

Originalarbeit/Original Paper

Ein neues Antikoagulans zur Probengewinnung für Thrombozytenfunktionstests

A new anticoagulant for blood sampling tubes for platelet function tests

Johanna Wolf, Martin Sigl, Evangelos Giannitsis und Boris Ivandic*

Innere Abteilung 3, Universitätsklinikum Heidelberg, Heidelberg, Deutschland

Zusammenfassung

Hintergrund: Thrombozytenfunktionsdiagnostik, beispielsweise zum Nachweis einer Acetylsalicylsäure (ASS)- und/oder Clopidogrelresistenz wird immer häufiger nachgefragt, ist aber aufgrund der schwierigen Präanalytik wenig verbreitet. Bei der Blutentnahme und Probenaufbereitung können Aktivierungsprozesse in einer Citrat-antikoagulierten Probe nicht vollständig vermieden werden. Für den Einsatz zur Vollblutaggregometrie prüften wir ein neues Blutentnahmeröhrchen mit Benzylsulfonyl-D-Argininy-Prolyl-4-Amidinobenzylamid (Xipla®) als Antikoagulans (Thrombovette®, Probe & go, Osburg) unter klinischen Routinebedingungen. **Methodik:** Wir untersuchten 46 Patienten mit ASS- und Clopidogreltherapie aus der kardiologischen Notaufnahme sowie 20 gesunde Probanden. Die Blutentnahme erfolgte mit Thrombovette® und Citrat S-Monovette® (Sarstedt AG&Co, Nümbrecht). Nach Transport mit einem Rohrpostsystem wurde im Labor eine Vollblutaggregometrie mit Kollagen und ADP (Endkonzentrationen 1 mg/L bzw. 5 µM) mit einem Vollblut-Lumi-Aggregometer Modell 560Ca (Chrono-Log, Havertown, PA, USA) durchgeführt.

Ergebnisse: Anhand des Normalkollektivs wurden Referenzbereiche und Entscheidungsgrenzen (Mittelwert – 2-fache Standardabweichung) für das Vorliegen einer Resistenz ermittelt. Damit ergab sich zum Nachweis einer durch ASS gehemmten Aggregation mit Citrat S-Monovette® und Thrombovette® jeweils ein positiv prädiktiver Wert von über 94%. Zum Nachweis der Clopidogrelwirkung wurden mit Throm-

bovette® 68,0% und mit Citrat S-Monovette® 53,3% erhalten. Die negativ prädiktiven Werte zum Nachweis der ASS-Resistenz betrugen für die Citrat S-Monovette® und Thrombovette® 75% bzw. 82,8%, für den Nachweis der Clopidogrel-Resistenz wurden mit der Thrombovette® 87,8% und mit der Citrat S-Monovette 83,3% gefunden.

Schlussfolgerung: Die Thrombovette® ist ein Blutentnahmesystem, das eine verbesserte Validität der Thrombozytenfunktionsdiagnostik zum Nachweis einer ASS- und/oder Clopidogrel-Resistenz erwarten lässt.

Schlüsselwörter: Aspirin; Antikoagulans; Clopidogrel; Thrombozyten.

Abstract

Background: The difficult pre-analytical conditions of platelet function diagnostics discourage its widespread use, e.g., to detect resistance to acetylsalicylic acid (ASA) and/or clopidogrel. Platelet activation during blood drawing and sample preparation cannot be prevented by citrate anticoagulation. Here, we tested a new blood sampling tube containing the anticoagulant benzylsulfonyl-D-argininyl-prolyl-4-amidinobenzylamide (Thrombovette®, Probe & go, Osburg, Germany).

Methods: A total of 46 emergency patients taking ASA and clopidogrel as well as 20 healthy volunteers were included in the study. Blood was drawn into Thrombovette® and citrate S-Monovette® tubes (Sarstedt AG&Co, Nümbrecht, Germany) and transported to the lab via the pneumatic tube system. Whole blood impedance aggregometry (model 560Ca, Chrono-Log, Havertown, PA, USA) was performed using collagen and ADP as platelet agonist (final concentrations 1 mg/L and 5 µM, respectively).

Results: Reference ranges and cut-off values for the determination of drug resistance were obtained from the healthy cohort. Positive predictive values were 94.6% and 94.1% for inhibition of aggregation by ASA, and 68.0% and 53.3% for inhibition by clopidogrel using Thrombovette® and citrate S-Monovette®, respectively. Negative predictive values were 82.8% and 75.0% for ASA resistance and 87.8% and 83.3%

*Korrespondenz: Dr. med. Boris Ivandic, Synlab Medizinisches Versorgungszentrum Heidelberg GmbH, Medizinisches Versorgungszentrum Eppelheim, Wasserturmstraße 71, 69214 Eppelheim, Deutschland
Tel.: +49 (0) 6221 793147
Fax: +49 (0) 6221 793111
E-Mail: boris.ivandic@synlab.com

for clopidogrel resistance using Thrombovette® and citrate S-Monovette®, respectively.

Conclusions: Thrombovette® is a promising new system for blood sampling and could improve the validity of platelet function diagnostics.

Keywords: anticoagulant; aspirin; clopidogrel; platelets.

Einleitung

Die antithrombotischen Medikamente Acetylsalicylsäure (ASS) und Clopidogrel sind unverzichtbarer Bestandteil der Therapie des akuten Koronarsyndroms. Auch die Erfolge der interventionellen Gefäßmedizin wären ohne die Plättchenaggregationshemmung mit kombinierter ASS- und Clopidogrel-Gabe nicht möglich. ASS blockiert die Cyclooxygenase I in den Thrombozyten irreversibel und hemmt dadurch die Synthese des Thrombozytenagonisten Thromboxan A₂, während Clopidogrel die ADP-vermittelte Thrombozytenaktivierung durch irreversible Blockade des ADP-Rezeptors P₂Y₁₂ unterbindet.

Dennoch wird die zu erwartende Reduktion der Thrombozytenfunktion bei 10% bis 30% der behandelten Patienten nicht beobachtet, ein Phänomen, das als ASS- oder Clopidogrel-Resistenz bezeichnet wird [1]. Patienten, bei denen durch Thrombozytenfunktionstests eine ASS- und eine Clopidogrel-Resistenz nachweisbar ist, weisen eine jährliche kardiovaskuläre Ereignisrate von über 30% auf, gegenüber nur 13% bei Patienten mit normaler ASS- oder Clopidogrel-wirksamkeit [2]. Um diese Risikopatienten zu identifizieren, bedarf es zuverlässiger und einfacher Testmethoden, die den Anforderungen der klinischen Alltagspraxis entsprechen. Da Blutentnahme und Probenaufbereitung besonders sensible Prozesse im Hinblick auf die Thrombozytenfunktionsdiagnostik sind, müssen als erstes die präanalytischen Kautelen an die Routinebedingungen angepasst werden.

Das wesentliche Problem der Präanalytik besteht in der Aktivierung der Thrombozyten durch Thrombinbildung im Blutabnahmeröhrchen, da die gebräuchlicherweise als Antikoagulans verwendete Citrat-Lösung (0,109 mol/L Trinatriumcitrat, DIN 58905-1) nicht die Gerinnungsfaktoren XII, XI und Präkallikrein hemmt. Thrombin ist jedoch ein starker Thrombozytenaktivator, der in der Blutprobe eine Voraktivierung der Thrombozyten auslösen und dadurch im Aggregationstest zu falschen Ergebnissen führen kann.

Um dieses Problem zu lösen, wurde der synthetische Inhibitor der Gerinnungsfaktoren Xa und IIa Benzylsulfonyl-D-Argininy-Prolyl-4-Amidinobenzylamid entwickelt und im Blutabnahmeröhrchen an Stelle von Citrat als Antikoagulans eingesetzt (Thrombovette®, Probe & go GmbH, Osburg). Ziel der vorliegenden Studie war es, die Anwendbarkeit der neuen Thrombovette® für die Vollblutaggregometrie, engl. Whole Blood Aggregometry (WBA), im Vergleich mit dem konventionellen Antikoagulans Citrat im klinischen Routinealltag zu evaluieren.

Material und Methoden

Patienten

Die Studie wurde gemäß den Bestimmungen der lokalen Ethikkommission und der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Die Teilnahme an der Studie war freiwillig und hatte keinen Einfluss auf die weitere Behandlung der Patienten. Eingeschlossen wurden 46 Patienten (33 Männer, 13 Frauen; 37–94 Jahre, im Mittel 70 ± 12 Jahre alt) mit stabiler Angina pectoris (n = 12, 26,1%), instabiler Angina pectoris (n = 13, 28,3%), Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt (n = 17, 37,0%), und ST-Streckenhebungsinfarkt (n = 4, 8,7%) aus der kardiologischen Notaufnahme. Zum Vergleich wurden die Blutproben eines normalgesunden Referenzkollektivs (11 Männer, 9 Frauen; 26–57 Jahre; im Mittel 37 ± 8 Jahre alt) getestet.

Von den Patienten hatten 52,2% (n = 24) ASS allein und 47,8% (n = 22) ASS in Kombination mit Clopidogrel eingenommen. Die Probanden des Referenzkollektivs hatten mindestens 10 Tage zuvor kein ASS, Clopidogrel oder nichtsteroidale Antiphlogistika eingenommen.

Blutentnahme und Probenaufarbeitung

Es wurde jeweils eine venöse Blutprobe mit einer Citrat S-Monovette® (9 mL Vollblut + 1 mL 3,2%ige (0,109 mol/L) Trinatriumcitratlösung, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht) und mit einer Thrombovette® (4,9 mL Vollblut + 0,5 mL einer 0,5 mM Benzylsulfonyl-D-Argininy-Prolyl-4-Amidinobenzylamid-Lösung als Antikoagulans) unter Verwendung eines Butterfly-Systems (Valu-Set BD, 21G) abgenommen. Beide Röhrchen wurden nach 15 min mit einem Rohrpostsystem in das Labor transportiert. Nach weiteren 30 min Inkubation der Röhrchen bei Raumtemperatur wurde dort die Impedanzaggregometrie parallel durchgeführt. Lagerungs- und Transportbedingungen sowie die Laboranalytik waren somit für Thrombovette®- und Citrat S-Monovette® identisch.

Impedanzaggregometrie

Bei der Impedanzaggregometrie oder WBA wird die Änderung des elektrischen Widerstands (Impedanz) zwischen zwei parallel im Abstand von etwa 1 mm angeordneten Platindrähten einer Elektrode gemessen, die in die verdünnte Vollblutprobe getaucht wird. Nach Zugabe eines Plättchenagonisten setzt die Aggregation der Thrombozyten ein, wobei sich Thrombozytenaggregate unter Rühren des Reaktionsgemisches an den Platindrähten der Elektrode anlagern. Die damit einhergehende Erhöhung der Impedanz korreliert mit der Menge der angelagerten Thrombozytenaggregate und dadurch mit der Thrombozytenfunktion der untersuchten Blutprobe.

Die aggregometrischen Messungen wurden mit dem Chrono-Log Vollblut-Lumi-Aggregometer Modell 560Ca durchgeführt [3, 4]. Die Vollblutprobe (0,5 mL) wurde mit 0,5 mL auf 37°C vorgewärmter physiologischer Kochsalzlösung und mit einem Rührstäbchen (1000 U/min) in die Polycarbonat-Küvette des Aggregometers gegeben. Danach wurde die Elektrode in die verdünnte Probe getaucht. Nach 2 min Inkubation bei 37°C wurde die Aggregation durch Zugabe eines Plättchenagonisten gestartet. Die Impedanz wurde nach einer Reaktionszeit von 6 min als Ohm'scher Widerstand gemessen. Als Agonisten wurden ADP (5 µL einer millimolaren ADP-Lösung) mit einer Endkonzentration von 5 µM im Reaktionsgemisch und Kollagen (1 µL einer 1 mg/mL Kollagenlösung) mit einer Endkonzentration von 1 mg/L im Reaktionsgemisch eingesetzt.

Statistische Analyse

Normalverteilte Stichproben wurden mit dem t-Test und der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) sowie dem Bonferroni-Test als Post-hoc-Test analysiert. Nicht normalverteilte Stichproben wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test und mit dem H-Test nach Kruskal und Wallis verglichen. Kategorische Variablen wurden mit dem Fisher's-Exact-Test und dem χ^2 -Test verglichen. Unterschiede wurden mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$ als statistisch signifikant betrachtet.

Ergebnisse

Referenzbereiche und Entscheidungsgrenzen

Um die beiden Blutentnahmesysteme vergleichen zu können, wurden Referenzbereiche und Entscheidungsgrenzen für den Nachweis der ASS- und Clopidogrel-Resistenz ermittelt. Als Referenzbereich wurde das 5. bis 95. Perzentil des Normalkollektivs bestimmt (Tabelle 1). Zur Festlegung der Entscheidungsgrenzen wurde vom jeweiligen Mittelwert des Normalkollektivs die doppelte Standardabweichung subtrahiert (Tabelle 2).

Einfluss von Thrombozytenzahl und Hämoglobin (Hb)

Der Einfluss von Thrombozytenzahl und Hb auf die Ergebnisse der WBA wurde jeweils unter Verwendung der Thrombovette® und der Citrat S-Monovette® untersucht. Die Thrombozytenzahl zeigte unabhängig vom verwendeten Blutentnahmesystem und Plättchenagonisten eine moderate Korrelation mit dem WBA-Ergebnis, sowohl bei Stimulation mit Kollagen (Citrat S-Monovette®: $r^2 = 0,49$; $p < 0,01$), Thrombovette®: $r^2 = 0,44$; $p < 0,01$) wie auch bei Stimulation mit ADP (Citrat S-Monovette®: $r^2 = 0,59$; $p < 0,01$, Thrombovette®: $r^2 = 0,62$; $p < 0,01$). Der Hb-Wert korrelierte schwach

Tabelle 1 Referenzbereiche für die Vollblutaggregometrie (6-min Impedanz) mit Kollagen und ADP für die Blutentnahmesysteme Citrat S-Monovette® und Thrombovette®.

Plättchenagonist	Citrat S-Monovette®, Ohm	Thrombovette®, Ohm
Kollagen (1 mg/L)	9–18	14–30
ADP (5 μ M)	8–14	8–20

Tabelle 2 Entscheidungsgrenzen der Vollblutaggregometrie mit Kollagen und ADP (6-min Impedanz) für das Vorliegen einer ASS- und Clopidogrel-Resistenz mit Citrat S-Monovette® und Thrombovette®.

Fragestellung	Citrat S-Monovette®, Ohm	Thrombovette®, Ohm
ASS-Resistenz (1 mg/L Kollagen)	≥ 8	≥ 11
Clopidogrel-Resistenz (5 μ M ADP)	≥ 6	≥ 7

negativ mit den Ergebnissen der WBA nach Stimulation mit Kollagen (Citrat S-Monovette®: $r^2 = -0,29$; $p = 0,05$; Thrombovette®: $r^2 = -0,30$; $p = 0,04$). Mit dem Plättchenagonisten ADP zeigte sich dagegen keine Korrelation.

Vergleich von Thrombovette® und Citrat S-Monovette® zum Wirksamkeitsnachweis von ASS- und Clopidogrel durch die WBA

Mit der Thrombovette® zur Probengewinnung wurden mit der WBA durchweg höhere Impedanzwerte erhalten als mit der Citrat S-Monovette®. Bei Stimulation mit Kollagen war dieser Unterschied der WBA-Werte sowohl bei den Probanden als auch bei den Patienten unter ASS-Medikation signifikant (Abbildung 1). Bei Stimulation mit ADP war der Unterschied der WBA-Werte bei den Probanden und den Patienten ohne Clopidogreleinnahme signifikant (Abbildung 2).

Bei Patienten unter ASS-Medikation ergab die WBA mit Kollagen-Stimulation unter Verwendung der Thrombovette®

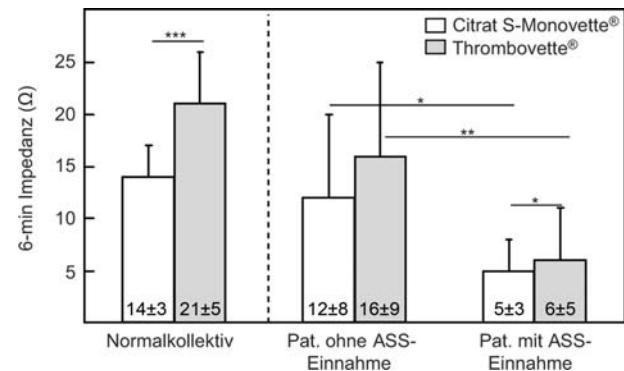


Abbildung 1 Ergebnisse (Mittelwert \pm Standardabweichung) der WBA mit Kollagen (1 mg/L) und den Blutentnahmesystemen Citrat S-Monovette® und Thrombovette®.

Sterne kennzeichnen Unterschiede mit Signifikanzniveaus von $p < 0,05$ (*), von $p < 0,01$ (**) und von $p < 0,001$ (***).

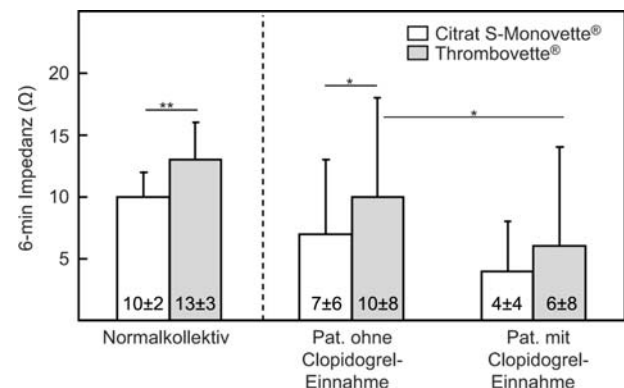


Abbildung 2 Ergebnisse (Mittelwert \pm Standardabweichung) der WBA mit ADP (5 μ M) und den Blutentnahmesystemen Citrat S-Monovette® und Thrombovette®.

Sterne kennzeichnen Unterschiede mit Signifikanzniveaus von $p < 0,05$ (*) und von $p < 0,01$ (**).

und der Citrat S-Monovette® erwartungsgemäß niedrigere Impedanzwerte als bei Personen ohne ASS-Medikation (Abbildung 1). In gleicher Weise führte auch die Einnahme von Clopidogrel zu einer Hemmung der Thrombozytenfunktion, die sich bei Stimulation mit ADP durch erniedrigte Impedanzwerte darstellte, wenn die Thrombovette® zur Probengewinnung verwendet wurde. Im Gegensatz dazu waren die Impedanzwerte bei Verwendung der Citrat S-Monovette® nur geringfügig erniedrigt (Abbildung 2).

Für die Ermittlung von Sensitivität und Spezifität der WBA in Bezug auf ASS- und Clopidogrel-Resistenz wurden auch Proben von Patienten ohne Aggregationshemmermedikation und die Proben der Probanden verwendet, da sich eine Resistenz in der WBA wie eine Medikamenten-Nichteinnahme darstellt. Von den 40 mit ASS behandelten Patienten zeigten die WBA-Ergebnisse bei Verwendung der Citrat S-Monovette® in den Blutproben von 32 und bei Verwendung der Thrombovette® in den Blutproben von 35 Patienten eine Hemmung der Thrombozytenfunktion (Sensitivität 80,0% bzw. 87,5%). Bei 24 von 26 Personen ohne ASS-Medikation wurde dies durch die WBA sowohl mit der Thrombovette® als auch mit der Citrat S-Monovette® erkannt (Spezifität 92,3%). Von den 22 Patienten unter Clopidogrel-Medikation ergab die WBA mit der Citrat S-Monovette® bei 16 und mit der Thrombovette® bei 17 Patienten eine adäquat erniedrigte Thrombozytenfunktion (Sensitivität 72,8% bzw. 77,3%). Die Unwirksamkeit bzw. Nichteinnahme von Clopidogrel konnte durch das WBA-Ergebnis mit der Citrat S-Monovette® bei 30 und mit der Thrombovette® bei 36 von 44 Personen ohne Clopidogrel nachgewiesen werden (Spezifität 68,2% bzw. 81,8%). Die sich daraus ergebenden Werte für positiv und negativ prädiktiven Wert bezüglich der tatsächlichen Einnahme bzw. Resistenz von ASS und Clopidogrel sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Diskussion

Die Ergebnisse der Thrombozytenfunktionsdiagnostik werden durch präanalytische Faktoren wesentlich stärker beeinflusst als die der meisten anderen laboranalytischen Tests. Die artifizielle Aktivierung der Thrombozyten durch Prozeduren der Blutabnahme, Probenaufbereitung, Transport und Lagerung führen häufig zur Verfälschung der Testergebnisse. Bei Verwendung von Citrat als Antikoagulans wird die Bildung von Thrombin in der Blutprobe nicht vollständig unter-

bunden, was zu einer in vitro Aktivierung der Thrombozyten führen kann. Hinzu kommt, dass Citrat eine unphysiologisch niedrige Kalziumkonzentration in der Blutprobe bewirkt und schon dadurch die Funktionalität der Thrombozyten verändert. Wird alternativ der direkte Thrombininhibitor Hirudin als Antikoagulans eingesetzt, so bleibt die physiologische Kalziumkonzentrationen in der Blutprobe zwar erhalten, jedoch hemmt auch Hirudin die Thrombinbildung nicht vollständig [5–7]. Hellstern und Kollegen schlugen 2007 erstmals die Verwendung von Benzylsulfonyl-D-Argininy-Prolyl-4-Amidinobenzylamid als Antikoagulans für die Plättchenfunktionsdiagnostik vor. Sie konnten zeigen, dass die Thrombingenerierung in der Blutprobe damit vollständig unterbunden wird und eine Probenstabilität von 24 h bei Raumtemperatur für die turbidimetrische Thrombozytenaggregometrie (TPA), die WBA und den Plättchenfunktionsanalyser-100 (PFA 100) gegeben war [7]. In der klinischen Routine wurde die Anwendung der Blutabnahmeöhrchen mit Benzylsulfonyl-D-Argininy-Prolyl-4-Amidinobenzylamid als Antikoagulans (Thrombovette®, Probe & go GmbH, Osburg), bisher noch nicht getestet, insofern auch noch nicht für den Nachweis einer ASS- oder Clopidogrel-Resistenz. Dementsprechend wurde bisher auch kein Referenzbereich der WBA speziell für die Thrombovette® ermittelt. Diese Fragestellungen wurden in der vorliegenden Studie untersucht. Dabei verzichteten wir bewusst auf spezielle Vorgaben zur Probengewinnung, sondern akzeptierten die in der Klinikroutine allgemein üblichen Blutentnahme- und Transportbedingungen. Für die WBA wird von einer Probenstabilität von vier Stunden bei Raumtemperatur ausgegangen. Sowohl für die Analysen mit der Citrat S-Monovette® als auch mit der Thrombovette® konnten wir eine tendenzielle Abnahme der Impedanzwerte innerhalb dieses Zeitraums feststellen, die mit der Thrombovette® geringer war. In weiteren Studien ist die maximale Probenstabilität der Thrombovette® zu ermitteln.

Wir ermittelten sowohl für das Normal- als auch für das Patientenkollektiv höhere Impedanzwerte mit der Thrombovette®, unabhängig vom verwendeten Plättchenagonisten. Die physiologische Kalziumkonzentration und eine geringere in vitro Aktivierung der Thrombozyten bei Verwendung von Benzylsulfonyl-D-Argininy-Prolyl-4-Amidinobenzylamid als Antikoagulans könnten diese Beobachtungen erklären. Damit würde die WBA mit der Thrombovette® die in vivo Funktionalität der Thrombozyten besser widerspiegeln als die WBA mit der Citrat S-Monovette®.

Tabelle 3 Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert (PPW) und negativer prädiktiver Wert (NPW) in Abhängigkeit von Blutentnahmesystem (Citrat S-Monovette® und Thrombovette®) und diagnostischer Fragestellung (ASS- bzw. Clopidogrel-Resistenz). Zur Identifikation einer ASS- bzw. Clopidogrel-Resistenz wurden Kollagen (1 mg/L) bzw. ADP (5 µM) als Plättchenagonisten verwendet.

	ASS-Resistenz		Clopidogrel-Resistenz	
	Citrat S-Monovette®, %	Thrombovette®, %	Citrat S-Monovette®, %	Thrombovette®, %
Sensitivität	80,0	87,5	72,8	77,3
Spezifität	92,3	92,3	68,2	81,8
PPW	94,1	94,6	53,3	68,0
NPW	75,0	82,8	83,3	87,8

Hervorzuheben ist, dass durch Verwendung der Thrombovette® eine deutliche Erhöhung der Spezifität und des positiv prädiktiven Wertes in Bezug auf die Einnahme von ASS und Clopidogrel erreicht wird. Unter Verwendung der Thrombovette® kann somit ein höherer Anteil richtig positiver Patienten mit ASS- und/oder Clopidogrel-Resistenz durch die WBA diagnostiziert werden. Dies ist insofern von Bedeutung, als bisher die relativ hohe Zahl von Patienten mit ASS- und/oder Clopidogrel-Resistenz aufgrund konventioneller Thrombozytenfunktionstests aus Citrat-Blut nicht der deutlich geringeren Zahl klinischer Ereignisse entsprach. Möglicherweise werden Medikamenten-Resistenzen mit Thrombozytenfunktionstests aus Citrat-Blut häufig falsch positiv erkannt, was die Folge einer in vitro Aktivierung der Thrombozyten durch im Citrat-Blut entstehendes Thrombin sein könnte.

Die vorliegende Studie hat Limitationen. Zwar wurde eine höhere Zahl von Individuen als in den anderen Studien zur Evaluation von Benzylsulfonyl-D-Argininy-Prolyl-4-Amidinobenzylamid als Antikoagulans für Thrombozytenfunktionstests eingeschlossen, dennoch ließe sich durch eine Erhöhung der Fallzahlen die statistische Aussagekraft weiter verbessern. Da bisher keine unabhängige Goldstandardmethode zum Nachweis der ASS- und/oder Clopidogrel-Resistenz existiert, wurden Probanden und Patienten ohne Medikamenteneinnahme in der Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse als Individuen mit Resistenz betrachtet. Weiterhin sollten Patientenkollektive aus anderen medizinischen Fachbereichen untersucht werden, um die generelle Eignung der Thrombovette® belegen zu können.

Zusammenfassend zeigen unsere Ergebnisse, dass die Thrombovette® ein neues, vielversprechendes Blutentnahmesystem für die Plättchenfunktionsdiagnostik ist. Durch die höhere Spezifität und den höheren positiv prädiktiven Wert ist mit der Thrombovette® eine verbesserte klinische Validität der Thrombozytenfunktionsdiagnostik zur Identifizierung der ASS- und/oder Clopidogrelresistenz zu erwarten. Die von Hellstern beschriebene höhere Probenstabilität bei Verwendung von Benzylsulfonyl-D-Argininy-Prolyl-4-Amidinobenzylamid als Antikoagulans könnte erstmals auch die Untersuchung von Patientenproben ermöglichen, die

außerhalb der eigenen Klinik über längere Transportwege dem Labor zugesandt werden.

Danksagung

Die Autoren danken Frau C. Dewald und Frau B. Calvo für ihre hervorragende technische Assistenz bei der Durchführung der Messungen.

Interessenkonflikte

Die Thrombovette®-Blutentnahmeröhrchen wurden freundlicherweise von der Firma Probe & Go für diese Untersuchung zur Verfügung gestellt. Die Studie wurde unabhängig von Probe & Go geplant und durchgeführt.

Literatur

1. Angiolillo, DJ. Variability in responsiveness to oral antiplatelet therapy. *Am J Cardiol* 2009;103:27A–34A.
2. Ivandic BT, Sausemuth M, Ibrahim H, Giannitsis E, Gawaz M, Katus HA. Dual antiplatelet drug resistance is a risk factor for cardiovascular events after percutaneous coronary intervention. *Clin Chem* 2009;55:1171–6.
3. Ivandic BT, Schlick P, Staritz P, Kurz K, Katus HA, Giannitsis E. Determination of clopidogrel resistance by whole blood platelet aggregometry and inhibitors of the P2Y12 receptor. *Clin Chem* 2006;52:383–8.
4. Ivandic BT, Giannitsis E, Schlick P, Staritz P, Katus HA, Hohlfeld T. Determination of aspirin responsiveness by use of whole blood platelet aggregometry. *Clin Chem* 2007;53:614–9.
5. Kaiser B, Fareed J, Walenga JM, Hoppensteadt D, Markwardt F. In vitro studies on thrombin generation in citrated, r-hirudinized and heparinized blood. *Thromb Res* 1991;64:589–96.
6. Gallistl S, Muntean W. Thrombin-hirudin complex formation, thrombin-antithrombin III complex formation, and thrombin generation after intrinsic activation of plasma. *Thromb Haemost* 1994;72:387–92.
7. Hellstern P, Stürzebecher U, Wuchold B, Haubelt H, Seyfert UT, Bauer M, et al. Preservation of in vitro function of platelets stored in the presence of a synthetic dual inhibitor of factor Xa and thrombin. *J Thromb Haemost* 2007;5:2119–26.