

ВОЗМОЖНОСТИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИАГРЕГАНТНОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

О.В. Сироткина^{1,2*}, А.Б. Ласковец¹, А.С. Липунова¹, Л.Б. Гайковская¹,
С.А. Болдуева¹, Т.В. Вавилова¹

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова.
191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

² Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова.
188350, Гатчина, Ленинградская обл., Орлова Роща

Возможности клиничко-лабораторной оценки эффективности антиагрегантной терапии у больных ишемической болезнью сердца

О.В. Сироткина^{1,2*}, А.Б. Ласковец¹, А.С. Липунова¹, Л.Б. Гайковская¹, С.А. Болдуева¹, Т.В. Вавилова¹

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова. 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

² Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова. 188350, Гатчина, Ленинградская обл., Орлова Роща

Цель. Оценить функциональную активность тромбоцитов на фоне антиагрегантной терапии ацетилсалициловой кислотой (АСК) и клопидогрелом с помощью оптической стандартной агрегатометрии и индуцированной проточной тромбоцитометрии.

Материал и методы. Исследование функциональной активности тромбоцитов у 30 больных ишемической болезнью сердца, получающих двойную антиагрегантную терапию АСК и клопидогрелом, проводили двумя методами: стандартным фотометрическим методом по Борну с оценкой степени светопропускания в точке максимума и оригинальным методом индуцированной проточной тромбоцитометрии с определением тромбоцитарной активности по изменению относительного количества гликопротеиновых (GP) IIb/IIIa рецепторов и уровня экспрессии Р-селектина до и после индукции АДП.

Результаты. При исходном измерении функциональной активности тромбоцитов у пациентов на монотерапии АСК наблюдали ее повышение как по показателям индуцированной проточной тромбоцитометрии, так и по результатам стандартной агрегатометрии. Далее в течение 1 мес двойной антиагрегантной терапии АСК+клопидогрелом функциональная активность тромбоцитов статистически значимо снизилась как по данным стандартного фотометрического метода (с $61,4 \pm 3,6\%$ до $45,9 \pm 3,7\%$; $p < 0,05$; при индукции 2,5 мкМ АДП), так и при проточной цитометрии по изменению относительного количества GP IIb/IIIa рецепторов (с $12,2 \pm 0,8\%$ до $5,2 \pm 0,8\%$; $p < 0,05$) и уровню экспрессии Р-селектина (с $70,5 \pm 5,9\%$ до $57,4 \pm 5,9\%$; $p < 0,05$).

Заключение. Сочетанное применение лабораторных методов оценки функциональной активности тромбоцитов (традиционных и высокотехнологичных) предоставляет дополнительный инструмент кардиологу в оценке эффективности антиагрегантной терапии у больных ишемической болезнью сердца.

Ключевые слова: клопидогрел, антиагрегантная терапия, GP IIb/IIIa рецепторы, Р-селектин, индуцированная проточная тромбоцитометрия

РФК 2013;9(1):31–34

Possibilities of clinical laboratory evaluation of antiplatelet therapy effectiveness in patients with ischemic heart disease

O.V. Sirotkina^{1,2*}, A.B. Laskovets¹, A.S. Lipunova¹, L.B. Gaykovaya¹, S.A. Boldueva¹, T.V. Vavilova¹

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov. Kirochnaya ul. 41, St. Petersburg, 191015 Russia

²Petersburg Nuclear Physics Institute named after B.P. Konstantinov. Orlova Roshcha, Gatchina, Leningrad region, 188350 Russia

Aim. To evaluate the functional activity of platelets by the optical standard aggregatometry and induced flow cytofluorometry during antiplatelet therapy with clopidogrel and acetylsalicylic acid (ASA).

Material and methods. The evaluation of platelet function in 30 patients with ischemic heart disease treated with dual antiplatelet therapy (ASA and clopidogrel) was performed by two methods: the standard photometric method with the assessment of degree of light transmission at the maximum point and by the original method of induced flow cytofluorometry with the platelet activity evaluation by changing of glycoprotein (GP) IIb/IIIa receptor level and the expression of P-selectin before and after ADP induction.

Results. Increase in platelet functional activity was detected in patients with ASA monotherapy at initial evaluation by both induced flow cytofluorometry and standard photometric method. After one month dual antiplatelet therapy platelet function significantly decreased according to standard photometric method (from 61.4 ± 3.6 to 45.9 ± 3.7 ; $p < 0.05$; the induction of 2.5 mM ADP), as well as according to flow cytofluorometry with changing of GP IIb/IIIa receptor level (from $12.2 \pm 0.8\%$ to $5.2 \pm 0.8\%$; $p < 0.05$) and the expression of P-selectin (from $70.5 \pm 5.9\%$ to $57.4 \pm 5.9\%$; $p < 0.05$).

Conclusion. The combined use of laboratory methods to assess platelet function (traditional and high-tech) provides cardiologist with additional tool for assessing the effectiveness of antiplatelet therapy in patients with ischemic heart disease.

Key words: clopidogrel, antiplatelet therapy, GP IIb/IIIa receptor, P-selectin, induced flow cytofluorometry.

Rational Pharmacother. Card. 2013;9(1):31–34

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): olgasirotkina@list.ru

Сведения об авторах:

Сироткина Ольга Васильевна — д.б.н., в.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека ПИЯФ им. Б.П. Константинова; доцент кафедры клинической лабораторной диагностики СЗГМУ им. И.И. Мечникова

Ласковец Анастасия Борисовна — врач-лаборант Центральной клиничко-диагностической лаборатории СЗГМУ им. И.И. Мечникова

Липунова Алена Сергеевна — врач-кардиолог, аспирант кафедры факультетской и госпитальной терапии того же университета

Гайковская Лариса Борисовна — д.м.н., зав. Центральной клиничко-диагностической лабораторией СЗГМУ им. И.И. Мечникова, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики того же университета

Болдуева Светлана Афанасьевна — д.м.н., профессор, зав. кафедрой факультетской и госпитальной терапии того же университета

Вавилова Татьяна Владимировна — д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики того же университета

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) справедливо называют эпидемией XXI века. К 2015 г. около 20 млн человек могут уйти из жизни от ССЗ, главным образом, от болезней сердца и инсульта. Наблюдается устойчивая тенденция к «омоложению» сердечно-сосудистой смертности. Следует отметить, что у лиц молодого возраста развитие артериальных тромбозов обусловлено, в первую очередь, нарушениями тромбоцитарного гемостаза [1–5]. Понимание ключевой роли тромбоцитов в развитии ССЗ привело к созданию лекарств, влияющих на функциональную активность тромбоцитов.

В настоящее время известно более 20 лекарственных средств, которые способны угнетать функции тромбоцитов через различные механизмы действия [6–8]. Наиболее широко применяемые — ацетилсали-

циловая кислота (АСК), тиенопиридины, дипиридамо́л, антагонисты GP IIb/IIIa, позволяют снизить количество инфарктов миокарда (ИМ) на 35%, инсультов — на 25%, а смертность от ССЗ — на 15% [9]. Но при назначении антиагрегантных препаратов врач и пациент могут столкнуться с индивидуальной чувствительностью к лекарству. В связи с этим актуальным является не только поиск новых лекарственных средств, но и поиск лабораторных критериев оценки эффективности действия антиагрегантных препаратов.

Существует несколько общепринятых подходов к анализу функциональной активности тромбоцитов на фоне лекарственных препаратов и оценке эффективности антиагрегантной терапии: 1) стандартная индуцированная агрегатометрия (анализ светопропускания, измерение импеданса, лазерное светорассеяние), 2) PFA-100 анализ, VerifyNow система, 3) биохимические тесты — VASP фосфорилизация, определение уровня тромбоксана B_2 [10].

Последние рекомендации Американской ассоциации торакальных хирургов (ACCP 2012) не предусматривают лабораторный мониторинг антиагрегантной терапии [11]. Тем не менее, определение лабораторного показателя высокой реактивности тромбоцитов на фоне антиагрегантной терапии может в конечном итоге прогнозировать клинические исходы у пациентов [12].

Целью настоящей работы явилась оценка функциональной активности тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии АСК и клопидогрелом двумя лабораторными методами — стандартной агрегатометрией по Борну и индуцированной проточной тромбоцитометрией с использованием специфичных флуоресцентно-меченых антител.

Материалы и методы

В исследование были включены 30 больных (18 мужчин и 12 женщин), средний возраст 65 ± 2 лет (от 37 до 83 лет) с доказанной ишемической болезнью сердца: перенесенный острый инфаркт миокарда или стенокардия напряжения (при положительной пробе с физической нагрузкой или достоверными ишемическими изменениями по данным суточного мониторингирования ЭКГ). Перед включением в исследование все пациенты дали информированное согласие. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом. Базовая терапия включала АСК (Тромбо-АСС 100 мг или Кардиомагнил 75 мг), β -адреноблокаторы, ингибиторы АПФ или сартаны, статины, также по необходимости гипогликемические препараты, нитраты, диуретики. Больные наблюдались в течение 6 мес.

После контроля функциональной активности тромбоцитов на монотерапии АСК пациентам назначалась

двойная антиагрегантная терапия — АСК+клопидогрел (Эгитромб®) 75 мг с контролем функциональной активности тромбоцитов на 3–5 день приема, 10–14 дни приема и через 1 мес двухкомпонентной антиагрегантной терапии.

Исследование функциональной активности тромбоцитов проводилось двумя методами. Стандартный фотометрический метод [13–15] выполнялся на анализаторе агрегации тромбоцитов AP 2110 SOLAR (НПФ "SOLAR", Белоруссия), в качестве индуктора агрегации тромбоцитов использовали АДФ в концентрациях 10 мкМ, 5 мкМ и 2,5 мкМ («Sigma-Aldrich», США). Результат оценивали по степени светопропускания (Т,%) в точке максимума, т.е. максимальной степени агрегации тромбоцитов.

Вторым способом оценки эффективности антиагрегантной терапии явилась индуцированная проточная тромбоцитометрия — оригинальный метод определения тромбоцитарной активности на основе проточной цитометрии по изменению относительно количества рецепторов GP IIb/IIIa (K_1 , %) и уровня экспрессии Р-селектина (K_2 , %) до и после индукции 10 мкМ АДФ, рассчитанному по формулам [16–18]:

$$K_1 = \frac{MFI^{АДФ+} - MFI^{АДФ-}}{MFI^{АДФ+}} \cdot 100\%,$$

где $MFI^{АДФ+}$ — средняя интенсивность флуоресценции с антителами к GP IIb/IIIa после инкубации с индуктором, $MFI^{АДФ-}$ — средняя интенсивность флуоресценции с антителами к GP IIb/IIIa в отсутствие индуктора;

$$K_2 = \frac{\%CD62P-PE^{АДФ+} - \%CD62P-PE^{АДФ-}}{\%CD62P-PE^{АДФ+}} \cdot 100\%,$$

где $\%CD62P-PE^{АДФ+}$ — количество тромбоцитов, меченных антителами к Р-селектину, после инкубации с индуктором; $\%CD62P-PE^{АДФ-}$ — количество тромбоцитов, меченных антителами к Р-селектину в отсутствие индуктора.

Измерения проводили с использованием флуоресцентно-меченых моноклональных антител CD61-FITC и CD62P-PE, специфичных к субъединице GP IIIa гликопротеина GP IIb/IIIa и к Р-селектину, соответственно, на проточном цитометре CYTOMICS FC 500 (Beckman Coulter, США), как было описано ранее [16].

Результаты обрабатывали с использованием стандартного пакета статистической программы Statistica 7.0 (Statsoft Inc.). Средние величины приведены со стандартной ошибкой среднего значения ($M \pm m$). Для сравнения средних значений использовали непараметрические методы — U-тест Манн-Уитни и парный тест Вилкоксона, корреляции оценивались по Спирману, за значимый уровень достоверности принимали значение $p < 0,05$.

Таблица 1. Показатели функциональной активности тромбоцитов у больных ИБС на фоне двойной антиагрегантной терапии (АСК + клопидогрел)

Параметр	Исходно	3–5 дней		10–14 дней		1 мес	
		значение	p*	значение	p*	значение	p*
K ₁ (%)	12,2±0,8	5,7±0,9	0,00006	6,1±0,7	0,0002	5,2±0,8	0,00005
K ₂ (%)	70,5±5,9	57,1±6,6	0,0003	56,9±5,7	0,008	57,4±5,9	0,0008
2,5 мкМ АДФ	61,4±3,6	43,9±3,2	0,0003	42,3±3,9	0,0001	45,9±3,7	0,001
5 мкМ АДФ	68,2±3,4	50,9±2,8	0,0007	44,9±3,0	0,00002	55,5±4,4	0,01
10 мкМ АДФ	73,5±2,3	53,5±2,5	0,000025	49,6±2,8	0,000004	52,3±3,4	0,0001

*по сравнению с исходными измерениями

Результаты

При исходном измерении функциональной активности тромбоцитов у пациентов на фоне монотерапии АСК наблюдалось ее повышение как по показателям индуцированной проточной тромбоцитометрии, так и по результатам стандартной агрегатометрии, в том числе на низких дозах индуктора. Далее в течение 1 мес на двойной антиагрегантной терапии функциональная активность тромбоцитов статистически значимо снижалась по сравнению с исходными показателями (табл. 1). То есть, добавление клопидогрела к АСК существенно снижало функциональную активность тромбоцитов, уменьшая тем самым риск сердечно-сосудистых событий.

Следует обратить внимание на динамику изменения параметров функциональной активности тромбоцитов в период наблюдения — основное снижение происходит в первые 3–5 дней от начала приема клопидогрела, далее параметры стабилизируются (табл. 1).

Однако, если параметры индуцированной проточной тромбоцитометрии K₁ и K₂ максимально снижались по сравнению с исходными уже в первые 3–5 дней приема клопидогрела, то степень АДФ-индуцированной агрегации на всех концентрациях индуктора максимально уменьшалась только через 2 нед. Соответственно, используя в качестве лабораторного метода оценки действия антиагрегантной терапии индуцированную проточную тромбоцитометрию, можно выявить резистентность к клопидогрелу на более ранних сроках и скорректировать терапию, предотвращая развитие неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

Кроме того, степень АДФ-индуцированной агрегации начинает расти через 1 мес терапии, тогда как коэффициенты K₁ и K₂ остаются стабильно низкими. В среднем степень АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов снижается на 26%–30% в зависимости от концентрации индуктора, коэффициент K₂ — на 19%, в то время как коэффициент K₁ — на 46%. Таким образом, изменение количества рецепторов GP IIb/IIIa на поверхности тромбоцитов при активации АДФ, которое отражает способность клетки к цитоскелетным перестройкам и изменению формы, является самым наглядным маркером снижения активности клеток и эф-

фективности антиагрегантной терапии клопидогрелом.

Через 1 мес двойной антиагрегантной терапии у 4 пациентов (13%) наблюдалось некоторое увеличение функциональной активности тромбоцитов по сравнению с исходными показателями, однако только у 1 больного (3%) было отмечено увеличение одновременно всех измеренных параметров — K₁, K₂ и степени агрегации. Трудно исключить возможность пропуска приема препарата у данных больных, но даже эти цифры позволяют сделать заключение о низкой частоте развития резистентности к клопидогрелу (Эгитромбу®) в обследуемой группе больных ИБС.

Кроме того, за 6 мес наблюдения у пациентов не было отмечено каких-либо осложнений, в том числе геморрагических, не было повторных госпитализаций и не зарегистрировано новых сердечно-сосудистых событий, в том числе инфаркта миокарда, эпизодов нестабильной стенокардии, ишемического инсульта головного мозга, смерти вследствие сердечно-сосудистых событий.

Обсуждение

Таким образом, для анализа эффективности антиагрегантной терапии можно использовать лабораторные методы, как стандартные, так и оригинальные на основе современных технологий. При этом высокотехнологичный метод индуцированной проточной тромбоцитометрии наиболее адекватно отражает степень реактивности тромбоцитов на фоне антиагрегантной терапии, так как основан на специфичной реакции антиген-антитело и позволяет регистрировать активацию клеток на молекулярном уровне. Следует отметить, что метод индуцированной проточной тромбоцитометрии может быть рекомендован для ранней оценки действия антиагрегантов и оптимизации терапии, если необходимо.

В настоящее время фотометрический метод определения индуцированной агрегации тромбоцитов по Борну является признанным в мире «золотым стандартом» оценки функции тромбоцитов, с ним сравниваются все новые технологии и подходы [19]. Однако эти сравнения показали плохую сопоставимость меж-

ду различными методами (PFA-100, импедансная агрегатометрия в цельной крови, VASP-фосфорилизация) и стандартной агрегатометрией по Борну [19,20]. В нашей работе при использовании двух лабораторных методов, стандартной агрегатометрии по Борну и индуцированной проточной тромбоцитометрии были получены сопоставимые данные по изменению функциональной активности тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии.

В данном исследовании эффективность клопидогрела (Эгитромб®) была доказана двумя лабораторными методами и подтверждена клинически — отсутствием сердечно-сосудистых событий в течение 6 мес наблюдения. Такой подход к ведению пациентов, принимающих антиагрегантные препараты, представляется оптимальным, что отмечают, в том числе, зарубежные исследователи [21].

В обследованной нами группе пациентов отмечена хорошая переносимость двойной антиагрегантной терапии (АСК+клопидогрел), а также высокая чувствительность пациентов к терапии. Не было зарегистрировано каких-либо геморрагических осложнений в период наблюдения, и была выявлена низкая частота резистентности к клопидогрелу — 1 человек (3%) из 30 включенных в исследование больных ИБС. Согласно эпидемиологическим данным резистентность к клопидогрелу развивается у 4–44% пациентов [19, 22]. Эти цифры, с одной стороны, зависят от лабораторного метода, который применяется для оценки функциональной активности тромбоцитов, а

с другой — определяются приверженностью больного лечению.

Данное исследование не может в полной мере ответить на вопрос о лабораторных критериях резистентности к клопидогрелу на основе параметров индуцированной проточной тромбоцитометрии ввиду малой выборки пациентов, небольшого срока наблюдения и наличия двойной антиагрегантной терапии. Однако как пилотное исследование данная работа вносит вклад в решение проблемы лабораторного контроля для определения эффективности антиагрегантной терапии и показывает преимущества метода индуцированной проточной тромбоцитометрии, позволяющего оценивать активность клетки на молекулярном уровне перед традиционными исследованиями функции тромбоцитов.

Заключение

Сочетанное применение лабораторных методов оценки функциональной активности тромбоцитов (традиционных и высокотехнологичных) предоставляет кардиологу дополнительный инструмент в оценке эффективности антиагрегантной терапии у больных ишемической болезнью сердца. При этом метод индуцированной проточной тромбоцитометрии рекомендуется для ранней оценки действия антиагрегантов.

Конфликт интересов. Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература

1. Trip M.D., Cats M., van Cappelle F.J., Vreken J. Platelet hyperreactivity and prognosis in survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1990; 322(22): 1549–1554
2. Koenig W. Haemostatic risk factors for cardiovascular diseases. *Eur Heart J* 1998; 19(Suppl.C): C39–C43
3. Ruksin V.V. Thrombosis in cardiology practice. Moscow: Binom, 1998. Russian (Руксин В.В. Тромбозы в кардиологической практике. М.: Бином, 1998).
4. Ardisson D., Mannucci P.M., Merlini P.A. et al. Protrombotic genetic risk factors in young survivors of myocardial infarction. *Blood* 1999; 94: 46–51
5. Folsom A.R. Hemostatic risk factors for atherothrombotic disease: an epidemiologic view. *Thromb Haemost* 2001; 86: 366–373
6. Bokarev I.N., editor. Antiplatelet therapy in clinical practice. Guidelines. Moscow: RKI Sovero press; 2008. Russian (Бокарев И.Н., редактор. Противотромбоцитарная терапия в клинической практике. Методические рекомендации. М.: РКИ Соверо пресс; 2008).
7. Meadows T.A., Bhatt D.L. Clinical aspects of platelet inhibitors and thrombus formation. *Circ Res* 2007; 100: 1261–1275
8. Cattaneo M. New P2Y12 blockers. *J Thromb Haemost* 2009; 7(Suppl): 262–265
9. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomized trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002; 324: 71–86
10. Oestreich J.H., Smyth S., Campbell Ch. Platelet function analysis: at the edge of meaning. *Thromb Haemost* 2009; 101(2): 217–219
11. Guyatt G.H., Akl E.A., Crowther M. et al. Executive Summary: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012; 141: 75–475
12. Hayward C.P.M. Advances in understanding "high on-treatment platelet reactivity". *Thromb Haemost* 2009; 102: 799–800
13. Born G. V. Quantitative investigations into aggregation of blood platelets. *J Physiol* 1962; 162: 67–68
14. Born G.V. Aggregation of platelet by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1964; 194: 927–929
15. O'Brien D.K., Heywood J.B., Heady J.A. The quantitation of platelet aggregation induced by four compounds: A study relation to myocardial infarction. *Thromb Haemorrh* 1966; 16: 725–767
16. Sirotkina O.V., Bogankova N.A., Laskovets A.B. et al. Immunological methods in the evaluation of platelet function in patients with cardiovascular diseases. *Meditsinskaya Immunologiya* 2010; 12(3): 213–218. Russian (Сироткина О.В., Боганькова Н.А., Ласковец А.Б. и соавт. Иммунологические методы в оценке функциональной активности тромбоцитов у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Медицинская Иммунология 2010; 12(3): 213–218).
17. Sirotkina O.V., Gaykova L.B., Vavilova T.V., et al. A method for evaluating the effectiveness of antiplatelet drugs that affect the metabolism of arachidonic acid by inhibiting cyclooxygenase-1 both individually and jointly with ADP receptor antagonist P2Y12 platelet membranes on, the state of blood platelets patient taking antiplatelet drugs of this group. Patent № 2442167. Russian (Сироткина О.В., Гайкова Л.Б., Вавилова Т.В., и др. «Способ оценки эффективности действия антиагрегантных препаратов, влияющих на метаболизм арахидоновой кислоты путем ингибирования циклооксигеназы-1 как в отдельности, так и совместно с антагонистом рецептора АДФ P2Y12 на тромбоцитарных мембранах, на состояние тромбоцитов крови пациента, принимающего антиагрегантные препараты указанной группы». Патент на изобретение № 2442167).
18. Sirotkina O.V., Vavilova T.V. Algorithms for molecular genetic testing to determine individual sensitivity to antiplatelet drugs – a step toward personalized medicine. *Aterotromboz* 2012; (1): 49–55. Russian (Сироткина О.В., Вавилова Т.В. Алгоритмы лабораторного молекулярно-генетического исследования для определения индивидуальной чувствительности к антиагрегантным препаратам — шаг навстречу персонализированной медицине. Атеротромбоз 2012; (1): 49–55).
19. Marcucci R., Gori A.M., Panicia R. et al. High on-treatment platelet reactivity by more than one agonist predict 12-month follow-up cardiovascular death and non-fatal myocardial infarction in acute coronary syndrome patients received coronary stenting. *Thromb Haemost* 2010; 104(2): 279–286
20. Vlachojannis G.J., Dimitropoulos G., Alexopoulos D. Clopidogrel resistance: current aspects and future directions. *Hellenic J Cardiol* 2011; 52: 236–245
21. da Silva F.B., de Almeida Junior G.L.G., Neno A. Resistance to clopidogrel: prevalence and associate variables. *Arq Bras Cardiol* 2012; 99(6): 1135–1141

Поступила: 04.02.2013

Принята в печать: 07.02.2013