

Pengaruh Polimorfisme P2Y12 Pada Penggunaan Antiplatelet Terhadap Kejadian Stroke Berulang

Oktaviarika Dewi Hermawatiningsih*¹, Rahmawati Raising²

^{1,2} STIKES Bhakti Husada Mulia, Madiun, Jawa Timur, Indonesia

e-mail: *¹oktaviarika1717@gmail.com

Article Info

Article history:

Submission November 2023

Accepted Desember 2023

Publish JANuari 2023

Abstrak

Stroke merupakan keadaan defisit neurologik secara fokal dan global. Salah satu pengobatan yang digunakan adalah antiplatelet seperti clopidogrel yang dapat menghambat pembentukan trombus yang bisa menurunkan angka kematian. Dalam perkembangan pengobatan, terdapat variasi respon pasien terhadap terapi clopidogrel. Variasi respon tersebut seperti polimorfisme reseptor P2Y12 yang berdampak pada farmakokinetik dan farmakodinamik dari clopidogrel. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kejadian polimorfisme reseptor P2Y12 terhadap kejadian stroke berulang. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yaitu dengan cara pemeriksaan polimorfisme genetik P2Y12 dan dilakukan pemantauan setiap bulan untuk mengetahui kejadian stroke berulang. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah dari 20 sampel diperoleh jenis polimorfisme P2Y12 homozygot (*wild type*), untuk kejadian stroke berulang diperoleh 4 sampel yang mengalami kejadian stroke berulang, dan analisis pengaruh polimorfisme P2Y12 terhadap kejadian stroke berulang diperoleh nilai signifikansi $>0,05$, sehingga dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh antara polimorfisme P2Y12 terhadap kejadian stroke berulang.

Kata kunci Polimorfisme, Antiplatelet, Stroke Berulang

Ucapan terima kasih:

Abstract

Stroke is a condition of focal and global neurologic deficit. One of the treatments used is antiplatelet such as clopidogrel which can inhibit thrombus formation which can decrease mortality. In the development of treatment, there are variations in the patient's response to clopidogrel therapy. These response variations such as P2Y12 receptor polymorphisms that affect the pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel. The study aim to determine the effect of the incidence of P2Y12 receptor polymorphisms on the incidence of recurrent stroke. The method used in this research is the method Polymerase Chain Reaction (PCR) by examining the P2Y12 genetic polymorphism and monitoring every month to determine the incidence of recurrent stroke. The results obtained from this study are from 20 samples obtained homozygous P2Y12 polymorphism type(wildtypes),for the incidence of recurrent stroke obtained 4 samples who experienced recurrent stroke, and analysis of the influence of the P2Y12 polymorphism on the incidence of recurrent stroke obtained a significance value of > 0.05 , so in this study it can be concluded that there is no effect between the P2Y12 polymorphism on the incidence of recurrent stroke

Keyword Polimorfisme, Antiplatelet, Stroke Berulang

Alamat korespondensi:
Prodi DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal
Gedung A Lt.3. Kampus 1
Jl. Mataram No.09 Kota Tegal, Kodepos 52122
Telp. (0283) 352000
E-mail: parapemikir_poltek@yahoo.com

p-ISSN: 2089-5313
e-ISSN: 2549-5062

A. Pendahuluan

Stroke adalah keadaan ditemukan tanda klinis yang berkembang cepat berupa defisit neurologik fokal dan global yang dapat berlangsung selama 24 jam atau lebih dan dapat menyebabkan kematian [1]. Menurut data *World Stroke Organization* (WSO) menunjukkan setiap tahunnya terdapat 13,7 juta kasus baru stroke dan sekitar 5,5 juta kematian akibat penyakit stroke. Di Indonesia prevalensi stroke berdasarkan diagnosis dokter pada penduduk umur ≥ 15 tahun sebesar 10,9% atau diperkirakan sebanyak 28.886.669 orang. Di Provinsi Jawa Timur penyakit stroke menempati urutan ke tujuh sebesar 12,4% dari 34 provinsi di Indonesia atau diperkirakan sebanyak 4.898.105 orang. [2] Ada beberapa terapi stroke iskemik diantaranya trombolitik, antikoagulan, antiplatelet dan pembedahan. Salah satu terapi yang digunakan untuk penderita stroke iskemik adalah antiplatelet.

Antiplatelet merupakan golongan obat yang menghambat agregasi trombosit sehingga dapat menyebabkan terhambatnya pembentukan trombus. Terdapat berbagai jenis antiplatelet yang dapat digunakan, seperti cyclo-oxygenase-1 (COX-1) inhibitor (aspirin), antagonis reseptor P2Y12 dengan ADP (thienopyridine seperti ticlopidine, clopidogrel, prasugrel dan ticagrelor), antagonis glycoprotein IIb/IIIa (abciximab, eptifibatide dan tirofiban). Terdapat fakta bahwa beberapa pasien memiliki kondisi yang tidak baik terhadap hambatan agregasi platelet atau mengalami respon yang rendah terhadap terapi antiplatelet, dimana kondisi tersebut dapat dikatakan sebagai kondisi "resistensi" [3].

Antiplatelet golongan thienopyridine dapat menghambat reseptor P2Y12 ADP secara irreversibel. Dalam perkembangannya terdapat beberapa faktor yang menyebabkan variasi respon pasien terhadap terapi clopidogrel. Variasi respon terhadap clopidogrel tersebut berdampak pada farmakokinetik maupun farmakodinamik dari clopidogrel. Pada reseptor P2Y12 diketahui memiliki variasi genetik yang dapat meningkatkan agregasi platelet dan juga memiliki peran dalam menimbulkan *Coronary Artheri Disease* (CAD) [4]. Beberapa faktor yang mempengaruhi variasi dari efektivitas clopidogrel antara lain polimorfisme reseptor P2Y12, ketidakpatuhan, diet, status merokok, usia dan pengobatan lain (interaksi antar obat) [5]. Polimorfisme genetik yang terjadi pada reseptor P2Y12 menjadi salah satu faktor

penyebab variasi respon terhadap clopidogrel [6].

Reseptor P2Y12 merupakan reseptor yang mempengaruhi aktivitas platelet jika terjadi stimulasi [7]. Stimulasi pada reseptor P2Y12 menyebabkan hambatan pada *adenilat siklase* dan aktivasi dari *phosphoinositide-3 kinase* yang efek akhir dari aktivitas tersebut adalah terjadi peningkatan aktivitas pada reseptor glycoprotein IIb-IIIa (GPIIb-IIIa) terhadap fibrinogen sehingga berpengaruh pada ikatan antara fibrinogen dan agregasi platelet [8]. Polimorfisme genetik reseptor P2Y12 memiliki keterkaitan dengan perbedaan hambatan pada agregasi platelet dan ini mempengaruhi respon pasien terhadap terapi clopidogrel yang diberikan [9]. Pada suatu penelitian yang dilakukan oleh *Cavallari et al*, menyatakan bahwa variasi genetik pada reseptor P2Y12 memiliki kaitan dengan peningkatan kejadian *Coronary Artheri Disease* (CAD) yang signifikan [3].

Polimorfisme P2Y12 dapat menimbulkan penurunan respon terhadap pemberian terapi clopidogrel, sehingga hambatan terhadap agregasi platelet terganggu dan hal ini dapat menimbulkan peningkatan resiko terjadinya serangan CVD event yang berulang [10]. Pada penelitian yang dilakukan oleh *Ziegler et al*, disebutkan bahwa variasi genetik pada gen reseptor P2Y12 (34C>T) berkaitan dengan peningkatan *cerebrovascular event* pada pasien *peripheral artery disease* yang mendapatkan terapi clopidogrel [11]. Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh *Fontana et al*, disebutkan bahwa polimorfisme genetik pada reseptor P2Y12 telah terbukti berkaitan tidak hanya dengan kejadian CAD tapi juga dengan kejadian *peripheral arterial disease* [4].

Berdasarkan data di atas maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh polimorfisme P2Y12 pada penggunaan antiplatelet terhadap kejadian Stroke Berulang.

B. Metode

Alat dan Bahan

Pemilihan sampel dilakukan dengan menggunakan *informed consent* dan kuesioner *Morisky-8*, Setiap sampel diambil darah dengan disimpan di tabung EDTA. Purifikasi DNA dengan menggunakan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* dan pemeriksaan Polimorfisme reseptor P2Y12 dengan menggunakan alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Metode Pelaksanaan

Pemilihan sampel dilakukan sesuai dengan kriteria inklusi yaitu bersedia mengisi *informed consent*, telah menggunakan clopidogrel minimal 1 bulan dan patuh minum obat dengan hasil kuesioner *Morisky-8* mendapat skor 10. Sedangkan untuk kriteria eksklusi sampel yaitu pasien yang sedang menjalani kemoterapi. Pengambilan sampel darah dilakukan di laboratorium RSUD Dungus Kota Madiun, semua pasien yang menjadi sampel penelitian telah puasa selama 10-12 jam. Darah diambil sebanyak 3 cc dan dimasukkan ke dalam tabung EDTA dan disimpan pada suhu -20°C dan siap untuk dilakukan pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan di laboratorium Kimia Stikes BHM. Sebelum dilakukan pemeriksaan PCR, sampel darah dilakukan proses purifikasi DNA dengan menggunakan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit*. DNA murni yang sudah diperoleh dilakukan proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil dari PCR dilakukan visualisasi secara elektroforesis untuk mengetahui pita DNA. Jika pita yang dihasilkan tunggal disebut “homozygot”, namun jika pita lebih dari satu disebut “heterozygot”. Sedangkan untuk jenis polimorfisme dapat dilihat dari nilai *base pairs* (bp) dari masing-masing pita. Jika nilai bp 156 disebut “wild-type”, jika nilai bp 126+30 disebut “rarer-type”. Pengamatan kejadian stroke berulang dilakukan pengamatan setiap bulan setelah pengambilan sampel.

C. Hasil dan Pembahasan

1. Proses Pemilihan Sampel Penelitian.

Sebanyak 325 sampel pasien dengan stroke diperoleh sebanyak 120 sampel menggunakan terapi Clopidogrel. Setelah dilakukan skrining sesuai kriteria inklusi dan eksklusi diperoleh sampel akhir sebanyak 20 sampel. Data demografi pasien terdiri dari beberapa faktor resiko pada pasien dengan riwayat stroke dapat dilihat pada tabel 1. Faktor resiko tersebut terdiri dari usia, jenis kelamin, BMI, status merokok dan sindrom metabolic. Hal tersebut sangat diperlukan untuk mengetahui seseorang beresiko tinggi terhadap penyakit kardiovaskular [12].

Tabel 1. Data Demografi Sampel

Demografi pasien	Jumlah sampel	Persentase (%)
Usia		
- Awal masa dewasa (22-44 tahun)	1	5
- Pertengahan masa dewasa (45-64 tahun)	18	90
- Lansia (≥ 65 tahun)	1	5
Jenis Kelamin		
- Laki-laki	12	60
- Perempuan	8	40
Body Mass Indeks (BMI)		
- Berat badan kurang ($<18,5$)	2	10
- Normal (18,5-22,9)	2	10
- Berat badan lebih (≥ 23)		
• Beresiko (23-24,9)	4	20
• Obesitas tingkat I (25-29,9)	9	45
• Obesitas tingkat II (≥ 30)	3	15
Sindrom Metabolik		
- Ya	7	35
- Tidak	13	65

2. Pengambilan Darah Sampel.

Sampel penelitian yang sudah sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi serta bersedia ikut dalam penelitian, dilakukan pengambilan darah. Subjek penelitian sebanyak 20 diambil darah di laboratorium RSUD Dungus, dimana pasien tersebut sudah berpuasa selama 10-12 jam. Darah yang sudah diambil dimasukkan di dalam tabung EDTA dan disimpan pada suhu -20°C .

3. Purifikasi DNA dan Pemeriksaan Polimorfisme P2Y12

Proses purifikasi DNA dan pemeriksaan Polimorfisme P2Y12 dilakukan pada 20 sampel darah yang sudah dimasukkan di tabung EDTA. Kemudian dilakukan purifikasi DNA untuk mendapatkan DNA murni. Proses purifikasi DNA dengan menggunakan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit*, diawali dengan menghancurkan dinding sel dengan menambahkan *Cell Lysis Solution*, kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan lapisan supernatan dan pelet. Bagian supernatan dibuang dan bagian pelet yang berwarna putih ditambah *Nuclei Lysis Solution* untuk menghancurkan bagian membran inti. Setelah itu dilakukan penambahan *Protein Precipitation Solution*, agar protein dapat mengendap, kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan supernatan. Supernatan yang diperoleh dibagian atas dipindah secara perlahan ke dalam tabung yang sudah diberi isopropanol untuk mencuci DNA. Kemudian ditambahkan

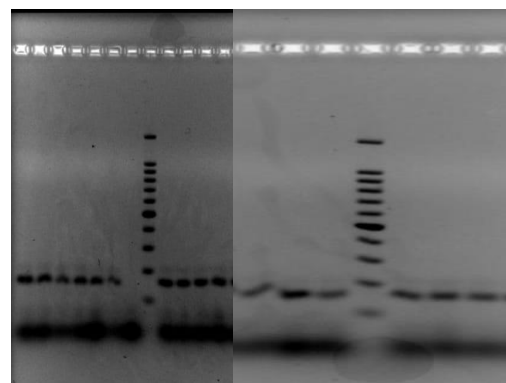
etanol untuk memurnikan DNA dan ditambahkan *DNA Rehydrate Solution* untuk mendegradasi RNA, sehingga diperoleh DNA murni.[13] Kemurnian DNA yang diperoleh perlu dilakukan pengujian dengan alat Bio Drop, sampel DNA dikatakan murni apabila menunjukkan nilai $\times 260/\times 280 \geq 1,8$. [13] Hasil Bio Drop dari 20 sampel diperoleh nilai $\geq 1,8$, sehingga proses pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) bisa dilakukan pada 20 sampel penelitian.

Proses pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan dengan melakukan pencampuran DNA, *GoTaq primer forward*, *primer reverse* dan *Nuclease Free Water* yang kemudiana dilakukan sentrifugasi.[14] DNA yang sudah disentrifugasi akan dilakukan proses elektroforesis, dimana pada tahap tersebut digunakan untuk memisahkan protein, DNA maupun RNA pada medan bermuatan listrik, sehingga fragmen DNA akan bergerak sesuai ukuran molekul atau Panjang pita DNANYA.[15] Sebelum proses elektroforesis, campuran yang sudah disentrifugasi dibagi menjadi dua, dimana yang satu bagian dilakukan elektroforesis langsung dan yang kedua dilakukan proses digesti sebelum di elektroforesis. Proses tersebut digunakan untuk membandingkan potongan pita DNA yang dihasilkan. Pada proses digesti akan diperoleh potongan DNA setelah ditambah *enzim restriksi TspRI*. Sehingga akan diperoleh potongan DNA atau *base pairs (bp)* dari tiap sampel yang akan diketahui jenis polimorfismenya. Untuk mengetahui panjang pita DNA dilakukan proses visualisasi melalui proses *staining* dengan menggunakan *ethidium bromide* (5mg/ml) selama 20 menit dan proses destaining dengan menggunakan air selama 15 menit, kemudian diamati migrasi DNA dengan lampu UV transilluminator. Potongan pita DNA akan terlihat, jika tunggal disebut "*homozygot*", jika lebih dari satu disebut "*heterozygot*" dan untuk jenis polimorfisme dapat dilihat dari nilai *base pairs (bp)*, jika nilai 126+30 disebut "*rarer type*", jika 156 disebut "*wild type*" [16]. Untuk hasil nilai *base pairs (bp)* dan jenis polimorfisme dapat dilihat ditabel dibawah ini :

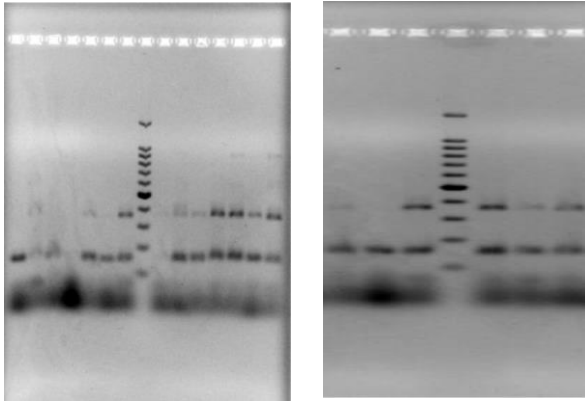
Tabel II. Nilai *base pairs (bp)* dan jenis Polimorfisme P2Y12

Sampel	Nilai <i>base pairs (bp)</i>		Jenis Polimorfisme
	Sebelum digesti	Sesudah digesti	
1	165,214	148	Homozygot (wild type)

2	164,208	174	Homozygot (wild type)
3	161,209	169	Homozygot (wild type)
4	160,201	162	Homozygot (wild type)
5	152,206	158	Homozygot (wild type)
6	153,208	156	Homozygot (wild type)
7	156,204	154	Homozygot (wild type)
8	154,202	151	Homozygot (wild type)
9	151,206	150	Homozygot (wild type)
10	156	148	Homozygot (wild type)
11	152	164	Homozygot (wild type)
12	182	155	Homozygot (wild type)
13	169	159	Homozygot (wild type)
14	153	155	Homozygot (wild type)
15	150	155	Homozygot (wild type)
16	144	155	Homozygot (wild type)
17	143	159	Homozygot (wild type)
18	-	161	Homozygot (wild type)
19	146	165	Homozygot (wild type)
20	172	160	Homozygot (wild type)



Gambar I. Pita hasil elektroforesis sebelum digesti



Gambar II. Pita hasil elektroforesis sesudah digesti

4. Pengamatan Kejadian Stroke Berulang

Pengamatan kejadian stroke berulang dilakukan karena berdasarkan penelitian sebelumnya disebutkan bahwa Polimorfisme gen P2Y12 kemungkinan memiliki dampak terhadap perkembangan terjadinya CAD [4]. Selain itu Polimorfisme genetic pada P2Y12 dan GPIIIa dapat mempengaruhi respon obat antiplatelet dan respon klinis pada pasien stroke iskemik akut [7]. Proses pengamatan terjadinya stroke berulang pada penelitian ini dilakukan setiap bulan, dimana setiap sampel minimal menggunakan antiplatelet clopidogrel selama 1 bulan. Pengamatan dilakukan dengan cara menghubungi pasien setiap bulan dan melihat data rekam medis pasien di rumah sakit. Kemudian melakukan analisis inferensial untuk melihat pengaruh polimorfisme P2Y12 terhadap kejadian stroke berulang.

Setelah dilakukan pengamatan terkait kejadian stroke berulang setiap bulan diperoleh data bahwa dari 20 sampel penelitian terdapat 4 sampel penelitian yang mengalami kejadian stroke berulang, data tersebut sebagai berikut :

Tabel III. Data Kejadian Stroke Berulang

Kejadian Stroke Berulang	Frekuensi	Presentase (%)
Ya	4	20
Tidak	16	80
Total	20	100

Berdasarkan hasil penelitian jenis polimorfisme dan kejadian stroke berulang, diperoleh data bahwa terdapat 4 sampel dengan jenis polimorfisme homozygot (*wild type*) mengalami kejadian stroke berulang. Setelah itu dilakukan analisis inferensial untuk mengetahui pengaruh polimorfisme P2Y12 terhadap kejadian stroke berulang. Sehingga dilakukan uji normalitas untuk mengetahui jenis sebaran data, diperoleh nilai $p < 0,05$, dimana dapat dikatakan bahwa jenis data tidak terdistribusi secara normal. Karena data tidak terdistribusi secara normal, maka dilakukan uji Kruskal Wallis untuk

mengetahui pengaruh polimorfisme terhadap kejadian stroke berulang. Diperoleh nilai $p > 0,05$, sehingga tidak terdapat pengaruh antara kedua variabel, yaitu tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara polimorfisme P2Y12 terhadap kejadian stroke berulang. Berdasarkan penelitian dari Scoot *et al* menyebutkan bahwa polimorfisme reseptor P2Y12 ADP mempengaruhi aktivitas dari reseptor tersebut atau respon pasien terhadap hambatan aktivitas platelet [17]. Pada penelitian yang berbeda juga menyebutkan bahwa polimorfisme P2Y12 memiliki hubungan dengan resiko CVD event, dan juga terkait dengan kondisi usia, jenis kelamin, status merokok, hipertensi, diabetes, resistensi clopidogrel yang menimbulkan peningkatan yang signifikan terhadap kejadian CVD event [7]. Selain itu dari penelitian lain menyebutkan bahwa Polimorfisme P2Y12 dapat menimbulkan penurunan respon terhadap pemberian terapi clopidogrel, sehingga hambatan terhadap agregasi platelet terganggu dan hal ini dapat menimbulkan peningkatan resiko terjadinya serangan CVD event yang berulang [7].

D. Simpulan

Pada penelitian ini menunjukkan hasil bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan antara polimorfisme P2Y12 dengan kejadian stroke berulang, hal ini bisa disebabkan karena jumlah sampel yang kurang, dimana ditunjukkan dari hasil analisis normalitas data yang diperoleh bahwa sebaran data tidak terdistribusi dengan normal.

Pustaka

- [1] Kemenkes RI, "Stroke Dont Be The One." p. 10, 2018.
- [2] Riskesdas Jatim, *Laporan Provinsi Jawa Timur RISKESDAS 2018*. 2018.
- [3] A. Mărginean *et al.*, "The Impact of CYP2C19 Loss-of-Function Polymorphisms, Clinical, and Demographic Variables on Platelet Response to Clopidogrel Evaluated Using Impedance Aggregometry," *Clin. Appl. Thromb.*, vol. 23, no. 3, pp. 255–265, 2017, doi: 10.1177/1076029616629211.
- [4] R. Priyadharsini, G. Umamaheswaran, T. A. R. Raja, and A. S. A. Kumar, "Frequency of single nucleotide platelet receptor gene polymorphism (P2Y12-i744T > C) in coronary artery disease patients among Tamilian population," pp. 3–8, 2017, doi: 10.1007/s12687-017-

- 0293-9.
- [5] A. L. Frelinger *et al.*, “Clopidogrel pharmacokinetics and pharmacodynamics vary widely despite exclusion or control of polymorphisms (CYP2C19, ABCB1, PON1), noncompliance, diet, smoking, co-medications (Including Proton Pump Inhibitors), and pre-existent variability in platelet f,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 61, no. 8, pp. 872–879, 2013, doi: 10.1016/j.jacc.2012.11.040.
- [6] S. Saraf, I. Bensalha, and D. A. Gorog, “Antiplatelet resistance - Does it exist and how to measure it?,” *Clin. Med. Cardiol.*, vol. 2009, no. 3, pp. 77–91, 2009, doi: 10.4137/cmc.s2159.
- [7] X. Yi, J. Lin, Y. Wang, J. Zhou, and Q. Zhou, “Interaction among CYP 2C8, GPIIIa and P2Y12 variants increase susceptibility to ischemic stroke in chinese population,” *Oncotarget*, vol. 8, no. 41, pp. 70811–70820, 2017, doi: 10.18632/oncotarget.19991.
- [8] S. L. Hetherington, R. K. Singh, D. Lodwick, J. R. Thompson, A. H. Goodall, and N. J. Samani, “Dimorphism in the P2Y1 ADP Receptor Gene Is Associated With Increased Platelet Activation Response to ADP,” 2005, doi: 10.1161/01.ATV.0000148708.44691.27.
- [9] T. Cuisset *et al.*, “Role of the T744C polymorphism of the P2Y12 gene on platelet response to a 600-mg loading dose of clopidogrel in 597 patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome,” *Thromb. Res.*, vol. 120, no. 6, pp. 893–899, 2007, doi: 10.1016/j.thromres.2007.01.012.
- [10] M. Li *et al.*, “Associations between P2RY12 gene polymorphisms and risks of clopidogrel resistance and adverse cardiovascular events after PCI in patients with acute coronary syndrome,” *Med. (United States)*, vol. 96, no. 14, 2017, doi: 10.1097/MD.0000000000006553.
- [11] S. Ziegler *et al.*, “Association of a Functional Polymorphism in the Clopidogrel Target Receptor Gene , P2Y12 , and the Risk for Ischemic Cerebrovascular Events in Patients With Peripheral Artery Disease,” 2005, doi: 10.1161/01.STR.0000169922.79281.a5.
- [12] B. Kannel, “EPIDEMIOLOGY A General Cardiovascular Risk Profile : The Framingham Study,” vol. 36, no. July, pp. 46–51, 1976.
- [13] Promega, “Technical Manual Wizard® Genomic DNA Purification Kit,” *Promega Corp.*, pp. 1–18, 2017, [Online]. Available: <https://worldwide.promega.com/resources/protocols/technical-manuals/0/wizard-genomic-dna-purification-kit-protocol/>
- [14] ALGAS ORGANICS InterLab, “Certificate of Analysis Certificate of Analysis,” *Sigma-Aldrich*, no. 281, p. 1, 2019, [Online]. Available: <https://cellgenix.com/products/gmp-scgm/>
- [15] T.A. Brown, *Gene Cloning & DNA Analysis*, Sixth Edit. Manchester, 2010.
- [16] A. Bierend, T. Rau, R. Maas, E. Schwedhelm, and R. H. Böger, “antiplatelet effects of aspirin in patients with coronary artery disease,” 2007, doi: 10.1111/j.1365-2125.2007.03044.x.
- [17] S. A. Scott *et al.*, “Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C19 Genotype and Clopidogrel Therapy : 2013 Update,” vol. 94, no. 3, pp. 317–323, 2013, doi: 10.1038/clpt.2013.105.