Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2008; 33: 260-265

Oude technieken in een nieuw jasje

A.K. STROOBANTS[1], R. van OERLE[2,3], F. BERENDS[1], A. STURK[1], H. SPRONK[3] en Y.M.C. HENSKENS[2]

Hier worden twee oude testen beschreven die hernieuwde interesse genieten: de trombo-elastografie en de trombinegeneratietest. Het gebruik van beide testen voor het in kaart brengen van de hemostasestatus van een patiënt lijkt veelbelovend, maar in de praktijk blijft dit afhankelijk van een goede standaardisatie van de (pre)analyse en van de resultaten van gedegen opgezette prospectieve studies.

Trefwoorden: trombo-elastografie; trombo-elastometrie; trombinegeneratietest

Het doen van stollingsonderzoek is en blijft een vak apart. Er worden nog steeds nieuwe testen geïntroduceerd die screenend van aard zijn, zoals de volbloedaggregometrie, of die een specifiek onderdeel van de stolling belichten, zoals de ADAM-TS13-test. Hier worden twee testen beschreven die halverwege de vorige eeuw ontwikkeld werden en die hernieuwde interesse genieten: de trombo-elastografie en de trombinegeneratietest.

Tromboelastografie

In 1948 werd door Hartert een techniek beschreven waarmee een globaal beeld van de hemostase gegenereerd kan worden, genaamd trombo-elastografie (1). In het begin van de jaren van van ’80 ontstond een hernieuwde interesse voor deze techniek, met name in de anesthesiologie, sinds enkele jaren gevolgd door interesse bij klinisch-chemische, hematologische en researchlaboratoria. Deze analysetechniek, in volbloed, verschaft niet alleen gegevens over de primaire stolling, maar ook over de stollingsfactoren, de remmers van de stolling en de fibrinolyse. Dankzij deze eigenschappen kan tevens de invloed van medicatie op de stolling van een patiënt gevolgd worden.

De oorspronkelijke test is gebaseerd op het roteren van een cup met daarin het volbloedmonster ten opzichte van een pin die in het monster hangt. Door het ontstaan van een stolsel in de cup wordt de beweging van de cup via het stolsel overgebracht op de pin en de beweging van de pin wordt gemeten. Bij fibrinolyse lost het stolsel op, waardoor de beweging van de pin afneemt. Sinds enkele jaren bestaan er twee analysers:

1: de Thrombelastograph® (TEG®) Hemostasis Analyzer (Haemoscope Corp, Illinois, USA) gebaseerd op de oorspronkelijke trombo-elasto*grafie*, waarbij de cup draait, zie figuur 1A;
2: de ROTEM (Pentapharm GmbH, München, Duitsland) gebaseerd op een gemodificeerd principe waarbij de pin draait en de cup stil staat, trombo-elasto*metrie* genoemd, zie figuur 1B.

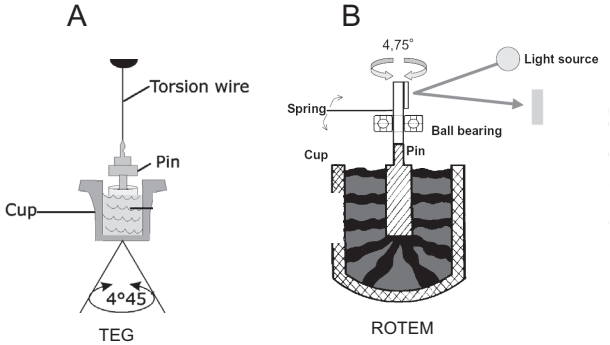
In beide gevallen worden de meetwaarden grafisch en getalsmatig weergegeven, zie figuur 2.

De tijd dat het duurt voordat het stolsel wordt gevormd, wordt weergegeven als R (‘reaction time’) resp. CT (‘coagulation time’), deze is met name afhankelijk van stollingsfactoren en remmers zoals bijvoorbeeld heparine. De snelheid waarmee vervolgens het stolsel gevormd wordt, wordt weergegeven als K resp. CFT (de tijd tussen 2 mm en 20 mm amplitude in het trombo-elastogram). De stevigheid van het stolsel wordt afgelezen van de maximale amplitude (MA resp. MCF), die afhankelijk is van het aantal en de werking van de trombocyten, de fibrinogeenconcentratie en de factor-XIII-concentratie in het monster. De fibrinolyse wordt zichtbaar in de parameter die de snelheid van het oplossen van het stolsel weergeeft, de LY30 resp. CL.

Enkele voorbeelden van trombo-elastogrammen zijn weergegeven in figuur 3. Als er sprake is van een ernstige factordeficiëntie of heparine-effect, dan is de R/CT verlengd. In geval van een ernstige trombocytopathie, trombocytopenie of een verlaagde fibrinogeenconcentratie wordt een grafiek verkregen met een verlaagde MA/MCF. Bij een patiënt met hyperfibrinolyse is de LY30/CL verhoogd.

In de praktijk zijn trombo-elastogrammen echter niet altijd gemakkelijk te interpreteren.

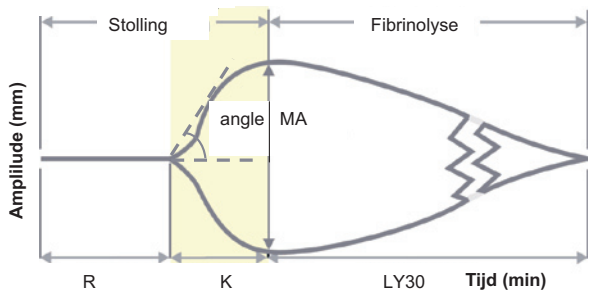
Bij de klassieke trombo-elastografie werd natief bloed



Figuur 1. Het principe van A: trombo-elastografie (de cup draait om de pin) en B: trombo-elastometrie (de pin draait in de cup).

Laboratorium voor Algemene Klinische Chemie, Academisch Medisch Centrum[1]; Hematologisch Laboratorium, Academisch Ziekenhuis Maastricht[2] en Laboratorium voor Klinische Trombose en Haemostase, Universiteit Maastricht[3]

Correspondentie: A.K. Stroobants, AMC, Postbus 22660, 1100 DD Amsterdam
E-mail: a.k.stroobants@amc.nl.



TEG	ROTEM	
R	CT	Tijd tot stolselvorming
K	CFT	Snelheid vorming stolsel
Angle	α	Snelheid vorming stolsel
MA	MCF	Stevigheid stolsel
LY30	CL	Snelheid oplossen stolsel

Figuur 2. Een voorbeeld van een trombo-elastogram.

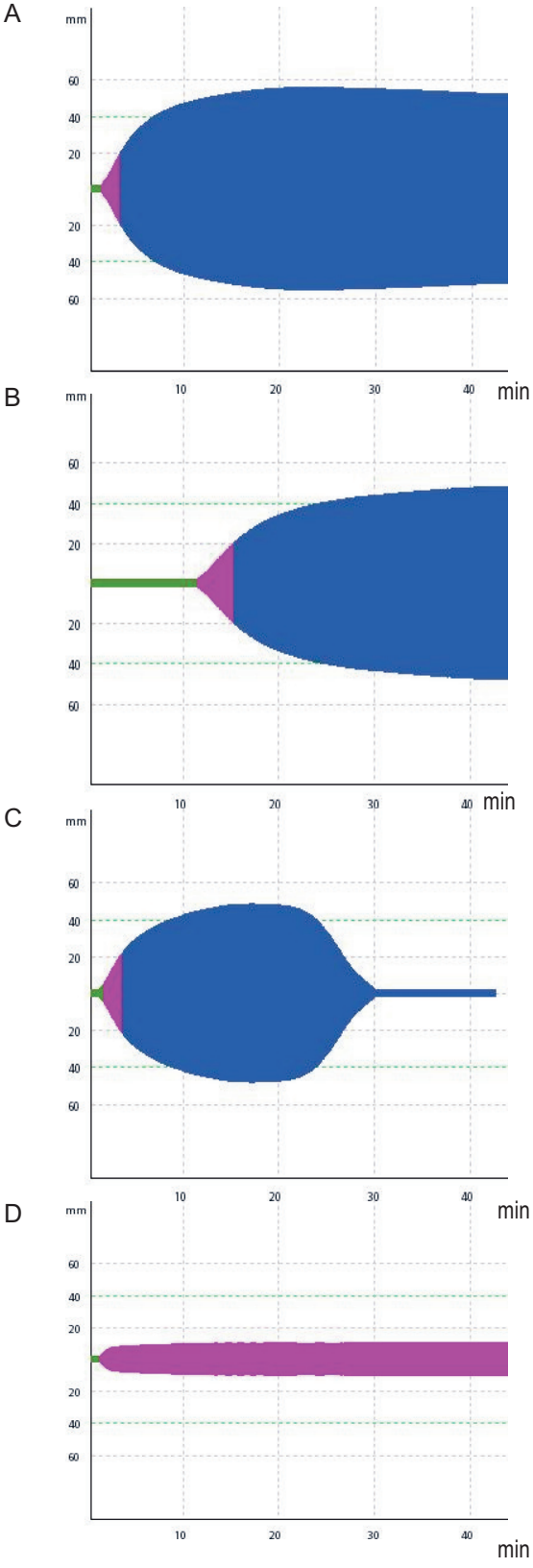
gebruikt en werden geen agentia toegevoegd in de cup. Tegenwoordig wordt er gebruik gemaakt van natief of met citraat ontstold bloed en worden aan het monster activatoren van de stolling of andere agentia toegevoegd (bijvoorbeeld heparinase), die helpen de oorzaak van een gemeten afwijking te diagnosticeren. Vaak worden gelijktijdig meerdere trombo-elastogrammen gemaakt in aanwezigheid van verschillende activatoren om een compleet beeld van de hemostase te verkrijgen.

Om meer specifiek de stolling te onderzoeken kunnen, net als bij de screenende testen PT en APTT, tromboplastine, elaginezuur of kaoline als activator gebruikt worden. Het toevoegen van cytochalasine D, een trombocytenremmer, aan het monster schakelt de functie van trombocyten uit (Rotem-toepassing). De resterende amplitude van het trombo-elastogram geeft dan een beeld van de concentratie fibrinogeen, de vorming van fibrine en het polymerisatieproces (figuur 3D). Door toevoeging van heparinase kan bepaald worden wat de stollingstatus van de patiënt is als heparine geneutraliseerd wordt. Zo kan onder andere de aanwezigheid van heparine in het monster aangetoond worden. Door toevoeging van aprotinine kan hyperfibrinolyse vastgesteld worden (Rotem-toepassing).

Beide op de markt zijnde apparaten zijn open systemen, het is daarom mogelijk om zelf andere agentia zoals activatoren (b.v. ecarine) of remmers (b.v. trombineremmers) toe te voegen en concentraties te variëren, om op die manier nieuwe toepassingen van deze techniek te ontwikkelen.

De nieuwste toepassing op de Haemoscope TEG is 'PlateletMapping™'. Met behulp van deze applicatie kan het effect van trombocytenremmers, zoals clopidogrel en aspirine, op de trombocytenfunctie worden gemeten middels trombocytenstimulatie met adenosinedifosfaat (ADP) en arachidonzuur (2). Op basis van PlateletMapping-resultaten is het mogelijk, bijvoorbeeld preoperatief, de resterende functionaliteit van trombocyten bij een patiënt te bepalen.

In Oostenrijk en Duitsland is trombo-elastografie/-metrie



Figuur 3. Trombo-elastogrammen van A: een gezonde vrijwilliger; B: een patiënt die behandeld wordt met heparine; C: een patiënt met hyperfibrinolyse; D: een monster waaraan een trombocytenremmer is toegevoegd (FIBTEM).

geheel ingebed in de dagelijkse routine in operatiekamers. Anesthesiologen varen daar op de bedside beschikbaarheid van deze techniek. Op dit moment wordt trombo-elastografie in Nederland op een aantal

plaatsen routinematig toegepast tijdens cardiochirurgie en levertransplantaties. Daarnaast wordt trombo-elastografie/-metrie in onderzoeksverband uitgevoerd. De voornaamste reden voor het feit dat deze techniek in Nederland nog niet op grote schaal gebruikt wordt, is dat er nog onvoldoende degelijke analytische en klinische validaties zijn uitgevoerd, waardoor er nog onvoldoende duidelijkheid is over de analytische prestaties van de test en daaraan gekoppeld, de klinische conclusies die uit de trombo-elastogrammen getrokken worden. Ook zijn de aan de hand van trombo-elastografie/-metrie-uitslagen te nemen beslissingen over vervolg-laboratoriumonderzoek of klinisch handelen nog niet eenduidig vastgesteld. Hierbij kunnen de laboratoria een belangrijke rol spelen. De nieuwe uitvoeringen van deze oude techniek bieden mogelijkheden, op het gebied van praktische uitvoerbaarheid en software, die daardoor toepassing in de klinische praktijk haalbaar maken en daarmee op zijn minst een hernieuwde interesse rechtvaardigen.

De belangrijkste toepassing van de trombo-elastografie/-metrie wereldwijd ligt momenteel bij patiënten met massaal bloedverlies, zoals traumapatiënten, patiënten die een cardiochirurgische ingreep of een levertransplantatie ondergaan en patiënten met ernstige post-partum-bloedingscomplicaties. Het trombo-elastogram laat zien of er een stollingsprobleem is of dat het om een chirurgische bloeding gaat. Aan de hand van het trombo-elastogram wordt bepaald wat de oorzaak van de bloeding is en wordt het transfusiebeleid (suppletie van fresh-frozen plasma, stollingsfactoren, fibrinogeen en/of trombocyten) vastgesteld. Dit wordt nu meestal met APTT, PT, fibrinogeen- en trombocytenbepalingen in kaart gebracht, maar de turnaroundtijd van deze bepalingen is zodanig lang dat de behandelend arts in deze situaties al zonder deze laboratoriumuitslagen zal moeten ingrijpen. Bij het maken van een trombo-elastogram kan na ca. 10 minuten al een goede indruk verkregen worden van de hemostasestatus. Daarnaast geven de genoemde bepalingen slechts informatie over een deel van de hemostase, terwijl een trombo-elastogram, dankzij het gebruik van volbloed, een globaal beeld geeft dat de in-vivosituatie benadert (exclusief de invloed van de vaatwand) en waarbij tevens informatie over de fibrinolyse verkregen wordt.

Uiteraard heeft de trombo-elastografie/-metrie ook zijn beperkingen. Zo is deze techniek weinig gevoelig voor afwijkingen in de primaire hemostase. Dit betekent dat trombocytenfunctie bij o.a. het aantonen van de ziekte van von Willebrand en de invloed van aspirine en clopidogrel beter op een andere wijze bestudeerd kunnen worden (Rotem, Pentapharm), bijvoorbeeld middels 'PlateletMapping' (Haemoscope). De gevoeligheid van de test voor orale anticoagulantia en laagmoleculairgewichtheparine is gering (Rotem, Pentapharm), net als bij de APTT.

In de literatuur zijn er een kleine 3000 artikelen verschenen over trombo-elastografie/-metrie (3-5). Er is duidelijk de laatste jaren een hernieuwde interesse zichtbaar voor deze meettechniek. Hoewel er nauwelijks validatiestudies zijn gepubliceerd, zijn er veel beschrijvende artikelen. Voor verschillende klinische situaties is er onderzocht wat de toegevoegde waarde van trombo-elastografie/-metrie zou kunnen zijn. Zo is er veel onderzoek gedaan naar de invloed van verschillende medicamenten als plasmaverdunners (bijvoorbeeld EloHES), PPSB (4-factorenconcentraat) en geactiveerd factor VII. Ook is er meerdere keren gekeken naar de invloed op het verbruik van bloedproducten als deze meetmethode gebruikt wordt. De meeste studies zijn echter gebaseerd op vrij kleine aantallen patiënten, zijn retrospectief en/of hebben het effect van de extra aandacht voor het transfusiebeleid verwaarloosd. De klinische gebieden waarover veel beschreven is in dit verband zijn de leverchirurgie en cardiochirurgie (6-8).

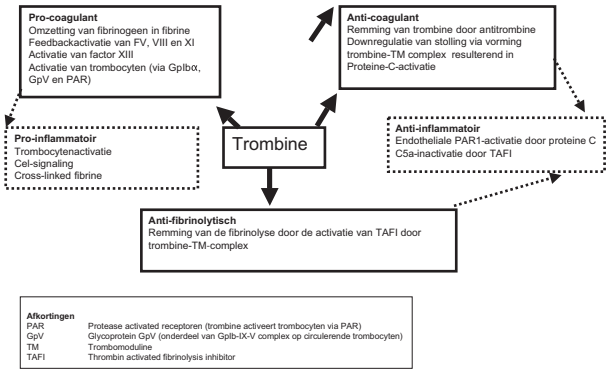
Daarnaast is er gekeken naar de toepassingsmogelijkheden van tromboelastografie/metrie in het aantonen van hypercoagulabiliteit met als doel te bestuderen of deze techniek toegepast zou kunnen worden in het inschatten van tromboserisico, zoals bijvoorbeeld het voorspellen van postoperatieve trombotische complicaties (9). Ook wordt er gewerkt aan een toepassing van trombo-elastografie om hemofiliepatiënten een therapie op maat te kunnen aanbieden (10). Dit gebeurt door gebruik te maken van mathematische bewerking van het trombo-elastogram. De eerste afgeleide van het trombo-elastogram resulteert in een curve die sterk lijkt op een trombinegeneratiecurve (11).

Het wachten is op de uitkomsten van degelijke prospectieve gerandomiseerde studies met gebruik van trombo-elastografie/-metrie, met een voldoende groot aantal patiënten waarbij de voordelen bij introductie van deze techniek voor de patiënt in kaart gebracht worden aan de hand van klinische eindpunten (bijvoorbeeld de afname van het aantal ligdagen in de kliniek).

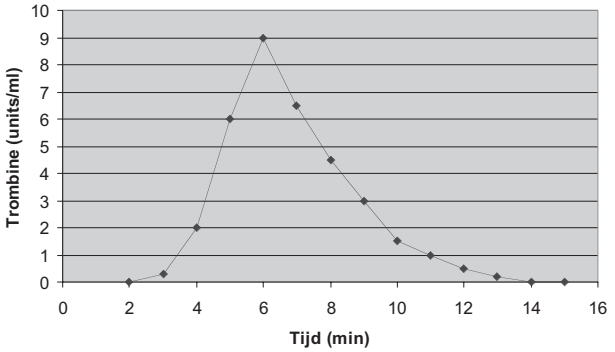
Trombinegeneratietest

Trombine is een centraal enzymproduct van de stollingscascade. Goede regulatie van de trombinevorming is onmisbaar voor de balans in de hemostase. Trombine speelt zowel een rol bij de vorming van het stolsel (pro-coagulant) als bij de bescherming tegen afbraak van het stolsel (anti-fibrinolytisch). Een verhoogde vorming van trombine kan leiden tot een tromboseneiging (12).

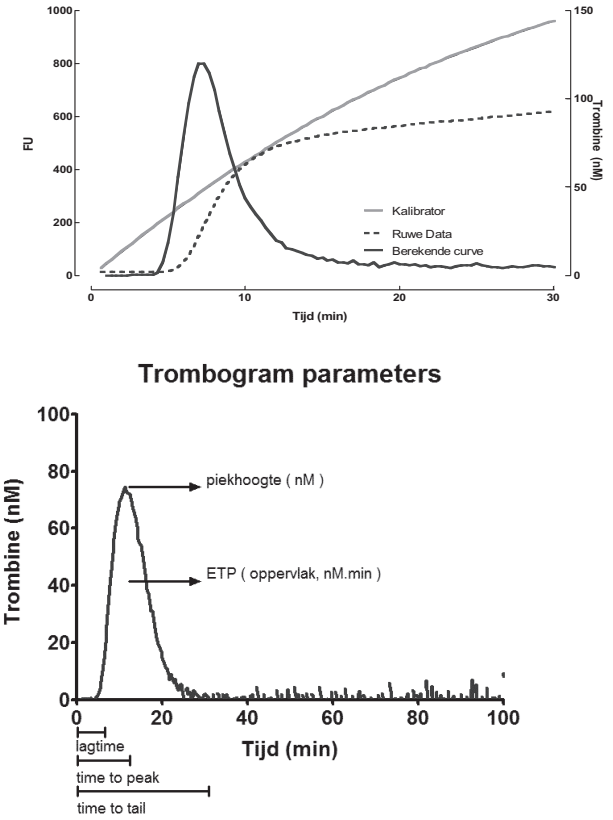
In figuur 4 worden de (inter)acties van trombine schematisch weergegeven. Gezien de centrale rol van trombine in de bloedstolling zou de mate van trombinevorming van een plasmamonster mogelijk een indicatie kunnen zijn voor het risico op trombose of bloeding. De trombinegeneratietest (TGT) betreft een screenende test waarmee een indruk kan worden verkregen over het gehele stollingssysteem. In de huidige TGT-studies wordt meestal gebruik gemaakt van plaatjes-arm plasma en toevoeging van weefselfactor, calcium, fosfolipiden en een fluorescent substraat (13). Een parameter die afgeleid kan worden uit de TGT wordt de endogene trombinepotentiaal (ETP) genoemd. Omdat trombine een centrale rol speelt in uiteenlopende stollingsmechanismen (plaatjesactivatie, stolling, fibrinolyse) is de endogene trombine potentiaal mogelijk een maat voor de totale stollingscapaciteit. Dit in tegenstelling tot de meest bekende scree-



Figuur 4. Overzicht van de (inter)acties van trombine.



Figuur 5. Voorbeeld van de eerste trombinegeneratiecurve van een gezonde vrijwilliger (1953).
Gedurende 15 minuten werden monsters genomen van stollend volbloed in een glazen buis (37 °C). Deze monsters werden toegevoegd aan een fibrinogeen oplossing en de tijd tot stolselvorming werd geregistreerd en gerelateerd aan een standaard trombinecurve.



Figuur 6.
A: Totstandkoming van een CAT-TGT-trombogram: monster, kalibrator en berekende curve (CAT-TGT-trombogram).
Onderbroken curve: ruwe meetwaarden in plaatjesarm plasma (linker y-as: substraatomzetting uitgedrukt in fluorescentie-units).
Groene curve: meetwaarden kalibrator (de afbuiging van deze curve en de hellingshoek worden gebruikt door het softwareprogramma om de ruwe meetresultaten van het plasma te corrigeren en uit te drukken in nM trombine).
Blauwe curve: Dit is de berekende curve welke representatief is voor de trombinevorming in het plasma in nM.
B: Parameters van een CAT-TGT-trombogram.

nende laboratoriumtesten, de PT of APTT, waarbij op het eindpunt van de test slechts een klein deel van alle in potentie aanwezige trombine in stollend plasma is gevormd.
De basis voor de trombinegeneratietest werd gelegd in de periode 1950 tot 1985 in de laboratoria van Gwyn Macfarlane en Rosemary Biggs (Oxford) (14), Francois Josso en Suzette Béguin (Parijs) en Coen Hemker (Leiden, vervolgens Maastricht) (15).
Het principe van de eerste trombinegeneratietest berust op het bepalen van de trombinevorming in stollend volbloed (activatie door glas) door monsters te nemen in de tijd (sub-samplingmethode). Deze monsters werden toegevoegd aan een fibrinogeenoplossing en de tijd tot de vorming van het fibrinestolsel werd bepaald (14). Een voorbeeld van een trombinegeneratiecurve uit 1953 van een gezonde vrijwilliger wordt gegeven in figuur 5. Na verloop van tijd werd de fibrinogeenoplossing vervangen door een chromogene substraatoplossing en werden de analyses uitgevoerd met porties van plaatjesarm of plaatjesrijk plasma. Dit bleef echter zeer tijdrovend onderzoek en niet geschikt voor het meten van grote series patiënten.

In de tweedegeneratie-TGT wordt een chromogeen substraat toegevoegd aan stollend plaatjesarm plasma en wordt de hydrolyse van het substraat continu kinetisch gemeten met behulp van een auto-analyser (optisch meetsignaal, geen sub-sampling) (16). Deze werkwijze stelt hoge eisen aan het gebruikte substraat. Het substraat moet specifiek zijn voor trombine, het mag niet te sterk binden aan trombine (hoge K_m) en het mag niet verbruikt worden door trombine gedurende de meting (lage K_{cat}) om zo de natuurlijke activiteit in het plasma zo weinig mogelijk te verstoren. Een nadeel van deze methode is dat er geen stolselvorming mag plaatsvinden omdat dit het optische meetsignaal verstoort. Om deze reden wordt het plasma gedefibrineerd met reptilase of ancrod alvorens het geanalyseerd kan worden. Ook kan polymerisatie van fibrine voorkomen worden door het toevoegen van een fibrinepolymerisatieblokker. Echter, defibrineren heeft een aantal nadelen. Het is met name niet in overeenstemming met het principe dat de ideale screeningstest alle mogelijke componenten van het stollingssysteem bevat. Daarnaast heeft defibrineren een invloed op de trombineactiviteit en inactivering (fibrine werkt als een 'trombine-spons').
Een dergelijke tweedegeneratie-TGT, met polymerisatieblokker, wordt op dit moment op de markt gebracht door Siemens (voorheen Dade-Behring) voor gebruik op de stollingsanalysers BCS en BCSxp.

De derdegeneratie-TGT maakt gebruik van een fluorogeen substraat. Deze methode wordt op de markt gebracht met en zonder kalibrator. De methode met kalibrator wordt ook wel 'calibrated automated thrombin generation' (CAT) genoemd. Een fluorogeen substraat heeft andere eigenschappen dan een chromogeen substraat dat via een optische methode bepaald wordt. In tegenstelling tot het optische signaal is het fluorescerend signaal niet lineair met de trombineconcentratie. Voor de consumptie van het substraat, de kleur van het plasma en voor een aantal andere storende factoren moet eveneens gecorrigeerd worden alvorens de trombinehoeveelheid berekend kan worden. De enige manier om voor al deze factoren te corrigeren is het gebruik van een kalibrator met een bekende trombineactiviteit. Elk plasma voor een CAT-TGT-meting moet daarom een simultane meting van een monster en kalibrator (figuur 6A) bevatten om rekening te houden met eerder beschreven factoren (17). Het uiteindelijke CAT-TGT-trombogram en bijbehorende parameters (piekhoogte, ETP, lagtime, 'time to peak', 'time to tail') worden weergegeven in figuur 6B.

Op dit moment zijn er twee leveranciers van derdegeneratie-TGT op de markt: Technoclone (Oostenrijk) en Trombinoscoop (Nederland). Het grootste verschil naast de samenstelling van het reagens is dat Technoclone geen kalibrator gebruikt voor de berekening van het gevormde trombine en Trombinoscoop in combinatie met een eigen softwarepakket dit wel doet.

De TGT wordt op dit moment nog niet gebruikt in de dagelijkse patiëntenzorg en is hierdoor niet operationeel in de klinisch-chemische laboratoria. Wel wordt de test steeds meer gebruikt bij diverse onderzoeken. Hemker (18) geeft aan dat de mogelijkheden voor de TGT met name liggen op de volgende gebieden:

- hypercoagulabiliteit en het risico op trombose
- controle van antitrombotische therapie
- onderzoek naar nieuwe antitrombotica
- onderzoek naar de discrepantie bij hemofiliepatiënten tussen FVIII-concentratie en klinische bloedingsneiging

Het aantal publicaties en reviewartikelen (18-20) stijgt, met name de laatste jaren. Ook wordt er meer onderzoek gepubliceerd om de invloed van individuele stollingsfactoren en remmers op de parameters van de TGT (lagtijd, ETP, piekhoogte) vast te stellen (21, 22).

Consensus en standaardisatie zijn echter noodzakelijk alvorens grote klinische (multicenter)trials opgezet kunnen worden om de TGT klinisch te valideren (23, 24). Tijdens meerdere SSC(Scientific and Standardization Committee)-meetings, onder andere in Oslo (2006), werd door de SSC een inventarisatie uitgevoerd onder gebruikers en fabrikanten naar gebruikte reagentia. Hieruit bleek dat er in de derdegeneratie-TGT-methoden, naast het al dan niet gebruik van een kalibrator, een grote diversiteit aan reagentia gebruikt wordt. Consensus bestaat over het feit dat een standaard reagens in ieder geval 'tissue factor' en fosfolipiden moet bevatten. In de huidige praktijk worden concentraties 'tissue factor' variërend van 1 pM tot ver boven de 30 pM gebruikt. De gebruikte fosfolipiden verschillen per laboratorium in samenstelling en bereidingswijze. Resultaten van de tot nu toe uitgevoerde en gepubliceerde onderzoeken door verschillende onderzoekslaboratoria, hoe zorgvuldig ook uitgevoerd, zullen hierdoor niet vergelijkbaar zijn. Het is dan ook van het grootste belang dat er uniformiteit komt in de gebruikte methoden. In een Maastrichts onderzoek (niet-gepubliceerde data) werd de variatiecoëfficiënt van een commercieel verkrijgbaar reagens (1 pM en 5 pM 'tissue factor', Trombinoscope) bepaald gedurende 30 maanden (n=200). Hierbij bleek een interassayvariatiecoëfficiënt van rond de 7% mogelijk te zijn (gemeten met verschillende lotnummers reagens, kalibrator en substraat) door de resultaten te normaliseren en uit te drukken in procenten ten opzichte van het gebruikte normaalplasma. De aanbeveling om te normaliseren wordt gesteund door de SSC.

Conclusie

Het is momenteel nog onduidelijk of de trombo-elastografie/-metrie ook in Nederland op grote schaal gebruikt gaat worden. Zowel clinici, met name anesthesiologen, als de klinisch-chemische laboratoria lijken hierin geïnteresseerd te zijn. Hier ligt een kans voor klinisch-chemici om samen met de klinici de evaluatie, implementatie en het gebruik van een trombo-elastograaf in het eigen ziekenhuis vorm te geven waardoor onder andere de kwaliteit van deze analyse gewaarborgd is. Het wachten is op de resultaten van enkele gedegen opgezette prospectieve studies die de toegevoegde waarde van trombo-elastografie/-metrie aantonen in het verbeteren van de klinische uitkomst van patiënten en/of in het uitsparen van trombocyten- en plasmatransfusies.

De trombinegeneratietest bevindt zich op dit moment nog in de onderzoeksfase, op zoek naar de mogelijkheden en de beperkingen. Standaardisatie is noodzakelijk alvorens uitgebreide klinische validatiestudies uitgevoerd kunnen worden. Deze studies moeten vervolgens aangeven welke rol deze test in de toekomstige diagnostiek van bloedings- en/of tromboseneiging gaat spelen.

Referenties

1. Hartert H. Blutgerinnungsstudien mit der thromboelastographie, einem neuen untersuchungsverfahren. Klinische Wochenschrift 1948; 26: 577-583.
2. Bochsen L, Wiinberg B, Kjelgaard-Hansen M, Steinbrüchel DA, Johansson PI. Evaluation of the TEG platelet mapping assay in blood donors. Thromb J 2007; 20: 5-13.
3. Luddington RJ. Thrombelastography/thromboelastometry. Clin Lab Haem 2005; 27: 81-90.
4. Hobson AR, Agarwala RA, Swallow RA, Dakins KD, Curzen NP. Trombelastography: Current clinical applications and its potential role in interventional cardiology. Platelets 2006; 17: 509-518.
5. Hendriks HGD, Meer J van der. Trombo-elastografie. Ned Tijdschr Hemat 2007; 4: 215-220.
6. Spiess BD, Gillies BS, Chandler W, Verrier E. Changes in transfusion therapy and reexploration rate after institution of a blood management program in cardiac surgical patients. J Cardiothorac Vasc Anesth 1995; 9: 168-173.
7. Anderson L, Quasim I, Soutar R, Steven M, Macfie A, Korte W. An audit of red cell and blood product use after the institution of thromboelastometry in a cardiac intensive care unit. Transfus Med 2006; 16: 31-39.

8. Spalding GJ, Hartrumpf M, Sierig T, Oesberg N, Kirschke CG, Albes JM. Cost reduction of perioperative coagulation management in cardiac surgery: value of 'bedside' thrombelastography (ROTEM). Eur J Cardiothorac Surg 2007; 31: 1052-1057.
9. McCrath DJ, Cerboni E, Frumento RJ, Hirsh AL, Bennett-Guerrero E. Thromboelastography maximum amplitude predicts postoperative thrombotic complications including myocardial infarction. Anesth Analg 2005; 100: 1576-1583.
10. Sorensen B, Ingerslev J. Tailoring haemostatic treatment to patient requirements - an update on monitoring haemostatic response using thrombelastography. Haemophilia 2005; 11: 1-6.
11. Sorensen B, Johansen P, Christiansen K, Woelke M, Ingerslev J. Whole blood coagulation thrombelastographic profiles employing minimal tissue factor activation. J Thromb Haemost 2002; 1: 551-558.
12. Rawley JTB. The central role of thrombin in hemostasis. J Thromb Haemost 2007; 5: 95-101.
13. Hemker HC, Giesen P, AlDieri R, Regnault V, de Smed E, Wagenvoord R, Lecompte T, Béguin S. The calibrated automated thrombogram (CAT): a universal routine test for hyper- and hypocoagulability. Pathophysiol Haemost Thromb 2002; 32: 249-253.
14. Macfarlane RG, Biggs R. A thrombin generation test. The application in Haemophilia and Thrombocytopenia. J Clin Pathol 1953; 6: 3-8.
15. Hemker HC. Recollections on thrombin generation. J Thromb Haemost 2008; 6: 219-226.
16. Hemker HC, Wielders S, Kessels H, Béguin S. Continuous registration of thrombin generation in plasma, its use for the determination of the thrombin potential. Thromb Haemost 1993; 70: 617-624.
17. Hemker HC, Giesen P, Dieri RA, Regnault V, Smet E de, Wagenvoort R, Lecompte T, Béguin S. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. Pathophysiol Haemost Thromb 2003; 33: 4-15.
18. Hemker HC, Al Dieri R, De Smedt E, Béguin S. Thrombin generation test, a function test of the haemostatic-thrombotic system. Thromb Haemost 2006; 96: 553-561.
19. Baglin T. The measurement and application of thrombin generation. Br J Haematol 2005: 130; 653-661.
20. Aledort LM. Why thrombin Generation? From bench to Bedside. Pathophysiol Haemost Thromb 2003; 33: 2-3.
21. Dielis AW, Castoldi E, Spronk HM, Oerle R van, Hamulyák K, Cate H ten, Rosing J. Coagulation factors and the protein C system as determinants of thrombin generation in a normal population. J Thromb Haemost 2008; 6: 125-131.
22. Duchemin J, Pan-Petesch B, Arnaud B, Blouch MT, Abgrall JF. Influence of coagulation factors and tissue factor concentration on the thrombin generation test in plasma. Thromb Haemost 2008; 99: 767-773.
23. Gerotziafas GT, Depasse F, Busson J, Leflem L, Elamlamy I, Samama MM. Towards a standardization of thrombin generation assessment: the influence of tissue factor, platelets and phospholipids concentration on the normal values of Thrombogram-Thrombinoscope assay. Thrombosis J 2005; 3: 16.
24. Ofuso FA. Review: Laboratory markers quantifying prothrombin activation and actions of thrombin in venous and arterial thrombosis do not accurately access disease severity or the effectiveness of treatment. Thromb Haemost 2006; 96: 586-577.

Summary

Stroobants AK, Oerle R van, Berends F, Sturk A, Spronk H, Henskens YMC. Old techniques newly fashioned. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2008; 33: 260-265.
Here, two old tests are presented that gain a new interest: thromboelastography and the thrombin generation test. The use of both tests for the investigation of the coagulation status of a patient seems promising, but the use of these techniques in daily practice remains dependent on proper standardisation of the (pre-)analysis and the results of well-diagnosed prospective studies.

Keywords: thromboelastography; thromboelastometry; thrombin generation test

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2008; 33: 265-270

Clopidogrel-ongevoeligheid: to test or not to test?

S. POSTMA, E.H.A.M. ELSENBERG, J.W. van WERKUM, J.M. ten BERG en C.M. HACKENG

Duale anti-plaatjestherapie met de ADP-receptorantagonist clopidogrel en aspirine is een bewezen effectieve profylaxe bij cardiologische patiënten. Echter, na percutane coronaire interventie (PCI) presenteert een klein percentage patiënten met trombotische complicaties. Een logisch target voor het zoeken naar mogelijke oorzaken is de ongevoeligheid van de patiënt voor clopidogrel. Dit artikel beschrijft hoe we deze ongevoeligheid kunnen definiëren, en op welke wijze het klinisch-chemisch laboratorium de cardioloog in de toekomst mogelijk zou kunnen ondersteunen bij het voorspellen van negatieve klinische uitkomsten. De gevolgen van deze voorspelling zouden een alternatief antistollingsregime voor de patiënt kunnen betekenen.

Klinisch Chemisch Laboratorium, St Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein en Mesos Medisch Centrum, Utrecht

E-mail: c.hackeng@antonius.net

Bloedplaatjes spelen een essentiële rol bij het ontstaan van het acuut coronair syndroom (ACS) (1). Wanneer de arteriële vaatwand beschadigd raakt (door een ruptuur van een atherosclerotische plaque of coronaire-stentplaatsing), komen de bloedplaatjes in contact met bestanddelen van de subendotheliale lagen van de vaatwand (bindweefselmatrix met o.a. collageen, weefselfactor, vonwillebrandfactor). Hierdoor worden ze geactiveerd zodat er een trombus ('platelet plug') ontstaat die het bloedvat kan afsluiten. Bij de totstandkoming van een arteriële trombus worden drie fases onderscheiden: adhesie, activatie, aggregatie (figuur 1).
De standaardantitrombotische therapie rondom een