

Trombosit fonksiyon testleri

[Platelet function tests]

Zeliha Günnur Dikmen,
Filiz Akbıyık

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,
Merkez ve Acil Laboratuvarları, Ankara

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Dr. Zeliha Günnur Dikmen

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Merkez ve Acil
Laboratuvarları 06100 Ankara, Türkiye
Telefon: +90 312 3052841
E-posta: zgunnur@gmail.com

ÖZET

Amaç: Kanama hikayesi olan ve standart laboratuvar analizleri ile tanı konulamayan hastalar için trombosit fonksiyon testleri (TFT) önerilmektedir. Bu teknik raporda, trombosit fonksiyonlarını değerlendirmede ve anti-platelet tedavi takibinde kullanılan *ex vivo* yöntemler incelenmiştir.

Metod: Işık transmisyon agregometri, trombosit fonksiyonlarını değerlendirmede altın standart kabul edilmektedir. Bu yöntemde, trombosit agonistleri kullanılarak *in vitro* ortamda trombositlerin aktivasyon ve agregasyonu ölçülür. Yaygın olarak kullanılan agonistler adenosin difosfat (ADP), arazişonik asit, kollajen, epinefrin, trombin ve ristosetindir. İmpedans agregometri yöntemi ile çalışan Multiplate (Roche) analizöründe ise agonist varlığında aktive olan trombositler, trombojenik ikiz metal sensörler üzerinde agregate olur ve impedans artışı ölçülür. Paralel olarak aynı anda 5 farklı kanalda aspirin, ADP, trombin-reseptör aktive edici peptid (TRAP), kollajen ve ristosetin testlerinin çalışılabilmesi mümkündür. PFA-200 (Siemens) analizörü, primer hemostazi *in vitro* şartlarda simüle eden bir sistemdir, yaygın olarak kanama zamanı testi yerine kullanılmaktadır, ayrıca platelet fonksiyon bozuklarının tanısında ve anti-platelet tedavinin takibinde kullanılabilir. Verifynow sistemi (Accumetrics), aspirin, ADP reseptör antagonistleri ve fibrinojen antagonistleri gibi anti-platelet ilaçlara bağlı görülen platelet disfonksiyonlarını değerlendirmede kullanılan otomatize bir hastabaşı sistemidir. Bu sistemde, fibrinojen kaplı plastik bilyaların üzerine plateletlerin agregate olması sonucunda izlenen transmittans değişimi ölçülür.

Bulgular: Trombosit fonksiyonlarını değerlendirmeye yönelik bu sistemlerin laboratuvarlarda ve hasta başında kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır.

Sonuç: Klinik laboratuvarlar logistik durumlarına uygun, ihtiyaçlarına yönelik, testin aciliyetini ve maliyetini göz önüne alarak kendileri için en uygun metodu seçmelidirler.

Anahtar Kelimeler: Trombosit fonksiyon testleri, anti-platelet tedavi

Çıkar Çatışması: Yazarların çıkar çatışması yoktur.

ABSTRACT

Objective: Platelet function tests are recommended for patients when bleeding symptoms are not fully explained by standard laboratory investigations. In this report, we discussed *ex vivo* methods to evaluate platelet functions and anti-platelet therapy.

Methods: Light transmission aggregometry is the gold standart for evaluating platelet functions. In this method, *in vitro* platelet activation and aggregation is evaluated by using platelet agonists. The most frequently used agonists are adenosine diphosphate (ADP), arachidonic acid, collagen, epinephrin, thrombin and ristocetin. Multiplate analyzer (Roche) is based on impedans aggregometry in which activated platelets aggregate on thrombogenic twin metal sensors and the increase in impedance is measured. Five different tests can be run at the same time in parallel such as aspirin, ADP, thrombin receptor-activating peptide (TRAP), collagen and ristocetin tests. Platelet function analyser (PFA-200) (Siemens) simulates primary hemostasis *in vitro* and widely used for *in vitro* bleeding time. Additionally, it can be used to detect inherited, acquired and drug-induced platelet dysfunction. Verifynow (Accumetrics) is an automated point of care system for the evaluation of platelet dysfunctions due to anti-platelet therapy such as aspirin, ADP receptor antagonists and fibrinogen antagonists. The system measures the changes in light transmittance caused by platelets aggregating on fibrinogen coated plastic balls.

Results: These systems for the assesment of platelet functions are becoming increasingly common either in laboratories or as point of care systems.

Conclusion: The laboratories should select the best method for their purpose according to their localisation, requirement, the urgency and cost of the test.

Key Words: Platelet function tests, anti-platelet therapy

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Giriş

Trombosit fonksiyon testleri

Trombosit fonksiyonlarını ölçmek için kullanılacak sistemler, bu teknik raporda fonksiyonları yönünden değerlendirilmiş, avantajları ve dezavantajları karşılaştırılmıştır.

“Chrono-Log” agregometre sistemi

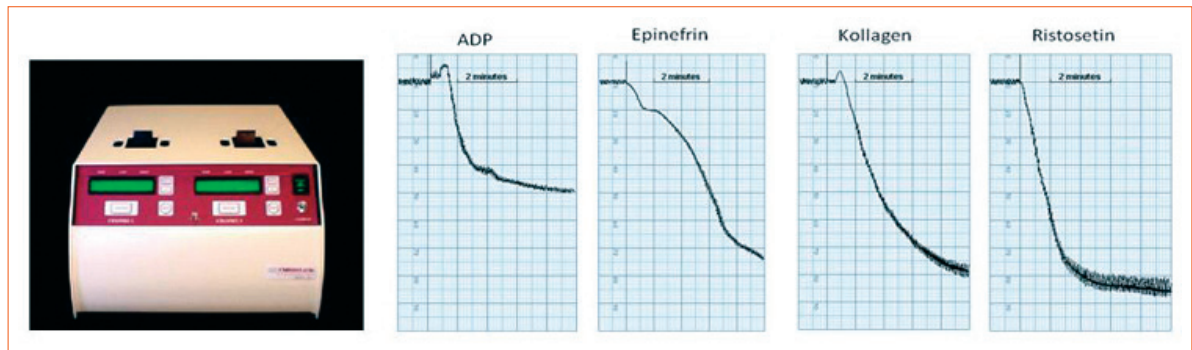
Trombosit fonksiyon testlerinin altın standardı, “Işık Transmisyon Agregometri” (Light Transmittance Aggregometry, LTA) yöntemidir. Chrono-Log (Diagnostics Stago, USA), ışık transmisyon agregometri prensibini kullanan optik bir agregometredir, çeşitli agonistler ile uyarılan trombosit agregasyonunun takip edilmesini sağlar [1]. Örnek olarak trombosit zengin plazma (1000g, 7 dk santrifüj, trombosit sayısı >100.000), kör olarak hastanın kendisine ait trombositten fakir plazma (2500g, 7 dk santrifüj, trombosit sayısı <10.000) kullanılır. ADP (Adenozin difosfat), epinefrin (Epi), kollajen (Kol), tromboksan A2 (TxA2), trombin-reseptör aktive edici peptid (TRAP), ristosetin, arasıdonik asit (AA), trombositlerin *in vitro* ortamda aktive olmasını sağlayan agonistlerdir. ADP ve epinefrin zayıf, kollajen, TxA2, ristosetin, AA ise kuvvetli agonistlerdir. Plateletlerin bu agonistlere özgü reseptörleri vardır, agonistlerin özelliğine bağlı olarak trombosit agregasyonunun şiddeti değişmektedir. Bu agonistlerin rol oynadığı yollarda veya reseptörlerde defekt varsa, trombosit adhezyonu ve agregasyonu bozulur. Plateletten zengin plazma içine agonistlerin eklenmesini takiben trombositlerin agregasyonu bağı olarak türbidede azalma ve ışık transmittansında artış izlenir. PRP, köre karşı okunur ve platelet agregasyonu 5-10 dk izlenir, bu süre içinde transmittans kaydedilerek ADP, epinefrin, kollajene karşı oluşan primer ve sekonder agregasyon dalgaları değerlendirilir (Şekil 1). ADP, dens granüllerde bulunan orta dereceli etkinliği olan bir agonisttir ve ADP aracılı agregasyondan 2 tip pürinerjik (P2) reseptör sorumludur: P2Y1; trombositlerdeki şekil değişikliğinden, primer agregasyon dalgasının oluşumundan ve agregasyonun stabilizasyonundan sorumlu olan major ADP reseptörüdür. P2Y12 ise anti-platelet bir ilaç olan klopidogrel (Plavix) hedefi olan ADP reseptörüdür. ADP, 2-5 µM

konsantrasyonda uygulandığında agregasyon grafiğinde iki fazlı cevap izlenir. Sekonder agregasyon dalgasının oluşumu için, TxA2 sentezi gereklidir ve aspirin gibi siklooksijenaz inhibitörlerinden etkilenir. ADP ile indüklenen agregasyon cevabı; depo havuzu hastalıklarında, salınım defektlerinde azalmıştır, Glanzman trombastenide kaybolmuştur. Epinefrin, 5 µM üzerindeki konsantrasyonlarda, agregasyon grafiğinde iki fazlı cevap oluşturur. Epinefrin ile indüklenen agregasyon cevabı; depo havuzu hastalıklarında, salınım defektlerinde azalmıştır, Glanzman trombastenide kaybolmuştur. Potent bir agonist olan kollajen plazmaya eklendikten sonra, kollajenin polimerize olması nedeniyle bir lag faz izlenir, takiben tek bir agregasyon dalgası izlenir. Trombosit membranında kollajene ait 2 reseptör mevcuttur, adhezyondan sorumlu olan GPIa/IIa ve TxA1 oluşumundan sorumlu GPVI. Düşük konsantrasyondaki kollajenin (1-2 µg/ml) uyardığı agregasyon cevabı aspirin ile inhibe olurken, yüksek konsantrasyondaki kollajenin (5 µg/ml) uyardığı agregasyon aspirinle inhibe olmaz. Plateletlerin en güçlü fizyolojik agonisti olan trombin, platelet membranında PAR1 ve PAR4 reseptörlerini aktive eder. Trombin ile indüklenen agregasyon paterni, kollajendeki gibi tek agregasyon dalgası şeklindedir ama lag fazı içermez. Ristosetin (0,5-1,25 mg/ml) ile uyarıyı takiben, von Willebrand hastalığı (vWH), BSS ve Glanzman trombastenide agregasyon paterni bozulmuştur. Ayrıca aspirin kullanımı da ristosetine agregasyon yanıtını bozar [1-3]. ADP, epinefrin, kollajen ve ristosetin agonistleri ile elde edilen agregasyon grafikleri Şekil 2’de verilmiştir.

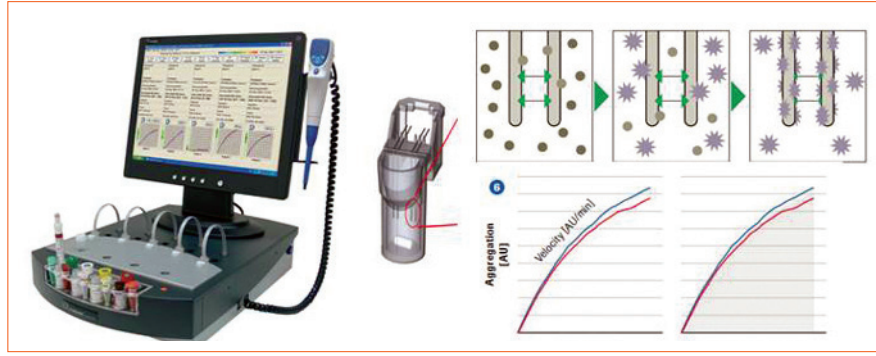
Bu yöntem; örnek çalışma süresinin sınırlı olması, tekrarlanabilirlik oranında farklılık, büyük örnek hacimlerine gereksinim duyulması, yöntemin oluşan mikro-agregatlara hassas olmayışı, uzun işlem süreci, agregometrenin pahalı olması ve uzman bir kişiye ihtiyaç duyulması gibi bazı dezavantajlara sahiptir.

“Multiplate” sistemi

Işık transmisyon agregometriye göre kullanımı daha kolay olan Multiplate (Roche Diagnostics, Switzerland), kompakt bir sistem olup impedans agregometri yöntemi ile ölçüm yapar. Bu yöntemde; bir agonistle (TRAP,



Şekil 1. Işık transmisyon agregometresi (Chrono-Log) ve ADP, epinefrin, kollajen, ristosetin agregasyon grafikleri.



Şekil 2. "Multiplate" analizörü ve çalışma prensibi.

ADP, araşidonik asit, kollajen, ristosetin) uyarılarak aktive edilen trombositler, test küveti içindeki elektrodların yüzeyine tutunup agregate olarak elektriksel direnç artışına neden olurlar. İmpedans artışı kaydedilerek eğri altında kalan alan (AUC) hesaplanır ve kantitatif bir değer rapor edilir (Şekil 2).

Her test küveti içinde iki adet ikiz trombojenik sensör mevcuttur (multiple electrode aggregometry=MEA), bunlar aynı zamanda kontrol görevini görür, iki sinyal arasındaki fark yüksek ise (ortalama eğri >%20, korelasyon katsayısı $r < 0.98$), sistem uyarı verir ve test tekrar edilir. Düzenli aralıklarla sıvı kontrol materyallerinin uygulanması da önerilmektedir.

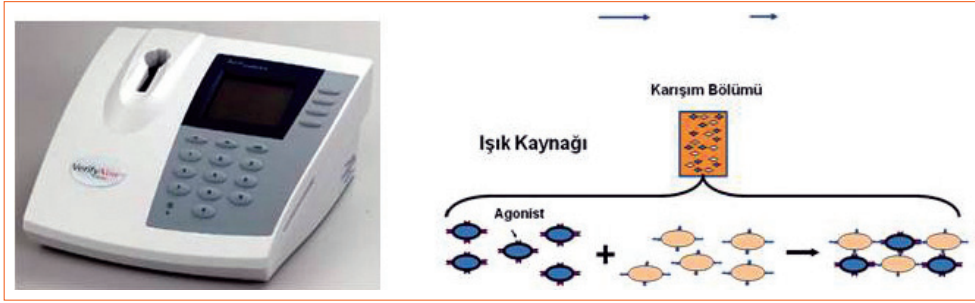
Beş kanallı bir sistem olduğu için aynı anda 5 örnek sisteme yüklenebilir ve saatte 30 örnek çalışılabilir. Her bir test için 300 µl tam kan örneği gereklidir. Kan örneklerinin 1/100 oranında hirudin içeren beyaz kapaklı tüplere alınması tercih edilir. Alternatif olarak Lityum heparinli veya Na sitratlı (%3.2) tüpler de kullanılabilir. Örnekler oda ısısında muhafaza edilmeli, buzdolabı veya derin dondurucuya konulmamalı, 30 dakikada veya en geç 3 saat içinde çalışılmalıdır. Tam kan örneği, içinde karıştırıcı olan tek kullanımlık küvetlere önceden ısıtılmış salin ile birlikte pipetlenir, 3 dk 37°C'de inkübe edilir ve 6 dk süresince agregasyon takibi yapılır [4,5].

Test panelinde TRAPtest, ADPtest, ASPItest, COLtest, RISTOtest, yüksek sensitif ADP yer almaktadır. TRAP, potent bir platelet aktivatördür ve trombin reseptörü olan PAR-1 aracılığıyla platelet agregasyonunu stimüle eder. TRAP ile uyarılan agregasyon, trombin reseptör antagonistleri ve GpIIb/IIIa reseptör antagonistleri varlığında veya Glanzman's trombastenide (GpIIb/IIIa eksikliği) azalır, aspirin veya ADP reseptör antagonistlerinden etkilenmez. TRAP testi için önerilen referans aralığı 84-128 AUC'dir. ADP testinde, ADP reaktifi ile platelet membranı üzerindeki ADP reseptörü aracılığı ile trombosit agregasyonu başlatılır. P2Y12 reseptörü, en önemli ADP reseptörüdür ve tiyenopiridin grubu ilaçlar (Klopidogrel) tarafından inhibe edilir. ADP ile uyarılan trombosit agregasyonu, Glanzman's trombastenide ve tiyenopiridin grubu ilaç kullananlarda azalır, siklooksijenaz inhibitörlerinin

den ise etkilenmez. ADP testi için önerilen referans aralığı 57-113 AUC'dir. İskemik vaka ve majör kanama riskleri için farklı "cut-off" değerleri vardır, ilaç tedavisi altındaki kişilerde sonuç >46 AUC ise, yüksek trombotik risk mevcuttur. Minör cerrahi girişimlerde 19 AUC, majör cerrahi girişimlerde 31 AUC altındaki değerlerde kanama riski yüksektir. ASPI testinde araşidonik asit ile tetiklenen agregasyon takip edilmektedir. Aspirin, hücre membranında bulunan araşidonik asitin COX-1 aracılığıyla TxA2'ye çevrilmesini geri dönüşümsüz inhibe eder. Bu nedenle aspirin kullanımında ve Glanzman's trombastenide araşidonik asit ile uyarılan agregasyon azalır veya kaybolur. ASPI testi için önerilen referans aralığı 75-115 AUC'dir. Tedavi altındaki hastada test sonucu 40 AUC'den düşük ise aspirinle COX-1 inhibisyonu olduğu, 30 AUC'den düşük ise COX-1 inhibisyonunun güçlü olduğu kabul edilir. COL testinde kollajen ile tetiklenen trombosit agregasyonu takip edilir. Dolaşımdaki trombositler, membran reseptörleri aracılığıyla damar yaralanması sonucu açığa çıkan kollajene bağlanır. COL test reaktifi, tip I kollajen içermektedir. Kollajenin reseptörlerine bağlanmasından sonra, araşidonik asit salgılanır ve COX 1 enzimi aracılığı ile TxA2'ye dönüştürülür. Aspirin veya GPIIb/IIIa antagonistleri kullanımı ve Glanzman's trombastenide kollajen ile uyarılan agregasyon azalır veya kaybolur. COL test için referans aralığı 72-125 AUC'dir. RISTO test ile ristosetin ile tetiklediği trombosit agregasyonu takip edilir. Ristosetin, trombositopeni ve trombosit aglütinasyonuna



Şekil 3. "PFA-200" analizörü ve çalışma prensibi.



Şekil 4. "VerifyNow" analizörü ve çalışma prensibi.

neden olduğu bilinen bir antibiyotiktir. RISTO test reaktifi, iki farklı konsantrasyonda (yüksek ve düşük) ristosetin içerir. Trombositler, ristosetin varlığında glikoprotein Ib (GPIb) reseptörleri aracılığıyla von Willebrand Faktörüne bağlanır, böylece trombosit aktivasyonu ve agregasyonu tetiklenir. Ristosetin varlığında agregasyonda azalma olması; vonWillebrand Faktör eksikliğini ya da Bernard-Soulier sendromunu düşündürür. RISTO test için referans aralıkları RISTO (yüksek) için 98-180 AUC, RISTO (düşük) için 0-20 AUC'dir [6-8].

"PFA-200®" sistemi

Platelet Function Analyser PFA-200 (Siemens Diagnostics, Germany), primer hemostazı *in vitro* şartlarda simüle eden bir sistem olup kanama zamanı testine alternatif bir yöntemdir. Platelet fonksiyon bozukluklarını ve vonWillebrand hastalığını saptayabilecek optimal bir tarama testidir. Hemostaz bozuklukların ayırıcı tanısında veya anti-platelet tedavinin monitorizasyonda kullanılmaktadır [9,10]. Analiz için tek kullanımlık kartujlar mevcuttur, her test için 800 µl kan örneği yeterlidir, 4-8 dakikada sonuç vermektedir. Kan örnekleri, %3.8'lik (0,129mol/L) veya %3.2'lik (0,105mol/L) trisodyum sitratlı tüplere alınabilir, oda ısısında bekletilebilir, en geç 4 saat içinde çalışılması uygundur. Sistem içine yerleştirilmiş Kollajen/Epinefrin (CEPI), Kollajen/ADP (CADP) veya P2Y ile kaplı bir membran mevcuttur. Sitratlı tüpe alınmış olan kan örneği, negatif ba-

sıçla kapiller sisteme doğru aspire edilir ve membran üzerindeki mikroskobik açıklıktan (147 µm) geçirilir. Platelet aktivatörlerinin varlığında delik üzerinde platelet adezyonu ve agregasyonu gerçekleşir, membrandaki bu açıklık üzerinde bir trombosit tıkaçı oluşur. Testin başlangıcından, trombosit tıkaçının açıklığı kapatmasına kadar geçen süre "Kapanma Süresi" (Closure Time: CT) olarak kaydedilir. Kapanma süresi, analiz edilen tam kan örneğindeki trombosit fonksiyonunun bir göstergesidir ve saniye (sn) olarak rapor edilir (Kollajen/Epi için 85-157 sn, Kollajen/ADP için 65-125 sn). *In vitro* test koşulları altında trombosit adezyonu ve/veya agregasyonu bozulursa, açıklığın kapanması yavaşlar, uzun "CT" değeri saptanır. Anti-platelet ilaç kullananlarda elde edilen kısa CT değeri riskli hastalarda artmış tromboz riskini, uzamış CT değerleri ise uygulanan tedavinin yetersizliğini gösterir (Şekil 3).

PFA-200 test sonuçları; düşük platelet sayısı, VonWillebrand faktör eksikliği, düşük hematokrit düzeyi, ilaç kullanımı, platelet reseptör defektleri ve salınım defektlerinden etkilenmektedir. Bu nedenle test öncesi hastada trombositopeni veya anemi olup olmadığına bakılmalıdır. Bu test hemofili A, hemofili B, fibrinojen, faktör V, VII, XI, XII eksikliklerinden ve heparinden etkilenmez [11,12].

"VerifyNow" sistemi

VerifyNow® (Accumetrics, Inc, San Diego, USA) tür-

Tablo 1. Trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan sistemler

Cihaz	Yöntem	Örnek tipi	Tüp türü	Örnek miktarı	Analiz süresi	Avantaj	Dezavantaj
Cronolog	Türbidimetri	Platelet zengin plazma (PRP)	Na Sitratlı tüp	500 µl	15dk	Altın standart	Zaman alıcı, fazla miktarda örnek ve tecrübeli eleman ihtiyacı
Multiplate	İmpedans agregometri	Tam kan	Hirudinli tüp	300 µl	10dk	Tam kandan çalışma kolaylığı	Özel tüp gerektirmesi
PFA-200	<i>In vitro</i> hemostaz	Tam kan	Na Sitratlı tüp	800 µl	4-8dk	Kullanımı kolay, hızlı	vWF ve Hct düzeyinden etkilenmesi
Verify Now	Türbidimetri	Tam kan	Na Sitratlı tüp	2 ml	3dk	Primer tüpten çalışma, kullanımı kolay, hızlı	Önerilen farklı cut-off değerleri

bidimetrik bir ölçüm sistemi olup fibrinojen kaplı kürecikler ve trombosit aktivatörlerini içeren kartujlar kullanılmaktadır. Reaksiyon ortamında agonistle indüklenen plateletlerin aggregasyonuna bağlı ışık transmittansındaki artışı ölçmektedir. Özellikle hasta başında kullanılabilen hızlı ve basit bir sistemdir. Bu sistemde sodyum sitratlı tüpe alınmış tam kan örneği kullanılmaktadır. Direkt kapalı tüpten otomatik örnekleme yaptığı için analiz öncesi numune hazırlığı gerektirmemekte ve sonuçlar 3 dakika içinde elde edilmektedir (Şekil 4).

VerifyNow sisteminde aspirine, P2Y12 veya GpIIb/IIIa inhibitörlerine karşı trombositlerde oluşan cevabın izlenmesi için TRAP, ADP ve AA gibi agonistler kullanılmaktadır. Anti-platelet tedavinin (aspirin, klopidogrel, Gp IIb/IIIa inhibitörleri) monitorizasyonunda, perkütan koroner girişim (PCI) uygulaması yapılacak hastaların değerlendirilmesinde tercih edilmektedir.

Aspirin testi için agonist olarak arazişonik asit kullanılır ve sonuçlar, "ARU" (Aspirin Reaction Units) olarak raporlanır. Sonuç <550 ARU ise aspirine bağlı platelet fonksiyonlarının azaldığı, ≥550 ARU ise aspirine bağlı olarak platelet fonksiyonlarında azalma olmadığı, yani ilaca yanıt alınmadığı anlaşılmaktadır.

P2Y12 testinde agonist olarak ADP, Prostaglandin E1 (PGE1), iso-TRAP (Thrombin Receptor Activating Peptide) kullanılır. Test sonucu P2Y12 Reaction Units (PRU), % inhibisyon ve "BASE PRU" olarak verilir. PRU testinin yorumlanması için 95 ve 208 "cut-off" değerleri belirlenmiştir. PRU <95 ve % P2Y12 inhibisyonu yüksek ise yüksek kanama riski olduğunu gösterir. PRU >208 ve % P2Y12 inhibisyonu düşük ise tromboz ve iskemi gelişme riskinin yüksek olduğuna işaret eder. Avantajı örneğin merkez laboratuvarına transportuna gerek kalmadan, tecrübeli personele ihtiyaç duymadan, gecikme olmadan hasta başında test yapılabilmesi ve sonuç alınabilmesidir [13,14].

Sonuç

TFT, CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), American College of Cardiology Foundation, American Heart Association, Society for Cardiovascular Angiography tarafından yayınlanan kılavuzlarda yer almaktadır [15]. Trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan sistemler, avantajları ve dezavantajları ile birlikte Tablo 1'de karşılaştırılmıştır. Ancak mevcut yöntemlerin çeşitliliği nedeniyle ideal metot ve optimal "cut-off" değerleri üzerinde kesin bir fikir birliğine varılamamıştır. Trombosit fonksiyon testleri için ideal olan her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesidir. Bunun için yapılacak çalışmada normal donörlerin test öncesi 14

gün boyunca asetil salisilik asit veya klopidogrel almamış olmaları gereklidir.

Tarafsızlık Beyanı

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

Kaynaklar

- [1] Frontroth JP. Light transmission aggregometry. *Methods Mol Biol* 2013; 992:227-40.
- [2] Harrison P, Mackie I, Mumford A, Briggs C, Liesner R, et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol* 2011; 155(1):30-44.
- [3] Zhou L, Schmaier AH. Platelet aggregation testing in platelet-rich plasma: description of procedures with the aim to develop standards in the field. *Am J Clin Pathol* 2005; 123(2):172-83.
- [4] Ranucci M, Baryshnikova E, Soro G, Ballotta A, De Benedetti D, et al. Multiple electrode whole-blood aggregometry and bleeding in cardiac surgery patients receiving thienopyridines. *Ann Thorac Surg* 2011; 91(1):123-9.
- [5] Siller-Matula JM, Gouya G, Wolzt M, Jilma B. Cross validation of the Multiple Electrode Aggregometry. A prospective trial in healthy volunteers. *Thromb Haemost* 2009; 102(2):397-403.
- [6] Halimeh S, Angelis Gd, Sander A, Edelbusch C, Rott H, et al. Multiplate whole blood impedance point of care aggregometry: preliminary reference values in healthy infants, children and adolescents. *Klin Padiatr* 2010; 222(3):158-63.
- [7] Bernlochner I, Morath T, Brown PB, Zhou C, Baker BA, et al. A prospective randomized trial comparing the recovery of platelet function after loading dose administration of prasugrel or clopidogrel. *Platelets* 2013; 24(1):15-25.
- [8] Sibbing D, Braun S, Jawansky S, Vogt W, Mehilli J, et al. Assessment of ADP-induced platelet aggregation with light transmission aggregometry and multiple electrode platelet aggregometry before and after clopidogrel treatment. *Thromb Haemost* 2008; 99(1):121-6.
- [9] Favaloro EJ. Clinical utility of the PFA-100. *Semin Thromb Hemost* 2008; 34(8):709-33.
- [10] Franchini M. The platelet function analyzer (PFA-100): an update on its clinical use. *Clin Lab* 2005; 51(7-8):367-72.
- [11] Jilma B. Platelet function analyzer (PFA-100): a tool to quantify congenital or acquired platelet dysfunction. *J Lab Clin Med* 2001; 138(3):152-63.
- [12] Favaloro EJ. Clinical application of the PFA-100. *Curr Opin Hematol* 2002; 9(5):407-15.
- [13] Malinin A, Pokov A, Spergling M, Defranco A, Schwartz K, et al. Monitoring platelet inhibition after clopidogrel with the VerifyNow-P2Y12(R) rapid analyzer: the VERIFY Thrombosis Risk Assessment (Veritas) study. *Thromb Res* 2007; 119(3):277-84.
- [14] Breet NJ, van Werkum JW, Bouman HJ, Kelder JC, Harmsze AM, et al. High on-treatment platelet reactivity to both aspirin and clopidogrel is associated with the highest risk of adverse events following percutaneous coronary intervention. *Heart* 2011; 97(12):983-90.
- [15] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) document H58-A. Platelet Function Testing by Aggregometry; Approved Guideline. 2008; ISBN 1-56238-683-2.