp توسط واکنش با دو آغازگر بالا دست کنترل و پایین دست مشترک ایجاد



شکل ۱: a: واکنش برای 5G. b: واکنش برای 4G. ۱: نمونه نرمال (5G/5G) که برای واکنش 5G دارای باند 257 bp و برای واکنش 4G فاقد باند است. ۲: نمونه هموزیگوت (4G/4G) که برای واکنش 5G فاقد باند و برای واکنش 4G دارای باند 136 bp است. ۳: نمونه هتروزیگوت (4G/5G) که برای هر دو واکنش دارای باند 136 bp است. همه نمونه‌ها دارای باند 257 bp کنترل می‌باشند.

جدول ۱: آغازگرهای مورد استفاده در واکنش PCR

توالی آغازگرهای مورد استفاده در واکنش PCR	
AAG CTT TTA CCA TGG TAA CCC CTG 3' GT'5	بالا دست کنترل
AGA GTC TGG ACA CGT GGG GA 3''5	بالا دست اختصاصی 4 G
AGA GCT TGG ACA CGT GGG GG 3''5	بالا دست اختصاصی 5 G
TGC AGC CAG CCA CGT GAT TGT CTA 3' G3' '5	پایین دست مشترک

۰/۲)، آنزیم DNA پلیمراز (1 U)، DNA (100 ng) و pM و 10 از هر آغازگر (0.5 μL) از هر آغازگر اختصاصی و کنترل بالا دست، و 1 μL از آغازگر مشترک پایین دست) بود. پس از دناتوره کردن در 95 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه به منظور باز شدن اولیه دو رشته، قطعات DNA به این ترتیب تکثیر شدند: 32 سیکل شامل 94 درجه سانتی‌گراد به مدت 35 ثانیه، 64/5 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه و 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه. سپس یک مرحله طویل‌سازی به مدت 5 دقیقه در 72 درجه سانتی‌گراد انجام شد (با توجه به شباهت آغازگرهای اختصاصی 4G و 5G با به حداقل رساندن زمان طویل‌سازی، DNA الگو و آنزیم DNA پلیمراز و هم چنین انجام گرادیان دما و مواد شرایط بهینه‌سازی شد. در هر

می‌شود. هم چنین در نتیجه واکنش آغازگرهای اختصاصی و آغازگر مشترک پایین دست، باندی در منطقه 136bp قابل ردیابی می‌باشد (شکل ۱). برای نمونه‌هایی که هموزیگوت 4G/4G باشند، دو باند 257bp و 136bp در واکنش 4G و یک باند 257bp در واکنش 5G مشاهده می‌شود. اگر نمونه هموزیگوت 5G/5G باشد دو باند 257bp و 136bp در واکنش 5G و یک باند 257bp در واکنش 4G مشاهده می‌شود و بالاخره، در صورتی که نمونه هتروزیگوت 4G/5G باشد، در هر دو واکنش هر دو باند 257bp و 136bp وجود دارند (۸). کلیه آغازگرها توسط شرکت بیونیر تولید شدند (جدول ۱).

مواد مؤثره در هر واکنش PCR در حجم کلی 25 μL شامل بافر PCR (10X)، (1 μM) MgCl₂، (1 μM) dNTP،

جدول ۱: بررسی فاکتورهای خطر به طور جداگانه در دو گروه بیمار و کنترل

متغیرها	نتایج	تعداد کنترل (درصد)	تعداد بیماران (درصد)	نسبت شانس	فاصله اطمینان ۹۵٪	p value
جنسیت (مرد بودن)	مرد	۷۴ (۸۰/۴)	۴۵ (۷۳/۸)	۰/۶۸	۰/۳۲-۱/۴۸	۰/۳۳
سن	≤ ۵۰ سال	۶۳ (۶۸/۵)	۴۹ (۸۳/۳)	۱/۸۸	۰/۸۷-۴/۰۶	۰/۱۱
شاخص توده بدنی	≤ ۳۰	۱۸ (۱۹/۶)	۱۸ (۲۹/۵)	۱/۷۲	۰/۸۱-۳/۶۶	۰/۱۶
هایپرلیپیدمی	۹ (۹/۸)	۲۱ (۳۴/۴)	۴/۸۴	۰/۰۰۱ >	۲/۰۳-۱۱/۵۲	۰/۰۰۱ >
پرفشاری خون	۵ (۵/۴)	۳۱ (۵۰/۸)	۱۷/۹۸	۰/۰۰۱ >	۶/۴۱-۵۰/۴۵	۰/۰۰۱ >
دیابت	۶ (۶/۵)	۲۱ (۳۴/۴)	۷/۵۲	۰/۰۰۱ >	۲/۸۲-۲۰/۰۹	۰/۰۰۱ >
مصرف سیگار	۱۱ (۱۲)	۲۲ (۳۶/۱)	۴/۱۵	۰/۰۰۱ >	۱/۸۳-۹/۴۲	۰/۰۰۱ >
سابقه خانوادگی	۲۰ (۲۱/۷)	۳۰ (۴۹/۲)	۳/۴۸	۰/۰۰۱ >	۱/۷۲-۷/۰۵	۰/۰۰۱ >
PAI	5G/5G	۳۴ (۳۷)	۱۸ (۲۹/۵)	۱		
	4G/5G	۳۹ (۴۲/۴)	۲۸ (۴۵/۹)	۱/۳۶	۰/۶۴-۲/۸۷	۰/۴۳
	4G/4G	۱۹ (۲۰/۷)	۱۵ (۲۴/۶)	۱/۴۹	۰/۶۱-۳/۶۲	۰/۳۸
	4G	۷۷ (۵۷)	۵۸ (۴۳)	۱		
	5G	۱۰۷ (۶۲/۶)	۶۴ (۳۷/۴)	۰/۷۹	۰/۵-۱/۲۶	۰/۳۳

جدول ۲: آنالیز رابطه تمام متغیرها با بیماری به صورت یک جا؛ به عبارتی نسبت شانس گزارش شده در این جدول برای سایر متغیرها تعدیل شده است.

متغیر	نسبت شانس	فاصله اطمینان ۹۵٪	p-value
جنسیت	۰/۹۵	۰/۲۵-۳/۶۸	۰/۹۴
سن	۱/۱۲	۱/۰۴-۱۲/۰	۰/۰۰۲
شاخص توده بدنی	۱/۳۵	۰/۴۲-۴/۳۱	۰/۶۲
هایپرلیپیدمی	۵/۵۸	۱/۶۰-۱۹/۵۱	۰/۰۰۷
پرفشاری خون	۲۹/۹۸	۷/۴۱-۱۲۱/۴	۰/۰۰۱ >
دیابت	۴/۵۲	۱/۱۸-۱۷/۳۲	۰/۰۳
مصرف سیگار	۹/۹۹	۳/۰۴-۳۲/۸۱	۰/۰۰۱ >
سابقه خانوادگی	۳/۲۲	۱/۰۵-۹/۸۷	۰/۰۴
PAI-1	۱/۱۲	۰/۳۵-۳/۵۸	۰/۸۵

برخی ویژگی‌های دموگرافیک که به عنوان فاکتورهای خطر در مورد بیماری‌های قلبی-عروقی، خصوصاً گرفتگی رگ‌ها مطرح می‌باشند شامل سن، فشار خون، دیابت، هایپرلیپیدمی، مصرف سیگار و سابقه خانوادگی مورد بررسی

سری کاری نیز از کنترل هموزیگوت و هتروزیگوت تعیین توالی شده استفاده شد. محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شد. تعیین توزیع ژنوتیپی و آللیک بر اساس مشاهدات و مقایسه آن‌ها توسط آزمایش مجذور کا صورت گرفت. بررسی ارتباطات با بیان نسبت شانس (OR) و با فاصله اطمینان ۹۵٪ (CI) گزارش شد. برای تعیین نسبت شانس خام و تعدیل شده به ترتیب از آنالیز متغیرها به صورت جداگانه (Simple logistic regression) و آنالیز چند متغیره (Multiple logistic regression) با در نظر گرفتن سایر فاکتورهای خطر مرسوم برای بیماری‌های قلبی - عروقی استفاده شد (نرم افزار مورد استفاده: SPSS ۱۹).

یافته‌ها

برای پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتور ژن PAI-1، افراد به سه دسته 4G/5G، 4G/4G و 5G/5G تقسیم شدند و توزیع آن‌ها در گروه بیمار و سالم، هم چنین شیوع آلل 4G و 5G بررسی شد (جدول ۱). در مورد هیچ کدام اختلاف معناداری بین دو گروه بیمار و سالم مشاهده نشد.

توزیع ژنوتیپ 4G/4G نیز با مطالعه در تونس و کره متفاوت بود، به این ترتیب که در کره شایع‌تر و در تونس از شیوع کمتری برخوردار است (۱۸، ۱۵). ژنوتیپ 4G/5G نیز تقریباً با همه مطالعه‌هایی که در این جدول مورد بررسی قرار گرفته مشابه بوده و تنها در یونان شایع‌تر و در هند از شیوع کمتری برخوردار است (۱۷، ۱۶).

در میان افراد مبتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی و انفارکتوس میوکارد، توزیع ژنوتیپ 5G/5G در مطالعه حاضر با سایر مطالعه‌ها تقریباً مشابه بوده و تنها با ترکیه و سوئد متفاوت است و به ترتیب ۱۵/۲٪ و ۱۳/۳٪ بالاتر می‌باشد.

توزیع ژنوتیپ 4G/4G تنها از کشور ترکیه به طور چشمگیری بالاتر و از چین و سوئد پایین‌تر است (۲۰، ۱۹، ۱۴). توزیع 4G/5G نیز تنها با ترکیه متفاوت است که به میزان ۲۹/۶٪ پایین‌تر می‌باشد (۱۹).

موارد متعددی می‌توانند در متفاوت بودن الگوی ژنوتیپی به دست آمده از مطالعه‌ها در نقاط مختلف دنیا مؤثر باشند (۲۰). به عنوان مثال می‌توان به کوچک بودن جمعیت مورد مطالعه و یا نوع انتخاب گروه بیمار و کنترل اشاره کرد (۲۱). هم‌چنین شرایطی که برای ورود افراد به گروه بیمار در نظر گرفته می‌شود، در مطالعه‌های مختلف متفاوت است. مثلاً در بعضی تنها وجود برخی علائم قلبی-عروقی و در بعضی تنها وقوع انفارکتوس میوکارد در نظر گرفته شده است (۲۳، ۲۲). در این میان زیر گروه‌هایی مانند افرادی که برای اولین بار دچار حمله قلبی شده‌اند و یا افرادی که درگیری‌های یک رگ، دو رگ و سه رگ قلبی را دارند و یا کسانی که به طور مکرر دچار حمله قلبی شده‌اند، نیز وجود دارند (۲۵-۲۰).

به علاوه برای گروه کنترل نیز ملاک‌های متفاوتی در نظر گرفته شده که از جمله می‌توان به افراد بستری شده به دلایل گوناگون به غیر از مشکلات قلبی-عروقی اشاره کرد. در بسیاری مطالعه‌ها نیز تنها اهداکنندگان خون به عنوان موارد کنترل انتخاب شده‌اند (مانند مطالعه حاضر) (۲۷-۲۰).

از فواید این نوع انتخاب، احتمال بیشتر سالم بودن افراد از نظر جسمی است زیرا قبل از اهدای خون، مراحل

قرار گرفتند (آنالیز رابطه تک‌تک متغیرها با بیماری به صورت جداگانه یا Simple logistic regression)، که در همه موارد بین دو گروه بیمار و سالم، اختلاف معناداری وجود داشت ($p=0/001$) (۱۰، ۹).

میانگین شاخص توده بدنی در دو گروه مشابه، اما درصد افراد دارای BMI بالای ۳۰ در بین بیماران بیشتر بود (جدول ۲). هم‌چنین آنالیز Multiple logistic regression (آنالیز رابطه تمام متغیرها با بیماری به صورت یک جا) نیز انجام شده که ORهای گزارش شده برای سایر متغیرها تعدیل (Adjust) شده است (جدول ۲).

بحث

مهارکننده فعال‌کننده پلاسمینوژن (PAI-1)، اولین مهارکننده فیزیولوژیک پلاسمینوژن در خون می‌باشد که از نقش پروترومبوتیک ویژه‌ای برخوردار است و افزایش آن می‌تواند سبب تمایل به ترومبوز شود (۱۱). پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتور ژن کدکننده PAI-1، می‌تواند بر میزان این پروتئین در خون مؤثر باشد، از این رو دانشمندان را بر آن داشته تا به بررسی ارتباط این پلی مورفیسم و افزایش استعداد ابتلا به ترومبوز شریانی و وریدی بپردازند (۶). در مطالعه حاضر به بررسی ۱۵۳ نفر شامل ۶۲ بیمار و ۹۲ فرد سالم از نظر پلی مورفیسم در ژن PAI-1 پرداخته شد که نتیجه حاصل، نشان‌دهنده عدم ارتباط آن با ترومبوز شریانی در عروق کرونر بوده و مؤید مطالعه‌های مشابه است (۱۳، ۱۲). هر چند مطالعه‌های مشابه دیگری نیز انجام شده که نشان‌دهنده وجود ارتباط میان ژنوتایپ 4G/4G و وقوع ترومبوز شریانی در عروق کرونر هستند (۱۴، ۱۵).

الگوی توزیع ژنوتیپی به دست آمده در پلی مورفیسم 4G/5G برای ژن PAI-1، در دو جمعیت بیمار و کنترل با اغلب نقاط دنیا تقریباً مشابه می‌باشد، لذا در این جا به بیان تفاوت‌ها پرداخته شد (جدول ۳). همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، در میان افراد سالم توزیع ژنوتیپی پلی مورفیسم 5G/5G در مطالعه حاضر با مطالعه‌هایی که در جمعیت یونان، سوئد، هند و کره انجام گرفته متفاوت می‌باشد و شیوع بالاتری دارد (۱۸-۱۶، ۱۴).

جدول ۳: مقایسه مقادیر گزارش شده در دو گروه بیمار و کنترل در مطالعه حاضر و سایر مطالعه‌های مشابه به درصد

بیمار			کنترل			
4G/5G	5G/5G	4G/4G	5G/5G	4G/5G	4G/4G	
۲۲/۵	۴۰	۳۷/۵	۳۲/۱	۴۵/۸	۲۲/۱	چین (۲۰)
-	-	-	۱۸	۶۰	۲۲	یونان (۱۶)
۳۵	۴۹	۱۶	۲۰/۳	۴۰/۵	۳۹/۲	کره (۱۸)
-	-	-	۲۹/۸	۴۹	۲۱/۲	ایران (۲۴)
-	-	-	۴۹	۲۲	۲۹	هند (۲۵)
-	-	-	۳۶/۹	۴۵/۶	۱۷/۵	لبنان (۲۶)
۳۴/۴	۳۷/۵	۲۷/۹	۳۵	۴۱	۲۴	پاکستان (۲۷)
۲۰	۵۱/۱	۲۸/۹	۳۲/۵	۵۴/۸	۱۲/۷	تونس (۱۵)
۱۴/۳	۷۵/۵	۱۰/۲	-	-	-	ترکیه (۱۹)
-	-	-	۲۵/۳۸	۵۰/۲۶	۲۴/۳۶	ایتالیا (۲۸)
۲۲/۵	۵۱/۵	۲۶	۲۳/۲	۴۹/۹	۲۶/۹	آمریکا (۲۹)
۱۶/۲	۴۰/۸	۴۳	۲۰	۵۴	۲۶	سوئد (۱۴)
۲۹/۵	۴۵/۹	۲۴/۶	۳۷	۴۲/۴	۲۰/۷	مطالعه حاضر

۱۹۹۲ که برای اولین بار این پلی مورفیسم معرفی شده، تاکنون مطالعه‌های مختلفی در زمینه ارتباط آن با بیماری‌های قلبی-عروقی و سکت‌های قلبی، هم چنین ترومبوزهای وریدی انجام شده است (۸).

در این مطالعه علاوه بر ارزیابی ژنتیکی، سایر فاکتورهای خطر مرسوم برای ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی و انفارکتوس میوکارد مورد ارزیابی قرار گرفته و با مطالعه‌های مشابه مقایسه شده است (۲۳-۲۱، ۱۸، ۱۵، ۱۲). نتیجه حاصل از این ارزیابی حاکی از این است که فشار خون و دیابت در ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی، مهم‌ترین فاکتور خطر محسوب می‌شوند و هایپرلیپیدمی، مصرف سیگار، جنسیت (مرد بودن) و سابقه خانوادگی در رتبه‌های بعدی قرار دارند. بالا بودن سن و شاخص توده بدنی نیز می‌تواند به عنوان یک فاکتور خطر محسوب شود اما نسبت به بقیه از اهمیت کمتری برخوردار است.

نتیجه‌گیری

با توجه به مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که میان پلی مورفیسم 4G/5G در ژن PAI-1 و افزایش استعداد ابتلا

شامل معاینه‌های عمومی و پرسش‌های مربوط به سلامت فردی را می‌گذرانند. اما از طرفی محدودیت‌های سنی و جنسی ایجاد می‌نماید.

در برخی مطالعه‌ها نیز تنها افراد مسن و در محدوده بالای ۵۰ سال و در بعضی تنها جوانان و کودکان مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۲۹-۲۳). هم چنین محدودیت‌های سنی سبب ایجاد محدودیت جنسی نیز می‌شود. به عنوان مثال اگر مطالعه بر روی افراد بالای ۵۰ سال صورت گیرد، تعداد زنان نسبت به مردان افزایش خواهد یافت در حالی که مرد بودن در بسیاری مطالعه‌ها به عنوان یک فاکتور خطر برای ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی شناخته شده است (۲۹-۲۵).

با توجه به دلایلی که ذکر شد علاوه بر این که توزیع ژنوتیپی پلی مورفیسم یاد شده، در مناطق مختلف متفاوت است، نتیجه حاصل از بررسی ارتباط آن با بیماری‌های قلبی-عروقی و انفارکتوس میوکارد نیز در مطالعه‌های گوناگون، متفاوت می‌باشد (۲۹-۱۹). از این رو تاثیر ژن PAI-1 بر ایجاد ترومبوز در شریان‌های کرونر قلبی و بیماری‌های قلبی-عروقی، جای تردید دارد و از سال

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد هماتولوژی مصوب مرکز تحقیقات مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون می‌باشد. بدین وسیله از مرکز تحقیقات انتقال خون و مؤسسه عالی آموزشی پژوهشی طب انتقال خون و هم چنین، پایگاه منطقه‌ای انتقال خون تهران، بیمارستان شهید مدرس تهران و آزمایشگاه تخصصی پیوند، به ویژه بخش مولکولی که در انجام این پروژه ما را یاری نمودند کمال تشکر را داریم.

به ترومبوز شریانی در جمعیت مورد مطالعه ارتباطی وجود ندارد. اما به دلیل وجود تنوع قومی - نژادی موجود در کشورمان، نمی‌توان این نتیجه را به کل جمعیت کشور تعمیم داد و انجام مطالعه‌ها بر روی تعداد نمونه بیشتر لازم است. با بررسی فاکتورهای خطر اکتسابی مرسوم مشخص شد در کشورمان نیز مانند سایر نقاط دنیا، پر فشاری خون و دیابت بیشترین سهم را در بیماری‌زایی داشته و دیگر فاکتورهای خطر در رتبه‌های بعدی قرار می‌گیرند. به علاوه سن و شاخص توده بدنی در جمعیت مورد مطالعه نسبت به سایر مطالعه‌ها، سهم کمتری در افزایش استعداد ابتلا به ترومبوز در شریان‌های کرونر قلبی داشتند.

References:

- Rosenberg RD, Aird WC. Vascular-bed--specific hemostasis and hypercoagulable states. *N Engl J Med* 1999; 340(20): 1555-64.
- Meade TW, Ruddock V, Stirling Y, Chakrabarti R, Miller GJ. Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1993; 342(8879): 1076-9.
- Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood* 2000; 95(5): 1517-32.
- Gong LL, Peng JH, Han FF, Zhu J, Fang LH, Wang YH, *et al.* Association of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor polymorphism with myocardial infarction: a meta-analysis. *Thrombo Res* 2012; 130(3): e43-51.
- Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries S, Henny AM. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor (PAI-I) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 1993; 268(15): 10739-45.
- Ghasemi A, Seifi M, Khosravi M. Mechanisms of Disease: Novel Polymorphism in coronary artery Disease. In: Kirac SF. *Advances in the diagnosis of Coronary Atherosclerosis*; 2011. p. 1-19.
- Dawson S, Hamsten A, Wiman B, Henney A, Humphries S. Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Arterioscler Thromb* 1991; 11(1): 183-90.
- Falk G, Almqvist A, Nordenhem A, Svensson H, Wiman B. Allele specific PCR for detection of a sequence polymorphism in the promoter region of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene. *Fibrinolysis*. 1995; 9(3): 170-4.
- van Wyk JT, van Wijk MA, Sturkenboom MC, Moorman PW, van der Lei J. Identification of the four conventional cardiovascular disease risk factors by Dutch general practitioners. *Chest* 2005; 128(4): 2521-7.
- Mendis Sh, Puska P, Norrving B. *Global atlas on cardiovascular disease prevention and control*. USA: WHO; 2011. p. 295-303.
- Schleef RR, Higgins DL, Pillemer E, Levitt LJ. Bleeding diathesis due to decreased functional activity of type 1 plasminogen activator inhibitor. *J Clin Invest* 1989; 83(5): 1747-52.
- Crainich P, Jenny NS, Tang Z, Arnold AM, Kuller LH, Manolio T, *et al.* Lack of association of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism with cardiovascular disease in the elderly. *J Thromb Haemost* 2003; 1(8): 1799-804.
- Anderson JL, Muhlestein JB, Habashi J, Carlquist JF, Bair TL, Elmer SP, *et al.* Lack of association of a common polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene with coronary artery disease and myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34(6): 1778-83.
- Eriksson P, Kallin B, van 't Hooft FM, Båvenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(6): 1851-5.
- Abboud N, Ghazouani L, Saidi S, Ben-Hadj-Khalifa S, Addad F, Almawi WY, *et al.* Association of PAI-1 4G/5G and -844G/A gene polymorphisms and changes in PAI-1/tissue plasminogen activator levels in myocardial infarction: a case-control study. *Genet Test Mol Biomarkers* 2010; 14(1): 23-7.
- Gialeraki A, Politou M, Rallidis L, Merkouri E, Markatos C, Kremastinos D, *et al.* Prevalence of prothrombotic polymorphisms in Greece. *Genet Test* 2008; 12(4): 541-7.
- Akhter MS, Biswas A, Ranjan R, Meena A, Yadav BK, Sharma A, *et al.* Plasminogen activator-inhibitor-1 (PAI-1) gene 4G/5G promoter polymorphism is seen in higher frequency in the Indian patients with deep vein

- thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2010; 16(2): 184-8.
- 18- Song J, Yoon YM, Jung HJ, Hong SH, Park H, Kim JQ. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism and coagulation factor VII Arg353-->Gln polymorphism in Korean patients with coronary artery disease. *J Korean Med Sci* 2000; 15(2): 146-52.
- 19- Onrat S, Akci O, Söylemez Z, Onrat E, Avşar A. Prevalence of myocardial infarction polymorphisms in Afyonkarahisar, Western Turkey. *Mol Biol Rep* 2012; 39(9): 9257-64
- 20- Zhang AY, Ji XW, Zhang AJ, Guan LX, Huang J, Wang JX. Role of Genetic Polymorphism of Angiotensin-Converting Enzyme, Plasminogen Activator Inhibitor-1 and Endothelial Nitric Oxide Synthase in the Prognosis of Coronary Artery Disease. *Cardiol Res* 2010; 1(1): 8-14.
- 21- Shafiee SM, Firoozrai M, Salimi S, Zand H, Hesabi B, Mohebbi A. Angiotensin converting enzyme DD genotype not associated with increased risk of coronary artery disease in the Iranian population. *Pathophysiology* 2010; 17(3): 163-7.
- 22- Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analysis of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(2): 484-92.
- 23- Ahmed W, Malik M, Saeed I, Khan AA, Sadeque A, Kaleem U, *et al.* Role of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor polymorphism in myocardial infarction. *Mol Biol Rep* 2011; 38(4): 2541-8.
- 24- Imanian H, Hadavi V, Kariminejad A, Oberkanins CH, Najmabadi H. Study of PAI-1 4G/5G polymorphism as a genetic risk factor for cardiovascular disease in the Iranian population. *Genetics in the 3rd millennium* 2010; 8(1): 1973-7. [Article in Farsi]
- 25- Akhter M, Biswas A, Ranjan R, Meena A, Yadav BK, Sharma A, *et al.* Plasminogen activator-inhibitor-1 (PAI-1) gene 4G/5G promoter polymorphism is seen in higher frequency in the Indian patients with deep vein thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2010; 16(2): 184-8.
- 26- Shammaa DM, Sabbagh AS, Taher AT, Zataari GS, Mahfouz RA. Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) gene 4G/5G alleles frequency distribution in the Lebanese population. *Mol Biol Rep* 2008; 35(3): 453-7.
- 27- Ahmed W, Malik M, Saeed I, Khan AA, Sadeque A, Kaleem U, *et al.* Role of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor polymorphism in myocardial infarction. *Mol Biol Rep* 2011; 38(4): 2541-8.
- 28- Margaglione M, Cappucci G, Colaizzo D, Guiliani N, Vecchione G, Grandone E, *et al.* The PAI-1 gene locus 4G/5G polymorphism is associated with a family history of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18(2): 152-6.
- 29- Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Miletich JP. Arterial and venous thrombosis is not associated with the 4G/5G polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor gene in a large cohort of US men. *Circulation* 1997; 95(1): 59-62.

Original Article

Association of 4G/5G polymorphism in Plasminogen activator inhibitor-inhibitor (PAI-1) gene with thrombosis in coronary arteries

Sakhteh M.¹, Poopak B.², Amirizadeh N.¹, Shamshiri A.R.³, Bagheri A.H.⁴, Faranoush M.⁵

¹Blood Transfusion Research Center, High Institute for Education and Research in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

²School of Paramedicine, Tehran Medical Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran

³Faculty of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴Modares Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁵Rasoul Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Several hereditary and acquired risk factors for thrombosis are known. Among the genetic factors, PAI-1 4G/5G polymorphism can be noted. This study was done to investigate the association of 4G/5G polymorphism in PAI-1 gene and thrombosis in coronary arteries.

Materials and Methods

Sixty one patients with the history of thrombosis in coronary arteries and 92 healthy blood donors participated as the control in our study. After DNA extraction from leucocytes based on the selective detergent-mediated DNA precipitation from crude lysate, PCR was performed using ARMS technique. Single and multivariate analyses were applied to adjust for potentially confounding factors using SPSS 19 software. The data were also compared with those of the other similar studies.

Results

The results showed 61 patients with history of coronary artery thrombosis for PAI-1 with the values of 24.6%, 45.9%, and 29.5% for 4G/4G, 4G/5G, and 5G/5G, respectively; the values for 92 healthy blood donors were evaluated to be 20.7%, 42.2%, and 37% in order. The polymorphism studied was not significantly different between cases and controls. Single and multivariate analyses show a significant difference for the conventional risk factors for coronary artery disease between patients and healthy controls (P value: 0.001).

Conclusions

We found no association between arterial thrombosis and the 4G/4G genotype for PAI-1 gene in Iranian population of the current study.

Key words: Coronary Thrombosis, Myocardial Infarction, Coronary Artery Disease, PAI-1

Received: 13 May 2013

Accepted: 11 Aug 2013

Correspondence: Faranoush M., MD. Pediatrics Hematologist-Oncologist. Associate Professor of Rasoul Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences.

P.O.Box: 14166-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88605151; Fax: (+9821) 88601580

E-mail: faranoush47@yahoo.com