Pregledi
Reviews

POLIMORFIZAM TROMBOCITNOG GLIKOPROTEINA Ibα KAO GENSKI ČIMBENIK RIZIKA OD KORONARNE BOLESTI

POLYMORPHISM OF PLATELET GLYCOPROTEIN Ibα AS A GENETIC PREDICTOR OF CORONARY ARTERY DISEASE

MARLENA ČULJAK ALEKSIĆ, JASNA MESARIĆ*

Deskriptori: Koronarna bolest – genetika; Trombocitni antigeni – genetika; Trombocitni glikoprotein GPIb-IX kompleks – genetika; Genski polimorfizam

Sažetak. Arteroskleroza je multifaktorska bolest uzrokovana međudjelovanjem genske pozadine i čimbenika okoliša. Polimorfizmi trombocitnih antigena uočeni su kao mogući rizični čimbenici uključeni u patogenezu koronarne bolesti (KBS). Literaturni podatci o povezanosti polimorfizma trombocitnih glikoproteina s razvojem KBS-a su oprečni. Cilj našeg rada bio je ispitati učestalost polimorfizma GPIbα^{145}Thr/Met (HPA-2) u uzorku hrvatske populacije te ispitati njegovu povezanost s koronarnom bolesti. U istraživanje smo uključili 604 ispitanika koje smo temeljem nalaza koronarografije u našoj ustanovi svrstali u dvije skupine: 402 bolesnika s dokazanim KBS-om i 202 bolesnika bez KBS-a (kontrolna skupina). Učestalost genotipova HPA-2ab (Thr/Met) i HPA-2bb (Met/Met) veća je u skupini bolesnika s KBS-om nego u kontrolnoj skupini (22,1% vs 21,3% i 1,3% vs 0,5%), ali opažena razlika nije statistički značajna (p=0,654). U bolesnika s KBS-om u usporedbi s bolesnicima bez KBS-a učestalost alela Met neznatno je veća (0,12 vs 0,11). Statistička analiza nije pokazala značajnu povezanost polimorfizma GPIbα^{145}Thr/Met (HPA-2) s pojavom KBS (OR, 1,10; 95% CI, 0,69 do 1,50), što je sukladno rezultatima istraživanja ovog polimorfizma u populaciji središnje Europe. Povezanost ostalih polimorfizama trombocitnih glikoproteina s KBS-om u hrvatskoj populaciji predmet je daljnjih istraživanja.

Descriptors: Coronary disease – genetics; Antigens, human platelet – genetics; Platelet glycoprotein GPIb-IX complex – genetics; Polymorphism, genetic

Summary. Atherosclerosis is a multifactorial disease caused by the interaction between genetic predisposition and environmental influences. Polymorphisms within platelet membrane antigens have been recognized as a potential risk factor involved in pathogenesis of coronary artery disease (CAD). Results of different studies on association of platelet membrane polymorphisms and CAD are controversial. The aim of our study was to investigate the frequency of GPIbα^{145}Thr/Met (HPA-2) polymorphism among Croatian patients and to assess the relationship between this polymorphism and the prevalence of CAD. 604 patients were enrolled in this investigation and according to the results of coronary angiograms were devided in two groups: 402 patients with coronary angiography confirmed CAD and 202 patients without coronary angiography confirmed CAD (control group). Frequency of genotypes HPA-2ab (Thr/Met) and HPA-2bb (Met/Met) was higher in CAD group than in control group (22,1% vs 21,3% and 1,3% vs 0,5%) but the difference was not statistically significant (p=0,654). Among CAD patients, the frequency of Met allele was nonsignificantly higher than among control group patients (0,12 vs 0,11). Statistical analysis showed no significant connection between GPIbα^{145}Thr/Met (HPA-2) polymorphism and CAD (OR, 1.10; 95% CI, 0.69 do 1.50). This is in concordance with the results of investigation conducted among central Europeans. The relationship of other platelet glycoprotein polymorphisms and CAD among Croatians remains to be investigated.

Liječ Vjesn 2008;130:146–150

Aterosklerotska bolest srca i krvnih žila usprkos napretku u dijagnostici i liječenju i danas čini visoki postotak u ukupnom pobolu i smrtnosti pučanstva diljem svijeta, a i u Hrvatskoj.[1–3] Čimbenici rizika od kliničke prezentacije ateroskleroze područje su intenzivnog istraživanja. Epidemiološka istraživanja pokazuju neosporivu povezanost tradicionalnih čimbenika rizika (pušenje,[4] arterijska hipertenzija,[5] šećerna bolest,[6] visoka koncentracija LDL-kolesterola, niska koncentracija HDL-kolesterola,[7] povišena koncentracija triglicerida[8,9]). Za skupinu kondicionalnih čimbenika rizika (povišena koncentracija lipoproteina(a),[10] nekih faktora zgrušavanja,[11,12] homocisteina[13]), uzročno-posljedična veza za razvoj ateroskleroze još nije potpuno jasna i predmet je daljnjih istraživanja. Istraživanja u genskoj epidemiologiji upućuju na važnost genskih čimbenika, među kojima su polimorfizmi gena trombocitnih glikoproteina (GP) uključenih u primarnu hemostazu, GPIb-IX-V, GPIIb-IIIa, te GPIa-IIa.[14,15] Glikoproteinski kompleks Ib-IX-V ima važnu ulogu u stvaranju fibrinskog ugruška na mjestu oštećene stijenke krvne žile.[16] Poznata su tri polimorfizma GPIbα, glavne komponente GP Ib-IX-V-kompleksa. Dva polimorfizma mijenjaju

* **»Magdalena« – Specijalna bolnica za kardiovaskularnu kirurgiju i kardiologiju, Krapinske Toplice** (Marlena Čuljak Aleksić, dr. med.), **Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb** (doc. dr. sc. Jasna Mesarić, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Dr. M. Čuljak Aleksić, Bolnička transfuzijska jedinica, »Magdalena« – Specijalna bolnica za kardiovaskularnu kirurgiju i kardiologiju, Gajeva 2, 49 217 Krapinske Toplice, e-mail: marlena.culjak@magdalena.hr

Primljeno 24. kolovoza 2007., prihvaćeno 10. ožujka 2008.

strukturu gena. Jedan je polimorfizam posljedica zamjene citozina timinom na 434. mjestu, što dovodi do promjene slijeda aminokiselina treonin (Thr)–metionin (Met) na mjestu 145, a to je molekularna baza koja određuje trombocitni antigen (HPA)-2 (engl. Human Platelet Antigen).[17,18] Drugi polimorfizam nastaje zbog različitog broja ponavljanja (VNTR, engl. Variable Number of Tandem Repeats) u makroglikopeptidnoj regiji molekule tog kompleksa.[19] Treći polimorfizam mijenja površinsku ekspresiju gena, a nastaje zbog zamjene timina citozinom na položaju –5 od ATG startnog kodona, tzv. Kozakov polimorfizam.[20,21]

Prema dosad objavljenim podatcima njihova povezanost s genskom sklonosti aterosklerozi i trombotičnim bolestima i dalje ostaje dvojbena i ne postoje podaci koji bi sa sigurnošću potvrdili ili isključili njihovu povezanost s pojavom i stupnjem koronarne bolesti. Literaturni podaci upućuju na razlike u dobivenim rezultatima s obzirom na etničku pripadnost ispitanika.[22,23] Istraživanja u području polimorfizma trombocitnih antigena kao mogućih genskih rizičnih čimbenika u našoj populaciji su nedostatna.

Ovo je istraživanje usmjereno na polimorfizam GPIbα^{145} Thr/Met s ciljem da se ispita učestalost tog polimorfizma na uzorku hrvatske populacije i procijeni njegova povezanost s nastankom koronarne bolesti.

Ispitanici i metode

U istraživanje su uključena 604 ispitanika s postavljenom indikacijom za koronarografiju, koja je učinjena u Specijalnoj bolnici za kardiovaskularnu kirurgiju i kardiologiju »Magdalena«. Temeljem nalaza koronarografije ispitanici su svrstani u dvije skupine. Skupinu 1 čine ispitanici kod kojih je koronarografijom dokazano suženje lumena bar jedne glavne koronarne arterije ili njezina ogranka. Skupinu 2 čine ispitanici kod kojih je nalaz koronarografije pokazao potpuno intaktne koronarne arterije pa je ova skupina kontrolna.

Za svakog ispitanika su anamnezom i kliničkim pregledom dobiveni demografski i klinički podatci, uključujući dob, spol, visinu, tjelesnu masu, naviku pušenja, krvni tlak i šećernu bolest. Iz omjera tjelesne mase i visine izračunan je indeks tjelesne mase.

Koronarografija je učinjena na aparatu Coroscop Top, Siemens, a koronarna bolest je definirana kao suženje lumena, uključujući i rubne iregularitete na koronarogramu, u jednoj ili više glavnih koronarnih arterija ili njihovu ogranku.[24]

Od svakog ispitanika je prije koronarografije uzet uzorak krvi za analizu. Određene su vrijednosti ukupnog kolesterola, HDL-kolesterola, LDL-kolesterola, triglicerida te apolipoproteina A1 (Apo A1), B (Apo B), E (Apo E), lipoproteina Lp (a), glukoze i fibrinogena. Iz uzorka pune krvi svakog ispitanika izolirana je DNA za analizu polimorfizma GPIb^{145}Thr/Met. Određivanje genotipa polimorfizma učinjeno je metodom umnožavanja ulomaka DNA i genotipiranja na automatiziranom PCR-sustavu LightCycleru (LC).[25,26]

Statistička analiza podataka učinjena je uporabom programske potpore Statistica 7,1 (StatSoft, Inc., Tulsa, SAD). Za opis distribucija izmjerenih varijabli primijenjene su deskriptivne statističke metode. Za analizu razlika u distribucijama kvalitativnih varijabli primijenjen je χ^2-test, a kvantitativnih varijabli jednosmjerna analiza varijance, odnosno njezin neparametrijski ekvivalent – Kruskal-Wallisov test kada distribucije nisu slijedile normalnu raspodjelu. Statistička značajnost procijenjena je na razini od 1% i 5% ($p<0,01$ i $p<0,05$). Za procjenu rizika od pojave koronarne bolesti u odnosu na polimorfizam izračunan je omjer šansi (OR, engl., Odds Ratio) s 95% granicama pouzdanosti (CI, engl., Confidence Intervals).

Rezultati

Od ukupno 604 ispitanika podvrgna koronarografiji, koronarna je bolest dokazana u 402 ispitanika, dok su 202 ispitanika imala negativan nalaz. Ispitanici s koronarnom bolesti imali su prosječno 60,4 godine i statistički su značajno stariji od ispitanika kontrolne skupine prosječne dobi 57,5 godina. U skupini ispitanika s koronarnom bolesti statistički je značajno više nego u kontrolnoj skupini muškaraca (77,4% vs 52,9%), pušača (41,1% vs 27,2%), hipertoničara (62,7% vs 53,5%) te dijabetičara (22,6% vs 12,9%). Karakteristike skupina ispitanika prikazane su na tablici 1.

Laboratorijske (biokemijske) značajke ispitanika prikazane su na tablici 2. U skupini ispitanika s koronarnom bolesti vrijednosti HDL-kolesterola i Apo A1 statistički su značajno niže nego u kontrolnoj skupini ($p<0,001$), a vrijednosti Lp(a), Apo E i fibrinogena statistički su značajno više ($p<0,05$). Razlike u vrijednostima ostalih pokazatelja, ukupni kolesterol, LDL-kolesterol, trigliceridi i Apo B nisu se pokazale statistički značajnima.

Raspodjela genotipova GPIbα^{145} u skupini 1 i u skupini 2 ispitanika prikazana je na tablici 3. Učestalost genotipa divljeg tipa (Thr/Thr) neznatno je veća u skupini 2 u odnosu na skupinu 1 ispitanika (78,2% vs 76,6%). Možemo uočiti da je polimorfizam bilo u heterozigotnom (Thr/Met) bilo u homozigotnom (Met/Met) obliku zastupljeniji u skupini bolesnika s koronarnom bolesti nego u kontrolnoj skupini, ali opažena

Tablica 1. *Karakteristike skupina*
Table 1. *Characteristics of the groups*

Pokazatelj /parameter	Skupina 1 Group 1 n=402	Skupina 2 Group 2 n=202	p
Dob (godine)/Age (years), $\bar{x}$±SD	60,4±9,3	57,5±10,6	0,05
Spol (muški)/Sex (male) (n, %)	311 (77,4)	107 (52,9)	<0,001
Indeks tjelesne mase /Body mass index (kg/m2), $\bar{x}$±SD	28,1±3,8	27,8±3,8	0,473
Pušači/Smokers (n, %)	165 (41,1)	55 (27,2)	<0,001
Hipertenzija/Hypertension (n, %)	252 (62,7)	108 (53,5)	0,003
Šećerna bolest /Diabetes mellitus (n, %)	91 (22,6)	26 (12,9)	0,016

Tablica 2. *Laboratorijske značajke skupina*
Table 2. *Laboratory characteristics of the groups*

Čimbenik /Factor	Skupina 1 Group 1 n=402	Skupina 2 Group 2 n=202	p
Ukupni kolesterol (mmol/L) /Total cholesterol, $\bar{x}$±SD	5,91±1,36	5,87±1,08	0,772
HDL-kolesterol (mmol/L) /HDL cholesterol, $\bar{x}$±SD	1,09±0,28	1,23±0,32	<0,001
LDL-kolesterol (mmol/L) /LDL cholesterol, $\bar{x}$±SD	3,89±1,19	3,79±0,98	0,331
Trigliceridi (mmol/L) /Triglycerides, $\bar{x}$±SD	2,09±1,10	1,91±1,12	0,108
Lp(a) (g/L)/Lp(a), $\bar{x}$±SD	0,36±0,52	0,26±0,35	0,021
Apo A1 (g/L)/Apo A1, $\bar{x}$±SD	1,31±0,29	1,45±0,32	<0,001
Apo B (g/L)/Apo B, $\bar{x}$±SD	1,16±0,31	1,12±0,27	0,105
Apo E (g/L)/Apo E, $\bar{x}$±SD	0,08±0,08	0,06±0,05	0,014
Fibrinogen (g/L)/Fibrinogen, $\bar{x}$±SD	3,31±1,00	3,03±1,02	0,011

Tablica 3. *Raspodjela genotipova GPIbα^{145} (HPA-2) u skupinama*
Table 3. *GPIbα^{145} genotypes distribution (HPA-2) in groups*

Genotip /Genotype	Skupina 1/Group 1 n=402	Skupina 2/Group 2 n=202
HPA-2aa (Thr/Thr)	308 (76,6%)	158 (78,2%)
HPA-2ab (Thr/Met)	89 (22,1%)	43 (21,3%)
HPA-2bb (Met/Met)	5 (1,3%)	1 (0,5%)

Analizirano hi-kvadrat testom / analysed with the Chi-square test (χ^2 = 0,848; P = 0,6544)

Tablica 4. *Učestalost alela HPA-2a i HPA-2b (GPIbα^{145}Thr/Met) u skupinama*
Table 4. *HPA-2a and HPA-2b (GPIbα^{145}Thr/Met) alleles frequency in groups*

	HPA-2a (Thr145)	HPA-2b (Met145)
Skupina 1/Group 1	0,88	0,12
Skupina 2/Group 2	0,89	0,11

Tablica 5. *Stupanj povezanosti polimorfizma GPIbα^{145} s pojavom KBS-a*
Table 5. *Correlation between GPIbα^{145} polymorphisms and CAD*

	Skupina 1 Group 1	Skupina 2 Group 2	Ukupno Total
Met-poz / Met pos	94	44	138
Met-neg / Met neg	308	158	466
Ukupno / Total	402	202	604

OR = 1,10 (omjer šansi/odds ratio); 95% granice pouzdanosti/confidence interval; donja granica/lower limit = 0,69; gornja granica/upper limit = 1,50

razlika nije se pokazala statistički značajnom (p=0,654). Učestalost polimorfnog alela metionin (Met) također je neznatno veća u skupini 1 u odnosu na skupinu 2 (0,12 vs 0,11), tablica 4.

Statistička analiza nije pokazala značajnu povezanost polimorfizma GPIbα^{145}Thr/Met s pojavom koronarne bolesti (OR, 1,10; 95% CI, 0,69 do 1,50), tablica 5.

Metodom logističke regresije ispitana je procjena rizika od pojave KBS-a. U analizu su ušli kao prediktori: spol (muškarci/žene), dob (u godinama), pušenje (da/ne), šećerna bolest (da/ne), hipertenzija (da/ne), ITM (kg/m^2), ukupni kolesterol (mmol/l), trigliceridi (mmol/l), HDL-kolesterol (mmol/l), LDL-kolesterol (mmol/l), Lp(a) (g/l), Apo A1 (g/l), Apo B (g/l), Apo E (g/l), fibrinogen (g/l) i GPIbα (Met/Thr). Rezultat regresijske analize prikazan je na tablici 6. Dobivene su statistički vrlo značajne predikcije (χ^2= 97,172; df = 18; P < 0,001). Ukupno slaganje između opažene i procijenjene pripadnosti grupi iznosi 74,3%, što znači da se toliko posto rezultata može predvidjeti na osnovi analiziranih 16 prediktorskih varijabli.

Rasprava

Svrha ove studije bila je ispitivanje učestalosti polimorfizma GPIbα^{145}Thr/Met na uzorku hrvatske populacije s ciljem da se ustanovi njegova povezanost s nastankom koronarne bolesti. Uzorak naših ispitanika veličinom se uglavnom podudara s veličinom uzoraka drugih studija provedenih na tom području (između 200 i 700 ispitanika). Osobita prednost ovog istraživanju u usporedbi s drugima je odabir kontrolne skupine ispitanika u kojoj je na temelju negativnog nalaza koronarografije isključena koronarna bolest. Kontrolnu skupinu u drugim studijama uglavnom čini po-

Tablica 6. *Rezultat logističke regresijske analize u procjeni rizika od pojave KBS-a*
Table 6. *Result of logistic regression analysis in assessment of risk of CAD*

Prediktori Predictors	B	S.E.	Wald	df	P	Exp (B)	95% interval pouzdanosti za Exp (B) 95% confidence interval for Exp (B) Donja granica Lower limit	Gornja granica Upper limit
Spol/Sex	*1,152*	*0,259*	*19,797*	*1*	*<0,001*	*3,164*	*1,905*	*5,256*
Dob/Age	*0,040*	*0,012*	*11,149*	*1*	*0,001*	*1,040*	*1,016*	*1,065*
Pušenje/Smoking	0,176	0,356	0,246	1	0,620	1,193	0,594	2,394
Šećerna bolest /Diabetes mellitus	0,318	0,372	0,735	1	0,391	1,375	0,664	2,848
Hipertenzija /Hypertension	0,454	0,234	3,769	1	0,052	1,574	0,996	2,489
ITM/BMI	0,008	0,030	0,070	1	0,791	1,008	0,951	1,068
Ukupni kolesterol /Total cholesterol	0,353	0,431	0,672	1	0,412	1,424	0,612	3,312
Trigliceridi /Triglycerides	0,081	0,210	0,149	1	0,699	1,084	0,719	1,635
HDL-kolesterol /HDL cholesterol	*–1,651*	*0,798*	*4,281*	*1*	*0,039*	*0,192*	*0,040*	*0,917*
LDL-kolesterol /LDL cholesterol	0,111	0,411	0,073	1	0,788	1,117	0,499	2,498
Lp (a)/Lp (a)	*0,625*	*0,246*	*6,489*	*1*	*0,011*	*1,869*	*1,155*	*3,024*
APO A1/APO A1	*–1,731*	*0,858*	*4,070*	*1*	*0,044*	*0,177*	*0,033*	*0,952*
APO B/APO B	0,221	0,622	0,126	1	0,722	1,247	0,368	4,224
APO E/APO E	3,925	2,817	1,941	1	0,164	50,649	0,202	12669,968*
Fibrinogen/Fibrinogen	0,203	0,109	3,494	1	0,062	1,225	0,990	1,515
GPIb α (Met/Thr) /GPIb α (Met/Thr)	0,302	0,256	1,394	1	0,238	1,352	0,819	2,232
Konstanta/Constant	–3,801	1,424	7,121	1	0,008	0,022		

* S obzirom na široke granice pouzdanosti APO E u ovom istraživanju ne treba smatrati pouzdanim prediktorom /Due to a wide confidence interval, APO E in this investigation should not be considered a reliable predictor

pulacija davatelja krvi ili bolesnika kod kojih nije moguće u potpunosti isključiti koronarnu bolest samo na temelju anamnestičkih podataka.

Neosporna je važnost poznavanja čimbenika rizika razvoja ateroskleroze i njezine kliničke manifestacije, ne samo s aspekta prevencije već i kao doprinos boljem razumijevanju patogeneze koronarne bolesti.

Rezultati ovog istraživanja koji se odnose na poznate tradicionalne čimbenike rizika, uključujući spol, dob, pušenje, šećernu bolest, hipertenziju, kolesterol, trigliceride, HDL i LDL-kolesterol, Lp(a), Apo A1, Apo E i fibrinogen sukladni su rezultatima ostalih studija, što upućuje na njihovu povezanost s razvojem koronarne bolesti.[27,29]

Rezultati naše logističke regresijske analize upozorili su na spol, dob, HDL-kolestereol, Lp(a) i Apo A1 kao statistički značajne prediktore za razvoj KBS-a. Vjerojatnost pojave KBS-a tri puta je veća kod muškaraca nago kod žena. Kod starijih osoba veća je vjerojatnost obolijevanja od KBS-a, sa svakom godinom života ona raste za 4%. HDL-kolesterol i Apo A1 smanjuju vjerojatnost pojave KBS-a. Porast HDL-kolesterola za 1 mmol/l umanjuje vjerojatnost za 81%, dok porast vrijednosti Apo A1 za 1 g/l umanjuje vjerojatnost pojave KBS-a za 82%. Porast Lp(a) za 1 g/l povećava vjerojatnost razvoja KBS-a za 12%.

Sustav trombocitnih glikoproteina važan je čimbenik u patogenezi klinički manifestne ateroskleroze i primjer je interakcije genskih faktora i faktora okoline. GPIbα kao glavni receptor za vWf i trombin ima ključnu ulogu u početnoj fazi stvaranja tromba.[30] Moguća veza između GPIbα kao čimbenika u procesu koagulacije, a samim time i ateregeneze odavno je uočena i predmet je istraživanja.[31] Međutim, rezultati tih istraživanja još su proturječni. Neka istraživanja upućuju na polimorfizam GPIbα HPA-2a/b kao mogući čimbenik rizika od sklonosti koronarnoj bolesti, ali postoje i radovi koji ne govore u prilog toj povezanosti. Istraživanja u populaciji Japanaca uključujući 188 ispitanika[32] i 327 ispitanika,[33] u populaciji Talijana uključujući 400 ispitanika[34] i 215 ispitanika,[35] kao i u populaciji središnje Europe[36] uključujući 202 ispitanika, nisu pokazala povezanost polimorfizma HPA-2a/b s KBS-om. Nasuprot ovima, istraživanja u populaciji Španjolaca[37] uključujući 202 ispitanika, u populaciji Finaca[38] uključujući 700 ispitanika te u populaciji Japanaca,[39] uključujući 196 ispitanika pokazala su povezanost polimorfizma HPA-2a/b s KBS-om. Prema literaturnim podacima postoje razlike u učestalosti polimorfnog alela Met između etničke pripadnosti ispitanika, uključujući Azijce, Europljane, američke Indijanace i Afroamerikanace.[40] Učestalost alela Met najniža je u populaciji Kineza (0,025),[41] a najviša u populaciji Afroamerikanaca (0,18).[42]

Prema našim rezultatima učestalost alela Met u uzorku ispitanika hrvatske populacije (0,12) uglavnom se podudara s učestalosti alela u pripadnika europske populacije; Finaca (0,12),[38] Španjolaca (0,11),[37] Slovenaca (0,11),[40] Talijana (0,11).[43] Učestalost polimorfnog alela Met veća je u usporedbi s populacijom Nizozemaca (0,12 vs 0,06)[44] te Austrijanaca,[45] Nijemaca[46] i Danaca[47] (0,12 vs 0,08). U usporedbi s pripadnicima nekih izvaneuropskih populacija učestalost polimorfnog alela Met veća je u uzorku hrvatskih ispitanika, kao npr. u usporedbi s Kinezima (0,12 vs 0,025)[39] i američkim Indijancima (0,12 vs 0,042),[48] manja u usporedbi s Afroamerikancima (0,12 vs 0,18)[40] i Marokancima (0,12 vs 0,18),[49] a gotovo jednaka u usporedbi s Korejcima (0,12 vs 0,13)[40] i Japancima (0,12 vs 0,11).[50,51]

Analiza rezultata našeg istraživanja u procjeni povezanosti polimorfizma GPIbα[145] i koronarne bolesti upućuje na tendenciju veće zastupljenosti polimorfnog alela Met bilo u homozigotnom bilo u heterozigotnom obliku u ispitanika s koronarnom bolesti u odnosu na ispitanike kontrolne skupine, ali opažena razlika nije statistički značajna (OR 1,10; 95% CI; 0,69; do 1,50).

Jedan od mogućih razloga tomu još je uvijek premalen broj ispitanika na kojem je ovo istraživanje provedeno. Valja pretpostaviti da bi istraživanje na većem uzorku, zbog niske učestalosti polimorfnog alela u populaciji, vjerojatno pridonijelo definiranju statističke značajnosti te razlike.

Zaključno, možemo reći da rezultati našeg istraživanja upućuju na sukladnost s rezultatima istraživanja u populacijama središnje Europe[35] koja nisu pokazala povezanost polimorfizama trombocitnih glikoproteina HPA-sustava kao rizičnog čimbenika za razvoj koronarne bolesti. Pretraživanjem dostupnih baza podataka nismo naišli na prethodno istraživanje povezanosti polimorfizma GPIbα[145]Thr/Met s pojavom koronarne bolesti od strane hrvatskih autora, te bi se ovaj rad mogao smatrati prvim na tom području u hrvatskoj medicinskoj literaturi.

LITERATURA

1. *Cardiovascular Disease Programme.* Integrated Management of Cardiovascular Risk. Report of a WHO Meeting; 2002 Jul 9–12; Geneva, Swiss. Noncommunicable Diseases and Mental Health. Geneva: World Health Organization; 2002, str. 35.
2. *Hrvatski zavod za javno zdravstvo.* Izvješće o umrlim osobama u Hrvatskoj u 2004. godini. Zagreb, 2006.
3. *Hrvatski zavod za javno zdravstvo.* Kardiovaskularne bolesti u Republici Hrvatskoj. Zagreb, 2006.
4. *INTERHEART Study Investigators.* Tobacco use and risk of myocardial infarction in 52 countries in the INTERHEART study: a case-control study. Lancet 2006;368:647–58.
5. *Kannel WB.* Hypertensive risk assessment: cardiovascular risk factors and hypertension. J Clin Hypertens 2004;6:393–9.
6. *Meigs JB, Mittleman MA, Nathan DM i sur.* Hyperinsulinemia, hyperglycemia, and impaired hemostasis: the Framingham Offspring Study. JAMA 2000;283:221–8.
7. *Austin MA, Rodriguez BL, McKnight B i sur.* Low-density lipoprotein particle size, triglycerides, and high-density lipoprotein cholesterol as risk factors for coronary heart disease in older Japanese-American men. Am J Cardiol 2000;86:412–6.
8. *Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL.* Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. Am J Cardiol 1998;81:7B–12B.
9. *Abdel-Maksoud MF, Hokanson JE.* The complex role of triglycerides in cardiovascular disease. Sem Vasc Med 2002;2:325–33.
10. *Dahlen GH, Srinivasan SR, Stenlund H, Wattigney WA, Wall S, Berenson GS.* The importance of serum lipoprotein (a) as an independent risk factor for premature coronary artery disease in middle-aged black and white women from the United States. J Intern Med 1998;244: 417–24.
11. *Yarnell JW, Baker IA, Sweetnam PM i sur.* Fibrinogen, viscosity, and white blood cell count are major risk factors for ischemic heart disease studies. Circulation 1991;83:836–44.
12. *Fibrinogen Studies Collaboration.* Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. JAMA 2005;294:1799–809.
13. *Genest JJ , McNamara JR, Upson B i sur.* Prevalence of familial hyperhomocyst(e)inemia in men with premature coronary artery disease. Arterioscler Thromb 1991;11:1129–36.
14. *Gawaz M, Neumann F-J, Schomig A.* Evaluation of platelet membrane glycoprotein in coronary artery disease. Circulation 1999;99:1–11.
15. *Kandzari DE, Goldschmidt-Clermont PJ.* Platelet polimorphisms and ischemic heart disease: Moving beyond traditional risk factors. J Am Coll Cardiol 2001;38:1028–32.
16. *Modderman PW, Admiral LG, Sonnenberg A, von dem Borne AEGK.* Glycoprotein V and Ib-Ix form a noncovalent complex in the platelet membrane. J Biol Chem 1992;267:364–9.
17. *Murata M, Furihata K, Ishida F, Russell SR, Ware J, Ruggeri ZM.* Genetic and structural characterization of an amino acid dimorphism in glycoprotein Ib alpha involved in platelet transfusion refractoriness. Blood 1992;79:3086–90.
18. *Kuijpers RWAM, Faber NM, Cuypers HTM, Ouwehand WH, von dem Borne.* AEGK: The NH2-terminal globular domain of human platelet glycoprotein Ibα has a methionine 145/threonine 145 amino acid poly-

morphism which is associated with the HPA-2 (Ko) alloantigens. J Clin Invest 1992;89:381–4.
19. *Lopez JA, Ludwig EH, McCarthy BJ.* Polymorphism of human glycoprotein Ib alpha results from a variable number of tandem repeats of a 13-amino acid sequence in the mucin-like macroglycopeptide region. Structure/function implications. J Biol Chem 1992;267:10055–61.
20. *Kozak M.* Possible role of flanking nucleotides in recognition of the AUG initiator codon by eukaryotic ribosomes. Nucl Acid Res 1981; 9:5233–52.
21. *Afshar-Kharghan V, Li CQ, Khoshnevis-Asl M, Lopez JA.* Kozak sequence polymorphism of the glycoprotein (GP) Ibalpha gene is a major determinant of the plasma membrane levels of the platelet GP Ib-IX-V complex. Blood 1999;94:186–91.
22. *Charakida M, Tousoulis D, Stefanadis C, Toutouzas P.* The role of platelet glycoprotein Ib and IIb polymorphism in coronary artery disease. Hellenic J Cardiol 2003;44:43–8.
23. *Bussel JB, Kunicki TJ, Michelson AD.* Platelets: New understanding of platelet glycoproteins and their role in disease. Hematology 2000; 1:222–40.
24. *von Beckerath N, Schusterschitz Y, Koch W i sur.* G protein beta 3 subunit 825T allele carriage and risk of coronary artery disease. Atherosclerosis 2003;167:135–9.
25. *Caplin BE, Rasmussen RP, Bernard PS, Wittwer CT.* LightCycler hibridization Probes: The most direct way to monitor PCR amplification for quantification and mutation detection. Biochemica 1999;1:5–8.
26. *Rasmussen R, Morrison T, Herrmann M, Wittwer C.* Quantitative PCR by continuous fluorescsnce monitoring of a double strand DNA specific binding dye. Biochemica 1998;2:8–11.
27. *Reiner Ž, Mihatov S, Miličić D, Bergovac M, Planinc D.* Treatment and secondary prevention of ischemic coronary events in Croatia (TASPIC-CRO study). Eur J Cardiovasc Prev Rehabil 2006;13:646–54.
28. *Carević-Veselica K, Rumboldt M, Rumboldt Z.* Interheart Investigators; Coronary heart disease risk factors in Croatia and worldwide: results of the Interheart study. Acta Med Croat 2007;61:299–306.
29. *Ferencak G, Pasalic D, Grskovic B i sur.* Lipoprotein lipase gen polymorphisms in Croatian patients with coronary artery disease. Clin Chem Lab Med 2003;41:541–6.
30. *Ruggeri ZM.* Glycoprotein Ib and von Willebrand factor in the process of thrombus formation. Ann N Y Acad Sci 1994;714:200–10.
31. *Donahue MP, Allen AS.* Genetic association studies in cardiology. Am Heart J 2005;149:964–70.
32. *Hato T, Minamoto Y, Fukuyama T, Fujita S.* Polymorphisms of HPA-1 through 6 on platelet membrane glycoprotein receptors are not a genetic risk factor for myocardial infarction in the Japanese population. Am J Cardiol 1997;80:1222–4.
33. *Ito T, Ishida F, Shimodaira S, Kitano K.* Polymorphisms of platelet membrane glycoprotein Ib alpha and plasma von Willebrand factor antigen in coronary artery disease. Int J Hematol 1999;70:47–51.
34. *Adrissino D, Mannucci PM, Merlini PA i sur.* Prothrombotic Genetic Risk Factors in Young Survivors of Myocardial Infarction. Blood 1999; 94:46–51.
35. *Candore G, Piazza G, Crivello A i sur.* Association between platelet glycoprotein Ib-alpha and myocardial infarction: results of a pilot study performed in male and female patients from Sicily. Ann N Y Acad Sci 2006;1089:502–8.
36. *Sperr WR, Huber K, Roden M i sur.* Inherited platelet glycoprotein polymorphisms and a risk for coronary heart disease in young central europeans. Thrombosis Res 1998;90:117.
37. *Gonzalez-Conejaro R, Lozano ML, Rivera J i sur.* Polymorphisms of platelet membrane glycoprotein Ib associated with arterial thombotic disease. Blood 1998;92:2771–6.
38. *Mikkelsson J, Perola M, Penttilä A, Pekka JK.* Platelet glycoprotein Ibα HPA-2 Met/VNTR B haplotype as a genetic predictor of myocardial infarction and sudden cardiac death. Circulation 2001;104:876–80.
39. *Murata M, Matsubara Y, Kawano K i sur.* Coronary Artery Disease and Polymorphisms in a Receptor Mediating Shear Stress–Dependent Platelet Activation. Circulation 1997;96:3281–6.
40. *Rožman P.* Platelet antigens. The role of human platelet alloantigens (HPA) in blood transfusion and transplantation. Transplant Immunol 2002;10:165–81.
41. *Chang YW, Mytilineos J, Opelz G, Hawkins BR.* Distribution of human platelet antigens in a Chinese population. Tissue Antigens 1998;51: 391–3.
42. *Kim HO, Jin Y, Kickler TS, Blakemore K, Kwon OH, Bray PF.* Gene frequencies of the five major human platelet antigens in African American, white and Korean populations. Transfusion 1995;35:863–7.
43. *Mazzucato M, Pradella P, de Angelis V, Steffan A, de Marco L.* Frequency and functional relevance of genetic threonine 145/methionine 145 dimorphism in platelet glycoprotein Ib alpha in an Italian population. Transfusion 1996;36:891–4.
44. *Simsek S, Faber NM, Bleeker PM i sur.* Determination of human platelet antigen frequencies in the Dutch population by immunophenotyping and DNA (allele-specific restriction enzyme) analysis. Blood 1993;81: 835–40.
45. *Holensteiner A, Walchshofer S, Adler A, Kittl EM, Mayr WR, Panzer S.* Human platelet antigen gene frequencies in the Austrian population. Haemostasis 1995;25:133–6.
46. *Carlsson LE, Greinacher A, Spitzer C, Walther R, Kessler C.* Polymorphisms of the human platelet antigens HPA-1, HPA-2, HPA-3, and HPA-5 on the platelet receptors for fibrinogen (GPIIb/IIIa), von Willebrand factor (GPIb/IX), and collagen (GPIa/IIa) are not correlated with an increased risk for stroke. Stroke 1997;28:1392–5.
47. *Steffensen R, Kaczan E, Varming K, Jersild C.* Frequency of platelet-specific alloantigens in a Danish population. Tissue Antigens 1996; 48:93–6.
48. *Covas DT, Delgado M, Zeitune MM, Guerreiro JF, Santos SE, Zago MA.* Gene frequencies of the HPA-1 and HPA-2 platelet antigen alleles among the Amerindians.Vox Sang 1997;73:182–4.
49. *Ferrer G, Muiz-Diaz E, Aluja MP i sur.* Gene frequencies of the HPA-1, -2, -3 and -5 platelet antigen alleles in a Berber population. Transfusion Med 2002;12:49–54.
50. *Murata M, Furihata K, Ishida F, Russell SR, Ware J, Ruggeri ZM.* Genetic and structural characterization of an amino acid dimorphism in glycoprotein Ibα involved in platelet transfusion refractoriness. Blood 1992;79:3086–90.
51. *Sonoda A, Murata M, Ito D i sur.* Association between platelet glycoprotein 1b genotype and ischemic cerebrovascular disease. Stroke 2000;31:493–7.