

Đa hình gen *COX-1* kháng Aspirin trên bệnh nhân có bệnh động mạch vành

Mạc Thanh Tùng*, Nguyễn Thị Mai Ngọc***, Đỗ Doãn Lợi**,**
Kim Ngọc Thanh**,**, Lê Thanh Tùng***, Trương Thanh Hương**,**

Bác sĩ nội trú, Bộ môn Tim mạch, Đại học Y Hà Nội*

Bộ môn Tim mạch, Đại học Y Hà Nội**

Viện Tim mạch Việt Nam, Bệnh viện Bạch Mai***

TÓM TẮT

Tổng quan: Bệnh động mạch vành là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên thế giới. Kháng aspirin đã được báo cáo trong bệnh lý động mạch vành do ảnh hưởng bởi các đa hình gen *Cyclooxygenase-1 (COX-1)*.

Mục tiêu: Xác định tỷ lệ một số đa hình gen *COX-1* thường gặp ảnh hưởng đến chuyển hóa aspirin (C-1676T, C644A, G128A, C50T, C22T) và mối liên quan với độ ngưng tập tiểu cầu trên bệnh nhân có bệnh động mạch vành.

Phương pháp: 54 bệnh nhân mắc bệnh động mạch vành điều trị bằng aspirin hàng ngày với liều từ 75-100mg tối thiểu trên 2 tuần được đưa vào nghiên cứu. Hoạt động của aspirin được đánh giá bằng xét nghiệm đo độ ngưng tập tiểu cầu (NTTC) qua chất kết tập ADP.

Kết quả: Tần suất của các đa hình C-1676T, C644A, G128A, C22T lần lượt là 81,48%, 14,81%, 3,7% và 3,7%. Đa hình C50T không được tìm thấy. Bệnh nhân mang đa hình C-1676T cho thấy độ ngưng tập tiểu cầu cao hơn với bệnh nhân không mang đa hình gen *COX-1* với $p=0,02$.

Kết luận: Đa hình C-1676T xuất hiện nhiều nhất chiếm 81,48% trong nhóm bệnh nhân có bệnh động mạch vành. Sự xuất hiện của đa hình C-1676T chứng minh làm giảm đáp ứng của aspirin bằng xét

nghiệm đo độ ngưng tập tiểu cầu.

Từ khóa: Aspirin, độ NTTC, đa hình gen *COX-1*.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Tỷ lệ bệnh tim mạch tăng mạnh trong hai thế kỷ qua. Theo WHO, bệnh động mạch vành là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong, gánh nặng bệnh tật trên thế giới [1]. Aspirin với tác dụng chống ngưng tập tiểu cầu (NTTC) có vai trò trung tâm trong điều trị cũng như dự phòng bệnh động mạch vành [2]. Tuy nhiên, các báo cáo gần đây về việc tiếp tục xuất hiện các biến cố thuyên tắc mạch mới trên bệnh nhân điều trị bằng aspirin đang làm dấy lên nhiều nghi ngờ về hiệu quả sử dụng của thuốc. Kháng aspirin được đưa ra như một lời giải thích hợp lý cho sự tái diễn các biến cố mới trên bệnh nhân đang điều trị. Tỷ lệ kháng aspirin dao động rất lớn từ 5-60% theo từng nghiên cứu. Những bệnh nhân đáp ứng dưới ngưỡng với aspirin đã được chứng minh làm tăng nguy cơ tái diễn các biến cố mạch máu bất lợi với $OR=3,85$; $95\%CI=3,08-4,80$, $p<0,001$ [3]. Có nhiều yếu tố làm giảm đáp ứng của aspirin đã được chứng minh như giới nữ, tuổi cao, các yếu tố nguy cơ của bệnh tim mạch do xơ vữa, một số đa hình gen chuyển hóa thuốc [3],[4]. Trong đó, đa hình gen *COX-1* đã chỉ ra khuynh hướng tăng cao tỷ lệ kháng aspirin trong nhiều nghiên cứu. Gen *COX-*

1 được tìm thấy trên nhánh dài nhiễm sắc thể số 9 tại vị trí 9q32-q33,3, phát hiện bởi Yokoyama và Tanabe năm 1989, gen có chiều dài 22 kb bao gồm 11 exon [5] cyclooxygenase. Gen quy định tổng hợp enzym cyclooxygenase -1 có vai trò chính trong quá trình chuyển hóa axit arachidonic màng thành thromboxan A2 qua đó gây giải phóng và kết tập tiểu cầu. Aspirin bất hoạt không hồi phục enzyme COX -1 bằng cách gắn vào gốc Ser ở vị trí 529, ngăn chặn quá trình chuyển đổi acid arachidonic thành prostaglandin H2 (PGH2) rồi tạo thành thromboxan A2, dẫn đến ức chế quá trình ngưng tập tiểu cầu. Vì tiểu cầu không có nhân, không thể tổng hợp thêm COX-1 mới nên sự ức chế này không thể đảo ngược, diễn ra trong suốt đời sống của tiểu cầu từ 7 đến 10 ngày [6]. Tổng hợp từ các nghiên cứu, 5 đa hình của gen COX-1 gồm C22T, C50T, G128A, C644A, C-1676T thấy rõ sự phổ biến và nổi trội về tính kháng aspirin [7],[8],[9],[10],[11] male gender and Helicobacter pylori (HP. Ở Việt Nam hiện chưa có nghiên cứu về loại đa hình này. Xuất phát từ nhu cầu thực tiễn trên, nghiên cứu được tiến hành với hai mục tiêu:

1. Xác định tỷ lệ một số đa hình gen COX-1 phổ biến bao gồm C22T (rs1236913), C50T (rs3842787), G128A (rs3842788), C644A (rs5788), C-1676T (rs1330344).

2. Xác định mối liên quan giữa các đa hình gen COX-1 với độ NTTC qua chất kết tập ADP.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

Bệnh nhân có bệnh động mạch vành đã được chụp động mạch vành qua da hoặc chụp cắt lớp vi tính đang sử dụng aspirin liều thấp 70-100 mg/ngày ít nhất trên 2 tuần.

Tiêu chuẩn loại trừ

Các yếu tố ảnh hưởng bởi xét nghiệm máu: Thiếu máu (Hb dưới 80 g/L), số lượng tiểu cầu bất

thường dưới 100 G/L hoặc trên 450 G/L. Bệnh nhân mắc các bệnh liên quan rối loạn đông máu: xơ gan, bệnh lý tủy xương, bệnh lý huyết học khác ảnh hưởng đến chức năng tiểu cầu... Bệnh nhân có điều trị phối hợp với một thuốc chống ngưng tập tiểu cầu khác ngoài aspirin. Bệnh nhân đang điều trị heparin hoặc có phẫu thuật lớn gần đây. Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

Thiết kế nghiên cứu

Mô tả cắt ngang.

Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu

Chọn mẫu thuận tiện, liên tiếp có 54 bệnh nhân đủ điều kiện tham gia nghiên cứu.

Địa điểm thực hiện nghiên cứu

Viện Tim mạch Việt Nam, Bệnh viện Bạch Mai.

Kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

Kỹ thuật giải trình tự gen: Phương pháp Sanger [12]

Mẫu máu được lấy 2mL vào ống nghiệm chống đông bằng EDTA lưu ở -20°C cho đến khi được sử dụng để tách chiết và phân tích DNA. DNA được tách chiết theo kit DNA-express (Lytech-Nga, IVD). Kiểm tra chất lượng DNA bằng phương pháp đo mật độ quang bằng máy quang phổ Nanodrop 2000 tại các bước sóng OD260/OD280, DNA được gọi là tinh sạch khi tỷ số OD260nm/280nm= 1,8-2. DNA được khuếch đại bằng phản ứng PCR với 5 cặp mỗi được khuếch đại 5 đa hình. Các cặp mỗi được thiết kế theo NCBI và bằng phần mềm Primer 3 dựa theo vị trí gen trên NCBI. Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng kit GeneJET PCR. Giải trình tự gen bằng hệ thống máy giải trình tự ABI 3500. Kết quả giải trình tự gen phân tích dựa trên phần mềm BioEdit.

Địa điểm thực hiện: Bộ môn Y Sinh học - Di truyền, Đại học Y Hà Nội.

Kỹ thuật phân tích độ ngưng tập tiểu cầu: Phương pháp Born- O'Brien [13].

Mẫu máu được lấy 2mL vào ống nghiệm chống

đồng bằng natri citrate 3,8%, sau đó được ly tâm với tốc độ 800 vòng/phút trong 10 phút để có được huyết tương giàu tiểu cầu, tiếp theo là ly tâm 3000 vòng/phút trong 10 phút để thu được huyết tương nghèo tiểu cầu. Ngưng tập tiểu cầu được xác định dựa vào đo ngưng tập tối đa MA% sử dụng chất kết tập ADP 5 μ M với hóa chất và máy của hãng Chono-Log Corporation. Chỉ số NTTC ở người bình thường với chất kết tập ADP 5 μ M là 47 \pm 5% [14].

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Thông số
Tuổi (năm)	63,4 \pm 7,6
Giới (nam/nữ)	41/13
Hút thuốc lá	29/54 (53,7%)
Tăng huyết áp	50/54 (92,6%)
Đái tháo đường	15/54 (27,8%)
Rối loạn lipid máu*	40/54 (74,1%)
Béo phì**	21/54 (38,9%)
Tiền sử gia đình***	12/54 (22,2%)
Can thiệp đặt stent	41/54 (75,93%)
Hemoglobin (g/l)	139,65 \pm 14,2
Số lượng tiểu cầu (G/L)	264,69 \pm 68,54

*: LDL >2,6 mmol/L, HDL < 1 mmol/L, Cholesterol toàn phần >5,2 mmol/L, Triglycerid >2,3 mmol/L (NCEP-ATPIII).
 **: BMI >23 (IDF-Asian 2005).
 ***: Tăng huyết áp, bệnh động mạch vành, đột tử do tim mạch.

Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là 63,4 \pm 7,6. Tăng huyết áp, tăng mỡ máu, hút thuốc lá, đái tháo đường là các yếu tố nguy cơ hay gặp nhất trên bệnh mạch vành.

Bảng 2. Tần suất phân bố một số đa hình gen COX-1

Kiểu gen	Kiểu gen	Nam	Nữ	Tổng cộng	
		(N=41)	(N=13)	(N=54)	
C-1676T	TT	BT	8 (14,8%)	2 (3,7%)	10 (18,5%)
	CT	DHT	24 (44,4%)	11 (20,4%)	35 (64,8%)
	CC	ĐHT	9 (16,7%)	0	9 (16,7%)

Địa điểm thực hiện: Trung tâm Huyết học và truyền máu, Bệnh viện Bạch Mai.

Thống kê xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0. Phân tích χ^2 và ANOVA được sử dụng ở những trường hợp phù hợp, p < 0.05 được coi là có ý nghĩa thống kê.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

G128A	GG	BT	35 (64,8%)	11 (20,4%)	46 (85,2%)
	GA	DHT	4 (7,4%)	2 (3,7%)	6 (11,1%)
	AA	ĐHT	0	2 (3,7%)	2 (3,7%)
C644A	CC	BT	39 (72,2%)	13 (24,1%)	52 (96,3%)
	TA	DHT	2 (3,7%)	0	2 (3,7%)
C22T	AA	BT	13 (24,1%)	39 (72,2%)	52 (96,3%)
	CT	DHT	2 (3,7%)	0	2 (3,7%)
C50T	TT	BT	41 (75,9%)	13 (24,1%)	54 (100%)

p > 0,05

BT: Bình thường, DHT: Dị hợp tử, ĐHT: Đồng hợp tử

Đa hình C-1676T xuất hiện với tỷ lệ cao nhất 81,5% với 64,8% thể dị hợp tử và 16,7% thể đồng hợp tử. Tiếp theo là đa hình G128C 14,8% trong đó đồng hợp tử là 3,7% và dị hợp tử là 11,1%. Hai đa hình C644T và C22T đều xuất hiện với tỷ lệ 3,7% ở dạng dị hợp tử. Không tìm thấy đa hình C50T trong nhóm nghiên cứu.

Bảng 3. Tần số alen trong các đa hình gen COX-1

Đa hình	Tần số alen	
	Alen bình thường	Alen đa hình
C-1676T (rs 1330344)	C = 49,1%	T = 50,9%
G128A (rs3842788)	G = 90,7%	A = 9,3%
C644A (rs5788)	C = 98,1%	A = 1,9%
C22T (rs1236913)	C = 98,1%	T = 1,9%

Đa hình C-1676T có tần số alen đa hình cao hơn alen bình thường.

Bảng 4. Tỷ lệ tổ hợp các đa hình của gen COX-1

Tổ hợp đa hình	Tỷ lệ	
Đồng hợp tử bình thường cả 5 đa hình khảo sát	12,9%	
Mang 1 dị hợp tử đa hình	Dị hợp tử C-1676T	48,1%
	Dị hợp tử C22T	1,9%
	Dị hợp tử C644A	1,9%
	Dị hợp tử G128A	1,9%
Mang 2 dị hợp tử đa hình	Dị hợp tử C22T và C-1676T	1,9%
	Dị hợp tử C644T và C-1676T	1,9%
	Dị hợp tử G128A và C-1676T	9,2%
Mang đồng hợp tử đa hình	Đồng hợp tử G128A và dị hợp tử C-1676T	3,7%
	Đồng hợp tử C-1676T	16,6%
Tổng	100%	

Tỷ lệ tổ hợp gen gặp nhiều nhất là dị hợp tử đa hình C-1676T (48,1%). Đa hình C-1676T cũng luôn xuất hiện cùng các tổ hợp đôi.

Bảng 5. Kết quả đo độ ngưng tập tiểu cầu với chất kích tập ADP

Chất kích tập	Tổng	Nam	Nữ	P
ADP (%)	39,24±12,63	40,85±12,06	34,15±13,55	0,096

Độ NTTC giữa 2 nhóm nam và nữ không có sự khác biệt với độ tin cậy 95.

Bảng 6. Mối quan hệ giữa độ NTTC với các yếu tố nguy cơ bệnh tim mạch

Yếu tố	ADP		P
	N	($\bar{X} \pm SD$)	
Có hút thuốc	29	39,24±10,8	1,00
Không hút thuốc	25	39,24±14,72	
Có THA	50	38,88±12,67	0,463
Không THA	4	43,75±12,95	
Có ĐTĐ	15	39,20±12,82	0,988
Không ĐTĐ	39	39,26±12,73	
Có RLLP	40	37,4±11,83	0,07
Không RLLP	14	44,5±13,82	
Có béo phì	21	39,90±12,71	0,761
Không béo phì	33	38,82±12,76	
Có YTGD	12	41,92±14,10	0,411
Không YTGD	42	38,48±12,26	

Không tìm thấy sự khác biệt về độ NTTC với chất kết tập ADP giữa các nhóm bệnh nhân mang yếu tố nguy cơ của bệnh tim mạch do xơ vữa.

Bảng 7. Mối quan hệ giữa đa hình gen COX-1 với độ NTTC

Đa hình	ADP		P
	N	($\bar{X} \pm SD$)	
Bình thường	7	25,45±12,45	0,02
C-1676T	44	40,89±11,53	
G128A	8	45,25±8,4	
C644T	2	39,5±24,75	
C22T	2	37,5±2,121	

Nhóm bệnh nhân mang đa hình C-1676T có độ NTTC cao hơn nhóm không mang đa hình gen *COX-1* với độ tin cậy 95%. Các đa hình khác gồm G128A, C644T, C22T không tìm thấy mối liên quan với độ NTTC.

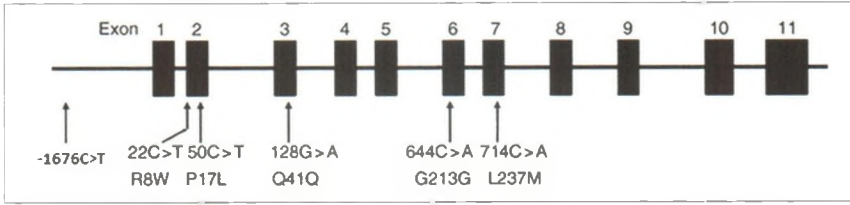
BÀN LUẬN

Sử dụng thuốc chống ngưng tập tiểu cầu là một biện pháp quan trọng để điều trị cũng như dự phòng biến cố thuyên tắc mạch trong bệnh động mạch vành. Đáp ứng với liệu pháp kháng tiểu cầu có thể rất khác nhau giữa từng cá thể. Ngay cả với aspirin, một loại thuốc chống ngưng tập tiểu cầu thông thường, đôi khi điều trị cũng không mang lại hiệu quả. Bên cạnh những tiến bộ về phát triển các thuốc chống ngưng tập tiểu cầu mới thì tình trạng kháng aspirin ngày càng được quan tâm trên lâm sàng. Khái niệm về sự thay đổi đáp ứng của aspirin chủ yếu dựa trên các cơ chế sinh lý bệnh, dược động học, dược lực học của thuốc [15]. Năm 2009, nhóm công tác về huyết khối của Hiệp hội Tim mạch châu Âu (Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology) đã công bố một báo cáo về sự biến đổi đáp ứng của thuốc chống ngưng tập tiểu cầu đường uống trên từng cá thể, trong đó kháng aspirin được phân loại thành kháng lâm sàng và kháng trong phòng thí nghiệm. Kháng aspirin trên lâm sàng liên quan đến sự xuất hiện các biến cố tim mạch mới trên bệnh nhân đang điều trị bằng aspirin, kháng aspirin trong phòng thí nghiệm được biểu hiện qua hàng loạt các xét nghiệm đánh giá chống ngưng tập tiểu cầu không đầy đủ của aspirin [16].

Nghiên cứu chúng tôi tiến hành trên 54 bệnh nhân hẹp động mạch vành do xơ vữa gồm 41 nam và 13 nữ. Tỷ lệ bệnh nhân can thiệp đặt stent là 75,93%. Các yếu tố nguy cơ trên bệnh tim mạch do xơ vữa được khảo sát trong đó tỷ lệ bệnh nhân tăng huyết áp chiếm cao nhất trên 92%, các yếu tố khác bao gồm rối loạn lipid máu, hút thuốc lá, đái tháo đường

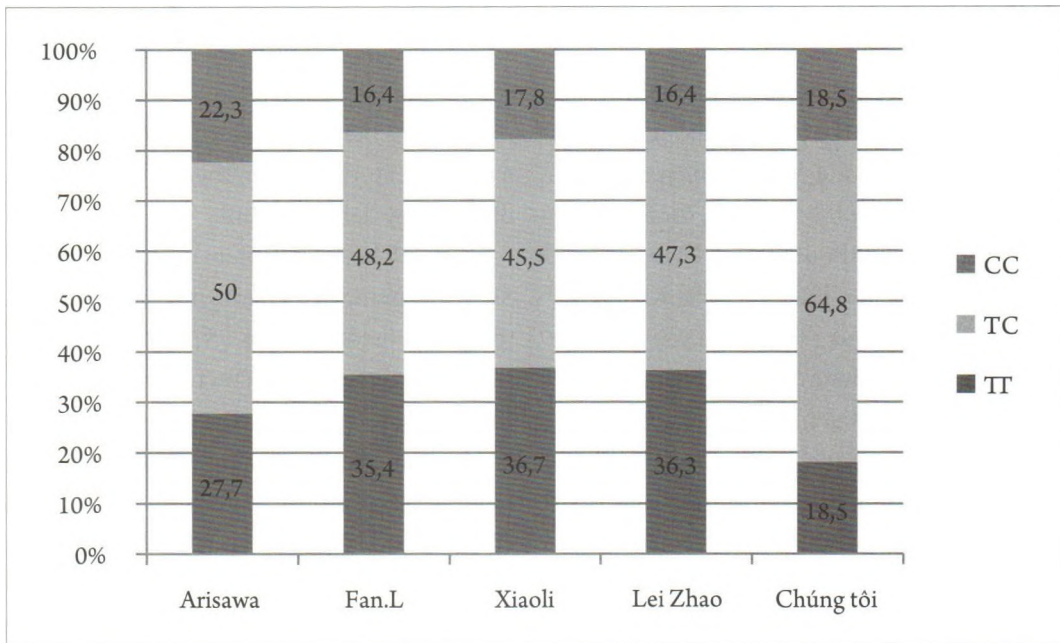
cũng xuất hiện với tỷ lệ cao trong bệnh lý động mạch vành. Điều này phù hợp với dịch tễ bệnh động mạch vành tại Việt Nam cũng như trên thế giới [1]. Khảo sát mối liên quan giữa các yếu tố nguy cơ của bệnh tim mạch do xơ vữa với độ ngưng tập tiểu cầu qua chất kết tập ADP, chúng tôi không tìm thấy sự khác biệt độc lập nào với $p > 0,05$. Nghiên cứu của Lý Tuấn Khải (2011) về kháng aspirin trên bệnh nhân bệnh mạch vành, chỉ ra có sự liên quan giữa chỉ số khối cơ thể (BMI), tỷ số vòng hông (WHR), giới nữ đến sự kháng aspirin [4]. Tuy nhiên nghiên cứu cũng không tìm thấy tính kháng aspirin liên quan đến các yếu tố nguy cơ của bệnh tim mạch do xơ vữa khác bao gồm tăng huyết áp, đái tháo đường, rối loạn lipid máu, hút thuốc lá hay tiền sử gia đình.

Gen mã hóa cho protein cyclooxygenase-1 gồm 599 axit amin, đây là enzym chủ chốt trong sinh tổng hợp prostaglandin [5]. Sự đa hình của gen *COX-1* đã được nghiên cứu từ lâu. Số lượng đa hình đơn nucleotid (SNP) của gen *COX-1* được cập nhật tại NCBI liên tục tăng và đạt 400 đa hình, tuy nhiên, chỉ có 72 trong số đó nằm trong vùng mã hóa của gen, còn lại nằm ở vùng 5' và 3' không mã hóa và vùng intron [17]. Năm 2007, Lee và cộng sự đã xác định được 45 đa hình ở gen *COX-1* khi nghiên cứu 92 người khỏe mạnh (24 người châu Phi, 24 người châu Á, 24 người châu Âu và 20 người ấn danh) [22]. Vẫn còn nhiều tranh cãi và chưa có một nghiên cứu nào khẳng định được vai trò chính xác của đa hình gen *COX-1* nào liên quan tới sự kháng aspirin. Nghiên cứu lần này chúng tôi tập trung vào 5 đa hình phổ biến sau khi tổng hợp từ nghiên cứu bao gồm C-1676T, G128A, C644T, C22T và C50T với tỷ lệ được tìm thấy lần lượt là 81,5%, 14,8%, 3,7% và 3,7%. Đa hình C50T không quan sát thấy trong nghiên cứu của chúng tôi. Tỷ lệ này cũng khá tương quan với các nghiên cứu khác trên thế giới như nghiên cứu của Arisawa (Nhật Bản), Li Fan, Lei Zhao, Mei Xue (Trung Quốc) [11],[12],[13],[14].



Hình 1. Vị trí các đa hình gen COX-1 [9]

Đa hình C-1676T được phát hiện trong nghiên cứu của chúng tôi khá cao chiếm tới 81,5% với tỷ lệ 22,7% đồng hợp tử và 77,3% dị hợp tử, kết quả tương quan với các nghiên cứu trên quần thể người châu Á.



Biểu đồ 1. Tỷ lệ phân bố kiểu gen của đa hình C-1676T trên các nghiên cứu của quần thể người châu Á

Đa hình C-1676T xảy ra ở vùng điều hòa (promotor), vị trí gần một số yếu tố phiên mã (GATA-1, CdxA) của gen COX-1 [17]. Vì vậy, đa hình C-1676T ảnh hưởng tới mức độ biểu hiện của gen COX-1. Kết quả cho thấy bệnh nhân mang đa hình C-1676T làm giảm tác dụng của aspirin do làm tăng độ ngưng tập tiểu cầu với ADP với $p = 0,02$. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu gộp của Juesheng Yang (2018) khi tổng hợp trên 53 báo cáo, chứng minh đa hình C-1676T liên quan đáng kể với khả năng đáp ứng kém với aspirin ở người châu Á với $OR = 0,43$, 95% CI 0,25-0,74, $p = 0,002$. Nghiên

cứu của Yi X năm 2016 và nghiên cứu của Li Fan năm 2013 cũng đưa ra kết luận về đa hình C-1676T làm tăng nguy cơ biến cố mạch máu bất lợi trên bệnh nhân sử dụng aspirin [12],[15].

Đa hình G128A là đa hình xuất hiện phổ biến thứ 2 trong nghiên cứu lần này với 14,8%. Đa hình xảy ra tại exon thứ 3 của gen COX-1, đa hình không gây biến đổi axit amin (Q41Q) [17]. Câu trả lời cho tính kháng aspirin có thực sự liên quan đến đa hình G128A hay không thì vẫn còn nhiều câu trả lời trái chiều. Các nghiên cứu trên trên thế giới cũng đưa ra nhiều kết quả khác nhau. Nghiên cứu của Ping

2014, Zhang 2015 và Xue 2017 chỉ sự xuất hiện của đa hình G128A liên qua tới tính đề kháng aspirin với $p < 0,05$. Trong khi đó, nghiên cứu của Wang 2009, Cao 2014, Xu 2017 không tìm thấy mối liên quan giữa kháng aspirin và đa hình G128A [24]. Nghiên cứu của Lei Zhao (2019) về tương tác một số đa hình gen *COX-1* với tỷ lệ mắc đột quỵ do thiếu máu não trên 1981 đối tượng. Kết quả cho thấy, người mang gen đồng hợp tử đa hình G128A làm tăng nguy cơ mắc đột quỵ não với $OR = 5,203$, $CI 95\%: 1,519-5,159$, $p = 0,016$ [9]. Trong nghiên cứu của chúng tôi không tìm thấy mối liên quan giữa đa hình G128A và độ ngưng tập tiểu cầu với ADP trên bệnh nhân dùng aspirin dài hạn.

Đa hình C644A xảy ra ở exon thứ 6 gây biến đổi codon GGC → GGA, kết quả không làm thay đổi axit amin (G213G) [17]. Là đa hình được tìm thấy phổ biến nhất trên quần thể người châu Phi với tỷ lệ 46% và ít gặp hơn ở người da trắng và người châu Á có cùng tỷ lệ 4% trong nghiên cứu của Lee CR (2008) [18]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, đa hình C633A tìm thấy với tỷ lệ 3,7% đều mang kiểu gen dị hợp tử. Kết quả nghiên cứu cũng không tìm thấy mối liên quan giữa bệnh nhân mang đa hình C644A với độ NTTC.

Đa hình C22T và C50T cùng xảy ra tại exon thứ 2 của gen *COX-1*. Hai đa hình này thay thế nucleotid C thành T ở vị trí 22 và 50 dẫn đến

thay thế axit amin Arginine và Proline thành Tryptophan và Leucin [17]. Nghiên cứu của Yi X 2017 trên bệnh nhân đột quỵ điều trị bằng aspirin tỷ lệ 2 loại đa hình này xuất hiện lần lượt là 10% và 20% [21]. Nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ gặp hai loại đa hình này khá thấp với 3,7% đa hình C22T và không gặp đa hình C50T. Cũng không tìm thấy mối liên quan giữa đa hình C22T được tìm thấy với độ NTTC.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu trên 54 bệnh nhân có bệnh động mạch vành do xơ vữa bao gồm 41 nam và 13 nữ, độ tuổi trung bình $63,4 \pm 7,6$ đang dùng aspirin liều thấp 75-100mg/ngày kéo dài như một liệu pháp chống ngưng tập tiểu cầu duy nhất. Đa hình gen *COX-1* được xác định bằng phương pháp giải trình tự gen Sanger. Đánh giá hiệu quả sử dụng aspirin dựa vào xét nghiệm đo độ NTTC qua chất kết tập ADP:

- Tần suất phân bố 5 đa hình được nghiên cứu: đa hình C-1676T gặp phổ biến nhất 81,5%; tiếp đến là G128A 14,8%; hai đa hình C644T và C22T đều xuất hiện với tỷ lệ 3,7%. Không quan sát thấy đa hình C50T.

- Đa hình C-1676T chứng minh làm giảm tác dụng của aspirin qua xét nghiệm đo độ NTTC với $p = 0,02$.

ABSTRACT

Polymorphism of the *COX-1* gene and aspirin resistance in coronary artery disease

Background: Coronary artery disease (CAD) is an important cause of mortality in elderly patients worldwide. Aspirin resistance has been well reported in CAD by polymorphism of the *COX-1* gene.

Objective: The frequency and polymorphism of the *COX-1* gene (C-1676T, C644A, G128A, C50T, C22T) for patients with CAD.

Methods: Fifty-four patients with CAD receiving daily aspirin therapy (75 – 100mg) over two weeks were enrolled. Platelet aggregation was measured by light transmission aggregometry (LTA) using adenosine diphosphat (ADP).

Results: Frequencies of C-1676T, C644A, G128A, C22T were 81.48%, 14.81%, 3.7% and 3.7%, respectively. C50T polymorphism was not observed in our sample. Additionally, patients with C-1676T polymorphism showed significantly higher levels of platelet aggregation compared without this polymorphism ($p=0.02$).

Conclusions: C-1676T polymorphism appears the most with 81,48% for patients with CAD. Importantly, a significant association with poor responsiveness to aspirin was observed for C-1676T by platelet aggregation test.

Keywords: Aspirin resistance, polymorphism of the COX-1 gene, platelet aggregation.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Geneva, Switzerlan (2012), *Cardiovascular Disease: Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control*, World Health Organization.
2. Bhatt D.L., Fox K.A.A., Hacke W., et al. (2006). Clopidogrel and Aspirin versus Aspirin Alone for the Prevention of Atherothrombotic Events. *N Engl J Med*, **354**(16), 1706–1717.
3. Krasopoulos G., Brister S.J., Beattie W.S., et al. (2008). Aspirin “resistance” and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, **336**(7637), 195–198.
4. Lý Tuấn Khải, Quách Hữu Trung và Vũ Điện Biên (2011). Nghiên cứu kháng aspirin ở bệnh nhân bệnh mạch vành dùng aspirin dài ngày. *Nghiên cứu Y Học*, **15**, 358–364.
5. Yokoyama C. and Tanabe T. (1989). Cloning of human gene encoding prostaglandin endoperoxide synthase and primary structure of the enzyme. *Biochem Biophys Res Commun*, **165**(2), 888–894.
6. Eikelboom J.W., Hirsh J., Spencer F.A., et al. (2012). Antiplatelet drugs: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*, **141**(2 Suppl), e89S-e119S.
7. Arisawa T., Tahara T., Shibata T., et al. (2007). Association between genetic polymorphisms in the cyclooxygenase-1 gene promoter and peptic ulcers in Japan. *Int J Mol Med*.
8. Fan L., Cao J., Liu L., et al. (2013). Frequency, Risk Factors, Prognosis, and Genetic Polymorphism of the Cyclooxygenase-1 Gene for Aspirin Resistance in Elderly Chinese Patients with Cardiovascular Disease. *Gerontology*, **59**(2), 122–131.
9. Zhao L., Fang J., Zhou M., et al. (2019). Interaction between COX-1 and COX-2 increases susceptibility to ischemic stroke in a Chinese population. *BMC Neurol*, **19**.
10. Xue M., Yang X., Yang L., et al. (2017). rs5911 and rs3842788 Genetic Polymorphism, Blood Stasis Syndrome, and Plasma TXB2 and hs-CRP Levels Are Associated with Aspirin Resistance in Chinese Chronic Stable Angina Patients. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM*, **2017**, 9037094.
11. Yi X., Cheng W., Lin J., et al. (2016). Interaction between COX-1 and COX-2 Variants Associated with Aspirin Resistance in Chinese Stroke Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis Off J Natl Stroke Assoc*, **25**(9), 2136–2144.

12. **Wong K.-C., Zhang J., Yan S., et al. (2013).** DNA Sequencing Technologies: Sequencing Data Protocols and Bioinformatics Tools. *ACM Comput Surv*, **52**, 1–30.
13. **Nguyễn Ngọc Minh và Nguyễn Đình Ái.** *Cầm máu- Đông máu ứng dụng và kỹ thuật và ứng dụng trong chẩn đoán lâm sàng*, Nhà xuất bản Y Học.
14. **Nguyễn Thị Nữ, Cung Thị Tý và Đỗ Trung Phần (1997).** Chỉ số ngưng tập tiểu cầu ở người trưởng thành Việt Nam bình thường. *Y học Việt Nam*, 66–68.
15. **Rocca B. and Petrucci G. (2012).** Variability in the Responsiveness to Low-Dose Aspirin: Pharmacological and Disease-Related Mechanisms. *Thrombosis*, **2012**.
16. **Kuliczkowski W., Witkowski A., Polonski L., et al. (2009).** Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, **30(4)**, 426–435.
17. **CYCLOOXYGENASE-1 GENE - SNP - NCBI.**
18. **Lee C.R., Bottone F.G., Krahn J.M., et al. (2007).** Identification and functional characterization of polymorphisms in human cyclooxygenase-1 (PTGS1). *Pharmacogenet Genomics*, **17(2)**, 145–160.
19. **Maree A.O., Curtin R.J., Chubb A., et al. (2005).** Cyclooxygenase-1 haplotype modulates platelet response to aspirin. *J Thromb Haemost*, **3(10)**, 2340–2345.
20. **Wang Z., Chen Y., Hu S., et al. (2017).** A Meta-analysis of the Association of COX-1 Gene rs3842788 and rs1330344 Polymorphism with Aspirin Resistance in Chinese. *J Med Diagn Methods*, **06(04)**.
21. **Yi X., Wang C., Zhou Q., et al. (2017).** Interaction among COX-2, P2Y1 and GPIIa gene variants is associated with aspirin resistance and early neurological deterioration in Chinese stroke patients. *BMC Neurol*, **17(1)**, 4.