

## ارزش سیستم امتیازدهی بالینی 4Tscore برای تشخیص احتمالی ترومبوسیتوپنی ناشی از هپارین

معصومه شهبازی<sup>۱</sup>، مینو احمدی نژاد<sup>۲</sup>، آریتا چگینی<sup>۳</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

ترومبوسیتوپنی ناشی از هپارین، یک رخداد پیش ترومبوتیک است که پس از تجویز هپارین، کمپلکس هپارین-فاکتور ۴ پلاکت تشکیل شده و تولید آنتی‌بادی‌هایی می‌نماید که منجر به فعال‌سازی پلاکت‌ها شده و حتی ممکن است سبب مرگ و میر بیمار گردد. در این مطالعه، ارزش استفاده از سیستم ارزیابی بالینی 4Tscore در بیماران تحت عمل جراحی قلب بررسی گردید.

#### مواد و روش‌ها

مطالعه توصیفی حاضر بر روی ۹۲ بیمار تحت عمل جراحی قلب، از مهر ۹۴ تا شهریور ۹۵ در بیمارستان شهید مدرس تهران انجام گرفت. این بیماران از نظر 4Tscore شامل: ترومبوسیتوپنی، زمان افت پلاکت، ترومبوز، یا سایر علل ترومبوسیتوپنی بررسی شدند. برای بیماران با  $4Tscore \geq 4$ ، بررسی آزمایشگاهی آنتی‌بادی بر علیه فاکتور ۴ پلاکت/هپارین با روش الایزا Enzyme Immune Assay انجام گردید. در بیماران با  $4Tscore \geq 4$  و نتیجه الایزا قویاً مثبت ( $OD > 1$ )، تشخیص احتمالی HIT در نظر گرفته شد. تحلیل یافته‌ها توسط آزمون من‌ویتنی و نرم‌افزار SPSS ۲۲ انجام شد.

#### یافته‌ها

از ۹۲ بیمار، ۶۷ مرد ( $72/8\%$ ) و ۲۵ زن ( $27/2\%$ ) با میانگین سنی  $58 \pm 10/68$  سال بودند. ۱۴ بیمار ( $15/2\%$ )  $4Tscore \geq 4$  داشتند که از این تعداد نتیجه آزمایشگاهی آنتی‌بادی بر علیه فاکتور ۴ پلاکت/هپارین با روش الایزا در ۸ بیمار مثبت و در ۳ بیمار، مثبت قوی دیده شد و فراوانی HIT در این مطالعه  $3/2\%$  به دست آمد.

#### نتیجه‌گیری

4Tscore ارزش قابل توجهی در تشخیص بیماران مشکوک به HIT دارد ولی استفاده تنها از این سیستم بدون تایید آزمایشگاهی می‌تواند منجر به تشخیص بیش از حد و قطع نابه‌جای هپارین گردد.

**کلمات کلیدی:** ترومبوسیتوپنی، هپارین، جراحی قلب، تشخیص

تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۱۴

تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۲۱

- ۱- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران
- ۲- مؤلف مسئول: متخصص آسیب‌شناسی بالینی و تشریحی - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران
- ۳- متخصص بیهوشی - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

## مقدمه

ترومبوسیتوپنی ناشی از هپارین (HIT) یک عارضه جانبی ناشی از مصرف ضد انعقاد هپارین می باشد. زمانی که هپارین وارد گردش خون می گردد، می تواند به PF4 آزاد شده از پلاکت ها که در گردش خون حضور دارند متصل شده و تشکیل کمپلکس هپارین-PF4 دهد. تشکیل این کمپلکس می تواند منجر به ساخت آنتی بادی IgG علیه این ترکیب شده که این آنتی بادی ها نیز می توانند از طریق اتصال به گیرنده FCYRII A سطح پلاکت ها، منجر به فعال سازی پلاکتی گردند (۱). این فعال سازی پلاکتی منجر به آزاد سازی PF4 بیشتر و به تبع آن ایجاد کمپلکس های هپارین-PF4 بیشتری می گردد که در نهایت در نتیجه پاک سازی پلاکت های فعال شده از جریان خون، ترومبوسیتوپنی رخ می دهد. بر خلاف انتظار، این ترومبوسیتوپنی، بیمار را در معرض خطر خونریزی قرار نمی دهد بلکه با تولید ترومبین و ایجاد شرایط پیش ترومبوتیک، بیمار در خطر رخدادهای ترومبوتیک شریانی و وریدی می باشد (۲).

رخدادهای ترومبوتیک می توانند به شکل سکتة قلبی، آمبولیسم ریوی، ایسکمی اندام و یا ترمبوز ورید اندام تحتانی (DVT: Deep Vein Thrombosis) خود را نشان دهند (۳). بیمارانی که تحت عمل جراحی قلب قرار می گیرند، به دلیل این که در طول عمل دوز بالایی از هپارین با وزن مولکولی بالا (UFH: Unfractionated Heparin) را دریافت می کنند، در خطر بیشتری برای بروز آنتی بادی علیه کمپلکس هپارین-PF4 قرار دارند اما غالباً تشخیص HIT در این گروه از بیماران چالش برانگیز می باشد (۴، ۵). به طوری که تقریباً ۷۰٪-۲۵٪ بیماران بعد از عمل جراحی قلب، آنتی بادی علیه کمپلکس هپارین-PF4 را تشکیل می دهند که این آنتی بادی ها توسط روش های ایمونولوژیک قابل شناسایی می باشند و در صورت انجام آزمایش عملکردی (آزمایش تاییدی) برای این دسته از بیماران، معمولاً نتیجه این آزمایش در ۲۰٪-۴۰٪ آن ها در طول ۱۰ روز بعد از عمل مثبت می شود. هم چنین بیشترین میزان افت پلاکت (تقریباً ۵۰٪-۴۰٪)، معمولاً در ۷۲ ساعت بعد از عمل رخ می دهد. این

افت پلاکتی معمولاً طی ۵ روز بعد از عمل به حد طبیعی باز می گردد (۶). یکی از سیستم های ارزیابی بالینی که به گستردگی جهت تشخیص HIT استفاده می شود، سیستم 4Tscore می باشد. در این سیستم وضعیت بالینی بیمار از نظر میزان ترومبوسیتوپنی، زمان شروع ترومبوسیتوپنی، ترومبوز و وجود یا عدم وجود سایر عللی که می توانند منجر به ترومبوسیتوپنی شود، مورد ارزیابی قرار می گیرد (۷). در کنار ارزیابی وضعیت بالینی بیمار، انجام آزمایش های آزمایشگاهی جهت تشخیص HIT ضروری می باشد. به طور کلی دو دسته از آزمایش ها در این زمینه استفاده می شوند که شامل آزمایش های بررسی آنتی ژنی و عملکردی می باشند. آزمایش های بررسی آنتی ژنی مانند الایزا و Particle gel immunoassay به شناسایی آنتی بادی های پلی کلونالی می پردازند که علیه کمپلکس هپارین-PF4 ساخته می شوند. یکی از رایج ترین آزمایش ها در این گروه الایزا می باشد که به شناسایی آنتی بادی های IgG، IgM و IgA می پردازد. این آزمایش برای شناسایی آنتی بادی علیه کمپلکس هپارین-PF4 حساسیت بالایی دارد اما برای تشخیص قطعی HIT اختصاصی نمی باشد. با این وجود کیت های جدیدتر الایزا تنها به شناسایی IgG می پردازند که باعث افزایش اختصاصیت در تشخیص شده اند. بسیاری از آزمایشگاه ها از بررسی آنتی بادی با روش الایزا به دلیل در دسترس بودن جهت تشخیص HIT استفاده می کنند در صورتی که استفاده از این دسته از آزمایش ها به تنهایی می تواند مثبت کاذب بالایی داشته باشد (۳). در واقع زمانی که تنها معیار جهت تشخیص HIT، نتیجه مثبت بررسی آنتی بادی با روشی مانند الایزا باشد، تعداد زیادی از بیماران ممکن است به اشتباه HIT تشخیص داده شوند چرا که میزان بروز آنتی بادی علیه کمپلکس هپارین-PF4 بعد از عمل جراحی قلب که از هپارین UFH استفاده می کنند، تقریباً ۵۰٪ است (۱۲-۸).

از این رو با توجه به اهمیت تشخیص صحیح و سریع HIT، در این مطالعه برآن شدیم تا سیستم ارزیابی بالینی 4Tscore را در میان بیماران جراحی قلب به کار برده و ارزش تشخیصی آن را همراه با نتیجه آزمایش بررسی

آنتی‌بادی به روش الایزا مورد بررسی قرار دهیم.

## مواد و روش‌ها

### ۱- ارزیابی بالینی بیماران:

در یک مطالعه مقطعی- توصیفی در سال ۱۳۹۴ در بیمارستان شهید مدرس تهران، ۹۲ بیمار تحت عمل جراحی قلب، پس از گرفتن رضایت‌نامه و مصوبه کمیته اخلاق به شماره IR.TMI.REC.1394.1735 مورد بررسی قرار گرفتند. این بیماران تحت عمل جراحی قلب از نوع پیوند شریان کرونری (CABG: Coronary artery bypass grafting)، تعویض دریچه آئورت (AVR replacement: Aortic valve)، تعویض دریچه میترال (Mitral valve replacement: MVR) و یا ترکیبی از آن‌ها (MVR-CABG ، AVR-CABG ، MVR-AVR) قرار گرفتند.

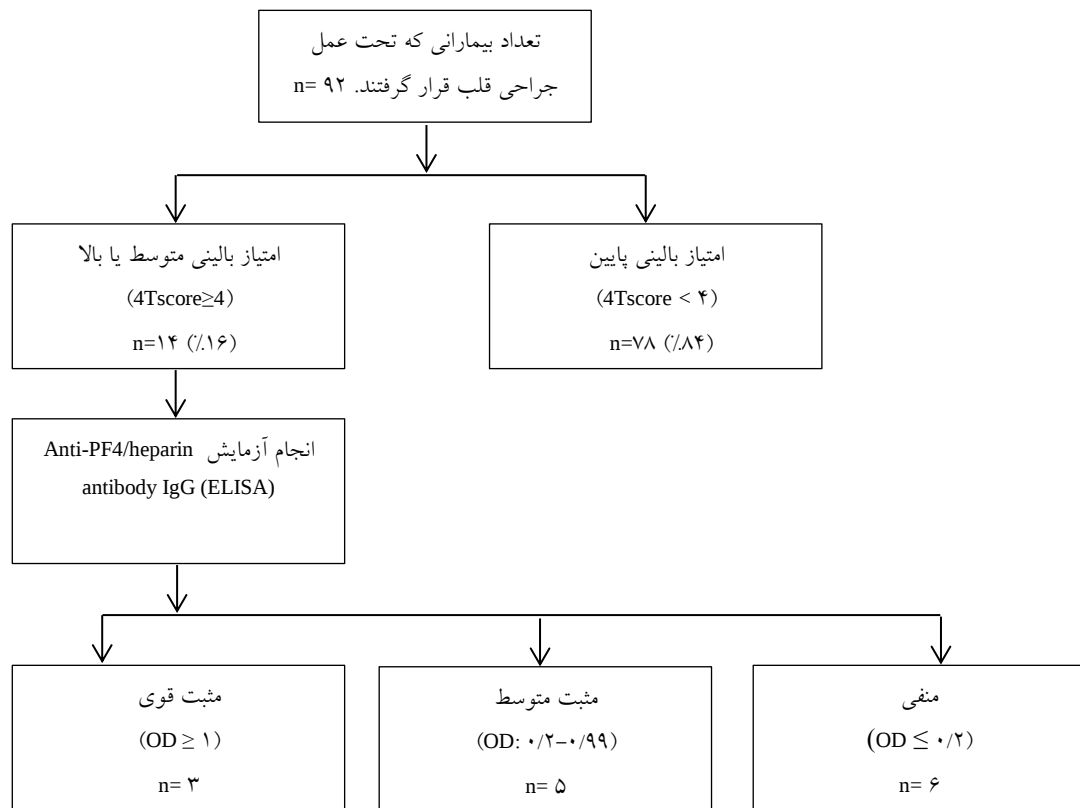
همه این بیماران تحت گردش خون برون پیکری ECC (Extra Corporal Circulation) جراحی شدند. در مرحله گردش خون برون پیکری، جهت جلوگیری از لخته شدن خون در دستگاه از هپارین UFH با دوز بالا جهت افزایش زمان انعقاد  $ACT > 400$  S (Activated Clotting Time) استفاده شد. اطلاعات بالینی و

دموگرافیک بیماران از جمله سن، جنس، نوع عمل جراحی قلب، شمارش پلاکت قبل از عمل و شمارش پلاکت روزانه تا ۱۰ روز بعد از عمل و بروز رخدادهای ترومبوتیک تا زمان بستری، در چک لیست‌های جداگانه مختص به هر بیمار جمع‌آوری شد. امتیاز بالینی 4Tscore نیز برای هر بیمار با مراجعه به جدول ۱، جداگانه محاسبه شد. چهار T در سیستم امتیازدهی 4Tscore، حرف اول تعاریف زیر می‌باشد: الف - ترومبوسیتوپنی (Thrombocytopenia)، ب - زمان افت پلاکت (Time)، ج - ترمبوز (Thrombosis) یا سایر رخدادهای ترومبوتیک، نکروتیک و سیستمیک بعد از تزریق هپارین، د- عدم وجود سایر علل احتمالی برای ترومبوسیتوپنی (جدول ۱) (۷). این بیماران از نظر امتیازدهی بالینی در سه گروه قرار گرفتند:

۱: امتیاز بالا (۸-۶)، ۲: امتیاز متوسط (۵-۴)، ۳: امتیاز پایین (کمتر از ۴). نمونه سرم بیمارانی که امتیازدهی بالینی آن‌ها متوسط و یا بالا (بیش از ۴) بود جهت انجام و بررسی آنتی‌بادی PF4 با روش الایزا ظرف مدت سه ساعت از زمان خونگیری به آزمایشگاه انعقاد سازمان انتقال خون ارسال گردید.

جدول ۱: نحوه امتیازدهی در روش ارزیابی بالینی 4Tscore

| امتیاز                                       | ۰                                                                  | ۱                                                                                                                           | ۲                                                                                                                           |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ترومبوسیتوپنی                                | افت پلاکتی کمتر از $30\%$ یا مرز پلاکتی کمتر از $10 \times 10^9/L$ | افت پلاکتی $30\%$ تا $50\%$ از میزان اولیه یا مرز پلاکتی $10 \times 10^9/L$                                                 | افت پلاکت بیشتر از $50\%$ یا مرز پلاکتی $20 \times 10^9/L$                                                                  |
| زمان شروع افت پلاکت                          | افت پلاکت کمتر از ۴ روز بدون مواجهه قبلی با هپارین                 | شروع افت پلاکت از روز ۱۰ام بعد از هپارین درمانی<br>افت پلاکت کمتر از ۱۰ روز در صورت مواجهه با هپارین در ۳۰ تا ۱۰۰ روز گذشته | شروع واضح افت پلاکت در روزهای ۱۰-۵ بعد از عمل جراحی<br>یا افت پلاکت کمتر از یک روز در صورت مواجهه با هپارین در ۳۰ روز گذشته |
| ترومبوز و سایر پیامدها (مانند واکنش نکروتیک) | عدم وجود ترومبوز یا ترومبوز قبل از مواجهه با هپارین                | ترومبوز پیش رونده یا راجعه ظن بالینی به ترومبوز یا ترومبوز تایید نشده                                                       | ترومبوز جدید، ضایعات نکروتیک، واکنش سیستمیک بعد از تزریق داخل رگی                                                           |
| سایر علل برای ترومبوسیتوپنی                  | وجود سایر علل                                                      | احتمالاً سایر علل حضور دارند                                                                                                | واضح نیست                                                                                                                   |



الگوریتم ۱: نتایج 4Tscore و آزمون الایزا در بیماران مورد مطالعه

شد. جهت مقایسه میزان هپارین مصرف شده در دو گروه  $4Tscore < 4$  و  $4Tscore \geq 4$  از آزمایش من‌وینتی یو استفاده شد.

#### یافته‌ها

در این مطالعه ۹۲ بیمار تحت عمل جراحی قلب باز قرار گرفتند که در کل ۶۷ بیمار مرد (۷۲/۸٪) و ۲۵ بیمار زن (۲۷/۲٪) بودند و میانگین سن در نمونه‌های این مطالعه  $58 \pm 10/68$  سال بود. ۷۸ (۸۴/۷۸٪) بیمار دارای  $4Tscore < 4$ ، ۱۱ بیمار (۱۱/۹۶٪)  $4Tscore 4-5$  و ۳ بیمار (۳/۲۶٪)  $4Tscore 6-8$  بودند.

در گروه  $4Tscore \geq 4$ ، ۷ نفر زن (۵۰٪) و ۷ نفر مرد (۵۰٪) بودند که برای این ۱۴ بیمار با  $4Tscore \geq 4$ ، بررسی آنتی‌بادی با روش الایزا انجام شد. ۸ بیمار دارای نتیجه الایزا مثبت بودند ( $OD < 0/2$ ) و ۶ بیمار (۴۲/۸٪) نتیجه آزمایش الایزا آن‌ها منفی ( $OD < 0/2$ ) بود. از ۸ بیمار با نتیجه الایزا مثبت، سه نفر دارای الایزای بالا

#### ۲- ارزیابی آزمایشگاهی:

نمونه سرم بیماران با  $4Tscore \geq 4$  توسط کیت Asserachrom® HPIA enzyme Immunoassay (Diagnostics STAGO) مورد آزمایش قرار گرفت. این روش آزمایشگاهی یک آزمایش کمی جهت شناسایی Anti-PF4/heparin antibody IgG در سرم یا پلاسمای بیمار مظنون به HIT می‌باشد. بر طبق توصیه و فرمول موجود در بروشور کیت، آزمایشی مثبت در نظر گرفته شد که شدت جذب نوری (Optical Density: OD) آن بیشتر از ۰/۲ بود.

#### ۳- معیار تشخیص بیمار به عنوان HIT مثبت:

بیماری که از نظر امتیازدهی بالینی  $4Tscore$  متوسط یا بالا بوده ( $4Tscore \geq 4$ ) و هم چنین دارای  $OD > 1$  (قویاً مثبت)، به عنوان تشخیص HIT در این مطالعه در نظر گرفته شده است (۱۳). جهت به دست آوردن میانگین، فراوانی داده و آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS۲۲ استفاده

( $OD > 1$ ) بودند. در گروه الایزا مثبت، ۴ نفر زن (۵۰٪) و ۴ نفر مرد (۵۰٪) بودند و میانگین سن در گروه  $\geq 4$  4Tscore  $11/56 \pm 62$  سال و در گروه الایزا مثبت،  $11/97 \pm 58$  سال گزارش شد. تفاوت معناداری در متغیر سن بین دو گروه  $4Tscore < 4$  و  $4Tscore \geq 4$  مشاهده نشد. یک بیمار از ۸ مورد مثبت بررسی آنتی‌بادی به روش الایزا ( $OD > 0/2$ )، سه هفته بعد از ترخیص دچار رخداد ترومبوتیک گردید و بر اساس تعریف در نظر گرفته شده برای HIT، نهایتاً تشخیص HIT برای سه بیمار داده شد. نتایج بررسی‌های بالینی و آزمایشگاهی و خصوصیات دموگرافیک بیماران در جدول ۲ و الگوریتم ۱ خلاصه شده است.

جدول ۲: خصوصیات دموگرافیک کل بیماران مورد مطالعه، بیماران با  $4Tscore < 4$ ، بیماران با  $4Tscore \geq 4$  و بررسی آنتی‌بادی به روش الایزا مثبت

| جمعیت‌های مورد مطالعه                            | تعداد | میانگین سن (سال) | جنسیت           |
|--------------------------------------------------|-------|------------------|-----------------|
| کل جمعیت مورد مطالعه                             | ۹۲    | $58 \pm 10/68$   | ۶۷ مرد<br>۲۵ زن |
| $4Tscore < 4$                                    | ۷۸    | $57 \pm 10$      | ۶۰ مرد<br>۱۸ زن |
| $4Tscore \geq 4$                                 | ۱۴    | $62 \pm 11$      | ۷ مرد<br>۷ زن   |
| $4Tscore 4-5$                                    | ۱۱    | $61 \pm 11$      | ۵ مرد<br>۶ زن   |
| $4Tscore 6-8$                                    | ۳     | $66 \pm 7/9$     | ۲ مرد<br>۱ زن   |
| بررسی آنتی‌بادی به روش ELISA مثبت ( $OD < 0/2$ ) | ۸     | $58 \pm 11$      | ۴ مرد<br>۴ زن   |

## بحث

۹۲ بیمار کاندید عمل جراحی قلب، بعد از عمل مورد ارزیابی بالینی 4Tscore قرار گرفتند که ۱۴ بیمار ( $15/2\%$ ) دارای امتیاز بالینی متوسط و بالا بودند ( $4Tscore \geq 4$ ). برای این ۱۴ بیمار، بررسی Anti-PF4/heparin antibody به

روش الایزا انجام شد که از این تعداد ۸ بیمار دارای نتیجه آنتی‌بادی مثبت ( $OD < 0/2$ ) بودند و از بین آن‌ها در سه بیمار نتیجه آزمایش مثبت قوی بود ( $OD > 1$ ). با توجه به تعریف در نظر گرفته شده برای HIT در این مطالعه، این سه بیمار به عنوان HIT قطعی تشخیص داده شدند که یکی از آن‌ها سه هفته بعد از جراحی دچار رخداد ترومبوتیک گردید.

یازان و همکارانش در سال ۲۰۱۶ مطالعه‌ای گذشته‌نگر بر روی ۱۲۳ بیمار با سن بیشتر از ۱۸ سال انجام دادند. آن‌ها مشاهده کردند که بررسی آنتی‌بادی PF4/Heparin به روش الایزا، برای ۱۸ بیمار از ۱۲۳ بیمار درخواست شده است که از این تعداد، ۶ بیمار دارای نتیجه مثبت برای این آزمایش بودند در حالی که روش امتیازدهی بالینی 4Tscore تنها برای ۳ بیمار از ۶ بیمار انجام شده بود. آن‌ها پی بردند که روش امتیازدهی بالینی در این مرکز برای  $2/4\%$  از بیماران مورد مطالعه به کار رفته است و این در حالی است که بررسی آنتی‌بادی به روش الایزا برای  $14/6\%$  از بیماران انجام شده است. استفاده بیش از حد از این آزمایش علاوه بر این که هزینه بالایی در بر خواهد داشت، منجر به تشخیص بیش از حد واقعی (over diagnosis) HIT، قطع بی‌دلیل مصرف هپارین و استفاده نابه‌جا از ضد انعقادها جایگزین برای این گروه از بیماران شده که می‌تواند عوارضی هم‌چون خونریزی را به دنبال داشته باشد (۱۴). با توجه به یافته فوق، در این مطالعه ابتدا به بررسی بالینی HIT از طریق سیستم ارزیابی بالینی 4Tscore پرداخته و سپس برای جمعیت مشکوک، آزمایش بررسی آنتی‌بادی به روش الایزا انجام شد تا از بررسی پر هزینه آزمایشگاهی برای کلیه بیماران تحت درمان هپارین جلوگیری نموده و این موضوع خود منجر به کاهش تعداد موارد مثبت کاذب HIT خواهد شد.

مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷ توسط لو و همکارانش انجام شد که به بررسی ارزش پیش‌آگهی‌دهنده 4Tscore پرداختند. جامعه مورد مطالعه آن‌ها ۱۰۰ بیمار در بیمارستان هامیلتون کانادا و ۲۳۶ بیمار در بیمارستان گریفزوالد آلمان بود که برای این بیماران 4Tscore انجام

بالینی بالا می‌تواند یک فاکتور خطر مهم برای وجود HIT و احتمال وقوع رخدادهای ترومبوتیک باشد.

در مطالعه‌ای که توسط لیندا و همکارانش در سال ۲۰۱۱ بر روی بیماران جراحی قلب انجام شد، نشان دادند که ترکیب 4Tscore و بررسی آنتی‌بادی با روش الایزا با اختصاصیت ۷۰٪ می‌تواند منجر به تشخیص HIT گردد در حالی که اگر تنها از بررسی آنتی‌بادی با روش الایزا جهت تشخیص HIT استفاده شود، اختصاصیت ۲۶٪ خواهد بود. در واقع استفاده تنها از آزمایش‌های آزمایشگاهی نیز جهت تشخیص HIT کافی نیست و استفاده از این آزمایش‌ها باید در کنار بررسی‌های بالینی به کار گرفته شود (۳). در صورتی که ما نیز در این مطالعه بررسی بالینی را از ابتدا اعمال نمی‌نمودیم و آزمایش بررسی آنتی‌بادی به روش الایزا را برای همه این بیماران انجام می‌دادیم، با احتمال زیاد تعداد موارد بیشتری الایزا مثبت یافت می‌شد.

در مطالعه‌ای که توسط گری‌گوری و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بر روی ۱۰۰ بیمار انجام شد، آن‌ها به بررسی سه تعریف برای HIT پرداختند:

تعریف کلاسیک: بیماری HIT در نظر گرفته می‌شود که امتیاز بالینی 4Tscore آن متوسط و یا بالا بوده و هم چنین نتایج آزمایش‌های ایمونولوژیک بررسی آنتی‌بادی مانند الایزا و آزمایش‌های عملکردی مثبت باشد.

تعریف آزاد: بیماری HIT در نظر گرفته می‌شود که بدون توجه به 4Tscore، نتایج آزمایش‌های بررسی آنتی‌بادی و عملکردی آن مثبت باشد.

تعریف اصلاح شده (modified conservation): بیمار از نظر امتیازدهی بالینی 4Tscore متوسط یا بالا، دارای آنتی‌بادی‌های HIT قابل تشخیص با روش‌های ایمونولوژیک بوده و شدت جذب نوری اندازه‌گیری شده در این آزمایش‌ها  $OD > 1$  باشد.

آن‌ها نشان دادند استفاده از تعریف اصلاح شده HIT می‌تواند ارزش تشخیصی معادل تعریف کلاسیک HIT داشته باشد و تعداد بیمارانی که با استفاده از تعریف آزاد HIT تشخیص داده می‌شوند، دو برابر تعداد بیمارانی می‌باشد که در دو تعریف دیگر جای می‌گیرند که این

شد و بر این اساس خطر ابتلا به HIT به سه دسته امتیاز پایین، متوسط و بالا تقسیم گردید. آن‌ها سپس به مقایسه نتایج حاصله از آزمایش‌های آزمایشگاهی با نتایج بررسی بالینی پرداختند. نتیجه‌گیری مطالعه در هر دو مرکز این بود که در بیماران با  $4Tscore < 4$ ، احتمال مثبت شدن آزمایش‌های آزمایشگاهی بسیار غیر محتمل بوده در حالی که برای بیماران با امتیاز متوسط و بالا، مثبت شدن آزمایش‌های آزمایشگاهی بسیار محتمل خواهد بود. آن‌ها نشان دادند که امتیاز پایین 4Tscore دارای ارزش پیش‌آگهی دهنده بالایی (High NPV) برای کنار گذاشتن HIT می‌باشد در حالی که امتیاز متوسط و بالا در شرایط مختلف بالینی دارای ارزش متفاوتی است (۷).

مثبت شدن نتایج آزمایش Anti-PF4/heparin antibody در تقریباً نیمی از بیماران با امتیاز بالینی متوسط و بالا (۵۷٪) در مطالعه ما نیز می‌تواند تایید کننده ارزش پیش‌آگهی دهنده مثبت 4Tscore در این گروه از بیماران باشد و نشان می‌دهد بیمارانی که دارای 4Tscore متوسط و بالا هستند، ظن به HIT در میان آن‌ها قوی می‌باشد.

آدام کاکر و همکارانش در سال ۲۰۱۲ یک مطالعه مروری و متاآنالیز جهت ارزیابی ارزش پیش‌آگهی دهنده 4Tscore بر روی ۳۰۶۸ بیمار مظنون به HIT انجام دادند. آن‌ها مشاهده نمودند امتیاز بالینی پایین ( $4Tscore < 4$ ) دارای ارزش پیش‌آگهی دهنده منفی (NPV) بالایی (۱۰۰٪ -  $95\% CI = 95\%$ ) می‌باشد در حالی که ارزش پیش‌آگهی دهنده مثبت (PPV) این روش ارزیابی بالینی در میان گروه‌هایی با امتیاز متوسط و بالا ( $4Tscore \geq 4$ ) متفاوت است (۱۵). مطالعه حاضر نیز نشان داد که ارزش پیش‌آگهی دهنده 4Tscore در گروه با امتیاز متوسط (۴-۵)، در مقایسه با گروه امتیاز بالا (۸-۶) به طور قابل توجهی تفاوت دارد به طوری که از ۱۴ بیمار با  $4Tscore \geq 4$ ، ۱۱ بیمار دارای امتیاز بالینی متوسط بودند و نتیجه آزمایش بررسی آنتی‌بادی به روش الایزا در ۵ بیمار مثبت شد (۴۵٪). در حالی که از ۳ بیمار دارای امتیاز بالینی بالا همگی دارای آنتی‌بادی ضد PF4/heparin (۱۰۰٪) بودند. هم چنین یک بیمار از این سه بیمار ۳ هفته بعد از عمل جراحی دچار رخداد ترومبوتیک گردید. بنابراین امتیاز

این مطالعه نیز مشخص است، استفاده تنها از این سیستم، بدون تایید آزمایشگاهی می تواند منجر به تشخیص بیش از حد واقعی (مثبت کاذب) و قطع نابه جای هپارین گردد. لذا استفاده هم زمان از ارزیابی بالینی 4Tscore و روش های آزمایشگاهی جهت تایید تشخیص ضروری است.

#### محدودیت ها:

یکی از محدودیت های این مطالعه عدم امکان انجام آزمایش بررسی آنتی بادی با روش الایزا برای همه بیمارانی که در این مطالعه حضور داشتند، بود که در صورت انجام این آزمایش برای همه بیماران، امکان مقایسه بهتری برای تعیین ارزش پیش آگهی دهنده منفی HIT توسط 4Tscore حاصل می گردید. از محدودیت های دیگر این مطالعه نیاز به انجام یکی از آزمایش های تاییدی (عملکردی) برای بیماران الایزا مثبت می باشد.

#### پیشنهادهای:

با توجه به خطر بالای بروز رخداد های ترومبوتیک در بیمارانی که دچار HIT شده اند، ضرورت استفاده از یک پنل کامل جهت تشخیص HIT آشکار می باشد. با توجه به جمعیت ۸۰ میلیونی کشور ایران و تعداد بالای بیمارانی که تحت درمان با هپارین قرار می گیرند، وجود یک آزمایشگاه مرجع مجهز به هر دو دسته از آزمایش های ایمونولوژیک و عملکردی می تواند به تشخیص سریع و صحیح HIT کمک نموده و از بروز عوارض ناشی از عدم تشخیص و یا تشخیص اشتباه این بیماری جلوگیری نماید.

#### تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان نامه دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد هماتولوژی و بانک خون مصوب در مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون بوده و دارای کد اخلاق به شماره IR.TMI.REC.1393.12 می باشد. بودجه این طرح از طرف مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون تامین گردیده است و محققین این مطالعه از

یافته خود حاکی از اهمیت بررسی بالینی بیماران قبل از انجام آزمایش های آزمایشگاهی می باشد (۱۳). با توجه به این که در مطالعه حاضر، آزمایش های عملکردی در دسترس نبود، به این منظور از آزمایش بررسی آنتی بادی به روش الایزا جهت تشخیص آزمایشگاهی HIT استفاده نمودیم و مشاهده گردید که، بررسی آنتی بادی با روش الایزا در ۸ بیمار با نتیجه مثبت، ۳ بیمار (دو بیمار امتیاز بالینی 4Tscore متوسط و یک بیمار با امتیاز بالا) دارای ۱ OD > بودند که شیوع HIT را تقریباً ۳٪ (نسبت به کل جمعیت مورد مطالعه) ارزیابی نمود. این یافته با نتایج حاصله از مطالعه های مختلف که میزان بروز HIT را ۳٪- ۱٪ گزارش کرده اند هماهنگ می باشد (۱۶، ۱۰، ۹).

مطالعه های مختلف نشان داده اند که شدت جذب نوری اندازه گیری شده توسط بررسی آنتی بادی با روش الایزا می تواند بیانگر احتمال HIT و خطر های ترومبوتیک متعاقب آن باشد و باعث افزایش اختصاصیت در تشخیص HIT شود (۱۸، ۱۷). نتایج مطالعه حاضر نیز این یافته را تایید می کند چرا که از ۸ بیماری که دارای بررسی آنتی بادی با روش الایزا مثبت بودند، سه بیمار دارای ۱ OD > بودند که رخداد ترومبوتیک در یک بیمار ۳ هفته بعد از عمل مشاهده شد.

وارکتین و همکارانش در سال ۲۰۰۶ نشان دادند جنسیت می تواند یک فاکتور خطر برای بروز آنتی بادی های مرتبط با HIT باشد (۱۹). مطالعه حاضر نیز این یافته را تایید می کند زیرا با وجود این که زنان ۲۷٪ از جمعیت مورد مطالعه را تشکیل دادند، ولی در هر دو گروه  $4Tscore \geq 4$  و بررسی آنتی بادی با روش الایزا مثبت ۵۰٪ این گروه ها را به خود اختصاص دادند و هم چنین میانگین تیر آنتی بادی های مرتبط با HIT در زنان بیشتر از مردان بود.

#### نتیجه گیری

4Tscore ارزش قابل توجهی در شناسایی بیماران تحت درمان با هپارین که مظنون به HIT می باشند، دارد به طوری که از انجام آزمایش های پرهزینه برای کلیه بیماران جلوگیری می نماید. لیکن همان طور که از نتایج

در زمینه انجام آزمایش الایزا تشکر و قدردانی می‌گردد.

این حمایت مالی تشکر و قدردانی می‌نمایند. هم چنین از خانم روشنک شمع‌ریز در همکاری با مجریان این طرح

## References:

- Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia. *N Eng J Med* 2015; 373(19): 1883-4.
- Otis SA, Zehnder JL. Heparin-induced thrombocytopenia: Current status and diagnostic Challenges. *Am J Hematol* 2010; 85(9): 700-6.
- Demma LJ, Winkler AM, Levy JH. A diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia with combined clinical and laboratory methods in cardiothoracic surgical intensive care unit patients. *Anesth Analg* 2011; 113(4): 697-702.
- Pouplard C, May MA, Regina S, Marchand M, Fusciardi J, Gruel Y. Changes in platelet count after cardiac surgery can effectively predict the development of pathogenic heparin dependent antibodies. *Br J Haematol* 2005; 128(6): 837-41.
- Warkentin TE, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia and cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2003; 76(6): 2121-31.
- Leo A, Winteroll S. Laboratory diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia and monitoring of alternative anticoagulants. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10(5): 731-40.
- Lo GK, Juhl D, Warkentin TE, Sigouin CS, Eichler P, Greinacher A. Evaluation of pretest clinical score (4 T's) for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in two clinical settings. *J Thromb Haemost* 2006; 4(4): 759-65.
- Sun X, Hill PC, Ellis J, Corso PJ, Taylor-Panek SL, Chen F. Ten year screening for thrombocytopenia after aortic valve replacement. *Interact CardiovascThorac Surg* 2014; 18(5): 562-7.
- Warkentin TE, Sheppard JI, Horwood P, Simpson PJ, Moore JC, Kelton JG. Impact of the patient population on the risk for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2000; 96(5): 1703-8.
- Bauer TL, Arepally G, Konkole BA, Mestichelli B, Shapiro SS, Cines DB, *et al.* Prevalence of heparin-associated antibodies without thrombosis in patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery. *Circulation* 1997; 95(5): 1242-6.
- Lindhoff-Last E, Eichler P, Stein M, Plagemann J, Gerdson F, Wagner R, *et al.* A prospective study on the incidence and clinical relevance of heparin-induced antibodies in patients after vascular surgery. *Thromb Res* 2000; 97(6): 387-93.
- Ortel T. Heparin-induced thrombocytopenia: when a low platelet count is a mandate for anticoagulation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009; 225-32.
- Lo GK, Sigouin CS, Warkentin TE. What is the potential for overdiagnosis of heparin-induced thrombocytopenia? *Am J Hematol* 2007; 82(12): 1037-43.
- Samhouri Y, Telfah M, Kouides R, Woodlock T. Utilization of 4T score to determine the pretest probability of heparin-induced thrombocytopenia in a community hospital in upstate New York. *J Community Hosp Intern Med Perspect* 2016; 6(4): 32522.
- Cuker A, Gimotty PA, Crowther MA, Warkentin TE. Predictive value of the 4Ts scoring system for heparin-induced thrombocytopenia: a systematic review and meta-analysis. *Blood* 2012; 120(20): 4160-7.
- Trossaert M, Gaillard A, Commin PL, Amiral J, Vissac AM, Fressinaud E. High incidence of anti-heparin/platelet factor 4 antibodies after cardiopulmonary bypass surgery. *Br J Haematol* 1998; 101(4): 653-5.
- Warkentin TE, Sheppard JA, Moore JC, Moore JC, Sigouin CS, Kelton JG. Laboratory testing for the antibodies that cause heparin-induced thrombocytopenia: how much class do we need? *J Lab Clin Med* 2005; 146(6): 341-6.
- Zwicker JJ, Uhl L, Huang HY, Shaz BH, Bauer KA. Thrombosis and EIA optical density values in hospitalized patients with heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2004; 2(12): 2133-7.
- Warkentin TE, Sheppard JA, Sigouin CS, Kohlmann T, Eichler P, Greinacher A. Gender imbalance and risk factor interactions in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2006; 108(9): 2937-41.

Original Article

## Evaluation of diagnostic value of 4T score for heparin induced thrombocytopenia

Shahbazi M.<sup>1</sup>, Ahmadinejad M.<sup>1</sup>, Chegini A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

### Abstract

#### Background and Objectives

Heparin induced thrombocytopenia (HIT) is a prothrombotic disorder. The antibody against PF4-heparin complex may lead to platelet activation, thrombotic events and death. We decided to evaluate diagnostic value of 4T score as a clinical diagnostic system among cardiac surgery patients for diagnosis of HIT.

#### Materials and Methods

In this descriptive study, 92 patients that underwent cardiac surgery from September 2015 till September 2016 in Tehran Modarres Hospital have been included. We evaluated 4Tscore criteria (4T stands for Thrombocytopenia, Time of thrombocytopenia, Thrombotic events and Other reasons for Thrombocytopenia) in all cases. Blood samples were obtained from patients with 4Tscore  $\geq 4$ . Anti-platelet factor 4/heparin antibody (enzyme-immune assay, ELISA) was done for patients with 4Tscore  $\geq 4$  and the OD  $\geq 0.2$  was considered as positive and  $\geq 1$  as strong positive. Patients with 4Tscore  $\geq 4$  and strong positivity of ELISA test were considered as HIT.

#### Results

From 92 patients, 67 (72.8%) were male and 25 (27.2%) female. Mean age was  $58 \pm 10.68$  with 14 patients (15.2%) having 4Tscore  $\geq 4$ . ELISA was positive (OD  $> 0.2$ ) in 8 cases in 3 of whom ELISA being strongly positive (OD  $> 1$ ). According to HIT definition in this study, the prevalence of HIT was 3.2%.

#### Conclusions

4T score should be evaluated for preliminary diagnosis of HIT in suspected patients treated with heparin but the use of this system alone without laboratory confirmation can lead to over diagnosis of HIT and inappropriate termination of heparin treatment.

**Key words:** Thrombocytopenia, Heparin, Cardiac Surgery, Diagnosis

Received: 5 Oct 2016

Accepted: 12 Sep 2017

Correspondence: Ahmadinejad M., MD. Assistant Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.  
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 86704715; Fax: (+9821) 88622533  
E-mail: minooam26@yahoo.com