

Ενεργότητα και πολυμορφισμός 4G/5G του γονιδίου του PAI-1 σε γυναίκες με ιδιοπαθείς καθ' ἑξιν εκτρώσεις

Αλέξανδρος Σωτηριάδης¹, Θεόδωρος Στέφος¹, Ματθαίος Παύλου¹, Νικόλαος Κολαΐτης², Γεώργιος Βαρθολομάτος³, Λευκοθέα Ντόβα³, Ευάγγελος Παρασκευαΐδης¹, Σοφία Ν. Καλανταρίδου¹

¹Μαιευτική - Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημιακού Περιφερειακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων

²Εργαστήριο Αιματολογίας Πανεπιστημιακού Περιφερειακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων

³Εργαστήριο Αιματολογίας - Μονάδα Μοριακής Βιολογίας Πανεπιστημιακού Περιφερειακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων

Αλληλογραφία: Αλέξανδρος Σωτηριάδης
Π. Μελά 10, 546 22 Θεσσαλονίκη
Τηλ.: 2310 274800
E-mail: asotir@gmail.com

Περίληψη

Ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου -1 (PAI-1) επηρεάζει έμμεσα τη διείσδυση της τροφοβλάστης, ανταγωνιζόμενος τη θετική δράση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (uPA). Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε ταυτόχρονα η ενεργότητα και ο πολυμορφισμός 4G/5G του PAI-1 σε ασθενείς με καθ' ἑξιν αποβολές και γυναίκες ελέγχου.

Η ενεργότητα και η κατανομή της μετάλλαξης 4G/5G του γονιδίου του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου -1 (PAI-1) εξετάστηκε σε 46 γυναίκες με ≥ 2 συνεχόμενες ανεξήγητες αυτόματες εκτρώσεις πρώτου τριμήνου και 34 γυναίκες ελέγχου. Αν και οι γυναίκες με καθ' ἑξιν εκτρώσεις παρουσίαζαν υψηλότερη διάμεση ενεργότητα του PAI-1 σε σχέση με τις γυναίκες ελέγχου (2.5 U/mL έναντι 0.4 U/mL, $p=0.0001$), η κατανομή του πολυμορφισμού δεν διέφερε ανάμεσα στις δύο ομάδες.

Ασθενείς με καθ' ἑξιν αποβολές παρουσιάζουν υψηλότερη ενεργότητα του PAI-1, είναι όμως πιθανό ότι αυτή εκδηλώνεται στα πλαίσια ενός γενικότερου θρομβωτικού περιβάλλοντος στο οποίο ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός του γονιδίου του PAI δεν ασκεί σημαντική επίδραση.

Λέξεις κλειδιά: καθ' ἑξιν εκτρώσεις, PAI, θρομβοφιλία, ινωδόλυση

Εισαγωγή

Στη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας έχει γίνει αντιληπτό ότι ο μηχανισμός της ινωδόλυσης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη κύηση. Ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (uPA) εκφράζεται στην τροφοβλάστη και γνωρίζουμε ότι αποτελεί έναν από τους παράγοντες που

ευνοεί τη διείσδυσή της μέσω αύξησης της διηθητικότητάς της και προαγωγής της διάσπασης της εξωκυττάριας ουσίας (Lala and Chakraborty, 2003).

Οι αναστολείς του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI) εμφανίζουν ανασταλτική δράση έναντι των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου τύπου ου-

ροκινάσης (uPA) και ιστικού τύπου (tPA), ασκώ- ντας έτσι ἑμμεσα ρυθμιστική δράση στην τροφο- βλαστική διεύθυνση. Ο τύπος 2 του PAI (PAI-2) παράγεται κυρίως από την τροφοβλάστη και σπά- νια ανιχνεύεται εκτός κύησης. Ο PAI-1, εκτός από τις άλλες θέσεις, εκφράζεται στην ανθρώπινη συ- γκυτιοτροφοβλάστη, την ενδολάχνια τροφοβλάστη και την εξωλάχνια και αγγειακή τροφοβλάστη (Floridon et al., 2000), και τα επίπεδα του PAI-1 στο πλάσμα εμφανίζουν ισχυρή συσχέτιση με τα επίπεδά του στον πλακούντα τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε επιλεγμένες κησεις (Estelles et al., 1994). Σε ανεπίπλεκτες κησεις, τα επίπεδα του PAI-1 αυξάνονται σημαντικά με την ηλικία κύησης, παράλληλα με μικρές αυξήσεις των επιπέδων του uPA και tPA (Estelles et al., 1994). Διαταραχές της ενεργότητας του PAI έχουν συσχετιστεί με μαιευτι- κές επιπλοκές πλακουντιακής προέλευσης, όπως προεκλαμψία (Kolben et al., 1996; Schjetlein et al., 1999), σύνδρομο HELLP (Kolben et al., 1996) και ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης (Grancha et al., 1996; Schjetlein et al., 1999).

Η μετάλλαξη 4G/5G αποτελεί συχνό πολυμορφι- σμό προσθήκης/διαγραφής του γονιδίου του PAI-1, όπου η παρουσία του αλληλόμορφου 4G συσχετιζέ- ται με αυξημένα επίπεδα PAI-1 (Burzotta et al., 1998, Margaglione et al., 1998). Ομοζυγωτά για το γονότυπο 4G/4G έχει συσχετιστεί με προεκλαμψία (Glueck et al., 2000; Yamada et al., 2000), ενδομή- τρια καθυστέρηση της ανάπτυξης (Glueck et al., 2000; Glueck et al., 2001) και πρόωρη αποκόλληση πλακούντα (Glueck et al., 2000; Glueck et al., 2001), και ο υποκείμενος μηχανισμός σχετίζεται πι- θανώς με αυξημένη εναπόθεση ινικής στους μεσο- λάχνιους χώρους και ελαττωματική διεύθυνση της τροφοβλάστης (Lala and Chakraborty, 2003).

Αυξημένη ενεργότητα του PAI έχει αναφερθεί και σε ασθενείς με καθ' ἑξιν εκτρώσεις (Gris et al., 1993; Gris et al., 1997). Ωστόσο, οι μελέτες των πο- λυμορφισμών δείχνουν ότι η κατανομή του 4G/5G δεν διαφέρει μεταξύ ασθενών και γυναικών ελέγ- χου (Buchholz et al., 2003; Dossenbach-Glaninger et al., 2003).

Καθώς ο γονότυπος καθορίζει εν μέρει μόνο την ενεργότητα του PAI, και ως τώρα δεν υπάρχουν μελέτες σε ασθενείς με καθ' ἑξιν εκτρώσεις με ταυ- τόχρονη εξέταση του γονότυπου και της ενεργότη- τας του PAI, η παρούσα μελέτη έγινε προκειμένου να συγκριθεί η ενεργότητα και η κατανομή του πο- λυμορφισμού 4G/5G του PAI-1 σε ασθενείς με καθ' ἑξιν εκτρώσεις και γυναίκες ελέγχου.

Υλικό και Μέθοδοι

Η ομάδα μελέτης περιελάβε 46 γυναίκες με ≥ 2 συ- νεχόμενες αυτόματες εκτρώσεις πρώτου τριμήνου, οι οποίες εξετάστηκαν στο Ιατρείο Καθ' Ἐξιν Εκτρώσεων του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Οι ασθενείς αυτές ἔλαβαν τη διάγνωση των ιδιοπαθών καθ' ἑξιν αποβολών μετά από διε- ρεύνηση σύμφωνα με προκαθορισμένο πρωτόκολ- λο για ανατομικές ανωμαλίες της μήτρας, ορμονι- κές ανωμαλίες, αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, συγγενείς θρομβοφιλικές διαταραχές (παράγοντας V Leiden, μετάλλαξη G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης, ἔλλειψη πρωτεΐνης C, S και αντι- θρομβίνης III), χρωμοσωμικές διαταραχές στο ζεύ- γος και λοιμώξεις. Η ομάδα ελέγχου περιελάβε 34 υγιείς γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, με ≥ 2 επιτυχείς κησεις και ιστορικό αρνητικό για αυτό- ματες εκτρώσεις. Η μελέτη εγκρίθηκε από την Επι- τροπή Βιοηθικής του ΠΠΓΝΙ και οι ασθενείς ἔδι- ναν τη γραπτή τους συγκατάθεση.

Ο γονότυπος και η ενεργότητα του PAI αναλύθη- καν σε δείγματα φλεβικού αίματος. Η φλεβοκέντη- ση έγινε μεταξύ των ωρών 10:00 και 12:00 πμ, μετά από ολονύκτια νηστεία και αποχή από το κάπνι- σμα. Τα δείγματα δεν είχαν διακριτικά από τα οποία θα μπορούσε να αναγνωριστεί η ταυτότητα της γυναίκας και οι εξεταστές δεν γνώριζαν αν προέρχονταν από την ομάδα ασθενών ή ελέγχου. Το αίμα συλλέχθηκε σε φιαλίδια κεντρικού νατρίου 0.129 mol/l και φυγοκεντρήθηκε δύο φορές στις 2000 στροφές επί 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωμα-τίου ώστε να απομονωθεί πλάσμα με κατά το δυνα-τόν ελάχιστα αιμοπετάλια. Τα επίπεδα PAI μετρή-θηκαν χρησιμοποιώντας αντιδραστήριο που βασί-ζεται στην αναστολή της ουροκινάσης (Berichrom PAI, Dade Behring Marburg GmbH, Marburg, Germany). Οι τιμές αναφοράς του αντιδραστηρίου ήταν 0.3-3.5 U/ml (10η και 90η εκατοστιαία θέση αντίστοιχα). Η ανάλυση για τον πολυμορφισμό 4G/5G έγινε με εξέταση DNA το οποίο απομονώ-θηκε από περιφερικά λευκοκύτταρα με χρήση αλυ-σιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR). Η ακο-λουθία των primers, όπως έχει περιγραφεί (Rossaak et al., 2000) ήταν η 5'-CACAGAGAGAGTCTGGCCACGT-3' και 5'-CCAACAGAGGACTCTTGGTCT-3' και τα θραύσματα είχαν μήκος 100 (5G) ή 99 (4G) ζευγών βάσεων. Η πέψη με περιοριστικά ένζυμα έγινε με επάωση 20 μ L των προϊόντων της PCR για 3 ώρες στους 55 °C with 3U of the enzyme Bsl I (New England Biolabs (UK) Ltd, Herts, UK). Τα θραύ-

σματα αναλύθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε γέλη αγαρόζης 4% (Metaphor Agarose, FMC Bio Product, Rockland, USA) και εξετάστηκαν μετά από χρώση με βρομιούχο αιθίδιο (Gel Star Nucleic Acid Gel Stain, FMC Bio Product, Rockland, USA) κάτω από υπεριώδη φωτισμό. Το αλληλόμορφο που κωδικοποιεί για το 4G δίνει θραύσματα 99 ζευγών βάσεων, το αλληλόμορφο που κωδικοποιεί για το 5G δίνει θραύσματα 77 και 23 ζευγών βάσεων και το αλληλόμορφο που κωδικοποιεί για το 4G/5G δίνει θραύσματα 99, 77 και 23 ζευγών βάσεων.

Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με μη παραμετρικές (Fisher's exact, Mann-Whitney U) ή παραμετρικές (chi square, Student's t-test) δοκιμασίες. Στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι τιμές $p < 0.05$ (αμφίδρομη ανάλυση). Για τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκαν τα προγράμματα SPSS (SPSS Inc., Chicago IL, USA) και StatXact (Cytel Software Corp., USA).

Αποτελέσματα

Ο διάμεσος αριθμός αυτόματων εκτρώσεων στην ομάδα ασθενών ήταν 2.9 (εύρος 2-7). Η ενεργότητα του PAI ήταν σημαντικά υψηλότερη σε γυναίκες με ιδιοπαθείς καθ' ἑξιν εκτρώσεις (διάμεση τιμή 2.5 U/mL, εύρος 0.0-6.7 U/mL) από ό,τι στις γυναίκες ελέγχου (διάμεση τιμή 0.4 U/mL, εύρος 0.0-5.4 U/mL) ($p=0.0001$) (Πίνακας 1). Ο πολυμορφισμός 4G/5G ήταν συχνός και στις δύο ομάδες και η κατανομή του δεν διέφερε μεταξύ τους.

Ανεξάρτητα από την ομάδα, η διάμεση ενεργότητα του PAI ήταν 1.4 U/mL σε γυναίκες με γονότυπο 5G/5G, 1.9 U/mL σε γυναίκες με γονότυπο 4G/5G και 3.2 U/mL σε γυναίκες με γονότυπο 4G/4G. Ωστόσο, οι διαφορές αυτές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (Kruskal-Wallis ANOVA, $p=0.497$).

Συζήτηση

Στη μελέτη μας επιλέξαμε να εξετάσουμε γυναίκες με δύο ή περισσότερες συνεχόμενες αυτόματες εκτρώσεις πρώτου τριμήνου, καθώς το όριο αυτό χρησιμοποιείται συχνά στη βιβλιογραφία (Rey et al., 2003), αλλά και επειδή η έκβαση σε επόμενη κύηση δεν διαφέρει ουσιαστικά μετά από δύο ή μετά από τρεις αυτόματες εκτρώσεις, επιδεινώνεται όμως σημαντικά καθώς αυξάνεται η ηλικία της γυναίκας (Brigham et al., 1999) και επομένως καθυστερήσεις στη διερεύνηση μπορεί να είναι επιβλαβείς.

Μετρήσαμε την ενεργότητα και όχι τα επίπεδα αντιγόνου του PAI, καθώς η πρώτη αντικατοπτρίζει το ελεύθερο και δραστικό κλάσμα του παράγοντα. Βρήκαμε ότι γυναίκες με ≥ 2 συνεχόμενες αυτόματες εκτρώσεις πρώτου τριμήνου έχουν αυξημένη ενεργότητα του PAI-1 σε σχέση με γυναίκες χωρίς ιστορικό επιπλοκών, ωστόσο η κατανομή του πολυμορφισμού 4G/5G είναι παρόμοια στις δύο ομάδες. Αν και τα δύο αυτά ευρήματα έχουν αναφερθεί ανεξάρτητα, είναι η πρώτη φορά που ο γονότυπος και η ενεργότητα εξετάζονται ταυτόχρονα στις

Πίνακας 1: Πολυμορφισμός PAI-1 4G/5G και ενεργότητα του PAI σε ασθενείς με καθ' ἑξιν αποβολές και γυναίκες ελέγχου

	Καθ' ἑξιν εκτρώσεις (N=46)	Γυναίκες ελέγχου (N=34)
Μέση ηλικία (SD)	31.7 (5.8)	33.9 (4.8)
Γονότυπος PAI-1		
5G/5G	15 (33%)*	11 (32%)*
4G/5G	26 (56%)*	17 (50%)*
4G/4G	5 (11%)*	6 (18%)*
Συχνότητα αλληλόμορφων		
4G	61%*	57%*
5G	39%*	43%*
Διάμεση ενεργότητα PAI (U/ml), εύρος	2.5†	0.4†
0.0-6.7		
0.0-5.4		
Ενεργότητα PAI >3.5 U/ml	13 (28%)*	6 (18%)*

* Μη σημαντική διαφορά, † $P=0.001$

ίδιες γυναίκες. Στη μεγαλύτερη σειρά ως τώρα, ασθενείς με ιστορικό καθ' ἑξιν εκτρώσεων είχαν σημαντικά υψηλότερη ενεργότητα PAI-1 σε σχέση με την ομάδα ελέγχου και περίπου 1/3 από αυτές είχαν παθολογικά υψηλή ενεργότητα (Gris et al., 1997). Μελέτες πολυμορφισμών έδειξαν ότι, αν και η κατανομή του 4G/5G δεν διαφέρει ανάμεσα στις δύο ομάδες, ο συνδυασμός του με τη μετάλλαξη D/I του γονιδίου του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (ACE) (15) ή με τη μετάλλαξη Val34Leu του παράγοντα XIII (16) είναι συχνότερος σε ασθενείς με καθ' ἑξιν εκτρώσεις. Η συνύπαρξη του 4G/5G με την ACE D/I αυξάνει πιθανώς περαιτέρω τα επίπεδα του PAI-1 (Buchholz et al., 2003), και ο συνδυασμός με τη Val34Leu παραβλάπτει πιθανώς συνεργιστικά το μηχανισμό της ινωδολύσης (Dossenbach-Glaninger et al., 2003), ωστόσο καμία από τις προηγούμενες μελέτες δεν δίνει άμεσα στοιχεία για την υποστήριξη αυτών των θεωριών. Επιπλέον, τα επίπεδα του PAI-1 καθορίζονται μόνο εν μέρει από το γονότυπο, και φαίνεται ότι ο δείκτης μάζας σώματος και οι συγκεντρώσεις των τριγλυκεριδίων και της HDL είναι σημαντικότεροι ρυθμιστές του PAI από ό,τι οι γενετικοί παράγοντες (Burzotta et al., 1998; Glueck et al., 1999a; Glueck et al., 1999b).

Οι Glueck και συν. εξέτασαν τα επίπεδα και τον πολυμορφισμό 4G/5G του PAI-1 σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωθηκών και -κυρίως σποραδικές- αυτόματες εκτρώσεις (Glueck et al., 1999b) και βρήκαν ότι οι ασθενείς αυτές έχουν σημαντικά συχνότερα αυξημένη ενεργότητα του PAI σε σχέση με γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωθηκών και φυσιολογικό αναπαραγωγικό ιστορικό, ενώ η κατανομή του πολυμορφισμού 4G/5G δεν διαφέρει. Ωστόσο, τα αποτελέσματα αυτά δεν μπορούν να γενικευθούν λόγω του υψηλού ποσοστού μεταβολικών διαταραχών στις γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωθηκών και αυτόματες εκτρώσεις (Glueck et al., 1999b). Αν και στο δείγμα μας δεν μετρήθηκαν τα επίπεδα τριγλυκεριδίων, ασθενείς με σύνδρομο πολυκυστικών ωθηκών εξαιρέθηκαν από την ανάλυσή μας, και υπάρχουν στοιχεία ότι τα επίπεδα τριγλυκεριδίων δεν είναι αυξημένα σε ασθενείς με καθ' ἑξιν εκτρώσεις σε σχέση με γυναίκες ελέγχου (Nicotra et al., 1994) ελαχιστοποιώντας έτσι την πιθανότητα συστηματικού σφάλματος για αυτή την παράμετρο.

Στην παρούσα μελέτη δείχνουμε με άμεσο τρόπο ότι η διάμεση ενεργότητα του PAI τείνει να αυξάνεται με την αύξηση του αριθμού των αλληλόμορφων 4G (αν και δεν επιτυγχάνεται στατιστικά σημαντική διαφορά λόγω του μικρού δείγματος), ότι

γυναίκες με καθ' ἑξιν εκτρώσεις έχουν αυξημένη ενεργότητα σε σχέση με γυναίκες ελέγχου και ότι η κατανομή του πολυμορφισμού δεν διαφέρει ανάμεσα στις δύο ομάδες. Αν και υπάρχει τόσο η θεωρητική βάση όσο και τα κλινικά στοιχεία για την εμπλοκή της ελαττωματικής ινωδολύσης σε τουλάχιστον κάποιες περιπτώσεις καθ' ἑξιν εκτρώσεων, η έλλειψη θεραπευτικής παρέμβασης αποδεδειγμένης αποτελεσματικότητας περιορίζει την πρακτική σημασία της αντίστοιχης εξέτασης. Η ηπαρίνη προάγει την εξουδετέρωση του PAI-1 (Urano et al., 2000), ωστόσο δεν υπάρχουν τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες σε γυναίκες με καθ' ἑξιν εκτρώσεις και επομένως επί του παρόντος δεν μπορεί να συστηθεί η κλινική χρήση της σε τέτοιες ασθενείς.

PAI-1 activity and polymorphism 4G/5G in women with idiopathic recurrent miscarriage

A. Sotiriadis¹, Th. Stefanos¹, M. Pavlou¹, N. Kolaitis², G. Vartholomatos³, L. Dova³, E. Paraskevidis¹, S. N. Kalantaridou¹

¹Dept. of Ob/Gyn. Clinic University of Ioannina

²Hematology Lab. University of Ioannina

³Unit of Molecular Biology, University of Ioannina

Correspondence: A. Sotiriadis

10 P. Mela, 546 22 Thessaloniki, Greece

Tel.: +30 2310 274800

E-mail: asotir@gmail.com

Summary

Plasminogen activator inhibitor (PAI) indirectly affect trophoblastic invasion, antagonising the promoting effect of urokinase-type plasminogen activator (uPA). In this study, PAI activity and the distribution of PAI-1 4G/5G polymorphism were simultaneously examined in patients with recurrent miscarriage and control women. Plasminogen activator inhibitor (PAI) levels and the distribution of PAI-1 gene 4G/5G polymorphism were examined in 46 women with ≥ 2 consecutive unexplained first-trimester abortions and 34 matched controls. Although women with recurrent miscarriage showed increased median PAI activity than controls (2.5 U/mL versus 0.4 U/mL, $P=0.001$), the distribution of the polymorphism did not differ between the two

groups. Recurrent miscarriage patients have higher PAI activity, which is likely part of a wider pro-thrombotic state, on which the specific PAI-1 gene polymorphism has little effect.

Key words: recurrent miscarriage, PAI, thrombophilia, fibrinolysis

Βιβλιογραφία

- Brigham, S.A., Conlon, C. and Farquharson, R.G. (1999) A longitudinal study of pregnancy outcome following idiopathic recurrent miscarriage. *Hum. Reprod.* 14,2868-2871.
- Buchholz, T., Lohse, P., Rogenhofer, N. et al. (2003) Polymorphisms in the ACE and PAI-1 genes are associated with recurrent spontaneous miscarriages. *Hum. Reprod.* 11,2473-2437.
- Burzotta, F., Di Castelnuovo, A., Amore, C. et al. (1998) 4G/5G promoter PAI-1 gene polymorphism is associated with plasmatic PAI-1 activity in Italians: a model of gene environment interaction. *Thromb. Haemost.* 79,354-358.
- Dossenbach-Glaninger, A., Van Trotsenburg, M., Dossenbach, M. et al. (2003) Plasminogen Activator Inhibitor 1 4G/5G Polymorphism and Coagulation Factor XIII Val34Leu Polymorphism: Impaired Fibrinolysis and Early Pregnancy Loss. *Clin. Chem.* 49,1081-1086.
- Estelles, A., Gilabert, J., Keeton, M. et al. (1994) Altered expression of plasminogen activator inhibitor type 1 in placentas from pregnant women with preeclampsia and/or intrauterine fetal growth retardation. *Blood*, 84,143-150.
- Floridon, C., Nielsen, O., Holund, B. et al. (2000) Does Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) Control Trophoblast Invasion? A Study of Fetal and Maternal Tissue in Intrauterine, Tubal and Molar Pregnancies. *Placenta*, 21,754-762.
- Glueck, C.J., Fontaine, R.N., Gruppo, R. et al. (1999a) The Plasminogen Activator Inhibitor-1 Gene, Hypofibrinolysis, and Osteonecrosis. *Clin. Orthop.* 366,133-146.
- Glueck, C.J., Wang, P., Fontaine, R.N. et al. (1999b) Plasminogen activator inhibitor activity: an independent risk factor for the high miscarriage rate during pregnancy in women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism*, 48,1589-1595.
- Glueck, C.J., Phillips, H., Cameron, D. et al. (2000) The 4G/4G polymorphism of the hypofibrinolytic plasminogen activator inhibitor type 1 gene: an independent risk factor for serious pregnancy complications. *Metabolism*, 49,845-852.
- Glueck, C.J., Kupferminc, M.J., Fontaine, R.N. et al. (2001) Genetic hypofibrinolysis in complicated pregnancies. *Obstet. Gynecol.* 97,44-48.
- Grancha, S., Estelles, A., Gilabert, J. et al. (1996) Decreased expression of PAI-2 mRNA and protein in pregnancies complicated with intrauterine fetal growth retardation. *Thromb. Haemost.* 76,761-767.
- Gris, J.C., Neveu, S., Mares, P. et al. (1993). Plasma fibrinolytic activators and their inhibitors in women suffering from early recurrent abortion of unknown etiology. *J. Lab. Clin. Med.* 122,606-615.
- Gris, J.C., Ripart-Neveu, S., Maugard, C. et al. (1997) Respective evaluation of the prevalence of haemostasis abnormalities in unexplained primary early recurrent miscarriages. The Nimes Obstetricians and Haematologists (NOHA) Study. *Thromb. Haemost.* 77,1096-1103.
- Huber, K. (2001) Plasminogen activator inhibitor type-1 (part one): basic mechanisms, regulation, and role for thromboembolic disease. *J. Thromb. Thrombolysis*, 11,183-193.
- Kolben, M., Lopens, A., Blaser, J. et al. (1996) Proteases and their inhibitors are indicative in gestational disease. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 68,59-65.
- Lala, P.K. and Chakraborty, C. (2003) Factors Regulating Trophoblast Migration and Invasiveness: Possible Derangements Contributing to Pre-eclampsia and Fetal Injury (1). *Placenta*, 24,575-587.
- Margaglione, M., Cappucci, G., d'Addetta, M. et al. (1998) PAI-1 plasma levels in a general population without clinical evidence of atherosclerosis: relation to environmental and genetic determinants. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 18,562-567.
- Nakashima, A., Kobayashi, T. and Terao, T. (1996) Fibrinolysis during normal pregnancy and severe preeclampsia relationships between plasma levels of plasminogen activators and inhibitors. *Gynecol. Obstet. Invest.* 42,95-101.
- Nicotra, M., Muttinelli, C., Sbracia, M. et al. (1994) Blood levels of lipids, lipoperoxides, vitamin E and glutathione peroxidase in women with habitual abortion. *Gynecol. Obstet. Invest.* 38,223-226.
- Rey, E., Kahn, S.R., David, M. and Shrier, I. (2003) Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet*, 361,901-908.
- Rossaak, J.I., van Rij, A.M., Jones, G.T. and Harris, E.L. (2000) Association of the 4G/5G polymorphism in the promoter region of the plasminogen activator inhibitor-1 with abdominal aortic aneurysms. *J. Vasc. Surg.* 31,1026-1032.
- Schjetlein, R., Abdelnoor, M., Haugen, G. et al. (1999) Hemostatic variables as independent predictors for fetal growth retardation in preeclampsia. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 78,191-197.
- Urano, T., Ihara, H., Suzuki, Y., Takada, Y. and Takada, A. (2000) Coagulation-associated enhancement of fibrinolytic activity via a neutralization of PAI-1 activity. *Semin. Thromb. Hemost.* 26,39-42.
- Yamada, N., Arinami, T., Yamakawa-Kobayashi, W. et al. (2000) The 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene is associated with severe preeclampsia. *Hum. Genet.* 45,138-141.

ΚΑΤΑΤΕΘΗΚΕ 16/06/08 ΕΓΙΝΕ ΑΠΟΔΕΚΤΗ 15/07/08