

УДК 576.8.095.52:615.273

Т.Н. БОНДАРЬ, Н.А. КРАВЧЕНКО  
ГУ «Институт терапии им. Л.Т. Малой НАМН Украины», Харьков  
E-mail: andbondar@yandex.ru

### ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ-1 И АСПИРИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ



*Приведены данные литературы о структуре циклооксигеназы-1 человека — ключевого фермента биосинтеза простагландинов и основной мишени антитромбоцитарной терапии с использованием ацетилсалициловой кислоты. Представлены сведения о полиморфизме гена циклооксигеназы-1, распространенности выявленных вариантов в различных популяциях и их возможной связи с биохимической и функциональной аспиринорезистентностью.*

© Т.Н. БОНДАРЬ, Н.А. КРАВЧЕНКО, 2012

### Введение

Простагландин эндопероксид-Н-синтазы, или циклооксигеназы (ЕС 1.14.99.1) (в дальнейшем ЦОГ), катализируют общий этап биосинтеза простагландинов (ПГ) и тромбосана (Тх) — превращение арахидоновой кислоты (АА) в простагландин эндопероксид  $H_2$  (ПГН<sub>2</sub>) [1]. ЦОГ экспрессируются в тканях человека в виде трех изоферментов: ЦОГ-1 и ЦОГ-3, которые представляют собой сплайсинговые варианты пре-мРНК гена *PTGS1*, и ЦОГ-2, которая кодируется другим геном — *PTGS2* и обеспечивает синтез ПГ при воспалительных состояниях [2, 3]. ЦОГ-1 — конститутивно экспрессируемый фермент, представленный в большинстве тканей и обеспечивающий образование ПГ для регуляции различных жизненно важных функций, которые связаны с межклеточной сигнализацией, свертыванием крови, регуляцией почечной функции, тканевым гомеостазом и желудочно-кишечной интегральностью [3]. ЦОГ-2 является индуцибельной изоформой, которая обычно в тканях не выявляется, однако быстро (в течение 2–6 ч) индуцируется в фибробластах, эндотелиальных клетках, моноцитах, фолликулах яичников в ответ на воздействие факторов роста, гормонов, бактериальных эндотоксинов и цитокинов [4].

Биологический смысл существования нескольких изоферментов ЦОГ, зачастую одновременно присутствующих в клетке, еще не до конца понятен, однако с фармакологической точки зрения крайне важно то, что являясь мишенями ацетилсалициловой кислоты (АСК) и других нестероидных противовоспалительных препаратов, изоферменты ЦОГ демонстрируют различную чувствительность к этим средствам. Основной мишенью нестероидных противовоспалительных препаратов является ЦОГ-2, ингибирование которой приводит к подавлению воспаления, лихорадки, боли и др. [4, 5]. АСК реализует свой эффект путем ингибирования ЦОГ-1-опосредованного образования ТхА<sub>2</sub>, клиническим следствием которого является снижение относительного риска смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [5, 6].

Уникальность тромбоцитарной ЦОГ как мишени АСК и модели для изучения функции ЦОГ определяется тем, что:

- в тромбоцитах существует единственный

метаболический путь превращения АА — образование циклооксигеназой в ПГН<sub>2</sub>, а затем под действием тромбоксан-синтазы — в ТхА<sub>2</sub>, мощный индуктор агрегации тромбоцитов;

- экспрессия индуцибельной формы ЦОГ-2, которая могла бы стать альтернативным источником ПГН<sub>2</sub>, в тромбоцитах отсутствует;
- из-за отсутствия транскрипционного механизма в безядерных тромбоцитах необратимое ингибирование ЦОГ-1 препятствует индукции агрегации тромбоцитов через путь АА на протяжении всего периода жизни тромбоцита (до 10 сут).

Однако индивидуальный ответ на АСК может широко варьировать. Развитие рецидивирующих тромбоэмболических сосудистых событий у части пациентов, принимавших АСК, дало начало представлению о феномене аспиринорезистентности (АР) [7]. Один из возможных механизмов АР связывают с полиморфизмом *PTGS1*, предположительно приводящим к изменениям структуры фермента или регуляции его синтеза, следствием чего может быть неполная супрессия АСК тромбоцитарной ЦОГ-1.

#### Структура ЦОГ-1 и механизмы ингибирования ее активности

Все ЦОГ являются гомодимерами, гем-содержащими гликозилированными протеинами с двумя каталитическими центрами [4]. Зрелый фермент состоит из 576 аминокислот и образуется после отщепления сигнального пептида, состоящего из 24 аминокислот [2, 4]. Каждый мономер гомодимера ЦОГ-1 содержит три домена, включая глобулярный каталитический, кальций-связывающий домен, подобный по структуре эпидермальному фактору роста, и мембраносвязывающий домен, который взаимодействует лишь с одной поверхностью мембранного бислоя и состоит из четырех амфипатических α-спиралей, необходимых для каталитической активности фермента [4].

Циклооксигеназная активность фермента обеспечивает первый этап образования ПГН<sub>2</sub> — оксигенацию АА с образованием ПГГ<sub>2</sub>. В дальнейшем за счет пероксидазной активности ЦОГ происходит восстановление

15-гидропероксильной группы ПГГ<sub>2</sub> и образование ПГН<sub>2</sub>. Циклооксигеназный активный центр представлен гидрофобным каналом, который соединяет мембраносвязывающий домен с ядром глобулярного домена ЦОГ. При исследовании кристаллической структуры Со<sup>3+</sup>-гем-содержащей ЦОГ-1, связанной с субстратом, в активном центре выявили 19 аминокислотных остатков, которые образуют в общей сложности 50 контактов с АА [8]. Два из них являются результатом гидрофильного взаимодействия и 48 — гидрофобного. Анализ результатов направленного мутагенеза *PTGS1* с последующим исследованием пероксидазной и циклооксигеназной активности мутантных форм белка [2] позволил разделить аминокислотные остатки, входящие в активный центр ЦОГ-1, на пять функциональных категорий: 1) непосредственно участвующие в отщеплении водорода от С-13 арахидоната (Тур-385); 2) обеспечивающие пространственную ориентацию С-13 арахидоната, необходимую для отщепления водорода (Gly-533 и Тур-348); 3) критичные для высокого сродства связывания арахидоната (Arg-120); 4) создающие конформацию арахидоната, которая обеспечивает образование ПГГ<sub>2</sub>, а не моногидропероксильных продуктов (Val-349, Тур-387 и Leu-534); 5) все другие аминокислотные остатки активной зоны, необходимые для оптимальной каталитической активности [2].

Необратимое ингибирование ЦОГ-1 АСК обусловлено ацелированием серинового остатка в положении 530, расположенного в С-концевом участке молекулы белка [4]. Связывание АСК с серином-530 фермента вызывает конформационные изменения активного центра ЦОГ-1, препятствующие взаимодействию с АА, и полностью блокирует циклооксигеназную реакцию [4, 5].

Все остальные известные неселективные нестероидные противовоспалительные препараты ингибируют как ЦОГ-1, так и ЦОГ-2, конкурируя с АА за связывание с циклооксигеназным активным центром. В отличие от аспирина нестероидные противовоспалительные препараты (ибупрофен, индометацин, флурбипрофен и меклофенамат) являются ингибиторами с обратимым действием [4, 5].

### Полиморфизм *PTGS1* и метаболическая активность фермента

Ген *PTGS1* расположен на хромосоме 9q32, включает 11 экзонов, 10 интронов и состоит из 24 753 пар нуклеотидов [9, 10]. Главный стартовый транскрипционный участок расположен за 136-м основанием до иницирующего кодона ATG [11]. В промоторной области идентифицировано несколько сайтов связывания фактора транскрипции, включая два Sp1-связывающих, которые предположительно важны для базальной транскрипции гена [12].

В базах данных National Center for Biotechnology Information (NCBI) ([www.ncbi.nlm.nih.gov/Gene](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Gene)) представлено несколько сплайсинговых вариантов мРНК *PTGS1*: транскрипционный вариант 1 (NCBI NM 000962.2; NP 000953.2), состоящий из 5093 пар оснований, и транскрипционный вариант 2 (NCBI NM 080591.1 NP 542158.1), состоящий из 4982 пар оснований, экспрессия которых дифференциально регулируется соответствующими цитокинами и факторами роста [13, 14]. Более длинный транскрипционный вариант 1 содержит дополнительный фрагмент внутри кодирующей области, но при этом оба варианта идентичны на N- и C-концах.

Количество идентифицированных и зарегистрированных в базах данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/term=ptgs1human>) однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) *PTGS1* постоянно увеличивается и приближается к 400, однако лишь 27 из них находятся в кодирующей области гена, а 18 — приводят к несинонимическим заменам в структуре ЦОГ-1 (таблица) [15, 16]. В 5'-нетранслируемой области (UTR) находятся 22 варианта, в 3'-UTR — 38, в экзонах — 27 (9 синонимических замен), а остальные — в интронах. Тем не менее до настоящего времени не обнаружено ни одного относительно распространенного полиморфизма, вызывающего несинонимические замены в зрелой белковой молекуле и признанного критичным для ферментативной активности ЦОГ-1 или связывания АСК.

Частоты многих мутантных аллелей значительно отличаются в зависимости от эт-

нической принадлежности (таблица) [16–18]. Самым распространенным синонимическим SNP среди европеоидов является замена С на А в позиции 639 (rs5788; Gly213Gly) в экзоне 6 (гетерозиготность составляет 0,248) [17]. Согласно результатам генотипирования случайно отобранной популяции европеоидов (Австралия) ( $n = 176$ ) [16] частоты всех аллельных вариантов, вызывающих несинонимические аминокислотные замены, отличаются низкой степенью распространенности за исключением 22Т (С22Т, экзон 2, rs1236913, замена R8W в сигнальном пептиде) и 50Т (С50Т, экзон 2, rs3842787, замена P17L), частота которых составляла около 9 %.

Для популяции Ирландии ( $n = 144$ ) гетерозиготность по rs1236913 (R8W), rs3842787 (P17L) и rs5789 (L237M) у обследованных пациентов составила 0,111, 0,117 и 0,214 соответственно [19]. У американцев-европеоидов ( $n = 38$ ) гетерозиготность по R8W и P17L также составила более 10 % [17].

Таким образом, С22Т и С50Т из всех изученных SNP являются не только относительно часто встречающимися, но и приводят к аминокислотным заменам, которые предположительно могут повлиять на активность ЦОГ-1 [16, 17, 19]. Замена С на Т в положении 22 приводит к замещению положительно заряженного аргинина на ароматический остаток триптофана (R8W), в то время как замена С на Т в положении 50 — к замещению нейтрального пролина на гидрофобный остаток лейцина (P17L). Варианты С22Т и С50Т также могут быть функционально значимыми для уровня транскрипции гена, так как потенциально способны изменять связывание предполагаемых факторов сплайсинга — SR-белков [20].

Выявлено неравновесное сцепление (НС) в пределах 5'-UTR, специфично включающее семь SNP (Т-1749С, G-1598А, А-1202G, А-1201G, G-1006А, А-918G, и А-707G), которые образуют один гаплотип как в популяции европеоидов ( $(D' = 1,0; r_2 = 0,73-1,0)$ ), так и африканцев ( $(D' = 1,0; r_2 = 1,0)$ ) [15]. У европеоидов семь перечисленных однонуклеотидных замен из 5'-UTR также находятся в НС с заменой С на Т в позиции 50 (P17L) в экзоне 2 ( $(D' = 1,0; r_2 = 0,73-1,0)$ ). Возможно,

что замена Т на С в положении –1749, изменяя последовательность оснований TGTTGT на TGCTGT, может снизить способность предполагаемого AML/RUNX1-связывающего сайта, а два SNP, находящиеся в HC (замена А на G в положении –1202 и А на G в положении –1201), изменяя последовательность CCAAT на CCGGT, способны нарушить структуру предполагаемого NF- $\Upsilon$ -связывающего участка [15]. Замена G на А в положении –951 может изменить предполагаемый NF-AT-связывающий участок, а замена G на А в положении –1006 потенциально способна создать предполагаемый участок связывания с белком теплового шока [15].

Lee et al. [15] исследовали влияние семи несинонимических точечных мутаций, приводящих к заменам аминокислот в белке ЦОГ-1,

на ферментативную активность и чувствительность к ингибиторам. ЦОГ-1 дикого типа и рекомбинантные варианты белка с аминокислотными заменами R8W, P17L, R53H, R78W, K185T, G230S, L237M и V481I были получены с использованием сайт-направленного мутагенеза и системы экспрессии клеток Sf9. Метаболическую активность ЦОГ-1 оценивали *in vitro* по потреблению кислорода при базальных условиях и в присутствии индометацина. Активность ряда мутантных форм ЦОГ-1 была значительно ниже по сравнению с диким типом ( $100 \pm 7 \%$ ): 53H ( $35 \pm 5 \%$ ), 78W ( $36 \pm 4 \%$ ), 185T ( $59 \pm 6 \%$ ), 230S ( $57 \pm 4 \%$ ) и 237M ( $51 \pm 3 \%$ ), в то время как активность вариантов 8W ( $104 \pm 10 \%$ ), 17L ( $113 \pm 7 \%$ ) и 481I ( $121 \pm 10 \%$ ) достоверно не отличалась от дикого типа.

Характеристика вариантов *PTGS1* и частота встречаемости минорных аллелей среди европеоидов ( $n = 24$ ), африканцев ( $n = 24$ ), азиатов ( $n = 24$ ) [15]

Нуклеотидная замена	rs	Нуклеотид	Экзон	Аминокислотная замена	Частота встречаемости минорного аллеля		
					европеоиды	африканцы	азиаты
C > T	1 236 913	250	2	Arg8Trp	0,04	0,0	0,06
T > C	3 842 787	278	2	Ley17Pro	0,06	0,06	0
G > A	3 842 788	6975	3	Gln41Gln	0,02	0,23	0,02
G > A	3 842 789	7012	3	His53Arg	0,0 *	0,0 **	0,05 ***
C > T	3 842 790	7056	3	Cys68Cys	0,0 *	0,0 **	0,024 ***
G > T	10 306 140	7918	5	Leu149Arg	0,024 *	—	0,024 ***
A > C	3 842 792	10476	6	Lys185Thr	0,0	0,04	0,0
C > A	5788	10561	6	Gly213Gly	0,04	0,46	0,04
G > A	3 842 795	10723	7	Ser230Gly	—	—	0,01 ***
C > A	5789	10742	7	Leu237Met	0,05 *	0,0 **	0,0 ***
T > C	5790	12747	8	Ala317Ala	0,0 *	0,0 **	0,0 ***
C > T	4 836 884	12765	8	Gly323Gly	0,0 *	0,0 **	0,0 ***
A > G	5791	15562	9	Arg359Lys	0,0 *	0,0 **	0,0 ***
C > T	10 985 630	15775	9	Val430Ala	0,0 *	0,0 **	0,0 ***
A > G	5792	19278	10	Val443Ile	0,0 *	0,0 **	0,0 ***
A > G	77 027 063	19297	10	Gly449Asp	—	0,014 **	—
A > G	5793	19350	10	Glu467Lys	0,0 *	0,0 **	0,0 ***
C > T	3 842 800	19379	10	Ser476Ser	—	0,014 **	—
G > A	5794	19389	10	Val481Ile	0,017 *	0,0 **	0,0 ***
G > A	3 842 802	21286	11	Ala499Ala	0,0 *	0,04 **	0,0 ***
T > C	3 842 803	21301	11	Pro504Pro	0,0 *	0,229 **	0,0 ***

Примечания. rs – референтный номер SNP в перечне NCBI: положение нуклеотида указано по отношению к сайту транскрипционного старта (Genbank, № доступа AF440204); «—» – исследования rs в этой популяции не проводилось. Частоты встречаемости минорного аллеля получены в рамках проектов (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/term=pts1human>). \* HarMap-CEU для европейской популяции ( $n = 120$ ); \*\* PGA-AFRICAN-PANEL для афро-американской популяции ( $n = 40$ ); \*\*\* HarMap-HCB для азиатской популяции ( $n = 90$ )

Исследования ингибирования ЦОГ-1 индометацином показали, что для вариантов 50T (17L) и 688A (230S) значения  $IC_{50}$  были существенно ниже по сравнению с диким типом, что свидетельствует о повышенной чувствительности к индометацину. С данными о метаболической активности мутантных форм ЦОГ-1 согласуются результаты моделирования третичной структуры белка: аллель 688A, приводящий к замене глицина на серин в позиции 230, может разрушить активную конформацию ЦОГ-1 [15].

### Связь полиморфизма *PTGS1* с аспиринорезистентностью

Отсутствие унифицированного метода и использование различных критериев для выявления АР объясняют значительные расхождения в оценке ее распространенности (от 5 до 45 %, по некоторым данным до 60 %) [21, 22] и крайне затрудняют поиски генетических маркеров неэффективности терапии АСК. Для выявления биохимической и/или функциональной АР используют такие критерии, как показатели световой трансмиссионной агрегатометрии, время кровотечения, оценка функции тромбоцитов на анализаторе PFA-100, уровни продуктов спонтанного разложения  $TxA_2$ - $TxB_2$  в сыворотке или 11-дегидро- $TxB_2$  в моче [22]. У каждого метода есть свои преимущества и недостатки, однако «золотым стандартом» для биохимического выявления АР считают агрегатометрию с использованием АА в качестве индуктора [22].

В исследовании Maree et al. [19] проведено генотипирование по пяти SNP *PTGS1* [A-842G, C22T (R8W), G128A (Q41Q), C644A (G213G) и C714A (L237M)] у 144 пациентов с ишемической болезнью сердца, принимавших АСК в дозе 75–300 мг/сут, для выявления связи между гаплотипами, показателями АА-индуцированной агрегации и уровнем  $TxB_2$  в плазме крови. Отмечена ассоциация между минорным аллелем –842G промоторного варианта А-842G и повышенной агрегационной активностью тромбоцитов ( $p = 0,009$ ) [19].

У пациентов с минорным аллелем –842G значительно снижена чувствительность к АСК. Аллель –842G, идентифицированный у 12 %

популяции, находится в полном неравновесном сцеплении с минорным аллелем полиморфного сайта С50Т в сигнальном пептиде [19]. Однако этот вариант не может объяснить наличие феномена АР, выявляемого более чем у 40 % пациентов, принимавших АСК для вторичной профилактики ишемической болезни сердца, и является, вероятно, только одной из возможных причин АР.

В исследовании, включавшем здоровых добровольцев, оценка количества  $ПГФ_{2\alpha}$  синтезированного *in vitro* тромбоцитами от гетерозигот А-842/-842G /С50/50Т, не выявила достоверного отличия от гомозигот дикого типа [17]. Однако 30-минутная преинкубация тромбоцитов с 30 мкмоль/л АСК приводила к снижению образования  $ПГФ_{2\alpha}$  среди гетерозигот А-842/-842G /С50/50Т (ингибирование на  $76 \pm 4$  %) в значительно большей степени по сравнению с распространенными гомозиготами А-842/А-842/С50/С50 (ингибирование на  $64 \pm 3$  %) ( $P = 0,01$ ), т.е. гаплотип –842G/50Т связан с более значимым ингибированием АСК синтеза  $ПГФ_{2\alpha}$  тромбоцитами по сравнению с диким типом [17]. Показатели АА-индуцированной агрегации тромбоцитов также были значимо выше в группе гетерозигот А-842/-842G/С50/50Т ( $30 \pm 2$  %;  $n = 25$ ) по сравнению с гомозиготами дикого типа ( $23 \pm 2$  %;  $n = 10$ ), тогда как различия ингибирования агрегации после преинкубации с АСК были недостоверны. С данными о различной чувствительности к АСК лиц с гетеро- и гомозиготными генотипами согласуются результаты генетического фрагмента исследования PRAGUE-8, в котором выявлена связь между вариантами А-842G/С50Т и риском кровотечений после электрокардиографии [14].

Сниженное содержание фермента ЦОГ-1 в тромбоцитах наиболее легко объяснило бы повышенную чувствительность к АСК у гетерозигот А-842/-842G/С50/50Т по сравнению с гомозиготами А-842/А-842/С50/С50. Рассматривают возможность присутствия третьего сайта АР2, действующего как дополнительный репрессорный элемент, который может снизить базальный уровень ЦОГ-1 в тромбоцитах [17]. В этом случае следует

ожидать более выраженного ингибирования изначально низкого уровня ЦОГ-1 и, как следствие, сниженной продукции ПГН<sub>2</sub> после стимуляции АА. Несмотря на то, что количественная оценка содержания белка ЦОГ-1 методом Вестерн-блоттинга не выявила различий между гетеро- и гомозиготами, нельзя полностью исключить возможность небольших различий в экспрессии ЦОГ-1, а также посттрансляционной модификации белка ЦОГ-1 [17].

Вряде работ авторам не удалось обнаружить связи между полиморфизмом *PTGS1* и АР, выявляемой по любому из критериев [23–25].

Хотя механизм возникновения АР остается невыясненным, ряд исследователей считают феномен АР ЦОГ-1,2-независимым, по крайней мере у некоторых пациентов [25, 26].

Таким образом, эффективность широко применяемого фармакологического ингибирования ЦОГ-1-опосредованного синтеза ПГ в значительной степени варьирует. Биохимическую и/или функциональную АР связывают не только с недостаточным ингибированием АСК биосинтеза ТхА<sub>2</sub>, но и с интенсификацией альтернативных путей активации тромбоцитов, которые не блокируются АСК. Отсутствие унифицированного метода и использование различных критериев для выявления пациентов с АР также крайне затрудняют анализ связи между эффективностью АСК и полиморфизмом генов-кандидатов. Результаты одних исследований свидетельствуют о причастности полиморфизма *PTGS1* к АР, в то время как другими такой взаимосвязи не установлено. В то же время активное накопление данных об SNP как в кодирующей, так и промоторной области *PTGS1*, а также результаты исследования ферментативной активности и чувствительности ЦОГ-1 к различным ингибиторам *in vitro* открывают новые возможности для поиска генетических маркеров как резистентности, так и чувствительности к действию АСК. Последнее представляется особенно важным, так как повышенная чувствительность ЦОГ-1 к ингибированию нестероидными противовоспалительными препаратами может сопровождаться увеличением риска нежелательных побочных эффектов ингибирования ЦОГ-1, та-

ких как кишечно-желудочные кровотечения, почечная дисфункция и/или сердечно-сосудистые события.

*T.N. Bondar, N.A. Kravchenko*

#### CYCLOOXYGENASE-1 GENE POLYMORPHISM AND ASPIRIN RESISTANCE

The literature data concerning structure of cyclooxygenase-1 – the key enzyme in prostaglandin biosynthesis and the main target of anti-platelet therapy with the use of acetylsalicylic acid are presented in the review. The data on cyclooxygenase-1 gene polymorphism, distribution of the revealed variants in various populations and their possible correlation with biochemical and functional aspirin resistance are presented.

*T.M. Bondar, H.O. Kravchenko*

#### ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА ЦИКЛООКСИГЕНАЗИ-1 ТА АСПІРИНОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Наведено дані літератури щодо структури циклооксигенази-1 людини – ключового фермента біосинтезу простагландинів та основної мішені антитромбоцитарної терапії з використанням ацетилсаліцилової кислоти. Представлено відомості стосовно поліморфізму гена циклооксигенази-1, розповсюженості виявлених варіантів в різних популяціях та їхній можливий зв'язок із біохімічною та функціональною аспиринорезистентністю.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Vane J.R., Bakhle Y.S., Botting R.M. Cyclooxygenases 1 and 2 // *Annu. Rev. Pharm. Toxicol.* – 1998. – **38**. – P. 97–120.
2. Thuresson E.D., Lakkides K.M., Rieke C.J. et al. Prostaglandin endoperoxide H synthase-1: the functions of cyclooxygenase active site residues in the binding, positioning, and oxygenation of arachidonic acid // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**, № 13. – P. 10347–10357.
3. Dubois R.N., Abramson S.B., Crofford L. et al. Cyclooxygenase in biology and disease // *FASEB J.* – 1998. – **12**. – P. 1063–1073.
4. Smith W.L., Garavito R.M., DeWitt D.L. Prostaglandin endoperoxide H synthases (Cyclooxygenases)-1 and -2 // *J. Biol. Chem.* – 1996. – **271**, № 52 – P. 33157–33160.
5. Patrono C., Rocca B. Nonsteroidal antiinflammatory drugs: past, present and future // *Pharmacol. Res.* – 2009. – **59**, № 5. – P. 285–289.
6. Baigent C., Blackwell L., Collins R. et al. Antithrombotic Trialists' (ATT) Collaboration, Aspirin in the

- primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials // *Lancet*. – 2009. – **373**, № 9678. – P. 1849–1860.
7. *Hankey G.J., Eikelboom J.W.* Aspirin resistance // *Lancet*. – 2006. – **367**. – P. 606–617.
  8. *Malkowski M.G., Ginell S., Smith W.L., Garavito R.M.* The productive conformation of arachidonic acid bound to prostaglandin synthase // *Science*. – 2000. – **289**. – P. 1933–1937.
  9. *Humphray S.J., Oliver K., Hunt A.R. et al.* DNA sequence and analysis of human chromosome 9 // *Nature*. – 2004. – **429**. – P. 369–374.
  10. *Funk C.D., Funk L.B., Kennedy M.E., Pong A.S., Fitzgerald G.A.* Human platelet/erythrocyte cell prostaglandin G/H synthase: cDNA cloning, expression, and gene chromosomal assignment // *FASEB J.* – 1991. – **5**, № 9. – P. 2304–2312.
  11. *Wang L.H., Hajibeigi A., Xu X.M. et al.* Characterization of the promoter of human prostaglandin H synthase-1 gene // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1993. – **190**. – P. 406–411.
  12. *Xu X.M., Tang J.L., Chen X. et al.* Involvement of two Sp1 elements in basal endothelial prostaglandin H synthase-1 promoter activity // *J. Biol. Chem.* – 1997. – **272**. – P. 6943–6950.
  13. *Diaz A., Reginato A.M., Jimenez S.A.* Alternative splicing of human prostaglandin G/H synthase mRNA and evidence of differential regulation of the resulting transcripts by transforming growth factor beta 1, interleukin 1 beta, and tumor necrosis factor alpha // *J. Biol. Chem.* – 1992. – **267**, № 15. – P. 10816–10822.
  14. *Motovska Z., Kvasnicka J., Hajkova J. et al.* Platelet gene polymorphisms and risk of bleeding in patients undergoing elective coronary angiography: a genetic substudy of the PRAGUE-8 trial // *Atherosclerosis*. – 2010. – **212**, № 2. – P. 548–552.
  15. *Lee C.R., Bottone F.G. Jr., Krahn J.M., Li L. et al.* Identification and functional characterization of polymorphisms in human cyclooxygenase-1 (PTGS1) // *Pharma. Genom.* – 2007. – **17**, № 2. – P. 145–160.
  16. *Shi J., Misso N.L., Duffy D.L. et al.* Cyclooxygenase-1 gene polymorphisms in patients with different asthma phenotypes and atopy // *Eur. Respir. J.* – 2005. – **26**. – P. 249–256.
  17. *Halushka M.K., Walker L.P., Halushka P.V.* Genetic variation in cyclooxygenase 1: effects on response to aspirin // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2003. – **1**. – P. 122–130.
  18. *Ulrich C.M., Bigler J., Sibert J. et al.* Cyclooxygenase 1 (COX1) polymorphisms in African-American and Caucasian populations // *Hum. Mutat.* – 2002. – **20**. – P. 409–410.
  19. *Maree A.O., Curtin R.J., Chubb A. et al.* Cyclooxygenase-1 haplotype modulates platelet response to aspirin // *J. Thromb. and Haemost.* – 2005. – **3**. – P. 2340–2345.
  20. *Cartegni L., Wang J., Zhu Z. et al.* ESEfinder: A web resource to identify exonic splicing enhancers // *Nucl. Acids Res.* – 2003. – **31**. – P. 3568–3571.
  21. *Santilli F., Rocca B., De Cristofaro R. et al.* Platelet cyclooxygenase inhibition by low-dose aspirin is not reflected consistently by platelet function assays: implications for aspirin «resistance» // *J. Amer. Coll. Cardiol.* – 2009. – **53**, № 8. – P. 667–677.
  22. *Goodman T., Ferro A., Sharma P.* Pharmacogenetics of aspirin resistance: a comprehensive systematic review // *Brit. J. Clin. Pharm.* – 2008. – **66**, № 2. – P. 222–232.
  23. *Pettinella C., Romano M., Stuppia L. et al.* Cyclooxygenase-1 haplotype C50T/A-842G does not affect platelet response to aspirin // *Thromb. Haemost.* – 2009. – **101**, № 4. – P. 687–690.
  24. *Kunicki T.J., Williams S.A., Nugent D.J. et al.* Lack of association between aspirin responsiveness and seven candidate gene haplotypes in patients with symptomatic vascular disease // *Thromb. Haemost.* – 2009. – **101**, № 1. – P. 123–133.
  25. *Frelinger A.L. 3rd, Furman M.I., Linden M.D. et al.* Residual arachidonic acid-induced platelet activation via an adenosine diphosphate-dependent but cyclooxygenase-1- and cyclooxygenase-2-independent pathway: a 700-patient study of aspirin resistance // *Circulation*. – 2006. – **113**. – P. 2888–2896.
  26. *Meen O., Brosstad F., Khiabani H. et al.* No case of COX-1-related aspirin resistance found in 289 patients with symptoms of stable CHD remitted for coronary angiography // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 2008. – **68**, № 3. – P. 185–191.

Поступила 26.01.11