

IS THE PLA1/A2 POLYMORPHISM OF THE HUMAN PLATELET MEMBRANE GLYCOPROTEIN IIIa GENE A RISK FACTOR FOR MYOCARDIAL INFARCTION?

MELUS V, PULLMANN R, HYBENOVA J, SKERENOVA M, PULLMANN Jr R

JE PLA1/A2 POLYMORFIZMUS GÉNU PRE TROMBOCYTÁRNY MEMBRÁNOVÝ GLYKOPROTEÍN IIIa RIZIKOVÝM FAKTOROM INFARKTU MYOKARDU?

Abstract

Melus V, Pullmann R, Hybenova J, Skerenova M, Pullmann Jr R:

Is the PLA1/A2 polymorphism of the human platelet membrane glycoprotein IIIa gene a risk factor for myocardial infarction? Bratisl Lek Listy 1999; 100 (11): 593–597

Background: The PLA1/A2 polymorphism of the human platelet membrane glycoprotein IIIa gene cause T→C transition in the exon ii (position 1565) resulting in the leucine→proline substitution in aminoacid sequence. This polymorphism was shown to be associated with increased risk of myocardial infarction (MI).

Aim: To test genetic parameters of the PLA1/A2 polymorphism in our population and to assess the relation between mutant PIA2 allele and MI.

Methods: DNA was isolated from peripheral blood, collected from 40 patients with MI and with present risk factors (hypertension, hypercholesterolaemia, diabetes, obesity, smoking ...), 33 patients with MI without risk factors, 34 controls with equivalent average age to both groups of the MI — patients, 58 control probands without MI in their family history and 33 healthy controls randomly recruited. After PCR amplification the resulting 267bp fragment was digested with the restriction endonuclease *NciI* and subfragments were separated electrophoretically in 12 % polyacrylamide gel.

Results: The frequency of the PIA2 allele was 0.121 in patients with MI without risk factors, 0.205 in patients with present risk factors, 0.162 in controls of the equivalent average age to the MI-patients, 0.172 in controls without MI in their family history and 0.20 in healthy controls randomly recruited. Genotype frequencies were in all groups in genetic equilibrium. Although the groups differed significantly ($p < 0.01$) in serum concentrations of total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, apolipoprotein A-1, apolipoprotein B and malondialdehyde, no significant differences in

Abstrakt

Meluš V., Pullmann R., Hybenová J., Škereňová M., Pullmann Jr. R.:

Je PLA1/A2 polymorfizmus génu pre trombocytárny membránový glykoproteín IIIa rizikovým faktorom infarktu myokardu? Bratisl. lek. Listy, 100, 1999, č. 11, s. 593–597

Pozadie problému: PLA1/A2 polymorfizmus génu pre trombocytárny membránový glykoproteín IIIa je tranzíciou T→C v exóne ii (pozícia 1565), ktorá zapríčiňuje substitúciu leucín→prolín v aminokyselínovej sekvencii. Zistilo sa, že tento polymorfizmus je spojený so zvýšeným rizikom infarktu myokardu (IM).

Ciel: Otestovať genetické parametre PLA1/A2 polymorfizmu v našej populácii a určiť vzťah medzi mutantnou alelou PIA2 a IM.

Metódy: DNA sme izolovali z periférnej krvi od 40 pacientov s IM a s prítomným rizikovým faktorom (hypertenzia, hypercholesterolemia, diabetes, obezita, fajčenie ...), 33 pacientov s IM bez rizikových faktorov, 34 kontrol s priemerným vekom ekvivalentným obojmu súborom pacientov s IM, 58 kontrolných jedincov bez IM v rodinnej anamnéze a 33 náhodne vybraných zdravých jedincov. Po PCR amplifikácii sme výsledný 267bp fragment štípli reštrikčnou endonukleázou *NciI* a subfragmenty sme elektroforeticky separovali v 12 % polyakrylamidovom géli.

Výsledky: Frekvencia alely PIA2 bola 0.121 u pacientov s IM bez rizikových faktorov, 0.205 u pacientov s IM s prítomnými rizikovými faktormi, 0.162 u kontrol s priemerným vekom ekvivalentným pacientom s IM, 0.172 u kontrol bez IM v rodinnej anamnéze a 0.20 u náhodne vybraných zdravých jedincov. Genotypové frekvencie boli vo všetkých súboroch v genetickej rovnováhe. Hoci sa súbory významne ($p < 0,01$) líšili v koncentráciách celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu, apolipoproteínu A-1, apolipoproteínu B a malondialdehydu v krvnej plazme, nezistili sme žiadne významné rozdiely v sérových koncentráciách týchto metabolitov medzi A1/A1, A1/A2 a A2/A2 genotypmi.

Department of Clinical Biochemistry, Martinus University Hospital, Martin. melus@jfmf.uniba.sk

Address for correspondence: V. Melus, Mgr, Dpt of Clinical Biochemistry, MFN, Kollarova 2, SK-036 59 Martin, Slovakia.
Phone: +421.842.203 713, Fax: +421.842.394 27

Oddelenie klinickej biochémie Martinskej fakultnej nemocnice v Martine
Adresa: Mgr. V. Meluš, Oddelenie klinickej biochémie MFN, Kollárova 2, 036 59 Martin.

the serum concentrations of these metabolites between A1/A1, A1/A2 and A2/A2 genotypes were observed.

Conclusions: PLA1/A2 polymorphism is associated with MI, however not as a dominant risk factor, but as a part of environmentally influencable multigene system. There is no relation between genotypes of the PLA1/A2 polymorphism and the lipoproteins plasma concentrations. (Tab. 4, Ref. 17.)

Keywords: GPIIIa, genotype, allele, myocardial infarction, lipoproteins.

Trombocyty obsahujú vo svojej cytoplazmatickej membráne viacero lipoproteínov a glykoproteínov integrínovej povahy, ktoré slúžia ako receptory pre faktory zahrnuté do dejov koagulácie. Aktivácia trombocytov je mnohostupňový proces, keď po kontakte trombocytu s léziou tkanív endotelu a subendotelu cievy nasleduje adhézia, propagácia, exkrécia a agregácia. Výsledný trombus je stabilizovaný vytvorením fibrínovej siete (Spaethe, 1984).

V cytoplazmatickej membráne trombocytov je ukotvený aj glykoproteín IIb/IIIa slúžiaci ako receptor pre fibrinogén — monomérny prekursor fibrínu. Na povrchu trombocytov sa nachádza asi 50 000 týchto molekúl. Tento dimér sa skladá z dvoch monomérov, ktoré pre vytvorenie správnej konformácie vyžadujú dvoj-mocné ióny (Nurden, 1995):

— glykoproteín IIb (Mh 145 000) obsahuje ťažký reťazec (Mh 115 000), ktorý je disulfidovými väzbami spojený s dodekapeptidom (Mh 22 000). Extracelulárna doména obsahuje štyri repetičné segmenty, z ktorých každý obsahuje 12 aminokyselinových sekvencií s Ca^{2+} -väzbovými doménami;

— glykoproteín IIIa (GPIIIa) má Mh 99 000 a patrí medzi integríny cytoadhezívneho typu. Na C-konci má krátku cytoplazmatickú doménu, nasleduje transmembránová doména a extracelulárny úsek obsahujúci päť sekvencií bohatých na cysteín.

Oba reťazce obsahujú oligosacharidy s prevahou manózy. Pri aktivácii trombocytov podlieha tento komplex konformačným zmenám umožňujúcim väzbu fibrinogénu a príbuzných adhezívnych proteínov (Francis, 1988). Fibrinogén sa viaže špecifickými Arg—Gly—Asp sekvenciami prítomnými v A α -reťazci (pozícia 92—95 a 572—574) a hlavne 12-aminokyselinovou sekvenciou lokalizovanou na C-konci v gamadoméne (gama 402—411).

Gény kódujúce heterodimér sa nachádzajú na chromozóme č. 17, pozícia q21—q23 a majú dĺžku asi 260 kb. Syntéza týchto proteínov je známa len v megakaryocytoch — prekursoroch trombocytov. Po translácii sa produkty posttranslačne upravujú v Golgiho aparáte a následne dochádza k transportu a integrovaniu do cytoplazmatickej membrány. Bližšia analýza génu pre glykoproteín IIIa ukázala, že sa skladá zo 14 exónov s veľkosťou 90—3619 bp. Kódujúca oblasť zaberá asi 40 kb. Podobne ako pri fibrinogénových génoch ani tu nie je bližšie známa regulácia na úrovni DNA (Zimrin a spol., 1990).

Vzhľadom na integrínovú povahu glykoproteínu sa pri doterajších štúdiách jeho polymorfizmu (má ich viac ako glykoproteín IIb — ten ich má 3) používali imunologické metódy s využitím (monoklonálnych) protilátok (Weiss a spol., 1995; Unkelbach a spol., 1995) Väčšinou bol výskum zameraný na typizáciu porúch spôsobujúcich poruchy zrážania krvi. Podľa toho sa dajú polymorfizmy rozdeliť do dvoch skupín:

— polymorfizmy zapríčínujúce Glanzmanovu trombasténiu

Záver: PLA1/A2 polymorfizmus je spätý s IM, nie však ako dominantný rizikový faktor, ale ako súčasť environmentálne ovplyvniteľného multigénneho systému. Nezistili sme vzťah medzi genotypmi PLA1/A2 polymorfizmu a koncentraciami lipoproteínov v sére. (Tab. 4, lit. 17.)

Kľúčové slová: GPIIIa, genotyp, alela, infarkt myokardu, lipoproteíny.

— autozomálnorecesívne ochorenie charakterizované poruchou až chýbaním agregácie trombocytov pri pôsobení ich fyziologických agonistov. Patria sem zámény (číslo udáva aminokyselinové poradie v reťazci a v zátvorke je uvedená zámena pôvodnej aminokyseliny → mutantnú, pričom za pôvodnú sa považuje najrozšírenejšia, fyziologicky funkčná aminokyselina): 119 (Asp→Tyr), 214 (Arg→Gln/Trp) a 752 (Ser→Pro);

— ostatné: 33 (Leu→Pro), 143 (Arg→Gln), 407 (Pro→Ala), 489 (Arg→Glu), 636 (Arg→Cys).

Z týchto bol na úrovni DNA bližšie charakterizovaný RFLP analýzou 33 (Leu→Pro, Platelet alloantigen A, PIA) a zistilo sa, že je spôsobený tranzíciou tymínu na cytozín v 13. nukleotide exónu ii (pozícia 1565 v sekvencii cDNA). Tento záujem oň vyvolalo zistenie jeho prítomnosti v prípadoch akútneho infarktu myokardu.

Roku 1996 vyšla zaujímavá práca v USA skúmajúca vzťah mutantnej alely PIA2 trombocytárneho membránového glykoproteínu IIIa ku frekvencii infarktu myokardu v mladšom veku pri neprítomnosti iných rizikových faktorov (Weiss a spol., 1996). Bolo vyšetrených 71 pacientov s infarktom myokardu alebo instabilnou angina pectoris a kontrolná skupina 68 respondentov bez kardiovaskulárnych ochorení. Frekvencia alely PIA2 bola v skupine pacientov 2,1-krát vyššia ako v kontrolnej skupine (0,394 versus 0,191, $p=0,01$), čo znamenalo pozitívnu koreláciu tejto alely s výskytom kardiovaskulárnych ochorení. Rovnaký výsledok dosiahli i v španielskej štúdií (Garcia-Ribes a spol., 1998). Z hľadiska fyziologickej funkcie glykoproteínu IIb/IIIa to nebolo prekvapením, hoci dovtedy sa pozornosť výlučne zameriavala na súvislosť medzi alelami génov týchto proteínov a poruchami koagulácie a polymorfizmy sa nedetegovali na DNA, ale pomocou protilátok.

Najzaujímavejšou sa zdá nemecká štúdia, v ktorej sledovali 14 916 pôvodne zdravých mužov počas 8,6 roka. Za ten čas sa medzi nimi vyskytlo 374 prípadov IM (frekvencia alely PIA2 0.135 $p=0,4$), 209 prípadov mŕtvice (frekvencia PIA2 0.134, $p=0,5$) a 121 prípadov venóznej trombózy (frekvencia PIA2 0.145, $p=0,9$). Frekvencia PIA2 v kontrolnej skupine bola 0,148. Údaje teda poukazujú na vyššiu frekvenciu PIA2 v kontrolnej skupine (Ridker a spol., 1997).

Ďalšia štúdia roku 1997 nedokázala rizikovosť alely PIA2 pre vznik IM (Samani a Lodwick, 1997). Bolo vyšetrených 242 pacientov po prekonaní IM a 209 zdravých jedincov (s frekvenciou alely PIA2 0.182 u pacientov a 0.194 u kontroly). Nedokázala ani vyššiu frekvenciu tejto alely u pacientov po IM v mladšom veku a ani jej interakciu s ostatnými rizikovými faktormi.

Cieľ

Akýkoľvek pokrok vo výskume geneticky podmienených rizikových faktorov kardiovaskulárnych ochorení nie je len príno-

som vedeckým (Pullmann, 1997), ale pri vysokej incidencii týchto ochorení v našej populácii i prakticky cenným poznatkom, umožňujúcim spresnenie prognózy u postihnutých jedincov. Okrem toho nemožno automaticky aproximovať výsledky svetových štúdií na naše podmienky bez znalosti základných genetických parametrov toho-ktorého polymorfizmu v našej populácii.

Preto sa ciele našej štúdie delia do niekoľkých rovin:

- zistenie alelových a genotypových frekvencií PIA1/A2 polymorfizmu v našej populácii,
- testovanie prítomnosti genetickej rovnováhy,
- overenie asociácie PIA1/A2 polymorfizmu so zvýšeným rizikom infarktu myokardu,
- testovanie vzťahu PIA1/A2 polymorfizmu k faktorom aterosklerózy.

Materiál a metódy

DNA sme izolovali z periférnej krvi lýzou buniek v hypotonickom roztoku a následnou fenolchloroformovou extrakciou (Madisen a spol., 1987). Požadovaný fragment exónu II sme získali polymérazovou refazovou reakciou (PCR) (Innis a Gelfand, 1990). 50 µl reakčnej zmesi obsahovalo 8 nmol primérov (5'-TCTCTCCCATGGCAAAGAGT-3' pre pozitívny DNA-refazec a 5'-TTCTGATGTGCTGGACTTCTCTT-3' pre negatívny DNA-refazec), 50 µmol/l deoxyribonukleotidtrifosfátov, 1,5 mmol/l MgCl₂ a 1 jednotku *Taq* polymerázy (Advanced Biotechnologies). Reakčnú zmes sme prevrstvili kvapkou parafínového oleja. Počiatočná denaturácia prebiehala 8 min pri teplote 95 °C, reaturácia 2 min pri teplote 59,5 °C, polymerizácia 2 min pri 72 °C. Nasledovalo 35 cyklov s teplotou denaturácie 95 °C počas 50 s, reaturácie 59,5 °C počas 2 min a polymerizácie 72 °C počas 2 min. Posledný cyklus mal čas polymerizácie predĺžený na 10 min (termocykler Techne FPHC 3MD). 16 µl roztoku s naamplifikovaným fragmentom sme podrobili štiepeniu reštrikčnou endonukleázou *NciI* (5 jednotiek/16 µl, Advanced Biotechnologies), počas 2 h pri 37 °C. Štiepením refazca DNA s veľkosťou 267 bp reštrikčnou endonukleázou *NciI* vzniknú v prípade mutantnej alely PIA2 fragmenty s dĺžkou 51 bp a 216 bp. Získané fragmenty sme elektroforeticky separovali v 12 % polyakrylamidovom géli a vizualizovali v UV svetle po farbení roztokom etídiumbromidu (1 µg/µl).

Štatistickú analýzu dát sme vykonali pomocou softwaru Statgraphics 4.0. Normalitu distribúcie hodnôt sme testovali chí-kvadrátovým testom spolu s výpočtom koeficientov šikmosti a špicatosti (Snedecor a Cochrane, 1967). Homogenitu rozptylov hodnôt sérových analytov lipidového metabolizmu medzi porovnávanými súbormi sme testovali Bartlettovým testom homogenity rozptylu (Benedík, 1989). Pri nesplnení podmienok parametrických testov sme použili ich neparametrické alternatívy (Kruskalovu—Wallisovu analýzu namiesto analýzy rozptylu ANOVA) (Havránek, 1993). Asociáciu medzi znakmi delenými do kategórií sme testovali kontingenčnými tabuľkami založenými na Pearsonovom chí-kvadrátovom teste (Chajdiak a spol., 1997).

Vyšetrené súbory

Celkovo sme vyšetřili 199 osôb na prítomnosť PIA1/A2 polymorfizmu. Vyšetřovaných sme rozdelili do piatich súborov.

33 pacientov po prekonaní infarktu myokardu bez prítomnosti známych genetických i environmentálnych rizikových faktorov

vzniku kardiovaskulárnych ochorení (priemerný vek $x \pm SD$ 53,48 \pm 15,50 roka).

40 pacientov po prekonaní infarktu myokardu, u ktorých sa zistil výskyt rizikových faktorov, ako fajčenie, obezita, diabetes mellitus, hypertenzia, prítomnosť deľečnej aleby polymorfizmu génu pre angiotenzín konvertujúci enzým, prítomnosť *XbaI* polymorfizmu ApoB génu, vysoké hladiny LDL-cholesterolu a apolipoproteínu B, znížené hladiny malónialdehydu (priemerný vek 49,97 \pm 13,29 roka).

34 kontrolných jedincov, zdravých v čase vyšetřenia, vekovo ekvivalentných obom súborom pacientov s IM (priemerný vek 48,06 \pm 9,65 roka).

58 vyšetřených z kontrolného súboru tvoreného výhradne zdravými osobami s vegetariánskymi stravovacími návykmi, u ktorých sa v rodinnej anamnéze nezistil výskyt kardiovaskulárnych ochorení (priemerný vek 35,43 \pm 6,37 roka).

35 náhodne vybraných mladých osôb tvoriacich kontrolnú skupinu, v čase vyšetřenia zdravých (všetci boli darcovia krvi), ale bez znalosti výskytu kardiovaskulárnych ochorení v rodinnej anamnéze (priemerný vek 29,69 \pm 9,05 roka).

Výsledky a diskusia

Zistené genotypové frekvencie PIA1/A2 polymorfizmu trombocytárneho membránového glykoproteínu IIIa sú uvedené v tabuľke 1 spolu s výsledkami testovania prítomnosti genetickej rovnováhy v jednotlivých súboroch. Z výsledkov vyplýva, že vo všet-

Tab. 1. Genotype frequencies of the PIA1/A2 polymorphism and testing of genetic equilibrium.

Tab. 1. Genotypové frekvencie PIA1/A2 polymorfizmu a testovanie genetickej rovnováhy.

Genotypes Genotypy	Genotype frequencies Genotypové frekvencie				
	N	R	E	V	K
A1/A1	0.760	0.641	0.676	0.672	0.657
A1/A2	0.240	0.308	0.324	0.311	0.286
A2/A2	—	0.051	—	0.017	0.057
Chi-square test chí-kvadrátový test					
n	33	39	34	58	35
X	0.000	0.142	0.142	0.419	0.402
Df	1	2	1	2	2
p	1.000	0.931	0.707	0.811	0.818

Legend: N — patients with myocardial infarction (MI) without known major risk factors, R — patients with MI and present risk factors, E — control group with the equivalent average age to the both groups of patients with MI, V — control group without MI in the family history, K — control group without knowledge about the occurrence of MI in family history, n — sample size, X — test statistic, Df — degrees of freedom, p — significance level.

Vysvetlivky: N — pacienti s infarktomyokardu (IM) bez známych hlavných rizikových faktorov, R — pacienti s IM a s prítomnými rizikovými faktormi, E — kontrolná skupina vekovo ekvivalentná s pacientmi s IM, V — kontrolná skupina bez prítomnosti IM v rodinnej anamnéze, K — kontrolná skupina bez znalosti výskytu IM v rodinnej anamnéze, n — počet členov súboru, X — testová štatistika, Df — stupne voľnosti, p — hladina významnosti.

Tab. 4. Testing of the relation between serum lipoproteins concentrations and genotypes of the PIA1/A2 polymorphism.**Tab. 4. Testovanie vzťahu medzi koncentraciami lipoproteínov v sére a genotypmi PIA1/A2 polymorfizmu.**

Group	Kruskal-Wallis test						
Súbor	Kruskalov-Wallisov test	Tch	HDLch	LDLch	ApoA1	ApoB	MDA
A1/A1	Sample size/Počet	154	135	50	124	141	97
	Average rank	109.2	103.0	35.9	89.8	100.0	67.6
	Priemerné poradie						
A1/A2	Sample size/Počet	54	56	16	43	54	39
	Average rank	101.3	90.5	39.5	78.8	108.0	77.6
	Priemerné poradie						
A2/A2	Sample size/Počet	6	8	5	7	8	4
	Average rank	120.0	116.0	26.2	100.9	96.1	72.8
	Priemerné poradie						
Test statistic		0.91	2.52	1.60	2.04	0.80	1.72
Testová štatistika							
Significance level p		0.64	0.28	0.45	0.36	0.67	0.42
Hladina významnosti p							

Legend: Tch — total cholesterol, HDLch — HDL cholesterol, LDLch — LDL cholesterol, ApoA1 — apolipoprotein A1, ApoB — apolipoprotein B, MDA — malondialdehyde.

Vysvetlivky: Tch — celkový cholesterol, HDLch — HDL-cholesterol, LDLch — LDL-cholesterol, ApoA1 — apolipoproteín A1, ApoB — apolipoproteín B, MDA — malóndialdehyd.

Záver

PIA1/A2 polymorfizmus trombocytárneho membránového glykoproteínu IIIa súvisí s kardiovaskulárnymi ochoreniami, naše výsledky naznačujú skôr sprostredkovaný charakter tejto asociácie. Frekvencia výskytu alely PIA2 u pacientov s IM, u ktorých sú prítomné hlavné rizikové faktory kardiovaskulárných ochorení (0.205), je vysoká, a preto vo vybraných klinických prípadoch a indikáciách s ňou treba rátať. Genotypy PIA1/A2 polymorfizmu nekorelujú s koncentraciami lipoproteínov v sére, čo svedčí o nezávislosti vyšetreného polymorfizmu od týchto ateromatóznych faktorov.

Literatúra

Benedík J.: Biostatistika. Brno, UJEP 1989.

Francis J.L. (Ed.): Fibrinogen, fibrin stabilisation and fibrinolysis. clinical, biochemical and laboratory aspects. Chichester, Ellis Horwood Ltd. 1988.

Garcia-Ribes M., Gonzales-Lamuno D., Hernandez-Estefania R., Colman T., Poci M., Delgado-Rodriguez M., Garcia-Fuentes M., Revuelta J.M.: Polymorphism of the platelet glycoprotein IIIa gene in patients with coronary stenosis. *Thromb. Haemost.*, 79, 1998, č. 6, s. 1126—1129.

Havráněk T.: Statistika pro biologické a lékařské vědy. Praha, Academia 1993.

Chajdiak J., Rublíková E., Gudába M.: Štatistické metódy v praxi. Bratislava, STATIS 1997.

Innis M.A., Gelfand D.H.: Optimization of PCRs. S. 3—12. In: PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, Inc. 1990.

Madisen L., Hoar D., Holroyd C.D., Crisp M., Hodes M.E.: DNA banking: the effects of storage of blood and isolated DNA on the integrity of DNA. *Amer. J. Med. Genet.*, 27, 1987, s. 379—390.

Nurden A.: Polymorphisms of human platelet membrane glycoproteins: structure and clinical significance. *Thromb. Haemost.*, 74, 1995, č. 1, s. 345—351.

Pullmann R.: Financial equivalent, industry sponsored research and conflict of interest. *Bratisl. lek. Listy*, 98, 1997, č. 1, s. 5—7.

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*, 349, 1997, s. 385—388.

Samani N.J., Lodwick D.: Glycoprotein IIIa polymorphism and risk of myocardial infarction. *Cardiovascular Res.*, 33, 1997, č. 3, s. 693—697.

Snedecor G., Cochran W.G.: Statistical methods. Iowa, The Iowa State University Press Ames 1967.

Spaethe R.: Haemostasis: physiology, patophysiology, diagnostics. München, AHS/Deutschland GmbH 1984.

Unkelbach K., Kalb R., Santoso S., Kroll H., Mueller E., Kiefel V.: Genomic RFLP typing of human platelet alloantigens Zw(PI^{A1}), Ko, Bak and Br (HPA – 1, 2, 3, 5). *Brit. J. Haematol.*, 89, 1995, s. 169—176.

Zimrin A.B., Gidwitz S., Lord S., Schwartz E., Bennett J.S., White G.C., Poncz M.: The genomic organization of platelet glycoprotein IIIa. *J. Biol. Chem.*, 265, 1990, s. 8590—8595.

Weiss E.J., Goldschmidt-Clarmont D., Grigoryev D., Jin Y., Kickler T.S., Bray P.F.: A monoklonal antibody (SZ21) specific for platelet GPIIIa distinguishes PIA1 from PIA2. *Tissue Antigens*, 46, 1995, s. 374—381.

Weiss E.J., Bray P.F., Tayback M., Schulman S.P., Kickler T.S., Becker L.C., Weiss J.L., Gerstenblith G., Goldschmidt-Clarmont P.J.: A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *New Engl. J. Med.*, 25, 1996, s. 1090—1094.

Received April 8 1999.

Accepted September 10, 1999.