

Эффективность антиагрегантной терапии клопидогрелом у пациентов, перенесших инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST

О.В. Сироткина^{1,2}, Е.В. Богданова¹, Н.А. Боганькова¹, А.Н. Столярова², Т.В. Вавилова¹, С.А.Болдуева¹

¹Санкт-Петербургская Государственная Медицинская Академия им. И.И. Мечникова Росздрава,

²Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Российской академии наук. Санкт-Петербург, Россия

Clopidogrel effectiveness in patients with ST elevation myocardial infarction

O.V. Sirotkina^{1,2}, E.V. Bogdanova¹, N.a. Bogan'kova¹, A.N. Stolyarova², T.V. Vavilova¹, S.A. Boldueva¹

¹I.I. Mechnikov St Petersburg State Medical Academy, ²B.P. Konstantinov St. Petersburg Institute of Nuclear Physics, Russian Academy of Sciences. St. Petersburg, Russia

Цель. Анализ эффективности терапии клопидогрелом (Зилт®) у больных, перенесших инфаркт миокарда (ИМ), в зависимости от генетических вариантов цитохромов P-450 3A и тромбоцитарных рецепторов для аденозиндифосфата (АДФ), фибриногена, коллагена.

Материал и методы. В исследование были включены 34 пациента, перенесшие ИМ с подъемом сегмента ST (ИМ↑ST). В качестве контроля эффективности антиагрегантной терапии была измерена АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов фотометрическим методом. Детекция полиморфных вариантов A-293G CYP3A4, G6986A CYP3A5, C18T и G36T P2Y12, Leu33Pro GPIIa, C-154T и T13254C GPVI, C807T GPIa проводилась методом полимеразной цепной реакции с последующим рестрикционным анализом с использованием соответствующих эндонуклеаз.

Результаты. На фоне терапии средняя степень агрегации снижалась — 23,5±2,5 %, 32,9±2,8 %, 40,0±3,1 % и 16,3±2,6 %, 27,0±3,0 %, 35,0±3,4 % во 1-ой и 2-ой точках измерения для 2,5, 5 и 10 мкМ АДФ, соответственно (p<0,04, p<0,1); Носители мутаций G36T P2Y12, C-154T и T13254C GPVI, C807T GPIa и лица с отсутствием протективного аллеля T18 P2Y12, изначально показывая более высокую степень агрегации, более эффективно ее снижали. Исключение составила мутация Leu33Pro GPIIa, при которой не уменьшилась степень агрегации тромбоцитов. Была обнаружена более высокая эффективность клопидогрела у лиц с мутацией A-293G CYP3A4, для G6986A CYP3A5 статистически значимые зависимости отсутствовали.

Заключение. Клопидогрел снижает агрегацию тромбоцитов у пациентов с ИМ↑ST, при этом только носительство Leu33Pro GPIIa уменьшает его эффективность.

Ключевые слова: клопидогрел, агрегация тромбоцитов, генетические полиморфизмы, тромбоцитарные рецепторы, цитохром P-450 3A4, цитохром P-450 3A5.

Aim. To analyse the effectiveness of clopidogrel therapy (Zilt®) in patients with myocardial infarction (MI), according to genetic variants of P-450 3A cytochromes, platelet adenosine diphosphate (ADPH) receptors, fibrinogen and collagen.

Material and methods. The study included 34 patients with ST elevation MI (MI-ST). Antiaggregant therapy effectiveness was assessed based on ADPH-induced platelet aggregation (photometric method by Born). Polymorphisms A-293G CYP3A4, G6986A CYP3A5, C18T and G36T P2Y12, Leu33Pro GPIIa, C-154T and T13254C GPVI, C807T GPIa were detected by polymerase chain reaction method, with subsequent restriction endonuclease-based analysis.

Results. Clopidogrel therapy was associated with reduced aggregation — 23,5±2,5 %, 32,9±2,8 %, 40,0±3,1 % and 16,3±2,6 %, 27,0±3,0 %, 35,0±3,4 % at points 1 and 2 for 2,5, 5 and 10 mkM of ADPH, respectively (p<0,04, p<0,1). Individuals with polymorphisms G36T P2Y12, C-154T and T13254C GPVI, C807T GPIa, as well as

people with no protective allele T18 P2Y12, demonstrated higher aggregation at baseline and more effective reduction associated with therapy. One exception, Leu33Pro GPIIa mutation, was observed, linked to no reduction in platelet aggregation. Clopidogrel was more effective in participants with A-293G CYP3A4 mutation, while no clear associations were observed for G6986A CYP3A5.

Conclusion. Clopidogrel effectively reduced platelet aggregation in patients with MI-ST, with one exception — Leu33Pro GPIIa mutation.

Key words: Clopidogrel, platelet aggregation, genetic polymorphisms, platelet receptors, cytochrome P-450 3A4, cytochrome P-450 3A5.

Активация и агрегация тромбоцитов играют центральную роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), включая острый коронарный синдром, ишемический инсульт, заболевания периферических артерий и др. В настоящее время ингибирование тромбоцитарной агрегации является ключевым терапевтическим подходом в лечении и профилактике этой патологии. Теоретически процесс тромбообразования можно блокировать на различных уровнях, однако на практике широкое применение нашли следующие группы антитромбоцитарных средств: блокаторы синтеза тромбоксана A2 (аспирин), блокаторы аденозиндифосфатных (АДФ)-рецепторов тромбоцитов (клопидогрел и другие препараты из класса тиенопиридов) и блокаторы рецептора фибриногена IIb/IIIa (абциксимаб, интегрилин и др.). Результаты исследований CAPRIE (Clopidogrel versus Aspirin in Patients at Risk of Ischaemic Events), CURE (Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events) и CREDO (Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation) показали высокую эффективность клопидогрела во вторичной профилактике неблагоприятных клинических исходов [1–3]. Но одновременно были получены данные о варьировании индивидуального ответа на клопидогрел, и описан феномен резистентности к нему [4–8].

Клопидогрел является пролекарством, которое под действием ферментов системы печеночных цитохромов P-450 CYP3A4 и CYP3A5 метаболизируется до активного 2-оксаклопидогрела, селективно блокирующего АДФ-рецепторы тромбоцитов, в первую очередь P2Y12, таким образом, угнетая связывание рецепторов с АДФ и предупреждая активацию комплекса IIb/IIIa [9].

Возможной причиной снижения эффективности клопидогрела может быть высокая активность тромбоцитов, в т.ч. обусловленная мутацией гена GPIIa субъединицы рецептора фибриногена IIb/IIIa — Leu33Pro, другая причина — генетические нарушения в мишени клопидогрела рецепторе P2Y12, индивидуальные особенности системы метаболизма препарата, мутации рецепторов коллагена [10–12].

Целью настоящей работы явился анализ эффективности терапии клопидогрелом (Зилт®, КРКА, Словения) у больных, перенесших инфаркт миокарда (ИМ), в зависимости от генетических вариантов цитохромов P-450 3A и тромбоцитарных рецепторов для АДФ, фибриногена, коллагена.

Материал и методы

В исследование были включены 34 пациента (25 мужчин и 9 женщин, средний возраст — 61 ± 2 года), перенесших ИМ с подъемом сегмента ST (ИМ[↑]ST). Пациенты наблюдались в клинике СПбГМА им. И.И. Мечникова в течение 30 дней после начала заболевания. Сразу после госпитализации и постановки диагноза ИМ[↑]ST больным назначали двойную антитромбоцитарную терапию: аспирин 100 мг/сут. + клопидогрел (Плавикс®). С 5 дня в терапию вместо Плавикса® включали клопидогрел 75 мг/сут. (Зилт®), прием которого сохранялся далее в течение всего периода наблюдения.

В качестве контроля эффективности антиагрегантной терапии была измерена АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов фотометрическим методом по Борну на агрегометре SOLAR (Беларусь) на 3–4 сут. (1-ая точка) и на 12–15 сут. (2-ая точка, не менее 7 сут. терапии аспирином + Зилт®) после госпитализации при концентрации индуктора 2,5; 5 и 10 мкМ. Результат оценивали по изменению степени светопропускания (Т, %) в точке максимума.

Для детекции полиморфных вариантов исследуемых генов использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом с применением соответствующей эндонуклеазы, как было описано ранее [13–19]. Для идентификации нуклеотидной замены аденин на гуанин в промоторной области гена, кодирующего изоформу 3A4 цитохрома P-450 (A-293G CYP3A4), использовали эндонуклеазу *Pst*I. Продукты рестрикционного анализа разделялись в полиакриламидном геле (ПААГ), визуализация результатов проводилась в УФ-свете после окраски геля бромистым этидием. Мутантный аллель содержит дополнительный сайт рестрикции и о его наличии свидетельствует дополнительный фрагмент участка дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Замена гуанин на аденин в положении 6986 нуклеотидной последовательности гена, кодирующего изоформу 3A5 цитохрома P-450 (G6986A CYP3A5) определялась с помощью эндонуклеазы *Sal*I, аналогично описанному выше полиморфизму, мутантный аллель 6986A CYP3A5 содержал сайт рестрикции, что позволяло его идентифицировать в УФ-свете после разделения в ПААГ и окраски бромистым этидием. Для детекции генетических вариантов в кодирующей области гена АДФ-рецептора тромбоцитов P2Y12 были разработаны оригинальные олигонуклеотиды. Замена цитозин на тимин в 18 положении нуклеотидной последовательности гена P2Y12 (C18T P2Y12) определялась с помощью эндонуклеазы *Mni*I. Замена гуанин на тимин в 36 положении нуклеотидной последовательности гена P2Y12 (G36T P2Y12) определялась с помощью эндонуклеазы *Sec*I. Мутантный аллель и в случае C18T, и в случае G36T терял один сайт рестрикции. Мутация Leu33Pro GPIIa, заключающаяся в замене аминокислоты лейцин на пролин в 33 положении аминокислотной последовательности IIa субъединицы рецептора тромбоцитов IIb/IIIa идентифицировалась с использованием эндонуклеазы рестрикции *Msp*I. Аллель 33Pro GPIIa содержит два сайта рестрикции, тогда как аллель 33Leu GPIIa — один сайт, что

Таблица 1

Изменение агрегационной активности тромбоцитов на фоне антиагрегантной терапии в зависимости от исследованных генетических вариантов.

Исследованные генетические варианты		Степень АДФ-индуцированной агрегации Т, %					
		1-ая точка измерения			2-ая точка измерения		
		2,5 мкМ	5 мкМ	10 мкМ	2,5 мкМ	5 мкМ	10 мкМ
Leu33Pro GP IIIa	LeuLeu	25,4±3,1	36,6±2,7	42,2±3,4	17,1±3,3*	23,6±2,7*	32,2±4,0*
	LeuPro	21,8±4,4	27,5±6,4	36,6±7,7	16,7±5,4	32,4±7,7	39,6±7,3
C18T P2Y12	CC	24,7±2,9	34,3±3,6	40,9±4,0	15,5±3,4*	26,4±4,8**	34,4±4,7
	CT+TT	21,2±4,2	30,3±4,1	38,6±5,1	17,4±4,3	26,1±3,2	33,8±5,0
G36T P2Y12	GG	21,5±2,7	30,9±3,0	38,3±3,6	17,8±3,0	25,8±2,6	34,4±3,5
	GT+TT	30,3±5,2	40,6±6,1	47,5±4,8	8,8±2,9*	28,2±13,1	32,6±11,2
C-154T GP VI	CC	15,6±2,1	24,4±4,0	32,8±5,0	10,7±4,0	21,1±6,3	29,3±4,0
	CT+TT	24,7±2,9	34,1±3,1	41,2±3,6	17,2±3,0**	27,1±3,3**	34,9±3,9
T13254C GP VI	TT	20,4±3,7	29,1±3,8	39,1±4,3	15,4±4,2	25,3±4,2	32,7±4,7
	TC	25,1±3,3	34,7±3,8	40,3±4,5	17,0±3,4*	27,0±4,2**	35,2±4,8
C807T GP Ia	CC	17,4±5,3	26,4±6,6	36,7±8,6	22,3±6,7	29,1±3,8	36,1±5,9
	CT+TT	24,9±2,9	33,8±3,1	42,8±3,3	13,9±2,9*	24,9±3,9*	33,5±4,5*
A-293G CYP3A4	AA	22,7±3,2	31,3±3,6	39,9±3,9	17,2±3,5	27,5±3,9	36,6±4,3
	AG+GG	18,8±4,4	33,8±7,8	47,2±9,4	16,3±3,9	23,1±4,7	28,1±6,1*
G6986A CYP3A5	GG	23,5±2,7	31,8±3,4	38,7±3,4	16,9±3,5**	27,0±4,0	35,3±4,5
	GA+AA	23,3±7,1	38,6±7,8	51,1±9,5	16,9±2,7	24,6±2,9	31,1±3,8

Примечание: * $p < 0,05$ (варьируется от 0,005 до 0,05), ** $p < 0,1$ (варьируется от 0,06 до 0,09).

позволяет их идентифицировать. Нуклеотидные замены цитозин/тимин в промоторной области (C-154T GPVI) и тимин/цитозин в 13254 положении кодирующей области гена рецептора коллагена GPVI (T13254C GPVI) идентифицировали, используя эндонуклеазы *Mro*NI и *Msp*I, соответственно. Нуклеотидную замену цитозин на тимин в 807 положении последовательности ДНК гена Ia субъединицы рецептора коллагена Ia-IIa (C807T GPIa) детектировали при помощи эндонуклеазы *Bgl*II. Визуализацию результатов рестрикционного анализа генов тромбоцитарных рецепторов проводили, как было описано выше.

При статистической обработке результатов использовали программы Statistica 6.0. Числовые показатели исследуемых параметров представлены как средние значения со стандартным отклонением этого значения. Для сравнения средних значений в различных группах использовали непараметрические методы — U-тест Манн-Уитни.

Результаты

Из 34 обследованных лиц 29 (85 %) в качестве сопутствующей патологии имели артериальную гипертензию, 4 пациента (12 %) — сахарный диабет 2 типа, 11 больных (32 %) — избыточную массу тела (МТ), средний индекс МТ составил 28,4 кг/м², 19 (56 %) — отягощенную наследственность по ССЗ, курили на момент заболевания 4 пациента (12 %), атеросклероз был диагностирован у 12 (35 %) и дислипидемия у 22 пациентов (65 %). До эпизода ИМ↑ST 11 пациентов принимали лекарственную терапию: β-адреноблокаторы, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, статины, диуретики, из них 4 человека, в т.ч. принимали аспирин.

32 пациента были выписаны из клиники без каких-либо серьезных осложнений, 2 пациента умерли в течение 1 месяца после выписки из клиники: нарушения сердечного ритма, тромбоэмболия легочной артерии

(ТЭЛА). У 4 пациентов на фоне двойной антитромбоцитарной терапии наблюдались геморрагические осложнения: 2 — подкожные гематомы, 1 — кровоточивость десен, 1 — гематурия, по этой причине в двух случаях клопидогрел был отменен на 9 и 14 сут.

Прием антитромбоцитарных препаратов снижал степень АДФ-индуцированной агрегации. Эффект терапии накапливался и средняя степень агрегации снижалась — с 23,5±2,5 %, 32,9±2,8 %, 40,0±3,1 % до 16,3±2,6 %, 27,0±3,0 %, 35,0±3,4 %, соответственно в 1-ой и 2-ой точках измерения для 2,5; 5 и 10 мкМ АДФ ($p < 0,04$, $p < 0,1$). Следует отметить, что средняя степень АДФ-индуцированной агрегации у большинства пациентов не превышала 50–70 %, т. е. максимальной границы для Т (%) в нормальной плазме здоровых лиц [20]. Исключение составили 2 умерших пациента, у которых на фоне лекарственной терапии не наблюдалось снижения агрегационной активности тромбоцитов. Значения АДФ-индуцированной агрегации (концентрация АДФ10 мкМ) у этих больных превышали 50 % и 75 % соответственно, при измерении во 2-ой точке.

Генетические варианты A-293G CYP3A4, G6986A CYP3A5, C18T и G36T P2Y12, Leu33Pro GPIIIa, C-154T и T13254C GPVI, C807T GPIa проанализированы у 32 пациентов. При первом измерении не было обнаружено ассоциации между активностью тромбоцитов и исследуемыми генетическими вариантами. Однако в динамике наблюдалось следующее: носители мутаций G36T P2Y12, C-154T и T13254C GPVI, C807T GPIa и лица с отсутствием протективного аллеля T18 P2Y12, изначально показывая более высокую степень агрегации, на фоне терапии более эффективно ее снижали (таблица 1).

Исключение составила мутация Leu33Pro GP IIIa, при которой не наблюдалось уменьшения степени агрегации тромбоцитов (таблица 1). Следует отметить, что умершие пациенты были носителями данной мутации в гетерозиготном состоянии.

Была обнаружена более высокая эффективность клопидогрела у лиц с мутацией A-293G CYP3A4, отвечающей за повышение уровня экспрессии гена и количества фермента. Степень агрегации при 10мкМ АДФ составила $47,2 \pm 9,4$ % и $28,1 \pm 6,1$ % у лиц с AG генотипом vs $39,9 \pm 3,9$ % и $36,6 \pm 4,3$ % у больных с AA генотипом до и после терапии, соответственно ($p < 0,05$). Для G6986A CYP3A5 статистически значимые зависимости отсутствовали (таблица 1).

Следует отметить, что представленные в таблице 1 различия не всегда достигали уровня статистической значимости, возможно вследствие малого объема исследуемой выборки.

Обсуждение

Ранее была показана биоэквивалентность препарата Зилт® Плавиксу® и его эффективность в предотвращении повторных эпизодов ИМ и ишемического инсульта головного мозга [21–23]. Работа продемонстрировала эффективность препарата Зилт® в отношении больных, перенесших ИМ↑ST. Агрегационная активность тромбоцитов, индуцированная АДФ, достоверно снижалась на фоне приема препарата в период наблюдения за госпитализированными пациентами. В целом пациенты хорошо переносили Зилт®, только в двух случаях развившиеся геморрагические осложнения потребовали его отмены.

В последние годы широко обсуждаются подходы и лабораторные методы, применяемые для контроля антиагрегантной терапии. Наиболее адекватными и клинически значимыми называют измерение индуцированной агрегации тромбоцитов и PFA-100 анализ (platelet function analyzer – моделирование процесса повреждения сосудистой стенки и образования тромбоцитарной пробки, закрывающей просвет в картридже, обработанном коллагеном/эпинефрином или коллагеном/АДФ), а также наблюдение за клиническими исходами. При приеме клопидогрела имеет значение оценка АДФ-индуцированной агрегации [11,24]. В настоящей работе для контроля тромбоцитарной активности было использовано измерение АДФ-индуцированной агрегации фотооптическим методом при 3-х концентрациях индуктора, что позволило оценить изменение степени агрегации тромбоцитов у пациентов, перенесших ИМ↑ST и принимающих Зилт®. Измерения при концентрации АДФ 10мкМ являются наиболее значимыми для выявления резистентности к препарату.

Следует отметить, что сегодня не существует четко определенных критериев изменения степени агрегации при антиагрегантной терапии. По полу-

ченным результатам у большинства обследованных пациентов этот параметр не превышал 50–70 %, т. е. максимальной границы для Т (%) в норме [20]. Только у 3 больных этот показатель приблизился к 80 %, причем только у одного – на фоне приема Зилта®. Данный пациент являлся носителем мутации Leu33Pro GP IIIa, степень агрегации тромбоцитов при измерении в первой точке (АДФ 10мкМ) составила 57 %, а во второй точке увеличилась до 77 %, в качестве сопутствующей патологии у него наблюдались ТЭЛА и фибрилляция предсердий, больной умер через месяц после выписки из клиники от повторного эпизода ТЭЛА.

Клопидогрел-резистентность по данным разных авторов варьирует в широких пределах и наблюдается у 4 %-30 % пациентов [4,5]. Под клопидогрел-резистентностью подразумевается отсутствие снижения функциональной активности тромбоцитов или развитие неблагоприятных клинических исходов на фоне приема препарата. Как и в зарубежных исследованиях [14] было показано, что генетические варианты АДФ-рецептора P2Y₁₂ и цитохрома CYP3A5 не вносят значительного вклада в индивидуальную чувствительность к клопидогрелу.

В настоящем исследовании полиморфизм A-293G CYP3A4, увеличивающий экспрессию гена и количество фермента, был ассоциирован с большей эффективностью клопидогрела. Однако частота его в группе наблюдения составила ~ 10 %, и вклад в определение межиндивидуальных различий при антиагрегантной терапии оказался также незначителен, что не противоречит ранее полученным данным [25,26].

Проанализированные генетические варианты тромбоцитарных рецепторов коллагена GP VI и GPIa-IIa ранее связывали с развитием аспирирезистентности, высокой активностью тромбоцитов и развитием сердечно-сосудистой патологии [12,17,18,27–29]. Подтвердилось, что данные варианты определяли более высокую агрегацию тромбоцитов, тем не менее, носители полиморфных аллелей лучше реагировали на антиагрегантную терапию Зилтом® и эффективно снижали АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов.

Результаты проведенного исследования продемонстрировали, что единственным генетическим фактором, влияющим на снижение эффективности клопидогрела и развитие клопидогрел-резистентности, является мутация IIIa субъединицы рецептора фибриногена P_{1b}/IIIa – Leu33Pro GP IIIa. Полученные данные еще раз подтверждают необходимость изучения генетических механизмов развития резистентности к антиагрегантным препаратам, т. к. дополняют список противоречивых результатов, где наличие 33Pro аллеля описывают и как фактор риска развития резистентности к аспирину и клопидогрелу, и напротив как генотип лучше

отвечающий или не влияющий на терапию клопидогрелом [12,30–32].

Таким образом, на основании проведенного исследования можно заключить, что Зилт® эффективно снижает агрегацию тромбоцитов у пациентов с ИМ ↑ ST. Этот эффект сохраняется, и даже более выражен

у пациентов, генетически предрасположенных к аспиринорезистентности. Только наличие полиморфизма Leu33Pro GРІІа уменьшает эффективность Зилта®, что требует настороженного и внимательного отношения к носителям аллеля 33Pro, если генотип пациента известен.

Литература

1. A randomized, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet* 1996; 348: 1329–39.
2. The Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators (CURE). Effect of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2001; 345: 494–502.
3. Steinhubl S, Berger P, Mann J, et al. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention. A randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288: 2411–20.
4. Angiolillo D, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, et al. High clopidogrel loading dose during coronary stenting: effects of drug response and interindividual variability. *Eur Heart J* 2004; 25: 1903–10.
5. Gurbel P, Bliden K, Hayes K, et al. The relation of dosing to clopidogrel responsiveness and the incidence of high post-treatment platelet aggregation in patients undergoing coronary stenting. *JACC* 2005; 45: 1392–6.
6. Rocca B, Patrono C. Determination of the interindividual variability in response to antiplatelet drugs. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1597–602.
7. Jaremo P, Lindahl T, Fransson S, Richter A. Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. *J Intern Med* 2002; 252: 233–8.
8. Gurbel P, Bliden K, Hiatt B, O'Connor C. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003; 107: 2908–13.
9. Savi P, Heilmann E, Nurden P, et al. Clopidogrel: an antithrombotic drug acting on the ADP-dependent activation pathway of human platelets. *Clin Appl Thromb Haemost* 1996; 2: 35–42.
10. Schafer A. Genetic and Acquired Determinants of individual variability of response to antiplatelet drugs. *Circulation* 2003; 108: 910–1.
11. Michelson A. Platelet function testing in cardiovascular diseases. *Circulation* 2004; 110: e489–93.
12. Fontana P, Reny J. Pharmacogenetics and antiplatelet drugs. *Rev Med Interne* 2005; 26: 725–32.
13. van Schaik R, de Wildt S, Brosens R, et al. The CYP3A4*3 allele: Is it really rare? *Clinical Chemistry* 2001; 47: 1104–6.
14. Smith S, Heather M, Peters G, et al. Common sequence variations in the P2Y12 and CYP3A5 genes do not explain the variability in the inhibitory effects of clopidogrel therapy. *Platelets* 2006; 17: 250–8.
15. Sirotkina O, Novikova A, Vavilova T. The new single nucleotide polymorphisms of ADP receptor P2Y12 gene affected platelet aggregation and myocardial infarction development were found in Russia. *J Thromb Haemost* 2005; 3(Suppl 1): P0980.
16. Newman PJ, Derbes RS, Aster RH. The human platelet alloantigens, P1A1 and P1A2, are associated with a leucine33/proline33 amino acid polymorphism in membrane glycoprotein IIIa, and are distinguishable by DNA typing. *J Clin Invest* 1989; 83: 1778–81.
17. Best D, Senis Y, Jarvis G, et al. GPVI levels in platelets: relationship to platelet function at high shear. *Blood* 2003; 102: 2811–8.
18. Croft S, Samani N, Teare M, et al. Novel platelet membrane glycoprotein VI dimorphism is a risk factor for myocardial infarction. *Circulation* 2001; 104: 1459–63.
19. Di Paola J, Federici A, Mannucci P, et al. Low platelet a2b1 levels in type 1 von Willebrand disease correlate with impaired platelet function in a high shear stress system. *Blood* 1999; 93: 3578–82.
20. Берковский А.Л., Васильев С.А. 2007. Пособие по изучению адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов. Москва, НПО “РЕНАМ”.
21. Committee for proprietary medicinal products. Note for guidance on investigation of bioavailability and bioequivalence. EMEA 2001.
22. Jarvis B, Simpson K. Clopidogrel. A review of its use in the prevention of atherothrombosis. *Drugs* 2000; 60: 347–77.
23. Savi P, Herbert J. Clopidogrel and ticlopidine: P2Y12 adenosine diphosphate-receptor antagonists for the prevention of atherothrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2005; 31: 174–83.
24. Ivandic B, Schlick P, Staritz P, et al. Determination of clopidogrel resistance by whole blood platelet aggregometry and inhibitors of the P2Y12 receptors. *Clinical Chemistry* 2006; 52: 383–8.
25. Angiolillo D, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, et al. Contribution of gene sequence variations of the hepatic cytochrome P450 3A4 enzyme to variability in individual responsiveness to clopidogrel. *Arterioscler thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1895–900.
26. Fontana P, Hulot J, De Moerloose P, Gaussem P. Influence of CYP2C19 and CYP3A4 gene polymorphisms on clopidogrel responsiveness in healthy subjects. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 2153–5.
27. Joutsu-Korhonen L, Smethurst P, Rankin A, et al. The low-frequency allele of the platelet collagen signaling receptor glycoprotein VI is associated with reduced functional responses and expression. *Blood* 2003; 101: 4372–9.
28. Szczeklik A, Musial J, Undas A, Sanak M. Aspirin resistance. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1655–62.
29. Пчелина С.Н., Сироткина О.В., Шейдина А.М. и др. Генетические факторы риска развития инфаркта миокарда у мужчин молодого возраста, проживающих в северо-западном регионе России. *Кардиология* 2007; 7: 29–34.
30. Undas A, Sanak M, Musial J, Szczeklik A. Platelet glycoprotein IIIa polymorphism, aspirin and thrombin generation. *Lancet* 1999; 353: 982–3.
31. Dropinski J, Musial J, Jakiela B, et al. Anti-thrombotic action of clopidogrel and P1(A1/A2) polymorphism of beta3 integrin in patients with coronary artery disease not being treated with aspirin. *Thromb Haemost* 2005; 94: 1300–5.
32. Cooke G, Liu-Stratton Y, Ferketich A, et al. Effect of platelet antigen polymorphism on platelet inhibition by aspirin, clopidogrel, or their combination. *JACC* 2006; 47: 541–6.

Работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований (РФФИ № 08–04–00377-а) и Программой РАН “Фундаментальные науки — медицине”.

Поступила 10/12–2008