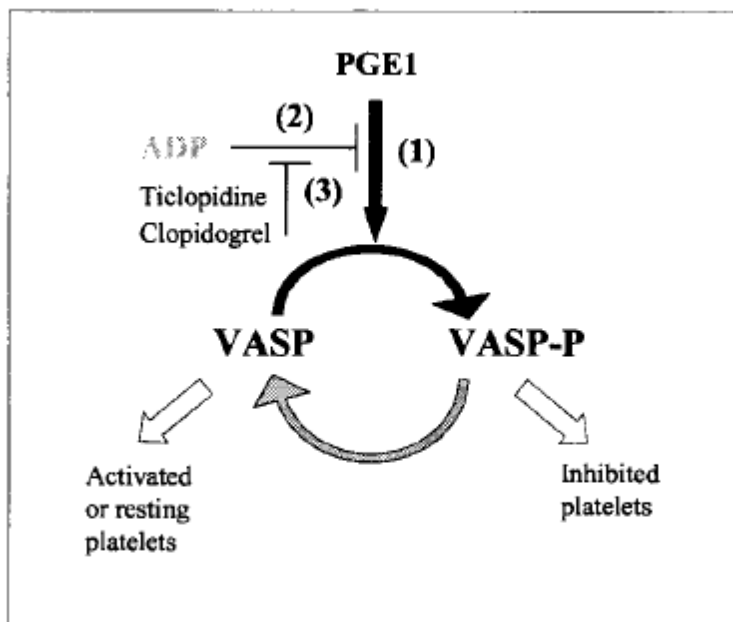


Trombocyt-VASP Cytometrilab, Malmö

Bakgrund, indikation och tolkning

VASP-testet användes vid riskbedömning för infarkt eller stent-trombos under pågående Plavix (Clopidogrel) terapi. Plavix minskar den ADP-medierade trombocytaktiveringen via irreversibel hämning av P2Y₁₂-receptorn. Effekten av klopidogrel kan mätas genom att mäta graden av fosforylerat VASP (Vasodilator Stimulated Phosphoprotein). I kliniska studier har man sett att vissa patienter svarar dåligt på klopidogrel. Hos dessa patienter har man kunnat påvisa en låg halt av fosforylerat VASP, med ökad risk för reinfarkt eller stentocklusion som följd.

Vid aktivering av trombocyter med ADP via P2Y₁₂-receptorn sker en defosforylering av ett intracellulärt signalprotein som kallas VASP. Intracellulär fosforylering av VASP kan mätas med flödescytometri med användande av en fluorescensmärkt antikropp som är specifik för den fosforylerade formen av VASP. Svaret lämnas ut som platelet reactivity index (PRI) där ett lågt värde betyder god trombocythämning med Plavix. I kliniska studier har man sett att vissa patienter svarar dåligt på Clopidogrel. Hos dessa patienter har man kunnat påvisa en låg halt av den aktiva metaboliten Clopidogrel. Sådana patienter har en ökad risk för reinfarkt eller stentocklusion.



Analysprincip

Analysen består av tre rör där trombocyterna hämmas med prostaglandin E1 (PGE1) med eller utan aktivering med ADP: rör 1 (PGE1), rör 2 och 3: PGE1+ADP. I rör 1 mäts maximal hämning med PGE1 som fosforylerat VASP (VASP-P). I rör 2 mäts hur mycket återstående aktivering man kan få med ADP varför VASP-P brukar bli lägre än i rör1. I rör 3 mäts den ospecifika antikroppsbindningen med MsIg som sedan subtraheras från VASP-P i rör 1 och rör 2. Efter inkubationen med PGE1+ ADP, fixeras, permeabiliseras cellerna före intracellulär inmärkning med antikropparna. Trombocyter analyseras med "live gate" på CD61 för att bara samla in trombocyter och inte skräp.

Referensintervall

En normalperson brukar ha en PRI mellan 70-90 % d.v.s. ADP ger en kraftigt nedsatt fosforylering.

Hos en patient med Plavix kommer ADP effekten att hämmas och fosforylering sker nästan lika mycket i närvaro av ADP som utan ADP. Patienten kommer därför att få en låg PRI. Vid maximal hämning med Plavix får man ingen aktivering alls med ADP och då blir PRI 0%. Enstaka fall med negativa PRI kan förekomma men svaras ut med 0%.

Cut-off värdet för plavix-low responder är satt till 50%, alltså en patient som har ett PRI>50% är low responder.

Metodkaraktistika

Interferenser och felkällor

Koagulation i provtagningsröret ger lågt antal trombocyter och otillförlitligt VASP-uttryck

Mätområde

0 – 100%

Detektionsgräns

Ej tillämbart

Mätosäkerhet

Ej tillämbart

Spårbarhet

Ej tillämbart

Övrig information

Metoden är ej ackrediterad.

Referenser

1. Aleil B, Ravanat C, Cazenave JP, Rochoux G, Heitz A, Gachet C. Flow cytometric analysis of intraplatelet VASP phosphorylation for the detection of clopidogrel resistance in patients with ischemic cardiovascular diseases. J Thromb Haemost.2005; 3(1):85-92

Gäller from	Revision	Sida
2013-10-02	01	3(3)
Godkänd av:		

2. Ibrahim H, Nadipalli S, DeLao T, Guthikonda S, Kleiman NS. Immature platelet fraction (IPF) determined with an automated method predicts clopidogrel hyporesponsiveness. J Thromb Thrombolysis. 2012; 33(2):137-42.
3. Campo G, Fileti L, Valgimigli M, Tebaldi M, Cangiano E, Cavazza C, Marchesini J, Ferrari R. Poor response to clopidogrel: current and future options for its management. J Thromb Thrombolysis. 2010;30(3):319-31.