

# Brak związku polimorfizmu *PLA1/A2* genu glikoproteiny płytkowej *GPIIIa* z przebyłym zawałem serca wśród 397 mężczyzn z angiograficznie potwierdzoną miażdżycą tętnic wieńcowych

Dariusz Ciećwierz<sup>1</sup>, Marcin Gruchała<sup>2</sup>, Karolina Ochman<sup>3</sup>, Bartosz Wasąg<sup>3</sup>, Arkadiusz Nowak<sup>1</sup>, Paweł Skarzyński<sup>1</sup>, Radosław Targoński<sup>2</sup>, Witold Dubaniewicz<sup>2</sup>, Wojciech Sobiczewski<sup>2</sup>, Adam Grzybowski<sup>2</sup>, Bartosz Curyłło<sup>2</sup>, Maciej Minikowski<sup>2</sup>, Rafał Dworakowski<sup>2</sup>, Janusz Limon<sup>3</sup> i Andrzej Rynkiewicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Samodzielna Pracownia Diagnostyki Inwazyjnej Chorób Układu Krążenia Akademii Medycznej w Gdańsku

<sup>2</sup>I Klinika Chorób Serca Akademii Medycznej w Gdańsku

<sup>3</sup>Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Akademii Medycznej w Gdańsku

## The *PLA1/A2* platelet glycoprotein *GPIIIa* gene polymorphism is not related to survived myocardial infarction in 397 males with angiographically proven coronary atherosclerosis

**Introduction:** Platelets play a major role in the thrombotic response to rupture of a coronary artery plaque. Aggregates of platelets are integrally involved in the development of acute coronary syndromes; unstable angina and acute myocardial infarction. It has been suggested that the *PLA1/A2* platelet glycoprotein *GPIIIa* gene polymorphism is associated with platelet aggregability and is related to increased risk of acute coronary syndromes in some populations. The aim of our study was to investigate potential association between the *PLA1/A2* *GPIIIa* polymorphic variants and survived myocardial infarction among males with significant coronary artery atherosclerosis confirmed by elective coronary angiography.

**Material and methods:** We investigated 397 Caucasian male patients (mean age  $57 \pm 10$  years) with angiographically confirmed coronary atherosclerosis, defined as  $\geq 50\%$  stenosis of at least one epicardial coronary artery. Myocardial infarction survived 61% of subjects. Screening for the *PLA1/A2* *GPIIIa* polymorphic variants was performed by polymerase chain reaction of genomic DNA, followed by *NciI* digestion and agarose gel electrophoresis.

**Results:** The *PLA1/A2* *GPIIIa* polymorphism genotype frequencies were in the study group: *PLA2A2* — 1% ( $n = 3$ ), *PLA1A2* — 24% ( $n = 97$ ) and *PLA1A1* — 75% ( $n = 297$ ), and was in agreement with Hardy-Weinberg equilibrium. We found no evidence of association between the *PLA2* allele and survived myocardial infarction OR 1.12 (95% CI: 0.70–1.79),  $p = 0.63$  in the whole study group. In addition there was no association between the *PLA1/PLA2* *GPIIIa* polymor-

Adres do korespondencji: Dr med. Dariusz Ciećwierz

Samodzielna Pracownia Diagnostyki Inwazyjnej

Chorób Układu Krążenia AM w Gdańsku

ul. Dębinki 7, 80–210 Gdańsk

Nadesłano: 19.04.2001 r. Przyjęto do druku: 28.06.2001 r.

*phic variants and survived myocardial infarction either in patients below 60 years of age (n = 236) OR 0.95 (95% CI: 0.52–1.75; p = 0.86) or low risk subgroup (BMI < 26 kg/m<sup>2</sup> and total cholesterol < 250 mg%) (n = 103) OR 1.30 (95% CI: 0.52–3.29; p = 0.57). There was no interaction between the P1A1/A2 GPIIIa genotype and common atherosclerosis risk factors.*

**Conclusion:** *Our results from this relatively large sample of 397 Caucasian male patients with significant coronary artery stenosis suggest that the P1A1/A2 platelet glycoprotein GPIIIa gene polymorphism is not associated with survived myocardial infarction.* (Folia Cardiol. 2001; 8: 499–507)

**platelets, coronary artery disease, myocardial infarction, genetic polymorphism**

## Wstęp

Szczególna rola płytek krwi w rozwoju choroby wieńcowej, zwłaszcza jej ostrych postaci — niestabilnej choroby wieńcowej oraz zawału serca — nie ulega dzisiaj wątpliwości. Dowodzą tego zarówno badania eksperymentalne, jak i bardzo korzystne efekty leczenia przeciwplateletowego w chorobie niedokrwiennej, prowadzące do redukcji liczby incydentów wieńcowych oraz przedłużenia życia chorych [1–4].

W stanie zdrowia płytki krwi krążą swobodnie wraz z krwią, ponieważ nie wykazują powinowactwa do prawidłowo funkcjonujących komórek śródbłonna. W przypadku uszkodzenia wyściełającej naczynia warstwy komórek śródbłonna lub pęknięcia bogatej w lipidy błazki miażdżycowej dochodzi do odsłonięcia i uwolnienia komponentów tkanki łącznej: kolagenu, fibronektyny, czynnika von Willebranda oraz innych substancji zdolnych do interakcji z błonowymi glikoproteinami płytek krwi, które zaczynają przylegać do miejsca uszkodzenia. Gromadzące się przyścienne płytki krwi pod wpływem głównie kolagenu, trombiny oraz noradrenaliny ulegają aktywacji; zmieniają swój kształt, uwalniają wiele aktywnych mediatorów krzepnięcia, aktywują receptory glikoproteinowe *GPIIb/IIIa*, odpowiedzialne za agregację płytek. Ten ciąg niekorzystnych zdarzeń, jeśli ma miejsce w tętnicach wieńcowych, często powoduje, poprzez powstanie bogatego w płytki zakrzepu, który w istotny sposób ogranicza lub uniemożliwia przepływ krwi w tętnicy wieńcowej, ostre zdarzenia wieńcowe w postaci niestabilnej choroby wieńcowej lub zawału serca z lub bez załamka Q [1–5].

W związku z kluczową rolą glikoprotein płytkowych w procesie agregacji podejmuje się próby określenia związku pomiędzy polimorfizmami genów je kodujących a różnymi postaciami choroby wieńcowej. Jednym z nich jest polimorfizm określany jako *PIA* lub *Zw*, dotyczący glikoproteiny *GPIIIa* [6]. W populacji ludzkiej występują dwie odmiany polimorficz-

ne: *PIA1* z obecnością leucyny w pozycji 33 oraz *PIA2* z proliną w tej samej pozycji, co wiąże się z substytucją tymidyny przez cytozynę w pozycji 1565 w 2. egzonie genu kodującego glikoproteinę *GPIIIa*. W niektórych populacjach wykazano związek allelu *PIA2* z częstszym występowaniem zawału serca i niestabilnej choroby wieńcowej oraz zespołów wieńcowych związanych ze wzmożoną aktywacją i agregacją płytek krwi [7, 8].

Niewielka, jak dotąd, liczba opublikowanych prac dotyczących związku polimorfizmu *PIA1/A2* glikoproteiny płytkowej *GPIIIa* z różnymi postaciami choroby wieńcowej oraz ich niejednoznaczne wyniki skłoniły autorów niniejszej publikacji do podjęcia badań mających na celu określenie związku pomiędzy występowaniem wariantów tego polimorfizmu a przebyłym zawałem serca w grupie chorych z angiograficznie potwierdzoną istotną miażdżycą tętnic wieńcowych. Z powodu pewnych różnic dotyczących przebiegu i profilu ryzyka choroby wieńcowej u kobiet i mężczyzn oraz w celu uzyskania większej jednorodności badanej grupy do badania włączono wyłącznie mężczyzn [9, 10].

## Materiał i metody

Badania przeprowadzono w grupie 397 mężczyzn z rozpoznaną chorobą wieńcową w wieku 32–79 lat (śr. 57 ± 10 lat), hospitalizowanych w trybie elektywnym w I Klinice Chorób Serca AM w Gdańsku w latach 1995–2000, u których potwierdzono badaniem angiograficznym istotną miażdżycę tętnic wieńcowych, tzn. 50-procentowe lub większe zwężenie światła przynajmniej jednej z głównych nasierdziowych tętnic wieńcowych. Wszyscy pacjenci włączeni do badania wyrazili na to pisemną zgodę po zapoznaniu się z projektem zaaprobowanym przez Terenową Komisję Etyki Badań Naukowych przy AM w Gdańsku.

Przebyty zawał serca rozpoznawano na podstawie standardowych kryteriów: typowych objawów

klinicznych, wzrostu enzymów wskaźnikowych martwicy mięśnia sercowego oraz typowych zmian elektrokardiograficznych, które wystąpiły przynajmniej na 3 miesiące przed włączeniem do badania. Za rodzinne obciążenie chorobą wieńcową uznawano występowanie choroby wieńcowej u krewnego pierwszego stopnia (rodzice, rodzeństwo). Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano wówczas, gdy przynajmniej 2-krotny pomiar wykazywał wartości  $\geq 140$  mm Hg dla ciśnienia skurczowego lub  $\geq 90$  mm Hg dla ciśnienia rozkurczowego oraz w przypadku wcześniej rozpoznanego nadciśnienia tętniczego lub przyjmowania przez chorego leków hipotensyjnych. Podobnie, cukrzycę rozpoznawano na podstawie standardowych kryteriów WHO [11] oraz na podstawie wywiadu i wdrożonego leczenia hipoglikemicznego. Jako palących tytoń określano osoby, które paliły w momencie włączenia do badania lub zaprzestały palenia < 10 lat wcześniej. Profil lipidowy (stężenie cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL, triglicerydów) i glikemię na czczo oznaczano standardowymi metodami analityki medycznej w Zakładzie Biochemii Klinicznej AMG. Stężenie cholesterolu LDL wyliczono z równania Friedewalda. Charakterystykę kliniczną badanej grupy przedstawia tabela 1.

### Isolacja DNA i badania molekularne

Materiał do badań molekularnych stanowiła krew obwodowa pobrana do probówki zawierającej etylenodwuaminoceteroocjan (EDTA). Izolacji genomowego DNA z krwi obwodowej dokonano metodą enzymatyczną za pomocą komercyjnego zestawu *Blood DNA Prep Plus* (A&A Biotechnology, Gdańsk).

Badanie polimorfizmu *PIA1/A2* genu glikoproteiny płytkowej *GPIIIa* wykonano za pomocą analizy długości fragmentów restrykcyjnych (RLFP, *restriction fragment length polymorphism*) na podstawie metody opisanej wcześniej przez Weissa i wsp. [7]. Za pomocą reakcji PCR amplifikowano region zawierający miejsce T1565C. Stosowano zmodyfikowane startery o sekwencjach:  
5'-CTG CAG GAG GTA GAG AGT CGC CAT AG-3'  
5'-GCC GGA GTG CAA TCC TCC GGG GAC TGA CTT G-3'

Długość pierwotnego produktu PCR wynosiła 253 par zasad (pz), zaś po trawieniu enzymem restrykcyjnym *NciI* (Promega, Madison, Stany Zjednoczone), według procedury producenta, w zależności od genotypu, uzyskiwano następujące fragmenty:

- Homozygota *PIA1A1* — 19, 234 pz
- Heterozygota *PIA1A2* — 19, 77, 157, 234 pz
- Homozygota *PIA2A2* — 19, 77, 157 pz

Identyfikacji powyższych fragmentów dokonywano za pomocą elektroforezy na 3-procentowych żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizacji w świetle UV (ryc. 1).

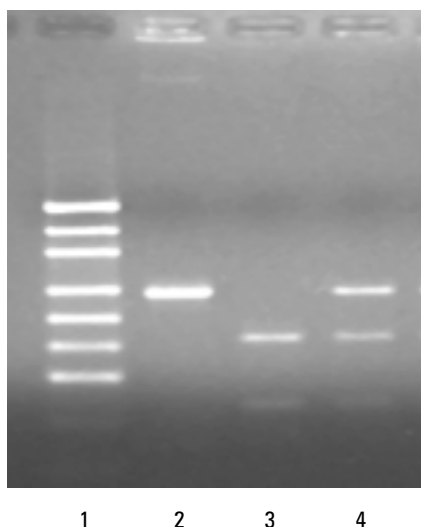
### Analiza statystyczna

Wszystkie wyniki podano jako średnie arytmetyczne  $\pm$  SD lub jako proporcje. Oceniano rozkład zmiennych ciągłych pod kątem jego zgodności z rozkładem normalnym, stosując test Kołmogorowa-Smirnowa. Znamienność statystyczną różnic między średnimi zmiennych o rozkładzie normalnym oceniano testem t-Studenta, a średnimi zmiennych o rozkładzie różnym od normalnego — testem U

**Tabela 1.** Charakterystyka kliniczna badanej grupy 397 chorych

**Table 1.** Clinical characteristic of 397 patients

Wskaźnik	Wartość
Wiek (lata)	57 $\pm$ 10
Wskaźnik masy ciała [kg/m <sup>2</sup> ]	27 $\pm$ 4
Stężenie cholesterolu całkowitego [mg%]	234 $\pm$ 42
Stężenie cholesterolu frakcji LDL [mg%]	158 $\pm$ 38
Stężenie cholesterolu frakcji HDL [mg%]	44 $\pm$ 12
Stężenie triglicerydów [mg%]	164 $\pm$ 82
Stężenie glukozy [mg%]	100 $\pm$ 20
Nadciśnienie tętnicze (%)	47 (n = 188)
Cukrzyca (%)	9 (n = 35)
Palenie tytoniu (%)	69 (n = 273)
Wieńcowy wywiad rodzinny (%)	48 (n = 189)
Wielonaczyniowa choroba wieńcowa (%)	76 (n = 301)
Przeżyty zawał serca (%)	61 (n = 242)



**Ryc. 1.** Polimorfizm *PIA1/A2 GPIIIa*. 1 — wzorzec masowy; 2 — homozygota *PIA1A1*; 3 — heterozygota *PIA1A2*; 4 — homozygota *PIA2A2*.

**Fig. 1.** The *PIA1/A2 GPIIIa* polymorphism.

Manna-Whitneya. W przypadku porównywania więcej niż 2 średnich posługiwano się testem wariancji ANOVA/MANOVA i testami *post hoc*. Zmienne katagoryczne oceniano za pomocą testu  $\chi^2$ .

Testu  $\chi^2$  użyto do analizy zgodności uzyskanych rozkładów genotypów z równowagą Hardy'ego-Weinberga oraz dla porównania rozkładów genotypów między poszczególnymi podgrupami (z przebyłym zawałem/bez przebytego zawału). Związek poszcze-

gólnych genotypów z przebyłym zawałem serca oceniano za pomocą wieloczynnikowej analizy logistycznej z uwzględnieniem innych czynników ryzyka związanych z zawałem lub miażdżycą tętnic wieńcowych w badanej grupie (poziom istotności przynajmniej  $p = 0,1$ ). Za miarę ryzyka związanego z danym genotypem uznawano ilorazy szans (OR, *odds ratio*) z 95-procentowymi przedziałami ufności (CI, *confidence interval*) bez i z uwzględnieniem innych istotnych czynników ryzyka (*crude* i *adjusted* OR).

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą programu STATISTICA for Windows, wersja 5.1 (StatSoft, Stany Zjednoczone). Wartość  $p < 0,05$  przyjęto za statystycznie znamiennej.

## Wyniki

Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów z przebyłym i bez przebytego zawału serca przedstawiono w tabeli 2. U chorych z przebyłym zawałem serca w porównaniu z pacjentami z istotną miażdżycą tętnic wieńcowych, ale bez przebytego zawału serca stwierdzono znamienne niższe: stężenie cholesterolu całkowitego, stężenie cholesterolu frakcji LDL oraz glikemię na czczo.

W badanej grupie 397 chorych stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *PIA1/A2 GPIIIa*: *PIA2A2* — 1% ( $n = 3$ ), *PIA1A2* — 24% ( $n = 97$ ) i *PIA1A1* — 75% ( $n = 297$ ), który pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga. Poszczególne allele występowały z czę-

**Tabela 2.** Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie 397 pacjentów z przebyłym i bez przebytego zawału serca

**Table 2.** Common cardiovascular risk factors distribution in 397 patients with and without survived myocardial infarction

Czynnik ryzyka	Zawał serca w wywiadzie	Bez zawału serca w wywiadzie	p
	n = 242	n = 155	
Wiek (lata)	56 ± 10	57 ± 10	0,32
Wskaźnik masy ciała [kg/m <sup>2</sup> ]	27 ± 4	28 ± 3	0,37
Stężenie cholesterolu całkowitego* [mg%]	230 ± 40	241 ± 40	< 0,02
Stężenie cholesterolu frakcji LDL* (mg%)	154 ± 36	163 ± 41	< 0,03
Stężenie cholesterolu frakcji HDL (mg%)	43 ± 11	45 ± 13	0,36
Stężenie triglicerydów [mg%]	164 ± 79	165 ± 86	0,94
Stężenie glukozy* [mg%]	99 ± 20	103 ± 19	< 0,03
Nadciśnienie tętnicze (%)	45	51	0,25
Cukrzyca (%)	7	12	0,12
Palenie tytoniu (%)	69	69	0,93
Wieńcowy wywiad rodzinny (%)	49	46	0,57

\*Różnica istotna statystycznie

stością: *PIA1* — 0,87, *PIA2* — 0,13. Ze względu na małą częstość występowania allelu *PIA2* i genotypu *PIA2A2* (tylko 3 chorych), wszystkie analizy statystyczne wykonano dla modelu *PIA2A2* + *PIA1A2* vs. *PIA1A1*.

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów polimorfizmu *PIA1/A2 GPIIIa* między chorymi z przeżytym i bez przeżytego zawału serca (tab. 3). Iloraz szans przeżytego zawału serca związanego z występowaniem przynajmniej jednego allelu *PIA2* (OR) wyniósł 1,12 (95% CI: 0,70–1,79;  $p = 0,63$ ).

Nie wykazano również związku polimorfizmu *PIA1/A2 GPIIIa* z przeżytym zawałem serca w podgrupie pacjentów < 60 rż. ( $n = 236$ ), w której OR wyniósł 0,95 (95% CI: 0,52–1,75;  $p = 0,86$ ), jak i w grupie chorych o mniejszym ryzyku miażdżycy (BMI < 26 kg/m<sup>2</sup> i stężenie cholesterolu całkowitego < 250 mg%) ( $n = 103$ ) — OR 1,30 (95% CI: 0,52–3,29;  $p = 0,57$ ).

Nie stwierdzono istotnego związku pomiędzy polimorfizmem *PIA1/A2 GPIIIa* a żadnym z badanych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego (tab. 4).

## Dyskusja

W grupie 397 badanych chorych z istotną miażdżycą tętnic wieńcowych — u pacjentów z przeżytym zawałem serca w porównaniu z osobami bez zawału w wywiadzie stwierdzono znamienne niższe: stężenie cholesterolu całkowitego, stężenie cholesterolu frakcji LDL oraz glikemię (tab. 2). To pozornie paradoksalne zjawisko, sprzeczne z ogólną wiedzą na temat klasycznych czynników ryzyka miażdżycy tętnic wieńcowych i zawału serca, może powodować wtórne działania prewencyjne, które prowadzi się szczególnie intensywnie wśród pacjentów po przeżytym zawałe serca. Z kolei ci chorzy mogą być bardziej podatni na interwencję. Często w ostatnich latach stosowanie inhibitorów HMG-CoA,

**Tabela 3.** Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *PIA1/A2* genu *GPIIIa* w badanej grupie 397 chorych w zależności od przeżytego zawału serca

**Table 3.** Genotype and allele distribution of the *PIA1/A2 GPIIIa* polymorphism in 397 patients with and without survived myocardial infarction

	Zawał serca w wywiadzie	Bez zawału serca w wywiadzie
<i>PIA2A2</i> (n)	1% (3)	0% (0)
<i>PIA1A2</i> (n)	25% (60)	24% (37)
<i>PIA1A1</i> (n)	74% (179)	76% (118)
Razem (n)	100% (242)	100% (155)
Częstość alleli <i>PIA2/PIA2</i>	0,14/0,86	0,12/0,88
OR <i>PIA2A2</i> + <i>PIA1A2</i> vs. <i>PIA1A1</i>	1,12 (95% CI: 0,70–1,79); $p = 0,63$	

**Tabela 4.** Rozkłady genotypów polimorfizmu *PIA1/A2 GPIIIa* a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie 397 pacjentów z angiograficznie potwierdzoną istotną miażdżycą tętnic wieńcowych

**Table 4.** Common cardiovascular risk factors by the *PIA1/A2 GPIIIa* genotype distribution in 397 patients with coronary atherosclerosis confirmed by angiography

Czynnik ryzyka	<i>PIA2A2</i>	<i>PIA1A2</i>	<i>PIA1A1</i>	p
Wiek (lata)	57 ± 13	56 ± 9	57 ± 10	0,71
Wskaźnik masy ciała [kg/m <sup>2</sup> ]	25 ± 1	27 ± 4	27 ± 3	0,21
Stężenie cholesterolu całkowitego [mg%]	194 ± 9	232 ± 42	235 ± 42	0,53
Stężenie cholesterolu frakcji LDL [mg%]	119 ± 6	156 ± 37	159 ± 38	0,44
Stężenie cholesterolu frakcji HDL [mg%]	52 ± 4	44 ± 11	44 ± 12	0,93
Stężenie triglicerydów [mg%]	119 ± 15	169 ± 81	163 ± 83	0,62
Stężenie glukozy [mg%]	114 ± 41	100 ± 18	100 ± 20	0,89
Nadciśnienie tętnicze (%)	0	46	48	0,59
Cukrzyca (%)	0	5	10	0,13
Palenie tytoniu (%)	33	70	69	0,95

głównie wśród pacjentów po przebytych zawałach, może być wy tłumaczeniem niższych stężeń cholesterolu całkowitego i cholesterolu frakcji LDL w badanej grupie [12, 13]. Należy przypomnieć, że rekrutację chorych do badania prowadzono w latach 1995–2000. Ścisłejsze przestrzeganie prawidłowej diety oraz bardziej intensywne leczenie ewentualnej cukrzycy u chorych po przebytych zawałach serca może być także przyczyną znamiennej niższej glikemii na czczo w grupie pacjentów z przebytych zawałach.

Dokładna analiza podstawowych czynników ryzyka miażdżycy tętnic wieńcowych oraz zawału serca była istotna dla określenia potencjalnego związku badanych wariantów polimorficznych *PIA1/A2 GPIIIa* z występowaniem przebytego zawału serca w analizowanej grupie chorych. Czynniki środowiskowe mogą istotnie wpływać na ujawnienie się roli czynników genetycznych w kształtowaniu ostatecznego fenotypu — obrazu klinicznego choroby. W opracowaniu uzyskanych wyników posługiwano się metodami analizy wieloczynnikowej, biorąc pod uwagę w korygowaniu siły związku (OR) wybrane czynniki o istotnym znaczeniu w badanej grupie ( $p \leq 0,1$ ).

Receptor płytkowy *GPIIb/IIIa* odgrywa kluczową rolę w procesach adhezji i agregacji, związanych z powstawaniem zakrzepu płytkowego. Wykazano, iż szczególnie aktywna agregacja płytek krwi występuje w miejscu pęknięcia niestabilnej blaszki miażdżycowej w tętnicach wieńcowych, co prowadzi do ostrej postaci choroby wieńcowej: niestabilnej dławicy piersiowej i zawału serca [1–5]. W 1996 roku Weiss i wsp. opublikowali pierwszą pracę dotyczącą związku allela *PIA2* polimorfizmu *PIA1/A2* glikoproteiny płytkowej *GPIIIa* z częstszym występowaniem ostrej postaci choroby wieńcowej [7]. Porównując grupę 71 chorych z niestabilną dławicą piersiową lub ostrym zawałem serca z 68 osobami z grupy kontrolnej, badacze ci wykazali iloraz szans dla ostrego incydentu wieńcowego w modelu *PIA2A2 + PIA1A2 vs. PIA1A1* OR 2,8 (95% CI: 1,2–6,4;  $p < 0,01$ ) dla całej badanej grupy oraz znacznie wyższy OR = 6,2 (95% CI: 1,8–22,4;  $p < 0,002$ ) dla osób < 60 rż. Również Garcia-Ribes i wsp. [14] opisali istotnie częstsze występowanie allelu *PIA2* wśród 100 chorych poddanych przezskórnej angioplastyce wieńcowej (PTCA, *percutaneous transluminal coronary angioplasty*) w porównaniu ze 100-osobową grupą kontrolną, uzyskując iloraz szans dla modelu *PIA2A2 + PIA1A2 vs. PIA1A1* OR = 2,91 (95% CI: 1,16–7,33). Badacze ci, podobnie jak Weiss i wsp. [6], obserwowali wzrost siły tego związku wśród pacjentów < 60 rż.

OR = 5,93 (95% CI: 1,02–34,7). Uwagę zwraca jednak niska liczebność badanych grup oraz szerokie przedziały ufności uzyskanych ilorazów szans w wyżej cytowanych publikacjach.

Większość nielicznych badaczy zajmujących się potencjalnym związkiem polimorfizmu *PIA1/A2 GPIIIa* z miażdżycą tętnic wieńcowych nie potwierdziła wniosków grupy Weissa. Na uwagę zasługuje prospektywna analiza 1408 lekarzy amerykańskich, poddanych ponad 8-letniej obserwacji, wykonana przez Ridkera i wsp. [15]. Śledzono występowanie chorób układu sercowo-naczyniowego związanych z zakrzepicą: zawału serca, udaru mózgu i zakrzepicy żyłnej. Nie zaobserwowano istotnego związku polimorfizmu *PIA1/A2 GPIIIa* z żadnym z powyższych stanów chorobowych. Iloraz szans wystąpienia incydentu zakrzepowego w tym badaniu (*PIA2A2 + PIA1A2 vs. PIA1A1*) (OR) wyniósł 0,96 (95% CI: 0,9–1,2). Ponadto nie stwierdzono różnic w częstości poszczególnych genotypów i alleli polimorfizmu *PIA1/A2 GPIIIa* w różnych grupach wiekowych oraz wśród chorych o różnym stopniu ryzyka miażdżycy. Co ciekawe, zbliżone wyniki uzyskano niezależnie od faktu przewlekłego przyjmowania lub nieprzyjmowania kwasu acetylosalicylowego. Również Herman i wsp. [16] oraz Gardeman i wsp. [17] nie potwierdzili istotnego związku polimorfizmu *PIA1/A2 GPIIIa* z przebytych zawałem serca w analizowanych przez siebie grupach chorych, niezależnie od wieku i stopnia ryzyka miażdżycy.

W badanej przez autorów niniejszej pracy grupie 397 mężczyzn z istotną miażdżycą tętnic wieńcowych częstości genotypów oraz alleli polimorfizmu *PIA1/A2 GPIIIa* były podobne jak opisane przez innych badaczy, dotyczące rasy kaukaskiej. Podobnie jak w większości publikowanych doniesień, autorzy nie wykazali istotnego związku między występowaniem allelu *PIA2* a przebytych zawałem serca w analizowanej grupie (tab. 3). Iloraz szans wystąpienia zawału serca w wywiadzie (OR) wyniósł 1,12 (95% CI: 0,70–1,79;  $p = 0,63$ ) dla całej grupy oraz OR = 0,95 (95% CI: 0,52–1,75;  $p = 0,86$ ) wśród pacjentów < 60 rż. i OR = 1,30 (95% CI: 0,52–3,29;  $p = 0,57$ ) dla chorych o mniejszym ryzyku miażdżycy (BMI < 26 kg/m<sup>2</sup> i stężenie cholesterolu całkowitego < 250 mg%).

Autorzy niniejszej publikacji poszukiwali związku wariantów polimorficznych *PIA1A2 GPIIIa* z przebytych zawałem serca również w podgrupie młodszych pacjentów z chorobą wieńcową (< 60 rż.), ponieważ wiadomo, iż choroby układu sercowo-naczyniowego ujawniające się przedwcześnie są częściej uwarunkowane czynnikami dziedzicznymi,

a nie narastającą z wiekiem akumulacją dodatkowych czynników ryzyka, takich jak np: dyslipidemia, otyłość czy występowanie cukrzycy [18, 19]. Autorzy spodziewali się, że taki dobór badanych chorych ułatwi wykrycie ewentualnego związku polimorfizmu *PLA1A2 GPIIIa* z przebyłym zawałem serca. Jednak analiza rozkładu genotypów polimorfizmu *PLA1/A2 GPIIIa* w podgrupie 236 pacjentów poniżej 60 rż. nie wykazała istnienia takiego związku; OR = 0,95 (95% CI: 0,52–1,75; p = 0,86).

W badanej przez autorów grupie pacjentów stwierdzono akumulację głównie środowiskowych czynników ryzyka: 69% paliło tytoń, średnie wartości stężenia cholesterolu całkowitego i cholesterolu frakcji LDL były znacznie powyżej normy, średnie stężenie cholesterolu frakcji HDL było niskie, a średnia wartość BMI wskazywała na dominację osób z nadwagą (tab. 1). Fakt ten mógł przysłonić prawdopodobny wpływ polimorfizmu *PLA1A2 GPIIIa* na występowanie zawału serca. Możliwości takiej nie można wykluczyć pomimo negatywnych wyników analizy w niewielkiej podgrupie 103 chorych o mniejszym ryzyku miażdżycy (BMI < 26 kg/m<sup>2</sup> i stężenie cholesterolu całkowitego < 250 mg%). Ponadto retrospektywny charakter badania oraz brak możliwości wykonania badań koronarograficznych u osób zdrowych wywodzących się z tej samej populacji, którzy stanowiliby potencjalną grupę kontrolną, niewątpliwie utrudniają interpretację wyników uzyskanych przez autorów niniejszej pracy.

Zaskakująco rozbieżne wyniki uzyskiwane przez różnych badaczy mogą również być efektem przypadku lub wynikać z odrębności etnicznych badanych grup. Obserwuje się duże różnice w częstości występowania poszczególnych alleli polimorfizmu *PLA1/A2 GPIIIa* nie tylko między odległymi

geograficznie populacjami, ale i w obrębie Europy. Częstość występowania allelu *PLA2* zawiera się w granicach od 0,5% wśród rasy żółtej do 9% w południowej Europie, 15% w centralnej i 26,5% w populacji północnoeuropejskiej [7, 8, 14–17, 20]. W badanej przez autorów grupie częstość ta wynosiła 13%, co jest zgodne z przytaczanymi powyżej doniesieniami. Rozpowszechnienie w populacji potencjalnego czynnika ryzyka może znacząco wpływać na jego istotność w kształtowaniu ryzyka całkowitego oraz epidemiologii badanej choroby.

Podobnie jak większość badaczy, autorzy niniejszej pracy nie stwierdzili w analizowanej grupie mężczyzn z istotną miażdżycą tętnic wieńcowych znamienego związku genotypu *PLA1/PLA2 GPIIIa* z żadnym z analizowanych podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego (tab. 4). Jedynie Carter i wsp. [8] wykazali związek allelu *PLA2* z wyższym stężeniem cholesterolu całkowitego wśród mężczyzn poniżej 47 roku życia.

## Wnioski

Na podstawie wyników uzyskanych przez autorów stwierdzono brak związku pomiędzy wariantami polimorficznymi *PLA1/A2* genu glikoproteiny płytkowej *GPIIIa* z przebyłym zawałem serca wśród mężczyzn z angiograficznie potwierdzoną miażdżycą tętnic wieńcowych. Wydaje się, że znaczenie polimorfizmu *PLA1/A2 GPIIIa* w kształtowaniu ryzyka wystąpienia ostrych incydentów wieńcowych może być bardzo zróżnicowane w zależności od badanej populacji. Prawdopodobnie dla ujawnienia się istotnego wpływu tego polimorfizmu konieczna jest interakcja z innymi środowiskowymi lub genetycznymi czynnikami ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego.

## Streszczenie

### Polimorfizm *PLA1/A2 GPIIIa* a przebyty zawał serca

**Wstęp:** Szczególna rola płytek krwi w rozwoju choroby wieńcowej, a zwłaszcza jej ostrych postaci — niestabilnej choroby wieńcowej oraz zawału serca — jest dobrze udokumentowana. Ponieważ glikoproteiny błony komórkowej płytek krwi pełnią kluczową rolę w procesie agregacji, podejmuje się próby określenia związku polimorfizmu genów je kodujących, zwłaszcza polimorfizmu *PLA1/A2 GPIIIa*, z różnymi postaciami choroby wieńcowej. Ponieważ wyniki badań są niejednoznaczne, celem niniejszej pracy jest określenie potencjalnego związku występowania wariantów tego polimorfizmu z przebyłym zawałem serca w grupie chorych z angiograficznie potwierdzoną istotną miażdżycą tętnic wieńcowych.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w grupie 397 mężczyzn z rozpoznaną chorobą wieńcową (śr. wiek 57 ± 10 lat), hospitalizowanych w trybie elektywnym, u których istotną

miażdżycę tętnic wieńcowych, tzn. zwężenie o 50% lub więcej światła przynajmniej jednej z głównych nasterdziowych tętnic wieńcowych, potwierdzono badaniem angiograficznym. Zawał serca przeżyło 61% chorych. Badanie polimorfizmu PIA1/A2 genu glikoproteiny płytkowej GPIIIa wykonano za pomocą analizy długości fragmentów restrykcyjnych (RLFP, restriction fragment length polymorphism).

**Wyniki:** W badanej grupie stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu PIA1/A2 GPIIIa: PIA2A2 — 1% ( $n = 3$ ), PIA1A2 — 24% ( $n = 97$ ) i PIA1A1 — 75% ( $n = 297$ ), który pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy'ego-Weinberga. Nie wykazano istotnych różnic w rozkładach genotypów polimorfizmu PIA1/PIA2 GPIIIa między chorymi z przeżytym oraz bez przebitego zawału serca. Iloraz szans przebitego zawału serca związanego z występowaniem przynajmniej jednego allelu PIA2 (OR, odds ratio) wyniósł 1,12 (95% CI: 0,70–1,79),  $p = 0,63$ . Nie wykazano również związku polimorfizmu PIA1/A2 GPIIIa z przeżytym zawałem serca w podgrupie pacjentów  $< 60$  rż. ( $n = 236$ ) OR = 0,95 (95% CI: 0,52–1,75;  $p = 0,86$ ), jak i w grupie chorych o mniejszym ryzyku miażdżycy (BMI  $< 26$  kg/m<sup>2</sup> i stężenie cholesterolu całkowitego  $< 250$  mg%) ( $n = 103$ ) OR = 1,30 (95% CI: 0,52–3,29;  $p = 0,57$ ). Nie stwierdzono istotnego związku pomiędzy polimorfizmem PIA1/A2 GPIIIa a żadnym z badanych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego.

**Wniosek:** Na podstawie uzyskanych wyników autorzy stwierdzają brak związku pomiędzy wariantami polimorficznymi PIA1/A2 genu glikoproteiny płytkowej GPIIIa z przeżytym zawałem serca wśród mężczyzn z angiograficznie potwierdzoną miażdżycą tętnic wieńcowych. (Folia Cardiol. 2001; 8: 499–507)

**płytki krwi, choroba wieńcowa, zawał serca, polimorfizm genetyczny**

## Piśmiennictwo

1. Handin R.I. Platelets and coronary artery disease. N. Engl. J. Med. 1996; 334: 1126–1127.
2. Lefkowitz J., Plow E.F., Topol E.J. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. N. Engl. J. Med. 1995; 332: 1553–1559.
3. Antiplatelet Trialists Collaboration Collaborative overview of randomized trials of antiplatelet therapy. I. Prevention of death, myocardial infarction and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various category of patients. BMJ 1994; 308: 81.
4. Nurden A., Poujol C., Durrieu-Jais C., Nurden P. Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. Basic and clinical aspects. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1999; 19: 2835–2840.
5. Falk E., Shah P.K., Fuster V. Coronary plaque disruption. Circulation 1995; 92: 657.
6. Newman P.J., Derbes R.S., Aster R.H. The human alloantigenes, PIA1 and PIA2, are associated with leucine/proline aminoacid polymorphism in membrane glycoprotein IIIa, and are distinguishable by DNA typing. J. Clin. Invest. 1989; 83: 1778–1781.
7. Weiss E.J., Bray P.F., Tayback M. i wsp. A polymorphism of the platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. N. Engl. J. Med. 1996; 334: 1090–1094.
8. Carter A.M., Ossei-Gerning N., Wilson I.J., Grant P.J. Association of the platelet PIA polymorphism of glycoprotein IIb/IIIa and fibrinogen Bb 448 polymorphism with myocardial infarction and extent of coronary artery disease. Circulation 1997; 96: 1424–1431.
9. Douglas P.S. Coronary artery disease in women. Braunwald E. red. Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine. W.B. Saunders Company, Philadelphia 1997; 1704–1714.
10. Syska-Sumińska J., Cybulska K. Odmienności choroby niedokrwiennej serca u kobiet. W: Dłużniewski M. red. Choroba niedokrwienności serca. Fundacja „Dla Serca”, Warszawa 1998: 57–66.
11. World Health Organisation. Diabetes mellitus. Geneve, 1985; 727.
12. Farmer J.A., Gotto A.M. Dyslipidemia and other risk factors for coronary artery disease. W: Braunwald E.



- red. Heart disease a textbook of cardiovascular Medicine. W.B. Saunders Company, Philadelphia 1997; 1126–1160.
13. Szostak W.B. Zasady wieloczynnikowej prewencji choroby niedokrwiennej serca. *Kardiol. Pol.* 1996; XLIV (supl. II): II37–II48.
  14. Garcia-Ribes M., Gonzalez-Lamuno D., Hernandez-Estefania R. i wsp. Polymorphism of the platelet glycoprotein IIIa gene in patients with coronary stenosis. *Thromb. Haemost.* 1998; 79: 1126–1229.
  15. Ridker P.M., Hennekens C.H., Schmitz C., Stampfer M.J., Lindpaintner K. PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis. *Lancet* 1997; 349: 385–388.
  16. Herrmann S.M., Poirier O., Marques-Vidal P. i wsp. The Leu33/Pro polymorphism (PIA1/PIA2) of the glycoprotein IIIa (GPIIIa) receptor is not related to myocardial infarction in the ECTIM study. *Thromb. Haemost.* 1997; 77: 1179–1181.
  17. Gardeman A., Humme J., Stricker J. i wsp. Association of the platelet glycoprotein IIIa PIA1/A2 gene polymorphism to coronary artery disease but not to nonfatal myocardial infarction in low risk patients. *Thromb. Haemost.* 1998; 80: 214–217.
  18. Marian A.J. Genetic risk factors for myocardial infarction. *Current Opinion in Cardiology* 1998; 13: 171–178.
  19. Gruchała M., Ciećwierz D., Rynkiewicz A. Znaczenie wariantów polimorficznych wybranych genów w chorobie wieńcowej serca. Część I: Wprowadzenie i metodologia badań. *Polski Przegląd Kardiologiczny* (w druku).
  20. Kastrati A., Schomig A., Seyfarth M. i wsp. PIA polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of restenosis after coronary stent placement. *Circulation* 1999; 99: 1005–1010.