

**PROJE NO: 2010-TIP-060**  
**ÇOCUKLARDA HEPARİNE BAĞLI**  
**TROMBOSİTOPENİ ( HIT-II ) SIKLIĞININ**  
**PROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**PROJE YÖNETİCİSİ**

Prof. Dr. Kaan Kavaklı

**ARAŞTIRMACI**

Dr. Gabil Mursalov

**Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD**

Faculty of Medicine  
Department of Pediatrics

**Bornova-İZMİR**  
**2012**

## **ÖNSÖZ**

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzmanlık eğitimime emekleri geçen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, kliniğimizin değerli öğretim üyeleri, uzmanları ve anabilimdalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Savaş KANSOY'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tezimin planlanması ve yönlendirilmesindeki katkılarından dolayı değerli hocam Sayın Prof. Dr. Kaan KAVAKLI'ya teşekkür ederim.

Tezimin yürütülmesi sırasında ELISA ve trombosit agregasyon testi analizlerinin yapılmasında emeği geçen laborant Basri Bilenoglu'na ve kan ürünlerinin toplanmasında destekleri olan Çocuk Yoğun Bakım ve İleri Yaşam Desteği Ünitesi hemşirelerine teşekkürü bir borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim boyunca yanımda olan sevgili asistan arkadaşlarıma, kliniğimizde beraber çalıştığımız tüm hemşire arkadaşlarıma ve personel ekibine şükranlarımı sunarım.

Asistanlığım boyunca bana her türlü desteği gösteren, sıkıntılara ortak olan can yoldaşım, eşim Deniz'e, eğitimimde beni maddi ve manevi her türlü destekleyen aileme ve yoğun çalışma günlerimde yorgunluğumu hafifleten, gülücükleri ile hayatıma neşe katan kızım Nil'e sevgilerimi sunarım.

Yurtdışı eğitimi almamda büyük katkıları olan Azerbaycan Devleti'ne, Azerbaycan Milli Eğitim Bakanlığı'na ve Türkiye Cumhuriyeti Milli Eğitim Bakanlığı'na şükranlarımı sunar, iki devlet arasındaki samimi ilişkilerin sonsuz olmasını dilerim.

Ege Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Alt Komisyonuna projemize verdikleri destek nedeniyle teşekkür ederiz.

Dr.Gabil MURSALOV

İzmir, Ağustos 2012

## **KISALTMALAR**

**ACT:** Aktive pıhtılaşma zamanı

**AK:** Arteriyel katater

**Anti-Heparin PF4:** Heparin-trombosit faktör 4 kompleksine karşı antikor (HİT antikorı)

**aPTT:** Aktive parsiyel tromboplastin zamanı

**CMV:** Sitomegalovirüs

**DIC:** Dissemine intravasküler koagulasyon (yaygın damariçi pıhtılaşma)

**DMAH:** Düşük molekül ağırlıklı heparin

**EBV:** Epstein-Barr virüsü

**EDTA:** Etilendiamintetraasetik asid

**ELİSA:** Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

**Heparin-PF4:** Heparin-trombosit faktör 4 kompleksi

**HIV:** İnsan İmmünyetmezlik Virüsü

**HİT:** Heparine bağlı trombositopeni

**HİTT:** Heparine bağlı trombositopenik tromboz

**HPLC:** Yüksek performanslı sıvı kromatografi

**HÜS:** Hemolitik Üremik Sendrom

**IVIG:** İntravenöz immunglobülin

**MPV:** Ortalama Trombosit Volümü

**PCI:** Perkütan koroner girişim

**PF-4:** Trombosit faktör 4

**Standard Heparin:** Fraksiyone olmayan klasik heparin

**SVK:** Sentral venöz kateter

**TTP:** Trombotik Trombositopenik Purpura

# **İÇİNDEKİLER**

|                                      | Sayfa |
|--------------------------------------|-------|
| GİRİŞ VE AMAÇ.....                   | 2     |
| GENEL BİLGİLER.....                  | 4     |
| * TROMBOSİTOPENİ.....                | 4     |
| * İLACA BAĞLI TROMBOSİTOPENİLER..... | 8     |
| * HEPARİN.....                       | 9     |
| * HEPARİNE BAĞLI TROMBOSİTOPENİ..... | 20    |
| GEREÇ VE YÖNTEMLER.....              | 36    |
| BULGULAR.....                        | 45    |
| TARTIŞMA.....                        | 63    |
| SONUÇLAR.....                        | 73    |
| ÖZET.....                            | 75    |
| KAYNAKLAR.....                       | 77    |

## GİRİŞ VE AMAÇ

Heparin günümüzde hem erişkinlerde hem de çocukluk yaş grubunda en sık kullanılan anti-koagulan ilaçtır. Derin ven trombozu yanında iskemik inme tedavisinde veya bazı riskli medikal veya cerrahi durumlarda profilaksi amacıyla kullanılmaktadır. Son 5 yılda düşük molekül ağırlıklı heparinler (DMAH) klinik kullanımda ön plana geçmeye başlamıştır. Ancak kardiyovasküler operasyonlarda, yoğun bakım ünitelerinde standart heparin kullanımı devam etmektedir. Heparin kullanımına bağlı gelişebilecek en sık yan etkinin heparine bağlı trombositopeni (HIT) olduğu bildirilmektedir.

Erişkin yaş grubunda yapılan çalışmalarda HIT gelişmesinin DMAH grubunda klasik heparine göre daha nadir olduğu bildirilmektedir. Ancak öncelikle tüm HIT olgularının aynı etiyo-patogeneze dayandığını söylemek doğru olmaz. HIT-I ve HIT-II şeklinde 2 farklı gruba ayrılır. HIT-I grubunda benign ve geçici bir trombositopeni mevcut olup sıklıkla heparin başlanmasından sonraki ilk 5 gün içinde karşımıza çıkar. Asemptomatik olması yanında heparine devam edilse bile trombosit sayısının 100.000/mm<sup>3</sup> altına düşmemesi tipiktir. Çalışmamızın asıl konusunu oluşturan HIT-II grubunda ise heparin başlanmasından sonraki 5.-10. günler arasında ortaya çıkan ağır ve dirençli bir trombositopeni tanımlanmaktadır.

Gelişen immunolojik reaksiyon trombositlerdeki platelet faktör-4 (PF-4) yapısı ile heparin bileşimine karşı hasta immunolojik sisteminin geliştirdiği Anti-Heparin / PF4 antikordur. Olayın fizyopatolojisinin immunolojik bir reaksiyon (anti-heparin / PF4) sonrası trombositlerin aktive olması ve endotel hasarı sonrası arteriyel ve / veya venöz tromboz gelişimidir. Trombositler bu reaksiyonda hızla tüketilmekte olup sıklıkla 40.000-60.000/mm<sup>3</sup> civarında saptanmaktadır.

Söz konusu tablonun heparin tedavisi kesilmeden düzelmesi mümkün olmadığı gibi mortalitenin oldukça yüksek olduğu göz önünde tutulmalıdır. Bu hastalarda durumun erken farkına varıp heparin dışı anti-koagulanların kullanılması hasta açısından hayati önem taşımaktadır. Hastada ortaya çıkan tablonun trombositopeni olmasına karşın tromboz ile seyretmesi ilgi çekicidir. HIT-II grubu HITT (heparine bağlı trombositopeni ve tromboz) olarak da adlandırılabilir. HIT-I tablosu ne kadar benign ve geçici ise HIT-II

tablosu o kadar ağır ve tehlikelidir. Gelişen arterial trombozlar öldürücü olabilir. Tanı klinik ve laboratuvar olarak konulabilir.

Tanı için heparin kullanımından yaklaşık 5-10 gün sonra dramatik olarak trombosit sayısının düşmesi sonrası gelişen yeni arteriyel ve / veya venöz tromboz kliniğinin gelişmesi ile tanı konur. Ayırıcı tanı için laboratuvar desteği büyük önem taşır.

ELISA testi ile anti-Heparin-PF4 antikor gelişimi gösterilebilir. Ayrıca heparin ilavesiyle hasta serumu ve donör trombositleri kullanılarak yapılan trombosit agregasyon testinde tanı amacıyla kullanılmaktadır. Klinikte HIT-II gelişme riskinin erişkin yaş grubunda klasik heparinle % 10 civarında iken DMAH kullanımı ile %1-3 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Söz konusu tablonun gelişebilmesi için çok az miktarda heparin kullanılmasının bile yeterli olabileceği bildirilmektedir. Yani katater kullanan hastalarda çok düşük dilusyonda uygulanan bir "flush" işlemi bile söz konusu reaksiyonu başlatabilir. Hasta açısından önemli olan HIT-II tanısının erken konulması ve heparin dışı farklı bir anti-koagulan tedavisine hızla geçilerek hayatı tehdit eden bu tabloya hakim olunmasıdır.

Bu çalışmanın amacı heparin profilaksisi uygulanan çocuklarda ortaya çıkan trombositopeni sıklığını ortaya koymak ve hastaları özellikle HIT-Tip II trombositopeni yönünden değerlendirmek ve HIT oluşumunda rol oynayabilecek etmenleri ortaya koymaya çalışmaktır. Bugüne kadar yapılan az sayıda çalışma genellikle erişkin yaş grubuyla ilgilidir. Çocuklarla ilgili ise sadece olgu bildirimleri ve retrospektif çalışmalar olduğu gözlenmektedir. Yaptığımız bu çalışmayla ülkemizde ilk kez çocukluk yaş grubunda HIT-II tablosunun klinik önemi prospektif bir çalışmayla ortaya konulmaktadır.

## GENEL BİLGİLER

### 1. Trombositopeni

Trombositler pıhtılaşmada önemli role sahip olan hücre sel yapılarıdır. Tüm yaş gruplarında normal trombosit sayısı 150.000-400.000/mm<sup>3</sup>tür. 1/3'ü dalakta, 2/3'ü kan dolaşımında bulunur. Yaşam süreleri ortalama 7-10 gündür. Kemik iliğindeki megakaryositlerin sitoplazmalarından ayrılan trombositler normalde 1-4 µm çapındadır. Ortalama trombosit volümü (MPV) ise 8,9 ± 1,5 µm<sup>3</sup> değerindedir. Ancak trombositler, yaşlandıkça parçalanmaya ya da granül içeriklerini ve membran proteinlerini kaybetmelerine bağlı olarak küçülürler (1,4).

Trombositopenik durumlarda ise strese bağlı eritropoeze benzer şekilde megakaryositler büyük trombositler üretirler. Trombositopenisi olan hastaya yaklaşımda özellikle öykü ve fizik muayene primer hemostaz defektini düşündürmüyorsa, öncelikli olarak düşük trombosit sayısının laboratuvar artefaktına bağlı olup olmadığı saptanmalıdır. Trombositler lökositlere yapışarak trombosit satellitleri denilen kümeler oluşturabilirler.

Kan alınırken trombositlerin aktivasyonuna, enjektör ya da tüpte trombositlerin agregasyonuna, EDTA'ya (etilendiamintetraasetik asid) bağlı trombositlerin in vitro aglütinasyonuna, megatrombositlerin sayılamamasına ya da trombosit glikoprotein reseptörlerine bağlanan abciximab, eptifibatide, tirofiban gibi monoklonal antikorlara bağlı psödotrombositopeni görülebilir. EDTA'ya bağlı psödotrombositopenide etken, sadece bu antikoagülanın varlığında kriptik trombosit antijenine karşı gelişen Ig G ya da Ig M yapısındaki antikorlardır. Sitrat, oxalat ya da heparin gibi farklı antikoagülanlar kullanılarak ya da parmak ve topuktan alınan örneğin periferik yayması incelenerek EDTA'ya bağlı psödotrombositopeni kanıtlanabilir (5,6).

Psödotrombositopeni görülme sıklığı erişkin hastalarda % 0,9-2 'dir ve çocuklarda daha az sıklıkta görülmektedir. İleri tetkik ve tedavi gerekli değildir. Atlanması gereksiz tetkik, tedavi ve maliyete neden olur. Trombositopeniye bağlı kanamalar tipik olarak deri ve mukozaları tutar; peteşi, purpura, ekimoz, epistaksis, hematüri, menoraji ve gastrointestinal kanama şeklinde görülür. İntrakraniyal kanama ise çok nadir görülmektedir. Trombositopenisi olan çocuk hastalar sıklıkla peteşi, purpura ve

epistaksis ile başvururlar. Trombositopeni; trombositlerin yetersiz yapımına, aşırı yıkımına ya da anormal dağılımına (dalakta göllenme) bağlı olabilir (7).

Çocukluk çağında görülen trombositopenilerin etyolojik sınıflandırılması Tablo 1’de gösterilmiştir. Çocuklarda trombositopeninin ayırıcı tanısı seçilecek tedaviyi doğrudan etkileyeceğinden önemlidir. Trombosit yıkımına bağlı trombositopeniler, immun ve immun olmayan trombositopeniler olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar. Genellikle diğer kan hücre elemanları normal sayıda bulunur ve periferik yaymada büyük trombositler görülür. Kemik iliğinde ise normal ya da artmış sayıda megakaryositler saptanır.



**Tablo 1. Çocuklarda Trombositopeninin Patofizyolojik Sınıflandırılması (1)**

---

**I. Artmış Trombosit Yıkımı**

(kemik iliğinde normal yada artmış megakaryositler-megakaryositik trombositopeni)

**A. İmmun trombositopeniler**

1. İdiyopatik

- a. İmmun (idiyopatik) trombositopenik purpura

2. Sekonder

- a. İnfeksiyonun indüklediği (örn; HIV, CMV, EBV, suçiçeği, kızamık, kızamıkçık, kabakulak, boğmaca, hepatit, parvovirüs B19; bakteriyel-tüberküloz, tifo)
- b. *İlaça bağlı (HIT-II)*
- c. Transfüzyon sonrası purpura
- d. Otoimmün hemolitik anemi (Evans sendromu)
- e. Sistemik lupus eritematozus
- f. Hipertiroidizm
- g. Lenfoproliferatif hastalıklar

3. Neonatal immün trombositopeniler

- a. Neonatal otoimmün trombositopeni
- b. Neonatal alloimmün trombositopeni
- c. Eritroblastosis fetalis – Rh uygunsuzluğu

**B. İmmun olmayan trombositopeniler**

1. Trombosit tüketimine bağlı

- a. Mikroanjyopatik hemolitik anemi: HÜS, TTP
- b. Dissemine intravasküler koagülasyon
- c. Virüse bağlı hemofagositik sendrom
- d. Kasabach-Merritt sendromu (dev hemanjiom)
- e. Siyanotik kalp hastalıkları

2. Trombosit yıkımına bağlı

- a. İlaçlar (örn; ristosetin, protamin sülfat, bleomisin, HIT-I)
- b. İnfeksiyonlar
- c. Kardiyak (örn; intrakardiyak defektlerin tamiri, prostetik kalp kapakları, sol ventriküler çıkış obstrüksiyonu)
- d. Malign hipertansiyon

**II. Trombosit Dağılım Bozuklukları ve Göllenme**

**A. Hipersplenizm** (örn; portal hipertansiyon, Gaucher, siyanotik konjenital kalp hastalıkları, infeksiyon, neoplazi)

**B. Hipotermi**

---

### **III. Azalmış Trombosit Üretimi-Etkisiz Trombopoez (kemik iliğinde azalmış ya da eksik megakaryositler - amegakaryositik trombositopeni)**

#### **A. Megakaryositlerin baskılanması ya da hipoplazi**

1. İlaçlar (örn; klorotiazid, östrojenler, etanol, tolbutamid)
2. Konstitüsyonel
  - a. TAR sendromu
  - b. Konjenital amegakaryositik trombositopeni
  - c. Amegakaryositik trombositopeni ile radio-ulnar sinostosis
  - d. Trombositopeni-korpus kallosum agenezisi sendromu
  - e. Paris-Trousseau sendromu
  - f. Rubella sendromu
  - g. Trizomi 13 ve 18
3. Etkisiz trombopoez
  - a. Megaloblastik anemiler (folat ve vitamin B12 eksikliği)
  - b. Ağır demir eksikliği anemisi
  - c. Ailesel trombositopeniler
  - d. Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri
4. Kontrol mekanizması bozuklukları
  - a. Trombopoezin eksikliği
  - b. Tidal trombosit disgenezisi
  - c. Siklik trombositopeniler
5. Metabolik bozukluklar
  - a. Metilmalonik asidemi
  - b. Ketotik glisinemi
  - c. Holokarboksilaz sentetaz eksikliği
  - d. İsovalerik asidemi
  - e. İdiyopatik hiperglisinemi
  - f. Hipotiroid annelerden doğan çocuklar
6. Hereditör trombosit bozuklukları
  - a. Bernard-Soulier sendromu
  - b. May Hegglin anomalisi ve diğer MYH-9 geni ile ilişkili hastalıklar
  - c. Wiskott-Aldrich sendromu
  - d. Saf sex-linked trombositopeni
  - e. Mediterranean trombositopeni
7. Edinsel aplastik bozukluklar
  - a. İdiyopatik
  - b. İlaçların indüklediği  
(örn; doz ilişkili: antineoplastik ajanlar, benzen, organik ve inorganik arsenik, mesantoin, tridion, antitiroidler, antidiabetikler, antihistaminikler, fenilbutazon, insektisidler, altın bileşikler, idiyosenkrazi: kloramfenikol)
  - c. Radyasyonun indüklediği trombositopeni
  - d. Viral infeksiyonlara bağlı (HIV, EBV, hepatit)

#### **B. Kemik iliğini infiltrate eden durumlar**

1. Benign (osteopetroz, depo hastalıkları)
2. Malign (de novo- lösemi, myelofibroz, Langerhans hücreli histiyositoz, sekonder lenfoma, nöroblastom, diğer solid tümör metastazları)

## İLACA BAĞLI TROMBOSİTOPENİLER

Bir çok ilaca bağılı olarak gelişen ilaca bağılı trombositopeni olguları tanımlanmıştır. Söz konusu ilaçlar ve etkili olan mekanizmalar Tablo' 2. de gösterilmiştir. Heparine bağılı olarak gelişen trombositopeni hastanede yatan hasta çocuklar arasında görülen trombositopeniler arasında küçük bir grup oluştururken ilaca bağılı trombositopeniler arasında ilk sıralarda yer almaktadır (8,9).

Heparine bağılı gelişen trombositopeni ilaca bağılı olarak gelişen ciddi bir advers reaksiyon olarak tanımlanabilir. Çünkü bu olay nadir olarak rastlanmakla birlikte % 25-30 sıklıkta mortaliteyle sonuçlanan ciddi bir medikal tablo olması nedeniyle klinik önem taşımaktadır (10).

Çalışmamızın asıl konusunu oluşturan trombositopeni nedeni, sekonder immun trombositopeniler grubunda yer alan HIT-II sendromudur. HIT-II sendromunda heparin başlanmasından sonraki 5.-10. günler arasında ortaya çıkan ağır ve dirençli bir trombositopeni tanımlanmaktadır. Gelişen immunolojik reaksiyon trombositlerdeki platelet faktör-4 (PF-4) yapısı ile heparin bileşimine karşı hasta immunolojik sisteminin geliştirdiği Anti-Heparin / PF4 antikorudur. Olayın fizyopatolojisinin immunolojik bir reaksiyon (anti-heparin / PF4) sonrası trombositlerin aktive olması ve endotel hasarı sonrası arteriyel ve / veya venöz tromboz gelişimidir. Trombositler bu reaksiyonda hızla tüketilmekte olup sıklıkla 40.000-60.000/mm<sup>3</sup> civarında saptanmaktadır (10).

**Tablo 2. İlaça bağlı trombositopenilerde farklı patolojik mekanizmalar ve HİT (8)**

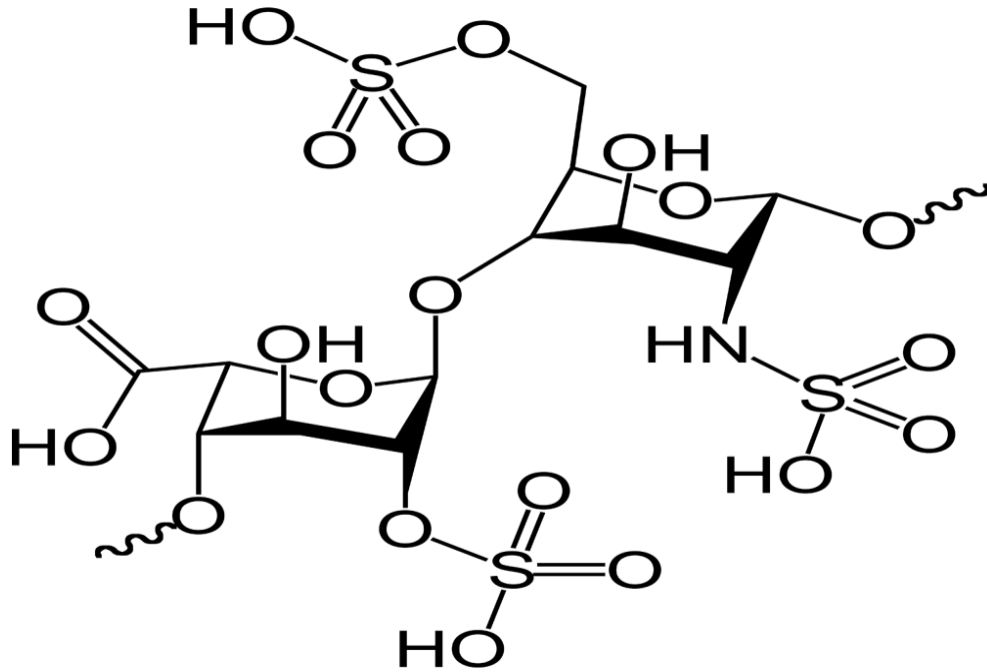
| Tip                          | Mekanizma  | Klinik Örnek   |
|------------------------------|--|----------------|
| Hapten ile uyarılmış antikor | İlaç molekülü hapten gibi bağlanarak antikor oluşturur   | Penisilinler   |
| İlaça bağımlı antikor        | İlaç metaboliti immunojendir   | Kinin, kinidin |
| GPIIb/IIIa inhibitörleri     | İlaç reseptörlere bağlanır   | Tirofiban      |
| İlaça spesifik antikor       | Kimerik monoklonal antikor   | Abciximab      |
| İlaçla uyarılan oto-antikor  | İlaçtan bağımsız antikorlar  | Altın tuzları  |
| <b>İmmun kompleksler</b>     | İlaç PF4 ile immünolojik kompleks yapar ve antikor bu komplekse bağlanarak trombositleri aktive eder | <b>Heparin</b> |

## 2. Heparin

### Standart heparinler ve Heparin 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 (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 siğir akciğer dokusundan elde edilir (10).



**Şekil 1. Heparin' in kimyasal yapısı**

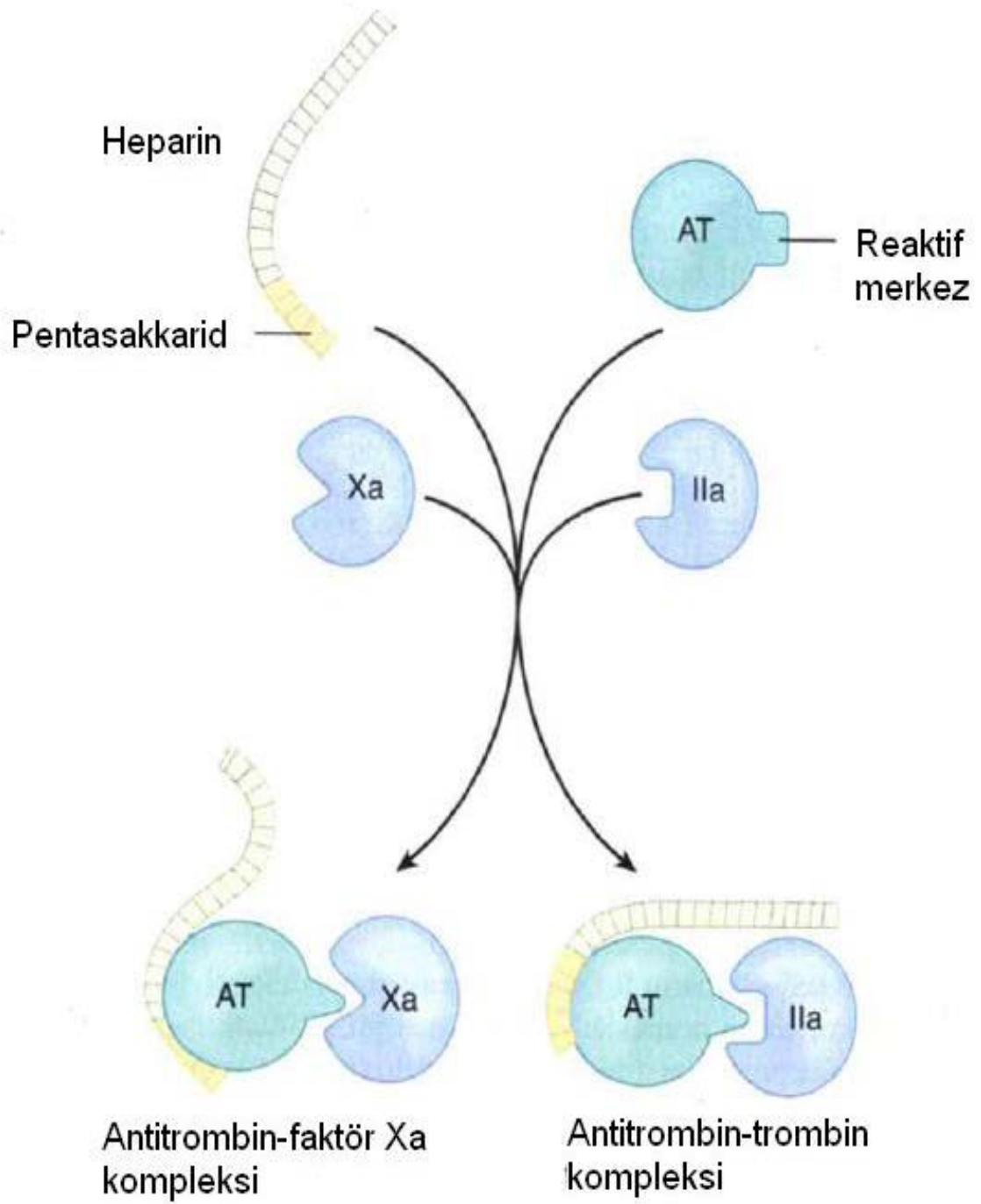
Heparin, antikoagulan etkisini antitrombin üzerinden sağlar. Antitrombin karaciğerde sentezlenen 58,000 dalton ağırlığında, tek zincirli polipeptit yapısında doğal bir antikoagulandır ve sadece heparin varlığında trombinin hızla inhibe eder. Bir serin proteaz inhibitörü olan antitrombin, trombin, faktör Xa ve IXa gibi intrinsek ve ekstrinsek sistemin aktive pıhtılaşma faktörlerini inhibe eder ancak faktör VIIa üzerine nisbeten çok küçük bir inhibitör etkisi vardır. 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 (Şekil 2) (10,11).

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. 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 trombini inhibe de edemez. 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 antirombinin 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. Heparinin, heparin kofaktör II'nin etkisini artırılabilmesi için de en az 26 sakkarid ünitesinden oluşan heparin zincirleri gerekir. Bu da 7800 moleküler ağırlığına denk gelmektedir. Daha uzun heparin zincirleri kısa zincirlere göre heparin-kofaktör II'yi daha iyi aktive eder. Daha uzun zincirler heparin-kofaktör II'nin bağlaması yanında aynı zamanda üçlü bir kompleks oluşturmak için trombini de bağlayabilmektedir (8,10).

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. Bu nedenle heparin'in heparin kofaktör II için afinitesi antitrombinden çok daha azdır. Heparin ancak plazmada normal miktarlarınının 10 katından yüksek konsantrasyonlarda heparin-kofaktör II üzerinden trombin inhibisyonunu hızlandırabilir.



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, dolaşımında heparin antitrombin dışında diğer bazı plazma proteinleri ile de bağlanmaktadır. Bu proteinlerinin bir kısmı akut-faz reaktanı olarak etki gösteren proteinlerdir ve altta yatan hastalığa bağlı olarak değişik düzeylerde bulunabilirler. Bu durum heparinin antikoagulan aktivitesini de olumsuz olarak etkileyebilir. Yine tromboz sırasında aktive olan trombositlerden platelet factor-(PF4) salgılanır (8-10).

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. Heparin bunlar dışında endotel hücrelerine ve makrofajlara da bağlanır. Bu durum heparinin farmakokinetik-farmakodinamik profilini de karmaşılaştırır. Bu bağlanma hızlı doyan temizlenme fazını oluşturur. Yavaş temizlenme fazı ise renal ekskresyon ile oluşur. Düşük doz heparin ile, temizlenme yalnızca hızlı doyan mekanizma ile sağlanır. Heparinin farmakokinetik ve biyofiziksel özellikleri Tablo 3'de özetlenmiştir. Antikoagulan etki, düşük doz heparin ile lineer değildir. Çünkü hücresel bağlanma bölgeleri heparin dolaşıma girmeden ve antitrombin ile etkileşmeden önce doyurulur (8-10).

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. 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.

**Tablo 2. Heparinin farmakokinetik ve biyofiziksel dezavantajları**

| <b>Özellikler</b>  | <b>Mekanizma</b>   |
|--|--|
| - Düşük dozda kötü biyoyararlanım  | - Endotel ve makrofajlara bağlanma   |
| - Doza bağımlı temizlenme  | - Makrofajlara bağlanma  |
| - Değişken antikoagulan cevabı   | -Heparin bağlayan plazma proteinlerinin kişiden kişiye değişkenliği  |
| -Trombositten zengin trombus çevresinde azalan aktivite  | -Aktive trombositlerden salınan PF4'ün heparini nötralize etmesi   |
| -Fibrine bağlı trombin ya da protrombinaz kompleksi ile bağlı faktör Xa' ya karşı sınırlanmış aktivite | -Heparin antitrombin kompleksinin aktive trombositlere bağlı faktör ve fibrine bağlı trombini 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 (10). 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 sitratlı kan örneklere alınarak laboratuvarlarda çalışılır. aPTT testi için kullanılan yöntem sonuçları etkileyebileceği gibi aPTT testinin heparine hassaslığı da değişiklikler gösterebilir. Bu nedenle her laboratuvarın heparin tedavisi gören hastalardan toplanan plazma örneklere kullanarak bir referans aralığı oluşturması ve tedaviyi buna göre kararlaştırması önerilir. Bu yöntemle etkin bir tedavi için kontrol aPTT düzeyini 1.5-2.5 kat uzatacak şekilde heparin dozu ayarlanmaktadır. Fakat rneğin 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 rneği ile çalışılması ve yüksek heparin dozlarından olumsuz etkilenmemesi en önemli özellikleridir.

Anti-faktör Xa testi de heparin tedavisinin takibinde kullanılabilir bir diğer yöntemdir. Aslında daha çok düşük molekül ağırlıklı heparinlerin takibinde kullanılması önerilen bu testler henüz standardize edilmedikleri ve laboratuvardan 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. Bu tür hasta guruplarının takibi anti-faktör Xa düzeyleriyle yapılmalıdır. Çünkü aPTT düzeyleri etkin düzeylerin altında olan çoğu hastada anti-faktör Xa düzeylerinin terapdik düzeyde olduğu tespit edilebilmektedir. Buradaki uyumsuzluğun akut faz proteinleri olan fibrinojen ve faktör VIII'nin artması nedeniyle aPTT'nin kısalmasından kaynaklandığı anlaşılmıştır. Bu şekilde heparin direncinden şüphelenilen hastalarda en iyi takip yönteminin aPTT ile değil anti-faktör Xa ile olacağı bildirilmektedir

## **Düşük Molekül Ağırlıklı Heparinler (DMAH)**

Heparinin antikoagulan etkinliğindeki değişkenlik ve takibindeki güçlükler daha kullanışlı ve etkili antikoagulanların araştırılmasına yönelmiştir. 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 (8,9).

DMAH cilt altı uygulanmalarının biyoyararlanımı standart heparinlerden daha iyidir. Bunun en önemli nedeni DMAH' lerin endotel hücrelerine ve makrofajlara karşı afinitelerinin daha az olmasıdır. Yine DMAH' ler plazmadaki heparin bağlayan proteinlere de daha az bağlanırlar. Plazmadan temizlenmeleri dozdan bağımsızdır ve yarı ömürleri de daha uzundur. Bu nedenle uygulanan dozların etkinlikleri de daha kolay tahmin edilebilmektedir.

Tüm bu özellikleri nedeniyle günde bir ya da iki kez antikoagulasyon takibi yapılmadan subkutan olarak uygulanabilirler. DMAH' lerin polisakkarid yapıları heparinden daha kısa olduğu için böbreklerden tamamen atılırlar. Bu nedenle böbrek yetersizliği olan hastalarda ilacın birikebileceği unutulmamalıdır. 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.

### **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 antikoagulan seviyesinin görüntülenmesi önerilmektedir çünkü bu gereksinimler özellikle hamileliğin üçüncü trimesterinde değişebilir. 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. Tablo 4'de standart heparin ile düşük molekül ağırlıklı heparinlerin karşılaştırması özetlenmiştir (8-10).

**Tablo 4. Standart heparin ve düşük molekül ağırlıklı heparin karşılaştırması**

| <b>Standart heparin</b>                      | <b>Düşük molekül ağırlıklı heparin</b>              |
|--|---|
| Plazma proteinlerine nonspesifik bağlanır    | Nonspesifik bağlanması yoktur                       |
| Yarı ömrü kısadır                            | Yarı ömrü uzundur                                   |
| İlaç dozu arttıkça plazma yarı ömrü artar    | Plazma yarı ömrü stabildir                          |
| PF-4' ile bağlanır                           | PF-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 ise sırasıyla 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. 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 anafilaktik reaksiyonlar ortaya çıkabilir. 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. 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 (8).

### 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/mm<sup>3</sup> den aşağıya düştüğü, genellikle kendiliğinden düzelen bu durumda heparinin kesilmesine veya ek bir tedaviye ihtiyaç olmayan selim bir tablodur. Tanımlanan ve immünolojik olmayan bu trombosit yıkımı HIT-I olarak tanımlanır (8-12).

Heparine bağlı “immünolojik” yolla oluşan ciddi bir trombositopeni tablosu daha vardır. Bu tablonun en önemli özelliği trombositopeniye rağmen arteriyel ve venöz trombozlara yatkınlık yaratmasıdır. Günümüzde HİT-II olarak adlandırdığımız ve tezimizin de konusu olan bu tablodan aşağıda ayrı bir başlık halinde ayrıntılı olarak bahsedilecektir (8-12).

### **c) Osteoporoz**

Bir aydan uzun süren heparin tedavilerinin kemik yoğunluğunda ciddi bir azalmaya yol ağtığı bilinmektedir. Bu komplikasyon uzun dönem heparin tedavisi alan hastaların %30’unda saptanmıştır. 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. Başka bir çalışmada, 3-6 ay arasında günde 2 kez 10,000 Ü subkutan heparin verilen 40 hastanın 6’sında spinal fraktürler saptanmıştır (9,10).

Bazı in vitro çalışmalar heparinin kemik yapımını azaltıp, kemik rezorpsiyonunu artırarak osteoporozu neden olduğunu göstermektedir. 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.

Osteoporoz riski, uzun dönem DMAH kullanımında standart heparine oranla daha düşüktür. Uzayan tedavilerde, bu yüzden, düşük HİT ve osteoporoz riski yüzünden DMAH, standart heparine göre daha iyi bir seçenektir (8,9).

### **d) Transaminaz düzeylerinde artış**

Tedavi dozlarında heparin, bilirubin düzeylerini etkilemeksizin transaminaz düzeylerinde hafif bir artışa neden olabilir. İlaç kesildiğinde transaminaz seviyeleri hızlı bir şekilde normale döner. Bu durumun mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (10).

## HEPARİNE BAĞLI TROMBOSİTOPENİ (HİT-II)

HİT tablosu heparin tedavisinin morbidite ve mortalitesi en yüksek komplikasyonudur. Çalışmalar standart heparin kullanılan erişkin hastaların %1-5'inde HİT geliştiğini ortaya koymaktadır. Çocuklarda ise az sayıda çalışma olmakla birlikte % 1-2.4 oranında sıklık bildirilmektedir. Birçok hastanın tanısının konamadığı da tahmin edilmektedir. HIT tablosunun farklı hastalardaki sıklığı Tablo 5' den izlenebilir. HİT oluşumuna katkıda bulunan farklı risk faktörleri ise Tablo 6' da özetlenmiştir (13,14).

**Tablo 5. Literatürde HİT risk faktörleri ve HİT sıklığı**

| Hasta grubu               | Bildirilen sıklık (%)                   |
|---------------------------|---|
| <b>Cerrahi nedenler:</b>  |   |
| Kardiyo-vasküler cerrahi  |   |
| Erişkinler:               | % 1 - 2.4                               |
| Çocuklar:                 | % 1.3                                   |
| Kardiyak transplantasyon  | % 11                                    |
| Ortopedik cerrahi         | % 4.8 (heparin ile)<br>% 0.6 (DMAH ile) |
| <b>Medikal nedenler:</b>  |   |
| Kardiyovasküler hastaları | % 0.3                                   |
| Yoğun Bakım hastaları     | % 0.4                                   |
| Hemodiyaliz hastaları     | % 3.2                                   |
| Yenidoğan bebekler        | % 0.5-1                                 |

**Tablo 6. HIT tablosu gelişiminde etken olan risk faktörleri ve kıyaslaması**

| <b>Risk Faktörleri</b>                      | <b>Odds Oranı (Risk artış yüzdesi)</b> |
|---|--|
| Heparin uygulama süresi (>1 hafta / <1 gün) | Yaklaşık 20-100                        |
| Heparin tipi (Klasik Heparin > LMW-Heparin) | Yaklaşık 10-15                         |
| Hastalık tipi (Cerrahi > Medikal)           | Yaklaşık 3-4                           |
| Cinsiyet farkı (Kadın > Erkek)              | Yaklaşık 1.5 – 2                       |

HİT komplikasyonu özellikle kardiyovasküler veya ortopedik 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. Aslında heparin tedavisinin ve profilaksisinin ne kadar sık kullanıldığı düşünüldüğünde heparinin tek başına ilaca bağlı immun trombositopenilerin en sık nedenini oluşturduğunu da söyleyebiliriz (14,15).

Profilaksi 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 süreye 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/mm<sup>3</sup>'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/mm<sup>3</sup> civarında olduğu anlaşılmaktadır. Yani HİT tablosu "orta dereceli trombositopeniye" neden olur. Bu da postoperatif veya başka sebeplerle heparin kullanılan 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 arteryel hem venöz trombozlar görülebilmektedir. Arteryel trombozların bir özelliği de diğer arteryel tromboz durumlarından farklı olarak koroner veya serebral arterlere değil de özellikle kol ve bacak arterlerini tercih etmesidir. Bunun nedeni de henüz anlaşılamamıştır (8-10).

Bu özellikleri nedeniyle pek çok hastada arteryel trombozlar kol ve bacak amputasyonlarıyla sonuçlanabilmektedir. Heparin tedavisi sırasında böyle bir tablonun gelişebileceğini bilmek ve belirtilerini takip etmek son derece önemlidir.

## **HİT Patogenezi**

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

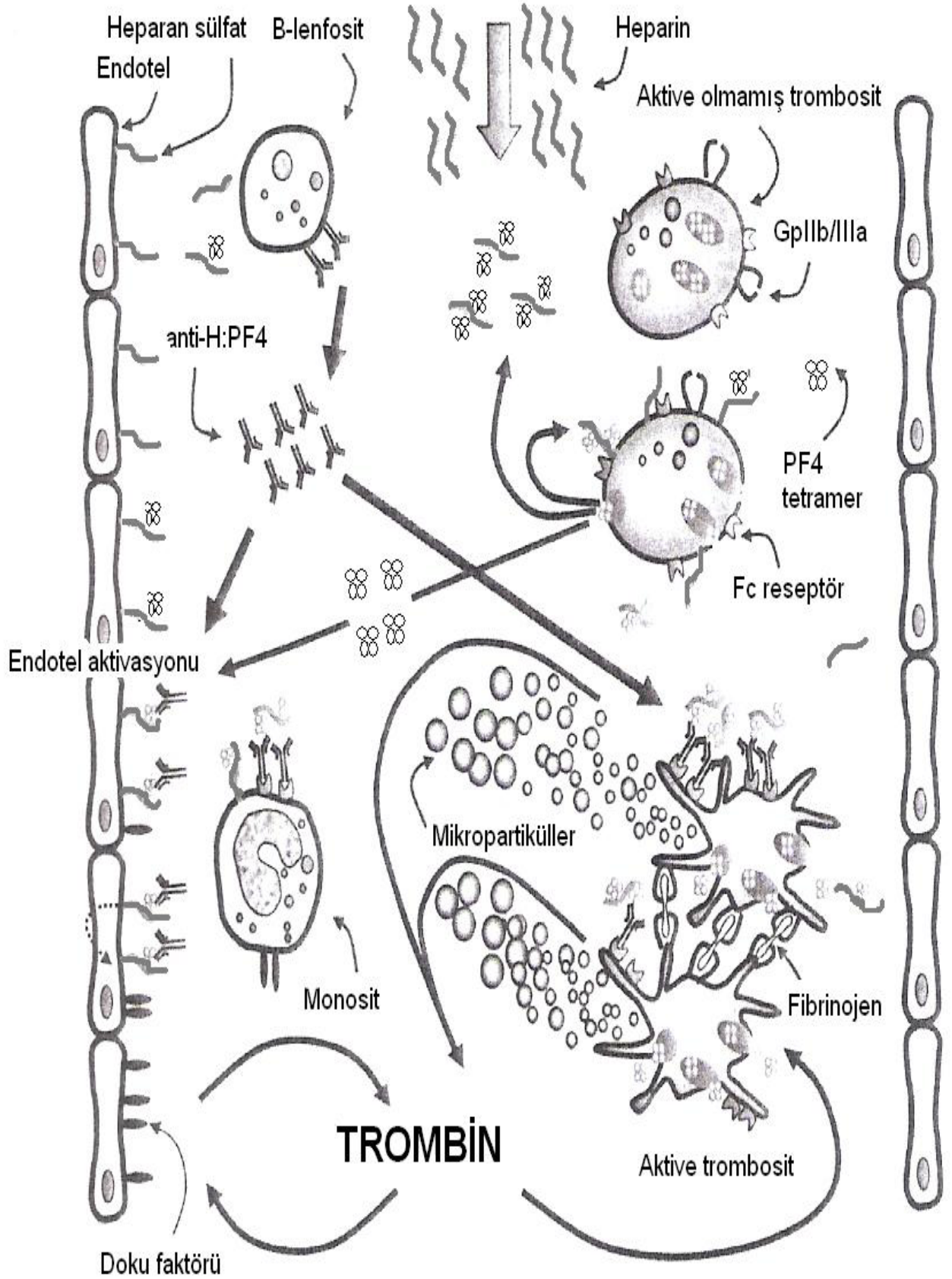
HİT'e Fc $\gamma$  IIa reseptörleri ile trombositleri aktive eden heparine bağımlı IgG tipinde antikorlar neden olmaktadır. İmmun cevap Heparin-PF4 (HPF4) kompleksine karşı gelişir. PF4, trombosit alfa granüllerinde bulunan, işlevleri tam olarak bilinmeyen pozitif yüklü, polipeptid yapısında moleküllerdir. 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. 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. HİT antikoru ayrıca interlekin-8 ve nötrofil aktive edici peptid-2 gibi PF4 ile ilişkili kemokinleri de tanıyabilir. 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 antikolar üretseler de, bu antikoların HİT'e neden olmaları olası değildir. Son yıllarda elde edilen önemli bir bilgi de süperaktif anti-H:PF4 antikorunun trombosit aktivasyon ve agregasyon için heparine ihtiyaç duymadığı şeklindedir. Yine H:PF4 antikoru 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) (8-10).

Patogenezdeki 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.

Damar içi trombin yapımının uyarılması ağır protein C depresyonuna yol açar ki, bu durum da edinsel protein C eksikliği ile tromboza eğilimi artırır. Bu durum venöz trombozlar yanında warfarinle ilişkili doku nekrozu ve yaygın damar içi pıhtılaşması gibi mikrovasküler trombozlara neden olmaktadır.

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



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/mm<sup>3</sup> arasında değiştiği görülmektedir. Trombosit sayısının akut olarak 10.000/mm<sup>3</sup> altına düştüğü durumlarda HİT'den uzaklaşılmalıdır. Bu şekilde HİT'e bağlı ağır trombositopeni gelişen nadir durumlarda DIC ve eritrosit fragmentasyonunun tabloya eşlik ettiği görülmüştür. Trombosit sayısının düşmesi genellikle heparin tedavisinin 5-9. gününde daha nadiren 14 gün sonrasında gözlenir. Daha önceden bir immunizasyon yoksa 4 günden önce görülen trombositopenilerde HİT tanısından uzaklaşılmalıdır. Trombosit sayısının 150.000/mm<sup>3</sup> 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 (10-14).

HIT tablosunun acil ve erken tanı konması gereken ciddi bir medikal sorun olduğu dikkate alınmalıdır. Hastaya tanı konmadığı ve heparin uygulamasının devam ettiği durumlarda yeni gelişen trombo-emboliler sonucu mortalite kaçınılmaz olabilir. Bu nedenle klinik bulgulardan ve hastanın trombosit sayısının azalma zamanlamasından yola çıkan klinik skalaların kullanılması büyük önem taşımaktadır. Tablo 7' de izlenen 4T skalası yardımıyla HIT olasılığı yüksek olan hastalar rahatlıkla kestirilebilir.

**Tablo 7. HİT olasılığının klinik olarak kestirilmesi: 4 T Skalası (17)**

| <b>Kategori</b>                         | <b>2 puan</b>  | <b>1 puan</b>                                      | <b>0 puan</b>                            |
|---|--|--|--|
| Trombositopeni                          | Başlangıç değerine göre >%50 azalma veya <20.000/mm <sup>3</sup> | %30-50 arası azalma veya 10-19.000/mm <sup>3</sup> | <%30 azalma veya <10.000/mm <sup>3</sup> |
| Trombosit sayısının azalma zamanlaması  | Heparin sonrası 5.-10.günlerde                                   | Belirlenemeyen veya >10 gün sonrası                | 4 günden önce başlar                     |
| Tromboz                                 | Kanıtlanmış prognoz veya deri nekrozu                            | Progresif,nükseden veya sessiz tromboz             | Yok                                      |
| HİT dışı diğer trombositopeni nedenleri | Delil yokluğu  | Olası  | Kesin                                    |

## **HİT komplikasyonları**

HİT gelişen hastaların en az %50'sinde, HİT ile ilişkili tromboz oluşur. 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 enjeksiyonunun ardından ağrılı dermal eritem ve enjeksiyonunun yapıldığı yerde nekroz ve akut inflamasyon ortaya çıkabilir. Bu durumda HİT habercisi olarak kabul edilmelidir. Bu trombozların neden özellikle ekstremiteleri tuttuğu konusu henüz aydınlatılmış değildir. HİT ile ilişkili komplikasyonlar Tablo 8' de özetlenmiştir (18,19).

## Tablo 8. HİT Komplikasyonları

---

### Venöz Tromboz

- Derin ven trombozu
- Pulmoner embolizm
- Serebral ven trombozu
- Adrenal hemoraji

### Arteriyel Tromboz

- Ekstremitte arterleri
- Serebral infarktlar

### Mikrovasküler Trombozlar

- Kumadin nekrozu
  - Ağır DİK (Dissemine İntravasküler Koagulopati)
- 

## HİT Tanı Kriterleri ve Laboratuvar Tetkikler

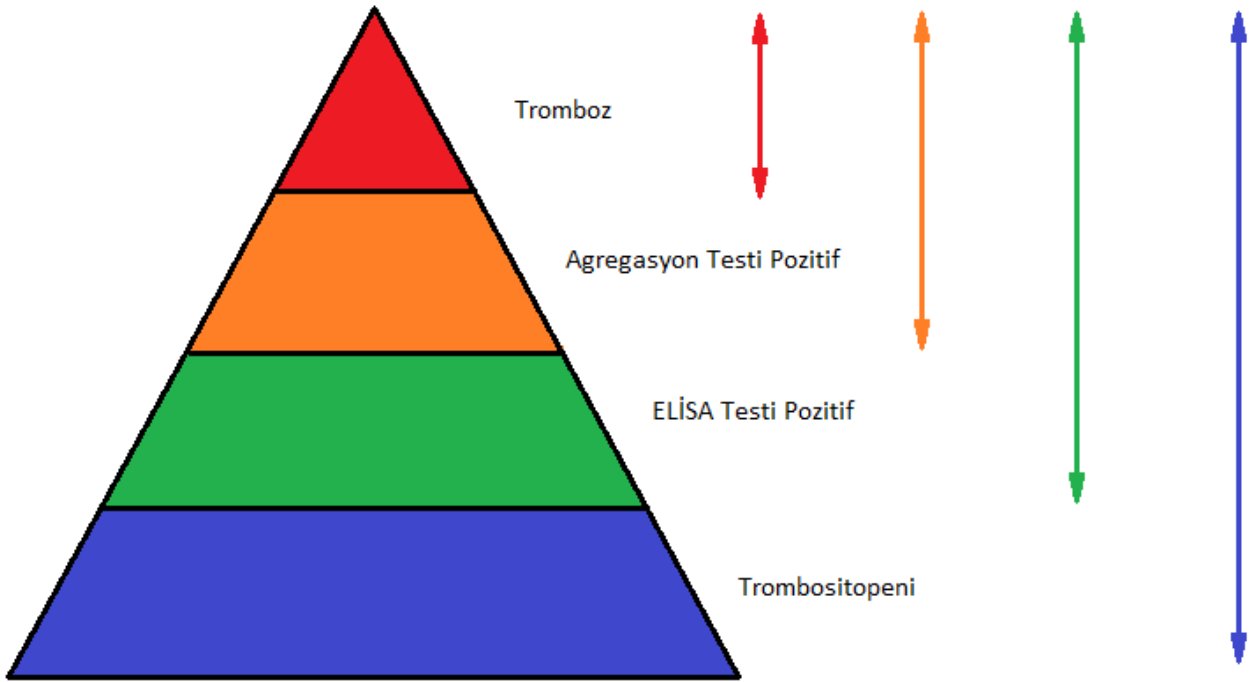
Günümüzde HİT tanısı çeşitli laboratuvar testleri ile desteklenen klinik verilere göre koyulmaktadır. HİT tablosunun gelişmesindeki ana sorumlu Heparin-PF4 kompleksine karşı gelişen antikörlerin bu komplekse bağlanarak trombositleri aktive etmeleridir. Laboratuvar desteği için bu iki durumun da ortaya konulması son derece önemlidir. Laboratuvar incelemeleri de temel olarak bu iki durumu ortaya koymayı amaçlar (20-22).

1. Serumdaki anti-Heparin-PF4 antikörlerini saptayan fonksiyonel olmayan testler:  
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

Söz konusu laboratuvar testleri ve trombositopeninin HİT tanısındaki yerini daha iyi anlayabilmek için Warkentin'in (10-12) tanımladığı Aysberg yaklaşımını incelemekte büyük yarar vardır. Şekil 4' de izlendiği gibi bir çok hastada trombositopeni izlenebilir. Ancak gerçek anlamda HİT tanısı koymak için yani tromboz komplikasyonu gelişen trombositopenili hastada yukarıda tanımlanan spesifik testlerin yani ELISA ve Agregasyon testlerinin de yapılması gerekir. Söz konusu testlerin acil klinik yaklaşımdan çok tanının konfirmasyonu ve akademik kaygılarla yapıldığı bilinmektedir.



**Şekil 4. Heparine bağlı trombositopenide aysberg yaklaşımı**

**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. HİT antikorlarını ortaya koymada da en sık bu yöntemden yararlanır. 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 (18-22).

## **FONKSİYONEL TESTLER:**

### **Serotonin salınım testi (SRA):**

Hastanın serumunda anti-Heparin-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. Primer veya sekonder olarak patogenezinde trombosit aktivasyonu içeren patolojik durumların tanı ve takibinde trombosit aktivasyonunu belirleyen altın standart test serotonin salınım testidir (10) Serotonin trombositlerde delta granüllerinde depolanmış olarak bulunur ve trombosit aktivasyonu sırasında ortama salınır. Serotonin salınımı, HPLC (High Performance Liquid Chromatography), ELİSA ve radyoaktif <sup>14</sup>C işaretli metodlarla değerlendirilmektedir. Her bir metodun kendine özgü olumlu ve olumsuz yanları mevcuttur. Bunların arasında duyarlılığı ve özgüllüğü ile en öne çıkanı radyoaktif karbon 14 (<sup>14</sup>C) 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 (10-12).

### **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. Diğer aktivasyon testlerine göre daha kolay bir yöntemdir. Ancak daha az duyarlı bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Negatif sonuç elde edildiğinde HİT tanısından uzaklaşmamalıdır. Aynı yöntemin yıkanmış trombositlerle yapılması duyarlılığını arttırsa da teknik olarak daha zahmetli bir yöntemdir.



## **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-Heparin-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-selektin, trombosit depo granüllerinden hücre yüzeyine mobilize edilir. Aktive trombositlerin yüzeyindeki p-selektin ekspresyon yoğunluğunun HİT hastalarında tromboz riski ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir. Aktive trombositler ve bunlardan kopan mikropartiküller membran fosfolipidlerini açığa çıkarırlar. Membran fosfolipidleri annexin-V molekülüne yüksek afinite ile bağlanırlar.

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 ayırddedilebilir.

Fonksiyonel ve fonksiyonel olmayan testlerin HİT'in laboratuvar tanısında birbirlerini tamamlamaları sebebiyle, serumda Heparin-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 (10,11). Ancak günlük pratikteki kullanımı sınırlıdır.

## HİT' in Tedavisi ve HİT' den Korunma

Yukarıda tanımlandığı gibi HİT tanısı öncelikle klinik olarak konulur ve daha sonra laboratuvar olarak konfirme edilmeye çalışılır. Yani acil olarak konulacak HİT tanısı ile klinisyenin bazı acil aksiyonlara girişmesi gerekir. Bu aksiyonların en başındaki heparin uygulamasının derhal kesilmesidir. Diğer aksiyonlar Tablo 9'da da sıralanmaktadır.

**Tablo 9. HİT ön tanısı alan hastanın yönetimi ve tedavisi (17)**

---

1. Öncelikle Heparin uygulaması kesilmelidir.
  2. Trombosit sayısı çok düşük bile olsa Trombosit süspansiyonları uygulaması ciddi hemoraji haricinde uygulanmamalıdır.
  3. Hemen antikoagulan etki amacıyla heparin dışı antikoagulan tedavi başlatılmalıdır (Hirudin veya Argotroban). Ancak söz konusu ilaçlar Türkiye'de piyasada olmadığı için Fondaparinux tercih edilebilir.
  4. Trombosit sayısı normal sayıya ulaştıktan sonra oral anti-koagulan tedaviye geçiş yapılabilir.
  5. Tromboz komplikasyonları ortaya çıktığı takdirde yukarıdaki önlemlere ilaveten trombolitik tedavi, trombektomi veya vena cava filtreleri denenebilir.
  6. Evvelce HİT tablosu gelişmiş olan hastalara ise parenteral antikoagulan olarak heparin verilmemeli seçilecek ilaçlar hirudin, organan veya argotoroban olmalıdır.
- 

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/mm<sup>3</sup> 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). İzole HİT olduğu şüphelenilen hastalarda koagülasyonun indüklendiği artan bir şekilde kabul görmektedir (17).

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. Çünkü, HİT' i olan bir hastada derin ven trombozu warfarin ile birlikte bacak gangrenine ilerleyebilir.

Bu alışagelmış olmayan sendromun laboratuvar belirleyicisi yüksek INR'dir (genellikle, 4.0'dan yüksek), bu da devam eden warfarin tedavisi sırasında devamlı trombin oluşumu ile birlikte protein C'nin düşüşüdür. Ama trombin oluşumu kontrol edilen bir hastada (ör, trombin inhibitörü kullanılarak) warfarin teorik olarak güvenli olsa da, trombositopeni düzeline kadar (tercihen 150.000/mm<sup>3</sup> üstünde) warfarini ertelemek gereklidir. HİT'in gerilemesinden önce direkt trombin inhibitörünün kesilerek warfarin başlanmasının ciddi venöz bacak gangrenine bağlı bacak kaybına neden olduğu bilinmektedir.

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

Lepirüdin rekombinant hirudinden türetilen 65 aminoasitli bir polipeptiddir. Trombin ile kovalan olmayan ancak sıkı, bire bir kompleks oluşturarak trombinin 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 lepirudin yeni tromboz, ekstremitelerde amputasyon ve her türlü mortaliteyi %47.8'den %21.3'e düşürdüğu

görülmüştür. 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). 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. Lepirudin verilen HİT'li 612 hastada yapılan diğer bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir(%2.1). Son zamanlarda, intravenöz bolus uygulamasından sonra ölümcül anaflaktik reaksiyonlar rapor edilmiştir. Tekrar kullanımda 1/400'e kadar yükselen anafaksi riski nedeniyle bolus verilmesinden kaçınılmalı, ya da 3 ay içinde lepirudin veya hirudin alan hastalarda ajan değiştirilmelidir. Lepirudin hem ABD hem de Avrupa ülkelerinde HİT tedavisi için ruhsatlı bir ajandır (17).

Bivalirudin (Angiomax), hirudin yapısından yararlanılarak geliştirilmiş 20 aminoasitli bir diğer trombin inhibitörüdür. Hirudin'in trombin aktif bölgesini ve fibrinojen bağlayan bölgelerini tanıyan iki peptidten oluşmaktadır. Yarılanma ömrü lepirudin 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. Perkutan Koroner Girişimlerde (PCI) antikoagulasyon için Bivalirudin kullanımı Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylanmıştır ancak HİT'deki kullanımı halen endikasyon dışı ilaç uygulama işlemlerinden geçerek kullanılmaktadır.

Argatroban küçük molekülü (527 dalton) direkt trombin inhibitörüdür ve hepatobiliyer atılıma maruz kalır bu yüzden böbrek yetersizliği olan hastalarda doz ayarı yapılmadan kullanılabilir (hepatik yetersizliği olan hastalarda doz azaltılmaktadır). 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.

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

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 Fondaparinux' dur. 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 (HIT II sendromu) 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.

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

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.

## **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. Ona rağmen yukarıdaki şekilde takip önerilmektedir (17).

HİT antikorları geçicidir ve genelde 100 günden sonra kaybolur. Bu yüzden, eğer HİT antikorları saptanamıyorsa, alternatif bir antikoagulanın sakıncalı olduğu açık kalp ameliyatı gibi durumlarda tekrar heparin kullanılabilir. 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. 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. Ancak bu ajanların bazı dezavantajları vardır. Örneğin, kardiyak cerrahiler için lepirudinün 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 (17).

### **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 solusyonları 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 (23,24).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya başlamadan önce 2010 yılında öncelikle Sağlık Bakanlığı Ankara 2 nolu Merkezi Etik Kurulundan Faz-4 ilaç araştırması formatında onay alındı. Daha sonra Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğünden bakanlık izni Mayıs 2010 tarihinde alındı. Ayrıca Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kurulundan 2010-TIP-060 sayılı rektörlük onayı ile mali destek sağlandı.

Çalışmaya profilaktik amaçla heparin uygulanan 70 hasta dahil edildi. Ancak 2 yıl süren hasta örneği ve verisi toplama döneminde tüm hastaların heparin başlama öncesi tüm gerekli örnekleri alınmakla birlikte 4 hasta primer hastalıkları nedeniyle eksitus olduğundan, 8 hasta taburcu olduktan sonra kontrollere gelmediklerinden, 5 hastada da uygunsuz örnek nedeni ile protokol gereğince alınması gereken 10.gün örnekleri ve verileri toplanamadı. Ancak Şekil 5' den de izlendiği gibi 53 hastanın tüm örnekleri ve verileri protokole uygun toplandı. İstatistiki değerlendirmeler heparin öncesi ve sonrası tüm testleri eksiksiz olarak elde edilen 53 hasta üzerinde yapıldı. Tedavi amaçlı heparin kullanan hastalar az sayıda olmaları nedeniyle çalışma dışı bırakıldı.

Çalışma grubunda iki hasta grubu koruma amaçlı standart heparin kullanıyordu. Yoğun bakım hastaları 28 hastayı içeriyordu. Kardiyoloji hastaları ise konjenital kalp hastalığı tanısıyla EUTF Pediatrik Kardiyoloji Bilim dalında izlenen ve anjio (katater) uygulanması amacıyla heparin uygulaması alan 25 çocuktan oluşuyordu.

Çalışmaya alınan tüm hastalarda standart heparin koruma amaçlı kullanıldı. DMAH kullanan hasta yer almadı. Yoğun bakım hastaları sentral arteriyel katater takılı olmaları nedeniyle günde en az 4 kez heparin ile "flush" yapılan hasta çocuklardı. Heparin uygulaması Nevparin'in uygun dozlarda serum fizyolojik ile dilue edilmesiyle kullanıldı. Kardiyoloji hastaları ise kateter öncesi tek doz 50 IU/kg dozda IV olarak standart heparin (Nevparin flakon / Mustafa Nevzat) kullandılar. Çalışmaya alınan tüm hastalardaki heparin uygulamaları rutinde uygulama yapıldığı şekilde kullanıldı. Çalışma nedeniyle gözlemsel yöne herhangi bir müdahale yapılmadı.

Çalışmaya alınacak hastalardan öncelikle velilerinden Bilgilendirilmiş Gönüllü Oluru (BGO) onayı alındı. Onay sonrası hasta bilgileri anonim olarak Olgu Rapor Formlarına (ORF) kaydedildi. Hastaların heparin başlamadan önceki gerekli kan örnekleri minimal düzeyde örnek alacak şekilde alındı.

|   |           |
|---|-----------|
| Çalışmaya alınan hasta sayısı.....  | 70        |
|   | ↓         |
| <b>Takip dışı kalanlar.....</b>   | <b>17</b> |
| <hr/>   |           |
| Ex olması nedeniyle 2. örnek alınamayan.....                              | 4         |
| Yetersiz örnek alınan.....  | 2         |
| Alınan örnekte hemoliz gelişen.....                                       | 3         |
| Kontrollerine gelmeyenler.....  | 8         |
| <hr/>   |           |
|   | ↓         |
| Protokole uygun olarak takibi yapılan ve 2 ayrı kan örneği alınanlar..... | 53        |

### Şekil 5. Hasta takibi akış şeması

Hemogram için mor başlıklı EDTA'lı vakumlu tüpe, serum ayrılması için de antikoagulansız vakumlu tüpe kan alındı. Hastanın takibi hastanede veya poliklinikte yapılırken heparin uygulamasının 10. günü aynı örnekler tekrar alındı. Trombositopeni saptanmayan hastalarda daha sonra başka örnek alınmadı. Heparin öncesi ve sonrası kan örnekleri alınırken hastanın yoğun bakım veya kardiyoloji takipleri için gerekli olan kan örneklerinden arta kalanlar ön planda kullanılmaya gayret gösterildi. Heparin sonrası örneklerin 10. gün alınması için gayret gösterilmekle birlikte hastanın benzer tetkikleri ile aynı günde örnek alınmasına (5-7. günlerde) çalışıldı.

Hastalar için önceden hazırlanan olgu rapor formları klinik veriler ve labaratuvar sonuçlarının kaydedilmesi için kullanıldı (Şekil 6).



**(Olgu Rapor Formu)**

**ÇOCUKLARDA HEPARİNE BAĞLI TROMBOSİTOPENİ (HIT-II)**

**SIKLIĞININ PROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Hasta adı ve Soyadı:.....  
Doğum tarihi:.....  
Cinsiyeti: .....

İletişim (Telefonlar):.....  
Tanıları :.....  
İlgili klinik ve sorumlu hekimi: .....

Heparin başlama nedeni (ilgili olanı işaretleyiniz):  
Tromboz tedavisi ( ), Tromboz profilaksisi ( ), Katater flush ( ),  
Hemodiyaliz ( ),  
Diğer (.....)

Mevcut Risk faktörleri (ilgili olanı işaretleyiniz):  
Diabet ( ), Kanser tanısı ( ), Kalıcı katater ( ), Operasyon ( ), Travma ( ),  
İmmobilizasyon ( ) Faktör V Leiden ( ), Yoğun Bakım hastası ( )  
Diğerleri (.....)

**HEPARİN (ÖNCESİ ve SONRASI LABORATUVAR TESTLERİ:**

PLT (0. Gün):.....  
PLT (7-10 gün arası):.....  
PLT (1. Ay):.....

Anti- Heparin – PF4 Antibody (0. Gün):.....  
Anti- Heparin – PF4 Antibody (7.-10. Gün):.....

Platelet Agregasyon Testi: (0. Gün):.....  
Platelet Agregasyon Testi: (7.-10.gün):.....

---

**Şekil 6. Çalışmada kullanılan olgu rapor formu**

## **YÖNTEMLER**

### **TROMBOSİT SAYIMI**

Hastalardan alınan tam kan örnekleri Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi Hematoloji Polikliniği Hematoloji laboratuvarındaki CELL DYN-3700 (Abbott / Meditera) cihazında sayıldı.

### **ELISA TESTİ İLE ANTİ-HEPARİN-PF4 ANTİKORLARININ SAPTANMASI**

Söz konusu test için Diagnostica Stago (Asniere, Fransa) şirketinin ASSERACHROM-HPIA-Ig G ELISA ticari kiti kullanıldı. Malzemeler İstanbul'daki Albio Kimnevi malzemeler şirketinden Araştırma projesi bütçesi aracılığı ile temin edildi. Tüm serumlar -80 derecede saklanarak biriktirildi. ELISA testi çalışılması Haziran-2012'de 2 ayrı seansta gerçekleştirildi. Uygulama Lab. Basri Bilenolu tarafından Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi Hematoloji Laboratuvarında Dr. Gabil Mursalov gözetiminde ve yardımıyla gerçekleştirildi.

Asserachrom HPIA IgG test kiti ile serumdaki Anti-Heparin/PF4 antikörlerinin Ig G komponenti kalitatif olarak ortaya konabilmektedir. Söz konusu antikörler sadece HİT tablosunda ortaya çıkmaktadır.

### **TEST PRENSİBİ:**

Anti-Heparin/PF4 antikörleri test küvetindeki plastik kuyucuklara emdirilmiş Heparin/PF4 komplekslerine bağlanarak ortaya çıkarılmaktadır. Bu antikörler bağlandıktan sonra Peroksidaz ile Anti-Human Ig G bağlanması sağlanır. TMB substratı kullanılarak reaksiyon asitle stoplandıktan sonra örnekteki antikör düzeyinin optik dansitesinin okuyucu ile ölçülerek saptanmasına dayanmaktadır.

### **TESTTE KULLANILAN REAKTİFLER:**

R-1: Heparin/PF4 karışımı emdirilmiş plastik striplerin kuyucukları

8 kuyucuk 1 stripi oluşturmaktadır. Test öncesi ambalajı açılarak oda ısısında 30 dakika beklenir.

R-2: Keçi anti-human antikoru (peroksidazlı)

2 ml R4 ile sulandırılarak 30 dakika oda ısısında bekletilir.

R-3: TMB (Tetrametil benzidin <%1lik) solüsyonu

Oda ısısında 30 dakika bekletilir.

R-4: Keçi serumundan hazırlanmış sitratlı tampon solüsyonu

Oda ısısında 30 dakika bekletilir.

R-5: 20 kez konsantre edilmiş yıkama solüsyonu

Distile suyla 1:20 sulandırılır ve 7.5 ml sine 150 ml olacak şekilde distile su eklenir.

R-6: Liyofilize heparin/PF4'e karşı gelişmiş insan antikoru (referans değer)

R-7a: Testin negatif kontrolü olarak kullanılır. Liyofilize insan plazmasıdır.

R-7b: Testin pozitif kontrolüdür. Anti-Heparin/PF4 antikoru pozitif olan liyofilize insan plazmasını içermektedir.

R-6, R-7a ve R-7b reaktifleri 1 ml R-4 ile sulandırılır ve oda ısısında 30 dakika bekletilir.

#### TESTTE KULLANILAN DİĞER EKİPMAN VE MALZEMELER

1 M Sülfirik asit reaksiyon stoplanması için kullanıldı. Yıkama malzemeleri laboratuvarımızdan temin edildi. Son aşamada platelerin 450 nm de okunması ELISA Okuyucusu ile gerçekleştirildi.

#### TESTİN AŞAMALARIYLA GERÇEKLEŞTİRİLMESİ:

Yukarıda tanınlandığı gibi sulandırma sonrası R-6 kullanıma hazır hale getirildi.

Hasta serum örnekleri R-4 kullanılarak 1:121 oranında dilue edildi. 10 µL seruma 1.2 ml R-4 eklendi.

Kalite kontrolü amacıyla R-7a ve R-7b test seansı sırasında kullanıldı.

Ölçüm öncesi önce striplerin paketi açılarak oda ısısında 30 dakika bekletildi. R-4 kuyucuğu blank olarak kullanıldı. R-6, R-7a ve R-7b reaktifleri uygun şekilde sulandırıldıktan sonra uygun kuyucuklara konuldu.

Tüm kuyucukların pipetlenmesi işlemi 10 dakika içinde tamamlandı.

Her kuyucuğa 200 µL hasta serum örneği eklenerek örtüldü ve oda ısısında 30 dakika bekletilerek HPIA immobilizasyonu sağlandı.

R-5 ile tüm kuyucuklar 5'er kez yıkandı.

Kuyucuklara 200 µL R-2 eklenerek immunokonjugatın immobilizasyonu sağlandı.

Kuyucuklar tekrar örtülerek oda ısısında 1 saat bekletildi.

R-5 ile kuyucuklar 5'er kez yıkandı.

R-3 tüm kuyucuklara 200 mL eklenerek renk reaksiyonu oluşturuldu. Tüm kuyucuklar oda ısısında 5 dakika bekletildikten sonra;

Reaksiyonu stoplamak amacıyla 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> den 50 mL ilave edilmesi sağlandı. Asit ilavesi sonrası tüm kutucukları içeren stripler hafifçe sarsılarak tam karışım sağlandı.

15 dakika beklendikten sonra 450 nm absorbansta ELISA okuyucusunda 1 saatlik süreçte okuma işlemine geçildi. Okuyucunun sıfırlanması için ilk kuyucukta saklanan blank reaktifi kullanıldı.

#### TEST SONUÇLARININ YORUMLANMASI:

Okuyucunun kaydettiği tüm absorban değerleri printerle yazdırıldıktan sonra uygun olan kuyucuklardaki hasta sonuçlarının değerlendirilmesine geçildi. Hasta absorbanlarının (+) olabilmesi için R-6 (referans) değerinden % 14 fazla elde edilen değerler (+) olarak kabul edildi. Söz konusu referans değerinden düşük düzeyde elde edilen absorban değerleri (-) olarak kabul edildi. Testin internal kontrolleri olan R-7a ve R-7b değerlerinin de test ile uyumlu olduğu gözlemlendi.

Test kitinin 83 kişilik normal erişkin popülasyonu için bildirilen mean absorban değerleri  $0.051 \pm 0.070$  idi.

Test kiti prospektüsünde tanımlanmış olan R-6 (referans) değeri:  $1.97 \pm 0.39$ , R-7b (pozitif kontrol):  $1.35 \pm 0.34$  olarak izlendi.

Test sonucunda bizim elde ettiğimiz sonuçlar ise; R-6: 2.142, R-7b: 1.649 idi.

#### HEPARİNE BAĞLI TROMBOSİT AGREGASYONU TESTİ

Söz konusu test için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı tarafından kullanılan ve Prof. Dr. Muzaffer Demir'den temin edilen agregometre protokolü kullanıldı (24). Bu test Lab. Basri Bilenoğlu tarafından Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi Hematoloji Laboratuvarında Dr. Gabil Mursalov yardımıyla 2 ayrı seansta tamamlandı.

#### TESTİN PRENSİBİ

10 ayrı sağlıklı erişkin bireyden elde edilen trombosit zengin plazma (PRP) ile hastalardan elde edilen serumlar değişik heparin konsantrasyonlarıyla enkübe edilmektedir. Hastanın serumunda Anti-Heparin/PF4 antikoru mevcutsa belirgin

trombosit agregasyonu gözlenmesi söz konusu olur. ELISA testinden farklı olarak fonksiyonel bir testtir.

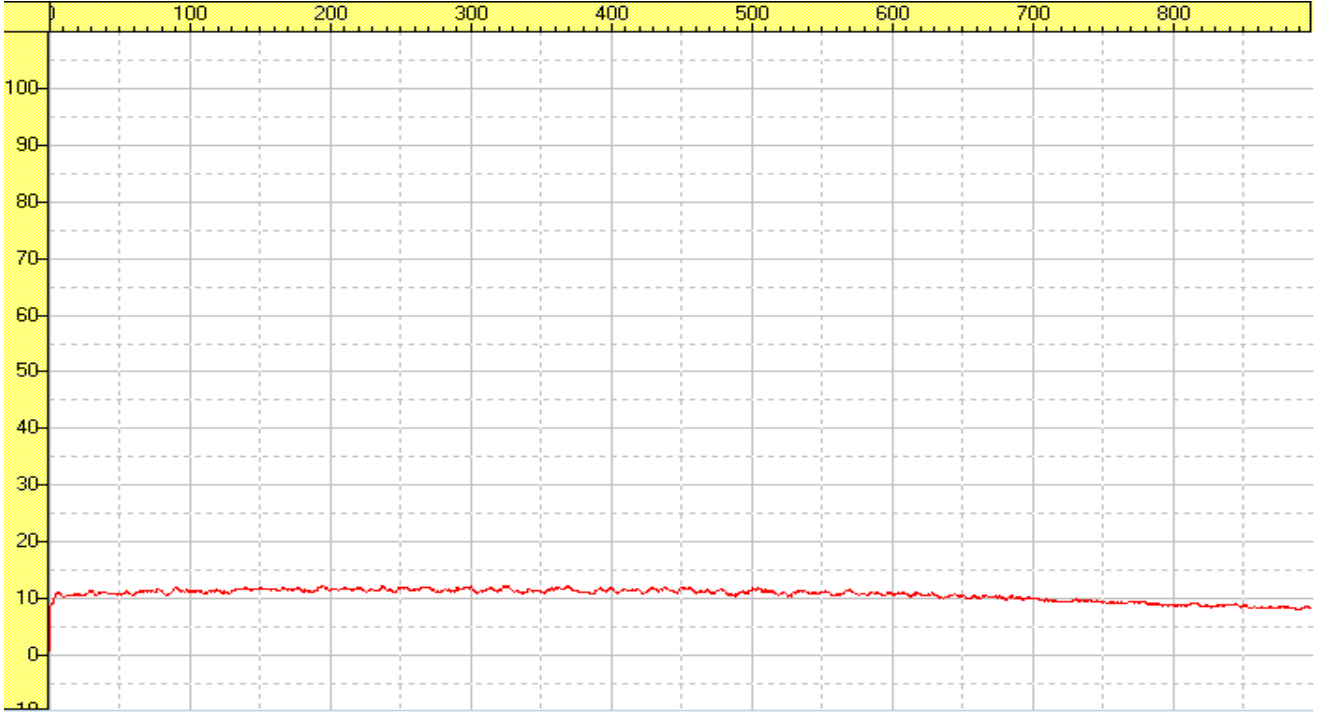
## ÖRNEKLERİN ALINMASI VE SAKLANMASI

Test için hasta serumu kullanıldı. Hastadan antikoagulantsız 5 cc kan kırmızı kapaklı hazır vakumlu tüplerle alındı. Küçük çocuklarda ise rutin işlem sırasında arta kalan serum örnekleri kullanıldı. Elde edilen kanın 1 saat oda ısısında bekletildikten sonra pıhtı oluşması sağlandı. Örnek 1100Xg. de 15 dakika sentrifüj edildikten sonra elde edilen supernatant minik ependorf tüplere konularak test zamanına kadar -80 derecede saklandı. Teste başlamadan önce serum 56 derecede 45 dakika ısıtılarak reziduel enzimatik aktivite bloke edildi. Isıtılan serum 1100Xg. de 15 dakika sentrifüj edilerek elde edilen supernatant test için kullanıldı. Trombosit için alınan kanın 4 saat içinde çalışılması sağlandı.

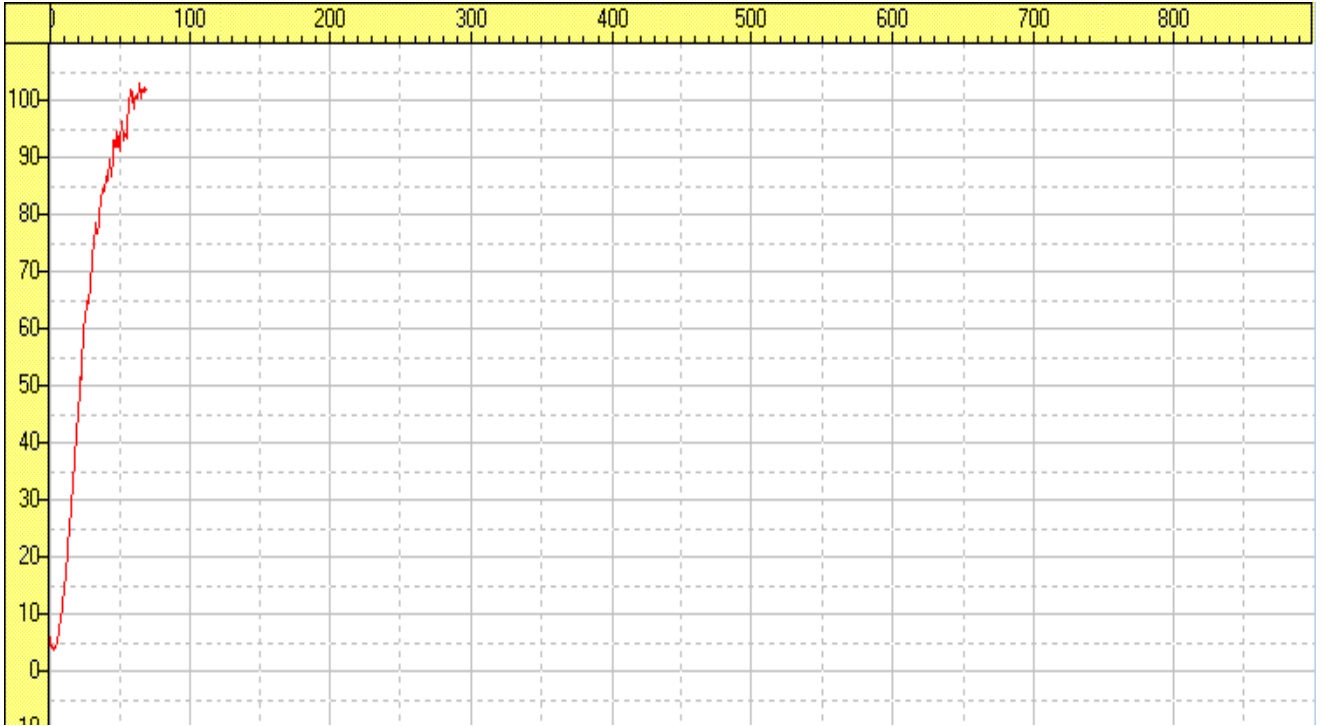
## KULLANILAN EKİPMAN VE REAKTİFLER:

Agregometre olarak ATRACT-4004 Agregometre (Tokra Medikal) cihazı kullanıldı. Cihaza uygun olan kuvvetler ve bilyeler ile çalışıldı. Heparin kaynağı olarak NEVPARİN (Standart Heparin) 5 cc'lik flakonları kullanıldı. Heparin 1 ml=1000 U olan kaynaktan serum fizyolojik kullanılarak son konsantrasyonları 1.1 U/ml, 4.4 U/ml ve 11 U/ml olan 3 farklı heparin konsantrasyonları hazırlandı. Her 3 heparin konsantrasyonuyla da test çalışıldı. Şekil 7'de çalışma hastalarından birinden elde edilen agregometre eğrilerinden birinin çıktısı izlenebilir.

ADP 100 mM lık örnekleri hazırlanarak trombositlerin canlılığını kanıtlamak için kullanıldı (Şekil 8).



**Şekil 7. Heparine bağlı trombosit agregometre testi sonucu örneği (olumsuz yanıt)**



**Şekil 8. ADP ile donör trombositlerinin kontrol edilmesi (olumlu yanıt)**

## TESTİN GERÇEKLEŐTİRME AŐAMALARI

### A- TROMBOSİTLERİN HAZIRLANMASI

- 1- Öncelikle sağlıklı ve aspirin ile sigara kullanmadığı bilinen en az 10 bireyden sitratlı kan alındı. İlk alınan 3 ml lik bölüm atıldıktan sonraki kan kullanıldı. Oran olarak 9 birim kan, 1 birim % 3.2 lik sitrat kullanıldı.
- 2- Sitratlı kan 100Xg. de (900 rpm) 8 dakika boyunca sentrifüj edilerek trombositten zengin plazma (PRP) elde edildi.
- 3- Geride kalan örnek ise 1000Xg. de (2.850 rpm) 15 dakikada sentrifüj edilerek Trombositten Fakir Plazma (PPP) elde edildi.
- 4- PRP tüpünde trombosit sayımı yapılarak, trombosit sayısı her bir bireyin kendi PPP kullanılarak 250.000/mm<sup>3</sup> düzeyine ayarlandı.

### B- TROMBOSİT AGREGASYON İŞLEMİ

- 1- Agregasyon küvetindeki kuyucuklar PPP ile kalibre edildi.
- 2- Isıtılarak inaktive edilmiş 250mL hasta serumu ile 200 mL PRP 37 derecede 3 dakika boyunca stir bar açık kalacak şekilde enkübe edildi.
- 3- Üç dakikanın sonunda küvete 50 mL heparinin 3 farklı solüsyonu sırasıyla eklendi ve agregasyon yanıtları 15 dakika süresince kaydedildi (Şekil 7).
- 4- Tüm küvetlerde ADP (10 mM) düzeyde kullanılarak trombositlerin aktif olup olmadığı kontrol edildi. Tüm çalışmalarında normal düzeyde ADP yanıtı elde edildi (Şekil 8).

### C- SONUŐLARIN HESAPLANMASI VE YORUMLANMASI

Heparin uygulanması öncesi ve sonrası yapılan testler her hasta için mukayese edildi. Heparin uygulamasına akabinde % 20 den fazla agregasyon yanıtı saptanan hastalarda heparine bağılı agregasyon yanıtı olumlu olarak yorumlandı. Ancak elde edilen maksimum agregasyon yüzdelerinin artan heparin konsantrasyonuyla uyumlu olarak artmasına özellikle dikkat edildi. Korele olmayan sonuçlar pozitif olarak dikkate alınmadı.

## İSTATİSTİKSEL İNCELEMELER

İstatistiksel incelemeler Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Timur Köse tarafından Mann-Whitney, Wilcoxon, Ki Kare, Fisher'in tam olasılık testi ve korelasyon analizleri kullanılarak gerçekleştirildi.  $P < 0,05$  olan değerler istatistiksel olarak anlamlı değerlendirildi.

## BULGULAR

Yapılan tüm istatistiksel değerlendirmelerde tüm test sonuçları eksiksiz olan tamamlanan 53 olgunun verileri dikkate alındı. Hastaların demografik özellikleri Tablo 10' da sıralandı.

Hastaların ay olarak yaşları ortalaması 52.51 ay bulundu. Yaş dağılımı median olarak 48 ay, yaş dağılımı 1 ay-204 ay olarak bulunurken standard deviasyon 43.40 ay olarak hesaplandı. Hastaların yaş değerleri ile herhangi bir laboratuvar parametresiyle ilgili korelasyon saptanmadı.

Hastaların 23'ü (%43) erkek, 30'u (%57) kız idi.

Tamamı 53 olan hasta çocukların 28'i Yoğun Bakım hastası iken, kalan 25'i kardiyoloji hastasıydı. Yoğun Bakım hastalarının 9'u sepsis / pnömoni, 7'si travma, 2'si entoksikasyon, 6'sı santral sinir sistemi patolojisi, 4'ü diğer hastalıklarla izleniyordu. Kardiyoloji hastalarının 10'u ASD, 4'ü PDA, 3'ü VSD ve 8'i diğer Kardiyopatilerle izleniyordu.



**Tablo 10. Hastaların demografik özellikleri ve hasta risk grupları**

| <b>Hasta No</b> | <b>Hasta Adı</b> | <b>Yaş (ay)</b> | <b>Cins</b> | <b>Hasta Grubu</b> | <b>Heparin Uygulama Süresi (gün)</b> | <b>Heparin Uygulama Dozu</b> |
|-----------------|------------------|-----------------|-------------|--------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| 1               | U.T.             | 108             | K           | YB                 | 8                                    | Flush                        |
| 2               | B.K.             | 4               | E           | YB                 | 8                                    | Flush                        |
| 3               | F.H.I            | 4               | K           | YB                 | 15                                   | Flush                        |
| 4               | K.Ş.             | 7               | K           | YB                 | 7                                    | Flush                        |
| 5               | I.K.             | 204             | E           | YB                 | 9                                    | Flush                        |
| 6               | I.E.             | 3               | K           | YB                 | 15                                   | Flush                        |
| 7               | B.I.             | 30              | E           | YB                 | 9                                    | Flush                        |
| 8               | S.K.             | 48              | K           | YB                 | 10                                   | Flush                        |
| 9               | Y.Y.Y.           | 36              | E           | YB                 | 7                                    | Flush                        |
| 10              | S.N.T.           | 12              | K           | YB                 | 7                                    | Flush                        |
| 11              | Ö.D.             | 18              | E           | YB                 | 7                                    | Flush                        |
| 12              | S.D.             | 96              | K           | YB                 | 15                                   | Flush                        |
| 13              | S.Y.Y.           | 72              | K           | YB                 | 14                                   | Flush                        |
| 14              | S.Ç.             | 12              | K           | YB                 | 7                                    | Flush                        |
| 15              | H.N.A.           | 12              | K           | YB                 | 9                                    | Flush                        |
| 16              | E.K.K.           | 72              | E           | YB                 | 7                                    | Flush                        |
| 17              | R.T.M.           | 96              | E           | YB                 | 9                                    | Flush                        |
| 18              | B.Ö.             | 60              | K           | YB                 | 9                                    | Flush                        |
| 19              | K.K.             | 12              | E           | YB                 | 15                                   | Flush                        |
| 20              | Y.N.             | 24              | E           | YB                 | 15                                   | Flush                        |
| 21              | A.P.             | 60              | E           | YB                 | 10                                   | Flush                        |
| 22              | K.Y.             | 96              | E           | YB                 | 10                                   | Flush                        |
| 23              | Ö.İ.Y.           | 36              | E           | Kar                | 10                                   | Tek doz                      |
| 24              | U.Ö.             | 60              | E           | Kar                | 10                                   | Tek doz                      |
| 25              | B.M.             | 24              | K           | Kar                | 7                                    | Tek doz                      |
| 26              | Z.K.             | 30              | K           | Kar                | 7                                    | Tek doz                      |
| 27              | F.A.             | 72              | K           | Kar                | 7                                    | Tek Doz                      |
| 28              | O.T.             | 60              | E           | Kar                | 7                                    | Tek doz                      |
| 29              | S.A.             | 72              | K           | Kar                | 9                                    | Tek doz                      |
| 30              | M.Ç.             | 60              | K           | Kar                | 15                                   | Tek doz                      |

| Hasta No | Hasta Adı | Yaş (ay) | Cins | Hasta Grubu | Heparin Uygulama Süresi (gün) | Heparin Uygulama Dozu |
|----------|-----------|----------|------|-------------|-------------------------------|-----------------------|
| 31       | D.Ö.      | 72       | K    | Kar         | 9                             | Tek doz               |
| 32       | S.N.U.    | 12       | K    | Kar         | 14                            | Tek doz               |
| 33       | O.N.      | 12       | E    | Kar         | 14                            | Tek doz               |
| 34       | A.M.      | 24       | K    | Kar         | 10                            | Tek doz               |
| 35       | F.İ.A.    | 120      | K    | Kar         | 11                            | Tek doz               |
| 36       | E.S.B.    | 84       | K    | Kar         | 15                            | Tek doz               |
| 37       | M.D.      | 48       | K    | Kar         | 15                            | Tek doz               |
| 38       | S.D.      | 84       | K    | Kar         | 15                            | Tek doz               |
| 39       | K.K.      | 168      | E    | Kar         | 14                            | Tek doz               |
| 40       | S.C.Ş.    | 84       | K    | Kar         | 15                            | Tek doz               |
| 41       | S.K.      | 120      | E    | Kar         | 15                            | Tek doz               |
| 42       | H.Ç.      | 12       | E    | Kar         | 10                            | Tek doz               |
| 43       | A.B.      | 24       | E    | Kar         | 10                            | Tek doz               |
| 44       | Y.A.      | 84       | K    | Kar         | 10                            | Tek doz               |
| 45       | D.D.Y.    | 1        | K    | Kar         | 10                            | Tek doz               |
| 46       | S.Y.Y.    | 46       | K    | Kar         | 10                            | Tek doz               |
| 47       | D.M.      | 47       | E    | YB          | 15                            | Flush                 |
| 48       | Y.C.      | 48       | K    | Kar         | 15                            | Tek doz               |
| 49       | C.K       | 12       | E    | YB          | 15                            | Flush                 |
| 50       | A.S.      | 4        | K    | YB          | 10                            | Flush                 |
| 51       | N.B.      | 96       | K    | YB          | 14                            | Flush                 |
| 52       | A.Y.      | 72       | E    | YB          | 10                            | Flush                 |
| 53       | A.S.E.    | 9        | E    | YB          | 10                            | Flush                 |

\* YB – Yoğun Bakım Hastası Kar – Kardiyoloji Hastası

Heparin kullanımına başladıktan sonra kan örneği alma süresi ortalama 10.94 gün olarak hesaplandı. Median değer 10 gün iken, standard deviasyon 3.06 gün, dağılım ise 7-15 gün olarak bulundu. Bu sürelerle herhangi bir laboratuvar parametresi arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Trombosit sayıları ortalaması  $\pm$  SD (ve median) değerleri heparin uygulaması öncesi  $326,600 \pm 118,201 / \text{mm}^3$  (306.000) iken, heparin sonrası elde edilen trombosit sayıları ortalaması  $337,05 \pm 149,373 / \text{mm}^3$  (320.000) olarak hesaplandı. Yapılan istatistiki değerlendirmede her 2 grup arasında Wilcoxon testi ile anlamlı fark bulunamadı.

ELISA testi optik absorbans değerleri ortalaması  $\pm$  SD (ve median) değerleri ise sırasıyla heparin başlamadan önce  $0.1119 \pm 0.061$  (0.100) iken, heparin uygulamasından 10 gün sonraki değerlerin ortalaması  $0.2583 \pm 0.2622$  (0.147) olarak saptandı. Yapılan istatistiksel değerlendirmelerde Wilcoxon testi kullanıldı. Heparin sonrası optik absorbans değerindeki ortalama artış değeri anlamlı olarak yüksek bulundu (z skoru: -4.608;  $p < 0.0001$ ).

Heparine bağlı agregasyon testleri maksimum agregasyon yüzdeleri açısından değerlendirildiğinde Tablo 11' de izlenen sonuçlar elde edildi. Yapılan istatistiksel değerlendirmelerde Wilcoxon analizi ile anlamlı farklar bulunamadı. Agregasyon parametreleriyle diğer laboratuvar parametreleri arasında korelasyon varlığı arandı. Ancak bulunamadı. Sadece agregasyon parametreleriyle anlamlı korelasyon; farklı heparin dozlarıyla elde edilen agregasyon yüzdelerinde bulunabildi.

**Tablo 11. Hastalarda elde edilen maksimum agregasyon düzeylerindeki değişimler**

|                                   | Agregasyon %<br>(Heparin öncesi) | Agregasyon %<br>(Heparin sonrası) |
|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| <u>A (heparin dozu: 1,1 U/ml)</u> |                                  |                                   |
| Ortalama                          | 5,47                             | 5,21                              |
| SD                                | 8,70                             | 10,24                             |
| Median                            | 3,83                             | 5,41                              |
| <u>B (heparin dozu: 4,4 U/ml)</u> |                                  |                                   |
| Ortalama                          | 4,39                             | 4,98                              |
| SD                                | 14,6                             | 7,24                              |
| Median                            | 5,35                             | 5,74                              |
| <u>C (heparin dozu: 11 U/ml)</u>  |                                  |                                   |
| Ortalama                          | 7,58                             | 5,53                              |
| SD                                | 10,07                            | 7,77                              |
| Median                            | 6,22                             | 5,08                              |

Heparin öncesi basal trombosit sayısı normale göre düşük olan sadece 2 olgu vardı. Bunlardan biri daha sonra Hemolitik-üremik sendrom tanısı alan diğeri de AML tanısı ile kemoterapi kullanan ve sepsis nedeniyle Yoğun Bakımda takip altındaki hastaydı. Sözü edilen 2 olgu dışındaki tüm olgularda trombosit sayısı normaldi. Tüm hastalarda heparin öncesi ve sonrası elde edilen trombosit değerleri Tablo 12' de sıralandı.

Heparin uygulamasından sonra medyan olarak 10 gün sonra alınan kan örneklerinde başlangıçta trombosit sayısı normal olan 4 hastada anlamlı düşük değerler (>%30) elde edildi. Hastaların bazale nazaran azalmış olan trombosit sayıları <150.000/mm<sup>3</sup> olmamakla birlikte bazal trombosit sayılarına göre en az >%30-47 oranında azalmıştı. Söz konusu 4 olgunun verileri Tablo 13' de özetlendi.

Çalışma grubundaki toplam 53 hasta içinde heparin kullanımı sonrası trombositopeni saptanan 4 olgunun verileriyle, herhangi bir azalma saptanmayan diğer 49 olgunun verileri anlamlı fark bulunup bulunmaması açısından farklı istatistiki testlerle incelendi.

Parametrik olan veriler (yaş, heparin süresi, trombosit sayıları, ELISA değerleri, farklı heparin konsantrasyonu ile elde edilen agregasyon yüzdeleri) Mann-Whitney ve Wilcoxon testleriyle mukayese edilirken non-parametrik veriler (hastanın cinsiyeti, yoğun bakım hastası veya kardiyoloji hastası olması ve heparin uygulama biçimi) Ki kare testiyle incelendi. Trombosit sayıları açısından her 2 grup arasında anlamlı fark bulundu. Trombositopeni gözlenen 4 hastadaki heparin öncesi trombosit sayısı ortalaması 416,25 iken heparin sonrası 167,75'e inerken, kalan 49 hastada ise 319,28 den 350,87'ye yükseldiği görüldü. Mann-Whitney testi ile elde edilen değer anlamlıydı ( $p < 0.001$ ). Bakılan diğer tüm parametreler açısından her 2 grup arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Trombositopeni saptanan 4 hasta da Yoğun Bakım hastasıydı ve flushing ile heparin kullanıyordu. Ki kare testi ile yapılan analizlerde Pearson analizi ile anlamlı sonuçlar elde edildi ( $p=0.041$ ).

Hastalarda heparin öncesi ve sonrasında elde edilen ELISA verileri ve ortalama değerleri Tablo 14 ve 15' de sıralandı. Toplam 53 hastadan sadece birinde sınırda (+) olarak yorumlanan pozitif değer elde edildi. Söz konusu hastanın diğer klinik ve laboratuvar verileri Tablo' 16 da özetlendi. ELISA değeri pozitif olarak yorumlanan olgunun verileriyle kalan 52 olgunun verileri istatistiksel olarak karşılaştırıldı. ELISA (+) saptanan tek olgu erkek hasta olması, Yoğun bakım hastası olması ve flushing ile ilacı kullanması açısından diğer grupla karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamadı. Karşılaştırma amacıyla Wilcoxon ve Ki kare testleri kullanıldı. Şekil 9' da ise heparin öncesi ve sonrası ortalama ELISA verilerinin anlamlı olarak değişimi gösterilmektedir.

Heparin öncesi ve sonrası alınan kan serum örneklerinde yapılan Heparine bağımlı trombosit agregasyonu verileri Tablo 17-18' de sıralandı. 53 hastanın sadece 3'ünde heparin sonrası pozitif olarak yorumlanan veriler elde edildi. Söz konusu 3 olgunun klinik ve diğer laboratuvar verileri Tablo 19' da özetlendi. Bu olgularda farklı heparin konsantrasyonu ile elde edilen agregasyon % artışları Tablo 20' de özetlendi.

Agregasyon verileri anlamlı artmış bulunan 3 olgunun tüm verileriyle kalan 50 hastanın verileri Mann-Whitney ve Wilcoxon ile ki kare testleriyle mukayese edildi. Anlamlı artış bulunan 3 hastanın da kız olması, üçünün de kardiyoloji hastası olması ve hepsinde tek doz heparin uygulamasına karşın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

**Tablo 12. Hastaların heparin uygulaması öncesi ve 10 gün sonraki Trombosit sayıları**

| <b>Hasta No</b> | <b>Trombosit (0)</b> | <b>Trombosit (1)</b> |
|-----------------|----------------------|----------------------|
| 1               | 296000               | 476000               |
| 2               | 610000               | 959000               |
| 3               | 400000               | 586000               |
| 4               | 211000               | 441000               |
| 5               | 9680                 | 36600                |
| 6               | 420000               | 512000               |
| 7               | 445000               | 387000               |
| 8               | 236000               | 572000               |
| 9               | 275000               | 330000               |
| 10              | 294000               | 210000               |
| 11              | 400000               | 401000               |
| 12              | 290000               | 339000               |
| 13              | 200000               | 253000               |
| 14              | 333000               | 262000               |
| 15              | 96000                | 29000                |
| 16              | 349000               | 420000               |
| 17              | 306000               | 406000               |
| 18              | 403000               | 390000               |
| 19              | 595000               | 655000               |
| 20              | 460000               | 218000               |
| 21              | 225000               | 320000               |
| 22              | 187000               | 320000               |
| 23              | 420000               | 437000               |
| 24              | 302000               | 250000               |
| 25              | 445000               | 386000               |
| 26              | 315000               | 422000               |
| 27              | 346000               | 347000               |
| 28              | 259000               | 274000               |
| 29              | 434000               | 529000               |

| <b>Hasta No</b> | <b>Trombosit (0)</b> | <b>Trombosit (1)</b> |
|-----------------|----------------------|----------------------|
| <b>30</b>       | 310000               | 311000               |
| <b>31</b>       | 292000               | 261000               |
| <b>32</b>       | 342000               | 351000               |
| <b>33</b>       | 306000               | 286000               |
| <b>34</b>       | 396000               | 386000               |
| <b>35</b>       | 285000               | 226000               |
| <b>36</b>       | 242000               | 302000               |
| <b>37</b>       | 474000               | 275000               |
| <b>38</b>       | 289000               | 304000               |
| <b>39</b>       | 211000               | 187000               |
| <b>40</b>       | 291000               | 324000               |
| <b>41</b>       | 338000               | 348000               |
| <b>42</b>       | 400000               | 352000               |
| <b>43</b>       | 325000               | 275000               |
| <b>44</b>       | 250000               | 290000               |
| <b>45</b>       | 197000               | 210000               |
| <b>46</b>       | 380000               | 250000               |
| <b>47</b>       | 629000               | 218000               |
| <b>48</b>       | 191000               | 199000               |
| <b>49</b>       | 480000               | 206000               |
| <b>50</b>       | 403000               | 437000               |
| <b>51</b>       | 246000               | 238000               |
| <b>52</b>       | 268000               | 244000               |
| <b>53</b>       | 203000               | 216000               |

\* Trombosit (0); Heparin öncesi      Trombosit (1); Heparinden 10 gün sonra

**Tablo 13. Heparin kullanımı sonrası trombositopeni saptanan 4 olgunun verileri**

| Olgu no    | Yaş (ay) | Cins | Hasta grubu | Hastalığı     | Trombosit (0) | Trombosit (1) |
|------------|----------|------|-------------|---------------|---------------|---------------|
| 1 (Y.N)    | 24       | E    | Y.B.        | Kafa travması | 460.000       | 218.000       |
| 2 (C.K)    | 12       | E    | Y.B.        | Kafa travması | 480.000       | 206.000       |
| 3 (D.M)    | 12       | E    | Y.B.        | Pnömoni       | 629.000       | 218.000       |
| 4 (H.N.A.) | 12       | K    | Y.B.        | AML, Sepsis   | 96.000        | 29.000        |

\* YB – Yoğun Bakım Hastası



**Tablo 14. Hastaların heparin başlamadan önce ve 10 gün sonraki ELİSA sonuçlarını gösteren optik absorbands değerleri**

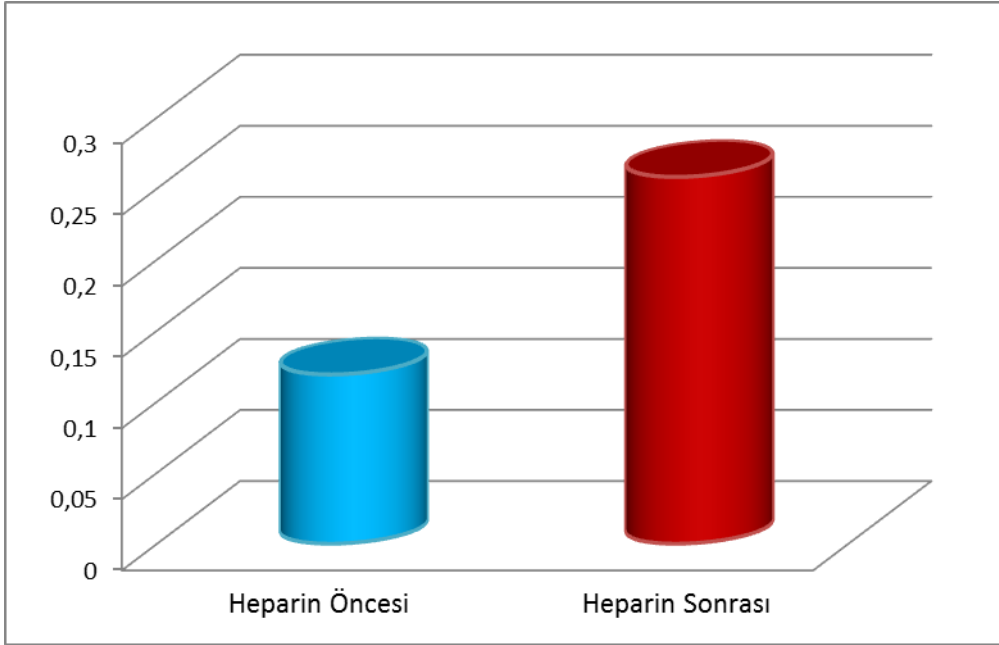
| <b>Hasta no</b> | <b>ELISA(0)</b> | <b>ELISA (1)</b> |
|-----------------|-----------------|------------------|
| 1               | 0.063           | 0.087            |
| 2               | 0.050           | 0.057            |
| 3               | 0.091           | 0.105            |
| 4               | 0.047           | 0.046            |
| 5               | 0.158           | 0.813            |
| 6               | 0.130           | 0.053            |
| 7               | 0.145           | 0.169            |
| 8               | 0.100           | 0.704            |
| 9               | 0.082           | 0.258            |
| 10              | 0.119           | 0.107            |
| 11              | 0.083           | 0.269            |
| 12              | 0.437           | 0.290            |
| 13              | 0.130           | 0.174            |
| 14              | 0.190           | 0.861            |
| 15              | 0.075           | 0.103            |
| 16              | 0.120           | 0.124            |
| 17              | 0.075           | 1.374            |
| 18              | 0.095           | 0.361            |
| 19              | 0.250           | 0.614            |
| 20              | 0.098           | 0.289            |
| 21              | 0.043           | 0.078            |
| 22              | 0.132           | 0.134            |
| 23              | 0.112           | 0.147            |
| 24              | 0.110           | 0.224            |
| 25              | 0.119           | 0.288            |
| 26              | 0.098           | 0.091            |
| 27              | 0.128           | 0.124            |
| 28              | 0.077           | 0.088            |
| 29              | 0.083           | 0.763            |
| 30              | 0.119           | 0.434            |

| Hasta no | ELISA(0) | ELISA (1) |
|----------|----------|-----------|
| 31       | 0.104    | 0.153     |
| 32       | 0.104    | 0.091     |
| 33       | 0.238    | 0.097     |
| 34       | 0.178    | 0.363     |
| 35       | 0.087    | 0.345     |
| 36       | 0.090    | 0.133     |
| 37       | 0.084    | 0.170     |
| 38       | 0.105    | 0.084     |
| 39       | 0.119    | 0.434     |
| 40       | 0.100    | 0.680     |
| 41       | 0.110    | 0.106     |
| 42       | 0.061    | 0.083     |
| 43       | 0.062    | 0.144     |
| 44       | 0.054    | 0.069     |
| 45       | 0.047    | 0.074     |
| 46       | 0.156    | 0.197     |
| 47       | 0,105    | 0,083     |
| 48       | 0.092    | 0.165     |
| 49       | 0.091    | 0,110     |
| 50       | 0,100    | 0.087     |
| 51       | 0.089    | 0.065     |
| 52       | 0.072    | 0.352     |
| 53       | 0.128    | 0.381     |

\* ELİSA (0); Heparin öncesi      ELİSA (1); Heparin sonrası

**Tablo 15. Hastalardaki ELISA testleriyle elde edilen optik absorbans miktarlarının ortalama değerlerinin heparin öncesi ve sonraki sonuçlarının karşılaştırılması**

|                    | Heparin öncesi<br>optik absorbans | Heparin sonrası<br>optik absorbans |
|--------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| Ortalama değer     | 0.119                             | 0.258                              |
| Median değer       | 0.100                             | 0.147                              |
| Standart Deviasyon | 0.061                             | 0.262                              |
| P değeri           | <0.001                            |                                    |



**Şekil 9. Heparin öncesi ve sonrası ortalama ELISA değerlerinin karşılaştırılması**

**Tablo 16. Heparin sonrası pozitif ELISA saptanan tek olgunun verileri**

| Olgu   | Yaş (ay) | Cins | Heparin süresi | Hastalığı | Trombosit sayısı  |
|--------|----------|------|----------------|-----------|-------------------|
| R.T.M. | 96       | E    | Flush          | Y.B.      | 306.000 → 406.000 |

**Tablo 17. Hastaların Heparin uygulaması öncesi Trombosit agregasyon test parametreleri**

| <b>Hasta no</b> | <b>AGG(0)a</b> | <b>AGG(0)b</b> | <b>AGG(0)c</b> |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1               | %1.57          | %-5.29         | %-10.63        |
| 2               | %-7.68         | %-0.05         | %4.4           |
| 3               | %18.75         | %12.12         | %16.67         |
| 4               | %15.17         | %8.19          | %19.14         |
| 5               | %6.16          | %2.12          | %6.50          |
| 6               | %3.40          | %-1.96         | %1.46          |
| 7               | %18.13         | %15.17         | %18.93         |
| 8               | %3.5           | %4.5           | % 6.5          |
| 9               | %19.15         | %26.32         | %29.08         |
| 10              | %23.33         | %23.56         | %21.60         |
| 11              | %19.59         | %16.28         | %20.39         |
| 12              | %13.27         | %6.17          | %6.26          |
| 13              | %7.87          | %13.84         | %11.85         |
| 14              | %-1.08         | %-0.58         | %0.17          |
| 15              | %1.35          | %0.88          | %1.87          |
| 16              | %-2.46         | %0.37          | %4.83          |
| 17              | %-15.04        | %-2.72         | %-14.1         |
| 18              | %-3.33         | %-4.60         | %4.38          |
| 19              | %-1.43         | %-1.45         | %-1.07         |
| 20              | %20.74         | %24.79         | %22.07         |
| 21              | %-5.61         | %-7.43         | %-7.95         |
| 22              | %0.51          | %-0.38         | %1.46          |
| 23              | %7.40          | %2.14          | %6.22          |
| 24              | %0.83          | %6.22          | %4.07          |
| 25              | %6.15          | %7.82          | %10.55         |
| 26              | %14.45         | %16.17         | %18.26         |
| 27              | %12.26         | %10.68         | %11.84         |
| 28              | %4.09          | %8.41          | %16.15         |
| 29              | %3.83          | %0.69          | %1.84          |
| 30              | %1.39          | %2.46          | %2.44          |

| Hasta no | AGG(0)a | AGG(0)b | AGG(0)c |
|----------|---------|---------|---------|
| 31       | %4.02   | %3.29   | %6.19   |
| 32       | %1.46   | %-0.36  | %7.18   |
| 33       | %4.65   | %8.39   | %8.46   |
| 34       | %-4.54  | %-77.40 | %-5.34  |
| 35       | %3.24   | %3.93   | %4.23   |
| 36       | %6.52   | %5.62   | %6.22   |
| 37       | %12.85  | %11.39  | %13.59  |
| 38       | %12.85  | %11.39  | %13.59  |
| 39       | %8.15   | %9.42   | %8.40   |
| 40       | %5.65   | %7.56   | %2.3    |
| 41       | %2.55   | %5.6    | %3.88   |
| 42       | %6.31   | %1.87   | %2.38   |
| 43       | %-1.18  | %9.80   | %9.07   |
| 44       | %-3.26  | %-8.54  | %-4.76  |
| 45       | %2.51   | %5.35   | %3.94   |
| 46       | %.3.55  | %3.36   | %5.75   |
| 47       | %10     | %26.78  | %38.21  |
| 48       | %-7.48  | %-14.76 | %0.02   |
| 49       | %24.48  | %24.25  | %28.95  |
| 50       | %2.03   | %6.86   | %1.42   |
| 51       | %2.46   | %-6.88  | %7.13   |
| 52       | %-9.95  | %-6.53  | %-8.34  |
| 53       | %16.88  | %17.90  | %14.40  |

\*a. Heparin doz 1.1 Ü/ml    b. Heparin doz 4.4 Ü/ml    c. Heparin doz 11 Ü/ml

**Tablo 18. Hastalara Heparin uygulamasından ortalama 10 gün sonraki trombosit agregasyon parametreleri**

| <b>Hasta no</b> | <b>AGG(1)a</b> | <b>AGG(1)b</b> | <b>AGG(1)c</b> |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1               | %-0.7          | %2.60          | % 4.60         |
| 2               | %-13.41        | %-14.99        | %-16.55        |
| 3               | %6.68          | %6.76          | %7.34          |
| 4               | %17.93         | %5.09          | %15.47         |
| 5               | %0.22          | %-1.77         | %4.07          |
| 6               | %-21.0         | %8.16          | %14.15         |
| 7               | %5.41          | %9.93          | %8.01          |
| 8               | %3.38          | %7.59          | %4.55          |
| 9               | %24.02         | %21.00         | %21.00         |
| 10              | %12.02         | %7.38          | %14.79         |
| 11              | %8.80          | %8.50          | %5.52          |
| 12              | %10.62         | %14.36         | %13.19         |
| 13              | %-2.23         | %7.55          | %5.08          |
| 14              | %3.97          | %6.56          | %5.94          |
| 15              | %0.61          | %5.31          | %7.08          |
| 16              | %-2.53         | %-2.66         | %8.08          |
| 17              | %-8.47         | %-10.43        | %2.30          |
| 18              | %3.62          | %5.74          | %2.60          |
| 19              | %4.64          | %4.44          | %-1.58         |
| 20              | %12.63         | %10.03         | %12.87         |
| 21              | %-7.35         | %-8.93         | %-0.68         |
| 22              | %-3.49         | %0.83          | %-13.33        |
| 23              | %9.56          | %12.45         | %6.9           |
| 24              | %8.18          | %7.27          | %6.51          |
| 25              | %10.11         | %10.47         | %9.63          |
| 26              | %-0.06         | %0.58          | %4.03          |
| 27              | %5.43          | %4.62          | %7.63          |
| 28              | %5.44          | %7.04          | %7.04          |
| 29              | %-2.48         | %-1.23         | %-3.58         |
| 30              | %-6.76         | %-1.78         | %-1.92         |
| 31              | %17.67         | %13.95         | %14.60         |

| Hasta no | AGG(1)a | AGG(1)b | AGG(1)c |
|----------|---------|---------|---------|
| 33       | %10.65  | %1.12   | %1.12   |
| 34       | %2.41   | %8.05   | %1.23   |
| 35       | %16.10  | %12.41  | %16.48  |
| 36       | %6.49   | %5.69   | %7.34   |
| 37       | %7.27   | %6.59   | %10.49  |
| 38       | %-1.39  | %-2.50  | %-2.27  |
| 39       | %7.33   | %3.56   | %2.58   |
| 40       | %9.59   | %6.80   | %0.10   |
| 41       | %2.57   | %1.47   | %1.39   |
| 42       | %-4.63  | %-1.84  | %-1.01  |
| 43       | %17.82  | %17.21  | %24.13  |
| 44       | %-3.33  | %-4.48  | %-4.88  |
| 45       | %3.54   | %21.33  | %3.81   |
| 46       | %14.30  | %4.39   | %20.77  |
| 47       | %19.99  | %10.12  | %9.60   |
| 48       | %3.65   | %3.06   | %-0.80  |
| 49       | %8.20   | %9.00   | %8.02   |
| 50       | %5.52   | %6.01   | %5.00   |
| 51       | %-0.68  | %3.65   | %0.06   |
| 52       | %-5.40  | %-8.67  | %-4.46  |
| 53       | %7.86   | %14.35  | %14.40  |

\* a. Heparin doz 1.1 Ü/ml    b. Heparin doz 4.4 Ü/ml    c. Heparin doz 11 Ü/ml

**Tablo 19. Heparin sonrası agregasyon yanıtı saptanan 3 olgunun verileri**

| Olgu no   | Yaş (ay) | Cins | Hasta grubu | Hastalığı | Trombosit       |
|-----------|----------|------|-------------|-----------|-----------------|
| 1 (D.Ö.)  | 72       | K.   | Kardiyoloji | ASD       | 292.000→261.000 |
| 2 (F.İ.A) | 120      | K.   | Kardiyoloji | PDA       | 285.000→226.000 |
| 3 (Y.Y)   | 46       | K.   | Kardiyoloji | VSD       | 380.000→250.000 |

**Tablo 20. Heparine bağlı agregasyon yanıtı alınan 3 olgudan veriler**

| HEPARİN DOZLARI        |                            |                            |                            |
|------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Sıra No.<br>İsim       | 1,1 Ü/ml                   | 4,4 Ü/ml                   | 11 Ü/ml                    |
| 1. (D.Ö.)              | % 4,2 → % 17,62<br>(% 23)  | % 3,29 → % 13,95<br>(% 24) | % 6,19 → % 14,6<br>(% 42)  |
| 2. (F.İ.A)             | % 3,24 → % 16,10<br>(% 20) | % 3,93 → % 12,41<br>(% 31) | % 4,23 → % 16,48<br>(% 26) |
| 3. (Y.Y.)              | % 3,55 → % 14,30<br>(% 25) | % 3,36 → % 14,39<br>(% 23) | % 5,75 → % 20,77<br>(% 28) |
| Ortalama artış yüzdesi | % 23                       | % 26                       | % 32                       |

\* Hastalardaki agregasyon artışı yüzdesi parantez içinde belirtilmiştir



**Tablo 21. Trombosit sayısı azalan 4 olgunun ileri izlem bilgileri**

| Hasta No.<br>İsim | Cins | Yaş (ay) | Klinik Sonuç   | Güncel<br>Trombosit<br>Sayısı |
|-------------------|------|----------|--|-------------------------------|
| 1- Y.N.           | E    | 24       | Kafa travması<br>Nörolojik sekel<br>Viral enfeksiyon | 131.000                       |
| 2- C.K.           | E    | 12       | Kafa travması<br>Nörolojik sekel                     | 408.000                       |
| 3- D.M.           | E    | 12       | Pnömoni<br>(Şifa)                                    | 486.000                       |
| 4- H.N.A.         | K    | 12       | AML. Sepsis<br>(Exitus)                              | 29.000                        |

## TARTIŞMA

Heparin çok uzun yıllardan beri hem erişkinlerde hem de çocuklarda kullanılan etkin bir anti-koagulan ilaçtır. Çok uzun yıllar standart heparin ön planda kullanılmakla birlikte son 10 yılda önce erişkinlerde daha sonraki yıllarda ise çocukluk yaş grubunda düşük molekül ağırlıklı heparinler (DMAH) ön plana çıkmaya başlamıştır. Her iki heparin grubu da hem profilaksi amacıyla hem de tedavi amacıyla kullanılmaktadır (10-14).

Heparinler etkin olduğu kadar güvenilir moleküllerdir. Heparinlerin klinikte en iyi bilinen yan etkisi “kanama”dır. Buna doğal anti-koagulan etkisiyle neden olduğu iyi bilinmektedir. Ancak yüksek molekül ağırlıklı bir organik molekül oldukları düşünüldüğünde çok farklı ilaç yan etkilerinin ortaya çıkmasının sürpriz olmadığı da ortadadır.

Heparine bağlı trombositopeni (HİT) heparin kullanan hastalarda % 1-5 gibi oldukça sık oranda görülür (16). Ancak klinik olarak önemli olan HİT tablosu dışında da heparinle ilişkili trombositopeni kavramı mevcuttur. Heparin tedavisinden sonraki ilk birkaç günde başlayan ılımlı trombositopeni tedavinin devam etmesine karşın kısa sürede kaybolur ve önemli bir klinik sorun yaratmadan tamamlanır. Söz konusu reaksiyon (HİT-Tip I) heparinin doğrudan trombositler üzerine agregat edici etkisiyle olmakta ve heparin kullanan olguların yaklaşık % 5-30’unda görülmektedir. Agregat oluşturmuş trombosit kümeleri dalakta kolayca tahrip olmakta ve hastada trombositopeni olarak kendini gösterebilmektedir (10-12).

Ancak literatürde asıl sorunlu yan etki olarak adlandırılan Heparine bağlı trombositopeni yani “HİT-Tip 2” çok daha farklı bir kliniko-patolojik tablodur. Heparin trombositlerdeki PF4 molekülüne bağlandıktan sonra immunojenitesi artmakta ve buna karşı gelişen Anti-Heparin/PF4 antikoru ile Heparin/PF4 molekülleri önemli oranda immunkompleks oluşturmaktadır. Ortaya çıkan immunkompleksler trombositler ve endotel üzerinde hasta açısından ciddi problemler ortaya çıkarmaktadır. Trombositlere Fc reseptörleri yoluyla bağlanarak onları aktive eden immunkompleksler ortamdaki trombositlerin hızla azalmasına neden olmakta ve ortamda yoğun düzeyde trombin oluşumuna neden olarak “hiperkoagulabilite” süreci oluşturmaktadır. Bu klinik tablo heparin kullanmakta olan hastada gelişen trombositopeniyle birlikte yeni venöz ve/veya arteriyel trombozların ortaya çıkması nedeniyle hasta ve klinisyen açısından ciddi sıkıntı

yaratmaktadır (10-14). HİT-II tablosu heparine karşı gelişmiş ciddi bir yan etki olarak kabul edilebilir. Ortaya çıkan durum ilaca bağlı gelişmiş oto-immunite reaksiyonudur. Klinikte sık rastlanan bir trombositopeni olmamasına karşın mortalitesinin yüksek olması ve tıp kamuoyunda farkındalığının yüksek olmaması nedeniyle önemi artan bir hastalık olarak ön plana çıkmaktadır.

HİT-II sendromunda ortaya çıkan trombositopeninin heparin kullanımının 7-10. günlerinde ortaya çıkması çok tipiktir. Selim seyreden HİT-I tablosunun aksine heparine devam edilmesine ısrar edildiği takdirde hastada trombositopeni ile tromboz tablosu oturmakta ve % 30-50 oranında mortaliteye neden olmaktadır. Hastanın hayatının kurtulması klinisyenin söz konusu tablo hakkında ön bilgi sahibi olmasıyla mümkündür. Eğer heparin başlanan hastanın trombosit sayısı hastanede yatarken uygun şekilde monitorize edilmezse söz konusu tablonun ortaya çıkması dikkatten kaçabilir ve ortaya çıkan trombo-embolizm tablosu hastanın hayatını tehlikeye atabilir. Klinisyenin burada yapması gereken HİT-II tablosunu önceden sezerek hemen heparini sonlandırması ve onun yerine direkt trombin inhibitörlerinden birini alternatif anti-koagulan olarak başlamasıdır (17-20).

Söz konusu HİT-II tablosunu erken ortaya çıkarmak için heparin kullanmaya başlamadan önceki bazal trombosit sayısının da bilinmesi gerekir. Bu hastalarda başka nedenle hemogram bakılması gerekmeseyse bile 7-10. günlerde mutlaka hemogram bakarak trombosit sayısının yakından izlenmesi gerekir. En tipik özellik sözü edilen günlerde trombosit sayısında en az %50'si düzeyinde dramatik azalma olmasıdır. Hastada trombosit sayısının  $<150.000/mm^3$  olması şart değildir. İzlem sırasında çok düşük trombosit değerlerine ulaşılmaması da tipiktir. HİT tanılı hastalarda trombosit sayılarının genellikle  $30.000-80.000/mm^3$  düzeyinde seyretmesi ilginçtir. Durumu kritik olan ve anti-koagulan olarak heparin kullanılan kardiyovasküler cerrahi geçiren hastalarda post-op günlük trombosit sayısı izlemi yapılması önemle tavsiye edilir. Cerrahi olaylar medikal olaylara nazaran daha sık oranda HİT gelişmesine neden olmaktadır. HİT açısından en riskli olan operasyonların ise heparin kullanılan kardiyovasküler cerrahi operasyonları ve ortopedik cerrahi müdahaleler olduğu bilinmektedir. Medikal olaylar içinde ise en riskli gruplar yoğun bakım hastalarıdır (20). Çocuklarda ise en riskli grup kardiyovasküler cerrahi ve yenidoğan yoğun bakım hastalarıdır (25-27).

HİT-II tanısını kesin olarak koymak yani klinik olarak konulan HİT tanısını laboratuvar olarak konfirme etmek için ELISA ve Trombosit agregasyonu gibi özel testler mevcut olsa da klinik durumun aciliyeti nedeniyle mevcut klinik bulgular ve trombosit sayısının izlemi ile “erken tanı” koymak zorunludur. Erken tanı sonrası heparin hemen kesilerek alternatif ilaçların başlanması hastanın hayatını kurtarabilir. Bu konuda klinisyenin yapması gereken aksiyonlar Tablo 9’ da özetlenmiştir (17).

Erişkinlerde HİT sıklığı ile ilgili olarak çok sayıda epidemiyolojik çalışma yapılmıştır. Ortalama olarak % 1-5 civarında ortaya çıktığı bilinmektedir (11-13). En riskli hasta grubunun heparinin anti-koagulan olarak kullanıldığı kardiyo-vasküler ve ortopedik cerrahi hastaları olduğu rapor edilmektedir. Çocukluk yaş grubunda ise çok daha az sayıda yayın mevcuttur. Yayınların çoğu bebek ve çocuklarla ilgili dinamikler nedeniyle çoğunlukla retrospektif olarak yapılmıştır. Prospektif olarak yapılan çalışmalar erişkin grupta bile son derece azdır. Ülkemizde cerrahi ve medikal hastalardaki HİT sıklığı konusunda yapılmış çalışmalar Trakya Üniversitesinden Demir ve ark. aittir (28,29). Söz konusu medikal hastalarda standart heparinle daha sık oranda HİT gelişimi dikkati çekmektedir (28).

Demir ve ark. (28) sözkonusu çalışmasında 65 yaş civarında medikal hastalarda farklı heparin preparatları kullanılarak ve sadece 10 gün sonrasında alınan kan örneklerinde çalışılmaktadır. Standart heparin ile ELİSA pozitifliği % 18,9’ iken, DMAH ile % 4,16 bulunmuştur. Agregasyon yanıtları ise standart heparin ile % 21,6’ iken DMAH ile % 4,16 oranında patolojik olarak tanımlanmıştır. Çalışma sonucunda tek trombozlu HİT tanılı olgu ise standart heparin kullanan hastadır. Bizim çalışmamızda ise hiçbir olguda tromboz saptanmamış ve dördördüklük HİT klinik tanısı konulmamıştır. Ancak bizim çalışmamızın daha üstün olan yönü 53 hastadan hem heparin öncesi, hem de heparinden 10 gün sonrasında kan örneği alınmasıdır. Böylece yalancı pozitiflik riski (heparin öncesi) tamamen dışlanabilmiştir. Hasta sayımızın azlığı nedeniyle HİT tanılı hasta tanısı konulmaması sürpriz olmamıştır.

Çocukluk yaş grubunda ülkemizde bu konuda yapılmış ve uluslararası alanda rapor edilmiş bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmayı planlarken bu konudaki önemli eksiği gidermek amaçlarımızdan biriydi. Çalışma projesi öncelikle “gözlemsel ilaç araştırması” olarak hazırlanmış ancak Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğünden bu konuda “gözlemsel ilaç araştırması” onayı almak mümkün olmamıştır. Her ne kadar ilk

çalışma planımız “tamamen gözlemsel olarak” tıbbi zorunluklar nedeniyle heparin başlanmadan hemen önce ve sonrası 10.günlerde trombosit sayısının kontrol edilmesi ve söz konusu dönemlerde alınan kan örneklerinden elde edilen serum örneklerinin ELISA ve Heparinle uyarılmış agregasyon testi amacıyla uygun ortamda saklanmasından ibaret olsa da “heparin tedavisi öncesi” kan örneği alınması nedeniyle söz konusu çalışmanın “gözlemsel bir çalışma olamayacağı”, ilaç öncesi kan alınmasının “müdahale olduğu” gerekçeleriyle bakanlığa yapılan başvuru tekrar “faz-4 ilaç araştırması” formatında tekrarlandı. Etik kurul ve Sağlık Bakanlığından Faz-4 ilaç araştırması izni alınmasından sonra çalışmaya başlamak mümkün olabildi.

Çalışmaya başlarken ilk planımız heparini tedavide ve profilakside kullanan 100 hastalık bir çalışma grubuna ulaşmaktı. Ancak 2 yıla ulaşan bir zaman sürecinde çocukluk yaş grubundaki kritik çocuk hastaların ailelerinden gerekli izni alabilmek ve kan örneği almakta yaşanan sorunlar nedeniyle ancak profilaktik heparin alan 70 hastaya ulaşabildik. Yine de literatürde belirtilen %0.5-4 arasındaki HİT sıklığı rakamları nedeniyle 50 hastanın üzerine çıkabilmemizin de bilimsel bir sonuç elde edebilmek açısından değerli olduğunu düşünüyoruz. Çalışmamızın kesitsel değil “prospektif” olması yani aynı hasta grubunda heparin öncesi ve 10. günlerdeki serum örneklerinde çalışma imkanı sağlanması gerçekten de HİT tablosunun çocuklardaki sıklığını ortaya koyabilecek özellikte idi. Ancak hasta alımındaki sorunlar nedeniyle tedavi dozunda ve uzun süre heparin kullanan hastalarımızın olmamasının HİT ortaya çıkmasını olumsuz olarak etkilediği söylenebilir.

Gereç ve Yöntem bölümünde ayrıntılı olarak anlatıldığı gibi 70 hastayla çalışmaya başlanmış olmasına karşın farklı nedenlerle ancak 53 hastada çalışma parametreleri eksiksiz olarak tamamlanabildi. 2 yılı aşkın bir süreye rağmen tek bir hastada bile klinik olarak (trombositopeni ve tromboz bulgularıyla) HİT tanısı koymak mümkün olmadı. Çalışmamızda 53 hastada heparin uygulamasının 10. günü yapılan kontrollerde 5 olguda trombosit sayısı azalması saptandı. Söz konusu olgularda trombosit sayısının “bazale göre % 50’den fazla” yani dramatik olarak azalması yani HİT tablosunu düşündüren bir gelişme izlendi. Ancak başlangıçta ılımlı trombositopenisi olan ve daha sonraki klinik takiplerinde HUS tanısı alan ile AML ve sepsis tanısıyla izlenen 2 hasta dışlandığında kalan 3 hastada da başlangıçta trombositopeni mevcut değildi. Bununla beraber söz konusu 3 olguda da HİT ile uyumlu olarak pozitif olarak saptanması beklenen ELISA ve Agregasyon testlerinde olumlu yanıt alınamadı (Tablo 13). Bu

nedenle sırasıyla travma ve pnömoni tanılarıyla Yoğun Bakımda takip ve tedavi altındaki 3 hastada da HİT tanısı koymak mümkün olmadı. Ancak izlem sırasında trombositopeni saptanmayan farklı 4 olgunun 3'ünde Agregasyon testi pozitifliği yanısıra diğer 1 hastada da sınırdan ELISA testi pozitifliği saptandı (Tablo 16 ve 19).

Trombosit sayılarına bakıldığında başlangıçta HİT kuşkusu duyulan 4 hastanın HIT olmadığı ve trombositopenilerinin başka nedenlere bağlı olduğunun gösterilmesi sonrası çalışma grubumuzda trombositopeni ve tromboz ile ortaya çıkmış "tipik bir HİT olgusu" saptanamadığı görülmektedir. Ancak trombositopeni oluşturmamakla birlikte toplam 4 ayrı olguda (1 olguda ELISA, 3 olguda Agregasyon testiyle) HIT yönünde pozitif laboratuvar bulgusu ortaya konmasının önemli bir veri olduğunu düşünüyoruz. Söz konusu bulguların heparin öncesi mevcut olmaması ve heparin uygulaması sonrasında ortaya çıkmış olması önemini arttırmaktadır. Ancak bu süreci heparinle ilişik ama ılımlı düzeyde immünolojik tablo olarak yorumlamanın mümkün olduğunu düşünüyoruz. Çalışmamızda anlamlı trombosit azalması gözlenen ancak HİT tanısı konulmayan 4 olgunun çalışma sonrası günlerdeki prognozları ayrıca tanı açısından kuşkusuz ipucu olacaktır. Tablo 21'de 4 olgunun son durumları ve güncel trombosit sayıları özetlenmiştir. Olgulardan biri AML ve sepsis tanısı ile kaybedilmiştir. Diğer 2 olgu ise normal trombosit sayıları ile takip altındadır. Güncel trombosit sayısı 131.000 olan olguda ise yakın dönemde pansitopeni oluşturan bir ağır viral enfeksiyon tanısı mevcuttur. Sonuç olarak 4 hastamızın da HİT tanısı ile ilgisi olmadığı ileri izlem tabloları ile ortaya konmuş olmaktadır (Tablo 21).

Literatürde HİT gelişme riski açısından standart heparin'in DMAH'ne nazaran çok daha yüksek risk oluşturduğu bilinmektedir. Hatta son yıllarda klinikte DMAH'in ön planda kullanılmasıyla HİT olgularının sayısında anlamlı azalma olduğu vurgulanmaktadır (12,17). Ülkemizden yapılan en kapsamlı çalışma olan Demir ve ark (28) çalışmasında da standart heparin uygulamasıyla daha yüksek oranda HİT tablosu geliştiği hatta bunlardan bir olguda da tromboz saptandığı ortaya konmuştur. Söz konusu çalışmada DMAH kullanan hiçbir olguda klinikte tromboz saptanması da rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise çalışmaya alınan 70 olgu da standart heparin kullanıyordu. Hiçbir olgumuzun DMAH kullanmamasına rağmen "tanısı konfirme edilmiş bir HİT hastası" saptanmamasının farklı nedenlere bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Heparin dozu ve uygulama süresinin HİT oluşumunda önemli rolü olduğu belirtilmektedir. HİT tablosunun en sık olarak kardiyovasküler cerrahide ve ortopedik operasyonlar sonrasında olduğunun ortaya konulması bu parametre ile açıklanmaktadır (13,14). Bu açıdan bakıldığında bizim çalışma grubumuzdaki hiçbir hastada “heparinizasyon” yani tedavi edici dozda heparin kullanılmadığı ortadadır.

Olgularımızın hepsinde sadece “profilaktik olarak” standart heparin kullanılmıştır. Çalışma grubumuz 2 büyük risk grubundan oluşmaktadır. Bunlar Yoğun Bakım hastaları ve Anjio uygulanacak konjenital çocuk kalp hastalarıydı. Yoğun bakım hastalarında takılı olan sentral kataterlerin açık tutulabilmesi amacıyla rutin olarak sürdürülen ‘flush’ uygulaması ile günlerce uygulanan heparin uygulaması söz konusu iken, kardiyoloji hastalarında anjio öncesi 50 IU/kg lık tek dozda uygulanan standart heparin dozu söz konusudur. Kardiyoloji hastalarında heparinle temas süresinin oldukça kısa olması, yoğun bakım hastalarında ise günde en az 4 kez uygulanmasına karşın sadece ‘flush’ yapmak için oldukça dilue olarak heparin uygulanmış olması elde ettiğimiz oranın düşük olmasını açıklayan yaklaşımlardan biri olabilir.

ELISA testinin HİT tanısında en sık kullanılan test olduğu kuşkusuzdur. Ancak daha önce ifade edildiği gibi erken tanının aslında tamamen klinik olarak konulması ve bu olgularda heparinin hemen kesilmesi ve HİT’e spesifik ilaçlara geçilmesinin hayati önem taşıdığı bilinmektedir (17). Ancak HİT riskinin sık olduğu cerrahi olguların bir bölümünde tanı amacıyla heparinden 7.-10. gün sonra anlamlı trombositopeni gözlenen hastalarda ELISA testi bakılması tercih edilen bir uygulamadır. Bununla birlikte ELISA testinin duyarlılığının yüksek olması yanında özgüllüğünün düşük olması ilgi çekicidir. Yani ELISA (-) sonuçlarla HIT ekarte edilmesi söz konusu iken hatalı (+) ELISA sonuçları da sık oranda karşımıza çıkabilmektedir (19). Söz konusu çalışmada yoğun bakım hastalarında heparin tedavisi öncesi alınan ELISA örneklerinde % 10,8 oranında pozitiflik saptanırken, 7 günlük heparin uygulaması ile bu oran % 29,2 olmuştur. Ayrıca 2012 yılında sağlıklı erkeklerde yapılan çalışmada heparinle temas etmeyen 4/48 olguda % 8 oranında Anti-Heparin PF-4 antikoru tesbit edilmiştir. Söz konusu çalışmalar ELISA ile hatalı pozitif oranın yüksek olduğunu göstermektedir (19,30). Literatürde ilk planda önerilen öncelikle trombosit sayısı ve klinik olarak HİT olasılığının ön planda olup olmadığının “4T skalası” (17) ile gözden geçirilmesi kuşku olgularda ELISA ile confirmasyonun sağlanmasıdır. Ancak hastalığı ekarte etmek için ideal olanı “fonksiyonel” bir test yani trombosit agregasyonu testiyle kontrolün yapılmasıdır. Ancak ELISA ve Agregasyon testlerinin erken HIT tanısı için günlük pratikte kullanılmasının

çok özel kardiyovasküler cerrahi uygulayan merkezler dışında mümkün olmaması nedeniyle bu testler ancak akademik çalışmalarda kullanılmaktadır.

Çalışmamızda sadece bir olguda kuşkulu pozitif ELISA saptanmasının yine de anlamlı olduğunu düşünüyoruz. Çünkü Schmugge ve ark. nın (18) ELISA testinin çocuk popülasyonundaki önemini vurguladıkları çalışmada ELISA testlerinin normal değerlerinin sadece erişkin popülasyonunda test edildiği, çocuklarda seçilmesi gereken “cut-off düzeyinin” aslında çok daha düşük düzeyde olması gerektiği ortaya konulmuştur. Söz konusu yayında ve bizim çalışmamızda kullanılan ticari ELISA kiti Stago firmasının ürettiği ticari kit olup gerçekten de tamamen erişkin hastalardan elde edilen normal değerlere göre kalibre edilmiştir. Çalışma grubumuzun yaş dağılımının hayatın ilk birkaç yılı periyodunda olduğu hatırlanırsa bu yaş grubundaki antikor oluşturma kabiliyetinin erişkinlere nazaran oldukça düşük olmasının beklendiği ortadadır. Bu nedenle erişkin yaş grubuyla elde edilmiş test cut-off değerinin aslında çocukluk yaş grubu için daha düşük olması gerektiğini düşünerek bir hastada elde ettiğimiz sonucun hasta çocuğumuz açısından gerçekten “ELISA pozitifliği” olduğunu düşünüyoruz. Bu durumda prospektif olarak heparin öncesi ve heparin sonrası kan örnekleri çalışılan 53 olgumuzun 1’inde ELISA (+) liği elde edildiğini düşünerek elde edilen Anti-Heparin-PF4 antikor pozitifliği sıklığının (1/53) yani % 1,8 düzeyinde olduğunu düşünüyoruz. Ayrıca çalışma grubunda heparin öncesi ve sonrası elde edilen optik absorbanların ortalama değerlerinin yardımıyla çizilen grafik Şekil 9’ da izlenmektedir. Burada her 2 grup arasında anlamlı fark olduğunun gösterilmesi ilgi çekicidir. Bu durum bize koruma dozunda kullanılan standart heparin uygulamasıyla bile çocukluk yaş grubu hastalarında heparin sonrası Anti-Heparin-PF4 antikorlarının gelişebileceği açısından ipucu olabilir.

Ancak ELISA (+) liği saptadığımız söz konusu olgumuzda Heparinle Agregasyon testinin (+) olarak saptanmaması tartışmaya açıktır. Buradaki olası seçeneklerden biri elde edilen ELISA sonucunun yani Anti-Heparin-PF4 antikorlarının yalancı (+) olarak değerlendirilmesi söz konusu olabilir. Daha önce vurguladığımız üzere literatürde hatalı (+) ELISA sonuçları nadir olmayarak bildirilmektedir (19,30).

Bunun yanında 3 olgumuzda heparine bağlı agregasyon testinde (+) sonuç alındığı görülmektedir. Söz konusu olgularda elde edilen fonksiyonel değerler dikkatle incelendiğinde heparinle elde edilen maksimum agregasyon yüzdelerinin % 20 düzeyini



aşmadığı dikkati çekmektedir. Buna karşın her 3 olguda da heparin öncesi serum örnekleriyle elde edilen agregasyon düzeyinin heparin sonraki aynı hastaların serumlarında yaklaşık 3-4 kat yani dramatik olarak artması test protokolüne göre (+) değer ile eş anlamlıdır. Bu nedenle bu 3 olguda heparin sonrası saptanan agregasyon artışının HİT açısından anlamlı olabileceğini düşünüyoruz. Söz konusu 3 olgu yakından incelendiğinde her 3 hastanın da kardiyoloji hastası olduğu ve sırasıyla ASD, VSD ve PDA tanılarıyla anjio yapıldıkları görülmektedir (Tablo 19). Bu hastaların hiçbirinde trombosit sayısı 10. günlerde anlamlı olarak azalmamış ve ELISA testi (+) olarak saptanmamıştır. Yani bu 3 hastayı tipik HİT olgusu olarak görmek mümkün değildir. Literatüre bakıldığında söz konusu hastalarda PF4 yolağından daha başka yollardan heparin duyarlılığı gelişme imkanının olduğu yolunda bazı yaklaşımlar olduğu dikkati çekmektedir. Gerçekten de az sayıda olguda (%15) Heparin-PF4 kompleksinden bağımsız olarak IL-8 veya NAP-2 yolu üzerinden HIT tablosu gelişebildiği gösterilmiştir (31,32). Bu hastalarda ELISA (+) liğinin gösterilmesi olayın Heparin-PF4 yolağından bağımsız olması nedeniyle mümkün olmamaktadır. Ancak bizim olgularımızda yani Heparine bağlı agregasyon testi (+) bulunan 3 hastada normal ELISA testleri yanısıra trombosit sayılarında düşme de izlenmemiştir. Yani aşırı trombosit aktivasyonu tablosu ortaya çıkmamıştır. Bu nedenle bu hastalarda agregasyon artışının hatalı (+) olarak değerlendirilmesi de mümkündür. Elde edilen maksimum agregasyon yüzdelerinin en çok % 20 düzeyinde olması da bu yaklaşımı desteklemektedir. Ancak non-spesifik nedenlerle trombositlerin aktive olmasının teknik olarak önlenmesi için test öncesi hasta serumunun 45 derecede bir süre ısıtılması önerilmektedir. Heparine bağlı trombosit agregasyonu testi sırasında söz konusu ısıtma işlemini düzenli olarak uyguladığımız için non-spesifik aktivasyonu bir ölçüde önlediğimiz düşünülebilir. Ancak yukarıda vurgulandığı gibi heparin kullanan hastalarda elde edilen en yüksek maksimal agregasyon yüzdelerinin % 20 den yüksek olmaması ve hiçbir hastada HİT kliniği olmaması bu hastalardaki agregasyon verilerinin HİT tablosu ile doğrudan ilişkilendirilmesini önlemektedir.

Literatürde koruma amaçlı sentral kataterlerin heparinle flushing yapılmasının bile HİT tablosu oluşturma riski yaratabileceği vurgulanmaktadır. Spadone ve ark. (26) sadece flushing uygulanan infantil yoğun bakım hastalarında % 3,7 oranında ELİSA pozitifliği bildirmektedir. Lombardi ve ark. (33) yaptıkları çalışmada sadece serum fizyolojik kullanarak flush yapılması ile de kataterlerin açık kalması açısından benzer sonuçlar bildirmektedir. Bizim çalışmamızdaki yoğun bakım hastalarının tamamı da

klirik protokol gereğince flushing yöntemi ile dilue heparin solüsyonuna maruz kalmaktadır. Trombosit sayısı belirgin azalan 4 çalışma hastamızın da yoğun bakım hastası olması ilgi çekicidir.

Çalışmamızın ana konusu HİT sıklığının saptanması olduğundan olayın tedavi ve izlem tarafı ayrıntılı olarak değerlendirilmemiştir. Ancak pediatriye nadir görülen bu mortalitesi hayli yüksek olan klinik tablonun yönetimi ve tedavisi için (34-43 No' lu) yayınlar ayrıntılı olarak incelenebilir. Çalışma grubumuzda 2 yıllık bir hasta takibine karşın HİT tanısı konulan çocuk hasta tesbit edilmediği için tedavi yaklaşımlarına ayrıntılı olarak değinilmemiştir.

Sonuç olarak heparine bağlı trombositopeni yani HİT-II tablosu aradığımız ve elimizde heparin başlamadan ve 10 gün sonraki serum örnekleri bulunan 53 hastada elde ettiğimiz “laboratuvar sonuçlarının” bu konudaki literatürle uyumlu olduğu söylenebilir. Yani “koruma dozunda” ve “flushing amacıyla”da kullanılmış olsa çocukluk yaş grubu hastalarında da standart heparin kullanılması sonrasında HIT açısından ılımlı bir reaktivite dikkati çekmektedir. Çalışma sürecinde 2 yılda toplanan örneklerde klinik ve laboratuvar açılarından dördördü bir HIT hastası tanısı koymak mümkün olmamıştır.

Ancak birkaç hastada elde ettiğimiz ELISA ve Agregometre aktivitesi değerlerinin hastalarda trombositopeni gözlenmemesine karşın ılımlı da olsa bir heparin reaktivitesi ile uyumlu olduğu görüşündeyiz. Bu nedenle tıpkı erişkinlerde olduğu gibi heparin kullanan çocuklarda HİT komplikasyonu konusunda farkındalığı arttırmanın yerinde olacağını düşünüyoruz. Çalışma grubundaki tüm hastalarda sadece koruma dozunun kısa sürelerle kullanıldığı ve heparin tedavisinin günlerce ve hatta aylarca kullanıldığı trombo-embolizmlili çocuklarda HİT tablosunun çok daha yüksek bir oranda karşımıza çıkabilecek olması da önemli bir olasılıktır. Bu nedenle gerek koruma gerek tedavi dozunda heparin kullanılan çocukluk yaş grubu medikal ve cerrahi hastalarda HIT komplikasyonunun göz ardı edilmemesi ve alternatif anti-koagulan ilaçların hazırda bekletilmesinin yerinde olacağını düşünüyoruz.

Çocukluk yaş grubunda yoğun bakım hastaları ve kardiyoloji hastası çocuklarda tamamladığımız bu faz-4 ilaç araştırmasıyla çocukluk yaş grubunda heparin kullanımı ile az da olsa bazı laboratuvar parametrelerinin etkilendiğini ortaya koyabilmemizin

ocuk hekimleri açısından klinik farkındalığı arttırmak yönünden önemli olduğunu düşünüyoruz.

Daha önce yayınlanmış konuyla ilgili makalelerden elde ettiğimiz bilgiler ve 2 yıldan fazla süren bu tez çalışmasından elde ettiğimiz veriler heparini koruma veya tedavi edici dozlarda kullanan çocuklarda da tıpkı erişkinlerde olduğu gibi heparine bağlı ciddi advers reaksiyonlar ortaya çıkmasının muhtemel olduğunu düşündürmektedir. Günlük pratikte her an karşımıza çıkabilecek HİT olayına karşı dikkatli olmalıyız. Olayın nadir olmasına rağmen, mortalitesinin yüksek olması pediatri hekimlerinin bilgisi dahilinde olması gereken temel bir bilgidir. Günümüzde bir çok pediatri hastasında koruma veya tedavi amacıyla heparin kullanılmaktadır. Yoğun bakımlar bunun en sık kullanıldığı bölümlerdir. HİT tablosunun tüm ocuk hekimlerinin ayırıcı tanı sıralamasında yeri olması gerektiği görüşünde yiz.

## SONUÇLAR

Heparin kullanan hastalarda % 0.5-5 oranında tanımlanan heparine bağlı trombositopeni (HİT) yüksek mortalitesi nedeniyle klinik önem kazanmaktadır. Bu çalışmanın amacı koruma amaçlı heparin kullanan hasta çocuklarda prospektif olarak HİT gelişme sıklığını ortaya koymak idi. Başlangıçta 70 hasta çalışmaya alınmakla birlikte eks olan (n=4) ve yeterince örnek alınamayan veya kontrole gelmeyen (n=13) hastalar nedeniyle değerlendirme verileri eksiksiz olan 53 hasta üzerinde gerçekleştirildi.

Tamamında standart heparin (Nevparin) kullanılan hastaların 30'ı kız, 23'ü erkekti. Yaş ortalamaları 52 ay (yaş dağılımı; 1 -204 ay) idi. Hastaların 28'i yoğun bakım hastası iken 25'i doğumsal kalp hastalığı nedeniyle anjio yapılacak olgulardı. Heparin yoğun bakım hastalarında "flushing" amacıyla kullanılırken, kardiyoloji hastalarında 50 U/kg IV bolus olarak tek dozda uygulandı. Ailelerinden yazılı izin alındıktan sonra hasta çocuklardan heparin öncesi ve yaklaşık 10 gün sonrasında kan örnekleri alındı. Trombosit sayısı, Anti-Heparin/PF4 antikoru, Heparine bağlı trombosit agregometrisi analizleri yapıldı. Hastaların klinik ve laboratuvar olarak HİT açısından prospektif olarak değerlendirmesi yapıldı. Alınan sonuçlara göre;

- 1- İki yıllık izlem sonrasında hiçbir olguda tromboz kliniği dahil HİT tanısı konulmadı.
- 2- Olgulardan sadece 4'ünde heparin sonrası trombosit sayısında anlamlı azalma izlendi. Bu olgulardan da sadece birinde trombosit sayısı <150.000/mm<sup>3</sup> idi.
- 3- Heparin öncesi ve sonrası trombosit sayıları ortalamaları sırasıyla 326.600±118.201 ve 337.050±149.373 bulundu. İstatistiksel olarak fark bulunamadı.
- 4- ELISA testinde elde edilen optik absorbans değerleri heparin öncesi ve sonrasında ortalama düzey olarak değerlendirildiğinde (0.119±0.061 ve 0.258±0.262) aradaki farkın anlamlı olarak fazla olduğu saptandı (Wilcoxon testi; p<0.0001).
- 5- Ancak sadece bir hastada sınırda pozitif (OD: 1,374) ELISA testi (Anti-Heparin/PF4 antikoru) saptandı. 52 hastada ise negatif sonuç alındı.

- 6- Heparine bağlı agregasyon ölüm testlerinde farklı heparin konsantrasyonlarında heparin sonrası elde edilen ortalama değerlerde anlamlı artışlar saptanmadı.
- 7- Sadece 3 hastada heparine bağlı agregasyon değerleri heparin sonrasında >%20 düzeyinde artış yani olumlu yanıt saptandı. Bu hasta grubundaki heparin sonrası agregasyon artışları sırasıyla %23, %26 ve %32 olarak kaydedildi.
- 8- Trombositopeni saptanan 4 olguda da ELISA ve Agregasyon testleri normaldi. Tamamı yoğun bakım hastası olan bu olgularda saptanan trombosit azalması etiyopatolojisi primer hastalıkları ile ilişkilendirildi (kafa travması, AML/sepsis, Pnömoni). Trombosit sayısı azalan 4 olguyla, azalmayan kalan 49 olguda yapılan değerlendirmelerde anlamlı farklar bulunamadı.
- 9- Sınırdaki ELISA (+) liği bulunan tek hasta A/V şant nedeniyle yoğun bakımda izlenen 96 aylık erkek hasta olup trombosit azalması veya heparine bağlı agregasyon artışı saptanmadı. Bu hastadaki Anti-Heparin/PF4 düzeyi yalnızca pozitiflik olarak yorumlandı. HİT tablosu ile uyumlu bulunmadı. ELISA değerleri negatif bulunan olguların diğer verileri incelendiğinde pozitif bulunan tek olguya nazaran anlamlı fark gözlenmedi.
- 10- Heparine bağlı agregasyon yanıtı alınan 3 olgunun tamamı kardiyoloji hastası (ASD, VSD, PDA) olup hiçbirinde trombosit azalması veya antikor pozitifliği saptanmadı. Bu nedenle elde edilen agregasyon artışı “non-spesifik agregasyon” olarak yorumlandı. HİT ile ilişkilendirilmedi. Agregasyon yanıtı alınamayan 50 olgunun verileri söz konusu 3 olgunun verileriyle karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı.

Sonuçta tamamı profilaktik amaçla standart heparin kullanan 53 yoğun bakım ve kardiyoloji hastasında yapılan araştırmamızda hiçbir olguda HİT kliniği saptanmadı. Bazı hastalarda elde edilen pozitif laboratuvar verileri ise “non-spesifik” olarak yorumlandı. Ancak ELISA testinde elde edilen heparin sonrası anlamlı artış ilgi çekici olarak bulundu. Olgu sayısının artırılması ve tedavi dozunda heparin kullanan hastaların çalışmaya dahil edilmesinin HİT tanılı hastalara ulaşma şansını arttıracakđı düşünüldü.

## ÖZET

Heparine bağılı trombositopeni (HİT) nadir olmakla birlikte, yüksek mortalite riski nedeniyle önemli bir advers ilaç reaksiyonu olarak bilinmektedir. Erişkin ve çocuk hastalarda yapılan çalışmalarda heparin kullanımı sonrasında % 0.5-5 sıklıkta HİT gelişimi tanımlanmaktadır.

Çalışmamızın amacı ülkemizde ilk kez heparin kullanılan çocuklarda HİT gelişme sıklığını prospektif olarak saptamaktır. Faz-4 ilaç araştırması olarak Etik Kurulu onayı ve Sağlık Bakanlığı izni sonrası 2010 yılında başlanan çalışma 2 yıl süreyle sürdürüldü. Hasta bulunmasındaki zorluklar nedeniyle sadece koruma amaçlı heparin kullanılan hastalar çalışmaya alındı. Yeterince kan örneği alınamayan ve kontrole gelmeyen 13 ile eks olan 4 hasta çalışma dışı bırakılarak izlemleri eksiksiz yapılan 53 olgu değerlendirildi. Hastaların yaş ortalaması 52 ay olup yaş dağılımı 1-204 ay idi. 30 hasta kız ve 23 hasta erkekti. Hastaların 28'i yoğun bakımda takip altında olup "flushing" amacıyla heparin kullanıyordu. Kalan 25 hasta ise anjio işlemi öncesi tek doz heparin kullanılan doğumsal kalp hastası çocuklardan oluşuyordu. Tüm hastalar kendi rutin pratiklerine uygun dozlarda ve sürelerde standart heparin (Nevparin) kullandılar. Ebeveynlerinden yazılı olarak onay alınması sonrasında heparin kullanımı öncesi ve yaklaşık 10 gün sonrasında olmak üzere 2 kez kan örneği alındı. Trombosit sayısı (Cell Dyn 3700; Abbott otomatik sayıcısı), Anti-Heparin/PF4 antikoru (ELISA; Asserachrom HPIA-Ig G, Diagnostica Stago), Heparine bağılı trombosit agregometrisi (APACT-4004; Tokra Medikal) cihazları ile Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi Hematoloji laboratuvarında analiz edildi. Elde edilen laboratuvar değerleri EUTF Biyoistatistik Anabilim Dalında istatistiksel olarak değerlendirildi.

Yaklaşık 2 yıllık bir izlem sonrasında takip edilen 53 olgunun hiçbirinde tromboz dahil HİT kliniği saptanmadı. Ancak 4 olguda HİT ile uyumlu olarak heparin öncesine nazaran % 50'ye yakın trombosit sayısı azalması saptandı. Hepsi yoğun bakım hastası olan bu hastaların hiçbirinde Anti-Heparin/PF4 antikoru veya Heparine bağılı agregasyon artışı saptanmadı. Olguların trombositopenileri primer hastalıkları (kafa travması, AML/sepsis, pnömoni) ile ilişkilendirildi. Trombosit sayısı azalan 4 ve azalmayan 49 olgunun parametreleri arasında anlamlı fark bulunamadı.

Takip altındaki 53 olgudan sadece birinde sınırdan (+) olarak Anti-Heparin/PF4 antikorunu (OD: 1.374) saptandı. Ancak söz konusu olguda trombosit azalması, agregasyon yanıtı ve tromboz kliniği saptanmadığından yalancı pozitiflik olarak değerlendirildi. Pozitif bulunan tek olguyla kalan 52 olgunun verileri arasında anlamlı fark bulunmadı.

Ancak 53 olguda heparin öncesi ve sonrası elde edilen ELISA verileri ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış saptandı ( $0.119 \pm 0.061$  ve  $0.258 \pm 0.262$ ) (Wilcoxon testi;  $p < 0.0001$ ). Olguların sadece üçünde heparin sonrası  $> \%20$  agregasyon yanıtı saptandığından heparine bağlı agregasyon yanıtı (+) kabul edildi. Ancak tamamı kardiyoloji hastası olan ve tek doz heparinle temas eden bu olgularda trombosit sayısı azalmadığından ve ELISA testi pozitif olmadığından hastalardaki sonuçlar PF4 kökenli HİT lehine olmayıp heparine bağlı "non-spesifik yanıt" olarak yorumlandı. Agregasyon yanıtı alınan 3 olgu ile alınmayan 50 olgunun verileri değerlendirildiğinde aralarında anlamlı fark bulunmadı.

Sonuçta standart heparini koruma amaçlı kullanan 53 yoğun bakım ve konjenital kardiyopati hastası çocukta klinik ve laboratuvar olarak HİT tanısı konulmadı. Az sayıda hastada gözlenen laboratuvar değişikliklerinin non-spesifik olduğu düşünüldü. Bununla birlikte heparin sonrası antikor testinde ortalama değerler arasında bulunan anlamlı artış hasta bazında cut-off değerlerinin altında kalmış da olsa ilgi çekici bulundu. Hasta sayısının artırılması veya tedavi amaçlı heparinin uzun süreli olarak kullanılması imkanı olduğu takdirde HİT tanılı hastaya ulaşılmasının mümkün olabileceği düşünüldü. Çalışma grubumuzda HİT tanılı hasta ortaya konulamamasına karşın heparin kullanan hasta çocuklardaki söz konusu tabloya karşı farkındalığın artırılması konusunda çalışmaların yapılması gerektiğine inanıyoruz.

## ABSTRACT

Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is known as a rare, but important adverse drug reaction due its high mortality risk. The incidence of HIT after heparin usage is generally described to be between %0.5-5 in adult and pediatric patients.

The aim of our study is to determine the incidence of HIT development in children who use heparin. This study is a Phase-4 drug study and it was started in 2010 after the necessary approval was taken from the Ethics Committee and permission was taken from the Ministry of Health and it continued for a period of 2 years. Due to the difficulties in finding patients, patients who took heparin for protection were included in the study. 13 patients who did not give enough blood sample and missed regular controls, and 4 patients who have died during the study were excluded and 53 subjects were evaluated in the study. Mean age of the patients was 52 months and the age distribution interval was between 1-204 months. 30 patients were female and 23 patients were male. 28 of the patients were under monitoring in the intensive care unit and they were using heparin for “flushing”. Remaining 25 patients consisted of children who have congenital heart disease and have used a single dose of heparin for the angio. All of the patients used standard heparin (Nevparin) in appropriate doses and durations. After the written approval was taken from their parents, blood sample was taken 2 times from the patients; once before the usage of heparin and another time after 10 days following the completion of heparin usage. Platelet count (Cell Dyn 3700; Abbott automatic counter) and Anti-Heparin/PF4 antibodies (ELISA; Asserachrom HPIA-Ig G, Diagnostica Stago) were analyzed with Heparin-induced platelet aggregometry (APACT-4004; Tokra Medical) devices and they were analyzed in Ege University Children’s Hospital Hematology laboratory. Obtained laboratory values were evaluated statistically in the Department of EUTF Biostatistics.

HIT clinic including thrombosis was not found in any of the 53 subjects after a 2-year follow-up. However, in 4 cases, a decrease in the number of platelets close to %50 was found consistent with HIT. All of these patients were staying in the intensive care unit and Anti-Heparin/PF4 antibody or Heparin-induced aggregation increase was found in none of them. Thrombocytopenia of these patients were associated with their primary diseases (head trauma/ AML/sepsis, pneumonia). A statistically significant difference



was not found between the parameters of 4 subjects who had a decreased number of platelets and 49 subjects who had no decrease in this aspect.

Only in 1 subject among 53 subjects under monitoring had an Anti-Heparin/PF4 antibody (OD:1.374) at the limit (+). However, the decrease in the number of platelets was evaluated to be a false positive finding due to no detection of an aggregation response and thrombosis. No statistically significant difference was found between the single positive subject and the remaining 52 subjects.

However, a statistically significant increase was determined between the mean ELISA values obtained from 53 subjects before and after the heparin usage ( $0.119 \pm 0.061$  and  $0.258 \pm 0.262$ ) (Wilcoxon test;  $p < 0.0001$ ). Only in three subjects, heparin-induced aggregation response ( ) was accepted due to the detection of an aggregation response. However, all of these patients were cardiac patients and they used only a single dose of heparin and there was no decrease in the number of platelets and also ELISA test was not positive so the findings of these patients were interpreted as heparin-induced “non-specific responses” not in favor of PF4-based HIT. No statistically significant difference was found between 3 subjects with aggregation response and 50 subjects with no aggregation response.

In conclusion, HIT diagnosis was not given as a clinical and laboratory finding for 53 intensive care and congenital cardiopathy child patients who used standart heparin for protection. Laboratory differences which were observed in small numbers were thought to be non-specific. However, although the increase in the values observed in the antibody test after the usage of heparin did not increase in a statistically significant way and were left under the cut-off values, but this increase nevertheless was found to be interesting. It was thought that more patients with HIT diagnoses could be reached if the number of patients increased or heparin was used for treatment purposes for a longer period of time. Although no patient with a HIT diagnosis was found in our study group, we still believe that similiar studies should be made including pediatric patients who use heparin in order to increase the awareness towards this situation.

## KAYNAKLAR

1. Disorders of Platelets. Lanzkowsky P. Manual of Pediatric Hematology and Oncology, Fourth Edition. Elsevier Inc, 2005;250-263.
2. Acquired Platelet Defects. Nathan and Oski (eds). Haematology of Infancy and Childhood, Sixth Edition. Saunders Company, Philadelphia, 2003;1597-1609.
3. Platelet Disorders of Infancy and Childhood. Nathan and Oski(eds) Haematology of Infancy and Childhood, 1993;1567-1580.
4. Racchi O, Rapezzi D. Megathrombocytes and spurious thrombocytopenia. Eur J Haematol 2001;66:140.
5. Schrezenmeier H, Muller H, Gunsilius E, et al. Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia and pseudoleucocytosis. Thromb Haemost 1995;73:506.
6. Bizzaro N : EDTA - dependent pseudothrombocytopenia. A clinical and epidemiological study of 112 cases with 10-year follow up. Am J Hematol 1995;50:103.
7. Vicari A, Banfi G, Bonini PA. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: 12-month epidemiological study. Scand J Clin Lab Invest 1988;48:537.
8. Aster RH, Bougie DW. Drug-induced immune thrombocytopenia. N Engl J Med 2007;357:580-587.
9. Lubenow N. New developments in diagnosis and treatment of heparin-induced thrombocytopenia. Pathophysiol Haemost Thromb 2003; 33: 407-412.
10. Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia. Hematol Oncol Clin Nort Am 2007; 21:589-607.
11. Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: a clinico-pathological syndrome. Thromb Haemost 1999; 82: 439-447.
12. Warkentine TE. Think of HIT. Am Soc Hematol Educ Prog 2006; 4: 408-414.
13. Novak G. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT-II). A drug-associated autoimmune disease. Thromb Haemost 2009; 102: 887-891.
14. Greinacher A, Klenner AF. Heparin-induced thrombocytopenia with a focus on children undergoing cardiac surgery. Prog Pediatr Cardiol 2005; 21: 71-79.
15. Boning A, Morshheuser T, Blase U, et al. Incidence of Heparin-induced thrombocytopenia and therapeutic strategies in pediatric cardiac surgery. Ann Thorac Surg 2005; 79: 62-65.
16. Newall F, Barnes C, Ignatovic V, Monagle P. Heparin-induced thrombocytopenia in children. J Pediatr Child Health 2003; 39; 289-292.

17. Warkentin TE. How I diagnose and manage HIT. *Hematology* 2011;143-149.
18. Schmutz M, Risch L, Huber AR, Benn A, Fischer JE. Heparin-induced thrombocytopenia-associated thrombosis in pediatric intensive care patients. *Pediatrics* 2002; 109: 1-4.
19. Selleng S, Malowsky B, Strobel U, Warkentin TE. Early-onset and persisting thrombocytopenia in post-cardiac surgery patients is rarely due to heparin-induced thrombocytopenia even when antibody tests are positive. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 30-36.
20. Fabris F, Luzzatto G, Stefani PM, Girolami B. Heparin-induced thrombocytopenia. *Haematologica* 2000; 85:72-81.
21. Tardy-Poncet B, Piot M, Chapelle C, Campos L. Thrombin generation and heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 1474-1481.
22. Javela K, Kekomaki R, Koskinen S. Significance of quantitative measurement of heparin-induced platelet antibodies. *Eur J Haematol* 2010; 84: 169-174.
23. Wirth SM, Macaulay TE, Armitstead JA. Evaluation of a clinical scoring scale to direct early appropriate therapy in heparin-induced thrombocytopenia. *J Oncol Pharm Pract* 2010; 16: 161-166.
24. Demir M, Ahmad S, Walenga JM, Fareed J. Laboratory diagnose of heparin-induced thrombocytopenia. *Turk J Hematol* 2000; 17 (Suppl 3): 181-190.
25. Levine RL, Hergenroeder GW, Francis JL, Miller CC. Heparin-platelet factor 4 antibodies in intensive care patients: an observational seroprevalance study. *J Thrombolysis* 2010; 30: 142-148.
26. Spadone D, Clark F, James E, Silver D. Heparin induced thrombocytopenia in the newborn. *J Vasc Surg* 1992; 15: 306-311.
27. Klenner AF, Lubenow N, Raschke R, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in children: 12 new cases and review of the literature. *Thromb Haemost* 2004; 91: 719-724.
28. Demir M, Tekgündüz E, Edis M, Duran E, Kürüm T. Incidence of anti-heparin/platelet factor 4 antibodies and heparin-induced thrombocytopenia in medical patients. *Turk J Hematol* 2009;26: 171-175.
29. Demir M, Duran E, Yiğitbaşı O, Vural O, Walenga JM. Incidence of heparin-platelet factor 4 antibodies and heparin-induced thrombocytopenia in Turkish patients undergoing cardiac surgery. *Clin Applied Thromb Haemost* 2007; 13: 279-284.
30. Kelton JG, Warkentin TE, Moore JC, et al. A prospective study measuring the development of antibodies against PF-4 Heparin healthy males after exposure to heparins. *J Thromb Haemost* 2012; 10: 1446-1449.

31. Ranze O, Ranze P, Magnani HN, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in pediatric patients – a review of the literature and a new case treated with danaparoid sodium. *Eur J Pediatr* 1999; 158 (Suppl 3) : S130-133.
32. Amiral J, Marfaing-Koka A, Wolf M, et al. Presence of antibodies to interleukin-8 or neutrophil activating peptide-2 in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 1996; 88: 410-416.
33. Lombardi TP, Gundersen B, Zamett LO, Walters JK. Efficacy of %0.9 sodium chloride injection with and without heparin sodium for maintaining patency of intervenous catheters in children. *Clin Pharma* 1998; 7: 832-836.
34. Chaubey S, Davidson SJ, Desouza AC. Heparin induced thrombocytopenia in a patient with factor V Leiden following cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2009; 9: 1023-1025.
35. Thorsteinson GS, Magnusson M, Hallberg LM, et al. Cerebral venous thrombosis and heparin-induced thrombocytopenia in an 18-year-old male with severe ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4576-4579.
36. Porcelli R, Moscowitz BC, Cetta F, et al. Heparin-induced thrombocytopenia with associated thrombosis in children after the Fontan operation. *Tex Heart Inst J* 2003; 30: 58-61.
37. Hassan Y, Awaisu A, Al-Meman AA, et al. The pharmacotherapy of heparin-induced thrombocytopenia (HIT): A review of contemporary therapeutic challenges in clinical practise. *Malay J Med Sci* 2008; 15: 3-13.
38. Maurer SH, Wilimas JA, Wang WC, Reiss UM. Heparin induced thrombocytopenia and re-thrombosis associated with warfarin and fondaparinux in a child. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53: 468-471.
39. Nowak-Gottl U, Bidlingmaier C, Krümpel A, Kenet G. Pharmacokinetics, efficacy, and safety of LMWHs in venous thrombosis and stroke in neonates, infants and children. *Brit J Pharmacol* 2008; 153:1120-1127.
40. Dragomer D, Chalfant A, Biniwale R, Federman M. Novel techniques in the use of bivaluridin for cardiopulmonary bypass anticoagulation in a child with heparin-induced thrombocytopenia. *Perfusion* 2011; 26: 516-518.
41. Syed S, Reilly RF. Heparin-induced thrombocytopenia: a renal perspective. *Nat Rev Nephrol* 2009; 5: 510-511.
42. Randolph Ag, Cook DJ, Gonzales CA, Andrew M. Benefit of heparin in central venous and pulmonary artery catheters. *Chest* 1998; 113: 165-171.
43. Laster JL, Nichols WK, Silver D. Thrombocytopenia associated with heparine-coated catheters in patients with heparin-coated catheters in patients with heparin-associated antipalletelet antibodies. *Arch Intern Med* 1989; 149: 2285-2287.