

Souhrnné práce • Původní práce • Kazuistiky

Globální hodnocení funkce hemostázy – část I. Trombin generační test

Hluší A., Slavík L., Úlehlová J., Krčová V., Indrák K.
Hemato-onkologická klinika FN a LF UP Olomouc

Souhrn

Pro posouzení funkce lidského hemostatického systému je v současnosti k dispozici celá řada testů zahrnujících měření koagulačních časů, vyšetření jednotlivých komponent koagulačního procesu jako jsou hladiny konkrétních faktorů, inhibitorů, specifické mutace, lupus antikoagulans, doba krvácivosti, agregace trombocytů. Uvedené laboratorní testy ale nepostihují komplexitu hemostatického systému. Centrálním enzymem hemostatického systému je trombin. Zhodnocení individuálního potenciálu pro generaci trombinu pomocí trombin generačního testu (TGT) může těsně korelovat s hyper- nebo hypokoagulačním stavem. Generace trombinu byla studována u řady koagulačních poruch – získaných i vrozených krvácivých a hyperkoagulačních stavů či poruch destičkové funkce. V závislosti na vyšetřované problematice se používá několik variant testu. Pro velkou interlaboratorní variabilitu je dosud velmi obtížné srovnávání výsledků jednotlivých studií.

Klíčová slova: trombin, trombofilie, trombin generační test

Summary

Hluší A., Slavík L., Úlehlová J., Krčová V., Indrák K.: Global assessment of haemostatic function - part I. Thrombin generation test

There are numerous assays available for evaluation of the hemostatic system in humans, including clotting times of different types, investigation of single components of clotting system such as factors, inhibitors, specific mutations, lupus anticoagulant, bleeding time and platelet aggregation. These tests do not cover complexity of clotting system. The central enzyme of the hemostatic system is thrombin. Estimation of an individual's potential to generate thrombin may closely correlate with hyper- or hypo-coagulable state. Thrombin generation assays have been studied in various settings including acquired and congenital bleeding and thrombophilic states or in platelet disorders. Several variations of the assay do exist depending on the investigated defect. There are still considerable inter-laboratory variations which make the comparison between studies difficult.

Key words: thrombin, thrombophilia, thrombin generation test

Transfuzie Hematol. dnes, 16, 2010, No. 2, p. 65–70.

Úvod

Funkce hemostatického systému

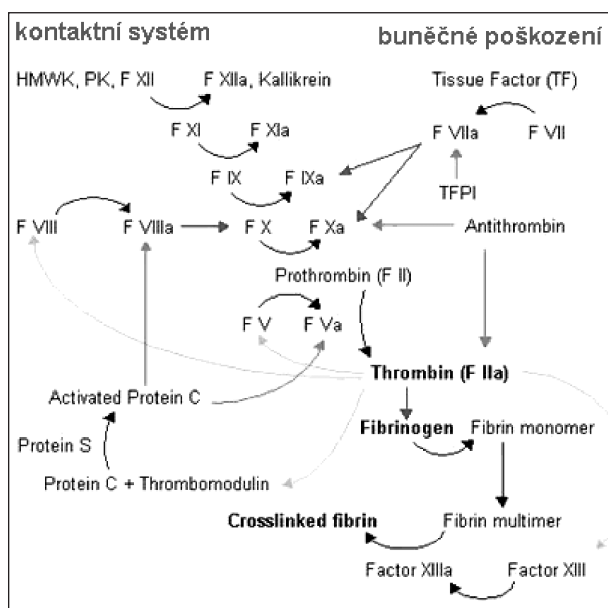
Hlavním úkolem hemostatického systému je zajištění integrity cévního řečiště a umožnění kontinuální cirkulace krve. Jde o systém komplexní, zahrnující inertní endotelovou cévní výstelku, cirkulující buněčné krevní složky – trombocyty, erytrocyty, leukocyty, z nich uvolňované buněčné mikropartikelky, a dále složitý systém plazmatických koagulačních proteinů, který při své aktivaci cestou kaskádovitých enzymatických reakcí vede k tvorbě klíčového koagulačního enzymu trombinu štěpícího solubilní fibrinogen na fibrin, hlavní komponentu nerozpustné fibrinové matrix (1) (obr. 1).

Při poškození cévní stěny se rozbíhá mnohaúrovňový proces: v endotelu dochází k syntéze a uvolňování působků ovlivňujících buněčné složky i plazmatický koagulační systém. Z buněčných elementů hrají dominantní úlohu trombocyty, procházející procesem adheze, aktivace,

agregace k formaci primární trombotické zátky. Zároveň trombocyty poskytují esenciální povrch pro průběh plazmatických koagulačních reakcí. Sama koagulační kaskáda funguje víceúrovňově.

Krátce po poškození cévy, obnažení subendoteliálních struktur a uvolnění tkáňového faktoru dojde velmi rychle k iniciaci koagulačního děje a vytvoření malého množství trombinu. Ten dále zpětnovazebně působí propagaci celého děje a stupňuje aktivitu prokoagulačního enzymatického komplexu, jehož výsledkem je syntéza velkého množství trombinu resp. dostatečného množství fibrinu, který formuje primární hemostatickou zátku v nerozpustnou sraženinu – trombus. Během této fáze již trombin zahajuje aktivaci fibrinolýzy a aktivuje též inhibitory krevního srážení.

Terminální fáze celého procesu je zajištěna inhibicí prokoagulačního enzymatického komplexu buď přímo antitrombinem, nebo inaktivací bílkovinných kofaktorů. Tímto je umožněna lokalizace hemostatického procesu pouze do místa cévního poškození. V poslední fázi do-



Obr. 1. Koagulační kaskáda (zdroj <http://kuwait-md.org>).

chází k aktivaci fibrinolytických dějů vedoucích k rozpouštění starého trombu a opravě a regeneraci poškozené tkáně.

Správná funkce hemostatického systému vyžaduje udržení rovnováhy mezi jeho prokoagulačními a antikoagulačními složkami. Jejich vychýlení jedním nebo druhým směrem vede k hypokoagulačnímu nebo naopak hyperkoagulačnímu stavu, který se klinicky projeví krvácením nebo naopak trombotickými komplikacemi.

Tradiční hodnocení funkce hemostázy

Dosud užívané hodnocení funkce koagulačního systému je založeno na měření tradičních koagulačních časů jako je aktivovaný tromboplastinový čas (aPTT), protrombinový čas (PT, Quickův), trombinový čas (TT) nebo jejich alternativy, které sledují v laboratorních podmínkách dobu od zahájení koagulační reakce do vytvoření fibrinové sraženiny. Tyto testy jsou vhodné k orientačnímu zhodnocení případného rizika krvácení nebo k monitorování příslušné antikoagulační terapie. K hodnocení trombotického stavu je užít nelze.

Další širokou skupinu laboratorních vyšetření představují testy sloužící ke kvantitativnímu, příp. kvalitativnímu stanovení jednotlivých koagulačních faktorů nebo inhibitorů, složek fibrinolytického systému a přítomnosti nespecifických (antifosfolipidové protilátky) nebo specifických inhibitorů krevního srážení. Moderní molekulárně genetické testy již rutinně umožňují vyšetření vrozených trombofilních dispozic jako jsou mutace faktoru V Leiden nebo protrombinová mutace (2–4). K vyšetření funkce krevních destiček je k dispozici několik možností. Mezi kliniky nejužívanější patří vyšetření agregace trombocytů nebo funkční test PFA-100; měření času krvácení (krváčivost) patří mezi testy hrubě orientační.

Zavedené laboratorní koagulační metody tedy vždy postihují pouze část hemostatického systému a vůbec ne-

odrážejí vztah plazmatických a buněčných složek. Přes nesporné pokroky v laboratorní hemostazeologii ale stále zůstává část pacientů, u kterých závažný klinický průběh nekoreluje s výsledky dostupných vyšetření. Jde především o idiopatické či recidivující tromboembolické komplikace bez laboratorního průkazu trombofilního stavu. Obdobný problém představuje také laboratorní posouzení bypassové léčby u pacientů s inhibitory koagulačního faktoru VIII/IX či specifické případy monitorování antikoagulační terapie (např. u antifosfolipidového syndromu). Snaha o zavedení vyšetření, které by uvedené nedostatky klasických testů postrádalo, je proto logická a žádoucí.

„Globální hemostatické testy“

Pro účely komplexního posouzení funkce hemostatického systému byla navržena řada testů, z nichž se mnohé v klinické praxi neprosadily. V současnosti se využívá několik metod, které jsou založeny na nepřímém nebo přímém sledování generace trombinu. Do první skupiny patří tromboelastografie (TEG), při které je analyzována plná krev (5). Tromboelastografický záznam je vhodný hlavně pro urgentní medicínu k základnímu posouzení aktuálního stavu hemostázy, k odlišení hypokoagulace, fibrinolýzy, vlivu trombocytopenie a případně ke sledování efektu substituční léčby.

Další možností je vyšetření celkového hemostatického potenciálu (overall hemostatic potential assay, OHP) testem založeným na monitorování formace fibrinu pomocí měření kapacity reakčního produktu (6).

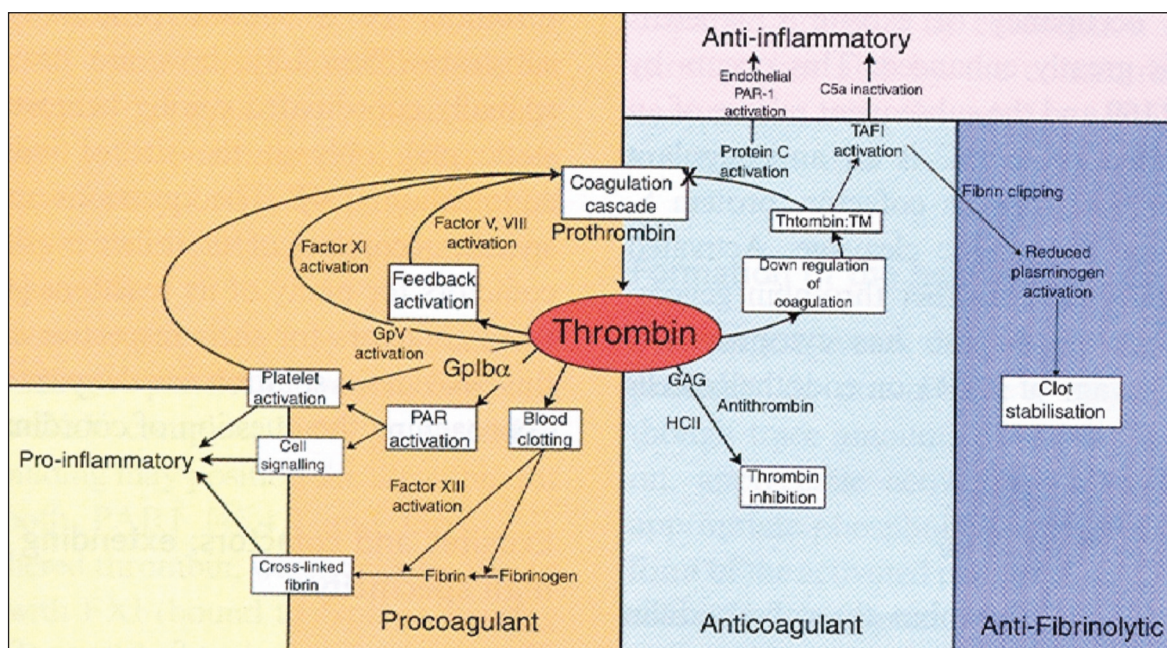
Jako přesnější a klinicky lépe využitelný se jeví test založený na měření kinetiky vzniku trombinu, trombin generací test (TGT). Měření individuální kapacity pro generaci trombinu v plné krvi nebo v plazmě může být proto ve srovnání s konvenčními testy potenciálně užitečnější tím, že odráží hemoragický nebo trombotický klinický fenotyp (snížená nebo zvýšená generace trombinu).

Měření generace trombinu

Filozofie měření trombinové generace vychází z postavení trombinu v koagulačním procesu, kde představuje centrální enzym (obr. 2). Trombin zajišťuje aktivaci krevního srážení, zároveň ale v pokročilých fázích procesu zprostředkovává samotnou inhibici hemostatických pochodů, hraje významnou roli v mezibuněčné signalizaci, ovlivňuje fibrinolýzu a zánětlivé procesy. Uvedené funkce jsou realizovány skrze plejádu enzymatických reakcí, které vyžadují těsnou koordinaci. V řadě reakcí vystupuje trombin jako enzymatický substrát, jindy působí jako kofaktor. Jeho úloha v hemostáze je multifunkční, občas i bivalentní.

Monitorování tvorby trombinu se jeví jako vhodný postup pro globální vyšetření funkce hemostázy. K posouzení stavu in vivo se nabízí stanovení markerů generace trombinu jako protrombinové fragmenty (F₁₊₂), fibrinopeptid A nebo trombin-antitrombinové komplexy (TAT). Pro praktické použití nejsou ale vhodné.

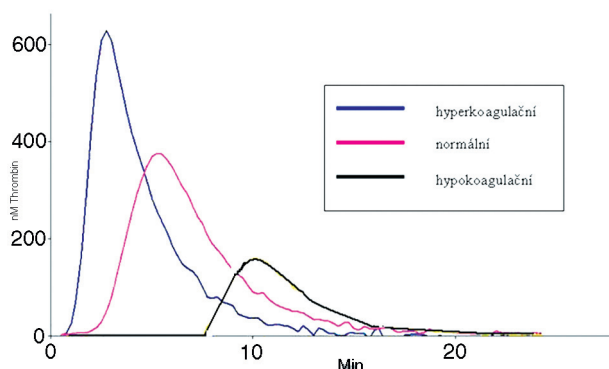
Laboratorní sledování generace trombinu jednoduchým



Obr. 2. Centrální role trombinu v hemostáze (převzato z J Thromb Haemost, Crawley J., The central role of thrombin in hemostasis (1))

Prokoagulační, antikoagulační, prozánětlivé, protizánětlivé a anti-fibrinolytické působení trombinu.

(PAR – proteázou aktivovaný receptor, TM – trombomodulin, GAG - glykosaminoglykany, TAFI – trombinem aktivovatelný inhibitor fibrinolýzy, Gp – destičkový povrchový glykoproteinový receptor, HCII – heparin kofaktor II, C5a – složka komplementu)



Obr. 3. Základní generační křivky trombinu (zdroj <http://www.stago.fr>)

testem bylo poprvé popsáno Macfarlanem a Pitneym již v roce 1953 (7, 8). Principem dnes používaných automatizovaných měření je in vitro monitorování vzniku trombinu v plazmě po aktivaci koagulační kaskády tkáňovým faktorem (TF). Reakce probíhá za účasti negativně nabitých fosfolipidů a Ca^{2+} . TF a koncentrace fosfolipidů je používán v různých koncentracích v závislosti na typu používané plazmy a charakteru vyšetření (bypassová léčba u hemofiliků, trombofilní stav, antikoagulační léčba). Generovaný trombin štěpí chromogenní nebo fluorogenní substrát, který je odpovídající metodou detekován. Nevýhodou chromogenních substrátů je jejich pomalejší štěpení trombinem, nižší afinita k trombinu a potřeba blokáce vzniku fibrinu ve vyšetřované plazmě. Použití fluorogenního substrátu je vhodnější navíc i proto, že generovaný fluorogenní signál není rušen vznikající sraženinou ani přítomností trombocytů.

Výsledkem měření je křivka odrážející aktuální kapacitu systému pro generaci trombinu (obr. 3), která je cha-

rakterizována třemi hlavními parametry: dobou do nástupu generace trombinu (lag fáze), maximální koncentrací trombinu (peak), a plochou pod křivkou odrážející celkové množství vzniklého trombinu (endogenní potenciál, ETP). K vyšetření lze použít plazmu chudou na destičky (PPP) nebo plazmu na destičky bohatou (PRP). Z technického hlediska během vývoje vznikla řada variant testu, používajících různé koncentrace tkáňového faktoru a fosfolipidů, přidání inhibitoru kontaktní fáze nebo trombomodulinu (9–14).

Technické možnosti

V současnosti jsou komerčně dostupné dva druhy TGT, které vykazují dostatečnou reprodukovatelnost a jejich provedení je relativně snadné. U obou je používán fluorogenní substrát. První metodou je kalibrovaný automatizovaný trombin generační test (CAT) (Thrombinoscope B.V., Maastricht, The Netherlands), vyvíjený v kolektivu prof. Hemkera od poloviny osmdesátých let (13–17). Druhou možností je Technothrombin® TGA assay (Technoclone, Vienna, Austria) (18, 19). Dosavadní zkušenosti prokázaly dostatečnou intralaboratorní reproducibilitu s intra- i inter-assay koeficientem variace pod 10 % v PPP i PRP (20, 21). Mezilaboratorní variabilita je ale mnohem výraznější, závisí na používaných reagentech, metodice ale i na způsobu odběru, skladování a přípravě vzorku plazmy. Srovnávání výsledků mezi jednotlivými pracovišti je proto zatím problematické.

Z hlediska metodiky testu bylo popsáno několik jeho variant využívaných:

1. rozdílné koncentrace TF jako koagulačního iniciátoru testu (10, 11),
2. rozdílné koncentrace fosfolipidů (12, 14),

3. přidání inhibitoru kontaktní fáze při měření u stavů s nízkou generací trombinu (hemofilie) (9, 11),
4. přidání trombomodulinu nebo aktivovaného proteinu C, který zvyšuje senzitivitu testu při deficitu proteinů C, S nebo APC-rezistenci (22, 23).

Možnosti použití TGT v praxi

Hypokoagulační stavy

Hemofilie. U pacientů s hemofilií byla prokázána jednoznačná závislost koagulační aktivity FVIII (FIX) a peaku i ETP generace trombinu (12, 24). Uvedené parametry se zřetelně liší u zdravých lidí a u pacientů s různou tíží hemofilie. Byla také prokázána signifikantní variabilita v TGT u pacientů se stejnou aktivitou FVIII (FIX), což koresponduje s klinickým fenotypem onemocnění. V generaci trombinu se logicky odráží i substituční léčba koagulačním faktorem. Zde byly rovněž zaznamenány rozdíly v parametrech TGT u pacientů se stejnou hladinou faktoru po substituci. Z dosavadních zkušeností do budoucna vyplývá možnost použití testu pro lepší monitorování substituční terapie, než jakou poskytuje měření aktivity koagulačního faktoru.

Hemofilie s přítomností specifického inhibitoru. U hemofilických pacientů s přítomností komplikujícího inhibitoru nelze k monitorování substituční by-passové terapie konvenční testy vůbec použít. Použití trombin generálního testu se proto potenciálně jeví jako velmi výhodné. Dostupná možnost monitorování by přinesla zřetelnou racionalizaci v léčbě s významným ekonomickým efektem.

Studie (25, 26) prokazují lineární závislost odpovědi na dávce FEIBA (Factor Eight Inhibitor Bypassing Activity) u peaku generace trombinu a jeho normalizaci po léčbě. Test je použitelný i k monitorování substituce u pacientů podstupujících chirurgické výkony (27). Možnostem využití TGT k monitorování by-passové léčby rekombinantním FVIIa se také věnuje několik autorů používajících různé technické modifikace testu (25, 27, 28). Výsledky jsou zde méně jednoznačné, všichni ale prokazují zkrácení lag fáze TGT.

Ostatní vrozené krvácivé stavy. U pacientů s von Willebrandovou chorobou, Bernard-Soulierovým syndromem nebo Glanzmannovou trombastenii jsou zkušenosti s TGT dle literárních údajů velmi limitované (29). Parametry TGT vykazují u pacientů se stejným defektem výrazné rozdíly, které přetrvávají po terapii.

Jiné koagulopatie. Generace trombinu byla studována i v jiných stavech provázených koagulopatií. Například u pacientů s jaterní cirhózou Tripodi prokázal větší vliv trombocytopenie na generaci trombinu, než jaký měla koncentrace koagulačních faktorů (30).

Trombotické stavy

Žilní tromboembolismus, trombofilní stavy. V několika studiích zabývajících se trombofilními stavy byla prokázána zvýšená generace trombinu. Jde o klasické trombofilie jako jsou mutace FV Leiden (R506Q), protrombinová mutace (G20210A) nebo vrozené deficity proteinu C, proteinu S, antitrombinu (31–34). Endogenní trombo-

genní potenciál je u těchto stavů zvýšený. Podobně jako u hemofilií existují významné rozdíly v ETP mezi pacienty se stejným defektem. Zvýšená generace trombinu byla prokázána i u zvýšení hladin FVIII, FIX, FXI u žen užívajících kombinovanou kontracepci, i u pacientů s přítomností lupus antikoagulans (35–37).

Z klinického hlediska by byla užitečná možnost predikce rekurence TEN příhod. V Hronově studii (19) byla zkoumána závislost rekurence HŽT a generace trombinu. U pacientů s peak trombinu < 400 nmol/l bylo riziko rekurence ve 4 letech 6,5 %, u pacientů s peakem > 400 nmol/l riziko činilo 20 %.

Arteriální tromboembolismus. V případě arteriálních trombotických komplikací jsou zkušenosti s TGT chudší. Zvýšené riziko ischemické mozkové příhody podle Fabera koreluje s hodnotou ETP (38). U kardiologických nemocných byla prokázána časnější, rychlejší a vyšší generace trombinu u pacientů, kteří prodělali akutní formu koronárního syndromu ve srovnání s pacienty se stabilizovanou chronickou ischemickou chorobou srdeční (39).

Monitorování antikoagulační a antiagregační terapie

Měření generace trombinu umožňuje i posuzování efektivity antikoagulační i antiagregační léčby. Je senzitivní jak k nejrozšířenějším antikoagulačním lékům warfarinu a heparinu, tak k novým přípravkům. Hodnota ETP v případě warfarinu negativně koreluje s mezinárodním normalizovaným poměrem (INR) (40). Citlivost vyšetření byla potvrzena i u nefrakcionovaného heparinu nízkomolekulárních heparinů (41, 42).

U zmíněných antikoagulačních léků byla zaznamenána signifikantní variabilita v generaci trombinu u pacientů se stejným INR resp. aPTT či anti-FXa. Nabízí se zde do budoucna využití monitorování generace trombinu u antikoagulovaných pacientů s krvácivými nebo trombotickými komplikacemi v případech, kdy jsou výsledky konvenčních testů v terapeutickém rozmezí.

Z nových antikoagulačních léků vykazuje generace trombinu citlivost k inhibitorům faktoru Xa (fondaparinux, rivaroxaban), kde byla pozorovaná závislost ve všech parametrech. Obdobné výsledky byly získány u přímých inhibitorů trombinu dabigatranu a argatrobanu. Měření generace trombinu v PRP bylo zkoumáno i u antiagregační léčby aspirinem, clopidogrelem, abciximabem (43). Při této léčbě dochází k prodloužení lag fáze; celková generace trombinu ale ovlivněna není.

Dosavadní zkušenosti z této oblasti poukazují na některé výhody měření trombinové generace oproti tradičním koagulačním testům a pro řadu nových léčebných modalit jsou zatím jedinou možností k laboratornímu posuzování jejich efektu.

Neutralizace antikoagulační terapie

Měření generace trombinu nabízí možnost lepšího posouzení neutralizace léčby warfarinem, nefrakcionovaným i frakcionovaným heparinem pomocí čerstvě zmražené plazmy, koncentráty protrombinového komplexu, resp. protamin sulfátu či rFVIIa (44). Obdobně je test využitel-

ný k posuzování neutralizace protidestičkové duální léčby pomocí rVIIa u kardiologických pacientů podstupujících implantace stentů či kardiochirurgický výkon (43).

Závěr

Stanovení generace trombinu se jeví jako metoda vhodná k posouzení globální funkce hemostatického systému. Fluorescenční měření generace trombinu je v současnosti již dostupná automatizovaná metoda s přijatelnou intralaboratorní variabilitou. Mezilaboratorní srovnávání zkušeností u hypokoagulačních i hyperkoagulačních stavů ale zatím vykazuje výrazné rozdíly. Vzhledem k chybějící standardizaci vyšetření, existenci řady metodických postupů, nevyhovující interlaboratorní korelaci jde ale stále o metodu experimentální. Zmiňované nevýhody zatím znemožňují realizaci větších multicentrických studií.

Přes uvedené nedostatky se vyšetření generace trombinu do budoucna jeví jako nadějná metoda pro přesnější diagnostiku i monitorování léčby jak hemoragických, tak trombotických komplikací. Možný přínos lze spatřovat v lepším odhadu rizika uvedených stavů a také v možnosti individualizace profylaktických i léčebných přístupů. Slibná je i pro možnost monitorování nových antikoagulačních i antiagregačních léčebných postupů, kde jsou tradiční metody nepoužitelné. Vyšetření generace trombinu by tak mohlo přispět k větší bezpečnosti a ekonomičnosti terapeutických postupů.

Práce byla podpořena granty
NS 10319-3/2009 86-14 a NR 9282-3/2007 86-12.

Literatura

- Crawley JTB, Zanardelli S, Chion CKNK, Lane DA. The central role of thrombin in hemostasis. *J Thromb Haemost* 2007; 5 (Suppl. 1): 95-101.
- Dahlbäck B. Physiological anticoagulation. Resistance to activated protein C and venous thromboembolism. *J Clin Invest* 1994; 94: 923-927.
- Bertina RM, Koeleman BPC, Koester T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64-67.
- Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996; 88: 3698-3703.
- Chandler WL. The thromboelastography and the thromboelastograph technique. *Semin Thromb Hemost*, 1995; 21 (Suppl. 4): 1-6.
- Andresen MS, Iversen N, Abildgaard U. Overall haemostasis potential assay performed in thrombophilic plasma: the effect of preactivating protein C and antithrombin. *Thromb Res* 2003; 108: 323-328.
- Macfarlane R, Biggs R. A thrombin generation test; the application in haemophilia and thrombocytopenia. *Journal of Clinical Pathology* 1953; 6: 3-8.
- Pitney WR, Dacie JV. A simple method of studying the generation of thrombin in recalcified plasma; application in the investigation of haemophilia. *Journal of Clinical Pathology* 1953; 6: 9-14.
- van Veen JJ, Gatt A, Cooper PC, Kitchen S, Makris M. Between-batch variation of calibrator activity can significantly influence fluorogenic measurement of thrombin generation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006; 4: 2514-2516.
- van Veen JJ, Gatt A, Cooper PC, Kitchen S., Bowyer AE, Makris M. Corn trypsin inhibitor in fluorogenic thrombin generation measurements is only necessary at low tissue factor concentrations and influences the relationship between FVIII:C and thrombogram parameters. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* 2008; 19: 183-189.
- Lewis SJ, Stephens E, Florou G, Macartney NJ, Hathaway LS, Knipping J, Collins PW. Measurement of global haemostasis in severe haemophilia A following factor VIII infusion. *British Journal of Haematology* 2007; 138: 775-782.
- Chantarangkul V, Clerici M, Bressi C, Giesen PL, Tripodi A. Thrombin generation assessed as endogenous thrombin potential in patients with hyper- or hypo-coagulability. *Haematologica* 2003; 88: 547-554.
- Hemker HC, Beguin S. Thrombin generation in plasma: its assessment via the endogenous thrombin potential. *Thrombosis and Haemostasis* 1995; 74: 134-138.
- Hemker HC, Giesen P, Al Dieri R, et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis* 2003; 33: 4-15.
- Hemker HC, Willems GM, Beguin S. A computer assisted method to obtain the prothrombin activation velocity in whole plasma independent of thrombin decay processes. *Thrombosis and Haemostasis* 1986; 56: 9-17.
- Hemker HC, Giesen PL, Ramjee M, Wagenvoort R, Beguin S. The thrombogram: monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma. *Thrombosis and Haemostasis* 2000; 83: 589-591.
- Hemker HC, et al. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. *J Thromb Haemost* 2006; 96: 553-561.
- Váradí K, Turecek PL, Schwarz HP. Thrombin generation assay and other universal tests for monitoring haemophilia therapy. *2004*; 10: 17-21.
- Hron G, Kollars M, Binder BR, Eichinger S, Kyrle PA. Identification of patients at low risk for recurrent venous thromboembolism by measuring thrombin generation. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 2006; 296: 397-402.
- Gerotziafas GT, Depasse F, Busson J, Leflem L, Elalamy 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 Journal* 2005; 3: 16.
- Vanschoonbeek K, Feijge MA, Van Kampen RJ, Kenis H, Hemker HC, Giesen PL, Heemskerk JW. Initiating and potentiating role of platelets in tissue factor-induced thrombin generation in the presence of plasma: subject-dependent variation in thrombogram characteristics. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2004; 2: 476-484.
- van Hylckama Vlieg A, Christiansen SC, Luddington R, Cannegieter SC, Rosendaal FR, Baglin TP. Elevated endogenous thrombin potential is associated with an increased risk of a first deep venous thrombosis but not with the risk of recurrence. *British Journal of Haematology* 2007; 138: 769-774.
- Regnault V, Beguin S, Lecompte T. Calibrated automated thrombin generation in frozen-thawed platelet-rich plasma to detect hypercoagulability. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis* 2003; 33: 23-29.
- Dargaud Y, Beguin S, Lienhart A, Al Dieri R, Trzeciak C, Bordet JC, Hemker HC, Negrier C. Evaluation of thrombin generating capacity in plasma from patients with haemophilia A and B. *Thrombosis and Haemostasis* 2005; 93: 475-480.
- Turecek PL, Varadi K, Keil B, et al. Factor VIII inhibitor-bypassing agents act by inducing thrombin generation and can be monitored by a thrombin generation assay. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis* 2003; 33: 16-22.
- Varadi K, Negrier C, Berntorp E, et al. Monitoring the bioavailability of FEIBA with a thrombin generation assay. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2003; 1: 2374-2380.
- Dargaud Y, Lienhart A, Meunier S, et al. Major surgery in a severe

- re haemophilia A patient with high titre inhibitor: use of the thrombin generation test in the therapeutic decision. *Haemophilia* 2005; 11, 552–558.
28. Gerotziakas GT, Chakroun T, Depasse F, Arzoglou P, Samama MM, Elalamy I. The role of platelets and recombinant factor VIIa on thrombin generation, platelet activation and clot formation. *Thrombosis and Haemostasis* 2004; 91: 977–985.
 29. Rugeri L, Beguin S, Hemker C, et al. Thrombin-generating capacity in patients with von Willebrand's disease. *Haematologica* 2007; 92: 1639–1646.
 30. Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, et al. Thrombin generation in patients with cirrhosis: the role of platelets. *Hepatology* 2006; 44: 440–445.
 31. Andresen MS, Abildgaard U, Liestol S, et al. The ability of three global plasma assays to recognize thrombophilia. *Thrombosis Research* 2004; 113: 411–417.
 32. Dargaud Y, Trzeciak MC, Bordet JC, Ninet J, Negrier C. Use of calibrated automated thrombinography I thrombomodulin to recognise the prothrombotic phenotype. *Thrombosis and Haemostasis* 2006; 96: 562–567.
 33. Castoldi E, Simioni P, Tormene D, et al. Differential effects of high prothrombin levels on thrombin generation depending on the cause of the hyperprothrombinemia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2007; 5: 971–979.
 34. Gatt A, van Veen JJ, Cooper P, Kitchen S, Makris M. Protein C deficiency screening using a thrombin generation assay - an upgrade. *Thrombosis and Haemostasis* 2007; 98: 691–692.
 35. Siegemund A, Petros S, Siegemund T, Scholz U, Seyfarth HJ, Engelmann L. The endogenous thrombin potential and high levels of coagulation factor VIII, factor IX and factor XI. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* 2004; 15: 241–244.
 36. Tchaikovski SN, van Vliet HA, Christella M, et al. Effect of oral contraceptives on thrombin generation measured via calibrated automated thrombography. *Thrombosis and Haemostasis* 2007; 98: 1350–1356.
 37. Regnault V, Beguin S, Wahl D, de Maistre E, Coenraad HH, Le-compte T. Thrombinography shows acquired resistance to activated protein C in patients with lupus anticoagulants. *Thrombosis and Haemostasis* 2003; 89: 208–212.
 38. Faber CG, Lodder J, Kessels F, Troost J. Thrombin generation in platelet-rich plasma as a tool for the detection of hypercoagulability in young stroke patients. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis* 2003; 33: 52–58.
 39. Orbe J, Zudaire M, Serrano R, Coma-Canella I, Martínez de Sarrondo S, Rodríguez JA, Páramo JA. Increased thrombin generation after acute versus chronic coronary disease as assessed by the thrombin generation test. *Thromb Haemost* 2008; 99(2): 382–7.
 40. Jackson CM, Esnouf MP, Lindahl TL. A critical evaluation of the prothrombin time for monitoring oral anticoagulant therapy. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis* 2003; 33: 43–51.
 41. Al Dieri R, Alban S, Beguin S, Hemker HC. Thrombin generation for the control of heparin treatment, comparison with the activated partial thromboplastin time. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2004; 2: 1395–1401.
 42. Al Dieri R, Alban S, Beguin S, Hemker HC. Fixed dosage of low-molecular-weight heparins causes large individual variation in coagulability, only partly correlated to body weight. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006; 4: 83–89.
 43. Altman R, Scazzioia A, De Lourdes HM, Gonzalez C. Recombinant factor VIIa reverses the inhibitory effect of aspirin or aspirin plus clopidogrel on in vitro thrombin generation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006; 4: 2022–2027.
 44. Makris M, Greaves M, Phillips WS, Kitchen S, Rosendaal FR, Preston EF. Emergency oral anticoagulant reversal: the relative efficacy of infusions of fresh frozen plasma and clotting factor concentrate on correction of the coagulopathy. *Thrombosis and Haemostasis* 1997; 77: 477–480.

MUDr. Antonín Hluší
751 05 Kokory 401
e-mail: hlusian@fnol.cz

Doručeno do redakce: 27. 10. 2009
Přijato po recenzi: 20. 1. 2010

Vzdělávací akce IPVZ

Subkatedra hematologie a transfuzního lékařství
ÚHKT, U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2
Vedoucí: doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc., tel. 224 962 839, fax 224 962 857, e-mail: jaroslav.cermak@uhkt.cz

Subkatedra hematologie a transfuzního lékařství

209202101 Kurz – Hematologie a transfuzní služba pro nelékaře – modul I.

Určeno pro VŠ nelékaře ve specializační přípravě k atestaci v oboru hematologie a transfuzní služba.
Program: Morfologie, fyziologie a patofyziologie krevních buněk se zaměřením na jednotlivé krevní řady.
Vedoucí: doc. MUDr. J. Čermák, CSc.

Místo konání: Praha 2, U Nemocnice 1, ÚHKT

Předpokládaná cena: 6 000 Kč

8. 11. 2010 – 12. 11. 2010

209202102 Kurz – Hematologie a transfuzní služba pro nelékaře – modul IV.

Určeno pro VŠ nelékaře ve specializační přípravě k atestaci v oboru hematologie a transfuzní služba.
Program: Základní vyšetření v transfuzním lékařství, imunohematologie, krevní skupiny, HLA systém, separační a eliminační metody.
Vedoucí: doc. MUDr. J. Čermák, CSc.

Místo konání: Praha 2, U Nemocnice 1, ÚHKT

Předpokládaná cena: 6 000 Kč

4. 10. 2010 – 8. 10. 2010