

**T.C.
FATİH ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PSÖDOTROMBOSİTOPENİLİ BİREYLERDE EŞLİK EDEN KLİNİK
DURUMLAR, LABORATUVAR PARAMETRELERİ VE
OTOANTİKORLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. AYŞE İŞİK**

**ANKARA
2009**

T.C.
FATİH ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PSÖDOTROMBOSİTOPENİLİ BİREYLERDE EŞLİK EDEN KLİNİK
DURUMLAR, LABORATUVAR PARAMETRELERİ VE
OTOANTİKORLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. AYŞE IŞIK

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ALİ KOŞAR

ANKARA
2009

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim boyunca ve uzmanlık tezimin hazırlanmasında değerli yardım ve katkılarını benden esirgemeyen tez danışmanı hocam Prof. Dr. Ali Koşar' a;

Uzmanlık eğitimime bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren hocalarım Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.B.D. Başkanı Prof. Dr. F. Cansel Türkay'a, Prof. Dr. Osman Kaftan'a, Prof. Dr. Dinçer Fırat'a, Doç. Dr. Ali Akçay'a, Yrd. Doç. Dr. Feridun Karakurt'a;

Uzmanlık eğitimim boyunca mesai ve nöbetlerde pek çok şeyi paylaştığımız asistan arkadaşlarıma;

Tezimin hazırlanmasında yardımcı olan Biyokimya A.B.D doktorları ve çalışanlarına;

Bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan ve uzmanlık eğitimim boyunca da beni hiç yalnız bırakmayan annem ve babama;

Sevgisi, güveni ve desteği ile daima yanımda olan sevgili eşim Dr. Serhat Işık'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ayşe IŞIK

Aralık 2009

ANKARA

ÖZET

PSÖDOTROMBOSİTOPENİLİ BİREYLERDE EŞLİK EDEN KLİNİK DURUMLAR, LABORATUVAR PARAMETRELERİ VE OTOANTİKORLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Kan sayım cihazlarının yaygın kullanımı aynı anda ve çok sayıda örnekle, hızlı ve doğru sonuçlar verdiği için hücresel hematolojinin gelişimine öncülük etmiştir. Bununla beraber bu cihazlar ile belli sorunlar görülmüştür. Psödotrombositopenili (PTCP) bir hastanın yanlışlıkla trombositopeni olarak değerlendirilmesi gereksiz bir takım tanısal işlemlerin yapılmasının yanında yanlış tedavilerin uygulanmasına yol açabilir. Çalışmamızda PTCP ilişkili klinik ve laboratuvar faktörleri ve bu faktörler ile PTCP nin ilişki düzeylerini ortaya koymayı amaçladık. Psödotrombositopeni tanısı alan 80 hasta ve yaş-cinsiyet olarak benzer olan, normal kan sayımı sonuçlarına sahip 69 birey kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Araştırmaya dahil edilen hastaların yaş ortalaması 50.4 ± 21 , kontrol grubunun yaş ortalaması 47.4 ± 18 olarak bulundu ($p > 0.05$). Hastaların 7 sinde septisemi olmak üzere 29'unda aktif enfeksiyon mevcuttu (%36.25). Hastalarımızın 61 tanesi (%76.25) hastanede yatmaktaydı. Psödotrombositopeni grubunda yüksek antinükleer antikor pozitifliğine karşın (%18.8 vs %7.2, $p=0.033$), antikardiyolipin antikor sıklıkları benzerdi (%5.0 vs 0, $p > 0.05$). Çalışmamızda da hastanede yatıyor olma durumu başta olmak üzere enfeksiyon varlığının ve ANA pozitifliğinin PTCP için risk artışına yol açtığı tespit edilmiştir. Psödotrombositopeni sıklıkla yanlış tanı almaktadır ve uygun olmayan tedavilere neden olmaktadır; bu yüzden bu tanının akılda tutulması gerekmektedir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: psödotrombositopeni, antikardiyolipin antikoru, antinükleer antikor, kan sayımı, etilendiamin tetra asetik asit

ABSTRACT

**CLINICAL SITUATIONS ACCOMPANYING TO
PSEUDOTHROMBOCYTOPENIA AND EVALUTION OF LABORATORY
PARAMETERS AND AUTOANTIBODIES**

The widespread use of haematology analysers has led to a major improvement of cellular haematology, because of quick and accurate results found in most instances. However, in several situations, spurious results are observed. Evaluation of pseudothrombocytopenia (PTCP) as thrombocytopenia can lead to unnecessary diagnostic procedures and therapeutic applications. In this study we aimed to evaluate clinical and laboratory factors associated with PTCP and their association level with this situation. Eighty patients with the diagnosis of PTCP age and sex matched 69 control patients with normal blood count results were enrolled to study. Mean age was 50.4 ± 21 in PTCP group and 47.4 ± 18 years in control group ($p > 0.05$). Twenty-nine patients (36.2 %) had an acute infection and 7 of these were in sepsis. Hospitalization rate was 76.2 % among PTCP. While high antinuclear antibody positivity in PTCP group (18.8% vs 7.2 %, $p=0.033$), anticardiolipin positivity rates were similar (5.0 % vs 0, $p>0.05$). In our study especially hospitalization and then acute infection, and ANA positivity were detected to increase the risk of PTCP. Pseudothrombocytopenia frequently misdiagnosed and lead to inappropriate treatments. Therefore this situation should kept in mind.

KEYWORDS: pseudothrombocytopenia, anticardiolipin antibody, antinuclear antibody, blood count, ethylenediamine tetraacetic acid

İÇİNDEKİLER

	Sayfalar
Önsöz	i
Özet.....	ii
İngilizce Özet (Abstract)	iii
Kısaltmalar	v
Şekiller	vii
Tablolar	viii
1. Giriş Ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	2
2.1. Trombositler	2
2.2. Trombositopeni.....	7
2.2.1. Tanım	7
2.2.2. Klinik Özellikler	7
2.2.3. Trombositopeni Nedenleri	9
2.3. Psödotrombositopeni.....	12
2.3.1. Tanım	12
2.3.2. Psödotrombositopeni Nedenleri.....	13
2.3.2.1. Test tüpünde pıhtılaşma	13
2.3.2.2. Trombosit otoaglutinasyonu	14
2.3.2.3. Trombosit satellitizmi	15
2.3.3. EDTA ilişkili Psödotrombositopeni	16
3. Hastalar ve Yöntem	17
3.1. Hasta ve Kontrol Grubu Seçimi	17
3.2. Laboratuvar Metodları	18
3.2.1. Rutin İncelemeler	18
3.2.2. Soğuk Aglutinasyon Testi	19
3.2.3. Antinükleer Ve Antikardiyolipin Antikor	19
4. İstatistiksel Yöntemler	20
5. Bulgular	22
6. Tartışma	38
7. Sonuç.....	47
Kaynaklar	48

KISALTMALAR

ACA	: antikardiyolipin antikoru
ACEI	: anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü
AITP	: otoimmün trombositopenik purpura
ANA	: antinükleer antikor
aPL	: antifosfolipid antikorlar
APS	: antifosfolipid antikoru sendromu
aPTT	: aktive parsiyel tromboplastin zamanı
ARB	: anjiyotensin reseptör blokörü
ASA	: asetilsalisilik asit
ASKH	: aterosklerotik kalp hastalığı
AT III	: antitrombin III
CBC	: tam kan sayımı
CMV	: sitomegalovirüs
DIC	: yaygın damar içi pıhtılaşma
DM	: diabetes mellitus
EBV	: Epstein-Barr virüs
EDTA	: etilendiamin tetra asetik asit
EDTA-PTCP	: etilendiamin tetra asetik asit ilişkili psödotrombositopeni
EGF	: endotelyal büyüme faktörü
GM-CSF	: granülosit –makrofaj koloni uyarıcı faktör
Gp	: glikoprotein
Hb	: hemoglobin
HDL-K	: yüksek yoğunluklu lipoprotein içeren kolesterol
HIV	: insan immün yetmezlik virüsü
HT	: hipertansiyon
HUS	: hemolitik üremik sendrom
IFA	: immünfloresan yöntem
IgA	: immünglobulin A
IgG	: immünglobulin G
IgM	: immünglobulin M
IL-6	: interlekin 6
INR	: international normalisation ratio
ITP	: idyopatik trombositopenik purpura
KKB	: kalsiyum kanal blokörü
LA	: lupus antikoagülanı
LDL-K	: düşük yoğunluklu lipoprotein içeren kolesterol
LMWH	: düşük molekül ağırlıklı heparin
MCV	: ortalama eritrosit volümü
MPV	: ortalama trombosit volümü
PDGF	: trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PT	: protrombin zamanı
PTCP	: psödotrombositopeni
SDBK	: serum demir bağlama kapasitesi
SLE	: sistemik lupus eritematozus
TESVO	: tromboembolik serebrovasküler olay
TGF-beta	: transforming growth factor –beta

TSH : tiroid stimuli edici hormon
TTP : trombotik trombositopenik purpura
vWF : von Willebrand faktör
WBC : lökositler

ŞEKİLLER

- Şekil 1. Trombosit gelişim basamakları
- Şekil 2. Periferik kan yaymasında trombositler: A. Normal sayıda ve yapıda trombositler, B. Artmış sayıda trombositler, C. Küme yapmış trombositler ve D. Nötrofil parçalıların çevresine tutunmuş trombositler (satellitizm).
- Şekil 3. Psödotrombositopenili bireyler ile kontrol grubunun otoantikor sıklığı yönünden karşılaştırılması
- Şekil 4. Psödotrombositopenili bireylerin EDTA ve sitratlı tüpte yapılan kan sayımlarındaki parametrelerin karşılaştırılması
- Şekil 5. Sitratlı tüpte tekrarlanan kan sayımında trombosit sayısı değişim yüzdelerinin tabakalandırılarak değerlendirilmesi (tüm psödotrombositopenililer)
- Şekil 6. Gebe olan ve olmayan psödotrombositopenili bireylerin EDTA ve sitratlı tüpteki kan sayımlarından elde edilen trombosit sayılarının karşılaştırılması
- Şekil 7. Cinsiyet ve eşlik eden çeşitli durumların sitratlı tüpte tekrarlanan kan sayımında trombosit sayılarının düzelme yüzdesi
- Şekil 8. Trombosit sayısı ile MPV ilişkisinin değerlendirilmesi

TABLULAR

- Tablo 1. Trombositopeni nedenleri
- Tablo 2. Kan sayım cihazlarında görülen başlıca trombosit sayımı değişikliklikleri
- Tablo 3. Hasta ve kontrol grubunun temel özelliklerinin karşılaştırılması
- Tablo 4. Hasta ve kontrol grubunun EDTA lı tüpte yapılan kan sayımı değerlerinin karşılaştırılması
- Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun çeşitli laboratuvar incelemelerinin karşılaştırılması
- Tablo 6. Psödotrombositopenili bireylerin EDTA ve sitratlı tüpte yapılan kan sayımlarındaki parametrelerin karşılaştırılması
- Tablo 7. Diyabetik ve nondiyabetik PTCP'li bireylerin kan sayımı (EDTA ve sitrat ile) ve ilişkili parametrelerin ve eşlik eden çeşitli durumların sıklığı yönünden karşılaştırılması
- Tablo 8. Eşlik eden çeşitli durumların ve ilaçların sitratlı tüpte tekrarlanan kan sayımında trombosit sayısı değişim yüzdelerini tabakalandırılarak değerlendirilmesi
- Tablo 9. Kan sayımı ve ilişkili parametrelerinin trombosit sayısı ve sitratlı tüpte kan sayımı tekrarlanarak elde edilen değişim miktarı ile ilişkilerinin değerlendirilmesi
- Tablo 10. Çeşitli risk faktörlerinin psödotrombositopeni için risk katsayıları

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kan sayım cihazlarının yaygın kullanımı aynı anda ve çok sayıda örnekle, hızlı ve doğru sonuçlar verdiği için hücresel hematolojinin gelişimine öncülük etmiştir. Bununla beraber bu cihazlar ile belli sorunlar görülmüştür. Bu sorunların temelinde; yeterli olmayan kan örnekleri, antikoagulanlar ile ilişkili durumlar, hastadaki patolojiye bağlı değişiklikler ve çeşitli cihazların performanslarıyla ilgili teknik koşullar yer almaktadır.

Soğuk aglutininler, paraproteinemiler, trombositlerin diyaliz membranı gibi yabancı yüzeylerle temas etmesi, dev trombositler, trombosit satellitizmi, hiperlipidemi durumlarında ve etilendiamin tetra asetik asite (EDTA) bağlı olarak trombosit sayısı düşük olarak ölçülebilir. Bu şekilde trombosit sayısı yeterli olduğu halde elektronik kan sayım cihazları ile yapılan sayımlarla düşük sonuçların elde edilmesine psödotrombositopeni (PTCP) denir.

Antikoagülan olarak EDTA'nın kullanıldığı pek çok durumda PTCP meydana gelebilir. Etilendiamin tetra asetik asit ile ilişkili trombosit kümelenmesi (EDTA-PTCP), genellikle trombosit membranındaki glikoprotein alfa IIb / beta IIIa kompleksindeki normalde gizli olan epitoplara EDTA varlığında açığa çıkması ile bu epitoplara karşı oluşan otoantikörler tarafından oluşturulur. Bu mekanizmanın dışında lökositlerin etrafında trombosit satellitizmi ve daha az bilinen trombosit-lökosit agregatlarına bağlı olarak da EDTA-PTCP ortaya çıkabilir.

Psödotrombositopenili bir hastanın yanlışlıkla trombositopeni olarak değerlendirilmesi tanı amaçlı kemik iliği aspirasyonu gibi gereksiz bir takım

işlemlerin yapılmasının yanında trombosit transfüzyonu ve hatta splenektomiye varan yanlış tedavileri uygulanmasına yol açabilir (1-5).

Çalışmamızda PTCP ilişkili klinik ve laboratuvar faktörleri ve bu faktörler ile PTCP'nin ilişki düzeylerini ortaya koymayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Trombositler

Kemik iliğinde üretilen megakaryositlerin sitoplazmik fragmentleri olan trombositler çekirdek içermedikleri halde kan hücrelerinden biri olarak sınıflandırılmaktadır. Diskoid yapılı bu hücreler mikrolitrede 150.000-450.000 arasında değişen miktarlarda dolaşımda yer alırlar. Trombositler vasküler yatakta sağlam endotelle çevrili kan dolaşımında birbirleriyle ve diğer hücrelerle etkileşmeden dolaşırlar.

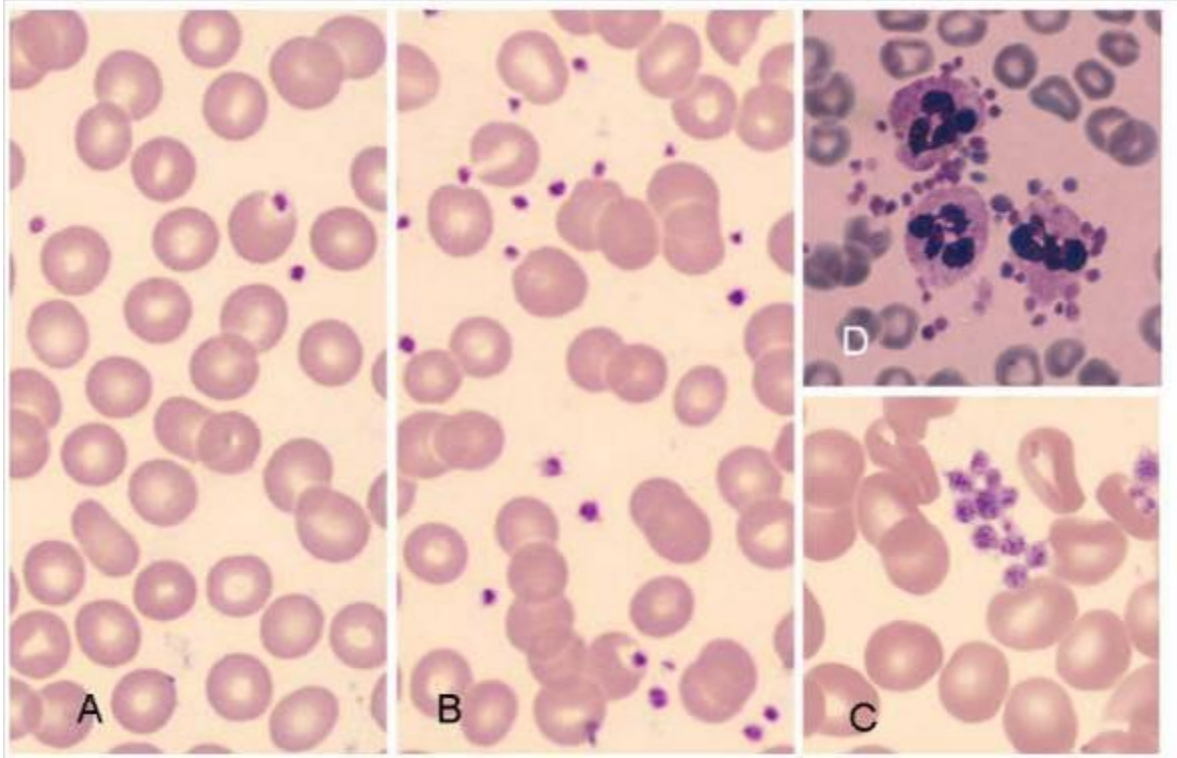
Wright-Giemsa ile periferik kan yayma preparatlarında boyanmış trombositler, pürüzlü bir membran ile çevrili granüler yapılı küçük hücreler olarak görülmekte ve bu hücrelerin %70 kadarı dolaşımda geriye kalan %30 ise dalakta bulunmaktadır (Şekil 1).

Ortalama trombosit hacmi (MPV) yaklaşık olarak 7.8-11 fL olan trombositlerin genç olanları daha büyük MPV'ye sahip olma eğilimindedirler ancak stres, trombopoez veya bazı spesifik trombosit fonksiyon defektlerinde de MPV değerleri artmaktadır.

Aktifleşmemiş durumdaki trombositler diskoid yapıları ile yaklaşık $8 \mu\text{m}^2$ yüzey alanına sahiptirler. Trombositlerin fizyolojik yaşam süreleri dolaşımda yaklaşık olarak 7 gündür ve kemik iliği tarafından her gün dolaşımdaki miktarın %20 kadarı dolaşıma verilmektedir. Yaşamlarının sonuna gelmiş trombositler karaciğer ve dalakta yer alan retikuloendotelial sistem tarafından yıkılır.

Bir megakaryositten yaklaşık 1000-3000 arasında trombosit üretilir (6, 7) (Şekil 2). Trombosit üretimi günde $35.000-50.000/\text{mm}^3$ olup bu değer ihtiyaç

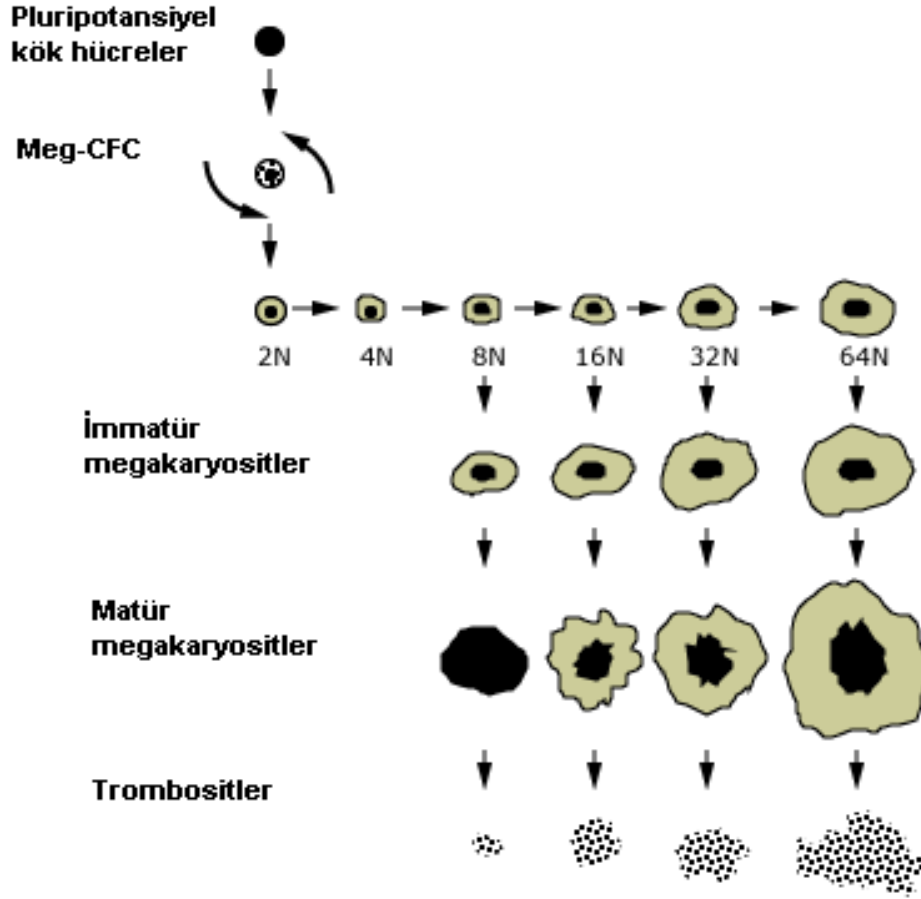
halinde sekiz katına kadar artabilmektedir. Megakaryositleri kemik iliğinde uyaran en önemli büyüme faktörü trombopoetindir (8). Trombopoetinden başka interlökin 6 (IL-6), granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) de megakaryositleri uyarıcı etkiye sahiptir (9).



Şekil 1. Periferik kan yaymasında trombositler: A. Normal sayıda ve yapıda trombositler, B. Artmış sayıda trombositler, C. Küme yapmış trombositler ve D. Nötrofil parçalarının çevresine tutunmuş trombositler (satellitizm).

Trombositlerde lizozimler, alfa granüller ve yoğun cisimler olmak üzere 3 tip granül bulunur (6, 7). Lizozimlerde asit hidrolazlar bulunur. Alfa granüllerde platelet faktör 4 (heparini nötralize eden faktör), beta tromboglobulin, faktör V, faktör VIII, von Willebrand faktör (vWF) ve büyüme faktörleri bulunur. Trombositlerde bulunan başlıca büyüme faktörleri; trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforming growth factor –beta (TGF- β) ve endothelial growth

factor (EGF) dir. Yoğun cisimler (delta granülleri) ise ATP, ADP, kalsiyum ve serotonin içerirler.



Şekil 2. Trombosit gelişim basamakları

Trombositlerin başlıca görevi hemostazın sağlanmasıdır. Damar duvarının zedelenmesi ile hasar bölgesinde tıkaç oluştururlar. Trombositler adezyon, agregasyon, sekresyon ve prokoagülan aktivitesini oluşturarak hemostazdaki işlevini yerine getirir. Trombositlerin damar endoteline yapışabilmeleri için vWF'e ihtiyaç vardır (10). Trombositler, endoteldeki zedelenme sonucu ortaya çıkan subendotelyal kollajen dokuya vWF

aracılığıyla yapışır (adezyon). Adezyonu takiben aktive olan trombositlerde bir seri reaksiyon tetiklenir. Bir çok fizyolojik agonist; kollajen, laminin, fibronektin gibi matriks komponentleri, epinefrin, vazopressin gibi hormonlar, trombin gibi hasar sırasında oluşan maddeler, aktif trombositlerden salınan tromboksan A2 ve ADP bu reaksiyonları başlatır. Aktif trombositler diskoid formdan sferik forma dönüşürler ve hücre yüzeyinde filopotlar oluşur. Aktive olan trombositler salgıladıkları ADP ve tromboksan A2 gibi maddelerle trombosit kümeleşmesini (agregasyon) sağlamaktadırlar (10). Başlangıçta trombositler birbirlerine fibrinojen köprüleri ile gevşek, geri dönüşümlü bir şekilde bağlanırlar (primer agregasyon). Normal bir agregasyon için yeterli kalsiyum ve fibrinojen gereklidir. Glikoprotein (Gp) IIb/IIIa kompleksi agregasyonda merkezi bir rol oynar. Fibrinojenin bağlanma bölgesi GpIIb/IIIa kompleksinin bir bölgesinde yer alır ancak çözülmüş haldeki plazma fibrinojeni uyarılmamış durumdaki trombosit yüzeyine bağlanamaz. Bağlanmanın olabilmesi için trombositlerin aktive olması gerekmektedir.

Adezyon ve şekil değişimi esnasında trombositler depoladıkları substratları hücre dışına salgırlar. Sekresyon enerji gerektiren bir işlem olarak iki yolla ilerler: bir tarafta granüler içerik ekstraselüler alana açık kanaliküler sistem ile salınır, diğer tarafta ise eksositoz yoluyla granüler içeriğın direkt sekresyonu ile gerçekleşir. Bütün granüler komponentler gerekli sitoplazmik kalsiyum konsantrasyonuna ulaşıldıktan sonra belli bir düzen içinde salınır (10). Önce yoğun cisimler, ardından alfa granüller ve en son lizozomlar salınır. Sekresyonun başlaması trombositler için agregasyonun geri dönüşümsüz fazını başlatır (sekonder agregasyon).

2.2. Trombositopeni

2.2.1. Tanım

Trombositlerin sayısal azlığı veya fonksiyonel bozukluğu klinikte birtakım bulgu ve semptomlara yol açmaktadır. Normal trombosit sayısı 150.000-450.000/mm³ düzeylerindedir. Trombosit sayısının 150.000/mm³'den az olması durumuna trombositopeni denir. Toplumda %2.5 oranında görülür (11). Normal limitler içinde bile olsa trombosit sayısında yarıdan fazla düşme olması durumunda da trombositopeniden bahsedilir (11).

Trombositopeni bir hastalık değil, bir bulgudur. Trombositopeni nedeniyle kliniğe başvuran hastalardan alınan iyi bir hikaye ve yapılan fizik muayene ve bir takım temel laboratuvar testleri ile etiyolojik nedene ulaşılabilir. Hikayede trombositopeni yapabilecek hastalıkların semptom ve bulguları sorgulanırken özellikle ilaç kullanımı unutulmamalıdır. Ayrıca konjenital trombositopeni açısından aile öyküsü de sorgulanmalıdır.

Periferik yayma trombositopenili her hastada yapılması gereken testlerin başında gelmektedir. Normalde büyük büyütmede her alanda 3-10 adet trombosit görülür. Periferik yayma ile hastada gerçek anlamda bir trombositopeni olup olmadığı saptandığı gibi trombositopeni yapan nedenlere bağlı anormalliklerde tespit edilebilir.

2.2.2. Klinik özellikler

Trombositopenili hastalar genellikle asemptomatik olup trombositopeni rutin kan sayımı incelemesi ile saptanır. Semptomatik trombositopeni ise karakteristik

olarak cilt ve mukozalarda kanamalar ile ortaya çıkar. Trombositopenide vasküler travma sonrası erken dönemde kanama olurken hemofili gibi pıhtılaşma bozukluklarında görülen geç dönem kanamaları olmaz. Nadir olmakla birlikte çoğunlukla travmaya bağlı oluşan santral sinir sistemi kanamaları trombositopeniden ölümün en sık sebebidirler (11).

Trombositopenide sıklıkla görülen klinik durumlar şöyle sıralanabilir:

- Asemptomatik
- Mukoza ve cilt kanamaları
 - Mukoza kanaması
 - Epistaksis
 - Diş eti kanaması
- Cilt içine kanama
 - Peteşiler
 - Yüzeysel ekimozlar
- Menoraji ve metroraji
- Yüzeysel kesilerden yoğun kanama

Genel olarak trombosit sayısı $100.000/\text{mm}^3$ ve üzerinde ise hastada majör cerrahide bile kanama olması beklenmez. $50-100.000/\text{mm}^3$ arası değerlerde ağır travmalarda kanama normalden daha uzun süre sürebilirken $20-50.000/\text{mm}^3$ arası değerlerde hafif travmalarda bile kanama olabilir. $20.000/\text{mm}^3$ den daha küçük değerlerde ise kendiliğinden kanama olabilir ve özellikle $10.000/\text{mm}^3$ altındaki değerlerde ciddi kanama riski vardır.

2.2.3. Trombositopeni nedenleri

Trombositopeni nedenleri başlıca şu başlıklar ile ifade edilebilir;

- Trombosit üretiminde azalma
- Trombosit yıkımında artış
- Dilüsyonel trombositopeni
- Dağılım anormalliğine bağlı trombositopeni
- Psödotrombositopeni

Tablo 1’de trombositopeninin patofizyolojik sınıflamasına yer verilmiştir. Eritrosit süspansiyonları içerisinde canlı trombosit bulunmaması nedeniyle massif kan transfüzyonu ile dilüsyonel trombositopeni ortaya çıkar. Dağılım anormalliğine bağlı trombositopenide ise toplam trombosit kitlesi normal olup kanama nadirdir. Örneğin splenomegalide trombositlerin dalakta tutulma oranı %90 düzeylerine kadar çıkabilir, lökopeni ve anemi eşlik edebilir. Otoantikör ilişkili trombositopeni patogeneğinde idyopatik trombositopenik purpura (ITP) örneğinde olduğu gibi immünooglobulin bağlı trombositlerin dalakta yıkımı yer alır.

Tablo 1. Trombositopeni nedenleri

Trombosit üretiminde azalma

Viral enfeksiyonlar, canlı virüs aşılıarı

Kızamıkçık, kabakulak, suçiçeği, parvovirüs,

Hepatit C, EBV

HIV

Canlı attenuue kızamık aşısı sonrasında

Kemoterapi veya radyoterapiyi takiben

Konjenital/ akkiz kemik iliği aplazisi/hipoplazisi

Fanconi anemisi

Amegakaryositik trombositopeni

Radius yokluğu ile giden trombositopeni

Alkole bağılı direkt toksik etki

Vitamin B12 ve folat eksikliği

Trombosit yıkımında artış

Otoantikörlara bağılı

İdyopatik trombositopenik purpura

Sistemik lupus eritematozus

Alloimmün harabiyet

Transfüzyon sonrası

Yeni doğanda

Transplantasyon sonrası

Dissemine intravasküler koagülasyon (DIC)

Trombotik trombositopenik purpura/ Hemolitik üremik sendrom (TTP/HUS)

Antifosfolipid antikör sendromu

HELLP sendromu (Hemolitik anemi, karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme, trombositopeni)

İlaçlar (Heparin, kinin, kinidin, valproik asit vb)

Çeşitli enfeksiyonları takiben (EBV, CMV, HIV)

Fiziksel harabiyet; koroner arter bypass greft operasyonu, dev kavernöz hemanjiomlar (Kasabach-Merritt sendromu), büyük aort anevrizmaları, intravasküler veya intrakardiyak metastatik lezyonlar

Dilüsyonel trombositopeni

Dağılım anormalliğine bağılı trombositopeni

11 nolu kaynaktan yararlanılarak hazırlanmıştır.

Antinükleer antikor (ANA) testi, özellikle hücre nükleusunda bulunan bazı antijenlere karşı oluşan otoantikörlerin belirlenmesi amacıyla kullanılır. Sistemik lupus eritematozus (%95-99), diskoid lupus eritematozus, ilaçların indüklediği lupus eritematozus, mikst bağ dokusu hastalığı (%95-100), Sjogren sendromu (%75), skleroderma (%50-70), CREST sendromu (kalsinozis, Raynaud fenomeni, özofageal dismotilite, sklerodaktili ve telenjektazi), romatoid artrit (%35-40), polimiyozit ve dermatomiyozit (%25-30) gibi sistemik ve organ spesifik otoimmün hastalıklarda görülür (12). Sağlıklı insanların %3-4 kadarında da ANA pozitifliğine rastlandığı bildirilmektedir (12). Yaşın ilerlemesiyle birlikte düşük titrede yalancı ANA pozitifliği sık olarak görülür. 80 yaşın üzerinde bu oranın %50'ye varabildiği bildirilmektedir (12). Antinükleer antikor araştırmasının immünfloresan yöntem (IFA) ile yapılmasıyla boyanma paterni antikorun hangi antijene karşı oluştuğu hakkında kısmen de olsa fikir verebilir.

Antifosfolipid antikor sendromu (APS), fosfolipidlere veya fosfolipidlere bağlı plazma proteinlerine karşı oluşan antikörlerle birlikte, gebelik kayıpları (fetal ölüm, tekrarlayan gebelik kayıpları), arteriyel ve venöz trombozlar ile karakterize otoimmün klinik bir durumdur (13-15). Beraberinde otoimmün trombositopeni, sifiliz için yalancı pozitif test ve livedo retikularis görülebilen non-inflamatuvar bir hastalıktır. Tek başına ortaya çıktığında primer, özellikle SLE olmak üzere diğer hastalıklarla birlikte olduğunda ise sekonder APS olarak isimlendirilir (17, 18).

Antifosfolipid antikor sendromu testleri, başlıca lupus antikoagülanının (LA) gösterilmesi ve antifosfolipid antikörlerin araştırılmasını kapsar. Antikardiyolipin antikoru kardiyolipine karşı gelişmiş antifosfolipid antikörlerdir.

Antikardiyolipin antikoru (ACA) dışında da anyonik fosfolipidlere karşı gelişmiş antifosfolipid antikolar vardır. Bunlara örnek olarak antifosfotidil etanolamin, antifosfotidilserin, antifosfotidil inositol verilebilir. Ancak klinik pratikte en sık kullanılan kit ve dolayısıyla hakkında halen en çok bilgi sahibi olunan antifosfolipid antikor, ACA'dır. Antikardiyolipin antikolar genel popülasyonda da saptanabilmektedir ve varlıkları her zaman APS ile ilişkili değildir (19, 20). Sağlıklı kontrol gruplarının %5'inde, SLE vakalarının ise %35'inde antifosfolipid antikoları tesbit edilebilmektedir (16).

Sistemik lupus eritematozus ve kronik otoimmün trombositopenik purpura (AITP) olan hastalarda ACA seviyeleri ile trombositopeninin ilişkili olduğu bulunmuştur (21-25). Bu bulgu antikoların trombosit fosfolipidleri ile çapraz reaksiyona girdiğini ve trombosit harabiyetine yol açtığını desteklemektedir.

2.3. Psödotrombositopeni

2.3.1. Tanım

Günümüzde trombosit sayımı tam otomatik kan sayım araçları ile yapılmaktadır. Bu cihazlarda etilendiamin tetra asetik asit ile antikoagüle edilen kandaki eritrositler 2M üre ile hemolize edilip, kalan trombositler optik sayıcı ile sayılırlar. Otomatik kan sayımı işlemi oldukça duyarlı ve doğru sonuçlar veren bir yöntem olmasına karşın % 0.1 - 0.2 oranında yanlış sonuçlar gözlenmektedir. Trombosit sayısı yeterli olduğu halde elektronik kan sayım cihazları ile yapılan sayımlarla düşük sonuçların alınmasına psödotrombositopeni denir.

Otomatik kan sayım cihazları ile yapılan sayımlarda trombosit sayısı düşük bulunan hastalarda klinik olarak kanamaya eğilim yoksa PTCP olasılığını ortaya koymak için:

- Düşük trombosit sayımları mutlaka periferik yaymanın incelenmesiyle kontrol edilmelidir.
- EDTA yerine başka bir antikoagülan ile trombosit sayımı tekrar değerlendirilmelidir.
- Kan önceden ısıtılmış bir tüpe alınmalı ve sayım anına kadar ısı 37 C°de tutulmalı
- Parmak ucundan kapiller kan alınarak trombosit sayımının faz kontrast mikroskopu ile yapılması önerilir.

Nadirende olsa PTCP'nin gerçek trombositopeniyi ya da trombositozu maskeleyiği bildirilmiştir (26, 27).

2.3.2. Psödötrombositopeni nedenleri

Otomatik kan sayım cihazlarında yanlış trombosit sayımı sonuçlarına yol açan durumlar tablo 2' de verilmiştir (28). Ancak klinik pratikte en sık kan örneğinin test tüpünde pıhtılaşması, trombosit otoaglutinasyonu ve trombosit satellitizmi gibi durumlar sorumlu tutulmaktadır.

2.3.2.1 Test tüpünde pıhtılaşma

Test tüpüne antikoagülan konulmaması, az konulması veya yeterince karıştırılmaması gibi nedenlerle olur. Trombosit sayımında en sık karşılaşılan yanlışlık budur. Tüp içinde pıhtı görülür. Kan örneği başka bir tüpe alındığında

trombositopeni görülmez. Trombosit değerleri ile birlikte diğer kan elemanlarının da düşük olması dikkati çeker.

2.3.2.2 Trombosit otoaglutinasyonu

Trombosit aglutinasyonuna neden olan antikorlar IgG, IgM veya IgA sınıfından olabilirler. Bu hastaların serum veya immünglobulinleri normal kan örneklerinde de aglutinasyona neden olur. Aglutinasyona sebep olan antikorların % 40'ının IgA, %30'unun IgG ve %10'unun da IgM sınıfından olduğu bildirilmiştir (29). Bu antikorlar trombosit membran glikoprotein IIb-IIIa reseptörleriyle etkileşirler (30). Çoğunlukla soğuk aglutinin biçimindedirler. Antikoagülanla ilişkileri bakımından üçe ayrılırlar:

- Antikoagülandan bağımsız
- Sitrat varlığında etkili
- EDTA varlığında etkili

Trombositlere karşı otoantikor varlığı, normal kişilerde 1300 hastanın 3 tanesinde bildirilmiştir (28). En sık bildirilen tip EDTA varlığında etkili olanıdır (31). İzole trombositopenili 111 hastanın 24 aylık takibinde EDTA'ya bağlı PTCP %15.3 oranında saptanmıştır (32). Otoantikorların reaksiyona girdiği antijenler normalde membranda olmalarına rağmen dışarıya dönük değildirler. Etilendiamin tetra asetik asit varlığında bu antijenlerde yapısal değişiklikler oluşmakta ve antikorun bağlanabileceği yerler hücre membranından dışarı doğru yönelmektedir (10). Bu aglutininlerin oda ısısından düşük sıcaklıkta etkili olduğu göz önüne alındığında niçin in vivo otoaglutinasyona yol açmadıkları anlaşılır.

Tablo 2. Kan sayım cihazlarında görülen başlıca trombosit sayımı değişikliklikleri

	Diğer parametrelerdeki değişiklikler
Yanlış düşüşler	
Trombosit aglütinasyonu (EDTA ile birlikte diğer antikoagülanlar da göz önüne alınmalıdır)	Trombosit kümeleri lökosit olarak sayılır
Trombosit satellitizmi (esas olarak EDTA ile ilişkili)	
Polimorflar çevresinde	
Diğer lökositler çevresinde (normal; patolojik)	
Trombosit -nötrofil aglütinasyonu (esas olarak EDTA ile ilişkili)	Lökosit sayısı yanlış düşük sayılır
Dev trombositler	Lökositler ile birlikte sayılır
Örnekte koagülasyon	Anormal CBC
Fazla örnek alınması (yetersiz karıştırma)	Anormal CBC
Yanlış artışlar	
Fragmente eritrositler (şistositler, ciddi demir eksikliği anemisi, yanıklar)	Eritrosit sayısı gerçekten düşük sayılır
Çekirdekli hücrelerin sitoplazmik fragmantları (lösemi, lenfoma hücreleri)	
Kryoglobulinler, kryofibrinojen	Lökosit sayısı gerçekten fazla sayılır
Bakteri	
Mantar (kandida)	
Lipidler (örneğin yemek sonrası alınması, lipid damlaları)	Lökosit ve hemoglobin gerçekten yüksektir.

28 nolu kaynaktan yararlanılarak hazırlanmıştır.

2.3.2.3 Trombosit satellitizmi

Etilendiamin tetra asetik asit varlığında trombositler; granülositler ya da monositlerle aglutinasyona girerler (Şekil 1). Çoğunlukla IgG tipi antikorlar bundan sorumludur (33).

2.3.3. EDTA ilişkili psödotrombositopeni

Etilendiamin tetra asetik asit ilişkili PTCP'nin (EDTA-PTCP) prevalansı normal popülasyonda % 0.07-0.20 aralığındadır (1, 2, 34-37). Bu oran hospitalize edilmiş hastalarda ise %0.1-2.0 olarak bildirilmiştir (1, 34, 38, 39). Trombositopeni tanısı konulmuş ve ayakta tedavi edilen hastaların %17'sinden EDTA-PTCP sorumlu bulunmuştur (5). Çeşitli raporlara göre EDTA-PTCP erkeklerde ve yaşlılarda daha sık ve ciddi olarak bildirilmiştir (4, 35-40). Bazı çalışmalarda EDTA-PTCP'nin otoimmün ya da neoplastik patolojiyle ilişkili olabileceği varsayılmasına rağmen aksini ortaya koyan pek çok çalışma mevcuttur (35, 40-42). Serebral ya da miyokard enfarktüsü gibi arteriyel tromboz patogeneğinde rol oynadığı düşünülen artmış trombosit aktivitesiyle EDTA-PTCP arasında bir ilişki bulunmamıştır (43).

EDTA haricindeki antikoagülanlar da (sitrat, oksalat, heparin) bir çok raporda PTCP nedenleri arasında yer almaktadır (1, 34, 40, 44-49).

3. HASTALAR VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Grubu Seçimi

Tüm vakalarımızı Ocak 2007-Ağustos 2009 tarihleri arasında Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı polikliniklerine ayaktan başvuran ve yataklı servis ve yoğun bakımında yatmakta olan hastalar arasından seçtik. Kontrol grubu olarak yaş ve cinsiyet olarak çalışma grubu ile benzer olan ve normal kan sayımı sonuçlarına sahip bireyler seçildi.

Psödotrombositopeni tanısı klinik olarak primer hemostaz bozukluğuna ait bir bulgusu olmayan, otomatik kan sayım cihazında trombosit sayısı normalin (<130.000) altında çıkan ve periferik yaymada en az 15'li trombosit kümesi görülen hastalar PTCP olarak kabul edildi.

Periferik yaymada yeterli trombosit kümesinin görülmesi ile PTCP tanısı konulan hastalarda etyolojiye yönelik olarak EDTA lı kan örneği ile eşzamanlı sitratlı kan örnekleri alındı. Hasta ve kontrol grubu gebelik durumu, ANA ve ACA pozitifliği, soğuk aglütinin varlığı, paraproteinemiler, trombositlerin diyaliz membranı gibi yabancı yüzeylerle temas etmesi, dev trombosit ve trombosit satellitizmi görülmesi ve hiperlipidemi açısından değerlendirildi.

Psödotrombositopeni tanısı konulan bireylerin ve kontrol grubunun eşlik eden hastalıkları (malignite, kronik böbrek yetmezliği, diabetes mellitus, geçirilmiş serebrovasküler olay öyküsü, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon vb) ve kullandıkları ilaçlar kaydedildi. Çalışma için Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesindeki yerel etik kurulundan onay alındı. Çalışma için Fatih Üniversitesi

Tıp Fakültesi bünyesindeki yerel etik kurulundan onay alındı (23.06.2009 tarih/39 sayı numarası ile). Tüm katılımcılar bilgilendirilerek yazılı onam alındı.

3.2. Laboratuvar Metodları

3.2.1. Rutin incelemeler

Hastalardan bir gecelik açlık sonrası antekübital bölgeden alınan venöz kan örneklerinden kesitsel laboratuvar değişkenleri Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda rutin yöntemler kullanılarak çalışıldı.

Rutin kan sayımları Beckmann-Coulter HMX cihazı ile %5 sodyum EDTA ile antikoagüle edilmiş kan kullanılarak yapıldı. Kan sayım cihazından elde edilen trombosit sayısı $130.000 \times 10^9/\text{mm}^3$ nin altında olan ve kanama eğilimi olmayan hastalar EDTA-PTCP tanısı için değerlendirildi. Tüm vakalarda, EDTA ile antikoagüle edilmiş taze kan örnekleri tekrar sayıldı. Eş zamanlı olarak alınan kan örnekleri antikoagülan olarak sodyum sitrat eklenmiş tüpe alınarak çalışıldı. Tüm hastalar için EDTA ile antikoagüle edilmiş kan örneklerinden ve eş zamanlı olarak parmak ucundan ayrı ayrı periferik kan yayması hazırlandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi. Trombosit kümelenmesi, trombosit satellitizmi ve dev trombosit varlığı konusunda özellikle dikkatli olundu.

Biyokimyasal parametrelerden demir, total demir bağlama kapasitesi, total kolesterol, trigliserid, HDL, VLDL düzeyi biyokimya laboratuvarında Roche firmasının Cobas Integra 800 otoanalizörü ile enzimatik kolorimetrik yöntem ile çalışılmıştır. LDL düzeyi total kolesterol – (trigliserid/5 + HDL) formülüne göre, transferin saturasyonu ise serum demir düzeyi x 100/TDBK formülüne göre hesaplanmıştır. Tiroid stimulan hormon (TSH), vitamin B12, folik asit ve ferritin

düzeyle Roche firmasının E170 hormon otoanalizörü ile elektrokemilüminesens metodu ile çalışılmıştır. Protrombin zamanı (PT), INR, apTT, fibrinojen düzeyleri STA Contact cihazı ile clotting metodu ile D-Dimer düzeyleri ise STA Contact cihazı ile immünolojik yöntem ile çalışılmıştır.

3.2.2. Soğuk aglütinasyon testi

Soğuk aglütinasyon testi için insan O grubu Rh negatif eritrositler, taze kan fizyolojik tuzlu su ile 3 kez yıkanıp elde edilen eritrositler fizyolojik tuzlu suda % 2 lik süspansiyon haline getirilir. Sekiz adet tüpe birinci tüpe 0.2 ml diğerlerine 0,5 ' er ml olmak üzere fizyolojik tuzlu su dağıtılır. Birinci tüpe 0.2 ml hasta serumu konarak 1/10 sulandırılır. Tüpten tüpe 0.5 ml lik aktarmalar yapılarak serumun çift kat sulandırılmaları elde edilir. 7. tüpten 0.5 ml dışarı atılır ve son tüpe serum konmaz(kontrol tüpü). Tüm tüplere %2 lik eritrosit süspansiyonundan 0.5 ml şer dağıtılarak her tüpteki serum bir kat daha sulandırılmış olur. Tüm tüpler çalkalanarak karıştırılır. Bir gece +4°C derecede bekletildikten sonra çıkarılır ve ısınmasına meydan vermeden okunur. Elde edilen 1 /32 ve daha yüksek aglütinasyon sonuçları anlamlı olup 37°C de düzelme olması halinde soğuk aglütinasyon testi pozitif kabul edildi.

3.2.3. Antinükleer ve antikardiyolipin antikor

Kan örnekleri 4.000 g de 10 dk süre ile santrifüje edildi ve inceleme zamanına kadar -20°C' de saklandı.

Anti nükleer antikor IFA metoduyla HEP-2 hücre substratı kullanılarak çalışıldı. İnsan epitel hücreleri (HEp-20-10) ve primat karaciğer doku kesitlerini

ihativa eden BIOCHIP slayt reaksiyon alanları dilüe hasta serum örnekleri ile inkübe edildi. Şayet reaksiyon pozitif ise, IgA , IgG veya IgM sınıfı spesifik antikorlar nükleer antijenlere bağlanırlar. İkinci basamakta bağlanmış antikorlar floresan ile işaretlenmiş anti-insan antikorlarıyla inkübe edilip floresan mikroskopta substrat hücrelerinin hem interfazdaki nükleusları ve hem de mitotik hücre nükleusları ile karaciğerdeki floresan görülen alanları incelendi. Hücre nükleusunun birkaç farklı paternde olabilecek farklı floresan boyamaları göstermesi halinde pozitif test sonucu kabul edildi. Nükleusun spesifik bir floresans boyanma göstermediği durumlarda ise ANA negatif kabul edildi.

Antikardiyolipin antikor IgM (ACA-IgM) ve IgG (ACA-IgG), ELISA yöntemi ile Aeskulisa Cardiolipin-GM kiti kullanılarak Normal plazma değerleri ACA-IgM için 0-15 MPL/ml ve ACA-IgG için 0-15 GPL/ml olarak kabul edildi.

3.3. İstatistiksel yöntemler

Verilerin istatistiksel analizinde Windows için SPSS 13.0 versiyon programı kullanıldı.

Grupların demografik özelliklerinin istatistiksel karşılaştırmalarında *Pearson X2*, *Fisher's Exact X2* testleri ve *Kruskal-Wallis varyans analizi* kullanıldı. *Kruskal-Wallis varyans analizi* ile anlamlı fark saptanması durumunda, istatistiksel anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığı *Mann Whitney U testi* ile değerlendirildi.

Korelasyon analizleri için *Spearman's* korelasyon testi kullanıldı.

Gruplardan edilen sonuçlar ortalama \pm SD (standart sapma) olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar sonucu elde edilen p değeri için <0.05 düzeyi anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Ocak 2007-Ağustos 2009 tarihleri arasında Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı polikliniklerine ayaktan başvuran ve yataklı servis ve yoğun bakımında yatmakta olan hastalar arasından PTCP'li 80 ve kontrol grubu olarak 69 hasta çalışmaya dahil edildi.

Hastaların %63.8' i kadın (n=51), %36.2' si erkekti (n=29). İstatistiksel olarak cinsiyet açısından iki grup arasında fark yoktu ($p > 0.05$).

Araştırmaya dahil edilen hastaların yaş ortalaması 50.4 ± 21 , kontrol grubunun yaş ortalaması 47.4 ± 18 olarak bulundu. İki grup arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$).

Psödotrombositopeni saptanan hastaların 24'ünde (%30) sitratlı tüp ile sayım yapıldığında trombosit sayıları normal değerlere yükseldi. Hastaların 24'ünde trombositopenin nedeni EDTA-PTCP olarak kabul edildi.

Psödotrombositopeni saptanan hastaların 10'unda (%12.5) hamilelik vardı. Araştırmaya dahil edilen gebe hastalarımızın hiç birinde ilaç kullanım öyküsü ve eşlik eden bir hastalık yoktu. Doğum sonrası hastalarda trombosit sayısı normale geldi. Bu 10 hamilenin 3'ünde aynı zamanda EDTA-PTCP vardı.

Psödotrombositopeni saptanan hastaların 10'unda (%12.5) ortalama trombosit hacmi 11 fl daha büyük, 18' inde (%22.5) ise 6.8 fl daha küçük olarak bulundu.

MPV değerleri yüksek hastaların birisinde EDTA-PTCP vardı. MPV değerleri düşük hastaların 7'sinde EDTA-PTCP vardı. Ortalama trombosit volümü değerleri yüksek hastaların 5'inde gebelik var, 1'inde yoktu. Ortalama

trombosit volümü değeri düşük hastaların 1'sinde gebelik vardı. MPV değerleri 8 gebede ise normal sınırlar içindeydi.

Hastaların 26'sında (%32.5) enfeksiyon vardı. Enfeksiyonu olan hastaların 3'ünde MPV değerleri yüksek, 7'sinde MPV değerleri düşük olarak bulundu. Enfeksiyonu olan hastaların 10'unda EDTA-PTCP vardı. Enfeksiyonu olan hastalardan aynı zamanda gebeliği olan hastamız yoktu.

Psödotrombositopenisi olan hastaların 15'inde ANA pozitif. Bu hastaların 9'unda PTCP EDTA'ya bağlıydı. ANA pozitif hastaların 3'ünde MPV değerleri yüksek, 7'sinde MPV değerleri düşüktü. ANA pozitif hastaların 9'unda enfeksiyon vardı. ANA pozitif hastaların birisinde gebelik vardı.

Psödotrombositopenisi olan hastaların 19'unda diabetes mellitus (DM) vardı. Diyabeti olan hastaların 8'inde trombositopeni EDTA'ya bağlıydı. Diyabetik hastaların 4'ünde MPV değeri yüksek, 4'ünde düşüktü. Diyabetik hastalardan hamile olan yoktu. Diyabetik hastaların 11'inde enfeksiyon, ikisinde kronik karaciğer hastalığı vardı. Diyabetik hastaların 4'ünde ANA pozitifliği varken birisinde de ACA pozitif olarak bulundu.

Antikardiyolipin antikolar 4 hastada pozitif. Bu hastalarda enfeksiyon, hamilelik, EDTA-PTCP yoktu. Bu hastaların birisinde MPV değerleri yüksekti. Psödotrombositopenisi olan hastaların birinde hipertiroidi varken 4'ünde hipotiroidi vardı. Dört PTCP li hastada kronik karaciğer hastalığı vardı. Kronik karaciğer hastalığı olan hastalarımızda enfeksiyon, hamilelik, soğuk aglutinin, tiroid fonksiyon bozukluğu, EDTA'ya bağlı trombositopeni, MPV yüksekliği yoktu. Sadece hastaların birinde ANA pozitifliği vardı.

Hasta grubunun gebelik sıklığının kontrol grubuna göre fazla olduğu bulundu. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Psödotrombositopenili bireylerde ortalama trombosit sayısı kadın ve erkeklerde benzerdi ($96.2 \pm 32.8 \times 10^{12}/L$ ve $86.7 \pm 33.7 \times 10^{12}/L$ sırasıyla, $p=0.170$).

Bizim hastalarımızın 19'unda (%23.8) DM, 26'sında (%32.5) HT, 13'ünde (%26.3) ASKH, 4'ünde (%5) geçirilmiş TESVO, 4'ünde (%5) kronik KC parankim hastalığı ve 8'inde (%10) hipotiroidi mevcuttu. Hastaların 7 sinde septisemi olmak üzere 29'unda aktif enfeksiyon mevcuttu (%36.25). Hastalarımızın 61 tanesi (%76.25) hastanede yatmaktaydı (Tablo 3). Hastaların %58.75'inde herhangi bir eşlik eden hastalık mevcuttu. Ancak eşlik eden hastalıklar açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu (Tablo 3).

Hastaların %51.3'ü (41/80) altta yatan hastalığı ile ilgili farklı ilaçları kullanmaktaydı. Sık kullanılan ilaçlar; %17.5 ASA, %16.3 betablokör, %8.8 KKB, %8.8 ACEİ, %7.5 ARB ve %7.5 LMWH idi.

Psödotrombositopenili bireyler ile kontrol grubu arasında bazal karakteristikler, eşlik eden hastalıklar, ilaç kullanımı ve antikor dağılımı yönünden fark olup olmadığına bakıldığında sadece LMWH kullanımının PTCP'li bireylerde anlamlı olarak daha sık olduğu görüldü. Ancak LMWH kullanan bireylerde kullanmayanlara göre daha fazla oranda enfeksiyon mevcuttu (%71.4 ve %22.5 sırasıyla, $p=0.011$). Ayrıca LMWH kullanan bireylerde hastanede yatış oranı kullanmayanlara göre daha fazla idi (%57.1 ve %12.9 sırasıyla, $p=0.010$).

Tablo 3. Hasta ve kontrol grubunun temel özelliklerinin karşılaştırılması

Değişkenler	Hasta (n=80)	Kontrol (n=69)	<i>p</i>
Yaş, yıl	50.4±21.1	47.4±18.0	0.355
Cinsiyet, K/E	51/29	47/22	0.350
Ayaktan/yatan	19/61	3/66	0.001*
Kanama, %	1 (1.3)	0	1.000
Gebelik, %	10 (20.0)	4 (8.5)	0.100
Eşlik eden hastalıklar, %			
DM	19 (23.8)	18 (26.1)	0.742
HT	26 (32.5)	25 (36.2)	0.632
ASKH	13 (16.3)	8 (11.6)	0.415
TESVO	4 (5.0)	1 (1.4)	0.373
Kronik KC hastalığı	4 (5.0)	0	0.124
Hipotiroidi	8 (10.0)	9 (13.0)	0.560
Bağ doku hastalığı	0	1 (1.4)	0.463
İlaç kullanımı, %			
ASA	14 (17.5)	6 (8.7)	0.116
Warfarin	3 (3.8)	1 (1.4)	0.624
LMWH	6 (7.5)	0	0.031*
Betablokör	13 (16.3)	9 (13.0)	0.582
KKB	7 (8.8)	6 (8.7)	0.991
ACEİ	7 (8.8)	8 (11.6)	0.565
ARB	6 (7.5)	8 (11.6)	0.393
İnsülin	3 (3.8)	3 (4.3)	1.000

ACEİ: anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü; ANA: antinükleer antikor; ARB: anjiyotensin reseptör blokörü; ASA: asetilsalisilik asit; ASKH: aterosklerotik kalp hastalığı; DM: diabetes mellitus; HT: hipertansiyon; KKB: kalsiyum kanal blokörü; LMWH: düşük molekül ağırlıklı heparin; TESVO: tromboembolik serebrovasküler olay

Psödotrombositopenili bireyler ile kontrol grubu arasında kan sayımı parametreleri ve diğer laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması tablo 4 ve 5 de verilmiştir. Psödotrombositopenili bireylerde beyaz küre sayısının ve MPV değerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde kontrol grubundan daha yüksek olduğu görüldü (sırasıyla $p=0.003$ ve $p=0.006$). Ayrıca PTCP'li bireylerde ferritin, fibrinojen ve dimer düzeyleri de istatistiksel olarak anlamlı şekilde kontrol grubundan daha yüksek idi (sırasıyla $p=0.029$, $p=0.045$ ve $p<0.001$).

Tablo 4. Hasta ve kontrol grubunun EDTA 'lı tüpte yapılan kan sayımı değerlerinin karşılaştırılması

Değişkenler	Hasta (n=80)	Kontrol (n=69)	p
Hemoglobin (g/dL)	13.2±2.3	13.3±1.9	0.793
Hematokrit(%)	38.7±6.7	39.9±5.6	0.229
Lökosit (X10¹²/L)	7.7±3.5	6.3±1.5	0.003*
Trombosit (X10¹²/L)	89.3±34.2	255.7±62.2	<0.001*
MCV (fL)	86.3±10.2	86.1±8.0	0.904
MPV (fL)	9.2±1.5	8.6±1.0	0.006*

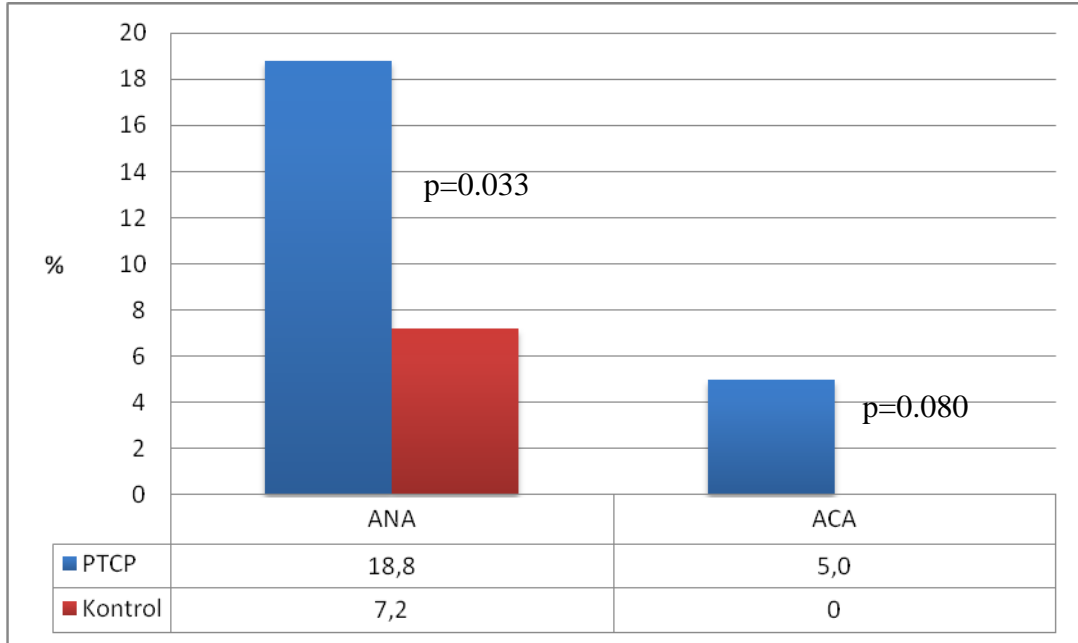
MCV: ortalama eritrosit volümü; MPV: ortalama trombosit volümü

Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun çeşitli laboratuvar incelemelerinin karşılaştırılması

Değişkenler	Hasta (n=80)	Kontrol (n=69)	p
Serum demiri (µg/dL)	74.7±36.5	83.6±34.5	0.134
SDBK (µg/dL)	325.4±107.9	351.6±69.0	0.085
Ferritin (ng/ml)	130.6±208.0	79.5±86.5	0.029*
Transferrin satürasyonu (%)	26.2±18.5	25.0±11.6	0.655
Folik asit (ng/ml)	9.2±2.8	8.7±3.1	0.299
Vitamin B12 (pg/ml)	429.3±320.1	348.0±268.0	0.098
TSH (µIU/ml)	2.1±1.9	2.0±1.5	0.834
aPTT (sn)	30.9±5.1	31.2±3.2	0.672
INR	1.6±4.3	1.0±0.2	0.285
Fibrinojen (mg/dl)	364.4±122.5	329.7±78.1	0.045*
D-dimer (ng/ml)	951.0±1333.2	265.7±571.0	<0.001*
Total kolesterol (mg/dl)	166.8±47.0	172.5±35.2	0.465
LDL-K (mg/dl)	96.6±35.2	99.6±27.9	0.617
HDL-K (mg/dl)	44.7±15.4	45.4±11.7	0.790
Trigliserid (mg/dl)	126.5±61.2	137.7±71.1	0.388

SDBK: serum demir bağlama kapasitesi; TSH: tiroid stimulan hormon; aPTT : aktive parsiyel tromboplastin zamanı; INR: international normalisation ratio; LDL-K: düşük yoğunluklu lipoprotein içeren kolesterol; HDL-K: yüksek yoğunluklu lipoprotein içeren kolesterol

Antinükleer antikor 15 PTCP'li bireyde (%18.8) pozitif iken kontrol grubunda 5 bireyde (%7.2) pozitifdi (p=0.033). Antikardiyolipin antikorunu 4 (%5.0) PTCP'li bireyde pozitif saptanırken kontrol grubunda hiç saptanmadı, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 3). Antinükleer antikor ve ACA pozitif ve negatif bireylerde trombosit sayıları ve sitratlı tüpte düzelleme oranları benzerdi (p>0.05). Sitratlı tüpte trombosit sayısının $130.000 \times 10^9/\text{mm}^3$ üzerine çıkma oranları ANA ve ACA pozitif bireylerde sırasıyla %40 ve %25'idi. Bu oranlar PTCP'li otoantikor negatif bireyler ile istatistiksel olarak benzerdi (ANA için p=0.261, ACA için p=0.823).

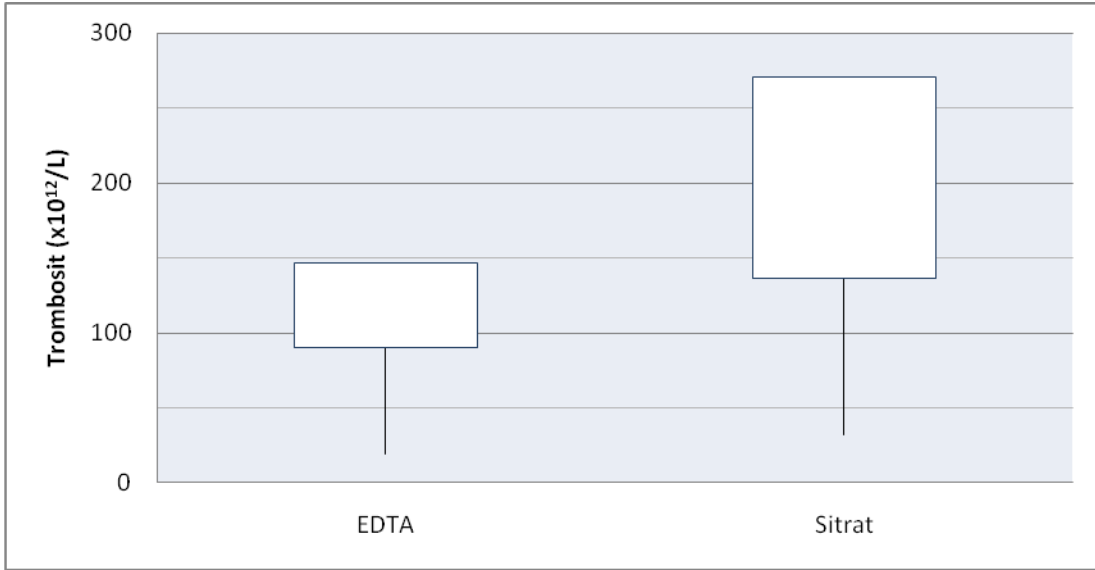


Şekil 3. Psödotrombositopenili bireyler ile kontrol grubunun otoantikor sıklığı yönünden karşılaştırılması

Tablo 6. Psödotrombositopenili bireylerin EDTA ve sitratlı tüpte yapılan kan sayımlarındaki parametrelerin karşılaştırılması

Değişkenler	EDTA	Sitrat	<i>p</i>
Hemoglobin (g/dL)	13.1±2.3	12.2±2.1	0.009*
Hematokrit (%)	38.7±6.7	35.7±6.1	0.004*
Lökosit (X10 ¹² /L)	7.7±3.5	6.9±2.7	0.088
Trombosit (X10 ¹² /L)	89.3±34.2	134.1±54.4	<0.001*
MCV (fL)	86.3±10.2	87.4±5.3	0.383
MPV (fL)	9.2±0.2	8.3±1.1	<0.001*

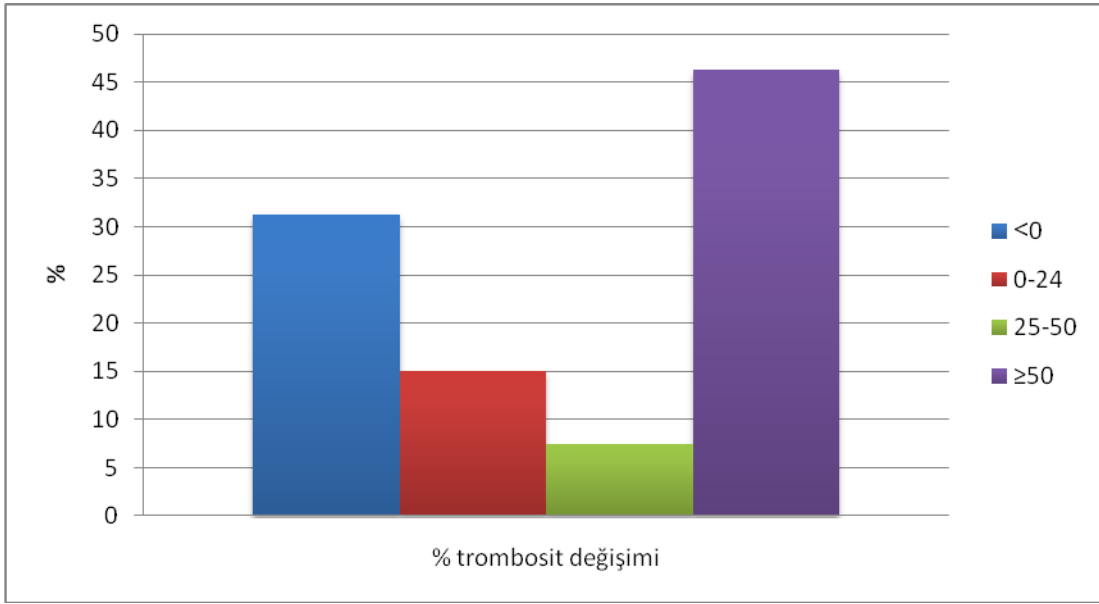
MCV: ortalama eritrosit volümü; MPV: ortalama trombosit volümü



Şekil 4. Psödotrombositopenili bireylerin EDTA ve sitratlı tüpte yapılan kan sayımlarındaki parametrelerin karşılaştırılması

EDTA' lı tüpte yapılan kan incelemesi ile sitratlı tüpte yapılan kan sayımı karşılaştırıldığında trombosit sayısında anlamlı düzelme olduğu görülürken sitratlı tüpte Hb ve Htc değerlerinin daha düşük ölçüldüğü görüldü (Tablo 6, Şekil 4).

Sitratlı tüpte trombosit değişim oranlarına bakıldığında 37 hastada (%46.3) %50'nin üzerinde artış olurken, trombosit sayısının $130.000 \times 10^9 / \text{mm}^3$ üzerine çıktığı hasta sayısı 24 idi (%30.0). Tüm PTCP'li bireylerde değişim oranını tabakalandırıp incelediğimizde hiç değişiklik olmayan veya trombosit sayısında azalma olan hasta sayısı 25 (%31.2) olarak bulundu (Şekil 5).



Şekil 5. Sitratlı tüpte tekrarlanan kan sayımında trombosit sayısı değişim yüzdelerinin tabakalandırılarak değerlendirilmesi (tüm PTCP'liler)

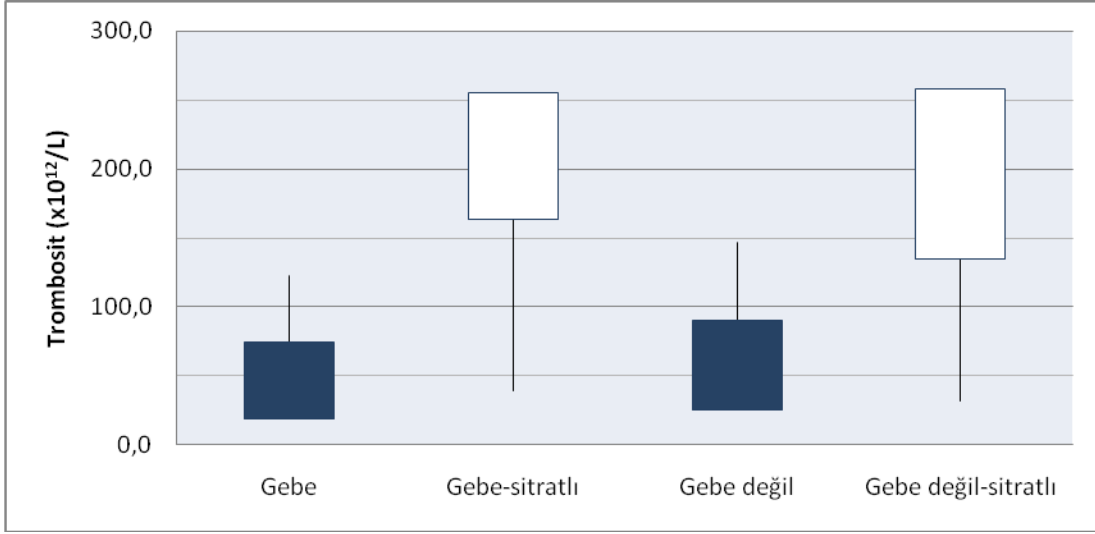
Psödotrombositopenili diyabetik bireyler nondiyabetik bireylere göre daha yüksek trombosit sayısına sahiptiler ancak sitratlı tüpte tekrarlanan kan sayımında bu farkın ortadan kalktığı görüldü (Tablo 7). Diyabetiklerde gebelik sıklığı nondiyabetiklerden daha az oranda görülmekteydi. Ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi (diyabetik gebe sayısı=1 ve nondiyabetik gebe sayısı=9, $p=0.130$). Ortalama trombosit hacmi diyabetiklerde nondiyabetiklere oranla daha yüksekti ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (9.3 ± 1.4 fL vs 8.5 ± 1.4 fL sırasıyla, $p=0.413$).

Gebe bireylerde gebe olmayan bireyler ile trombosit sayıları hem EDTA lı tüpte yapılan sayımlarda hemde sitratlı tüpte yapılan sayımlarda benzerdi ($p=0.961$) (Şekil 6). Ancak sitratlı tüpte trombosit değişim oranları incelendiğinde gebe PTCP'lilerin %90.0 nında (9/10) >%50 trombosit sayısında artış görülürken gebe olmayanlarda bu oran %43.9 du (18/41) ($p=0.009$). Ayrıca gebelerde sitratlı tüpte trombosit sayısı >150000 olan hasta oranı (5/10, %50.0) gebe olmayanlara (12/41, %29.3) göre fazla olmasına karşın bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.190$).

Tablo 7. Diyabetik ve nondiyabetik PTCP'li bireylerin kan sayımı (EDTA ve sitrat ile) ve ilişkili parametrelerin ve eşlik eden çeşitli durumların sıklığı yönünden karşılaştırılması

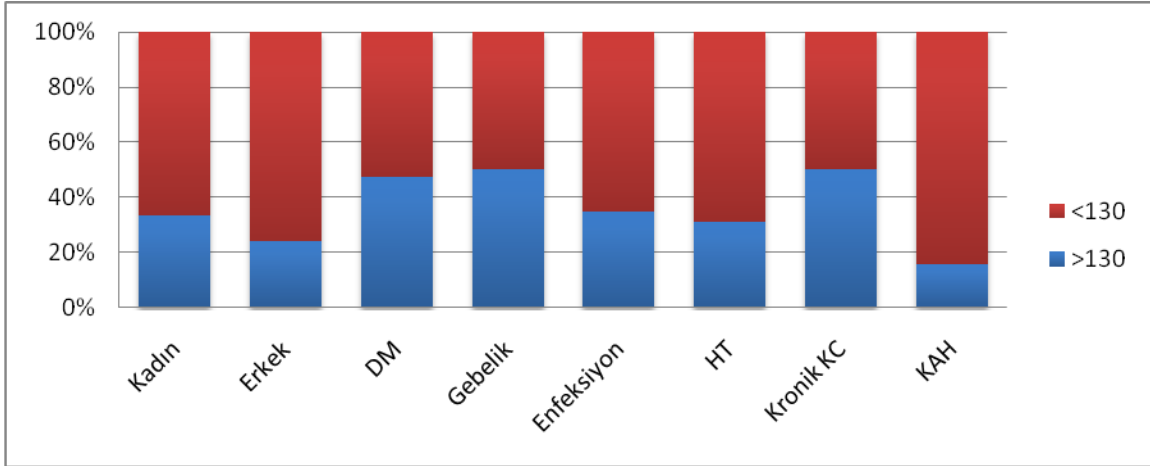
Değişkenler	Diyabetik (n=19)	Nondiyabetik (n=61)	p
Hemoglobin (g/dL)	13.2±2.5	13.2±2.3	0.994
Hematokrit (%)	38.7±6.8	38.7±6.7	0.992
Lökosit (X10¹²/L)	7.8±3.2	7.7±3.6	0.954
Trombosit-EDTA (X10¹²/L)	72.5±37.7	96.0±30.0	0.006*
Trombosit-Sitrat(X10¹²/L)	147.6±62.3	133.3±50.6	0.307
MCV (fL)	87.0±5.6	86.0±11.2	0.717
MPV (fL)	9.3±1.4	8.5±1.4	0.413
Serum demiri (µg/dL)	74.2±28.1	71.8±42.1	0.822
SDBK (µg/dL)	323.4±115.8	326.0±106.3	0.928
Ferritin (ng/ml)	168.2±247.8	118.9±194.9	0.370
Transferrin satürasyonu (%)	22.0±9.8	20.1±12.1	0.531
Gebelik (%)	1 (6.7)	9 (25.0)	0.130
ACEİ kullanımı (%)	2 (10.5)	5 (8.2)	0.531
ANA (%)	4 (21.1)	11 (18.0)	0.501
ACA (%)	1 (5.3)	3 (4.9)	0.670

ACA: antikardiyolipin antikor; ACEİ: anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü; ANA: antinükleer antikor; MCV: ortalama eritrosit volümü; MPV: ortalama trombosit volümü; SDBK: serum demir bağlama kapasitesi



Şekil 6. Gebe olan ve olmayan PTCP'li bireylerin EDTA ve sitratlı tüpteki kan sayımlarından elde edilen trombosit sayılarının karşılaştırılması

Eşlik eden diğer hastalıklarda ise trombosit sayısı ve sitratlı tüpte sayımda trombosit değişim oranları ilgili hastalığın olmadığı bireyler ile benzerdi ($p>0.05$ tümü için) (Tablo 8, Şekil 7).



Şekil 7. Cinsiyet ve eşlik eden çeşitli durumların sitratlı tüpte tekrarlanan kan sayımında trombosit sayılarının düzelme yüzdesi

Tablo 8. Eşlik eden çeşitli durumların ve ilaçların sitratlı tüpte tekrarlanan kan sayımında trombosit sayısı değişim yüzdelerinin tabakalandırılarak değerlendirilmesi

Değişkenler	n	% Trombosit Değişimi			
		<0	0-24	25-49	>50
Diabetes Mellitus	19	3 (15.8)	1 (5.3)	1 (5.3)	14 (73.6)
Gebelik	10	0	0	1 (10.0)	9 (90.0)
Hipertansiyon	26	12 (46.2)	3 (11.5)	2 (7.7)	9 (34.6)
Aterosklerotik kalp hastalığı	13	6 (46.1)	2 (15.4)	0	5 (38.5)
Tromboembolik olay	4	0	2 (50.0)	0	2 (50.0)
Kronik KC hastalığı	4	0	0	1 (25.0)	3 (75.0)
Hipotiroidi	8	0	3 (37.5)	1 (12.5)	4 (50.0)
ASA	14	8 (57.1)	1 (7.1)	0	5 (35.7)
Warfarin	3	0	0	0	3 (100.0)
LMWH	6	2 (33.3)	2 (33.3)	0	2 (33.3)
ACEI	7	4 (57.1)	0	1 (14.3)	2 (28.6)
ARB	6	0	2 (33.3)	2 (33.3)	2 (33.3)
İnsülin	3	1 (33.3)	1 (33.3)	0	1 (33.3)

ACEİ: anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü; ASA: asetilsalisilik asit; ARB: anjiotensin reseptör blokörü; LMWH: düşük molekül ağırlıklı heparin

EDTA ile yapılan sayımdaki trombosit sayısı ve sitratlı tüpte tekrar çalışıldığında oluşan değişim miktarı ile belli faktörlerin ilişkisi tablo 9'da verilmiştir. Yaş ile trombosit sayısı arasında korelasyon saptanmadı ($r=0.094$,

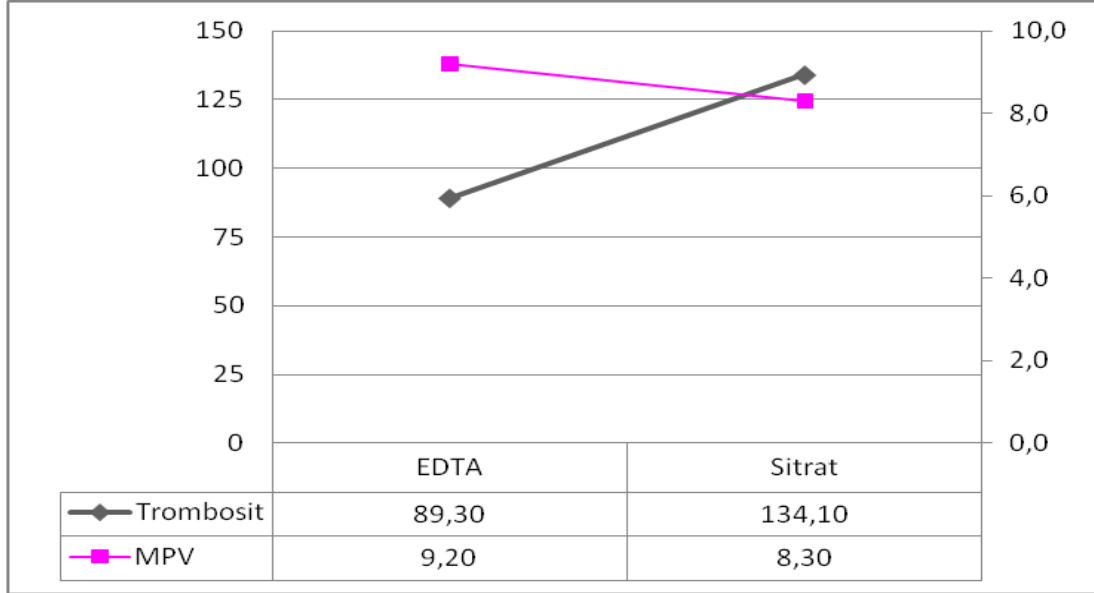
p=0.410). EDTA ile sayımda trombosit sayısının yalnızca fibrinojen ile negatif yönde korele olduğu görüldü (r=-0.232, p=0.038).

Tablo 9. Kan sayımı ve ilişkili parametrelerinin trombosit sayısı ve sitratlı tipte kan sayımı tekrarlanarak elde edilen değişim miktarı ile ilişkilerinin değerlendirilmesi

	Trombosit değişimi		Trombosit-EDTA	
	r	p	r	p
Yaş	-0.018	0.875	0.100	0.379
Trombosit değişimi	-	-	0.585	<0.001*
Serum demiri	0.040	0.722	0.035	0.757
SDBK	0.062	0.584	-0.072	0.523
Transferrin saturasyonu	0.108	0.339	0.021	0.857
Ferritin	-0.012	0.915	0.085	0.451
TSH	0.129	0.253	-0.214	0.057
Vitamin B12	0.017	0.882	-0.032	0.781
Folat	0.047	0.679	0.041	0.719
PT	-0.07	0.346	-0.053	0.640
INR	-0.127	0.262	0.114	0.314
aPTT	-0.018	0.873	0.054	0.632
D-dimer	-0.140	0.215	0.068	0.548
Fibrinojen	0.060	0.596	-0.232	0.038
Hematokrit	0.002	0.983	0.115	0.589
MCV	-0.060	0.595	0.074	0.512
Hemoglobin	-0.009	0.939	0.148	0.190
Lökosit	0.170	0.132	-0.189	0.093
MPV	-0.289	0.009*	0.158	0.161
Total kolesterol	0.246	0.095	0.029	0.764
LDL-K	0.223	0.131	0.029	0.767
HDL-K	-0.003	0.985	0.096	0.321
Trigliserid	0.325	0.026*	-0.070	0.447

aPTT : aktive parsiyel tromboplastin zamanı; HDL-K: yüksek yoğunluklu lipoprotein içeren kolesterol; INR: international normalisation ratio; LDL-K: düşük yoğunluklu lipoprotein içeren kolesterol; MCV: ortalama eritrosit volümü; MPV: ortalama trombosit volümü; PT: protrombin zamanı; SDBK: serum demir bağlama kapasitesi; TSH: tiroid stimulan hormon

Trombosit değişimi ile başlangıç trombosit sayısı ve trigliserid düzeyinin pozitif yönde, MPV değeri ile negatif yönde korelasyon gösterdiği görüldü (sırasıyla $r=0.585$, $p<0.001$ ve $r=-0.289$, $p=0.009$) (Şekil 8).



Şekil 8. Trombosit sayısı ile MPV ilişkisinin değerlendirilmesi

Psödötrombositopeni için odds ratio ve 95 güvenlik aralıkları kontrol grubunda da mevcut olan faktörler için hesaplanarak tablo 10 da verildi. Özellikle hastanede yatıyor olmanın PTCP için ciddi sayılabilecek düzeyde risk artışına yol açtığı görüldü (OR:7.085, %95 güven aralığı: 1.995-25.159). Enfeksiyon varlığının, gebelik durumunun, koroner arter hastalığı ve serebrovasküler hastalık öyküsü gibi aterosklerotik hastalık bulgularının, coumadin, betablokör ve kalsiyum kanal blokörü kullanımının ve ANA pozitifliğinin de farklı düzeylerde risk artışına yol açtıkları görüldü.

Tablo 10. Çeşitli risk faktörlerinin PTCP için risk katsayıları

Değişken	Odds ratio	%95 güven aralığı
Hospitalizasyon	7.085	1.995-25.159
Enfeksiyon	2.539	1.145-5.630
Gebelik	2.622	0.762-9.024
DM	0.883	0.419-1.858
HT	0.847	0.430-1.670
ASKH	1.479	0.574-3.812
TESVO	3.579	0.390-32.808
Warfarin	2.649	0.269-26.072
Betablokör	1.294	0.516-3.241
KKB	1.007	0.322-3.152
ACEİ	0.731	0.251-2.131
ARB	0.618	0.203-1.879
ANA	2.954	1.014-8.606

ACEİ: anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü; ANA: antinükleer antikoru; ARB: anjiyotensin reseptör blokörü; ASKH: aterosklerotik kalp hastalığı; DM: diabetes mellitus; HT: hipertansiyon; KKB: kalsiyum kanal blokörü; TESVO: tromboembolik serebrovasküler olay

5. TARTIŞMA

Psödotrombositopeni terimi trombosit sayısının trombosit kümelenmesine bağlı olarak otoanalizörler tarafından yanlışlıkla düşük olarak ölçülmesini tanımlamak için kullanılır. Sıklıkla kümelenmeye EDTA ile antikoagüle edilmiş kanda trombositler ile reaksiyona giren aglütine edici antiplatelet antikolarının varlığı neden olur (2, 4). Psödotrombositopeni nedeniyle yanlış klinik tanılar gereksiz ve ciddi ilave incelemelere ve hatta uygun olmayan tedavilerin başlanmasına yol açmaktadır. Hastanede yatan hastalarda platelet agregasyonu insidansının %0.1-2 arasında değiştiği tahmin edilmektedir (2, 50).

EDTA-PTCP nin çoğunlukla diğer immünolojik hastalıklarda olduğu gibi kadınlarda daha fazla ortaya çıktığını saptadık. Mayo Clinic insidans çalışmasında EDTA-PTCP oranı tüm hastalarda %0.09 iken hastanede yatan hastalarda %1.9 bulunmuştur (1). Bu çalışma ve daha önceki pekçok çalışma ile benzer olarak PTCP saptanan hastalarımızın çoğu hastanede yatmaktaydı (34).

Hastalarımızın tümünde EDTA-ilişkili PTCP tanısı hem parmak ucundan hem de EDTA ile antikoagüle edilmiş kandan ayrı ayrı hazırlanan periferik kan yaymasının incelenmesi sonucunda EDTA ile antikoagüle edilmiş kandan yapılan periferik kan yaymasında belirgin platelet aglütinasyonu olması ile teyit edildi. Sitrata ile antikoagüle edilmiş kanda ortalama trombosit sayıları EDTA' lı kana göre belirgin olarak daha fazla idi. Sitrata lı tüpte yapılan kan sayımında %46.3 hastada %50'nin üzerinde artış görüldü. Sitrata lı tüpte tekrarlanan kan sayımında hastaların yaklaşık üçte birinde trombosit sayısı $130.000 \times 10^9 / \text{mm}^3$ üzerine çıkarken üçte birinde hiç değişiklik olmadı ve üçte birinde trombosit

sayısında azalma olduğu görüldü. Antikoagölan ilişkili PTCP'nin yalnızca EDTA ile değil aynı zamanda EDTA haricindeki antikoagölanların kullanımında da (sitrata, oksalat, heparin) PTCP'nin görülebileceği daha önce defalarca bildirilmiştir (40).

Diyabetik olanlarda diyabetik olmayanlara göre koroner ateroskleroz sıklığı ve yaygınlığının daha fazla olduğu bilinmektedir. Ayrıca diyabetiklerde aterosklerozda klinik olayları başlatan trombüsün oluşumunda en önemli hücre grubu olan trombositlerin aktivitesinin arttığına ilişkin çeşitli kanıtlar vardır. Diyabetik hastalarda kan akımına yeni genç trombosit girişinin fazla olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kana salınan trombositlerin fonksiyonel kapasiteleri artmış olan iri trombositlerden oluştuğu, bu trombositlerin daha fazla tromboksan üretme kapasitesine sahip olduğu ve megakaryositlerde sentez edilen GpIb ve GpIIb/IIIa glikoprotein reseptörlerinin artmış olduğu gösterilmiştir (52-54). Diyabetik bireylerde trombosit aglütinasyonuna yatkın prokoagölan ve proinflamatuvar durumun PTCP'ye eğilim oluşturması beklenir ancak çalışmamızda PTCP sıklığı açısından diyabetik bireyler ile nondiyabetik bireyler arasında fark saptanmadı. EDTA ile yapılan kan sayımında diyabetik bireylerin trombosit sayısı daha düşük ölçülüyordu. Ortalama trombosit sayımı açısından ise fark yoktu. Bu bulgular PTCP patogeneğinde immün faktörlerin daha önemli olduğunu düşündürmektedir.

Düşük molekül ağırlıklı heparin kullanımının PTCP'li bireylerde kontrol grubundan anlamlı olarak daha sık olduğu görüldü. Heparinler etkilerini antitrombin III (AT III) üzerinden göstermektedir. Antitrombin III doğal bir inhibitör olup trombin ve diğer bazı koagölasyon faktörlerine yavaş bir şekilde

bağlanarak onları nötralize eder. Antitrombin III, heparin ile bağlandığı zaman gücü neredeyse 1000 kat artmaktadır. Heparinler molekül ağırlıklarına göre anfraksiyone ve LMWH olarak iki ayrı formda bulunurlar. Anfraksiyone değişik molekül ağırlığında (3.000-30.000) heterojen glikozaminoglikanlardan oluşmuştur. Düşük molekül ağırlıklı heparinler anfraksiyone heparinden kimyasal hidroliz yoluyla elde edilirler ve molekül ağırlıkları 2.000-10.000 arasındadır. Heparin-AT III kompleksi trombin ile birlikte diğer bazı koagülasyon faktörlerini de inaktive edebilmektedir, ancak bu etki diğer faktörlerde trombine göre daha azdır. Ayrıca heparinlerin molekül ağırlığı azaldıkça (zincir uzunluğu azaldıkça) trombin üzerine olan etkileri azalmakta, Faktör Xa üzerine olan etkileri de artmaktadır. Anfraksiyone heparinden kimyasal hidroliz yoluyla elde edilen LMWH'ler bazı farklılıklar gösterirler. Düşük molekül ağırlıklı heparinlerin faktör Xa seçiciliği anfraksiyone heparine kıyasla daha fazladır ve trombine daha az oranda bağlanırlar. Trombositlere olan etkileri de anfraksiyone heparinden daha azdır bu nedenle heparine bağlı trombositopeniye daha az neden olurlar (11). Düşük molekül ağırlıklı heparinlerin trombositlere etkisi az olsa dahi heparin kullanmayan bireylere oranla trombosit kümelenmesinin daha az görülmesi gerekmektedir. Bu nedenle çalışma grubumuzda LMWH kullanan bireylerde daha fazla oranda trombositopeni görülmesinin bu bireylerde aynı zamanda daha yüksek oranda enfeksiyon varlığı ve hastanede yatış oranı ile ilişkili olduğu düşüncesindeyiz.

EDTA ile yapılan kan sayımında hastalarımızın ortalama MPV değeri sitratlı tüpte çalışıldığında ortalama MPV değerinden daha yüksek bulundu. Aynı zamanda MPV ile trombosit sayısı arasında ters yönde korelasyon

mevcuttu. Ortalama trombosit hacmi, trombositlerin periferik destrüksiyonunun olduğu vakalarda genellikle artarken, trombosit üretim bozukluğu olan vakalarda azalmaktadır (54, 55). Örneğin ITP'li hastalarda MPV her zaman 11'in üzerinde iken megakaryosit sayısı düşük olan vakalarda (aplastik anemi, lösemi) 6.4 ün altındadır (56). Sitratin aksine trombositlerin EDTA ile antikoagüle edilmiş kanda şiştiği ve sonuç olarak, sitrat ile karşılaştırıldığında antikoagülan olarak EDTA kullanıldığında MPV ve PDW değerlerinin daha büyük olduğu bilinmektedir. Bu veriler bizim çalışmamızda EDTA ve sitrat antikoagülan olarak kullanıldığında aralarında MPV değeri açısından görülen farkı açıklamaktadır. Normalde ve bir çok patolojik koşulda çok az miktarda trombosit yüksek bir volume sahiptir. Genel olarak kan sayım cihazları 30-36 fL hacme kadarki (veya bazı lazer ışınları HA'lerinde 60 fl'e kadar) partikülleri hesaplayabilir. Bazı çok büyük trombositler (>30-40 fl) kan sayım cihazlarında sayılamayabilir. Örneğin miyeloproliferatif hastalıklar veya miyelodisplastik sendrom gibi patolojik durumlarda tanımlanamayan büyük trombositler RBC veya WBC olarak sayılmaktadır (57). Ancak çalışma grubumuzda saptanan MPV değerleri trombositlerin lökosit olarak sayılmalarına yol açacak kadar yüksek değildi.

Gebelikte trombositopeni %8 sıklıkla görülür (58). Gebelikte karşılaşılan en sık trombositopeni neden gestasyonel trombositopenidir ve vakaların yaklaşık dörtte üçünü oluşturur (59). Gestasyonel trombositopeninin nedeni henüz net olarak ortaya konmamış olmakla birlikte trombosit tüketiminin hızlanması ve gebeliğe bağlı plazma volüm artışı sorumlu tutulmaktadır (60). Diğer sık görülen neden ise %21 sıklıkla karşılaşılan hipertansif hastalıklardır (59). Eklampside %30, preeklampside ise %15-18 sıklıkla trombositopeni

görülür. Preeklampside görülen trombositopeni sıklıkla ciddi preeklampside HELLP sendromunun (hemoliz, karaciğer enzim yüksekliği, trombositopeni) bir komponenti olarak ortaya çıkar (%4-12) (58). Gebelikte görülen trombositopeninin daha nadir ancak ciddi sebeplerinden birisi ise immün-aracılı trombositopenilerdir (idyopatik trombositopenik purpura ve neonatal alloimmün trombositopeni) (59). Diğer nadir nedenler ise sistemik lupus eritematozus gibi romatolojik hastalıklar, dissemine intravasküler koagülasyon, trombotik trombositopenik purpura, antifosfolipid antikor sendromu ve ilaçlardır (59). Literatürde gebelikte görülen PTCP'ye dair vaka veya vaka serileri bildirilmiştir (60). Hatta transplental maternal EDTA ilişkili antikor geçişine bağlı neonatal dönemde görülen PTCP vakasına dahi rastlanmıştır (61). Çalışma grubumuzda PTCP oranı gebelerde gebe olmayan bireyler ile benzerdi ancak sitratla düzelme gebelerde daha fazla görüldü. Bu gebelerde görülen PTCP'nin çalışma grubumuzda daha yüksek oranda EDTA ilişkili olduğu anlamına gelmemektedir. Çünkü EDTA ilişkili trombositopenileri tümü sitrat ile düzelmeyebilir ve EDTA ile trombosit kümelenmesi olan bireylerde sitrat ile de kümelenme olabilir. Gebelerde PTCP patogenezinin normal bireylerden farklılık göstermesi gebeliğin farklı immünolojik bir ortama yol açması nedeniyle beklenen bir durumdur. Bu konuda daha fazla ve daha detaylı çalışmaya ihtiyaç vardır.

Antifosfolipid antikorlar (aPL), negatif yüklü yüzeylere ve trombositlere bağlandığı gösterilen bir kofaktör olan plazma apolipoprotein H (62, 63) varlığında hücre membranındaki negatif yüklü fosfolipidleri tanırlar (64). Trombosit membranındaki fosfolipidler trombotik süreçte rol oynadıklarından aPL antikorlarının trombosit membranına bağlanabileceği ve aktivasyon ve

agregasyonlarına yol açabileceği düşünülmüştür (21, 24, 65). Aynı zamanda kronik AITP'li hastaların serumlarında aPL antikörlerinin sık görüldüğü (24,25, 66) ve SLE'li hastalarda aPL antikörleri ve trombositopeni arasında bir korelasyon olduğu (22, 23, 67) gösterilmiştir. Bu bulgu, bu hastalıklarda aPL antikörlerinin direkt trombosit harabiyetine neden olabileceğini desteklemektedir (21). Ayrıca, SLE'li hastaların periferik kanlarındaki lenfositlerden oluşturulan insan hibridomaları hem kardiyolipin hem de insan trombositlerine bağlanan monoklonal antikörler üretirler (68, 69).

Çalışmamızda ANA PTCP'li bireylerde anlamlı olarak daha sık pozitif saptandı. Antikardiyolipin antikoru da daha sık olmasına karşın bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bir çalışmada normal bireylerin tonsiller lenfositleri kullanılarak biri negatif yüklü fosfolipidlere karşı, diğeri GPIIb dahil trombosit yüzey proteinlerine karşı olmak üzere insan hibridoma monoklonal antiplatelet antikörleri üretilmiştir (25). Bu çalışmalar göstermiştir ki, otoimmün hastalığı olan hastalar ve hatta normal bireyler antiplatelet ve antifosfolipid antikörleri üretebilirler ve bunlar zaman zaman çapraz reaksiyon verebilir. Bu nedenle PTCP'li hastalarımızda ANA ve ACA ölçümlerinde antiplatelet antikörleri tespit etmiş olabileceğimizi düşündük. Bizarro ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma antiplatelet ve ACA aktiviteleri arasında güçlü bir ilişki olduğunu desteklemektedir (70). Çalışmada 88 çalışma hastasının 72'sinde (%81.8) serumda EDTA-dependent antikör ve 56'sında (%63.6) aynı zamanda ACA saptanmıştır. İki test arasındaki yüksek pozitif konkordans oranı testlerin aynı antikoru saptayabileceğini desteklemektedir. Daha önce yapılan çalışmalar

ACA ile trombositler arasında bir çapraz reaksiyon olduğunu göstermiştir (14, 22).

Ayrıca EDTA-dependent antiplatelet antikordarda olduğu gibi, ACA trombosit membranındaki gizli antijenik (kriptoantijenik) yapıları tanıyabilir. Normal şartlar altında, anyonik fosfolipidler lipid membranın iç tabakasında lokalize olduğundan, dolaşımdaki aPL antikorları ile etkileşim için ulaşılabilir değildir (24, 71, 72). Her ne kadar kardiyolipin hücre membranının bir komponenti olmasa da ACA polispesifiktir ve tüm negatif yüklü fosfolipidler ile az veya çok çapraz reaksiyona girer (73, 74). EDTA, negatif yüklü fosfolipidleri trombosit membranının daha dış tabakasına çıkarabilir ve ACA bağlanmasına izin verir. Birçok vakada, ACA'ların yaşlanma ile değişikliğe uğrayan ve negatif yüklü membran fosfolipidlerine maruz kalan trombositlerin in vivo olarak fizyolojik olarak ortadan kaldırılmasında görevli olan, doğal olarak/kendiliğinden ortaya çıkan otoantikorları oluşturması muhtemeldir (75). Bu antikorların, en azından bazı vakalarda in vitro olarak EDTA nedeniyle yapısı değişen trombosit membranında ortaya çıkan fosfolipid antijenler ile de reaksiyona girmesi muhtemeldir ve buda trombosit kümelenmesi ve PTCP'yi artırır.

Tüm ACA'ların trombosit kümelenmesine neden olmadığını destekler şekilde antiplatelet antikorların inhibisyonu sonrası EDTA uygulandığında trombosit kümelenmesi olmadığı gösterilmiştir (74). Bir çok sağlıklı insanın kanında da EDTA-ilişkili antitrombosit otoantikorlar PTCP'ye yol açmadan bulunabilir (76).

Sistemik lupus eritematozus tanısı olan ve tromboz ile ilgili klinik belirtisi olmayan yüksek düzeyde IgG aCL olan bir hastada trombosit sayısı oda

ısısında $48 \times 10^9/L$ iken örnekler $37^\circ C$ 'de toplandığında trombosit sayısı $271 \times 10^9/L$ 'ye yükselmiştir (70). Bu gözlem trombositopeni ile başvuran SLE'li hastalarda bile PTCP'nin ekarte edilmesinin önemini vurgulamaktadır.

Yine Bizzaro ve arkadaşlarının çalışmasında 7 sağlıklı hastada ANA düşük titrelerde olsa ve anlamlı olmasa bile pozitif saptanmıştır (70). Bu bulgunun, serumda poliklonal karışım halinde bulunan otoantikor ailesi içinde polireaktif ve düşük afiniteli bazı otoantikorların varlığı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (77).

Çalışmamızda PTCP'li bireylerde %36.3 oranında enfeksiyon mevcuttu. Elimizdeki veriler enfeksiyon durumlarında trombosit sayısının düşük ölçülmesine değil hatalı bir şekilde yüksek ölçülmesine yol açabileceğini göstermektedir (78, 79). Enfekte hastalarda bakteriler, periferik kan örneğinde bakteriyemi veya fazla beklemiş kanda kontamasyon nedeniyle anormal trombosit histogramlarına yol açabilir (80). Bakteriler gibi mantarlarda trombositler ile aynı boyutta olabilirler ve hatalı kan sayımı sonuçlarına yol açabilirler (81). Candida ile enfekte olmuş trombositopenik hastalarda trombosit sayısının artmış olarak ölçüldüğü olduğu bildirilmiştir (82).

Hiperşilomikronemi hastalarında yemek sonrası alınan örneklerde ya da lipid içeren parenteral beslenme solüsyonu almakta olan hastalarda yapılan kan sayımlarında trombosit sayısı yanı sıra diğer pek çok parametre yanlış ölçülebilmektedir (83, 84, 85). Lipidler yüksek refraktif indekse sahiptirler ve trombositlerin yanında bulduklarında normal durumlarda küçük eritrosit veya eritrosit gölgelerine benzeyen anormal sinyaller üretebilirler (85). Sonuç olarak bu sinyaller trombositlerin yanlışlıkla eritrosit olarak sayılmasına yolaçabilir.

Çalışmamızda PTCP'ye yol açabilecek düzeyde yüksek lipid düzeylerine sahip hasta yoktu ve yoğun bakım hastalarında kan örneklerinin parenteral beslenme verilen koldan alınmamasına dikkat edildi.

EDTA-PTCP'nin gelecekte gelişmesi muhtemel bir otoimmün veya neoplastik hastalık konusunda haber verip veremeyeceğini mevcut veriler ile değerlendirmek mümkün değildir. Bu konuda yeterli veri yoktur. Ancak mevcut veriler yeterli olmasada en azından trombositopeninin tespit edildiği dönemde otoimmün hastalıklar yönünden riskli hastaların gözden geçirilmesi faydalı olur düşüncesindeyiz.

6. SONUÇ

Belirgin bir kanama eğilimi olmayan trombosit sayısı düşük saptanan kişilerde PTCP'den şüphelenilmelidir. Psödotrombositopeni, yatan hastalarda ve özellikle de kadınlarda sık görülmektedir. Bizim çalışmamızda da hastanede yatıyor olma durumu başta olmak üzere enfeksiyon varlığının, gebelik durumunun, aterosklerozun, coumadin, betablokör ve kalsiyum kanal blokörü kullanımının ve ANA pozitifliğinin PTCP için risk artışına yol açtığı tespit edilmiştir. Otoimmünite ile EDTA-PTCP arasında bir ilişki olduğu düşünülmeyle birlikte bu konuda kesin kanıt yoktur. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda PTCPnin herhangi bir immün/nonimmün durumun habercisi olduğuna dair ikna edici sonuçlar ortaya konamamıştır. EDTA-PTCP sıklıkla yanlış tanı almaktadır ve uygun olmayan tedavilere neden olmaktadır; bu yüzden bu tanının akılda tutulması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Payne BA, Pierre RV. Pseudothrombocytopenia: a laboratory artifact with potentially serious consequences. *Mayo Clin Proc.*, 1984;59: 123-5.
2. Vicari A, Banfi G, Bonini PA. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a 12-month epidemiological study. *Scand J Clin Lab Invest.*, 1988;48: 537-42.
3. Foresti V, Parisio E, Tronci M, Casati O, Zubani R, Pedretti D. [EDTA-induced pseudothrombocytopenia]. *Recenti Prog Med.*, 1990;81: 661-2.
4. Berkman N, Michaeli Y, Or R, Eldor A. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical study of 18 patients and a review of the literature. *Am J Hematol.*, 1991;36: 195-201.
5. Cohen AM, Magazanik A, van-der Lijn E, Shaked P, Levinsky H. Pseudohyperphosphataemia incidence in an automatic analyzer. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.*, 1994;32: 559-61.
6. Cantor AB. Thrombocytopoiesis. Ed: Hofman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, *Hematology Basic Principles and Practice*. 5th edition, pp. 305-318, Churchill Livingstone, New York, USA, 2008.
7. Rodgers GM. Diagnostic approach to the bleeding disorders. Ed: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, *Wintrobe's Clinical Hematology*. 11th edition, pp. 1511-28, Lea & Febiger, Philadelphia, 2004.
8. Kikuchi M, Tayama T, Hayakawa H, Takahashi I, Hoshino H, Ohsaka A. Familial thrombocytosis. *Br J Haematol.*, 1995;89: 900-2.
9. Mesa RA, Silverstein MN, Jacobsen SJ, Wollan PC, Tefferi A. Population-based incidence and survival figures in essential thrombocythemia and agnogenic myeloid metaplasia: an Olmsted County Study, 1976-1995. *Am J Hematol.*, 1999;61: 10-5.
10. Kuter DJ. Megakaryopoiesis and thrombopoiesis. Ed: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U, *Williams Hematology*. 6th edition, pp. 1339-55, McGraw-Hill, New York, 2000.

11. Hillman RS, Ault KA, Rinder HM. Thrombocytopenia. Hematology in clinical practice. 4th edition, pp. 339-56, Lange Mc Graw Hill, New York, USA, . 2005.
12. Gümüşdiş G. Bağ Dokusu Hastalıkları: Sistemik Lupus Eritematoz. Ed: Gümüşdiş G, Doğanavşargil E, Klinik Romatoloji El Kitabı, s. 237-65, 1. Basım, Güven Matbaası, İzmir, 2003.
13. Triplett DA. Antiphospholipid antibodies. Clin Adv Hematol Oncol., 2003;1: 726-30.
14. Harris EN, Gharavi AE, Hughes GR. Anti-phospholipid antibodies. Clin Rheum Dis., 1985;11: 591-609.
15. Hughes GR. Thrombosis, abortion, cerebral disease, and the lupus anticoagulant. Br Med J (Clin Res Ed)., 1983 ;287: 1088-9.
16. Levine JS, Branch DW, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. N Engl J Med., 2002;346: 752-63.
17. Ortel TL. Thrombosis and the antiphospholipid syndrome. Hematology Am Soc Hematol Educ Program., 2005: 462-8.
18. Andreotti F, Becker RC. Atherothrombotic disorders: new insights from hematology. Circulation., 2005;111: 1855-63.
19. Gümüşdiş G. Bağ Dokusu Hastalıkları: Antifosfolipid sendromu. Ed: Gümüşdiş G, Doğanavşargil E, Klinik Romatoloji El Kitabı, s. 267-80, 1. Basım, Güven Matbaası, İzmir, 2003.
20. Roubey RA. Immunology of the antiphospholipid antibody syndrome. Arthritis Rheum., 1996;39: 1444-54.
21. Harris EN, Asherson RA, Gharavi AE, Morgan SH, Derue G, Hughes GR. Thrombocytopenia in SLE and related autoimmune disorders: association with anticardiolipin antibody. Br J Haematol., 1985;59: 227-30.
22. Hasselaar P, Derksen RH, Blokzijl L, de Groot PG. Crossreactivity of antibodies directed against cardiolipin, DNA, endothelial cells and blood platelets. Thromb Haemost., 1990 ;63: 169-73.

23. Out HJ, de Groot PG, van Vliet M, de Gast GC, Nieuwenhuis HK, Derksen RH. Antibodies to platelets in patients with anti-phospholipid antibodies. *Blood.*, 1991 ;77: 2655-9.
24. Harris EN, Gharavi AE, Hegde U, Derue G, Morgan SH, Englert H, Chan JK, Asherson RA, Hughes GR. Anticardiolipin antibodies in autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.*, 1985;59: 231-4.
25. Pierrot-Deseilligny Despujol C, Michel M, Khellaf M, Gouault M, Intrator L, Bierling P, Godeau B. Antiphospholipid antibodies in adults with immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.*, 2008;142: 638-43.
26. Forscher CA, Sussman II, Friedman EW, Solomon V, Spaet TH. Pseudothrombocytopenia masking true thrombocytopenia. *Am J Hematol.*, 1985;18: 313-7.
27. Dahlqvist SR, Nilsson TK, Norberg B. Thrombocytosis in active rheumatoid arthritis. Relation to other parameters of inflammatory activity and confounding effect of automated cell counting. *Clin Rheumatol.*, 1988;7: 335-41.
28. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets. *Int J Lab Hematol.*, 2007;29: 4-20.
29. Casonato A, Bertomoro A, Pontara E, Dannhauser D, Lazzaro AR, Girolami A. EDTA dependent pseudothrombocytopenia caused by antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet gpIIB-IIIa. *J Clin Pathol.*, 1994;47: 625-30.
30. De Caterina M, Fratellanza G, Grimaldi E, Varriale V, Scopacasa F, Di Maro G, Formisano S. Evidence of a cold immunoglobulin M autoantibody against 78-kD platelet glycoprotein in a case of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Am J Clin Pathol.*, 1993;99: 163-7.
31. Aktan M, Öztürk O, Keskin H, Tangün Y. Psödotrombositopeni ve pratik önemi. *Sendrom.*, 1996;8: 5.

32. Silvestri F, Virgolini L, Savignano C, Zaja F, Velisig M, Baccarani M. Incidence and diagnosis of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a consecutive outpatient population referred for isolated thrombocytopenia. *Vox Sang.*, 1995;68: 35-9.
33. Moraglio D, Banfi G, Arnelli A. Association of pseudothrombocytopenia and pseudoleukopenia: evidence for different pathogenic mechanisms. *Scand J Clin Lab Invest.*, 1994;54: 257-65.
34. Savage RA. Pseudoleukocytosis due to EDTA-induced platelet clumping. *Am J Clin Pathol.*, 1984;81: 317-22.
35. García Suárez J, Merino JL, Rodríguez M, Velasco A, Moreno MC. Pseudothrombocytopenia: incidence, causes and methods of detection. *Sangre (Barc.)*, 1991;36: 197-200.
36. Bartels PC, Schoorl M, Lombarts AJ. Screening for EDTA-dependent deviations in platelet counts and abnormalities in platelet distribution histograms in pseudothrombocytopenia. *Scand J Clin Lab Invest.*, 1997;57: 629-36.
37. Sakurai S, Shiojima I, Tanigawa T, Nakahara K. Aminoglycosides prevent and dissociate the aggregation of platelets in patients with EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Br J Haematol.*, 1997;99: 817-23.
38. Manthorpe R, Kofod B, Wiik A, Saxtrup O, Svehag SE. Pseudothrombocytopenia. In vitro studies on the underlying mechanism. *Scand J Haematol.*, 1981;26: 385-92.
39. Bragagni G, Bianconcini G, Brogna R, Zoli G. Pseudothrombocytopenia: clinical comment on 37 cases. *Minerva Med.*, 2001;92: 13-7.
40. Bizzaro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up. *Am J Hematol.*, 1995;50: 103-9.
41. van der Lelie J, van der Plas-Van Dalen CM, von dem Borne AE. Platelet autoantibodies in septicaemia. *Br J Haematol.*, 1984;58: 755-60.

42. Solanki DL, Blackburn BC. Spurious thrombocytopenia during pregnancy. *Obstet Gynecol.*, 1985;65: 14S-17S.
43. Konstantopoulos K, Grotta JC, Sills C, Wu KK, Hellums JD. Shear-induced platelet aggregation in normal subjects and stroke patients. *Thromb Haemost.*, 1995;74: 1329-34.
44. Watkins SP Jr, Shulman NR. Platelet cold agglutinins. *Blood.*, 1970;36: 153-8.
45. Shreiner DP, Bell WR. Pseudothrombocytopenia: manifestation of a new type of platelet agglutinin. *Blood.*, 1973;42: 541-9.
46. Onder O, Weinstein A, Hoyer LW. Pseudothrombocytopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. *Blood.*, 1980;56: 177-82.
47. Pegels JG, Bruynes EC, Engelfriet CP, von dem Borne AE. Pseudothrombocytopenia: an immunologic study on platelet antibodies dependent on ethylene diamine tetra-acetate. *Blood.*, 1982;59: 157-61.
48. Lombarts AJ, de Kieviet W. Recognition and prevention of pseudothrombocytopenia and concomitant pseudoleukocytosis. *Am J Clin Pathol.*, 1988;89: 634-9.
49. Cunningham VL, Brandt JT. Spurious thrombocytopenia due to EDTA-independent cold-reactive agglutinins. *Am J Clin Pathol.*, 1992;97: 359-62.
50. Lippi U, Schinella M, Nicoli M, Modena N, Lippi G. EDTA-induced platelet aggregation can be avoided by a new anticoagulant also suitable for automated complete blood count. *Haematologica.*, 1990 ;75: 38-41.
51. Tschoepe D, Roesen P, Schwippert B, Gries FA. Platelets in diabetes: the role in the hemostatic regulation in atherosclerosis. *Semin Thromb Hemost.*, 1993;19: 122-8.
52. Watala C, Boncler M, Pietrucha T, Trojanowski Z. Possible mechanisms of the altered platelet volume distribution in type 2 diabetes: does increased

- platelet activation contribute to platelet size heterogeneity? *Platelets.*, 1999;10: 52-60.
53. Nomura S, Shouzu A, Omoto S, Nishikawa M, Fukuhara S. Significance of chemokines and activated platelets in patients with diabetes. *Clin Exp Immunol.*, 2000;121: 437-43.
54. Thompson CB, Jakubowski JA. The pathophysiology and clinical relevance of platelet heterogeneity. *Blood.*, 1988;72: 1-8.
55. Jansson L. Relationship of mean platelet volume to platelet count in morphologic evaluation of thrombopoiesis. *Scand J Haematol.*, 1985;35: 363-6.
56. Sassi P. The relation of platelet size and count: its importance in diagnosing platelet disorders. *Am J Clin Pathol.*, 1985;83: 275-6.
57. Norberg B, Nilsson TK. Platelet clumping in Ph-negative myeloproliferative syndromes. *Acta Med Scand.*, 1987;222: 459-64.
58. Sullivan CA, Martin JN Jr. Management of the obstetric patient with thrombocytopenia. *Clin Obstet Gynecol.*, 1995;38: 521-34.
59. Shehata N, Burrows R, Kelton JG. Gestational thrombocytopenia. *Clin Obstet Gynecol.*, 1999;42: 327-34.
60. ACOG practice bulletin: Thrombocytopenia in pregnancy. Number 6, September 1999. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet.*, 1999;67: 117-28.
61. Chiurazzi F, Villa MR, Rotoli B. Transplacental transmission of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Haematologica.*, 1999; 84:664.
62. Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, de Baets MH, van Breda-Vriesman PJ, Barbui T, Zwaal RF, Bevers EM. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet.*, 1990;335: 1544-7.

63. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 1990;87: 4120-4.
64. Schousboe I. In vitro activation of the contact activation system (Hageman factor system) in plasma by acidic phospholipids and the inhibitory effect of beta 2-glycoprotein I on this activation. *Int J Biochem.*, 1988;20: 309-15.
65. Harris EN, Gharavi AE, Loizou S, Derue G, Chan JK, Patel BM, Mackworth-Young CG, Bunn CC, Hughes GR. Crossreactivity of antiphospholipid antibodies. *J Clin Lab Immunol.*, 1985;16: 1-6.
66. Nomura S, Yanabu M, Fukuroi T, Kido H, Kawakatsu T, Yamaguchi K, Suzuki M, Kokawa T, Yasunaga K. Anti-phospholipid antibodies bind to platelet microparticles in idiopathic (autoimmune) thrombocytopenic purpura. *Ann Hematol.*, 1992;65: 46-9.
67. Rupin A, Gruel Y, Poumier-Gaschard P, Chassaigne M, Leroy J, Bardos P. Thrombocytopenia in systemic lupus erythematosus: association with antiplatelet and anticardiolipin antibodies. *Clin Immunol Immunopathol.*, 1990;55: 418-26.
68. Shoenfeld Y, Hsu-Lin SC, Gabriels JE, Silberstein LE, Furie BC, Furie B, Stollar BD, Schwartz RS. Production of autoantibodies by human-human hybridomas. *J Clin Invest.*, 1982;70: 205-8.
69. Rauch J, Meng QH, Tannenbaum H. Lupus anticoagulant and antiplatelet properties of human hybridoma autoantibodies. *J Immunol.*, 1987;139: 2598-604.
70. Bizzaro N, Brandalise M. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. Association with antiplatelet and antiphospholipid antibodies. *Am J Clin Pathol.*, 1995;103: 103-7.
71. Marcus AJ, Ullman HL, Safier LB. Lipid composition of subcellular particles of human blood platelets. *J Lipid Res.*, 1969;10: 108-14.

72. Chap HJ, Zwaal RF, van Deenen LL. Action of highly purified phospholipases on blood platelets. Evidence for an asymmetric distribution of phospholipids in the surface membrane. *Biochim Biophys Acta.*, 1977;467: 146-64.
73. McNeil HP, Chesterman CN, Krilis SA. Immunology and clinical importance of antiphospholipid antibodies. *Adv Immunol.*, 1991;49: 193-280.
74. Gharavi AE, Harris EN, Asherson RA, Hughes GR. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis.*, 1987;46: 1-6.
75. Schwartz-Albiez R, Monteiro RC, Rodriguez M, Binder CJ, Shoenfeld Y. Natural antibodies, intravenous immunoglobulin and their role in autoimmunity, cancer and inflammation. *Clin Exp Immunol.*, 2009;158: 43-50.
76. von dem Borne AE, van der Lelie H, Vos JJ, van der Plas-van Dalen CM, Risseuw-Bogaert NJ, Ticheler MD, Pegels HG. Antibodies against cryptantigens of platelets. Characterization and significance for the serologist. *Curr Stud Hematol Blood Transfus.*, 1986;52: 33-46.
77. Smeenk RJ, Lucassen WA, Swaak TJ. Is anticardiolipin activity a cross-reaction of anti-DNA or a separate entity? *Arthritis Rheum.*, 1987;30: 607-17.
78. Gloster ES, Strauss RA, Jimenez JF, Neuberg RW, Berry DH, Turner EJ. Spurious elevated platelet counts associated with bacteremia. *Am J Hematol.*, 1985;18: 329-32.
79. Marshall BA, Theil KS, Brandt JT. Abnormalities of leukocyte histograms resulting from microorganisms. *Am J Clin Pathol.*, 1990;93: 526-32.
80. Kakkar N. Spurious rise in the automated platelet count because of bacteria. *J Clin Pathol.*, 2004;57: 1096-7.
81. Arnold JA, Jowzi Z, Bain BJ. Images in haematology. *Candida glabrata* in a blood film. *Br J Haematol.*, 1999;104: 1.

82. Latif S, Veillon DM, Brown D, Kaltenbach J, Curry S, Linscott AJ, Oberle A, Cotelingam JD. Spurious automated platelet count. Enumeration of yeast forms as platelets by the cell-DYN 4000. *Am J Clin Pathol.*, 2003;120: 882-5.
83. Nicholls PD. Erroneous platelet counts on the Coulter Model S Plus counter after correction for hyperlipaemia. *Med Lab Sci.*, 1983;40: 69-71.
84. Savage RA. Analytic inaccuracy resulting from hematology specimen characteristics. Three cases of clinically misleading artifacts affecting white blood cell and platelet counts. *Am J Clin Pathol.*, 1989;92: 295-9.
85. Cantero M, Conejo JR, Jiménez A. Interference from lipemia in cell count by hematology analyzers. *Clin Chem.*, 1996;42: 987-8.