

# Thrombotic tendency in young stroke patients : the thrombin potential as a screening parameter for coagulation disturbances

Citation for published version (APA):

Faber, C. G. (1998). *Thrombotic tendency in young stroke patients : the thrombin potential as a screening parameter for coagulation disturbances*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.19981204cf>

## Document status and date:

Published: 01/01/1998

## DOI:

[10.26481/dis.19981204cf](https://doi.org/10.26481/dis.19981204cf)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

**Chapter**



**Summary**

Effective prevention of stroke is best applied on basis of the pathophysiological mechanism underlying the stroke. In many young stroke patients however, this mechanism remains uncertain. Conflicting data exist about hypercoagulability as a possible contributor to ischaemic stroke in young patients. Extensive laboratory screening for prethrombotic states in stroke patients is limited to the recognition of a number of known diseases that cause hypercoagulability, such as the factor V Leiden mutation, deficiencies of proteins C and S, hyperhomocysteinaemia etc. Such screening is expensive and not widely available. Besides, it often provides only negative information, because only specific, known causes of hypercoagulability can be investigated. Instead of investigating a large number of possible causes of hypercoagulability, it would be a great advantage to have a screening parameter of the coagulation system as a whole, i.e. the plasmatic coagulation system together with the platelets. In this way further specific testing could be limited to patients with an identified hypercoagulability. It was the main aim of this thesis to investigate whether an overall test, the endogenous thrombin potential (ETP), can be used as such a screening parameter in young stroke patients. With the ETP, measured both in platelet rich plasma and in platelet poor plasma, it is possible to differentiate between hypercoagulability due to platelets, or hypercoagulability due to the plasmatic coagulation system. Also the influence of medication on the hypercoagulability can be studied with the ETP. Apart from cardioembolic stroke, secondary stroke prevention up till now is limited to antiplatelet therapy, which is only moderately effective. In specific subgroups other medication, like fixed low-dose oral anticoagulants, may be more effective in preventing vascular events. With the use of the ETP it may be possible to stratify young stroke patients in groups that will benefit from either oral anticoagulant or antiplatelet therapy.

In *Chapter 2* we set out to explore the role of erythrocyte aggregation in young patients with non-cardioembolic stroke. Enhanced red blood cell aggregation is considered as a factor related to the pathogenesis of stroke in elderly patients, in whom enhanced red blood cell aggregation is correlated with increased fibrinogen. In young stroke patients we found an enhanced red blood cell aggregation compared to young controls, both in the early and in the late phases, whereas fibrinogen was normal. Red blood cell aggregation was significantly associated with stroke after adjusting for differences in fibrinogen, hematocrit and erythrocyte sedimentation rate. Red blood cell aggregation was higher in elderly patients than in elderly controls. In elderly patients increased fibrinogen was associated with stroke. We concluded that enhanced red blood cell aggregation independently relates to stroke in young people, which may suggest that enhanced red blood cell

aggregation contributes to stroke cause, whereas in elderly patients any such effect is probably explained by confounding by raised fibrinogen.

In *Chapter 3* we determined whether young stroke patients have abnormalities in the plasmatic coagulation system. Furthermore, to investigate whether there were any disturbances in the protein C pathway, we added an activator of protein C, thrombomodulin, to the thrombin generation assay. With the use of the ETP in platelet poor plasma as a screening parameter of the plasmatic coagulation system, we found a plasma based hypercoagulability in about one third of young stroke patients. Patients with recurrent stroke had a significantly higher ETP than those without. After the addition of thrombomodulin five patients had an insufficient inhibition of thrombin generation, indicating an abnormality in the protein C pathway. Abnormalities in the protein C pathway are easily detectable with the thrombomodulin test, and may contribute to the development of stroke in the presence of other vascular risk factors. In patients with an identified hyperactive coagulation system, further investigations into the cause of this plasma based thrombotic tendency are warranted.

In *Chapter 4* we tested whether young stroke patients have a hypercoagulability related to the blood platelets. Comparing the ETP in platelet rich plasma to the ETP in platelet poor plasma allows distinction between platelet related or plasma based hypercoagulability. The von Willebrand factor is a necessary mediator in the mechanism that brings out procoagulant activity in platelets. Therefore, we also determined platelet procoagulant activity and the concentration of von Willebrand factor. The ETP in platelet rich plasma was significantly higher in young stroke patients than in controls. Platelet procoagulant activity and von Willebrand factor were also significantly higher in patients than in controls. High ETP was significantly associated with stroke. In a linear regression model von Willebrand factor concentration was associated with platelet procoagulant activity and with the ETP, whereas platelet procoagulant activity also was associated with the ETP. We concluded that thrombin generation in platelet rich plasma is elevated in young stroke patients. Both platelet derived procoagulant activity and von Willebrand factor are increased in young stroke patients and are related to the ETP in platelet rich plasma. This indicates that among the numerous causes that may be behind an increased ETP, a high concentration of von Willebrand factor is of significant importance. Our findings provide a pathophysiological explanation for the epidemiological observation that relates increased concentration of von Willebrand factor to the occurrence of stroke.

In *Chapter 5* we investigated the influence of aspirin and of fixed low-dose oral anticoagulants on thrombin generation in healthy volunteers and in young stroke patients. It would be advantageous if patients with hypercoagulability, either due to the plasmatic coagulation system or related to platelets, could be separately identified, as this may eventually allow a more rational prescription of a preventive drug. It is conceivable that a decrease in the thrombin generation, induced by aspirin or fixed low-dose oral anticoagulants, lowers the risk of thrombotic events in patients. In the controls there was a mild but significant decrease (ca. 8%) of the ETP in platelet rich plasma after two weeks of aspirin intake (30 mg/day), whereas in the patients such an effect was seen only in the subgroup with platelet related hypercoagulability. In the patients with plasma based hypercoagulability the ETP in the extrinsic pathway decreased after aspirin use. Platelet procoagulant activity decreased in our young stroke patients after aspirin treatment. Fixed low-dose phenprocoumon (0,75 mg/day) in the controls decreased only the extrinsic ETP in platelet poor plasma, which effect was also seen in the patients. Also in the patient subgroup with platelet related hypercoagulability thrombin generation in platelet rich plasma decreased after phenprocoumon. We concluded that aspirin modulated the hypercoagulable state as measured by the ETP in young stroke patients, especially in those patients with platelet related hypercoagulability. However, it has only a mild effect on decreasing thrombin generation. We found no laboratory support for a potential higher effectiveness of fixed low-dose phenprocoumon compared to aspirin on the prevention of thromboembolic events.

In *Chapter 6* we discussed the results of our studies on enhanced erythrocyte aggregation and on hypercoagulability in young stroke patients, in relationship with current and potential future therapeutical options for secondary stroke prevention. We recommend further study on ETP detectable hypercoagulability in elderly stroke patients and in patient subgroups. The availability of a routinely usable ETP measurement in platelet rich plasma would be of great advantage to such further studies. It would also offer an attractive opportunity to tailor future therapeutic modalities to subgroups of patients, identified with the ETP.

**Chapter**



**Samenvatting**

Preventie van het herseninfarct is het meest effectief indien dit gericht kan worden op de onderliggende oorzaak van dit herseninfarct. Bij veel jonge patiënten met een herseninfarct wordt, ondanks uitgebreid aanvullend onderzoek, echter geen duidelijke oorzaak aangetoond. In de literatuur worden verschillende getallen genoemd omtrent hypercoagulabiliteit als mogelijke factor die bijdraagt aan het ontstaan van een herseninfarct op jonge leeftijd. Uitgebreid laboratorium onderzoek naar een zogenaamde 'prethrombotic state' bij deze patiënten is beperkt tot de herkenning van een aantal bekende aandoeningen die hypercoagulabiliteit veroorzaken, zoals factor V Leiden mutatie, deficiëntie van proteïne C of S, hyperhomocysteinemie, enz. Dergelijk screenend onderzoek is duur, en niet overal uitvoerbaar. Daarnaast levert dit vaak slechts negatieve resultaten op, omdat alleen specifieke, al bekende oorzaken van hypercoagulabiliteit kunnen worden onderzocht. Het zou een groot voordeel zijn als men zou beschikken over een screeningsparameter voor het totale stollingsysteem (dus het plasmatisch stollingsysteem samen met de bloedplaatjes). Dit zou als voordeel hebben dat verder onderzoek naar stollingsafwijkingen beperkt zou kunnen worden tot die patiënten met een geïdentificeerde hypercoagulabiliteit. Het voornaamste doel van dit proefschrift was dan ook om te onderzoeken of zo'n test gebruikt kan worden als een dergelijke screeningsparameter bij jonge patiënten met een herseninfarct. De 'endogene trombine potentiaal' (ETP) is een dergelijke test, waarmee een totale indruk kan worden verkregen over het stollingssysteem. Met behulp van de ETP, gemeten in plaatjesrijk en in plaatjesarm plasma, is het bovendien mogelijk onderscheid te maken tussen hypercoagulabiliteit ten gevolge van de bloedplaatjes, en hypercoagulabiliteit ten gevolge van het plasmatisch stollingsysteem. Ook kan het effect van medicatie op de hypercoagulabiliteit met behulp van de ETP worden bestudeerd. Met uitzondering van het herseninfarct ten gevolge van een cardiale embolie, is de secundaire preventie van het ischemisch CVA tot op heden beperkt tot plaatjes-aggregatie remmers; een therapie die slechts een beperkte effectiviteit heeft. In specifieke subgroepen zou andere medicatie, zoals bijvoorbeeld een vaste, lage dosis orale anticoagulantia, wellicht meer effectief zijn. Met behulp van de ETP is het mogelijk bepaalde subgroepen patiënten te onderscheiden, die wellicht meer baat hebben bij orale anticoagulantia, danwel aspirine.

In *Hoofdstuk 2* is de rol onderzocht van aggregatie van rode bloedcellen bij jonge patiënten met een herseninfarct. Een verhoogde erythrocyten aggregatie wordt beschouwd als een factor die gerelateerd is aan de pathogenese van het herseninfarct bij oudere patiënten. Bij deze patiënten is de verhoogde erythrocyten aggregatie gecorreleerd aan een verhoogd fibrinogeen. Bij jonge patiënten met een herseninfarct vonden wij een

verhoogde erythrocyten aggregatie vergeleken met controlepersonen, zowel in de acute als in de late fase na het infarct, terwijl de fibrinogeen concentratie normaal was. Erythrocyten aggregatie was significant geassocieerd met het herseninfarct na correctie voor verschillen in fibrinogeen, hematocriet en bezinking. Ook bij de oudere patiënten was de erythrocyten aggregatie verhoogd, vergeleken met oudere controlepersonen. Bij deze oudere patiënten bleek een verhoogd fibrinogeen geassocieerd te zijn met het optreden van een herseninfarct. Wij concludeerden dat een verhoogde erythrocyten aggregatie onafhankelijk gerelateerd is aan het optreden van een herseninfarct op jonge leeftijd, hetgeen erop zou kunnen wijzen dat een verhoogde erythrocyten aggregatie bijdraagt aan de oorzaak van dit herseninfarct. Bij oudere patiënten lijkt een verhoogde erythrocyten aggregatie voornamelijk te worden veroorzaakt door een verhoogd fibrinogeen.

In *Hoofdstuk 3* bepaalden we in hoeverre jonge patiënten met een herseninfarct afwijkingen hebben in het plasmatisch stollingssysteem. Daarnaast onderzochten wij ook of er afwijkingen bestonden in de 'proteïn C pathway', door een activator van proteïne C (thrombomoduline) toe te voegen aan de trombine generatie test. Met behulp van de ETP in plaatjesarm plasma, vonden we een plasma-gebonden hypercoagulabiliteit bij ongeveer één derde van de jonge patiënten met een herseninfarct. Patiënten die een recidief herseninfarct hadden doorgemaakt, bleken een significant hogere ETP te hebben dan de overige patiënten. Na toevoegen van thrombomoduline hadden vijf patiënten onvoldoende remming van de trombine generatie, hetgeen wijst op een onvoldoende functie van de 'proteïn C pathway'. Afwijkingen in de proteïn C pathway zijn gemakkelijk op te sporen met de thrombomoduline test, en kunnen bijdragen aan het ontstaan van een herseninfarct, vooral indien er ook nog andere vasculaire risicofactoren aanwezig zijn. Bij patiënten met een aangetoonde afwijking in het plasmatisch stollingssysteem is verder onderzoek naar de oorzaak van deze hypercoagulabiliteit aangewezen.

In *Hoofdstuk 4* onderzochten we of jonge patiënten met een herseninfarct hypercoagulabiliteit hebben, gerelateerd aan de bloedplaatjes. Door de ETP in plaatjesrijk plasma te vergelijken met de ETP in plaatjesarm plasma, kan onderscheid worden gemaakt tussen hypercoagulabiliteit op basis van het plasmatisch stollingssysteem, danwel de bloedplaatjes. De von Willebrand factor is een noodzakelijke mediator bij het mechanisme dat procoagulante activiteit in plaatjes teweeg brengt. Daarom onderzochten we ook de plaatjes procoagulante activiteit en de von Willebrand factor concentratie. De ETP in plaatjesrijk plasma was significant hoger bij de patiënten in vergelijking met controlepersonen. Ook de plaatjes procoagulante activiteit en de von Willebrand factor waren significant hoger in patiënten dan in de controles.



Een hoge ETP was significant geassocieerd met een herseninfarct. In een lineair regressiemodel was de von Willebrand factor geassocieerd met de plaatjes procoagulante activiteit en met de ETP, terwijl de plaatjes procoagulante activiteit ook geassocieerd was met de ETP. Wij concludeerden dat de trombine generatie is verhoogd bij jonge patiënten met een herseninfarct. Zowel de plaatjes procoagulante activiteit als de von Willebrand factor zijn verhoogd bij jonge patiënten met een herseninfarct, en zij zijn gerelateerd aan de ETP in plaatjesrijk plasma. Dit wijst erop dat onder de verschillende oorzaken die ten grondslag kunnen liggen aan een verhoogde ETP, een hoge concentratie van de von Willebrand factor een belangrijke rol speelt. Deze bevindingen geven een pathofysiologische verklaring voor de epidemiologische observatie dat een verhoogde von Willebrand factor concentratie is gerelateerd aan het optreden van een herseninfarct.

In *Hoofdstuk 5* hebben we de invloed van aspirine en van een vaste, lage dosering orale anticoagulantia op de trombine generatie onderzocht, zowel bij jonge patiënten met een herseninfarct als bij gezonde vrijwilligers. Het is aannemelijk dat een vermindering van de trombine generatie, door behandeling met aspirine of orale anticoagulantia, samengaat met een vermindering van het risico op een trombo-embolische gebeurtenis bij patiënten. Bij de controlepersonen bestond een verlaging van de ETP (ca. 8%) in plaatjesrijk plasma na aspirine gebruik (30 mg/dag) gedurende twee weken, terwijl bij de patiënten een dergelijk effect alleen werd gezien bij de subgroep met plaatjes-gerelateerde hypercoagulabiliteit. Bij patiënten met een plasma-gebaseerde hypercoagulabiliteit daalde de extrinsieke ETP tijdens aspirine gebruik. De plaatjes procoagulante activiteit daalde bij onze patiënten tijdens het gebruik van aspirine. Een vaste, lage dosering phenprocoumon (0,75 mg/dag) bij de controlepersonen verminderde alleen de extrinsieke ETP. Hetzelfde effect werd bij de patiënten gezien. Bij de subgroep patiënten met een plaatjes-gerelateerde hypercoagulabiliteit daalde ook de ETP in plaatjesrijk plasma na gebruik van phenprocoumon. We concludeerden dat aspirine de hypercoagulabiliteit, gemeten met behulp van de ETP, bij jonge patiënten met een herseninfarct beïnvloedt, speciaal in die groep met een plaatjes-gerelateerde hypercoagulabiliteit. Het effect op de trombine generatie is echter slechts mild. Wij vonden geen laboratorium ondersteuning voor het idee dat een vaste, lage dosering phenprocoumon effectiever is dan aspirine bij de preventie van tromboembolische gebeurtenissen.

In *Hoofdstuk 6* hebben we de resultaten van ons onderzoek naar een verhoogde erythrocyten aggregatie en naar hypercoagulabiliteit bij jonge patiënten met een herseninfarct besproken. Ook bediscussieerden we onze

bevindingen in relatie tot huidige en toekomstige therapeutische opties voor de secundaire preventie van het herseninfarct. Wij adviseren verder onderzoek naar hypercoagulabiliteit, onderzocht met behulp van de ETP, bij oudere patiënten en bij subgroepen patiënten. Het beschikbaar zijn van een geautomatiseerde versie van de ETP in plaatjesrijk plasma zou bij dergelijk studies van groot nut zijn. Dit zou ook de mogelijkheid bieden om toekomstige therapeutische alternatieven te richten op subgroepen van patiënten, die met behulp van de ETP te onderscheiden zijn.