



## بررسی ژنتیکی پلی مورفیسم PAI-1 4G/5G به عنوان عامل ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی در جمعیت ایران

هاشم ایمانیان<sup>\*</sup>، واله هادوی<sup>۱</sup>، آریانا کریمی نژاد<sup>۱</sup>، کریستین آبرکانینز<sup>۲</sup>،  
حسین نجم‌آبادی<sup>۱،۳</sup>

۱- مرکز پاتولوژی و ژنتیک کریمی نژاد-نجم‌آبادی، تهران، ایران

۲- آزمایشگاه تشخیصی ViennaLab، وین، اتریش

۳- مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، تهران، ایران

### چکیده

در این بررسی، ۲۰۸ فرد بدون علائم بالینی بیماری‌های قلبی-عروقی و سابقه ترومبوز وریدی، از نقاط مختلف ایران با نژادهای متفاوت، مطالعه شدند. جهت ارزیابی توزیع پلی مورفیسم PAI-1 4G/5G، یکی از عوامل ژنتیکی ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی در جمعیت ایران، از روش هیبریدیزاسیون معکوس برای تشخیص سریع و دقیق استفاده شد. اساس آزمون روش Multiplex PCR و هیبریدیزاسیون بر روی نوار آزمون است. این نوار شامل خطوط موزی حاوی پروب‌های الیگونوکلوئیدی خاص آلی است. شیوع جهش PAI-1 4G/5G در جمعیت مورد بررسی ۰/۴۵ بود که با آمارهای گزارش شده از اروپا برابری می‌کند، اما بیشتر از فراوانی‌های پایین گزارش شده از کشورهای منطقه آسیاست. در این مطالعه، نحوه توزیع آلل جهش یافته PAI-1 4G/5G در نژادهای مختلف جمعیت ایران بررسی شده و نتایج آن با مطالعات صورت گرفته مقایسه شده است. پژوهش اخیر تنها مطالعه‌ای است که تاکنون بر روی پلی مورفیسم ژنی PAI-1 4G/5G در ایران انجام شده است. واژه‌های کلیدی: ترومبوز وریدی؛ پلی مورفیسم ژنتیکی؛ مهار کننده عامل فعال ساز پلاسمینوژن؛ فرکانس ژنی؛ ایران

### مقدمه

بیماری‌های قلبی-عروقی (CVD) به گروهی از نارسایی‌های چندگانه اطلاق می‌شود که در آنها قلب، سرخرگ‌ها و سیاهرگ‌ها عملکرد طبیعی خود را از دست می‌دهند. از میان این دسته از بیماری‌ها، ترومبوآمبولیسم

وریدی (VTE)<sup>۲</sup> سومین عارضه قلبی-عروقی شایع در دنیاست که سالیانه ۱ در ۱۰۰۰ نفر را درگیر می‌سازد (۱). آبخار انعقادی مسیر اصلی محافظتی است که با تنظیم واکنش‌های دقیق بین اجزاء دیواره عروق، پلاکت‌ها و پروتئین‌های پلاسما، باعث محدودیت در از دست رفتن خون می‌شود (۲). عدم تنظیم فعالیت این آبخار ممکن است به تشکیل ترومبوز وریدی و

1. Cardiovascular Diseases  
2. Venous Thromboembolism

\* هاشم ایمانیان، BSc.M.T  
مرکز پاتولوژی و ژنتیک کریمی نژاد-نجم‌آبادی، تهران، ایران  
E.mail: hashem1093@yahoo.com  
تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۲۵

سابقه ترومبوز وریدی، شامل ۱۰۳ مرد و ۱۰۵ زن، در محدوده سنی بین ۱۸ تا ۵۵ سال، از افراد مراجعه کننده به مرکز تحقیقات ژنتیک دانشگاه بهزیستی و توانبخشی تهران، ارزیابی شدند. افراد به گونه ای انتخاب شدند که کلیه قومیت های مختلف ایرانی را در برگیرند و در ضمن، کلیه مناطق جغرافیایی کشور را پوشش دهند. کلیه افرادی که در مطالعه شرکت کردند، ابتدا رضایت خود را با پر کردن فرم رضایت نامه اعلام کردند. نمونه های خون محیطی مخلوط با سدیم EDTA از افراد تهیه شد. با استفاده از روش نمک اشباع DNA ژنومی استخراج شد (۲۱). شناسایی ناقلان با روش هیبریدیزاسیون معکوس انجام شد. در این روش، از کیت CVD StripAssay (ViennaLab، اتریش) استفاده شد و بقیه مراحل بر اساس پروتکل کیت مورد آزمایش انجام شد (۲۲).

### یافته ها

دویست و هشت نفر از نقاط مختلف ایران با نژادهای مختلف بررسی شدند. ژنوتیپ و فراوانی آللی پلی مورفیسم در نقاط مختلف ایران و نژادهای مختلف در جدول ۱ و ۲ ذکر شده است. جدول ۳ بیانگر شیوع پلی مورفیسم در جمعیت های مختلف، طبق آمارهای گزارش شده از محققان مختلف، در مقایسه با ایران است. شایع ترین آلل دیده شده در بررسی اخیر PAI-1-675 5G، با فراوانی ۰/۵۴، بود. در گروه مورد مطالعه، حالت هوموزیگوت ژنوتیپ جهش یافته PAI-1-675 4G، با فراوانی ۰/۲۱/۲، دیده شد.

به طور کلی، بالاترین شیوع آلل جهش یافته 4G متعلق به جنوب غرب، شمال و جنوب ایران بود که به ترتیب، ۰/۵۲، ۰/۵۱ و ۰/۵۰، تعیین شد (جدول ۱). از میان نژادهای مختلف فارس، لر، کرد، گیلک، بلوچ، آذری و عرب مورد بررسی، آلل جهش یافته 4G در نژادهای کرد، عرب و گیلک با بالاترین فراوانی ها (به ترتیب، ۰/۵۲، ۰/۵۱ و ۰/۵۱)، و نژادهای لر، بلوچ، فارس و آذری کمترین فراوانی ها (به ترتیب، ۰/۴۷، ۰/۴۵، ۰/۴۱ و ۰/۴۱) را داشتند (جدول ۲). جمعیت مورد بررسی از تعادل هاردی-واینبرگ برخوردار بود.

### بحث و نتیجه گیری

بیماری های قلبی-عروقی سریع و ناگهانی بروز می کنند و یکی از عمده ترین مشکلات بهداشتی کشورهای در حال توسعه، مانند ایران، هستند. این دسته از بیماری ها با شیوع ۳۹ درصدی نخستین علت مرگ و میر در

سرخرگی منجر شود و زندگی فرد را به خطر اندازد. ترومبوز وریدی ممکن است نتیجه اختلالات ژنتیکی باشد یا بر اثر تغییرات ایجاد شده در روند لخته شدن خون یا بر اثر تعامل بین این دو ایجاد شود (۳). این عارضه یکی از علل عمده مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته و عامل اصلی بیماری و مرگ و میر در دوران بارداری، کودکی و در بدخیمی هاست (۴).

ترکیب عمده سامانه فیبرینولیتیک پروآنزیم پلازمینوژن است که به وسیله فعال کننده های پلازمینوژن بافتی (t-PA) و اوروکیناز (u-PA)، به پلازمین تبدیل می شود و پلازمین از نظر فیبرینولیتیکی یک آنزیم فعال است (۵). این فعالیت t-PA و u-PA به وسیله بازدارنده های فعال کننده پلازمینوژن (PAI)، مانند PAI نوع یک متوقف می شود (۶). ظرفیت فیبرینولیتیکی شاخص مهمی در ایجاد سکنه های قلبی در جوانان (۵ و ۷)، ایسکمی در اشخاصی که به طور متناوب دچار تصلب شرایین می شوند (۸)، و نیز ترومبوز وریدی محسوب می شود (۹ و ۱۰).

در سال ۱۹۹۳، پلی مورفیسم حذفی / دخولی در پروموتور ژن PAI-1 (7q21.3-q22) شناسایی شد (۱۱). مشخصه این پلی مورفیسم «حذف» یک آلل با توالی ۴ گوانوزین (4G) و دخول آللی با توالی ۵ گوانوزین (5G) است (۱۱). شواهد نشان می دهد که در ناقلان هوموزیگوت 4G/4G فعالیت PAI-1 بیشتر از ناقلان 5G است (۱۱ تا ۱۴). علاوه بر این، پلی مورفیسم 4G/5G ژن با افزایش قابل ملاحظه خطر بروز بیماری های قلبی-عروقی (CAD) (۱۵)، سکنه قلبی (۱۲ و ۱۶ تا ۱۸)، و نیز داشتن سابقه خانوادگی CAD (۱۹) مرتبط است. یاکوویلو و همکاران، به منظور ارزیابی شدت تأثیر پلی مورفیسم ژن PAI-1 بر روی بیماری های قلبی-عروقی، مطالعه متاآنالیزی انجام دادند و توانستند وجود ارتباط بین پلی مورفیسم های این ژن را با CAD و سکنه قلبی تأیید کنند (۲۰). در این بررسی مشخص شد که خطر سکنه قلبی در ناقلان آلل 4G (افراد در معرض خطر بالا) دو برابر افراد ناقل پلی مورفیسم های دیگر این ژن (افراد در معرض خطر پایین) است (۲۰).

ارتباط بین عوامل محیطی و بیماری های قلبی-عروقی در ایران به خوبی بررسی شده است، اما نقش مارکرهای ژنتیکی، به عنوان عامل مهم در بروز این گونه بیماری ها، هنوز در ایران ناشناخته است. تاکنون مطالعه ای بر روی شیوع پلی مورفیسم PAI-1-675 4G/5G در جمعیت ایران صورت نگرفته است. هدف از این بررسی تعیین فراوانی پلی مورفیسم یاد شده در جمعیت ایران است که بتواند عوامل ژنتیکی تأثیر گذار بر ایجاد بیماری های قلبی-عروقی را در ایران مشخص و اطلاعات اپیدمیولوژیکی را برای مطالعات آتی فراهم کند.

### مواد و روش ها

در پژوهش اخیر ۲۰۸ فرد سالم و بدون علائم بیماری های قلبی-عروقی و

3. Tissue-type Plasminogen Activator  
4. Urokinase Plasminogen Activator  
5. Plasminogen Activator Inhibitors  
6. Deletion/Insertion Polymorphism  
7. Iacoviello

جدول ۱: ژنوتیپها (%) و فراوانی آلی پلی مورفیسم PAI-1 4G/5G در نقاط مختلف ایران

ژنوتیپ	مرکز	شمال	شمال شرق	شمال غرب	جنوب شرق	جنوب غرب	غرب	جمع
4G/4G	۶/۵	۲۷/۶	۷/۷	۱۴/۷	۲۸/۶	۳۰/۸	۲۷/۶	۲۱/۲
4G/5G	۵۸/۱	۴۸/۳	۵۳/۸	۵۸/۸	۳۹/۳	۴۳/۶	۳۴/۵	۴۹/۰
5G/5G	۳۵/۵	۲۴/۱	۳۸/۵	۲۶/۵	۳۲/۱	۲۵/۶	۳۷/۹	۲۹/۸
آل 4G	۰/۳۳۵	۰/۵۱۷	۰/۳۴۶	۰/۴۴۱	۰/۵۰۰	۰/۴۸۳	۰/۴۴۸	۰/۴۵۷
آل 5G	۰/۶۴۵	۰/۴۸۳	۰/۶۵۴	۰/۵۵۹	۰/۵۰۰	۰/۵۱۷	۰/۴۷۴	۰/۵۴۳

جدول ۲: ژنوتیپها (%) و فراوانی آلی پلی مورفیسم PAI-1 4G/5G در نژادهای مختلف جمعیت ایران

ژنوتیپ	فارس	آذری	لر	کرد	بلوچ	گیلک	عرب	جمع
4G/4G	۱۴/۷	۱۰/۳	۱۶/۷	۴۴/۴	۳۰/۴	۲۶/۹	۲۶/۳	۲۱/۲
4G/5G	۵۳/۳	۶۲/۱	۶۱/۱	۱۶/۷	۳۰/۴	۵۰/۰	۵۲/۶	۴۹/۰
5G/5G	۳۲/۰	۲۷/۶	۲۲/۲	۲۸/۹	۳۹/۱	۲۳/۱	۲۱/۱	۲۹/۸
آل 4G	۰/۴۱۴	۰/۴۱۴	۰/۴۷۲	۰/۵۲۷	۰/۴۵۶	۰/۵۱۹	۰/۵۲۶	۰/۴۵۷
آل 5G	۰/۵۸۶	۰/۵۸۶	۰/۵۲۸	۰/۴۷۳	۰/۵۴۴	۰/۴۸۱	۰/۴۷۴	۰/۵۴۳

جدول ۳: فراوانی آلی پلی مورفیسم PAI-1 4G/5G در جمعیت‌های مختلف در مقایسه با ایران

فراوانی آلی		جمعیت (مرجع)
5G	4G	
۰/۴۸	۰/۵۲	یونان (۲۶)
۰/۴۲	۰/۵۸	لبنان (۲۷)
۰/۵۵	۰/۴۵	ترکیه (۲۷)
۰/۵۵	۰/۴۵	ایران (بررسی حاضر)
۰/۴۱	۰/۵۹	شرق آسیا (۳۰)

در ۶۷۵ باز بالادست محل شروع رونویسی ژن PAI-1 است، به تغییر فعالیت PAI-1 می‌انجامد (۲۵) و با ترومبوز وریدی همراه است (۲۰). همان طوری که در جدول ۳ مشاهده می‌کنید، فراوانی به‌دست‌آمده برای آل PAI-1 4G در این بررسی ۰/۴۵ است که با مقادیر گزارش شده از ترکیه (۰/۴۵) برابری می‌کند. این رقم کمتر از آمارهای گزارش شده از یونان (۰/۵۲)، قبرس (۰/۵۸)، لبنان (۰/۵۸)، ایتالیا (۰/۵۰)، اسپانیا (۰/۴۶)، اروپای مرکزی (۰/۴۲)، آفریقا (۰/۴۷) تا ۰/۵۴ و شرق آسیاست (۰/۵۹) (۲۶ تا ۳۰).

در ایران نیز، همچون بسیاری از کشورهای همسایه، پیش از این مطالعه‌ای بر روی میزان شیوع پلی مورفیسم PAI-1 4G/5G صورت نگرفته بود.

ایران به‌شمار می‌آیند (۲۳). تنها در آمریکا، هر سال بیش از ۳۰۰۰۰۰ نفر به‌طور ناگهانی، به‌علل عوارض قلبی، می‌میرند. با اینکه شیوه‌های درمانی بیماری‌های قلبی-عروقی توسعه و بهبود یافته است، شیوع آن همچنان روندی صعودی دارد (۲۳).

بازدارنده فعال‌کننده‌های پلاسمینوژن نوع ۱ (PAI-1) در ایجاد ترومبوز وریدی نقش دارند (۲۴). PAI-1 اثر بازدارنده‌ای بر فعال‌کننده‌های پلاسمینوژن نوع بافتی و نوع اوروکیناز (t-Pa و u-PA) دارد و از این راه، از تبدیل پلاسمینوژن به پلاسمین جلوگیری می‌کند. افزایش فعالیت PAI-1 در پلاسما یکی از علل عمده اختلال در فعالیت فیبرینولیتیک است (۲۴). پلی مورفیسم 4G/5G که حاصل حذف و دخول گوانوزین

بیماری با افزایش سطح PAI-1 همراه باشد. از آنجایی که اطلاعات مشابهی از میزان جهش PAI-1 4G/5G در کشورهای همسایه، نظیر آذربایجان، پاکستان، عراق و عربستان سعودی وجود ندارد، نتیجه‌گیری در مورد این فرضیه که فراوانی این جهش از غرب به شرق کاهش می‌یابد یا خیر، مشکل است. فراوانی بالای PAI-1 4G/4G، خصوصاً در حالت هوموزیگوت، و همراهی آن با افزایش خطر ترومبوز وریدی، سکته قلبی و سکته‌های مغزی در این افراد اهمیت بررسی این پلی‌مورفیسم‌ها را در جمعیت ایران بیش از پیش روشن می‌سازد. به مطالعات و بررسی‌های بیشتر، به منظور تعیین ارتباط پلی‌مورفیسم PAI-1 4G/5G با بیماری‌های قلبی-عروقی، سرخرگی و ترومبوز وریدی، در جمعیت ایران نیاز است.

فراوانی هوموزیگوسیته به دست آمده برای PAI-1 4G/4G در این بررسی ۲۱/۲٪ بود (جدول ۱). در پژوهشی که در ترکیه بر روی ۱۵۴ فرد سالم و شاهد انجام شده است، شیوع ژنوتیپ PAI-1 4G/4G، به صورت هوموزیگوت، ۳۵/۷٪ برآورد شده است که بالاتر از رقم به دست آمده در این بررسی است (۳۱). آلل PAI-1 5G دارای محلی برای اتصال گیرنده‌های پروتئینی رونویسی است که آلل 4G فاقد آن است. در نتیجه، آلل PAI-1 4G در مقایسه با آلل 5G با فعالیت بیشتر PAI-1 همراه است و موجب اختلال در فعالیت فیبرینولیتیکی می‌شود (۲۰). پلی‌مورفیسم PAI-1 4G/5G در ایجاد بسیاری از بیماری‌ها، مانند ترومبوز وریدی، سکته قلبی و سکته‌های مغزی، نقش دارد (۳۲). تعیین پلی‌مورفیسم در جوانانی که به ترومبوز وریدی با علت نامعلوم مبتلا هستند، سودمند است، به ویژه اگر

## References

- Menon J, Salman MM, MdGH. Venous thrombolysis: Current perspectives. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2004;6:159-68.
- Konkle BA. Bleeding and thrombosis. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, et al. Editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 17th ed. New York: McGraw Hill; 2008. P.363-9.
- Cardiovascular disease: prevention and control [Internet]. World Health Organization. Available from: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/Fact/cvd/en>.
- Reitsma PH, Rosendaal FR. Past and future of genetic research in thrombosis. *J Thromb Haemost* 2007;SI:264-9.
- Hamsten A, Wiman B, De Faire U, et al. Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *New Engl J Med* 1985;313:1557-63.
- Sprengers ED, Kluft C. Plasminogen activator inhibitors. *Blood* 1987;69:381-7.
- Hamsten A, de Faire U, Waldius G, et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 1987;2:3-9.
- Cortellaro M, Cofrancesco E, Boschetti C. Increased fibrin turnover and high PAI-I activity as predictors of ischemic events in atherosclerotic patients: a case control study. *Arterioscler Thromb* 1993;13:1412-7.
- Juhan-Vague I, Valadier J, Alessi MC, et al. Deficient t-PA release and elevated PA inhibitor in patients with spontaneous or recurrent deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1987;57:67-72.
- Stegnar M, Uhrin P, Peternel P, et al. The 4G/5G sequence polymorphism in the promoter of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene: relationship to plasma PAI-1 level in venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1998;79:975-9.
- Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, et al. 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;268:10739-5.
- Eriksson P, Kallin B, van't Hooft FM, et al. Allele specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:1851-5.
- Ye S, Green FR, Scarabin PY, et al. The 4G/5G genetic polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-I (PAI-I) gene is associated with differences in plasma PAI-I activity but not with risk of myocardial infarction in the ECTIM study. *Thromb Haemost* 1995;74:837-41.
- Dawson S, Hamsten A, Wiman B, et al. Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-I locus is associated with altered levels of plasminogen activator inhibitor-I activity. *Arterioscler Thromb*

1991;11:183-90.

15. Mansfield MW, Stickland MH, Grant PJ. Plasminogen activator-I (PAI-I) promoter polymorphism and coronary artery disease in non-insulin-dependent diabetes. *Thromb Haemost* 1995;74:1032-4.

16. Ossei-Gerning N, Mansfield MW, Stickland MH, et al. Plasminogen activator inhibitor-I promoter 4G/5G genotype and plasma levels in relation to a history of myocardial infarction in patients characterized by coronary angiography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:33-7.

17. Colaizzo D, Margaglione M, Lirato C, et al. Plasminogen activator inhibitor I 4G/5G in subjects with a history of juvenile coronary heart disease. *Thromb Haemost* 1997;Suppl: 97(Abstract).

18. Van der Boom JC, Bots ML, Slagboom PE, et al. The risk of smoking is modified by the 4G allele of the PAI-I gene. *Thromb Haemost* 1997;Suppl:579 (Abstract).

19. Margaglione M, Cappucci G, Colaizzo D, et al. The PAI-I gene locus 4G/5G polymorphism is associated with a family history of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:152-6.

20. Iacoviello L, Burzotta F, Di Castelnuovo A, et al. The 4G/5G polymorphism of PAI-I promoter gene and the risk of myocardial infarction: A meta-analysis. *Thromb Haemost* 1998;80:1029-30.

21. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res* 1988;16:1215.

22. Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 2005;1:47-50.

23. Khosravi A, Rao C, Naghavi M, et al. Impact of misclassification on measures of cardiovascular

disease mortality in the Islamic Republic of Iran: a cross-sectional study. *Bulletin WHO* 2008;86:688-96.

24. Hoekstra T, Geleijnse JM, Schouten EG, et al. Plasminogen activator inhibitor-type 1: its plasma determinants and relation with cardiovascular risk. *Thromb Haemost* 2004;91:861-72.

25. Ridker PM, Hennekens CH, Schmitz C, et al. PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction stroke, and venous thrombosis. *Lancet* 1997;349:385-8.

26. Gialeraki A, Politou M, Rallidis L, et al. Prevalence of prothrombotic polymorphisms in Greece. *Genetic Testing* 2008;12:541-7.

27. Mahfouz RA, Otrrock ZK, Ghasham MA, et al. Oral contraceptive pills and inherited thrombophilia in a young woman with deep venous thrombosis. *East Mediterr Health J* 2009;15:235-8.

28. deGaetano G, Di Castelnuovo A, Donati MB, et al. The Mediterranean lecture: from epidemiology to physiology and back. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33:466-71.

29. Rees DC, Chapman NH, Webster MT, et al. Born to clot: the European burden. *Br J Haematol* 1999;105:564-6.

30. Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. *Lancet* 1995;346:1133-4.

31. Emingil G, Berdeli A, Gürkan A, et al. Gene polymorphisms of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in Turkish patients with generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2007;34:278-84.

32. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, et al. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk. *Thromb Res* 2008;122:736-42.