

**T.C.
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı**

**KÖK HÜCRE NAKLİ AMACIYLA
UZUN DÖNEM SANTRAL VENÖZ KATATER UYGULANAN
HASTALARDA HEPARİNE BAĞLI TROMBOSİTOPENİ
SIKLIĞI**

İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mustafa N Yenerel

Dr. Semra Gündüz Korkmaz

İstanbul-2008

TEŞEKKÜR

İhtisas sürem boyunca yetişmemde bana destek olan, eşsiz bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, mesleğimde en iyi beceriyi ve başarıyı kazanmamda çok büyük emekleri olan, ileri yaşamımda da kendime örnek almaktan onur duyacağım değerli anabilim dalı başkanımız Prof. Dr.Kerim Güler'e, tezimin şekillenme aşamasından bitiş aşamasına kadar her türlü yardım ve desteği veren, şimdi ve her zaman bu desteği vereceğini hissettiren değerli hocam Doç.Dr.Mustafa Nuri Yenerel'e, asistanlık eğitimim boyunca geniş bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan ve mesleki kariyerimin şekillenmesine yardımcı olan tüm hocalarımıza, değerli uzmanlarımıza ve asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Yıllarca beraber çalıştığımız ve birlikteliğimizden büyük keyif aldığım sevgili doktor arkadaşlarıma, tüm hemşirelerimize, personelimize, kliniğimizde görev almış tüm çalışanlara sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Benim bu günlere gelmemi, bu başarıyı tatmamı sağlayan, bana her türlü güçlüğün altından nasıl kalkabileceğimi öğreten, gerek maddi gerek manevi destekleri ile her zaman yanımda oldukları için ve onlarla daima gurur duyup onlara layık olmaya çalışacağım sevgili aileme sonsuz sevgi, saygı ve şükranlarımla...

Sevgisini ve desteğini esirgemeyen sevgili eşim Mehmet Akif Korkmaz'a yürek dolusu sevgilerimle....

Dr.Semra Gündüz Korkmaz

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa No</u> |
|-------------------------|-----------------|
| I. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| II. GENEL BİLGİLER | 3 |
| III. MATERİYEL VE METOD | 24 |
| IV. BULGULAR | 27 |
| V. TARTIŞMA | 32 |
| VI. KAYNAKLAR | 37 |
| VII. ÖZET | 48 |
| VIII. ABSTRACT | 50 |

TABLO BAŞLIKLARI

Tablo 1. Heparinin farmakokinetik ve biyofiziksel dezavantajları

Tablo 2. Standart heparin ve düşük molekül ağırlıklı heparin karşılaştırması

Tablo 3. HIT' in komplikasyonları

Tablo 4. Hastaların klinik ve demografik özellikleri

Tablo 5. Hastaların haftalara göre lökosit, Hb, trombosit, ELISA ve akım sitometri sonuçları

ŞEKİL BAŞLIKLARI

Sekil 1. Heparin' in kimyasal yapısı

Sekil 2. Heparin' in etki mekanizması

Sekil 3. Heparin' e bağlı trombositopenin (HIT) patogenezi

Şekil 4. HIT olgusunun akım sitometrik inceleme raporu

KISALTMALAR

HİT: Heparine bağlı trombositopeni

HİTT: Heparine bağlı trombositopenik tromboz

PF4: Trombosit faktör 4

H:PF4: Heparin-trombosit faktör 4 kompleksi

Anti-H:PF4: Anti-heparin-trombosit faktör 4 kompleksine karşı antikor (HİT antikor)

SVK: Santral venöz kateter

aPTT: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı

ACT:Aktive pıhtılaşma zamanı

DMAH:Düşük molekül ağırlıklı heparin

HPLC: High Performance liquid cromotography

PCI: Perkütan koroner girişim

IVIg: İntravenöz immünglobülin

OD:Optik Dansite

GİRİŞ VE AMAÇ

Heparin hızlı ve güvenilir etkinliği ile günümüzde halen antikoagulan tedavinin en önemli ajanıdır. Ancak başta kanama olmak üzere bazen hayatı tehdit eden komplikasyonlara da yol açabilmektedir. Bunlar arasında morbidite ve mortalitesi nedeniyle en önemli yan etkisi heparine bağlı trombositopenidir (HİT). Heparin tedavisi sırasında birbirinden farklı iki tip trombositopeni gelişebilir. HİT-I olarak adlandırılan şekli heparin tedavisinin ilk günlerinde görülen şeklidir ve heparinin direkt etkisiyle oluşur. Tedaviye devam edilse de kendiliğinden düzelir ve önemli bir yan etki olarak kabul edilmez. Daha önemli olan şekli heparinin trombosit faktör-4 (platelet factor-4=PF4) ile bağlanması sonrası oluşan Heparin-PF4 komplekslerine (H:PF4) karşı antikor gelişimine bağlı görülen trombositopeni tablosudur. Bu tablonun en önemli özelliği trombositopeniye rağmen ekstremitelerde amputasyonlara yol açabilecek derecede ağır arteriyel ve/veya venöz trombozlarla birlikte seyretmesidir. Eskiden HİT-II veya heparine bağlı trombositopenik tromboz (HİTT) gibi isimlerle de adlandırılan bu tablo immün mekanizmayla oluşan bir trombositopeni tablosudur ve günümüzde HİT denildiğinde bu tablo anlaşılır. HİT tanısı bazı laboratuvar testlerinin desteği ile birlikte klinik olarak konulmaktadır. Beş günden daha uzun süre heparin kullanan olgularda yaklaşık olarak %30 oranında H:PF4 antikoruna saptanabileceği, bunlar arasında klinik olarak HİT düşünülen ve laboratuvar testleriyle tanısı doğrulanan olguların ise %5 olduğu bildirilmektedir. HİT tanısının konulması heparin tedavisinin sonlandırılmasını ve ek önlemleri gerektirdiği için son derece önemlidir.

Tanıda temel olarak iki grup laboratuvar incelemesi kullanılır. Bunlardan birinci grubu ELISA veya partikül gel immunoassay (PaGIA) gibi antiH:PF4 antikorlarının varlığını araştıran incelemeler oluştururken bu antikorlarının trombositleri aktive etme özelliklerinin test edildiği incelemeler ise fonksiyonel testleri oluşturmaktadır. HİT tanısında daha özgül ve duyarlı kabul edilen bu yöntemler arasında serotonin salınım testleri, trombosit agregometrisi, ve akım sitometrik incelemeler başta gelmektedir.

Günümüzde hematolojik habis hastalıkların tedavisinde kök hücre destekli yoğun kemoterapiler neredeyse rutin bir tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Bu tedavilerin uygulanabilmesinde çoğul lümenli santral venöz kateterler (SVK) çok önemli bir yer tutar. Bu kateterlerin tıkanmalarının önlenmesi için lümenlerinin içi aralıklı olarak serum

fizyolojik ve heparin ile yıkanmaktadır. HİT tablosunun kullanılan heparinin dozu ile ilişkisinin olmadığı özellikle süreye bağlı geliştiği de bilinmektedir. Bu nedenle düşük dozlarda olsa da bazen hergün olabilecek olan heparin temasının uzun dönem santral kateterli hastalarda da HİT tablosuna yol açabileceğini düşündürmüştür. Bu konudaki çalışmaların hemen tamamı yoğun bakımda yatan ve/veya hemodiyaliz uygulanan hastalarla yapılmıştır. Ancak kök hücre nakli yapılan hastaları bu iki grup hastadan ayıran önemli bir özelliği vardır. Bu hastalarda, uygulanan kemoterapötik hazırlama rejimi nedeniyle belli bir süre kemik iliği baskılanmasına bağlı trombositopeni gelişmektedir. Bu durum olası bir HİT tablosunun gözden kaçmasına neden olabilecektir.

Biz bu çalışmayla kök hücre nakli yapılmış ve uzun dönem santral venöz kateteri olan hastalarda kateter içi bakımda kullanılan uzun süreli, düşük doz heparin ile HİT gelişme sıklığının ortaya koymayı amaçladık. HİT gelişmiş hastaların tedavisinde en önemli uygulama heparin kullanımına son verilmesidir. Erken dönemde antikorların tespiti morbidite ve mortalite yönünden son derece önemlidir. Bu durumun ortaya konulmasının heparin kullanan ve kök hücre nakli sonrası zaten trombositopenisi olan bu hasta gurubunun takibinde yönlendirici olabileceğini düşünüyoruz. Yine bu çalışmada antiH:PF4 antikorlarını iki farklı yöntemle araştırmayı planladık. Bu tez çalışmamıza başlamamızın bir amacı da HİT konusuna dikkati çekerek bu konuda hızlı karar verebilmemizi sağlayabilecek bazı yöntemleri ünitemizde rutin kullanıma sokabilmektir. Yine bu çalışmadan elde edilecek bilgilerle bu şekilde uzun dönem kateterlerin kullanıldığı hemodiyaliz ve yoğun bakım üniteleri gibi diğer servislerde uygulanacak inceleme yöntemleriyle rutin olarak aralıklı H:PF4 antikorlarının hasta takibinde önemi olup olmadığını belirleyebileceğimizi düşünüyoruz.

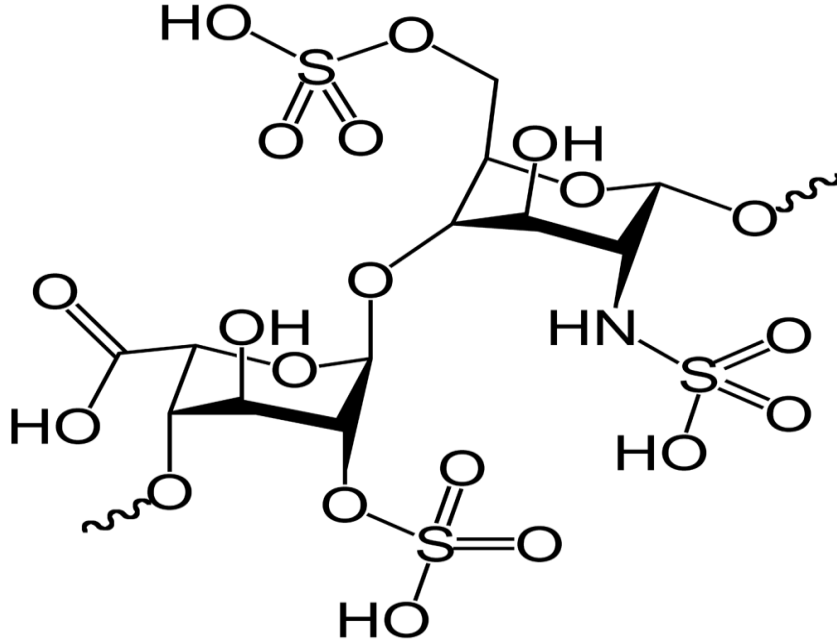
GENEL BİLGİLER

HEPARİN

Standart heparinler

Heparin ve etki mekanizması

Heparin mast hücrelerinin sekretuar granüllerinde bulunan glikozaminoglikan yapısında bir maddedir ve 50 yıldan uzun bir süredir gerek venöz tromboembolizmin tedavi ve profilaksisinde gerekse girişimsel kardiyolojide antikoagülasyon amacıyla ilk seçenek ilaç olarak kullanılmaktadır. Molekül olarak D-glukuronik asit ve N-asetil-D-glukozamin kalıntılarından oluşan sülfatlanmış bir polisakkarid yapısındadır.(1) (Şekil 1). Heparini oluşturan bu sakkarid polimerlerinin molekül ağırlıkları 3 ile 30.000 dalton arasında değişmektedir. Bu durum standart heparinin birbirinden oldukça farklı uzunluklarda sakkarid polimerlerinden oluşan son derece heterojen bir yapıda olduğunu gösterir. Mast hücrelerinden zengin memeli dokularında bol miktarda bulunan heparin genellikle en çok domuz barsak mukozası ve sığır akciğer dokusundan elde edilir.



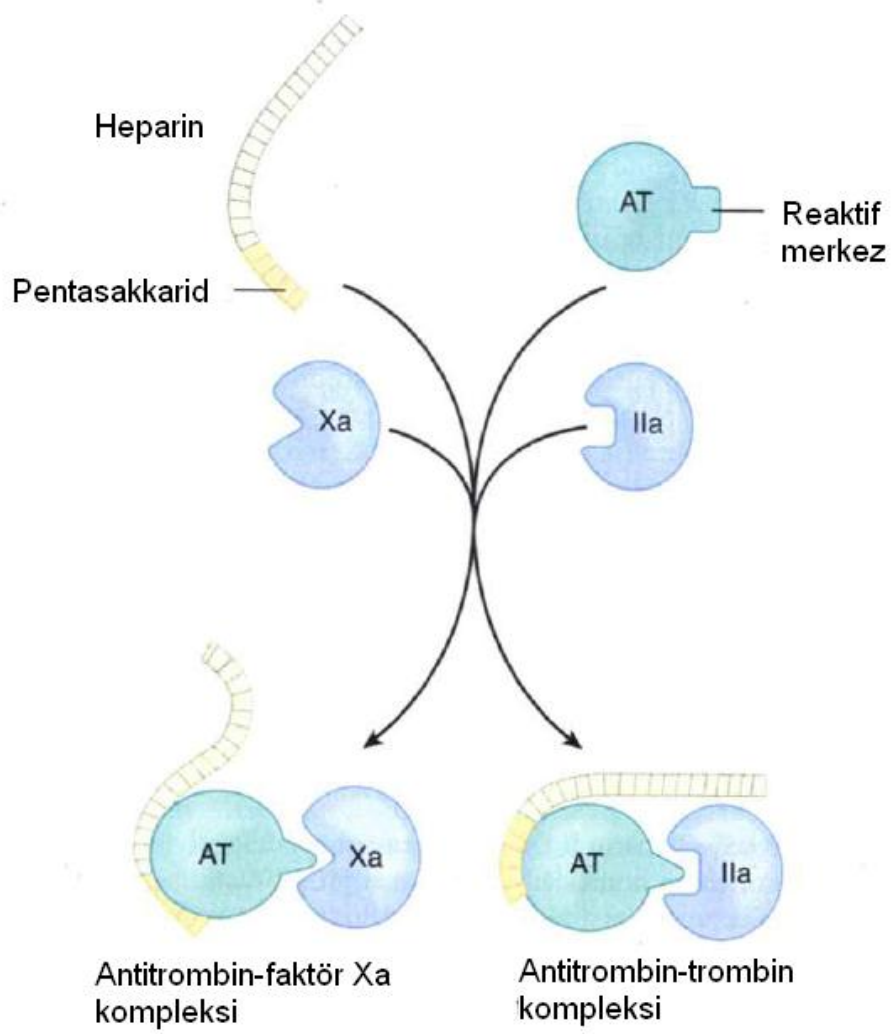
Sekil 1.Heparin' in kimyasal yapısı

Heparin, antikoagulan etkisini antitrombin üzerinden sağlar. Antitrombin karaciğerde sentezlenen 58,000 dalton ağırlığında, tek zincirli polipeptit yapısında doğal bir antikoagulandır ve sadece heparin varlığında trombinin hızla inhibe eder.(2) Bir serin proteaz inhibitörü olan antitrombin, trombin, faktör Xa ve IXa gibi intrinsek ve ekstrinsek sistemin aktive pıhtılaşma faktörlerini inhibe eder ancak faktör VIIa üzerine nisbeten çok küçük bir inhibitör etkisi vardır.(3, 4) Heparin molekülünün beş sakkaridden (pentasakkarid) oluşan özel bir bölümünün antitrombine yüksek afinitesi vardır ve bu bölüm aracılığı ile antitrombine bağlanır. Bu bağlanma antitrombinin reaktif merkezinde değişikliğe neden olarak onun hedef proteazlara bağlanmasını 1000 kattan fazla kolaylaştırır.(4) (Şekil 2)

Heparin, trombin inhibisyonunu katalize etmek için, antitrombin ve trombin eş zamanda bağlayan bir kalıp gibi çalışır ve daha sabit bir trombin-antitrombin kompleksinin oluşumunu sağlar.(5,6) Bu yüksek afiniteli pentasakkarid bölümü ticari heparinlerin ancak 1/3'lük kısmını oluşturmaktadır. Bu nedenle heparinin antikoagulan etkinliği de oldukça değişkendir. Heparin-antitrombin kompleksinin trombine sıkıca bağlanabilmesi ve onun etkisini baskılayabilmesi için en az 18 sakkaridden oluşan bir polisakkarid dizisine ihtiyaç duyar. Bu 5400 daltonluk molekül ağırlığına denk gelir. Bundan daha küçük polisakkarid dizileri trombin ile bağlanmaya yetmediği için trombinin inhibe de edemez. (7) Standart heparinlerde farklı uzunluklarda polisakkarid yapıları olduğu için etkinlik düzeyi değişse de her zaman trombinin etkisini inhibe edebilecek uzunlukta polisakkarid yapıları mevcuttur. Heparinin faktör Xa'yı inhibe edebilmesi için özel bir pentasakkarid yapısı ile antitrombine bağlanması yeterlidir. Bu özellikten yararlanılarak düşük molekül ağırlıklı heparinler ve sentetik heparin benzeri antikoagulanlar geliştirilerek tedavide kullanılmaya başlanmıştır. Ancak polisakkarid yapılarının kısalığı nedeniyle bu ajanların trombin üzerine direkt bir etkisi beklenmez.

Heparin bir yandan antitrombinin etkisini güçlendirirken bir yandan da heparin-kofaktör II'yi katalizler. Heparin-kofaktör II de serpin ailesinin 66,000 molekül ağırlıklı bir üyesidir ve trombinin spesifik bir inhibitörüdür. (8) Heparinin, heparin kofaktör II'nin etkisini artırılabilmesi için de en az 26 sakkarid ünitesinden oluşan heparin zincirleri gerekir. Bu da 7800 molekül ağırlığına denk gelmektedir.(9,10) Daha uzun heparin zincirleri kısa zincirlere göre heparin-kofaktör II'yi daha iyi aktive eder. Daha uzun zincirler heparin-kofaktör II'nin bağlanması yanında aynı zamanda üçlü bir kompleks oluşturmak için trombinin

de bağlayabilmektedir.(11) Böyle bir üçlü kompleksin oluşumu trombin ile heparin-kofaktör II'yi daha yakın bir pozisyona getirir ve böylece etkileşmelerini güçlendirir. Heparin'in heparin-kofaktör II ile etkileşimi için pentasakkarid gibi yüksek afiniteli özel bir sakkarid dizisi yoktur.(12) Bu nedenle heparin'in heparin kofaktör II için afinitesi antitrombinden çok daha azdır. Heparin ancak plazmada normal miktarlarının 10 katından yüksek konsantrasyonlarda heparin-kofaktör II üzerinden trombin inhibisyonunu hızlandırabilir.(13)



Şekil 2. Heparin'in etki mekanizması

Heparin' in farmakolojisi

Heparin, yarılanma ömrünün kısalığı nedeniyle ciltaltı veya sürekli intravenöz infüzyon yoluyla kullanılmalıdır. Acil antikoagulan etki için intravenöz uygulama gerekir. Cilt altı yolla verildiğinde biyoyararlanımı azalacağı için daha yüksek dozlarda kullanılmalıdır. Heparin preparatlarında kısa ve uzun polisakkarid yapılarıyla yüksek afiniteli pentasakkarid bölümlerinin oranlarının farklı oluşu antikoagulan etkinliği olumsuz olarak etkileyebilmektedir. Ancak heparinin etkinliği üzerinde rol oynayan başka faktörler de vardır. Örneğin, dolaşımda heparin antitrombin dışında diğer bazı plazma proteinleri ile de bağlanmaktadır. Bu proteinlerinin bir kısmı akut-faz reaktanı olarak etki gösteren proteinlerdir ve alta yatan hastalığa bağlı olarak değişik düzeylerde bulunabilirler. Bu durum heparinin antikoagulan aktivitesini de olumsuz olarak etkileyebilir.(14,15)

Yine tromboz sırasında aktive olan trombositlerden “platelet factor-4” (PF4) salgılanır.(16) PF4 güçlü bir kationik proteindir ve heparine yüksek afinite ile bağlanır. Özellikle arteriyel trombozlar sırasında yüksek oranda plazmaya salınan bu faktör heparinin antikoagulan aktivitesini nötralize edebilir.(17)

Heparin bunlar dışında endotel hücrelerine ve makrofajlara da bağlanır.(18) Bu durum heparinin farmakokinetik-farmakodinamik profilini de karmaşıklarlaştırır. Bu bağlanma hızlı doyan temizlenme fazını oluşturur. Yavaş temizlenme fazı ise renal ekskresyon ile oluşur.(19,20) Düşük doz heparin ile, temizlenme yalnızca hızlı doyan mekanizma ile sağlanır. Heparinin farmakokinetik ve biyofiziksel özellikleri Tablo 1’de özetlenmiştir.

Antikoagulan etki, düşük doz heparin ile lineer değildir. Çünkü hücresel bağlanma bölgeleri heparin dolaşıma girmeden ve antitrombin ile etkileşmeden önce doyurulur. Heparinin yüksek dozları, renal temizleme mekanizması ile daha yavaş temizlenmektedir. Heparin subkutan yolla düşük dozlarda verildiğinde muhtemelen subkutan iletim ile yavaş emilimin ve emilen heparinin endotel hücrelerine ve makrofajlara hızlı bağlanması nedeniyle plazma kararlı durum konsantrasyonuna ulaşması gecikmektedir.(21) Plazma kararlı durum konsantrasyonuna ulaşması, heparinin daha yüksek subkutan dozlarda uygulanması ile mümkün olmaktadır. Heparin bağlayan proteinlerin plazmadaki seviyeleri kişiye ve hastalık durumlarına göre değişeceği için heparin’in sabit ya da kiloya göre ayarlanan dozlarına karşı

antikoagulan etkinliği tahmin edilememektedir. Bu nedenle terapötik bir cevabın alındığından emin olmak için hemostaz testleriyle takip çok önemlidir.(22,23)

Tablo 1. Heparinin farmakokinetik ve biyofiziksel dezavantajları

| Özellikler | Mekanizma |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Düşük dozda kötü biyoyararlanım • Doza bağımlı temizlenme • Değişken antikoagulan cevabı • Trombositten zengin trombus çevresinde azalan aktivite • Fibrine bağlı trombin ya da protrombinaz kompleksi ile bağı faktör Xa'ya karşı sınırlanmış aktivite | <ul style="list-style-type: none"> • Endotel ve makrofajlara bağlanma • Makrofajlara bağlanma • Heparin bağlayan plazma proteinlerinin kişiden kişiye değişkenliği • Aktive trombositlerden salınan PF4'ün heparini nötralize etmesi • Heparin antitrombin kompleksinin aktive trombositlere bağı faktör ve fibrine bağı trombinini inhibe etme kapasitesinin azalması |

Antikoagulan etkinliğin izlenmesi

Randomize yapılan çalışmalar heparin dozu ile yararlılığı ve güvenilirliği arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Fakat tedavi-etkinlik sınırı dar bir ajan olduğu için Heparin tedavisi sırasında antikoagülasyonun takibi gerekir.(21,23). Bu amaçla kullanılan en önemli pıhtılaşma testleri tam kan pıhtılaşma zamanı, aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) ve aktive pıhtılaşma zamanı ("activated clotting time" (ACT) dır. aPTT bunlar arasında en sık kullanılanıdır ve sıratlı kan örnekleri alınarak laboratuvarlarda çalışılır. aPTT testi için kullanılan yöntem sonuçları etkileyebileceği gibi aPTT testinin heparine hassaslığı da değişiklikler gösterebilir.(24) Bu nedenle her laboratuvarın heparin tedavisi gören hastalardan toplanan plazma örneklerini kullanarak bir referans aralığı oluşturmaları ve tedaviyi buna göre kararlaştırmaları önerilir.(25) Bu yöntemle etkin bir tedavi için kontrol aPTT düzeyini 1.5-2.5 kat uzatacak şekilde heparin dozu ayarlanmaktadır. Fakat örneğin kardiyovasküler baypas cerrahisi gibi çok yüksek heparin dozlarının kullanıldığı durumlarda aPTT düzeyi daima çok yüksek düzeylerde gelecektir. Bu şekildeki yüksek doz heparin

tedavisinin takibinde daha çok önerilen takip testi ACT dir. Bu yöntemde de intrinsek yöntemin pıhtılaşmayı başlatmadaki etkinliği ölçülür. Yatak başında, tam kan örneği ile çalışılması ve yüksek heparin dozlarından olumsuz etkilenmemesi en önemli özellikleridir.

Anti-faktör Xa testi de heparin tedavisinin takibinde kullanılabilecek bir diğer yöntemdir. Aslında daha çok düşük molekül ağırlıklı heparinlerin takibinde kullanılması önerilen bu testler henüz standardize edilmedikleri ve laboratuvarından laboratuvara değişiklik gösterebilmeleri nedeniyle nadiren kullanılmaktadır. Bazı hastalarda aPTT'yi terapötik düzeye ulaştırmak için verilen günlük heparin dozları 35,000 üniteyi aşmaktadır. Heparine direnç olarak kabul edilen bu durumun açık kalp ameliyatlarında ve bazı venöz tromboz nedeniyle heparin tedavisi gören hasta guruplarında %25 düzeylerine ulaştığı bildirilmektedir.(26) Bu tür hasta guruplarının takibi anti- faktör Xa düzeyleriyle yapılmalıdır. Çünkü aPTT düzeyleri etkin düzeylerin altında olan çoğu hastada anti- faktör Xa düzeylerinin terapötik düzeyde olduğu tespit edilebilmektedir. Buradaki uyumsuzluğun akut faz proteinleri olan fibrinojen ve faktör VIII'nin artması nedeniyle aPTT'nin kısılmasından kaynaklandığı anlaşılmıştır.(27) Bu şekilde heparin direncinden şüphelenilen hastalarda en iyi takip yönteminin aPTT ile değil anti- faktör Xa ile olacağı bildirilmektedir (28)

Uygulama dozları

Profilaksi için, genellikle heparin günde 1 kez subkutan olarak sabit ve düşük bir dozda verilmektedir. Normal profilaktik 5000 Ü heparin dozu, cerrahi ve cerrahi dışı hastalarda venöz tromboembolizm riskini %60-%70 arasında bir azalma sağlayabilmektedir. (29) Heparin profilaktik dozlarda uygulandığında, antikoagulasyonun takibine gerek yoktur.

Tedavi amaçlı kullanımda heparin uygulamasını standardize etmek, etkin bir antikoagulan cevabı almak için gerekli zamanı kısaltmak amacıyla sabit dozlu ve kiloya göre ayarlanmış dozlarda heparin tedavi şemaları geliştirilmiştir. Kiloya göre verilen heparin tedavi şemalarında akut koroner sendromlu hastalarda 5000 Ü ya da 70 Ü/kg intravenöz bolus heparin verildikten sonra, infüzyon hızı 12-15 Ü/kg/saat olacak şekilde heparin verilmektedir. Tam tersine, venöz tromboembolizmi olan hastalar için yapılan kiloya göre verilen heparin tedavi şemalarında 5000 Ü ya da 80 Ü /kg bolus, takibinde 18 Ü/kg/saat infüzyon hızı ile tedavi önerilmiştir. Venöz tromboembolizmi olan hastalarda iki tedavi

protokolü de onaylanmış ve ikisinin de terapötik cevabı elde etmek için gereken zamanı anlamlı bir şekilde kısalttığı gösterilmiştir.(30,31)

Düşük Molekül Ağırlıklı Heparinler (DMAH)

Heparinin antikoagulan etkinliğindeki değişkenlik ve takibindeki güçlükler daha kullanışlı ve etkili antikoagulanların araştırılmasına yöneltmiştir. Öncelikle de heparinin etkinliğini sağlayan pentasakkarid yapısını da içinde bulunduran daha kısa fakat daha homojen sakkarid polimerlerinin elde edilmesine çalışılmıştır. Bu durum düşük molekül ağırlıklı heparinlerin tedavide kullanılmalarına olanak vermiştir. Düşük molekül ağırlıklı heparinler uzun heparin zincirlerinin enzimatik veya kimyasal yollarla ortalama 5000 dalton molekül ağırlığında olan daha küçük polisakkaridlere dönüştürülmesiyle elde edilirler. DMAH ler de pentasakkarid yapılarıyla antitrombine bağlanarak Faktör Xa'yı inhibe eder. Bunların ancak yarısından az bir kısmı trombini de bağlayabilecek uzunluktadır. Bu nedenle antirombin etkisi heparin'e göre çok daha zayıftır. (32)

DMAH cilt altı uygulanmalarının biyoyararlanımı standart heparinlerden daha iyidir. Bunun en önemli nedeni DMAH'lerin endotel hücrelerine ve makrofajlara karşı afinitelerinin daha az olmasıdır.(20,33,34) Yine DMAH'ler plazmadaki heparin bağlayan proteinlere de daha az bağlanırlar. Plazmadan temizlenmeleri dozdan bağımsızdır ve yarı ömürleri de daha uzundur.(20,34) Bu nedenle uygulanan dozların etkinlikleri de daha kolay tahmin edilebilmektedir. Tüm bu özellikleri nedeniyle günde bir ya da iki kez antikoagülasyon takibi yapılmadan subkutan olarak uygulanabilirler.(32) DMAH'lerin polisakkarid yapıları heparinden daha kısa olduğu için böbreklerden tamamen atılırlar. Bu nedenle böbrek yetersizliği olan hastalarda ilacın birikebileceği unutulmamalıdır.(34)

Venöz tromboembolizmi olan hastalarda yapılan çalışmalarda da DMAH ile yapılan ev tedavisinin, heparinin sürekli intravenöz infüzyonu ile yapılan hastane tedavisi kadar etkili ve güvenli olduğunu göstermiştir.(35,36)

DMAH tedavisinde antikoagulan etkinliğin izlenmesi

Çoğu hasta için, DMAH tedavisinde antikoagulan etkinliğin takibine gerek yoktur. En önemli takip endikasyonu böbrek yetersizliği ve obezitedir. İlaç birikimin olmayacağından emin olmak için, hastalarda kreatin klirensinin en az 50 mL/dk olması gerekir. Her ne kadar

kiloya göre ayarlanan DMAH dozu fazla kilolu hastalarda terapötik anti- faktör Xa seviyeleri oluştursa da, bu yaklaşım genelde morbid obezitesi olanlarda değerlendirilmemektedir. Ayrıca, hamilelik süresince DMAH'lerin antikogulan seviyesinin görüntülenmesi önerilmektedir çünkü bu gereksinimler özellikle hamileliğin üçüncü trimesterinde değişebilir.(37) Görüntüleme aynı zamanda, kapak trombozlarını önlemek amacıyla DMAH verilen mekanik kalp kapakları olan hastalarda da dikkate alınmalıdır. DMAH'lerin aPTT üzerine çok az bir etkisi olduğu için takip gerekiyorsa bunun plazma anti- faktör Xa seviyeleri ile yapılması gereklidir. İlaç verildikten 3-4 saat sonra ölçüm yapıldığında, DMAH ile terapötik anti- faktör Xa seviyeleri 0.5-1.2 Ü/mL arasındadır. DMAH profilaktik dozlarda verildiğinde, anti- faktör Xa seviyelerinin 0.2-0.5 Ü/mL arasında olması beklenir.(37) Tablo 2.de standart heparin ile düşük molekül ağırlıklı heparinlerin karşılaştırması özetlenmiştir.

Tablo 2. Standart heparin ve düşük molekül ağırlıklı heparin karşılaştırması

| Standart heparin | Düşük molekül ağırlıklı heparin |
|--|---|
| Plazma proteinlerine nonspesifik bağlanır | Nonspesifik bağlanması yoktur |
| Yarı ömrü kısadır | Yarı ömrü uzundur |
| İlaç dozu arttıkça plazma yarı ömrü artar | Plazma yarı ömrü stabildir |
| “Platelet factor 4” ile bağlanır | “Platelet factor 4” ü bağlamaz |
| Monitörizasyon için aPTT kullanılır | Spesifik plazma düzeyleri gerekir |
| Terapötik etki için aPTT takibi yapılmalıdır | Çoğu hastada plazma düzeyinin takibine gerek yoktur |
| Protamin ile nötralize edilir | ancak %50 si protamin ile nötralize edilir |

Heparin'in Yan Etkileri

Heparinin en sık görülen yan etkisi kanamadır. Diğer komplikasyonları trombositopeni, osteoporoz ve transaminaz seviyelerinde yükselmedir.

a)Kanama

Heparine bağlı kanama riski kullanılan doza bağlı olarak artar. Anti-trombosit veya fibrinolitik ajanlarla birlikte kullanımı, cerrahi girişim veya travma kanama riskini ayrıca

arttıran faktörlerdir.(38) Yarılanma ömrünün kısa olması nedeniyle tedavinin sonlandırılması bile basit kanamalarda yeterlidir. Tedavi altında ciddi kanaması olan hastalarda ise heparini nötralize etmek amacıyla protamin sülfat kullanılabilir. Somon sperminden izole edilen bir basit polipeptid karışımı olan protamin sülfat, heparini yüksek afinite ile bağlayarak protamin-heparin kompleksleri şeklinde kandan uzaklaştırılmasını sağlar. Genellikle 1 mg protamin sülfat 100 Ü heparin'i nötralize eder. Protamin sülfat genellikle intravenöz verilmektedir ve çok nadiren anaflaktik reaksiyonlar ortaya çıkabilir.(39) Bu nedenle yavaş olarak verilmesi önerilir. DMAH' lerin komplikasyonları da standart heparinden farklı değildir. Ancak protamin sülfat ile DMAH' lerin antikoagulan aktivitesi tam olarak nötralize edilemez. Protamin sülfat DMAH' lerin sadece uzun zincirlerine bağlanabildiği için anti-faktör Xa aktivitesi kısmen nötralize edilebilir.(40) Sonuç olarak, yüksek kanama riski olan hastalar, daha kısa yarılanma ömürleri ve antikoagulan aktivitelerinin protamin sülfat ile tamamiyle nötralize edilebilmeleri nedeniyle subkutan DMAH yerine, intravenöz standart heparin ile daha güvenli bir şekilde tedavi edilebilirler.

b) Trombositopeni

Heparin nadiren tedavinin genellikle ilk 3 günü içinde direkt trombosit agregasyonuna yol açabilmektedir. Bunun sonucu oluşan agregatlar dalakta tutularak geçici bir trombositopeniye neden olur. Trombosit sayısının nadiren 100.000/mm³ den aşağıya düştüğü, genellikle kendiliğinden düzelen bu durumda heparinin kesilmesine veya ek bir tedaviye ihtiyaç yoktur. Heparine bağlı immunolojik yolla oluşan ciddi bir trombositopeni tablosu daha vardır. Bu tablonun en önemli özelliği trombositopeniye rağmen arteriyel ve venöz trombozlara yatkınlık yaratmasıdır. Günümüzde HIT olarak adlandırdığımız ve tezimizin de konusu olan bu tablodan aşağıda ayrı bir başlık halinde ayrıntılı olarak bahsedilecektir.

c) Osteoporoz

Bir aydan uzun süren heparin tedavilerinin kemik yoğunluğunda ciddi bir azalmaya yol açtığı bilinmektedir. Bu komplikasyon uzun dönem heparin tedavisi alan hastaların %30'unda saptanmıştır.(41,42) Yine bu kişilerin %2 ile %3'ünde semptomatik vertebra kırıklarının ortaya çıktığı bildirilmektedir. Örneğin, yapılan bir çalışmada gebelikleri sırasında uzun dönem heparin tedavisi alan 184 kadından %2.2'sinde semptomatik vertebra

fraktürü geliştiği rapor edilmiştir.(41) Başka bir çalışmada, 3-6 ay arasında günde 2 kez 10,000 Ü subkutan heparin verilen 40 hastanın 6'sında spinal fraktürler saptanmıştır.(43)

Bazı in vitro çalışmalar heparinin kemik yapımını azaltıp, kemik rezorpsiyonunu artırarak osteoporoza neden olduğunu göstermektedir. (44, 45, 46) Böylece, heparin osteoblastların ve osteoklastların aktivitesini etkiler. Heparinin bu hücreler üzerindeki etkisinin heparin sakkarid zincirlerinin uzunluğu ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Diğer bir deyişle hayvan modelleriyle yapılan çalışmalarda düşük molekül ağırlıklı heparinlerin daha az kemik kaybına neden olduğu tespit edilmiştir.(45,46)

Osteoporoz riski, uzun dönem DMAH kullanımında standart heparine oranla daha düşüktür.(45,46) Uzayan tedavilerde, bu yüzden, düşük HİT ve osteoporoz riski yüzünden DMAH, standart heparine göre daha iyi bir seçenektir.

d)Transaminaz düzeylerinde artış

Tedavi dozlarında heparin, bilirubin düzeylerini etkilemeksizin transaminaz düzeylerinde hafif bir artışa neden olabilir.(47,48) İlaç kesildiğinde transaminaz seviyeleri hızlı bir şekilde normale döner. Bu durumun mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır.

HEPARİNE BAĞLI TROMBOSİTOPENİ

HİT tablosu heparin tedavisinin morbidite ve mortalitesi en yüksek komplikasyondur. Hematoloji kliniğimizde konsültasyonlar sırasında parmakla sayılabilecek derecede az hastada görüldüğü bildirildiği halde, çalışmalar heparin tedavisi gören hastaların %1-5'inde HİT geliştiğini ortaya koymaktadır.(49) HİT komplikasyonu özellikle cerrahi girişim sonrası görülmektedir. Bu nedenle genellikle cerrahi klinikleri ile yoğun bakım ünitelerinde karşılaşılabilecek bir tablodur. Bizim ülkemizde nadir görülmesinin en önemli nedenlerinden birinin hekimlerin böyle bir tablodan yeterince haberdar olmamalarından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Yapılan çalışmalarda postoperatif hastaların ortalama %1-%5'inde ve 7-14 gün boyunca standart heparin verilen hastaların %0.5-%1'inde HİT geliştiği bildirilmektedir.(50,51,52) Aslında heparin tedavisinin ve profilaksisinin ne kadar sık kullanıldığı düşünülüğünde heparinin tek başına ilaca bağlı immün trombositopenilerin en sık nedenini oluşturduğunu da söyleyebiliriz.

Tedavi sırasında heparinin tek doz uygulanması bile immunizasyon için yeterli kabul edilmektedir. Ancak antikor cevabı genellikle 5 ile 9. gün arasında gelişmektedir. HİT tablosundan sorumlu antikorların IgG tabiatında oldukları halde bu kadar kısa sürede gelişmeleri de ayrıca önemlidir. Antikorların ortaya çıktığı dönemde ortamda heparin olması asıl HİT tablosunu oluşturur. İmmun yanıt süreyle ilişkili ancak dozdan bağımsızdır. Son üç ayda HİT gelişmiş olan bir kişiye tekrar heparin uygulanması durumunda, ilk 24 saatte dahi immün yanıt ortaya çıkabilir. Tedavisinin 5 günden uzun sürdüğü durumlarda trombosit sayısının 150.000/mm³'ün altına düşmesi veya hastanın tedavi öncesi trombosit sayısında %50 oranında azalma olması durumunda HİT'den şüphe edilmesi gereklidir. Yapılan çalışmalar gözden geçirildiğinde trombosit değerlerinin 40.000-80.000/mm³ civarında olduğu anlaşılmaktadır.(49) Yani HİT tablosu orta dereceli trombositopeniye neden olur. Bu da postoperatif dönemdeki bir hastada tanının konulmasını güçlendiren sebeplerden biridir. Trombotik atak trombositopeninin başlangıcı ile eşzamanlı veya hemen sonrasında gözlenmektedir. Nadiren trombositopeniden önce olduğu da görülmüştür. Trombositopeniye rağmen trombozlarla seyretmesi en önemli özelliğini oluşturur. Tromboza eğilim durumu trombositlerin aktivasyonuna bağlı olduğu halde hem arteriyel hem venöz trombozlar görülebilmektedir. Arteriyel trombozların bir özelliği de diğer arteriyel tromboz durumlarından farklı olarak koroner veya serebral arterlere değil de özellikle kol ve bacak arterlerini tercih etmesidir. Bunun nedeni de henüz anlaşılamamıştır. Bu özellikleri nedeniyle pek çok hastada arteriyel trombozlar kol ve bacak amputasyonlarıyla sonuçlanabilmektedir.(50,53,54) Heparin tedavisi sırasında böyle bir tablonun gelişebileceğini bilmek ve belirtilerini takip etmek son derece önemlidir.

HİT Patogenezi

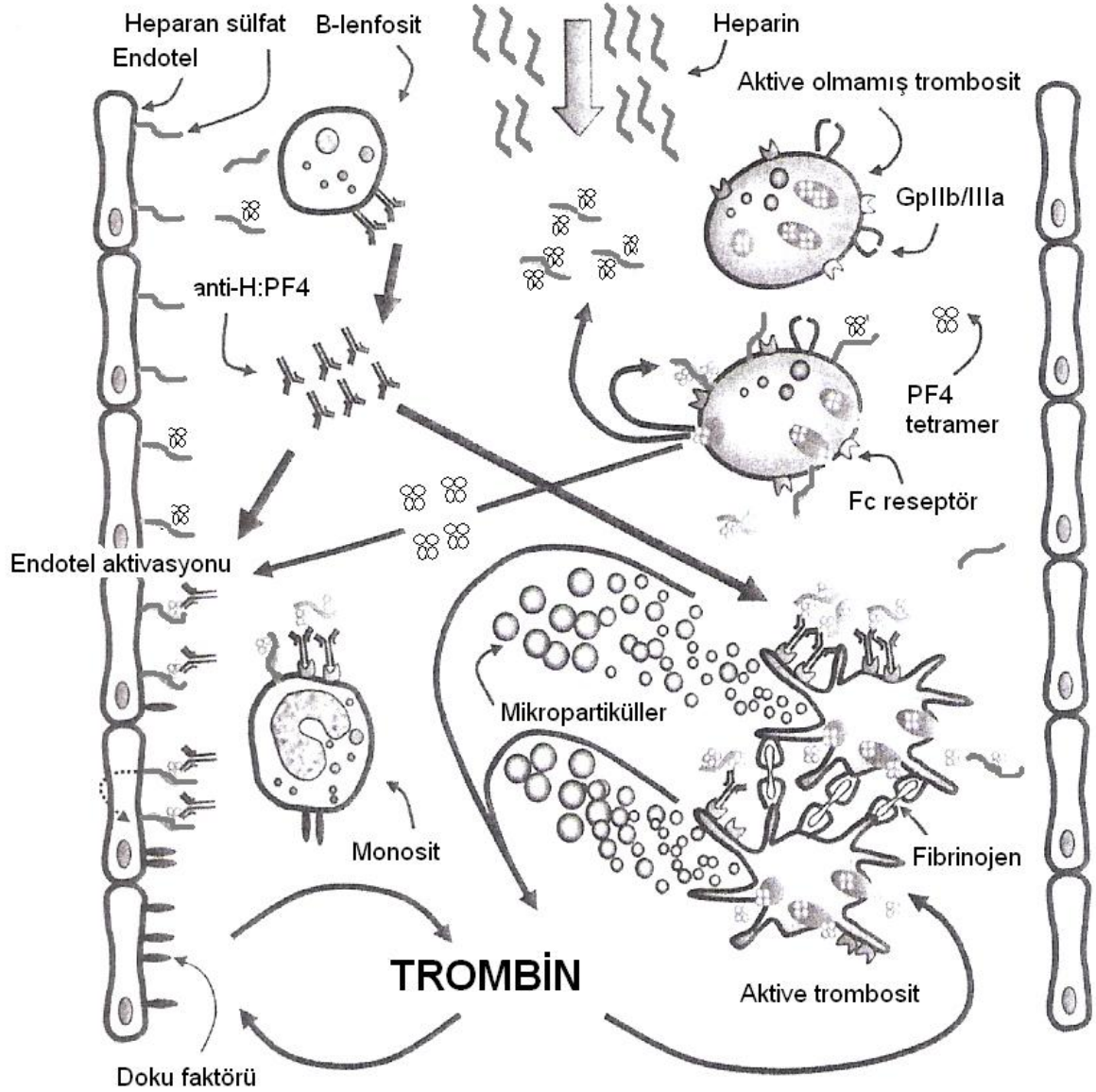
Heparin, geri dönüşümlü ve doyan bir şekilde trombositlere bağlanır ve trombositleri in vitro ortamda zayıf bir şekilde aktive edebilir. Genellikle, heparinin direkt trombosit-aktive edici etkisi, immunojenliği, sülfatlanmasının büyüklüğü ve derecesi ile orantılıdır. Bu nedenle DMAH kullanımında standart heparine göre HİT daha az oranda görülür.

HİT'e FcγIIa reseptörleri ile trombositleri aktive eden heparine bağımlı IgG tipinde antikorlar neden olmaktadır.(55) İmmün cevap H:PF4 kompleksine karşı gelişir.(56,57) PF4, trombosit granüllerinde bulunan, işlevleri tam olarak bilinmeyen pozitif yüklü, polipeptid

yapısında moleküllerdir. Trombositler aktive olduklarında PF4 salgılar ve bunların bir kısmı trombosit yüzeyine bağlanır. Heparin zıt yüklü olduğu için kolayca PF4'e bağlanır. Heparinle bağlandıktan sonra PF4'ün yapısında değişiklik olur ve immunojenik özellik kazanır. Böylece H:PF4 kompleksine karşı antikorlar oluşur. IgG tabiatındaki bu antikorlar trombositlerin Fc reseptörlerine bağlanır ve trombositleri aktive eder. Son yıllarda yapılan bir çalışmada, anti-H:PF4 antikorlarının, F(ab) kısmı ile heparine, Fc kısmı ile de diğer trombositlerin yüzeyindeki CD32 reseptörlerine bağlanarak güçlü bir aktivasyona neden olduklarını göstermiştir.(58) HİT antikorları ayrıca interlökin-8 ve nötrofil aktive edici peptid-2 gibi PF4 ile ilişkili kemokinleri de tanıyabilir.(59) Güçlü bir şekilde aktive olan trombositlerden aynı zamanda prokoagulan özelliği olan pek çok madde de salgılanır. Her ne kadar hastalar IgM ve IgA tipinde heparin bağımlı antikorlar üretseler de, bu antikorların HİT'e neden olmaları olası değildir.(60) Son yıllarda elde edilen önemli bir bilgi de süperaktif anti-H:PF4 antikorunun trombosit aktivasyon ve agregasyon için heparine ihtiyaç duymadığı şeklindedir.(49) Yine H:PF4 antikorları endotel hücreleri ile etkileşerek endotel hücrelerinden doku faktörlerinin salınımına da neden olur. Bu durum hayatı tehdit edecek derecede ağır arteriyel ve venöz trombozlara yol açabilecek olan koagülasyon kaskadının aktive olmasıyla sonuçlanır. (Şekil 3)

Patogenezdaki önemli bir diğer konu da bu hastalarda trombin yapımının da uyarılmasıdır. Burada trombin yapımı, aktive trombositlerden kopan prokoagulan özellikteki mikropartiküller ve gerek endotel, gerekse monositlerden salgılanan doku faktörünün etkisiyle uyarılır.(61,62) Damar içi trombin yapımının uyarılması ağır protein C depleksiyonuna da yol açar bu durum da edinsel protein C eksikliği ile tromboza eğilimi ayrıca artırır. Bu durum venöz trombozlar yanında warfarinle ilişkili doku nekrozu ve yaygın damar içi pıhtılaşması gibi mikrovasküler trombozlara neden olmaktadır.(50,54)

Hastaların büyük bölümünde, antikor oluştuğu halde trombositopeni gelişmez. Trombositopeni gelişen ve güçlü bir şekilde antikor gösterilen bir kısım hastada da tromboz gelişmemektedir.(50,51,63) Trombositlerin aktivasyonundaki farklılıklar ve antikor seviyelerindeki değişiklikler ile hastaya ait bazı faktörlerin HİT tablosu üzerine etkisi olduğu düşünülmektedir.(64)



Şekil 3. Heparine bağlı trombositopeninin (HİT) patogenezi

Klinik Özellikler

Tüm heparin türleri HİT'e neden olabilir. HİT tablosundaki trombositopeni orta dereceli bir trombositopenidir. Olgu serileri gözden geçirildiğinde hemen çoğu olguda trombosit seviyelerinin ortalama 40.000-80.000/mm³ arasında değiştiği görülmektedir.(49) Trombosit sayısının akut olarak 10.000/mm³ altına düştüğü durumlarda HİT'den uzaklaşmalıdır. Bu şekilde HİT'e bağlı ağır trombositopeni gelişen nadir durumlarda DIC

ve eritrosit fragmentasyonunun tabloya eşlik ettiği görülmüştür. (65,66) Trombosit sayısının düşmesi genellikle heparin tedavisinin 5-9. gününde daha nadiren 14 gün sonrasında gözlenir.(50,67) Daha önceden bir immunizasyon yoksa 4 günden önce görülen trombositopenilerde HİT tanısından uzaklaşılmalıdır. Trombosit sayısının 150.000/mm³ üzerinde olan HİT olguları da azımsanmayacak kadar çoktur. Burada önemli olan konu bazal trombosit düzeyinden akut olarak %50 den fazla düşme saptanmasıdır. Özellikle postoperatif dönemde trombosit düzeyleri normalin üzerinde seyrettiği düşünüldüğünde bu değişikliğin saptanması HİT yönünden uyarıcı olmalıdır.

HİT komplikasyonları

HİT gelişen hastaların en az %50'sinde, HİT ile ilişkili tromboz oluşur.(50,51,60,67) Hem venöz (derin ven trombozu, pulmoner embolizm) hem de arteriyel (özellikle aortik ve iliofemoral arteriyel tromboz, serebrovasküler hasar, miyokard enfarktüsü) trombüsler oluşabilir. Hassas kişilerde heparin enjeksiyonun ardından ağrılı dermal eritem ve enjeksiyonunun yapıldığı yerde nekroz(68) ve akut inflamasyon ortaya çıkabilir. (51) Bu durumda HİT habercisi olarak kabul edilmelidir. Bu trombozların neden özellikle ekstremiteleri tuttuğu konusu henüz aydınlatılmış değildir. HİT ile ilişkili komplikasyonlar Tablo 3.de özetlenmiştir.

Tablo 3. HİT komplikasyonları

-
- Venöz tromboz %50
 - Derin ven %50
 - Pulmoner embolizm %25
 - Serebral venöz %1
 - Adrenal hemoraji %2-3
 - Arteriyel tromboz %10-15
 - Ekstremiter arterleri > CVA > MI > diğer
 - Mikrovasküler trombozlar %5
 - Kumadin nekrozu
 - Warfarinsiz ağır DİC ile mikrovasküler tromboz
 - Diğer %5
-

Tanı

Günümüzde HİT tanısı çeşitli laboratuvar testleri ile desteklenen klinik verilere göre koyulmaktadır. HİT tablosunun gelişmesindeki ana sorumlu Heparin:PF4 kompleksine karşı gelişen antikorların bu komplekse bağlanarak trombositleri aktive etmeleridir. Laboratuvar desteği için bu iki durumun da ortaya konulması son derece önemlidir. Laboratuvar incelemeleri de temel olarak bu iki durumu ortaya koymayı amaçlar .(69,70)

1. Serumdaki anti-H:PF4 antikorlarını saptayan fonksiyonel olmayan testler
 - a) “Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay” (ELISA)
2. Trombosit aktivasyonunu saptayan fonksiyonel testler
 - a) Serotonin salınım testi,
 - b) Trombosit agregometrisi ile yapılan incelemeler,
 - c) Akım sitometrisi ile yapılan incelemeler

ELİSA ile yapılan incelemeler: Antikor tespitinde günümüzde en sık kullanılan yöntem ELİSA yöntemidir. Bu yöntemde bir enzim aktivitesinden yararlanılarak antijen-antikor ilişkisi ortaya konulmaya çalışılır. Bu sayede spesifik bir antijene karşı antikor veya antikora karşı antijen aramak mümkündür. Kısaca antikor aramak için;

- Araştırılan antikor’a özgü antijen plastik bir yüzeye yapıştırılır. Mikro-Elisa sisteminde bu antijen her hasta için kullanılmak üzere yapılan çukurların yüzeyine kaplanır. Antikor aranacak hasta serumu bu çukurlara konur. Bir süre beklenir ve yıkanır. Eğer serumda uygun antikor varsa antijenle birleşir.
- Bir enzim ile işaretlenmiş insan globülini ortama eklenir. Bir süre beklenir ve yıkanır. Eğer ortamda antijene uygun antikor var ise enzim ile işaretlenmiş insan antiglobülini bu antijen antikor kompleksine bağlanır ve yıkama ile uzaklaştırılmaz.
- En son aşamada ortama kullanılmış olan enzime uygun bir kromojen substrat eklenir. Eğer ortamda antikor var ve enzimle bağlı insan globulini bu komplekse bağlanmışsa eklenmiş olan kromojen parçalanır ve renk verir. Oluşan rengin şiddeti kolorimetrik yöntemlerle ölçülerek antikor miktarı hakkında bilgi edinilir.

HİT antikorlarını ortaya koymada da en sık bu yöntemden yararlanılır. Günümüzde en sık olarak heparin ya da polianyon polivinil sulfonatu bağlayan PF4 bağını tanıyan antikorları saptayabilecek immunoabsorbe iki enzim ile çalışan ticari ELİSA kitleri kullanılır. (69,70)

Serotonin salınım testi: Hastanın serumunda anti-H:PF4 antikorunun gösterilmesi tanının doğrulanması için gereklidir. Ancak heparin tedavisi sırasında birçok hastada antikor gelişirken, çok az bir hastada HİT gelişmektedir. Bu nedenle bu antikorların trombositlerin aktivasyonuna yönelik etkilerini ortaya koymak daha değerlidir. (71)

Primer veya sekonder olarak patogeneğinde trombosit aktivasyonu içeren patolojik durumların tanı ve takibinde trombosit aktivasyonunu belirleyen altın standart test serotonin salınım testidir.(72) Serotonin trombositlerde delta granüllerinde depolanmış olarak bulunur ve trombosit aktivasyonu sırasında ortama salınır. Serotonin salınımı, HPLC (High Performance Liquid Cromotographi), ELİSA ve ¹⁴C işaretli metodlarla değerlendirilmektedir. Her bir metodun kendine özgü olumlu ve olumsuz yanları mevcuttur. Bunların arasında duyarlılığı ve özgüllüğü ile en öne çıkan radyoaktif karbon 14 (¹⁴C) ile işaretli partiküllerin kullanıldığı yöntemdir ki teknik güçlüğü nedeniyle dünyada ancak belli merkezlerde uygulanabilmektedir. Serotonin salınım testi trombosit aktivasyonunu değerlendirmede en güvenilir biyolojik test olduğu kabul edilmekteyse de serotonin salınımını belirleyen daha hızlı ve basit bir yöntem günümüzde henüz mevcut değildir.(72)

Trombosit agregasyon testi: Trombosit agregasyon testi sağlıklı kişilerde taze olarak elde edilmiş trombositten zengin plazma üzerine heparin ve hasta serumu ilave edilerek agregometre cihazında trombosit fonksiyonlarının ölçülmesi esasına dayanır. (70,99) Düşük doz heparinle agregasyon olup yüksek dozda agregasyonun görülmemesi yani fonksiyonların inhibe olması pozitif sonucu gösterir. Diğer aktivasyon testlerine göre daha kolay bir yöntemdir. Ancak daha az duyarlı bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Negatif sonuç elde edildiğinde HİT tanısından uzaklaşılmasıdır.(70,100,101) Aynı yöntemin yıkanmış trombositlerle yapılması duyarlılığını arttırsa da teknik olarak daha zahmetli bir yöntemdir.(102)

Akım sitometrisinin HİT tanısında kullanımı: Akım sitometrisi hematolojide başta lösemi ve lenfoma immunofenotiplemesi olmak üzere hemen her alanda kullanılan çok önemli laboratuvar incelemesidir. Trombosit işlevlerini test etmede ve özellikle trombosit

aktivasyonu konusunda yıllardır kullanılan akım sitometrisinin HİT tablosunun tanısında da yararı olacağı düşünülmüştür. Serumdaki anti-H:PF4 antikorları ve bu antikorların trombositleri aktive edebilmesi akım sitometri yardımıyla kolaylıkla incelenebilir. Bu işlemler sırasında kullanılan en değerli belirteçler alfa granül proteini, p-selektin (CD62P) ve fosfolipid bağlayıcı protein olan Annexin-V'tir. Annexin-V aktive trombositlerin ve inflamatuvar bölgelerdeki lökositlerin aktive endotel ile yüzey teması kurmasına aracılık eder. Trombosit aktivasyonu ve degranulasyonundan sonra Annexin-V ve P-selectin, trombosit depo granüllerinden hücre yüzeyine mobilize edilir. Aktive trombositlerin yüzeyindeki p-selektin ekspresyon yoğunluğunun HİT hastalarında tromboz riski ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir.(73) Aktive trombositler ve bunlardan kopan mikropartiküller membran fosfolipidlerini açığa çıkarırlar. Membran fosfolipidleri annexin-V molekülüne yüksek afinite ile bağlanırlar.(74)

Akım sitometri ile yapılan incelemelerde aktive olmuş trombositler tarafından eksprese edilen Annexin-V ve p-selektin gibi belirteçlerin trombosit yüzeylerindeki ekspresyonları araştırılır. Aktive trombositler, aktive olmayan trombositlerden p-selektin ekspresyonu ve/veya Annexin-V floresansı ile ayırdedilebilir.(58)

Fonksiyonel ve fonksiyonel olmayan testlerin HİT'in laboratuvar tanısında birbirlerini tamamlamaları sebebiyle, serumda H:PF4 komplekslerine karşı oluşan antikorların varlığını ve bu antikorların trombositleri aktive etme kabiliyetlerinin her ikisini de gösteren akım sitometri tek tüp testi (flow cytometry single tube assay) dahi geliştirilmiştir.(71)

Tedavi ve Korunma

HİT için birkaç önemli risk faktörü belirlenmiştir. Standart heparin kullanımı, cerrahi girişim uygulanması, kadın cinsiyeti ve heparin tedavisinin 5 günden uzun sürmesi bunlardan en önemlileridir. Özellikle bu faktörleri taşıyan hastalarda HİT konusunda daha dikkatli olunmalı ve takip edilmelidir. HİT şüphesi olan bir hastada ise ilk yapılması gereken heparin tedavisinin derhal sonlandırılmasıdır. Heparin tedavisinin sonlandırıldığı dönemlerde ilk birkaç gün halen trombosit aktivasyonunun en yoğun olduğu dönemdir ve bu dönemde kumadin türü oral antikoagulan uygulanması kontrendikedir ve düşünülmemelidir. Konsültasyona gidildiğinde kumadin verildiği öğrenilirse derhal K vitamini uygulanması gereklidir. Oral antikoagulanlar HİT tablosunun düzeldiği yani trombosit sayılarının

150.000/mm³ üzerine çıktıktan sonra antikoagulan olarak başlanmalıdır. Bu, intravasküler kateterlerin yıkanması için kullanılan heparin için de geçerlidir. Serolojik olarak HİT olduğu saptanan hastalar sonradan oluşabilecek trombüsler için de yüksek risk taşımaktadır (yaklaşık %25 – 50). (60, 75, 76) İzole HİT olduğu şüphelenilen hastalarda koagülasyonun indüklendiği artan bir şekilde kabul görmektedir. (53, 54, 77)

Tedavide önemli bir diğer konu zaten profilaksi veya tedavi amaçlı heparin kullanılmakta olan bir hastada tromboza eğilim yaratan yeni bir durumun oluşması ve heparin tedavisinin kesilmiş olmasıdır. Bu durumda antikoagulan tedaviye farklı ajanlarla devam edilmesi gereklidir. Ancak bu tabloda warfarin ve diğer oral antikoagulanlar kontrendikedir.(53, 54, 77, 78) Çünkü, HİT' i olan bir hastada derin ven trombozu warfarin ile birlikte bacak gangrenine ilerleyebilir. (78,79) Bu alışagelmış olmayan sendromun laboratuvar markerı yüksek INR'dir (genellikle, 4.0'dan yüksek), bu da devam eden warfarin tedavisi sırasında devamlı trombin oluşumu ile birlikte prote'in C'nin düşüşüdür.(78) Ama trombin oluşumu kontrol edilen bir hastada (ör, trombin inhibitörü kullanılarak) warfarin teorik olarak güvenli olsa da, trombositopeni düzeline kadar (tercihen 150.000/mm³ üstünde) warfarini ertelemek gereklidir.(77) HİT'in gerilemesinden önce direkt trombin inhibitörünün kesilerek warfarin başlanmasının ciddi venöz bacak gangrenine bağlı bacak kaybına neden olduğu bilinmektedir.(78)

Trombin oluşumunun HİT patogenezindeki rolünün anlaşılması tedavide direkt trombin inhibitörlerinin kullanımını sağlamıştır.(53,54,78) Günümüzde Amerika Birleşik Devletleri'nde direkt trombin inhibitörü olarak kabul edilen lepirüdin, bivalirudin ve argatroban isimli üç antikoagulan HİT tedavisi için ruhsa almıştır.

Lepirüdin rekombinant hirudinden türetilen 65 aminoasitli bir polipeptiddir. Trombin ile kovalan olmayan ancak sıkı, bire bir kompleks oluşturarak trombini inaktive eder. Böbreklerden atılan bir ajandır. Normal böbrek fonksiyonlarında yarılanma ömrü yaklaşık 80 dakikadır. Böbrek yetersizliği olan hastalarda kullanılmamalı ya da dozu azaltılmalıdır. Antikoagülasyonun takibi aPTT ile yapılmalıdır (hedef aPTT, bazalin 1.5-2.5 katı olacak şekilde). HİT ile ilişkili trombozların tedavisinde lepirudinin yeni tromboz, ekstremitelerde amputasyon ve her türlü mortaliteyi %47.8'den %21.3'e düşürdüğü görülmüştür.(80) HİT'e bağlı trombozu olan 600 hastada sonradan yapılan iki çalışmada da lepirudin ile yeni gelişen

tromboz sıklığında belirgin azalma saptanmıştır (%6.1 ve %5.2).(81,82) Bunun yanında hastaların yaklaşık %20'sinde komplikasyon olarak ciddi kanamaların (kontrollerde %7.1) geliştiği de bildirilmiştir. Trombozsuz HİT'i olan hastalarda profilaktik dozlarda (0.1 mg/kg/saat intravenöz) lepirudin uygulamasıyla (aPTT 1.5-2.0 arasında tutulmuş) hastaların %2.7'sinde yeni tromboz geliştiği saptanmıştır. (83) Lepirudin verilen HİT'li 612 hastada yapılan diğer bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir(%2.1).(84) Son zamanlarda, intravenöz bolus uygulamasından sonra ölümcül anaflaktik reaksiyonlar rapor edilmiştir. Tekrar kullanımda 1/400'e kadar yükselen anaflaksi riski nedeniyle bolus verilmesinden kaçınılmalı, ya da 3 ay içinde lepirudin veya hirudin alan hastalarda ajan değiştirilmelidir.(85) Lepirudin hem ABD hem de Avrupa ülkelerinde HİT tedavisi için ruhsatlı bir ajandır.

Bivalirudin (Angiomax), hirudinün yapısından yararlanılarak geliştirilmiş 20 aminoasitli bir diğer trombin inhibitörüdür. Hirudin'in trombin aktif bölgesini ve fibrinojen bağlayan bölgelerini tanıyan iki peptidten oluşmaktadır. Yarılanma ömrü lepirudinün sadece üçte biridir (25 dakika). Böbrek yetersizliğinde sadece minör doz ayarlamaları yapılmalıdır. Çünkü bivalirudin enzimatik metabolizmaya maruz kalır. HİT tedavisi için bivalirudin kullanımı hakkında deneyimler sınırlıdır.(86,87) Perkutan Koroner Girişimlerde (PCI) antikoagülasyon için Bivalirudin kullanımı Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylanmıştır ancak HİT'deki kullanımı halen endikasyon dışı ilaç uygulama işlemlerinden geçerek kullanılmaktadır.

Argatroban küçük moleküllü (527 dalton) direkt trombin inhibitörüdür ve hepatobilyer atılıma maruz kalır bu yüzden böbrek yetersizliği olan hastalarda doz ayarı yapılmadan kullanılabilir (hepatik yetersizliği olan hastalarda doz azaltılmaktadır).(88,89,90) Argatroban'ın, HİT'de trombozun hem tedavisinde ve korunmasında kullanımı Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylanmıştır. İki endikasyon için de aynı doz verilmektedir (genelde başlangıç infüzyon hızı 2 µg/kg/dakika). Yarılanma ömrü 40 ile 50 dakika arasındadır.(90)

Danaparoid anti-faktör Xa aktivitesi olan heparin benzeri bir ajandır. HİT tedavisinde etkili olduğu bilirse de Amerika Birleşik Devletleri'nde Nisan 2002'de kullanımı durmuştur.(91)

HİT tedavisinde yurtdışında ruhsatlı olan bu ajanlardan maalesef ülkemizde hiç biri bulunmamaktadır. Ancak HİT şüphesi olan olgularda bu ajanlardan birinin yurtdışından temin edilmesiyle kullanılabilir.

HİT tedavisinde ruhsatsız olarak kullanılan bir diğer ajan da aslında heparin türevi olan fondaparinüktür. Heparinin antitrombin ile bağlanan pentasakkarid yapısı kullanılarak elde edilen bu sentetik heparin türevi ajan ortopedik cerrahilerde tromboz profilaksisinde ruhsatlı endikasyonu ile ülkemizde de kullanılmaktadır. Bu ajanla yapılan ve immün HİT tablosuna neden olduğunu gösteren herhangi bir çalışma yoktur. Ancak düşük molekül ağırlıklı heparinlerle tedavide karşılaşılan sıklıklara benzer oranlarda heparin-PF4'e karşı antikor gelişimine neden olduğu bildirilmektedir. Bunlara rağmen HİT tedavisinde başarıyla kullanılabileceğini gösteren çok sayıda olgu sunumu ile birlikte Amerikan Göğüs Hastalıkları Cemiyeti 2008 yılında yayınladıkları rehberde fondaparinüksü de 2C kanıt değeri ile birlikte HİT şüpheli olgularda kullanılacak alternatif antikoagulanlar arasında önermektedir. (127)

HİT antikorları için hassas örnekler kullanıldığında DMAH, in vitro ortamda standart heparine benzer reaksiyon verir. DMAH klinik HİT'in kötüleşmesine yol açabileceği için,(92) bu ajanlar HİT'i tedavi etmek için kullanılmamalıdır.(53,77)

HİT tedavisinde trombin inhibitörleri yanında tromboembolektomi, yüksek doz intravenöz immunoglobulin (IVIg), aspirin gibi antitrombotik ilaçlar ve plazmaferez de bazı durumlarda ek tedavi yaklaşımları olarak kullanılabilir. (53)

HİT den korunma

HİT özellikle 4. ve 14. günler arasında bir tromboz ve/veya trombosit sayısında %50'den fazla bir düşme ile kendini gösterir. Bu nedenle özellikle bu günler arasında trombosit sayısını 2-3 gün aralıklarla takip etmek önemlidir. HİT konusunda en yüksek riske sahip hasta grubu standart heparinlerle postoperatif tromboz profilaksisi yapılan hastalar olduğu için bu grupta günlük trombosit sayısı ile takip önerilmektedir. Heparin tedavisi sonlandırıldığında bu izlemlere de son verilebilir. Ondört günden fazla heparin tedavisi alan hasta grubunda ise trombosit sayım aralığı açılabilir. Medikal hastalarda ya da gebelik sırasında profilaktik olarak DMAH kullanan hastalarda HİT sıklığı çok daha azdır (50). Ona rağmen yukarıdaki şekilde takip önerilmektedir.

HİT antikorları geçicidir ve genelde 100 günden sonra kaybolur.(67) Bu yüzden, eğer HİT antikorları saptanamıyorsa, alternatif bir antikoagulanın sakıncalı olduğu açık kalp ameliyatı gibi durumlarda tekrar heparin kullanılabilir. (67, 93, 94) Ancak bu durumda tedaviyle tekrar IgG tipi antikorların gelişeceği beş gün içinde heparin tedavisinin kesilmesi gerektiği unutulmamalıdır. HİT antikorları olduğu bilinen hastalarda ise operasyon öncesi heparinden kaçınılmalıdır. Argatroban ya da bivalirudin kalp kateterizasyonu için kullanılabilir. (86, 95) Akut ya da yakın zamanda HİT geliştiği halde acil kalp ameliyatı gereken hastalar lepirudin gibi başka antikoagulanlar ya da tirofiban gibi antitrombosit ajanlar ile başarıyla opere edilmişlerdir. (94, 96, 97) Ancak bu ajanların bazı dezavantajları vardır. Örneğin, kardiyak cerrahiler için lepirudinin yüksek dozları, ekarın pıhtılaşma zamanı ile görüntüleme gerektirmektedir (genellikle uygun değildir), ve renal yetersizlik ortaya çıkarsa hastalarda ciddi kanama gelişebilir. Epoprostenol hipertansiyona neden olur ve bu yaklaşım kullanılarak yapılan kardiyak cerrahide sınırlı deneyim vardır. Bivaluridin ise HİT’li hastalarda kardiyak cerrahi için umut vericidir.

Kateter Uygulamaları ve HİT

Günümüzde hemen tüm yoğun bakım izlemleri ve tedavileri arteriyel veya venöz kateterlerin yardımıyla yapılmaktadır. Genellikle birden çok lümeni olan bu kateterler sayesinde aynı anda birden fazla tedavi yüksek yoğunlukta ve hızlı olarak yapılabilmektedir. İlk başlarda sık sık tıkanan kateterler düşük dozda heparin solüsyonları ile yıkanarak veya devamlı düşük dozda heparin infüzyonları kullanılarak açık tutulmaya çalışılmaktadır. Bu amaçla heparinle kaplı kateterler dahi geliştirilmiştir. Yapılan bazı araştırmalarda kateterleri açık tutmaya yarayacak dozlarda heparinin hatta heparinle kaplı kateterlerden salınacak çok daha düşük dozlarda heparinin dahi sıklık olarak önemsiz sayılacak oranda da olsa HİT’e yol açabileceğini göstermiştir. Bu durumun ortaya konulması özellikle HİT gelişmiş olgular için önemlidir. Çünkü böyle durumlarda standart heparin tedavisinin sonlandırılması yanında önemsiz gibi görünen ek heparin temaslarının da engellenmesi gerekir. Kateterler ve HİT ilişkisinde bir diğer önemli durum da santral venöz kateteri olan ve HİT gelişen olgularda üst ekstremitte trombozlarının katetersiz olgulara göre anlamlı şekilde daha sık gelişmesidir. Katetere bağlı vasküler hasar ve HİT’in neden olduğu prokoagulan durum bu komplikasyonun sıklığında artışa neden olabilmektedir.

MATERYEL VE METOD

Çalışmamızda çok düşük dozlarda ancak devamlı şekilde standard heparine maruz kalan hastalarda HİT antikorlarının gelişme sıklığını ve bu antikorların heparin varlığında trombositleri aktive edebilme işlevlerini test araştırdık. Bu amaçla kök hücre nakli amacıyla uzun dönem kalıcı santral venöz sistem kateteri yerleştirilen ve en az 2 ay süreyle kateterleri takılı kalan 25 hastayı çalışmamıza aldık. Hastaların kateter takılma tarihleri, kök hücre nakil tarihleri ve nakil ile ilişkili komplikasyonları izlerken trombosit sayılarını da kontrol ettik. Bu arada daha önceden eğitim verdiğimiz hemşirelerin takip notlarından heparin yıkaması sırasında oluşabilecek olan ve HİT için haberci sayılabilen ani gelişen flushing, nefes darlığı ve hipotansiyon gibi yan etkilerin varlığını araştırdık.

Daha önce klinik olarak trombositopeni, arteriyel ve venöz trombozlarıyla HİT düşünülerek incelenen ve trombosit agregasyon testiyle HİT tanısı konulan bir olgu ile tromboz olmadığı halde klinik olarak HİT düşünülen bir olguyu pozitif kontrol amacıyla çalışmamıza dahil ettik.

Kateter bakımları: Kateter bakımı için hastalara hergün en az bir kere 60 saniye betadin ile maruz kalacak şekilde pansuman yapıldı. Kateter içi bakım amacıyla da o sırada uygulanan ilacın cinsine ve sıklığına göre değişmek üzere en az günde bir kez olmak üzere 200 Ü standart heparin ile yıkama yapıldı.

Serum örneklerinin toplanması ve saklanması:

- Kök hücre nakli ve yoğun kemoterapi ünitesinde yatan ve tedavi amacıyla santral venöz kateter takılacak hastalardan kateter takılmadan önce ve kateter takıldıktan sonraki 14. ile 28. günlerde toplam üç kez 10'ar ml kuru kan örneği alındı.
- Kan örnekleri 500 g'de 10 dakika santrifuj edilerek serumları ayrıldı ve ayrılan serumlar 56°C de 30 dakika benmari de bekletilerek inaktive edildi. Daha sonra 8000 g'de 5 dakika tekrar santrifuj edilerek üstte kalan "süpernatant" serum örnekleri etiketlenerek -70°C'de saklandı.

ELİSA Yöntemi:

Bu çalışmada ELİSA yöntemi ile kalitatif anti-H:PF4 antikorunu taranması için Asserachrom® HPIA (Diagnostika Stago) ticari kitleri kullanıldı. Test sırasında antikor

ölçümleri tüm serum örneklerinden aynı anda ve üretici firmanın belirttiği şekilde çalışıldı. İki basamaklı sandviç enzim yönteminin kullanıldığı bu yöntemde tüm kuyucukları heparin-PF4 kompleksleri ile kaplı olan “mikroplate” lere, kitle gönderilen pozitif ve negatif kontrol örnekleriyle birlikte testten 15 dakika önce 37 oC’de direkt olarak eritildi hasta ve kontrol serumları ile birlikte her kuyucuğa toplam hacim 200 µl olacak şekilde yerleştirildi. Örneklerin oda ısısında bir saat süreyle inkübasyonu ile olası antikorların immobilizasyonuna çalışıldı. Uygun solusyonlarla 5 kez yıkanan kuyucuklara bu kez peroksidaz ile bağlı anti-human IgG, IgA, IgM antikorları eklendi. Bir saat daha inkübe edilen örneklerde bu kez immunkonjugatın immobilizasyonu amaçlandı. Son aşamada kromojenin enzim substratı eklenerek örneklerde olası bir renk değişimi beklenmeye başlandı 5 dakikalık inkübasyon sonrası ortama 1M H₂SO₄ ilavesiyle reaksiyon sonlandırıldı. Oluşan renk yoğunluğu 450 nm ELİSA okuyucusunda 1 saat süreyle okundu. ELİSA ile elde edilen sonuçlar optik dansite (OD) birimi olarak verildi ve kit içinde gönderilen pozitif kontrol örneği ile oluşan değerlerin %23.5’i kadar büyük emilim değerleri pozitif kabul edildi.

Akım Sitometri ile trombosit mikropartikül incelemesi:

Bu yöntem ile heparin-PF4 kompleksine karşı oluşmuş olabilecek antikorların heparin varlığında normal trombositleri aktive edebilme işlevleri test edildi. Bu amaçla hasta serumu, standart heparin ve normal trombositler kullanıldı. Bu yöntem mikropartiküllerinin ortaya konması esasına dayanır.

- Bu amaçla 70 µl trombositten zengin plazma örneğine 0.1 IU/ml, 0.3 IU/ml, ve 1 IU/ml konsantrasyonlar da hazırlanmış heparin solusyonlarından 10’ ar ul eklendi. Bu karışımlara 20 µl hasta veya kontrol plazması eklenerek 1 saat süreyle oda ısısında inkübe edildi. Ardından santrifüj ile pellet haline getirilen örnekler 20 µl Annexin V-FITC ve CD41-PE ile oda ısısında 20 dakika süreyle inkübe edilerek boyandı ve trombosit mikropartikülleri açısından akım sitometrisinde bekletilmeden çalışıldı.
- Hastalardan kateter takılmadan önce (bazal) ve takıldıktan sonra 14 ve 28. günlerde serum alınıp saklandığı için her hasta için yukarıdaki işlemler 3 farklı serum örneği ile ayrı ayrı tekrarlandı.

- Tüm veriler “list mode” olarak kaydedildi ve CellQuest bilgisayar programıyla analiz edildi. Trombosit aktivasyonu için Annexin V ve CD41 birlikte ekspres eden hücre ve/veya partiküllerin varlığı araştırıldı. Bu amaçla özellikle 0.3IU/ml Heparin konsantrasyonunun olduğu tüpteki veriler değerlendirildi.
- Akım sitometri incelemesi sırasında kullanılan trombosit zengin plazmalar son bir hafta içinde aspirin kullanmamış olan sağlıklı kişilerden taze olarak elde edildi. Alınan 10 ml sitratlı kan örneği oda ısısında 250 g’de 15 dakika santrifuj edildikten sonra üst kısmında kalan trombosit zengin plazma örneği trombosit sayısı $300.000/mm^3$ olacak şekilde PBS ile sulandırılarak kullanıldı.

Çalışma İstanbul Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı ve Helsinki Deklarasyonu’na uygun şekilde tamamlandı.

BULGULAR

Demografik özellikler

Çalışmaya dahil edilen hastaların 20' si erkek, beşi kadın idi. Hastaların yaşları 18 ile 65 yaş arasında değişmekteydi (ortanca: 38 yaş). Hastaların 11'i akut miyeloid lösemi, dördü kronik miyeloid lösemi, üçü akut lenfoblastik lösemi, üçü hodgkin dışı lenfoma, ikisi primer miyelofibrozu, biri multiple miyelom, biri de aplastik anemi tanısıyla tedavi görmekteydi. Çalışma amacıyla serum örnekleri toplanan hastaların 19'una kök hücre nakli uygulanırken altı hastanın klinik durumlarındaki olumsuzluklar nedeniyle kök hücre naklinden vazgeçildi ve kateterleri çıkartılmadan farklı tedavilerle izlendi. Hastaların demografik özellikleri, tanıları, kateter takılma tarihleri, kök hücre nakil tarihleri ve nakil ile ilişkili komplikasyonları ile heparin yıkaması ile ilişkili semptomlara ait bulgular Tablo 4.de özetlendi. Hastaların hiçbirinde heparin uygulaması sırasında HİT habercisi olabilecek flushing veya anaflaksi benzeri semptom gelişmediği görüldü.

Kök hücre nakli amacıyla uzun dönemli kateter takılan hastalardan kateter takılmadan önce (0.gün), ikinci ve dördüncü haftalarda olmak üzere üç kez serum örneği alındı. Tablo 5.te haftalara göre lökosit, hemoglobin (Hb) ve trombosit değerleri, ateş veya tromboz varlığı ile birlikte ELİSA ve akım sitometri ile elde edilen sonuçlar özetlendi. ELİSA sonuçları incelendiğinde OD <0.4 olan serum örnekleri antiH:PF4 antikorları yönünden negatif kabul edilirken OD 0.4-1.0 arasındaki olgular orta, OD >1 olan olgular ise kuvvetli pozitif kabul edildi. Bu şekilde ilk olgumuzda (No:1) bazal ile birlikte üç örnekte de antikor mevcuttu. Hastayı tekrar sorguladığımızda iki ay önce tedavisi sırasında iki hafta süreyle santral venöz kateter takıldığı ve o sırada da heparin kullanıldığı öğrenildi. İki olgumuzda (No:10 ve No:15) kateter öncesi serum örneklerinde antikor saptadık ancak diğer örneklerde saptayamadığımız için bu sonuçları yanlış pozitif olarak değerlendirildik. Üç olgumuzda (No:8, No:17 ve No:19) ikinci hafta antikor geliştiğini gördük ancak 4. hafta antikor tespit edemedik. İki hafta gibi kısa sürede antikorların kaybolmasını beklemediğimiz için bu olguları da yanlış pozitif olarak değerlendirdik. Üç olgumuzda ise (No:14, No:21, No:23) ilkinde orta dereceli, diğer ikisinde ise oldukça kuvvetli şekilde antikor geliştiğini gözlemledik. Diğer olgularımızda ise herhangi bir antikor gelişimi tespit etmedik.

Tablo 4. Hastaların klinik ve demografik özellikleri

| Olgu | Yaş | Cinsiyet | Tam | KHN tarihi | kateter tarihi | KHN kompl. | HİT öncü bulgusu |
|------|-----|----------|--------|------------------|----------------|-----------------|------------------|
| 1 | 63 | E | NHL | <i>Yapılmadı</i> | 10/05/05 | | (-) |
| 2 | 65 | E | AML-M1 | 08/11/05 | 28/03/05 | FN | (-) |
| 3 | 32 | E | HH | 17/08/05 | 24/05/05 | FN | (-) |
| 4 | 35 | E | AML-M5 | 21/06/05 | 7/05/05 | FN akut GVHH | (-) |
| 5 | 35 | E | AML-M4 | 26/05/05 | 29/03/05 | FN akut GVHH | (-) |
| 6 | 27 | E | AML-M3 | 23/11/05 | 17/10/05 | FN Krm. GVHH | (-) |
| 7 | 21 | E | KML | 23/11/05 | 26/10/05 | FN | (-) |
| 8 | 46 | K | MS | 1/04/05 | 10/03/05 | FN | (-) |
| 9 | 47 | E | MS | 05/08/05 | 6/07/05 | FN, HS | (-) |
| 10 | 23 | K | AML-M1 | 22/04/05 | 4/04/05 | FN akut GVHH | (-) |
| 11 | 50 | K | AML-M4 | <i>Yapılmadı</i> | 12/11/05 | | (-) |
| 12 | 52 | E | ALL | <i>Yapılmadı</i> | 10/03/05 | | (-) |
| 13 | 40 | E | AML-M2 | 28/12/05 | 16/03/05 | FN | (-) |
| 14 | 37 | E | KML | 25/01/07 | 15/01/07 | FN | (-) |
| 15 | 20 | E | AML-M5 | 5/04/07 | 15/01/07 | FN Krm. GVHH | (-) |
| 16 | 18 | E | AML-M4 | 22/03/07 | 13/02/07 | FN | (-) |
| 17 | 50 | E | MM | 28/03/07 | 24/01/07 | FN | (-) |
| 18 | 48 | E | KML | 12/10/06 | 2/10/06 | FN | (-) |
| 19 | 35 | E | KML | 22/09/07 | 2/10/06 | FN | (-) |
| 20 | 42 | K | ALL | 05/10/06 | 22/09/06 | FN | (-) |
| 21 | 22 | K | AA | <i>Yapılmadı</i> | 12/12/06 | | (-) |
| 22 | 31 | E | NHL | <i>Yapılmadı</i> | 15/11/06 | | (-) |
| 23 | 37 | E | AML-M4 | 1/11/06 | 9/10/06 | FN | (-) |
| 24 | 34 | E | ALL | 21/12/06 | 28/11/06 | FN | (-) |
| 25 | 42 | E | AML-M1 | <i>Yapılmadı</i> | 6/10/06 | | (-) |

Anahtar: FN: Febril nötropeni, HS: Hemorajik sistit, AA: Aplastik anemi, MM: Multipl Myelom, HH: Hodgkin hastalığı, NHL: hodgkin dışı lenfoma

Tablo 5. Hastaların haftalara göre lökosit, Hb, trombosit, ELİSA ve akım sitometri sonuçları

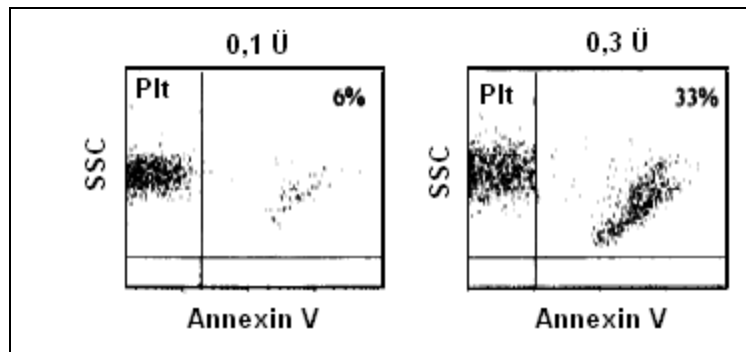
| Hasta No | Zaman | Lökosit (/mm ³) | Hb (g/dl) | Trombosit (/mm ³) | Tromboz | ELISA (OD) | Trombosit aktivasyonu (Annexin V+CD41) |
|----------|---------|-----------------------------|-----------|-------------------------------|----------|--------------|--|
| 1 | 0.hafta | 13.100 | 11.8 | 298000 | (-) | 0.480 | % 0,9 |
| | 2.hafta | 800 | 8.3 | 261000 | (-) | 0.455 | % 0,8 |
| | 4.hafta | 400 | 6.5 | 37700 | (-) | 0.792 | % 0,4 |
| 2 | 0.hafta | 5100 | 11.1 | 267000 | (-) | 0.323 | % 0.5 |
| | 2.hafta | 200 | 7.8 | 26000 | (-) | 0.392 | % 0.3 |
| | 4.hafta | 7700 | 8 | 17000 | (-) | 0.259 | % 0.9 |
| 3 | 0.hafta | 2200 | 7.3 | 57000 | (-) | 0.117 | % 0.5 |
| | 2.hafta | 3800 | 7.8 | 104000 | (-) | 0.126 | % 1.2 |
| | 4.hafta | 400 | 7.9 | 41000 | (-) | 0.180 | % 0.8 |
| 4 | 0.hafta | 7500 | 13.8 | 189000 | (-) | 0.112 | % 0.8 |
| | 2.hafta | 2300 | 14.8 | 65000 | (-) | 0.139 | % 0.7 |
| | 4.hafta | 500 | 8.4 | 8000 | (-) | 0.387 | % 0.7 |
| 5 | 0.hafta | 4600 | 12.4 | 184000 | (-) | 0.162 | % 0.5 |
| | 2.hafta | 2000 | 10 | 172000 | (-) | 0.103 | % 0.5 |
| | 4.hafta | 600 | 8.1 | 32000 | (-) | 0.108 | % 0.8 |
| 6 | 0.hafta | 5700 | 14.6 | 158000 | (-) | 0.173 | % 1.1 |
| | 2.hafta | 4500 | 14 | 103000 | (-) | 0.141 | % 1.0 |
| | 4.hafta | 2100 | 14.6 | 62000 | (-) | 0.211 | % 0.8 |
| 7 | 0.hafta | 4900 | 12.4 | 133000 | (-) | 0.151 | % 1.2 |
| | 2.hafta | 6600 | 12.9 | 186000 | (-) | 0.125 | % 0.9 |
| | 4.hafta | 200 | 14.4 | 10000 | (-) | 0.148 | % 0.7 |
| 8 | 0.hafta | 6800 | 11.4 | 172000 | (-) | 0.257 | % 0.8 |
| | 2.hafta | 48.600 | 8 | 34000 | (-) | 0.485 | % 1.4 |
| | 4.hafta | 6700 | 11.1 | 60000 | (-) | 0.116 | % 2.9 |
| 9 | 0.hafta | 6200 | 12.1 | 224000 | (-) | 0.089 | % 0.8 |
| | 2.hafta | 16900 | 8.7 | 124000 | (-) | 0.186 | % 0.5 |
| | 4.hafta | 200 | 7.4 | 26000 | (-) | 0.096 | % 0.3 |
| 10 | 0.hafta | 8400 | 13.1 | 213000 | (-) | 0.488 | % 0.7 |
| | 2.hafta | 300 | 13.4 | 38000 | (-) | 0.158 | % 0.5 |
| | 4.hafta | 200 | 7.7 | 39000 | (-) | 0.701 | % 1.1 |
| 11 | 0.hafta | 6400 | 8.1 | 73000 | (-) | 0.097 | % 0.5 |
| | 2.hafta | 600 | 7.8 | 28000 | (-) | 0.092 | % 1.0 |
| | 4.hafta | 5600 | 8.7 | 15000 | (+) ates | 0.082 | % 0.8 |
| 12 | 0.hafta | 5500 | 10.2 | 227000 | (-) | 0.221 | % 0.8 |
| | 2.hafta | 600 | 7.4 | 6000 | (-) | 0.109 | % 1.2 |
| | 4.hafta | 1000 | 7.4 | 20000 | (-) | 0.117 | % 0.5 |

| Hasta No | Zaman | Lökosit (/mm ³) | Hb (g/dl) | Trombosit (/mm ³) | Tromboz | ELISA (OD) | Trombosit aktivasyonu (Annexin V+CD41) |
|----------|----------|-----------------------------|-----------|-------------------------------|----------|--------------|--|
| 13 | 0.hafta | 11.700 | 9.8 | 243000 | (-) | 0.373 | % 0.8 |
| | 2.hafta | 400 | 6.4 | 8000 | (-) | 0.328 | % 0.5 |
| | 4.hafta | 7400 | 8.1 | 29000 | (-) | 0.166 | % 0.8 |
| 14 | 0.hafta | 16.100 | 15.4 | 392000 | (-) | 0.306 | % 0.7 |
| | 2.hafta | 6500 | 13.9 | 173000 | (-) | 0.410 | % 1.3 |
| | 4.hafta | 400 | 10.7 | 30000 | (-) | 0.418 | % 1.8 |
| 15 | 0.hafta | 34.300 | 10.3 | 20000 | (-) | 0.519 | % 0.3 |
| | 2.hafta | 300 | 8.8 | 12000 | (+) ates | 0.345 | % 0.7 |
| | 4.hafta | 2100 | 7.5 | 39000 | (-) | 0.298 | % 0.4 |
| 16 | 0.hafta | 3600 | 8.1 | 74000 | (-) | 0.191 | % 0.3 |
| | 2.hafta | 5900 | 10.1 | 138000 | (-) | 0.209 | % 0.7 |
| | 4.hafta | 5700 | 10.9 | 133000 | (-) | 0.221 | % 1.0 |
| 17 | 0.hafta | 12.700 | 9.1 | 117000 | (-) | 0.131 | % 0.7 |
| | 2.hafta | 23.700 | 8.5 | 70000 | (-) | 0.434 | % 1.1 |
| | 4.hafta | 11.200 | 8.2 | 50000 | (-) | 0.175 | % 1.1 |
| 18 | 0.hafta | 6800 | 10.8 | 399000 | (-) | 0.183 | % 0.5 |
| | 2.hafta | 100 | 10.1 | 21000 | (-) | 0.161 | % 0.8 |
| | 4.hafta | 3000 | 9.1 | 148000 | (-) | 0.107 | % 0.5 |
| 19 | 0.hafta | 1000 | 5.6 | 26000 | (-) | 0.216 | % 0.4 |
| | 2.hafta | 5700 | 9.4 | 161000 | (-) | 0.633 | % 0.3 |
| | 4.hafta | 100 | 8.7 | 17000 | (-) | 0.386 | % 0.6 |
| 20 | 0. hafta | 4000 | 12.4 | 193000 | (-) | 0.188 | % 0.3 |
| | 2.hafta | 5000 | 7.1 | 35000 | (-) | 0.080 | % 0.9 |
| | 4.hafta | 2300 | 7.0 | 27000 | (-) | 0.097 | % 0.7 |
| 21 | 0.hafta | 2900 | 7 | 8000 | (-) | 0.390 | % 0.7 |
| | 2.hafta | 2900 | 6.9 | 20000 | (-) | 1.019 | % 1.2 |
| | 4.hafta | 1300 | 7.9 | 10000 | (-) | 0.702 | % 0.9 |
| 22 | 0.hafta | 3400 | 6.3 | 41000 | (-) | 0.117 | % 0.8 |
| | 2.hafta | 300 | 7.1 | 31000 | (-) | 0.149 | % 1.2 |
| | 4.hafta | 700 | 6.8 | 30000 | (-) | 0.135 | % 0.8 |
| 23 | 0.hafta | 1300 | 6.9 | 25000 | (-) | 0.487 | % 0.3 |
| | 2.hafta | 3600 | 9.1 | 115000 | (-) | 2.259 | % 1.3 |
| | 4.hafta | 2500 | 9.5 | 82000 | (-) | 2.139 | % 3 |
| 24 | 0.hafta | 2600 | 10.4 | 202000 | (-) | 0.144 | % 0.5 |
| | 2.hafta | 4700 | 11.3 | 151000 | (-) | 0.192 | % 0.9 |
| | 4.hafta | 100 | 11.5 | 15000 | (-) | 0.152 | % 1.0 |
| 25 | 0.hafta | 6200 | 11.5 | 170000 | (-) | 0.179 | % 0.7 |
| | 2.hafta | 300 | 7.4 | 21000 | (-) | 0.157 | % 0.8 |
| | 4.hafta | 1200 | 8.5 | 32000 | (-) | 0.195 | % 0.3 |

Bu arada pozitif kontrol olarak sakladığımız iki hastamıza ait serum örneklerinin ikisinde de ELİSA ile HİT antikorlarının kuvvetli pozitif olduğunu gördük (Tablo 6.). Akım sitometrik inceleme sırasında hastalardan alınıp saklanan 0, 2. hafta ve 4. hafta serum örneklerinin her biri üç farklı heparin konsantrasyonu ile birlikte ayrı ayrı çalışıldı. Ancak literatürde HİT antikorlarıyla yapılan çalışmalarda heparinin çok düşük ve çok yüksek konsantrasyonları kullanıldığında trombosit aktivasyonunun olmadığı, maksimum etkinin özellikle 0.3 IU/ml konsantrasyonlarında sağlanabildiği vurgulandığı için (58,71) Tablo 5 ve Tablo 6.da akım sitometri sonuçlarını özetlerken sadece 0.3 IU/ml heparin konsantrasyonu ile elde ettiğimiz verileri belirttik. Çalışmamızda daha önceden HİT tanısı konulmuş olan ve pozitif kontrol amacıyla incelediğimiz iki olgumuzda da ELİSA ile HİT antikorları kuvvetli olarak tespit edilmişti. Akım sitometrik incelemede ise sadece ilk olgumuzda %33 oranında CD41 ve annexin V' i birlikte eksprese eden trombosit mikropartiküllerini tespit ettik. Şekil 4.de grafik örneğini sunduğumuz bu olgu dışında ne HİT şüphesiyle incelediğimiz ikinci kontrol serumumuzda ne de kateter grubundaki 25 olgumuzda trombosit aktivasyonu tespit etmedik. Oysa hem kontrol serumumuzda hem de hasta grubundaki 3 olgumuzda ELİSA ile kuvvetli sayılacak şekilde antikor olduğunu belirlemiştik.

Tablo 6. Pozitif kontrol örnekleriyle elde edilen veriler.

| | Anti-H:PF4 (ELISA, OD) | Trombosit aktivasyonu (Anneksin V + CD41+) |
|---------------------|-----------------------------------|---|
| 1. Olgu (HİT) | 2.152 | %33 |
| 2. Olgu (Olası HİT) | 1.689 | %0.1 |



Şekil 4. HİT olgusunun akım sitometrik inceleme raporu

TARTIŞMA

Biz bu çalışma ile kök hücre nakli öncesi uzun dönem santral venöz kateter takılan hastalarda kateter içi bakımda kullanılan uzun süreli, düşük doz heparine bağlı HİT gelişme sıklığını araştırdık. Bizim çalışma gurubumuz hemodiyaliz hastaları ve yoğun bakım hastaları gibi kateterli hastalardan daha farklı olarak hazırlama kemoterapi rejimi nedeniyle genellikle aniden trombositopenisi gelişen hastalardan oluşmaktaydı. Bu nedenle trombosit sayısındaki düşüşü gözleyerek klinik olarak tromboza yol açmayan bir HİT tablosunu ayırt edemeyeceğimizi düşündük. Bir yandan hasta serumlarını olası HİT antikoru açısından incelerken bir yandan da varsa bu antikoru heparin temasıyla trombositleri aktive edip edemediğini fonksiyonel bir yöntemle test etmek istedik. Bu nedenle hem ELISA hem de akım sitometrik trombosit fonksiyon testlerini birlikte kullandık.

Heparin normal şartlarda PF4'e bağlandığında, PF4'ün yapısında değişiklik oluşturarak çeşitli antijenik yapıların ortaya çıkmasına neden olabilir. Daha sonra da PF4 den ayrılır. Neoantijen olarak adlandırılan bu yapılara karşı gelişen HİT antikoru ise sadece belirli bir alttipi heparin-PF4 kompleksleri ile karşılaştığında bu komplekslere bağlanarak trombositleri damar içinde aktive edebilecek özelliğe sahiptir.(103,104,105) HİT kliniği için antikoru varlığı değil bu antikoru trombositleri aktive edebilmeleri önemlidir. ELISA incelemelerinde optik okuyucu ünitesiyle yoğun bir reaktivite alınmasının, trombositleri aktive edebilecek antikoru indirekt bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Bu düşünceyi destekleyen bir çalışmada ortopedik cerrahi sırasında 2.0 üzerinde absorbans değerlerinin hemen daima (%100) HİT ile ilişkili olduğu halde 0.4-1.0 arası sonuçlar nadiren HİT ile ilişkili bulunduğu bildirilmiştir (70,103). Oysa kalp hastalarıyla yapılan başka bir çalışmada ELISA ile 0.4 ile 1.0 OD gibi yüksek yoğunlukta antikor tespit edilen olguların ancak %5 ile 10'unda güçlü trombosit aktive edici özellik olduğu gösterilmiştir.(106)

Ülkemizde HİT antikoru gelişme sıklığını ortaya koymak amacıyla yapılmış olan iki çalışma daha mevcuttur. Bunlardan birinde kardiyovasküler cerrahi yapılan ve standart heparin ya da DMAH kullanan 115 hastada HİT antikoru ELISA, serotonin salınım testi ve trombosit agregasyon testleri ile incelenmiştir (111). Bu çalışmada ELISA yöntemi ile sırasıyla cerrahi işlem öncesi %15.9, 5. günde %34.1 ve 10. günde %65.2 gibi oldukça yüksek oranda antikor pozitifliği saptanmıştır. Serotonin salınım testi ve trombosit

agregasyon testi ile daha düşük oranda antikor pozitifliği (sırasıyla %4.4 ve %7) saptanmıştır. Antikor pozitif bir hastada DVT ve pulmoner emboli gelişmiştir. 10. günde antikor pozitif saptanan hastaların tümünün başlangıçta antikor negatif olduğu görülmüştür. Sonuç olarak kardiyovasküler cerrahi uygulanan hastalarda yüksek oranda antikor pozitifliği saptanmış, fakat bu antikorların işlevsel özellikleri düşük bulunmuştur. Diğer bir çalışmada akut koroner sendrom, DVT, pulmoner emboli nedeniyle standart heparin alan 37 hasta ve DMAH alan 24 hastada ELISA, serotonin salınım testi, trombosit agregasyon testi yöntemleri ile anti-HPF4 antikorları taranmıştır. Bu çalışmada ELISA yöntemi ile standart heparin kullanan hastalarda %18.9, DMAH kullananlarda %4.1 oranında antikor pozitifliği saptanmıştır. Serotonin salınım testi yöntemi ile standart heparin kullananlarda %8.1, DMAH kullananlarda %4.1 antikor pozitifliği saptanmıştır. Trombosit agregasyon testi yöntemi ile standart heparin kullanan hastaların %21.6'sında, DMAH kullananların %4.1'inde antikor pozitifliği saptanmıştır. Standart heparin kullanan 1 olguda trombotik atak gelişirken, DMAH kullanan olgularda trombotik atak gelişmediği de vurgulanmıştır. Ancak tromboz gelişen olguların zaten tromboemboli nedeniyle tedavi gören olgular olması nedeniyle bu trombozların HİT ile ilişkili olup olmadığı tam olarak ortaya konulamamıştır.(112).

Daha geniş çaplı yapılan bir çalışmada HİT'li, non-HİT'li hastalardan ve sağlıklı kişilerden alınan 70 serum örneği ELISA, partikul jel immunoassay (PaGIA) testi ile ve akım sitometri testi ile çalışılmıştır. ELISA ve PaGIA ile pozitif bulunan anti-HPF4 antikorları, indirekt bir yöntem olan akım sitometri yöntemi ile de pozitif bulunmuştur. Bu çalışma ile akım sitometri yönteminin güvenilir bir yöntem olduğu gösterilmiştir.(98)

Bizim çalışmamızda ELISA sonuçları 0.08 OD ile 2.2 OD arasında değişmekteydi. Bizim sonuçlarımızda klinik olarak HİT olduğundan emin olduğumuz kontrol olgumuzda ELISA ile yoğun antikor pozitifliği saptadık (OD 2.2). Kataterli olgu grubumuza baktığımızda ise olgularımızın sadece üçünde bazal serum örnekleriyle karşılaştırıldığında anlamlı şekilde antikor geliştiğini gözlemledik (%12 olgu). Diğer altı olgumuzda ise ELISA ile yalancı pozitif reaksiyon geliştiğini düşünüyoruz (%24 olgu).

Pozitif kontrol grubumuzdaki ilk olgumuz klinik olarak trombozlarla seyreden bir HİT olgusuydu. ELISA ile kuvvetli pozitif reaksiyon saptanan bu olgunun akım sitometrisiyle yaptığımız fonksiyonel incelemesinde de, bu antikorların 0.3 IU/ml konsantrasyonda

heparinle temas ettiklerinde normal trombositleri aktive ettiklerini gösterdik. Ancak HİT olabileceğinden şüphelenerek vaktiyle alıp sakladığımız ikinci kontrol hastamızın serumuyla yaptığımız çalışmada akım sitometrisiyle trombosit aktivasyonu tespit etmedik. Katater grubumuzla yapılan fonksiyonel incelemelerde de antikor gelişmiş hastalar da dahil olmak üzere hiç birinde uygun Heparin konsantrasyonlarında trombosit aktivasyonu saptamadık. Bu arada antikor saptanan hastaların hiç birinde kateter trombozu dahil herhangi bir tromboembolik olay gelişmediğini de vurgulamak isteriz. Yapılan çalışmalarda HİT antikorunu tespit edildiği halde tromboz gelişiminin düşük oranlarda olması nedeniyle tanı için fonksiyonel yöntemlerle antikorların trombositleri aktive edebilme işlevini araştıran yöntemlerin HİT tanısında ELİSA ile antikor taranmasından daha özgül olduğu kabul edilmektedir. (103,104,106,107) ELİSA yönteminin HİT tanısı için yeterli olmadığı ancak negatif sonuç alındığında tanıdan uzaklaşmak amacıyla kullanılmasının daha güvenilir olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda vaka sayısı istatistiksel analiz için yeterli olmasa da elde ettiğimiz verilerin HİT tanısı için akım sitometrik trombosit aktivasyon testinin daha özgül bir yöntem olduğu görüşünü desteklediğini düşünüyoruz.

HİT antikorlarının oluşmasında kullanılan heparinin tipi (sığırcı kaynaklı >domuz kaynaklı), dozu ve özellikle de alta yatan klinik durum çok etkilidir. Bu nedenle HİT sıklığını ortaya koyabilmek oldukça güçtür. Ancak yapılan çalışmaların sonuçlarına bakıldığında tedavi dozunda heparin kullanıldığında yaklaşık %1 ile %5 arasında HİT gelişme riski olduğu görülmektedir (108). Bu çalışmalardan birinde Warkentin ve arkadaşları 744 olgulu bir seriyi değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada kalp cerrahisi ve ortopedik cerrahi girişim yapılan ve farklı heparin dozlarının kullanıldığı hasta grupları arasında standart heparin uygulamasıyla ortopedik hastalarda kalp hastalarına göre daha yüksek sıklıkta HİT geliştiği (%5 e karşılık %1 sıklık) ve ortopedik girişimler sırasında düşük molekül ağırlıklı heparinlerin standart heparine göre çok daha düşük oranlarda HİT e yol açtığı (%1 e karşılık %5 sıklık) ortaya konulmuştur (103). Yine aynı çalışmada kardiyak hastalarda standart heparin ile daha yüksek sıklıkta antikor geliştiği buna rağmen klinik HİT olgularının ortopedik hasta grubunda daha fazla olduğu da not edilmiştir. Bu bilgiler ışığında HİT sendromu için aysberg modeli ortaya atılmıştır. Buna göre heparin tedavisinin olguların bir kısmında HİT antikorlarına yol açtığı, bu olguların bir kısmında trombositopeni geliştiği, trombositopeni gelişen olguların bir kısmının ise trombozlarla birlikte seyrettiği anlaşılmıştır.

(60,103,109) HİT gelişen olguların takiplerinde tromboz riskinin hastalık gruplarına göre hem mutlak (tromboz riski %30'a karşılık %79) hem de nisbi olarak (tromboz için "odds ratio" 20-40) arttığı gösterilmiştir. (113,114,115)

HİT ile ilgili çalışmalar heparinin tek bir doz uygulanmasıyla dahi antikor gelişiminin tetiklenebildiğini göstermektedir. Ancak kliniğin ortaya çıkabilmesi için ilk doz heparin uygulamasından an az beş gün sonra yani bu antikorlar geliştikten sonra kişinin heparin ile teması gereklidir. HİT standart tedavi ve profilaksi dozlarıyla gelişebildiği gibi venöz veya arteriyel olarak yerleştirilmiş kateterlerin tıkanmasını engellemek amacıyla kullanılan düşük dozlarda (116) heparinlerle ve hatta heparinle kaplı kateterlerden salınabilecek çok daha düşük dozlardaki heparin temasıyla da gelişebilmektedir. (117) Heparin kesildikten ve hasta taburcu edildikten birkaç gün sonra dahi tromboz bildirilen olgular mevcuttur. (118) Ancak yine de kateterlerle ilişkili HİT gelişimi konusundaki bilgilerimiz daha sınırlıdır. Çalışmaların çoğu özellikle hemodiyaliz kateteri takılmış olan böbrek hastaları ve santral venöz kateter uygulanmış yoğun bakım hastaları ile yapılmıştır. (119) Bu çalışmalarda bir yandan HİT sıklığı araştırılırken bir yandan da kateter uygulamalarında karşılaşılan önemli bir komplikasyon olan kateter trombozlarının HİT ile ilişkisi incelenmiştir. Bu tip komplikasyonların altta yatan konjenital trombofilik faktörler tespit edilmediği için direkt olarak katetere bağlı damar endotelinde gelişen mikrotravmalara bağlı geliştiği düşünülse de HİT antikorlarının bu hastalarda kolaylaştırıcı bir faktör olup olmadığı bilinmemektedir. Bir çalışmada HİT antikorlarıyla hemodiyaliz hastalarındaki kateter trombozları arasında herhangi bir ilişki saptanamadığı bildirilmiştir. (120) Fakat bunun aksini bildiren çalışmalar da mevcuttur. (120) Özellikle yoğun bakım ünitelerinde yapılan araştırmalarda ekstrakorporeal dolaşım sırasında gelişen tekrarlayan kateter trombozlarının en sık nedeninin HİT antikorları olduğu tespit edilmiştir. (121) Başka bir çalışmada kateter trombozu olan 260 hasta incelenmiş ve HİT gelişen hastalarda özellikle üst ekstremitelerde venöz damarlarında tromboz gelişimi diğer bölgelere göre anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir. (110,122). Kateter trombozlarının etyolojisinde CVP ye bağlı vasküler hasar ve HİT'in prokoagulan durumunun birlikte etkisi sonucu oluştuğunu düşündürmüştür.

Kateter ilişkili HİT sıklığını ortaya koyabilmek için çocuklarla yapılan bazı çalışmalar vardır. Yenidoğan hasta gurubuyla yapılan bir çalışmada kateter tıkanmasını önlemek amacıyla 0.5 IU heparin/mL ile devamlı infüzyon uygulanan 145 yenidoğan olgusunda HİT

antikoru gelişmemiştir. (123) Bunun aksini bildiren bazı çalışmalar da mevcuttur. Hasta guruplarında sıklığı değişmekle birlikte trombositopeni, tromboz veya ikisinin birlikte olduğu HİT olgularının çocuk yoğun bakımlarında %1.5 normal yoğun bakımlarda izlenen çocuklarda ise %2.5 olduğu gözlenmiştir. (124,125). Bizim olgularımız arasında klinik olarak HİT gelişen olgumuz olmadı ancak yenidoğan grubundan farklı olarak %12 oranında antikor geliştiğini gördük.

Ülkemizde epidemiyolojik çalışmalar konusunda yetersizlik olduğu için gerçek HİT görülme sıklığını bilemiyoruz. Bunun da ötesinde kongre bildirimleri, kanama ve trombozla ilgili özel toplantılarda sunulan olgu tartışmaları veya bilimsel dergilerde çok nadir olgu bildirimleri dışında bu konuya ait hemen hiç bilgiye rastlamamaktayız. Ülkemizde HİT olgularının bu derece nadir görülmesinin en önemli nedeninin konunun iyi bilinmemesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak özellikle cerrahi kliniklerinde yatan ve beş günden fazla heparin tedavisi uygulanan hastalarda HİT gelişme riski olduğu ve hastaların günlük trombosit sayımları ile kontrol edilmesi gerektiği vurgulanmalıdır. HİT olgularında tromboembolik komplikasyonları önleyebilmek için erken ve hızlı tanı gereklidir. HİT tanısı için de özellikle Heparin tedavisinin 5 gününden itibaren trombosit sayındaki düşmeler ve/veya tromboz gelişimi HİT olasılığını düşündürmeli ve laboratuvar testleri ile desteklenmeye çalışılmalıdır. Bu arada her anti-H:PF4 antikoru pozitif hastada HİT kliniği gelişmediği ve yine HİT'e bağlı bazı trombotik ataklarda trombositopeni görülmebileceği de unutulmamalıdır.

ELİSA kitleri 100'er testlik örnekler halinde satılmaktadır. Oysa HİT kısa sürede tanı konulup karar verilmesi gereken acil bir durumdur. Nisbeten nadir bir komplikasyon olduğu da düşünüldüğünde bir hasta için bir kit açılmasını gerektiren böyle bir test rutin uygulamaya uygun değildir. Ülkemiz şartlarında bu amaçla kullanılacak en uygun testler heparin ile uyarılan trombosit agregasyon veya aktivasyonunun agregometre veya akım sitometrisiyle gösterilmesidir. Biz oldukça güvenilir, özgül ve nisbeten de kolay uygulanabilen akım sitometrik incelemenin imkanı olan laboratuvarlarda rutin olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz. Bu arada kateter uygulamaları sırasında düşük dozlarda heparin uygulamasıyla da HİT antikorlarının gelişebileceğini ancak buna bağlı tromboz gelişiminin son derece nadir olduğunu da söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Lindahl U, Kusche M, Lidholt K, et al: Biosynthesis of heparin and heparin sulfate. *Ann NY Acad Sci* 556:36-50, 1989.
2. Olson ST, Björk I, Sheffer R, Craig PA, Shore JD, Choay J. Role of the antithrombin-binding pentasaccharide in heparin acceleration of antithrombin-proteinase reactions. Resolution of the antithrombin conformational change contribution to heparin rate enhancement. *J Biol Chem*. 1992 Jun 25;267(18):12528-38
3. Rosenberg RD, Damus PS: The purification and mechanism of action of human antithrombin-heparin cofactor. *J Biol Chem* 348(18): 6490-6505, 1973
4. Jin L, Abrahams JP, Skinner R, Petitou M, Pike RN, Carrel RW. The anticoagulant activation of antithrombin by heparin. *Proc. Natl Acad Sci, USA*. 1997 Dec 23;94(26):14683-8
5. Olson ST, Bjork I: Predominant contribution of surface approximation to the mechanism of heparin acceleration of the antithrombin-thrombin reaction. Elucidation from salt concentration effects. *J Biol Chem* 266(10):6353-6364, 1991
6. Danielsson A, Raub E, Lindahl U, et al: Role of ternary complexes, in which heparin binds both antithrombin and proteinase, in the acceleration of the reactions between antithrombin and thrombin or factor Xa. *J Biol Chem* 261(33); 15467-15473, 1986.
7. Jordan RE, Oosta GM, Gardner WT, et al: The kinetics of hemostatic enzyme-antithrombin interactions in the presence of low molecular weight heparin. *J Biol Chem* 255(21): 10081-10090, 1980.
8. Tollefsen DM, Majerus DW, Blank MK: Heparin cofactor II. Purification and properties of a heparin-dependent inhibitor of thrombin in human plasma. *J Biol Chem* 257(5):2162-2169, 1982.
9. Bray B, Lane DA, Freyssinet JM, et al: Antithrombin activities of heparin. Effect of saccharide chain length on thrombin inhibition by heparin cofactor II and by antithrombin. *Biochem J* 261(1): 225-232, 1989.
10. Tollefsen DM, Sugimori T, Maimone MM: Effect of low molecular weight heparin preparations on the inhibition of thrombin by heparin cofactor II. *Semin Thromb Hemost* 16(Suppl): 66-70, 1990.

11. Liaw PC, Austin RC, Fredenburg JC, et al: Comparison of heparin- and dermatan sulfate-mediated catalysis of thrombin inactivation by heparin cofactor II. *J Biol Chem* 274(39): 27597-27604, 1999.
12. Hurst RE, Poon MC, Griffith MJ: Structure-activity relationships of heparin. Independence of heparin charge density and antithrombin binding domains in thrombin inhibition by antithrombin and heparin cofactor II. *J Clin Invest* 72(3): 1042-1045, 1983
13. Tollefsen DM, Pestka CA, Monafó WJ: Activation of heparin cofactor II by dermatan sulfate. *J Biol Chem* 258(11): 6713-6716, 1983.
14. Young E, Prins M, Levine MN, et al: Heparin binding to plasma proteins, an important mechanism for heparin resistance. *Thromb Haemost* 67(6): 639-643, 1992.
15. Lijnen HR, Hoylaerts M, Collen D: Heparin binding properties of human histidine-rich glycoprotein. Mechanism and role in the neutralization of heparin in plasma. *J Biol Chem* 258(6): 3803-3808, 1983.
16. Denton J, Lane DA, Thunberg L, et al: Binding of platelet factor 4 to heparin oligosaccharides. *Biochem J* 209(2): 455-460, 1983.
17. Eitzman DT, Chi L, Saggin L, et al: heparin neutralization by platelet rich thrombi. Role of platelet factor 4. *Circulation* 89(4): 1523-1529.
18. Nakamura T, Yuassa H, Watanabe J: Uptake of fractionated heparin by two types of scavenger receptors in isolated rat Kupffer cells. *Biol Pharm Bull* 23(6): 743-747, 2000
19. Ollson P, Lagergren H, Ek S: The elimination from plasma of intravenous heparin. An experimental study on dogs and humans. *Acta Med Scand* 173: 619-630, 1963
20. Boneu B, Caranobe C, Sie P: Pharmacokinetics of heparin and low molecular weight heparin. *Baillieres Clin Haematol* 3(3): 531-544, 1990.
21. Hull RD, Raskob GE, Hirsh J, et al: Continuous intravenous heparin compared with intermittent subcutaneous heparin in the initial treatment of proximal vein thrombosis. *N Engl J Med* 315(18): 1109-1114, 1986
22. Anand SS, Yusuf S, Pogue J, et al: Relationship of activated partial thromboplastin time to coronary syndromes who receive heparin. *Circulation* 107(23): 2884-2888, 2003.
23. Lee MS, Wali AU, Menon V, et al: The determinants of activated partial thromboplastin time, relation activated partial thromboplastin time to clinical outcomes, and optimal dosing

regimens for heparin treated patients with acute coronary syndromes: A review of GUSTO-IIb. *J Thromb Thrombolysis* 14(2):91-101,2001.

24.Brill-Edwards P, Ginsberg JS, Johnston M, et al:Establishing a therapeutic range for heparin therapy. *Ann Intern Med* 119(2):104-109, 1993

25.Bates SM, Weitz JI, Johnston M, et al:Use of a fixed aPTT ratio to established a therapeutic range for unfractionated heparin. *Arch Intern Med* 161(3): 381-391, 2001

26.Levine MN, Hirsh J, Gent M, et al: A randomized trial comparing aPTT with heparin assay in patients with acut venous thromboembolism requiring large daily doses heparin. *Arch Intern Med* 154(1):49-56, 1994

27.Chunial SD, Young E, Johnston MA, et al:The aPTT response of pregnant plasma to unfractionated heparin. *Thromb Haemost* 87(1): 92-97, 2002

28.Manson L, Weitz JI, Podor TJ, et al: The variable anticoagulant response to unfractionated heparin in vivo reflects binding to plasma proteins rather than clearance. *J Lab Clin Med* 130(6): 649-655, 1997

29.Geerts WH, Heit JA, Clagett GP, et al: Prevention of venous thromboembolism. *Chest* 119(Suppl 1); 132S-175S, 2001.

30.Cruickshank MK, Levine MN, Hirsh J, et al:A Standart heparin nomogram for the management of heparin therapy. *Arch Intern Med* 151(2):333-337, 1991.

31.Raschke RA, Reilly BM, Guidry JR, et al: The weight-based heparin dosing nomogram compared with a “standart care”nomogram. A randomized controlled trial. *Ann Intern Med* 119(9): 874-881, 1993.

32.Weitz JI: Low molecular weight heparins. *N Eng J Med* 337(10): 688-698, 1997.

33.Barzu T, Van Rijn JL, Petitou M, et al: Endothelial binding sites for heparin. Specificity and role of in heparin neutralization. *Biochem J* 238(3): 847-852, 1886.

34.Frydman A: LMWH: An overview of their pharmacodynamics, pharmacokineics and metabolism in humans. *Haemostasis* 26(Suppl 2): 24-38, 1996.

35.Levine M, gent M, Hirsh J, et al: A comparison of LWMH administered primarily at home with unfractionatedheparin administered in the hospital for proximal deep vein thrombosis. *N Eng j med* 334(11):677-681, 1996.

36.Belcaro G, Nicolaides AN, Cesarone MR, et al: Comparison of LWMH, administered primarily at home, with unfractionated heparin, administered in hospital, and subcutaneous

heparin, administered at home for deep venous thrombosis. *Angiology* 50(10): 781-787, 1999.

37. Boneu B, de Moerloose P: How and when to monitor a patient treated with LWMH. *Semin Thromb Haemost* 27(5): 519-522, 2001.

38. Levine MN, Raskob G, Landefeld S et al: Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. *Chest* 119(Suppl1): 108S-121S, 2001.

39. Horrow JC: Protamine: A review of its toxicity. *Anesth Analg* 64(3): 348-361, 1985.

40. Holst J, Lindblad B, Bergqvist D, et al: Protamine neutralization of intravenous and subcutaneous LWMH (tinzaparin, Logiparin). An experimental investigation in healthy volunteers. *Blood Coagul Fibrinolysis* 5(5): 795-803, 1994.

41. Dahlman TC: Osteoporotic fractures and the recurrence of thromboembolism during pregnancy and the puerperium in 184 women undergoing thromboprophylaxis with heparin. *Am J Obstet Gynecol* 168(4):1265-1270, 1993.

42. Douketis JD, Ginsberg JS, Burrows RF, et al: The effects of long-term heparin therapy during pregnancy on bone density. A prospective matched cohort study. *Thromb Haemost* 75(2):254-257, 1996.

43. Barbour LA, Kick SD, Steiner JF, et al: A prospective study of heparin-induced osteoporosis in pregnancy using bone densitometry. *Am j Obstet Gynecol* 170(3):862-869, 1994.

44. Bhandari M, Hirsh J, Weitz JI, et al: The effects of standard and LMWH on bone nodule formation in vitro. *Thromb Haemost* 80(3): 413-417, 1998.

45. Muir JM, Andrew M, Hirsh J et al: Histomorphometric analysis of the effects of standard heparin on trabecular bone in vivo. *Blood* 88(4): 1314-1320, 1996.

46. Murray WJ, Lindo VS, Kakkar VV, et al: Long term administration of heparin and heparin fractions and osteoporosis in experimental animals. *Blood Coagul Fibrinolysis* 6(2):113-118, 1995.

47. Dukes GE Jr, Sanders SW, Russo J Jr, et al: Transaminase elevations in patients receiving bovine or porcine heparine. *Ann intern Med* 100(5):646-650, 1984.

48. Guevara A, Labarca j, Gonzalez –Martin G: heparin-induced transaminase elevations: A prospective study. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 31(3): 137-141, 1993.

49. Kelton J.G: Heparin-induced thrombocytopenia: An overview. *Blood Reviews* (2002) 16, 77-80.
50. Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J, et al: Heparin induced thrombocytopenia in patients treated with LWMH or unfractionated heparin. *N Eng J Med* 332(20):1330-1335, 1995.
51. Warkentin TE, Roberts RS, Hirsh J, Kelton JG: An improved definition of immune heparin induced thrombocytopenia in postoperative orthopedic patients. *Arch Intern Med* 163:2518, 2003.
52. Girolami B, Prandoni P, Stefani PM, et al: The incidence of heparin induced thrombocytopenia in hospitalized medical patients treated with subcutaneous unfractionated heparin. A prospective cohort study. *Blood* 101: 2955, 2003.
53. Warkentin TE, Chong BH, Greinacher A: Heparin induced thrombocytopenia: Towards consensus. *Thromb Haemost*, 79,1, 1998.
54. Greinacher A, Warkentin TE: Treatment of heparin induced thrombocytopenia: An overview. In Warkentin TE, Greinacher A(eds): *Heparin induced thrombocytopenia*, 3rd ed. Marcel Dekker, New York, 2004, p335.
55. Kelton JG, Sheridan D, Santos A, et al: Heparin induced thrombocytopenia: laboratory studies. *Blood* 72: 925, 1988.
56. Amiral J, Bridey F, Dreyfus M, et al: Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin induced thrombocytopenia (letter) *Thromb Haemost* 68:95, 1992.
57. Li-ZQ, Liu W, Park KS, et al: Defining a second epitope for heparin induced thrombocytopenia/thrombosis antibodies using KKO, a murine HIT-like monoclonal antibody. *Blood*: 1230, 2002.
58. Vitale M, et al: Comparison between different laboratory tests for the detection and prevention of heparin induced thrombocytopenia. *Cytometry*: 46:290-295, 2001
59. Amiral J, Marfaing-Koka A, Wolf M, et al: Presence of autoantibodies to IL-8 or neutrophil activating peptide-2 in patients with heparin associated thrombocytopenia. *Blood* 88:410, 1996.
60. Warkentin TE: Heparin induced thrombocytopenia: Pathogenesis and management. *Br J Haematol* 121:535, 2003.

61. Visentin GP, Ford SE, Scott JP, Aster RH: Antibodies from patients with heparin induced thrombocytopenia/thrombosis are specific for platelet factor 4 complexed with heparin or bound to endothelial cells. *J Clin Invest* 93:81, 1994.
62. Pouplard C, Iochmann S, Renard B, et al: Induction of monocyte tissue factor expression by antibodies to heparin-platelet factor 4 complexes developed in heparin induced thrombocytopenia. *Blood* 97:3300, 2001
63. Lee DH, Warkentin TE: Frequency of heparin induced thrombocytopenia. In Warkentin TE, Greinacher A (eds): heparin induced thrombocytopenia, 3rd ed. New York, Marcel Dekker, 2004, p 107.
64. Warkentin TE, Hayward CPM, Smith CA, et al: Determinants of donor platelet variability when testing for heparin induced thrombocytopenia. *J Lab Clin Med* 120:371, 1992
65. Warkentin TE, Kelton JG: Delayed-onset heparin induced thrombocytopenia and thrombosis. *Ann Intern Med* 135:502, 2001
66. Warkentin TE, Bernstein RA: Delayed-onset heparin induced thrombocytopenia and cerebral thrombosis after a single administration of unfractionated heparin. *N Eng J Med* 348:1067, 2003
67. Warkentin TE, Kelton JG: Temporal aspects of heparin-induced thrombocytopenia. *N Eng J Med* 244(17):1286-1292, 2001.
68. Warkentin TE: Heparin induced skin lesions. *Br J Haematol* 92:494, 1996.
69. Warkentin TE: Platelet count monitoring and laboratory testing for heparin induced thrombocytopenia: Recommendations of the College of American Pathologists. *Arch Pathol Lab Med* 126:1415, 2002
70. Warkentin TE, Heddle HN: Laboratory diagnosis of immune heparin-induced thrombocytopenia. *Curr Hematol Rep* 2:148, 2003.
71. Gobbi G, Mirandola P, et al: New laboratory test in flow cytometry for the combined analysis of serologic and cellular parameters in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Clinical Cytometry* 588:32-38, 2004.
72. Gobbi G, Mirandola P, et al: Flow cytometry detection of serotonin content and release in resting and activated platelets. *British J. Haematol* 121, 892-896, 2003.

73. Jy W, Mao WW, Horstman LL, et al. A flow cytometric assay of platelet activation marker P-selectin (CD62P) distinguishes heparin-induced thrombocytopenia (HIT) from HIT with thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 82:1255-1259).
74. Trotter PJ, Orchard MA, Walker JH. Relocation of annexin V to platelet membranes is a phosphorylation-dependent process. *Biochem J* 1997; 328:447-452.
75. Warkentin TE, Kelton JG: A 14 year study of heparin induced thrombocytopenia. *Am J Med* 101:502, 1996.
76. Wallis DE, Workman DL, Lewis BE, et al: Failure of early heparin cessation as treatment for heparin induced thrombocytopenia. *Am J Med* 106:629, 1999
77. Warkentin TE, Greinacher A: Heparin induced thrombocytopenia: Recognition, treatment, and prevention. The 7th ACCP Consensus Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 12b (suppl), 2004.
78. Warkentin TE, Elavathil LJ, Hayward CPM, et al: The pathogenesis of venous limb gangrene associated with heparin induced thrombocytopenia. *Ann Intern Med* 127:804, 1997.
79. Sirinivasan AF, Rice L, Bartholomew JR, et al: Warfarin-induced skin necrosis and venous limb gangrene in the setting of heparin-induced thrombocytopenia. *Arch Intern Med* 164(1): 66-70, 2004.
80. Greinacher A, Eichler P, Lubenow N, et al: Heparin-induced thrombocytopenia with thromboembolic complications: Meta-analysis of two prospective trials to assess the value of parenteral treatment with lepirudin and its therapeutic aPTT range. *Blood* 96:846, 2000.
81. Eichler P, Lubenow N, Greinacher A: Results of the third prospective study of treatment with lepirudin in patients with heparin induced thrombocytopenia (abstract). *Blood* 100 (Suppl 1): 704a, 2002.
82. Lubenow N, Eichler P, Greinacher A: Results of a large drug monitoring program confirms the safety and efficacy of Recludan (lepirudin) in patients with immune mediated heparin induced thrombocytopenia (abstract). *Blood* 100 (Suppl 1): 502 a, 2002.
83. Lubenow N, Eichler P, Leitz T, Farner B, Greinacher A: Lepirudin for prophylaxis of thrombosis in patients with acute isolated heparin induced thrombocytopenia: An analysis of three prospective studies. *Blood* 2004.

84. Lubenow N, Eichler P, Greinacher A: Results of a large drug monitoring program confirms the safety and efficacy of Refludan (lepirudin) in patients with immune mediated heparin induced thrombocytopenia (abstract). *Blood* 100 (Suppl 1): 502 a, 2002.
85. Greinacher A, Lubenow N, Eichler P: Anaphylactic and anaphylactoid reactions associated with lepirudin in patients with heparin induced thrombocytopenia *Circulation* 108:2062, 2003.
86. Sciulli TM, Mauro VF: Pharmacology and clinical use of bivalirudin. *Ann Pharmacother* 36:1028, 2002.
87. Francis JL, Drexler A, Gwyn G, Moroosse R: Bivalirudin, a direct thrombin inhibitor, in the treatment of heparin induced thrombocytopenia (abstract). *J Haemost* 1 (Suppl 1): 1909, 2003.
88. Lewis BE, Wallis DE, Berkowitz SD, et al: Argatroban anticoagulant therapy in patients with heparin induced thrombocytopenia. *Circulation* 103:1838, 2001.
89. Lewis BE, Wallis DE, Leya F, et al: Argatroban anticoagulation in patients with heparin induced thrombocytopenia. *Arch Intern Med* 163: 1849, 2003.
90. Sheth SB, DiCicco RA, Hursting MJ, et al: Interpreting the International Normalized Ratio (INR) in individuals receiving argatroban and warfarin. *Thromb Haemost* 85:435, 2001.
91. Chong BH, Gallus AS, Cade JF, et al: Prospective randomized open-label comparison of danaproid with dextran 70 in the treatment of heparin induced thrombocytopenia with thrombosis: A clinical outcome study. *Thromb Haemost* 86:1170, 2001.
92. Ranze O, Eichner A, Rubenow N, et al: THE USE OF LWMH in heparin induced thrombocytopenia (HIT): A cohort study (abstract). *Ann Haematol* 79 (Suppl 1): P198, 2000.
93. Potzch B, Klovekorn WP, Madlener K: Use of heparin during cardiopulmonary bypass in patients with a history of heparin induced thrombocytopenia (letter). *N Eng J Med* 343:515, 2000.
94. Warkentin TE, Greinacher A: Heparin induced thrombocytopenia and cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 76:2121, 2003.
95. Lewis BE, Matthai WH Jr, Cohen M, et al: Argatroban anticoagulation during percutaneous coronary intervention in patients with heparin induced thrombocytopenia. *Cathet Cardiovasc Interv* 57:177, 2002.

96. Potzsch B, Madlener K, Seeling C, et al: Monitoring of r-hirudin anticoagulation during cardiopulmonary bypass: Assessment of the whole blood ecarin clotting time. *Thromb Haemost* 77-920, 1997.
97. Aouifi A, Blanc P, Piriou V, et al: Cardiac surgery with cardiopulmonary bypass in patients with type II heparin induced thrombocytopenia. *Ann Thorac Surg* 71:678, 2001.
98. Tazzari PL, et al: Heparin-induced thrombocytopenia: detection of antiheparin/PF4 antibodies by means of heparin/PF4-coated beads and flow cytometry. *Transfus Med* 12(3):193-8, 2002(Jun).
99. Isenhardt CE, Brandt JT. Platelet aggregation studies for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol* 1993;99:324–330.
100. Fabris F, Ahmad S, Cella G, Jeske WP, Walenga JM, Fareed J. Pathophysiology of heparin-induced thrombocytopenia. Clinical and diagnostic implications—a review. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:1657–1666.
101. Greinacher A, Amiral J, Dummel V, Vissac A, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. Laboratory diagnosis of heparin-associated thrombocytopenia Thrombocytopenia and comparison of platelet aggregation test, heparin induced platelet activation test, and platelet factor 4/heparin enzyme-linked immunosorbent assay. *Transfusion* 1994;34:381–385.
102. Greinacher A, Michels I, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. A rapid and sensitive test for diagnosing heparin-associated thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1991;66:734–736.
103. Warkentin TE, Sheppard JI, Horsewood P, et al. Impact of the patient population on the risk for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2000; 96:1703–1708
104. Warkentin TE, Sheppard JI, Moore JC, et al. Laboratory testing for the antibodies that cause heparin-induced thrombocytopenia: how much class do we need? *J Lab Clin Med* 2005; 146:341–346
105. Amiral J, Pouplard C, Vissac AM, et al. Affinity purification of heparin-dependent antibodies to platelet factor 4 developed in heparin-induced thrombocytopenia: biological characteristics and effects on platelet activation. *Br J Haematol* 2000; 109:336–341
106. Warkentin TE, Sheppard JI, Moore JC, et al. The quantitative interpretation of optical density measurements using PF4-dependent enzyme-immunoassays. *J Thromb Haemost* 2008 [Epub ahead of print]

107. Juhl D, Eichler P, Lubenow N, et al. Incidence and clinical significance of anti-PF4/heparin antibodies of the IgG, IgM, and IgA class in 755 consecutive patient samples referred for diagnostic testing for heparin-induced thrombocytopenia. *Eur J Haematol* 2006; 76:420–426
108. Davoren A, Aster RH. Heparin-Induced Thrombocytopenia and Thrombosis. *American Journal of Hematology* 81:36–44 (2006)
109. Chong BH. Heparin-induced thrombocytopenia: *J Thromb Haemost* 2003;1:1471–1478.
110. Hong AP, Cook DJ, Sigouin CS, et al. Central venous catheters and upper-extremity deep-vein thrombosis complicating immune heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2003; 101:3049–3051
111. Demir M. ve ark. Açık kalp cerrahisi uygulanan hastalarda heparine bağlı trombositopeni sıklığı. *Turkish J Hematol suppl. 1 vol.3 No.3*, 2006.
112. Demir M. ve ark. Dahili hastalarda anti-heparin-trombosit faktör antikor ve heparine bağlı immun trombositopeni sıklığı. *Turkish J Hematol suppl. 1 vol.3 No.3*, 2006.
113. Lee DH, Warkentin TE. Frequency of heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin TE, Greinacher A, eds. *Heparin-induced thrombocytopenia*. 4th ed. New York, NY: Informa Healthcare USA, 2007; 67–116
114. Warkentin TE. Clinical picture of heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin TE, Greinacher A, eds. *Heparin induced thrombocytopenia*. 4th ed. New York, NY: Informa Healthcare USA, 2007; 21–66
115. Nand S, Wong W, Yuen B, et al. Heparin-induced thrombocytopenia with thrombosis: incidence, analysis of risk factors, and clinical outcomes in 108 consecutive patients treated at a single institution. *Am J Hematol* 1998; 56:12–16
115. Cruz D, Karlsberg R, Takano Y, Vora D, Tobis J. Subacute stent thrombosis associated with a heparin coated stent and heparin induced thrombocytopenia. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2003; 58(1):80–83.
117. Nasuno A, Matsubara T, Hori T, Higuchi K, Tsuchida K, Mezaki T, Tanaka T, Hanzawa K, Moro H, Hayashi J, Tanaka K, Fuse I, Aizawa Y. Acute pulmonary thromboembolism induced by prophylactic heparin use and a heparin-coated catheter: A case of heparin induced thrombocytopenia and thrombosis syndrome. *Circ J.* 2003; 67(1):96–98.

118. Rice L, Attisha WK, Drexler A, Francis JL. Delayed-onset heparin-induced thrombocytopenia. *Ann Intern Med.* 2002; 136(3):210–215.
119. Davenport A. Heparin-induced thrombocytopenia during renal replacement therapy. *Hemodialysis International* 2004; 8: 295--303
120. Gregorini G, Bellandi D, Martini G, Volpi R. [Heparin-induced thrombocytopenia syndrome and thrombosis in patients undergoing periodic hemodialysis.] *G Ital Nefrol.* 2002; 19(6):672–692.
121. Davenport A. Management of heparin-induced thrombocytopenia during continuous renal replacement therapy. *Am J Kid Dis.* 1998; 32(4):E3.
122. Wright A, Hecker J, McDonald G. Effects of low-dose heparin on failure of intravenous infusions in children. *Heart Lung* 1995;24:79-82.
123. Ranze O, Rakow A, Ranze P, Eichler P, Greinacher A, Fusch C. Low dose danaparoid sodium catheter flushes in an intensive care infant suffering from heparin-induced thrombocytopenia. *Pediatr Crit Care Med* 2001;2: 175-7.
124. Spadone D, Clark F, James E, Laster J, Hoch J, Silver D. Heparin induced thrombocytopenia in the newborn. *J Vasc Surg* 1992;15:306-11.
125. Schmugge M, Risch L, Huber AR, Benn A, Fischer JE. Heparin induced thrombocytopenia-associated thrombosis in pediatric intensive care patients. *Pediatrics* 2002;109:E10.

ÖZET

Giris ve Amaç: Heparin hızlı ve güvenilir etkinliği ile günümüzde halen antikoagulan tedavide ilk seçenek olarak kullanılan bir ajandır. Bununla beraber bazen hayatı tehdit edici olabilen çeşitli yan etkileri de vardır. Heparine bağlı trombositopeni (HIT) yüksek morbidite ve mortaliteye yol açması nedeniyle en önemlisidir. Bu tablonun en önemli özelliği trombositopeniye rağmen ağır arteriyel ve/veya venöz trombozlarla birlikte seyretmesidir. Günümüzde hematolojik habis hastalıkların tedavisinde kök hücre destekli yoğun kemoterapiler uygulanmaktadır. Bu tedavilerin uygulanabilmesi çoğul lümenli santral venöz kateterler ile mümkün olmaktadır. Bu kateterlerin tıkanmalarını önleyebilmek için lümen içi aralıklı olarak heparinli serum fizyolojiklerle yıkanmaktadır. Düşük dozlarda olsa da bazen hergün olabilecek olan heparin temasının uzun dönem santral kateterli hastalarda da HIT tablosuna neden olabilmektedir. Bu çalışmanın birincil amacı, kök hücre transplantasyonu yapılmış ve uzun dönem santral venöz kateteri olan hastalarda kateter içi bakımda kullanılan uzun süreli, düşük doz heparin ile HIT gelişme sıklığını ortaya koymaktır. İkincil amacı da HIT tanısı için laboratuvarımızda rutin olarak kullanabileceğimiz yöntemler hakkında bilgi edinmektir.

Materyel ve Metod: Kök hücre nakli amacıyla uzun dönem kalıcı santral venöz sistem kateteri yerleştirilen ve en az 2 ay süreyle kateterleri takılı kalan 25 hasta çalışmaya dahil edildi. Daha önce HIT tanısı konulan bir olguyla HIT olasılığı olan bir olgu pozitif kontrol olarak çalışmaya dahil edildi. Hastalardan kateter takılmadan önce ve kateter takıldıktan sonraki ikinci ve dördüncü haftalarında toplam 3 kez kan örnekleri alındı. Bu çalışmada ELISA yöntemi ile kalitatif anti-H:PF4 antikorları tarandı. Ayrıca akım sitometri yöntemi ile heparin-PF4 kompleksine karşı oluşmuş olabilecek antikorların heparin varlığında normal trombositleri aktive edebilme işlevleri test edildi.

Bulgular: Pozitif kontrol olarak incelediğimiz iki serum örneği ile kateterli hasta grubumuzdan 3 olguda ELISA yöntemi ile anti-H:PF4 antikorları kuvvetli pozitif saptandı. Ancak sadece HIT tanısı önceden konulmuş olan kontrol örneğinde akım sitometrik incelemeyle trombosit aktivasyonu tespit edildi. Diğer antikor pozitif örnekler de dahil olmak üzere kateterli hastalardan alınan örneklerin hiç birinde bu özellik saptanmadı. Hastalarımızın takiplerinde de kateter trombozu dahil hiç birinde tromboembolik bir olay gelişmedi. **Sonuç ve Yorum:** Heparin tedavisi ile olguların bir kısmında HIT antikorları

gelişmektedir ancak her anti-HPF4 antikor pozitif hastada HIT kliniği gelişmemektedir. Tromboembolik komplikasyonları önlemek için erken ve hızlı tanı gerekmektedir bu nedenle klinik bulguların laboratuvar incelemeleriyle desteklenmesi gereklidir. Bu konuda da akım sitometrik incelemeler kullanım kolaylığı güvenilirliği ve etkinliği ile öne çıkmaktadır.

ABSTRACT

Background and Aims: Heparin is still the most important and widely used anticoagulant agent with immediate and reliable effect, though it has some adverse effects. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is the most important complication of heparin therapy with high morbidity and mortality. Despite the low platelet count, most important feature of HIT is being a thrombotic disorder, with very high rates of thrombosis in the arteries with or without venous complications. Multiple lumen venous catheters are used during applying intensive chemotherapy methods with stem cell transplant support. Heparin solutions are usually used for maintaining patency of catheters' lumen. Despite in low doses, frequent, sometimes daily heparin contact, may cause HIT in patients with long-term multiple lumen venous catheters. The aim of this study is to investigate the frequency of HIT in bone marrow transplant units during long-term, low dose heparin administration for the patency of the long-term multiple lumen venous catheters.

Materials and Methods: Twenty five patients with long-term multiple lumen central venous catheters for stem cell transplantation during at least 2 months period were enrolled in this study. Two patients, one with confirmed HIT and one with possible HIT are also included in this study. Blood samples were collected three times; just before catheter placement, second and forth weeks. In this study, anti-H:PF4 antibody was screened with ELISA method. The ability of antibodies against heparin-PF4 complex to activate normal thrombocytes in the presence of heparin were tested by flow cytometry.

Findings: The anti-H:PF4 antibody was found to be positive in three out of 25 of our patients and two of the positive control. But we didn't find any platelet activation properties in none of the patients except the positive control patient with confirmed diagnosis of HIT. Thrombotic complication was not developed in any of our patients. Moderately positive results were found in 2 other patients by ELISA and no functional feature was detected.

Conclusion: Heparin therapy may induce HIT antibodies in some patients with long-term multiple lumen central catheters. HIT may not occur in every patient with anti-H:PF4 antibody. Early and immediate diagnosis should be established to prevent thromboembolic complications. The diagnosis of HIT should be supported by clinical and laboratory findings.

Flow cytometric evaluation of the platelet activating properties are the most reliable and effective method and can be used as a routine evaluation of these kind of patients.