

Атеросклеротические бляшки в системе *ex vivo*

А. М. Лебедева*¹, Ж.-Ш. Гривель², О. И. Иванова¹, Д. В. Айолло³, А. В. Шпектор¹,
Е. Ю. Васильева¹, Л. Б. Марголис², О. Ю. Иванова⁴

¹Кафедра кардиологии ФПДО Московского государственного медико-стоматологического университета; ²Национальный институт детского здоровья и развития человека; ³Научно-исследовательский институт канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина, Москва; ⁴Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского, Москва

Цель. Разработка метода культивирования атеросклеротически измененных участков артерий человека *ex vivo*. **Материал и методы.** Участки коронарных и сонных артерий с атеросклеротическими бляшками, а также неизменная ткань артериальной стенки изучали макроскопически и разделяли на небольшие кубические и крупные кольцевидные блоки. Затем образцы подвергали культивированию в разработанной питательной среде в течение 12–22 дней. В первый день и каждые три дня часть культивируемых образцов исследовали с помощью гистологии. Также было изучено содержание живых и мертвых клеток в образцах с помощью проточной цитометрии.

Результаты. Мы показали, что выживаемость тканей при культивировании в кубических блоках малого размера снижается к 8–12-му дню. Количество живых клеток по результатам проточной цитометрии составило всего 19 живых клеток в 100 мг культивируемой ткани. Однако при культивировании крупных кольцевидных блоков выживаемость тканей была значительно выше. Целостность эндотелиального слоя и внутренней эластической мембраны, наиболее чувствительных к изменениям условий культивирования, сохранялась в течение 20–22 дней.

Заключение. Мы разработали методику культивирования атеросклеротических бляшек человека *ex vivo* с сохранением архитектоники эксплантатов при культивировании.

Ключевые слова: атеросклероз, атеросклеротическая бляшка, клеточная культура, человеческая органная культура, культивирование.

Objectives. To develop a model of culturing human atherosclerotic plaques *ex vivo*.

Materials and methods. Segments of coronary and carotid arteries with atherosclerotic plaques and normal arterial tissue were studied macroscopically and then dissected into small cubic blocks and large ring-shaped blocks. After that samples were cultured for 12–22 days in original culture medium. On the first day and every three days several samples of cultured tissue were analyzed histologically. For live/dead discrimination, cultured tissue samples were investigated with flow cytometry.

Results. We showed that tissue survival when cultured in small cubic blocks reduced to 8–12 day. According to the flow cytometry data the number of live cells was only 19 in 100 mg of cultured tissue. However, during cultivation of large ring-shaped blocks the survival of tissue was significantly higher. The integrity of endothelial layer and internal elastic membrane, the most sensitive to the changes in culture conditions, maintained for 20–22 days.

Conclusion. We have developed a method by which it became possible to cultivate the atherosclerotic plaque tissue *ex vivo* with preservation of the explants' architectonics during cultivation.

Key words: atherosclerosis, atherosclerotic plaque, cell culture, human organ culture, cultivation.

Введение

Еще в 1907 г. впервые были описаны методики изучения клеточных культур в контролируемых лабораторных условиях [5]. С тех пор монослойные клеточные культуры повсеместно используют для изучения различных механизмов функционирования клеток в организме человека. Однако для культивирования клетки изо-

лируют от типичного для них микроокружения. При этом становится невозможным адекватное изучение межклеточных взаимодействий, характерных для тканей, из которых были изъятые клетки. Целью нашего исследования была разработка метода культивирования атеросклеротически измененных участков артерий человека с сохранением архитектоники

* E-mail: asya.lebedev@mail.ru

эксплантатов при культивировании для изучения развития атеросклеротических бляшек, а также влияния различных инфекционных агентов на этот процесс. В нашей работе мы опирались на методику культивирования человеческих тканей, описанную J.-C. Grivel и L. B. Margolis [4]. С учетом предыдущего опыта основной задачей нашего исследования была проверка сохранения жизнеспособности тканей в процессе культивирования.

Материал и методы

Для получения материала использовались:

1. Участки коронарных артерий, полученные при аутопсиях у пациентов, умерших от инфаркта миокарда или инсульта. Материалы собирали не позднее, чем через 3 ч с момента наступления смерти пациентов.

2. Операционный материал: участки сонных артерий, полученные при операциях по поводу стенозирующего атеросклероза сонных артерий.

Участки сосудов с атеросклеротическими бляшками помещали в среду RPMI 1640 (фирмы «ПанЭко»), в которой их доставляли в лабораторию и хранили при комнатной температуре вплоть до их обработки не более чем через 2 ч после операции или вскрытия. Неизменная ткань артериальной стенки была взята у тех же доноров (при наличии).

Выделяли участки артерий с атеросклеротическими бляшками, как осложненные, так и неосложненные, а также участки сосудов без внешних морфологических изменений. Образцы экстрагировали с помощью хирургических стерильных одноразовых скальпелей, скальпелей со съемными лезвиями и стерильных анатомических пинцетов фирмы «АрехМед» в ламинарном шкафу с вертикальным потоком Bioком LSH-1 и в ламинарном шкафу с вертикальным потоком Nuairе Labgard Nu-603. Для удаления моноклеарных клеток периферической крови получен-

ный материал отмывали в фосфатно-солевом буфере (PBS). После этого материал делили на несколько частей. Все выделенные образцы артерий изучали макроскопически. Затем часть материала фиксировали в 2% параформальдегиде и заключали в парафин для дальнейшего гистологического исследования с помощью микроскопов «Olympus CKX41/CKX31» и «Carl Zeiss QS», а часть использовали для культивирования. Для этого атеросклеротические бляшки были отделены от нормальной ткани и нарезаны на кубики (длина стороны 2 мм). Нормальная ткань артериальной стенки также была нарезана на кубики.

Среда для культивирования клеток была приготовлена с использованием RPMI 1640, эмбриональной телячьей сыворотки (FBS), инактивированной нагреванием, пирувата натрия, пенициллина, стрептомицина и амфотерицина В, модифицированной среды Modified Eagle's (MEM), содержащей заменимые аминокислоты. Для того чтобы определить наличие мигрирующих из культивируемых образцов артерий клеток, на дно каждой чашки Петри было помещено стерильное покровное стекло. Блоки ткани были помещены в чашки Петри с питательной средой на границе раздела среда–воздух на коллагеновые губки, согласно методу, разработанному L. B. Margolis и соавт. [4]. Ткань культивировали в течение 12 дней, каждые три дня образцы тканей фиксировали в 2% параформальдегиде и их жизнеспособность оценивали с помощью гистологии. Все покровные стекла были тщательно исследованы на наличие мигрировавших из культивируемых образцов клеток, изучали их морфологию и показатели жизнеспособности.

На 12-й день все образцы культивируемых тканей были обработаны оригинальной оптимизированной смесью ферментов, которая позволяла выделять клетки и сохранять при этом поверхностные клеточные маркеры. Из образцов были выделены клетки и проведен их анализ на про-

точном цитофлуориметре для определения содержания живых и мертвых клеток. Для отделения живых клеток от мертвых клетки окрашивали, добавляя 2 мкл реактива, который содержит 1 мг/мл красителя, реагирующего с аминогруппой Pacific orange «Invitrogen» (США), к 1 мл клеточной суспензии, ресуспендированной в PBS.

Окраску проводили в 100 мкл клеточной суспензии, затем все содержимое пробирки пропускали через цитометр и анализировали. Это позволяло нам оценить количество клеток, содержащихся в 100 мкл. Также мы оценили количество клеток, содержащихся в 1 мг ткани. Для этого блоки ткани, из которых впоследствии были выделены клетки, взвешивали, а затем количество выделенных клеток подсчитывали на проточном цитометре, используя содержимое всей пробирки.

Окраску, дискриминирующую живые и мертвые клетки, проводили в течение 15 мин при комнатной температуре; затем клетки растворяли в большем объеме

PBS, содержащем 2% нормальной мышиной сыворотки, и после центрифугирования ресуспендировали в 1 мл буфера для окраски.

Сбор данных осуществляли в течение 24 ч после окраски при помощи программы Diva 6. 1. 3. Анализ данных проводили, используя программу FlowJo версии 9.3.3 («Tree Star», США).

Протокол исследования был одобрен этическим комитетом Московского государственного медико-стоматологического университета.

Результаты

Мы получали атеросклеротические бляшки коронарных и каротидных артерий и препарировали их, как описано выше. В предварительных опытах мы культивировали блоки этих бляшек в течение 12–22 дней. Анализ окраски гистологических срезов показал, что выживаемость тканей при культивировании в блоках размером 2×2×2 мм снижается к 8–12-му дню (рис. 1). Более того, при проведении про-

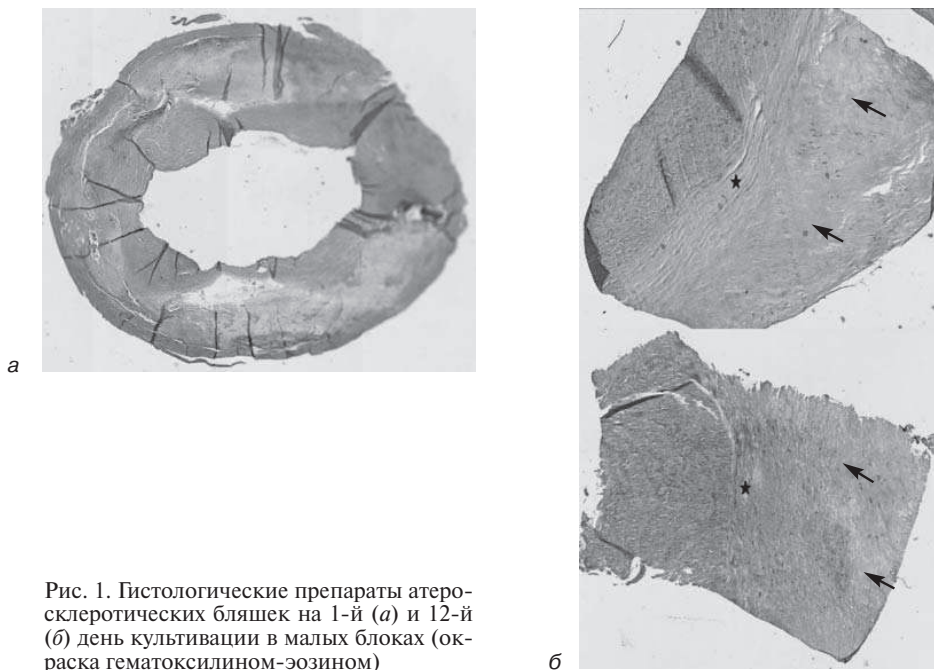


Рис. 1. Гистологические препараты атеросклеротических бляшек на 1-й (а) и 12-й (б) день культивации в малых блоках (окраска гематоксилином-эозином)

точной цитофлуориметрии уже на 7-й день культивирования было определено всего 19 живых клеток в 100 мг культивируемой ткани. Также не было обнаружено ни одной жизнеспособной клетки на покровных стеклах. Мы предположили, что если и происходит миграция клеток из культивируемых образцов, то они не перемещаются к покровному стеклу, а остаются внутри коллагеновой губки. В связи с этим покровные стекла больше не помещали на дно чашек Петри.

С учетом полученных нами предварительных данных мы провели модификацию протокола культивирования. Ткани нарезают на крупные кольцевидные блоки толщиной 2–3 мм и культивировали в среде аналогичного состава (см. протокол культивирования атеросклеротических бляшек). При анализе гистологических срезов было показано, что при культивировании крупных блоков выживаемость тканей была значительно выше, ткани сохранялись в течение 20–22 дней (рис. 2).

Для сохранения жизнеспособности тканей для культивирования промежутки времени от момента смерти до получения материала должен был составлять не более 3 ч. В связи с этим в наше исследование

было включено только два образца коронарных артерий, полученных при аутопсии. Первый образец культивировали по начальному протоколу и так же, как образцы каротидных артерий, его подвергали деструктуризации и некротизации на 8-е сутки. Во втором образце на 3-и сутки появилась микробная контаминация, что могло быть связано со сложностью воспроизведения стерильных условий при изъятии аутопсийного материала.

Воспроизводимость методики оценивали с помощью гистологии. Для этого проводили окрашивание кольцевидных блоков с помощью гематоксилина и эозина, их сканирование с помощью сканера для гистологических срезов и оценку морфологии образцов с помощью программы ImageScope S (см. рис. 1, 2). Сравнивали площадь участков некроза в последовательных образцах культивируемых тканей на 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19-й и 22-й дни. Также оценивали целостность эндотелиального слоя и внутренней эластической мембраны по сравнению с первым днем культивации.

На рисунке 1 хорошо заметна деструктуризация ткани (отмечено стрелками) на 12-й день культивирования тканей в малых блоках и большое количество клеток,

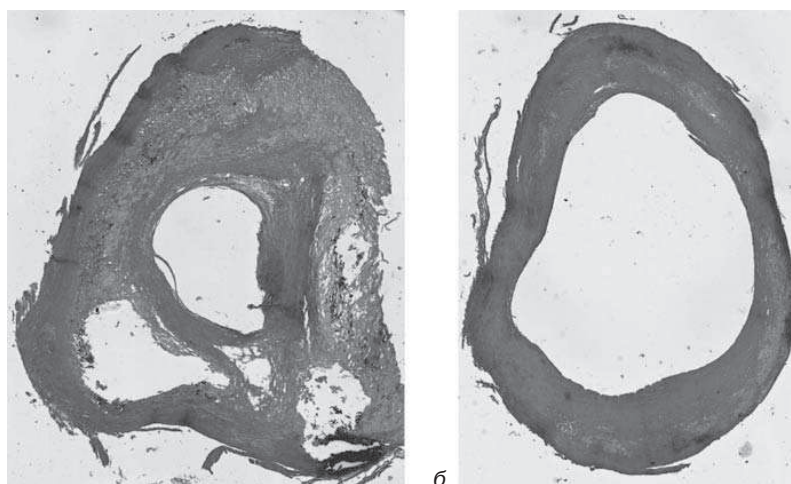


Рис. 2. Гистологические препараты атеросклеротических бляшек на 1-й (а) и 16-й (б) день культивации по модифицированному протоколу (окраска гематоксилином-эозином)

подвергшихся некрозу и апоптозу. Эти процессы определялись по наличию признаков кариопикноза, кариорексиса и кариолизиса в клетках интимы, высокой ацидофильности цитоплазмы клеток, гомогенизации и базофильности коллагеновых и эластических волокон (отмечено звездочками), а также по обнаружению формирующихся апоптотических телец с эозинофильной цитоплазмой.

На рисунке 2, напротив, четко видно, что на 16-й день культивации по модифицированному протоколу ткани не потеряли свою структуру, сохранен также эндотелиальный слой сосуда, наиболее чувствительный к изменениям условий культивирования, что доказывает длительную выживаемость культивируемых тканей по данному протоколу.

Протокол культивирования атеросклеротических бляшек

I этап:

1. Подготовили среду для перевозки тканей:

- RPMI 1640;
- заменимые аминокислоты (АК);
- пируват Na;
- стрептомицин + пенициллин + амфотерицин В.

2. Добавили в три стерильные десяти-миллилитровые пробирки по 5 мл стерильной среды для перевозки тканей, хранившейся при +4 °С.

3. Положили стерильным пинцетом бляшки с аутопсии/операции в три пробирки со средой:

- бляшки из инфарктсвязанной артерии/осложненные;
- бляшки из инфарктнесвязанной артерии/неосложненные;
- интактную ткань артерий.

II этап:

1. Подготовили среду для культивирования тканей:

- 1× RPMI 1640;
- 1× АК (100×);
- 1× пируват Na (100×);

– 1× стрептомицин + пенициллин + амфотерицин В (100 мМ);

– 15% FBS, инактивированная нагреванием;

– перемешать раствор 10 раз.

2. Сфотографировали все образцы сосудов.

3. Отпрепарировали ткани (отдельно осложненные и неосложненные бляшки, интактную ткань):

– удалили адвентицию;

– промыли ткани в 1× PBS 7,4 два раза по 5 мин;

– поместили ткани в чашки Петри 100×20 мм с 4 мл среды.

4. Обработка интактной ткани:

– отпрепарировали интактную ткань, разрежали ее на крупные блоки толщиной 2–3 мм от интимы до меди, положили блоки в чашку Петри 18×18 мм с 4 мл среды;

– положили один блок в стерильный одномиллилитровый эппендорф с 0,5 мл 2% параформальдегида и поместили в холодильник на +4 °С – далее см. IV этап;

5. Сменили лезвие скальпеля.

6. Обработка ткани атеросклеротических бляшек:

– разрежали бляшку на крупные кольцевидные блоки толщиной 2–3 мм перпендикулярно просвету сосуда;

– разложили блоки последовательно;

– положили один блок в стерильный одномиллилитровый эппендорф с 0,5 мл 2% параформальдегида и поместили в холодильник на +4 °С – далее см. IV этап.

7. Подготовили gelfoam:

– поместили gelfoam в чашку Петри 100×20 мм с 20 мл среды;

– удалили весь воздух из gelfoam;

– разрежали gelfoam на 4 части.

8. Положили 1/4 gelfoam в каждую чашку Петри.

9. Добавили 2,5 мл среды для культивирования в каждую чашку Петри.

10. Поместили блоки последовательно на gelfoam: по 1–2 блока ткани (в зависимости от размера блоков) на каждую 1/4 gelfoam.

III этап (каждые три дня эксперимента: 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22-й):

1. Удалили среду для культивирования из чашек Петри.

2. Добавили 2,5 мл новой среды в каждую чашку Петри.

3. Отложили один блок интактной ткани в стерильный одномиллилитровый эппендорф с 0,5 мл 2% параформальдегида и поместили в холодильник на +4 °С – далее см. IV этап.

4. Отложили один блок атеросклеротической бляшки в стерильный одномиллилитровый эппендорф с 0,5 мл 2% параформальдегида и поместили в холодильник на +4 °С – далее см. IV этап.

5. На 12–24-й день собрали все оставшиеся блоки, поместили в стерильные двухмиллилитровые эппендорфы и взвесили. Добавили в эппендорфы среду для перевозки тканей и перевезли для дальнейшей работы на флуоцитометре.

IV этап:

1. Заключение блоки из эппендорфов с 2% параформальдегидом в парафин.

2. Сделали срезы толщиной 5 мкм.

3. Окрасили срезы гематоксилином и эозином.

4. Оценили морфологию блоков и наличие некротизированных участков по сравнению с первым днем культивирования.

Результаты и обсуждение

В нашем исследовании мы культивировали интактные и атеросклеротически измененные участки коронарных и каротидных артерий и показали их выживаемость в течение более чем 20 дней культивации. Насколько нам известно, такие данные получены впервые.

Возможность культивирования блоков тканей, сохраняющих цитоархитектонику сосудистой стенки, позволяет исследовать прогрессирование атеросклеротических поражений *ex vivo*, а также влияние различных патогенов на этот процесс.

Между тем на сегодняшний день в исследованиях повсеместно используются

монослойные и трехмерные клеточные культуры [8, 9]. В кардиологии большинство фундаментальных исследований биологии тканей проводится на культурах эндотелиальных клеток, фибробластов, гладкомышечных клеток [1, 13, 14]. Однако независимо от типа используемых клеток монослойные клеточные культуры, применяемые в этих работах, не отражают сложность структурированных тканей человека *in vivo*.

При культивировании блоков сосудистой ткани человека мы обнаружили, что атеросклеротически измененные сосудистые ткани плохо сохраняются в процессе культивации. Это могло быть связано с большей гетерогенностью изучаемых нами тканей по сравнению с лимфоидными тканями, а также с большей чувствительностью эндотелиальных и других типов клеток, находящихся в атеросклеротических бляшках, к условиям культивирования.

Ранее, в экспериментальных исследованиях по культивированию интактных участков каротидных артерий и аорты мышей была показана выживаемость тканей при культивировании крупных участков сосудов (кольцевидных блоков толщиной около 3 мм) [2, 11].

В нескольких современных исследованиях проводилось культивирование интактных участков внутренней грудной и почечных артерий [6, 12]. При этом образцы так же разрезали перпендикулярно просвету сосуда на кольца толщиной от 2 до 5 мм. Выживаемость подобных крупных блоков интактных участков почечных артерий, полученных при нефрэктомии, была показана в течение более чем 56 дней [16, 17]. В связи с тем что в приведенных исследованиях использовались интактные участки артерий, оставался неясным вопрос о том, возможно ли сохранение жизнеспособности *ex vivo* при культивировании таких сложно структурированных тканей, как атеросклеротические бляшки.

Частично этот вопрос был разрешен в исследованиях В.-Y. Wang и D. Sukovich,

которые проводили культивирование атеросклеротически измененных участков аорты кроликов и мышей [15, 18]. В обоих исследованиях использовали протокол культивирования кольцевидных участков аорты толщиной 2–3 мм. В исследовании В.-У. Wang и соавт. изучалось влияние L-аргинина на выработку NO и индукцию апоптоза в атеросклеротических бляшках, а в исследовании D. Sukovich и соавт. изучалась базальная секреция IL-6 в бляшках и увеличение его секреции под действием 17β-эстрадиола. Однако основным недостатком обоих исследований была кратковременность культивации (4–24 ч). В связи с этим исследования позволяли изучить только ближайший эффект от вводимых препаратов.

Подобные исследования проводились также с использованием коронарных и каротидных артерий человека [3, 7, 10]. В исследовании J. A. Mogeno и соавт. сравнивалась экспрессия sCD163 и комплекса эластаза/α1-антитрипсин в атеросклеротических бляшках с кровоизлияниями и без кровоизлияний, а в исследовании G. Fortunato и соавт. было показано, что оксидативный стресс подавляет синтез параоксоназы-2 (внутриклеточного фермента с антиоксидантными свойствами). При этом в обоих исследованиях использовался протокол культивирования образцов артерий кубической формы размерами не более 3 мм³, из-за чего было невозможно оценить изменения в каждом отдельном слое артерий, так как происходило разделение слоев при формировании блоков. Только в одном исследовании, проведенном А. Н. Lebastchi и соавт., использовался протокол культивирования кольцевидных участков артерий толщиной 3 мм, и с его помощью было показано влияние экзогенной активации Т-лимфоцитов на образование IL-10 и TNF-α в атеросклеротических бляшках [7]. При этом, как и в исследованиях на животных, длительность культивации в перечисленных исследованиях была очень небольшой (24–96 ч).

Учитывая описанные данные, мы модифицировали протокол культивирования атеросклеротических бляшек. Мы показали, что при культивировании кольцевидных блоков по сравнению с кубическими блоками выживаемость тканей была значительно выше, ткани сохранялись в течение 20–22 дней.

Таким образом, мы разработали методику культивирования атеросклеротических бляшек человека *ex vivo*. Приведенная модель позволяет изучать развитие атеросклеротических бляшек в контролируемых лабораторных условиях.

Выводы

Разработана оригинальная методика, благодаря которой стало возможным культивировать ткани атеросклеротических бляшек человека *ex vivo*.

Литература

1. *Bachetti T., Morbidelli L.* Endothelial cells in culture: a model for studying vascular functions // *Pharmacol. Res.* 2000. Vol. 42. P. 9–19.
2. *Cho Y. E., Choi J. E., Alam M. J.* et al. Zinc deficiency decreased cell viability both in endothelial EA. hy926 cells and mouse aortic culture *ex vivo* and its implication for anti-atherosclerosis // *Nutr. Res. Practice.* 2008. Vol. 2. P. 74–79.
3. *Fortunato G., Di Taranto M. D., Bracale U. M.* et al. Decreased paraoxonase-2 expression in human carotids during the progression of atherosclerosis // *Arterioscler. Thrombos. Vasc. Biol.* 2008. Vol. 28. P. 594–600.
4. *Grivel J.-C., Margolis L.* Use of human tissue explants to study human infectious agents // *Nat. Protoc.* 2009. Vol. 4. P. 256–269.
5. *Harrison R.* Observations on the living developing nerve fiber // *Anat. Rec.* 1907. Vol. 1. P. 5–7.
6. *Huang B., Dreyer T., Heidt M.* et al. Insulin and local growth factor PDGF induce intimal hyperplasia in bypass graft culture models of saphenous vein and internal mammary artery // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2002. Vol. 21. P. 1002–1008.
7. *Lebastchi A. H., Qin L., Khan S. F.* et al. Activation of human vascular cells decreases their expression of transforming growth factor-beta // *Atherosclerosis.* 2011. Vol. 219. P. 417–424.
8. *Levin V. A., Panchabhai S., Shen L.* et al. Protein and phosphoprotein levels in glioma and adenocarcinoma cell lines grown in normoxia and hypoxia in monolayer and three-dimensional cultures // *Proteome science.* 2012. Vol. 10. P. 5.
9. *Lu H., Searle K., Liu Y.* et al. The effect of dimensionality on growth and differentiation of neural

- progenitors from different regions of fetal rat brain in vitro: 3-dimensional spheroid versus 2-dimensional monolayer culture // *Cells, tissues, organs*. 2012. Vol. 196. P. 48–55.
10. *Moreno J. A., Ortega-Gomez A., Delbosc S.* et al. In vitro and in vivo evidence for the role of elastase shedding of CD163 in human atherothrombosis // *Eur. Heart J*. 2011. Vol. 33, № 2. P. 252–263.
 11. *Ni C. W., Qiu H., Rezvan A.* et al. Discovery of novel mechanosensitive genes in vivo using mouse carotid artery endothelium exposed to disturbed flow // *Blood*. 2010. Vol. 116. P. e66–73.
 12. *Poppert S., Schlaupitz K., Marre R.* et al. Chlamydia pneumoniae in an ex vivo human artery culture model // *Atherosclerosis*. 2006. Vol. 187. P. 50–56.
 13. *Proudfoot D., Shanahan C.* Human vascular smooth muscle cell culture // *Methods Molecular Biol*. 2012. Vol. 806. P. 251–263.
 14. *Rohr S.* Cardiac fibroblasts in cell culture systems: myofibroblasts all along? // *J. Cardiovasc. Pharmacol*. 2011. Vol. 57. P. 389–399.
 15. *Sukovich D. A., Kauser K., Shirley F. D.* et al. Expression of interleukin-6 in atherosclerotic lesions of male ApoE-knockout mice: inhibition by 17beta-estradiol // *Arterioscler. Thrombos. Vasc. Biol*. 1998. Vol. 18. P. 1498–1505.
 16. *Voisard R., Krugers T., Reinhardt B.* et al. HCMV-infection in a human arterial organ culture model: effects on cell proliferation and neointimal hyperplasia // *BMC Microbiol*. 2007. Vol. 7. P. 68–74.
 17. *Voisard R., von Eicken J., Baur R.* et al. A human arterial organ culture model of postangioplasty restenosis: results up to 56 days after ballooning // *Atherosclerosis*. 1999. Vol. 144. P. 123–134.
 18. *Wang B. Y., Ho H. K., Lin P. S.* et al. Regression of atherosclerosis: role of nitric oxide and apoptosis // *Circulation*. 1999. Vol. 99. P. 1236–1241.

Поступила 20.06.2012

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В КАРДИОЛОГИИ

© И. И. ВОРОБЬЕВА, 2012

УДК 616.126-089.168+611-018.54

Современные методы оценки функции тромбоцитов и их клиническое значение у больных с острым коронарным синдромом

*И. И. Воробьева**

Кафедра кардиологии ФПДО Московского государственного медико-стоматологического университета

Антиагрегантная терапия является ключевым моментом в лечении острого коронарного синдрома. Несмотря на доказанную клиническую эффективность двойной антиагрегантной терапии аспирином и клопидогрелом, все больший интерес представляет определение индивидуальной чувствительности к антиагрегантам. Резистентность к действию аспирина и клопидогрела ассоциирована с высоким риском развития сердечно-сосудистых событий у больных, страдающих ишемической болезнью сердца. В настоящее время существует большое количество различных лабораторных методов определения функции

* E-mail: innastud@mail.ru