

Hepariinin vaikutus veren hyytymisjärjestelmän aktivaatioon lasten sydänkatetrointitoimenpiteessä

Dawei Chen LK

Lääketieteellinen tiedekunta, kliininen laitos, Lasten ja nuorten sairaala

Helsinki 01.12.2011

Tutkielma, syventävät opinnot

dawei.chen@helsinki.fi

Ohjaajat: Dos. Jaana Pihkala ja Prof. Markku Heikinheimo

Työryhmä: LT Satu Långström ja Dos. Jari Petäjä

HELSINGIN YLIOPISTO

Lääketieteellinen tiedekunta

Kliininen laitos, Lastenkliniikka

HELSINGIN YLIOPISTO – HELSINGFORS UNIVERSITET

| | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--|
| Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion – Faculty Lääketieteellinen tiedekunta | | Laitos – Institution – Department Kliininen laitos | |
| Tekijä – Författare – Author Dawei Chen | | | |
| Työn nimi – Arbetets titel – Title Hepariinin vaikutus veren hyytymisjärjestelmän aktivaatioon lasten sydänkatetrintoimenpiteessä | | | |
| Oppiaine – Läroämne – Subject | | | |
| Työn laji – Arbetets art – Level | Aika – Datum – Month and year 01.12.2011 | Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 26 | |
| Tiivistelmä – Referat – Abstract <p>Fraktioimatonta hepariinia käytetään standardihoitona lasten sydänkatetrintoimenpiteissä vähentämään toimepiteeseen liittyvää tukosriskiä. Oikean hepariiniannostelun perustana tarvitaan tietoa hyytymisjärjestelmän tilasta. Tutkimuksessamme selvittämme hyytymisjärjestelmän aktivaatiota sekä trombiininmuodostuksen voimakkuutta katetrintoimenpiteen aikana ja sen jälkeen. Lisäksi tutkimme hepariinin vaikutusta hyytymisjärjestelmään eri menetelmillä, joista osa on vielä kokeellisia.</p> <p>Tutkimuksemme kuului 42 3-12-vuotiasta HYKS Lastenklinikan sydänkatetripotilasta. Tutkimuspotilaita, joille annettiin hepariinia katetrisaation aikana, oli 27; kontrollipotilaita, joiden toimenpiteet eivät vaatineet hepariinia, oli 15. Potilailta kerättiin kolme verinäytettä toimenpiteen aikana sekä yksi toimenpiteen järkeisenä päivänä. Näytteistä määritettiin hyytymisjärjestelmän toimintaa kuvaavia laboratoriotutkimuksia (F1+2, TAT, D-dimeeri, TT, APTT, anti-FXa ja PiCT).</p> <p>Hepariini hillitsi odotetusti hyytymisjärjestelmän aktivaatiota. Kontrollipotilailta F1+2 ja TAT nousivat merkitsevästi toimeenpiteen aikana tutkimuspotilasryhmään verrattuna. Tutkimuspotilailta anti-FXa:n tasot olivat korkeat toimenpiteen aikana, PiCT arvot korreloivat anti-FXa:n kanssa katetrisaation alkuvaiheessa.</p> <p>Tulokset osoittivat selkeästi tutkimuspotilailta hepariinin aiheuttaman antikoagulaatiovaikutuksen, mikä oli voimakasta. Toisaalta hyytymisjärjestelmän aktivoitui niillä potilailta joilla hepariinia ei käytetty. Uusi hepariini-vaikutuksen mittari PiCT näytti toimivan myös lapsipotilailta.</p> <p>(145 sanaa)</p> | | | |
| Avainsanat – Nyckelord – Keywords blood coagulation, pediatric cardiac catheterization, unfractionated heparin | | | |
| Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited | | | |
| Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information | | | |

Sisällysluettelo

| | |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| 1. Johdanto..... | 1 |
| 1.1. Lyhenteet..... | 2 |
| 2. Kirjallisuuskatsaus..... | 3 |
| 2.1. Sydänkatetrointi ja synnynnäiset sydänviat..... | 3 |
| 2.2. Veren hyytyminen..... | 6 |
| 3. Potilaat ja menetelmät..... | 9 |
| 3.1. Potilaat..... | 9 |
| 3.2. Menetelmät..... | 11 |
| 3.2.1. Mittausmenetelmät..... | 12 |
| 3.2.2. Tilastolliset menetelmät..... | 13 |
| 4. Tulokset..... | 13 |
| 4.1. Hyytymisjärjestelmän tilanne ennen toimenpidettä..... | 13 |
| 4.2. Hyytymisjärjestelmän tilanne toimenpiteen aikana..... | 14 |
| 4.3. Hyytymisjärjestelmän aktivaatio katetrisaation aikana..... | 17 |
| 4.4. Antikoagulaatiovaikutuksen mittaus..... | 19 |
| 5. Pohdinta..... | 20 |
| 6. Johtopäätökset..... | 23 |
| Lähteet..... | 24 |

1 Johdanto

Perinteistä fraktioimatonta hepariinia käytetään standardihoitona lasten sydänkatetrointitoimenpiteissä. Fraktioimattoman hepariinin käyttö vähentää selkeästi toimepiteeseen liittyvää tukosriskiä, mutta hepariinin oikea annostelu ja mahdollinen pienimolekylääristen hepariinien rooli tukosten estossa ovat huonosti tunnettuja. Potentiaalisten vakavien tukoskomplikaatioiden vuoksi profylaksian on oltava toisaalta riittävä, toisaalta taas liian tehokas profylaksia voi johtaa vakaviin vuotokomplikaatioihin. Oikean hepariiniannostelun perustaksi tarvitaan tietoa hyytymisjärjestelmän tilasta.

Tässä tutkimuksessa selvitämme erityisesti hyytymisjärjestelmän aktivaatiota ja trombiininmuodostuksen voimakkuutta katetrointitoimenpiteen aikana ja sen jälkeen. Lisäksi tutkimme hepariinin vaikutusta hyytymisjärjestelmään eri menetelmillä, joista osa on vielä kokeellisia.

1.1 Lyhenteet

| | |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| ASD | eteisväliseinäaukko (atrial septal defect) |
| PDA | avoin valtimotiehyt (patent ductus arteriosus) |
| LPA | vasen keuhkovaltimohaara (left pulmonary artery) |
| RPA | oikea keuhkovaltimohaara (right pulmonary artery) |
| UFH | fraktoimaton hepariini (unfractionated heparin) |
| TAT | trombiini-antitrombiini-kompleksi |
| TF | kudostekijä (tissue factor) |
| TFPI | kudostekijätien estäjä (tissue factor pathway inhibitor) |
| F1+2 | protrombiinifragmentti 1+2 |
| APTT | aktivoitunut partiaallinen tromboplastiiniaika (activated partial thromboplastin time) |
| TT | tromboplastiiniaika (thromboplastin time) |
| PiCT | protrombinaasi-indusoitu hyytymisaika (prothrombinase-induced clotting time) |
| F | hyytymistekijä (factor, esim. FV –hyytymistekijä V) |
| AT | antitrombiini |

2 Kirjallisuuskatsaus

2.1 Sydänkatetrointi ja synnynnäiset sydänviat

Synnynnäisen sydänvian esiintyvyys on noin yksi prosentti. Osa näistä sydänvioista paranee spontaanisti tai niitä ei tarvitse hoitaa. Osa vioista hoidetaan kirurgisesti, osa voidaan korjata katetritoimenpiteillä ilman leikkausta. Tällaisia sydänvikoja ovat esimerkiksi eteisväliseinäaukko (ASD) ja avoin valtimotiehyt (PDA) [1]. Eteisväliseinäaukko aiheuttaa sydämen oikean puolen tilavuuskuormituksen ja avoin valtimotiehyt vasemman puolen tilavuuskuormituksen. Suurin osa näistä molemmista vioista hoidetaan nykyään katetrointilaboratoriossa.

Katetritoimenpiteessä katetri viedään nivusesta ihon läpi reisivaltimeen tai -laskimoon perkutaanisesti. Lämpivalaisussa katetri ohjataan kohteeseen. Ohjainvaijeria pitkin voidaan viedä sulkulaitteita, metallikierteitä, pallolaajentimia, biopsiainstrumentteja ym. ASD:n sulun yhteydessä sulkulaite viedään katetrin avulla reisilaskimosta alaonttolaskimoa pitkin paikalleen eteisväliseinään. Sulkulaitteen päällä alkaa fibriinimuodostus ja laite peittyy kuukausien kuluessa kokonaan endoteelillä. PDA:n sulun yhteydessä katetri viedään reisivaltimeen edelleen aorttaan ja sieltä valtimotiehyen läpi keuhkovaltimeen. PDA suljetaan yleensä metallikierteellä. Kookkaammat PDA:t suljetaan laskimoteitse verkkolaitteen avulla [1]. Toimeenpiteessä PDA trombosoituu nopeasti ja sulkulaite peittyy endoteelillä.

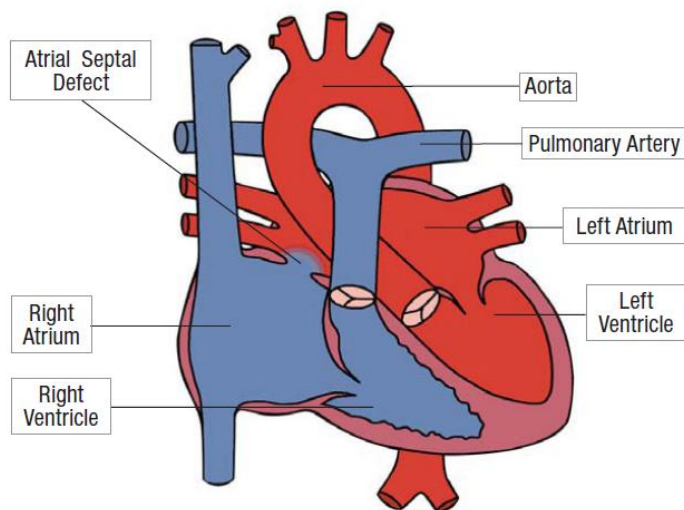
Katetritoimenpidettä seuraavana päivänä potilaille tehdään aina sydämen ultraäänitutkimus laitteen paikallaanolon toteamiseksi ja oikovirtauksen loppumisen varmistamiseksi. ASD-potilaat saavat toimenpidettä edeltävänä iltana asetosalisyyliläppä, jota jatketaan puoli vuotta.

Katetritoimenpiteessä hemostaasi häiriintyy, ja katetrin pistokohtaan tai ileofemoraalivaltimorunkoon tai itse katetriin voi kehittyä tukos. Tukoksen aiheuttamia mahdollisia komplikaatioita voivat olla tromboemboliset komplikaatiot pääte-elimissä, raajan iskemia ja kasvuhäiriöt. Nuoremmilla lapsilla trombin kehittymisen

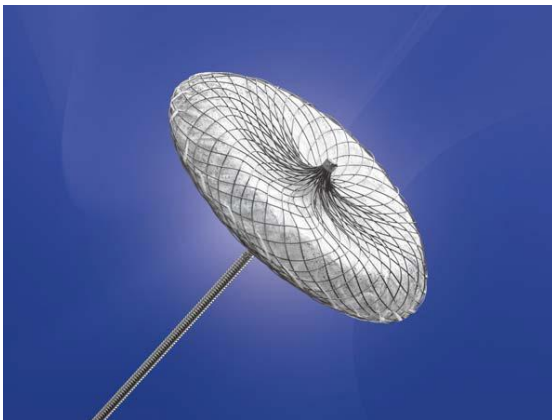
todennäköisyys on suurempi ja ilman antikoagulanttihoitoa trombinmuodostumisriski voi olla jopa 40% [2]. Verisuonikomplikaatiot muodostavat suuren osan sydänkatetroinnin komplikaatioista [3,4]. Pienempi osa vaskulaarisista komplikaatioista koostuu verisuoniperforaatioista ja -repeämistä. Suurempi osa komplikaatioista koostuu trombeista, ja näistä suurin osa valtimopuolen trombeista. Vuotokomplikaatio eli paikallinen hematooma pistoskohdalla on harvinaisempi komplikaatio [4].

Trombien muodostumisen estämiseksi valtimopuolen kautta tehtävissä sydänkatetrointitoimenpiteissä käytetään fraktioimatonta hepariinia. Annos on tämänhetkisten suositusten mukaan 100 IU/kg [2]. HUS:n Lasten ja nuorten sairaalassa hepariinibolus annetaan heti toimenpiteen alussa, kun sisäänviejä on paikallaan. Kaikki katetrit huuhdellaan hepariini-0,9%NaCl liuoksella ennen sisäänviemistä.

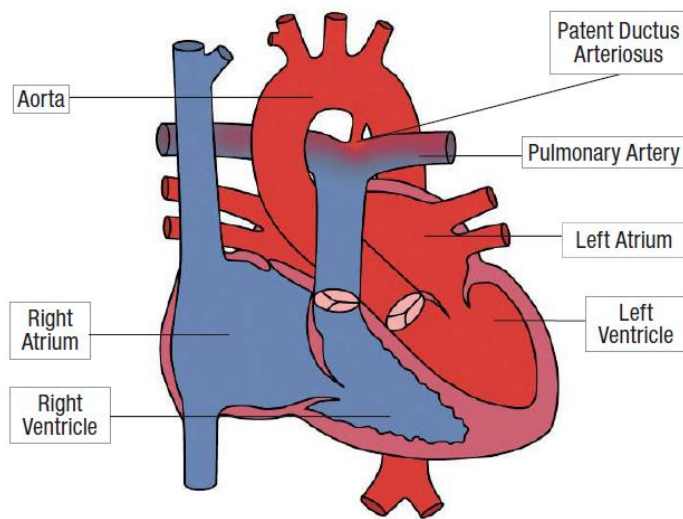
Osassa sydänkatetrointitoimenpiteitä ei käytetä hepariinia lainkaan. Näissä toimeenpiteissä pääsy korjattavaan kohteeseen tapahtuu laskimoreittin kautta, eikä sydämen oikean ja vasemman puolen välillä ole merkittävää oikovirtausta. Esimerkkitoimenpiteitä ovat sydänlihaskiopsia, keuhkovaltimohaarojen ja -läppien laajennukset sekä tahdistimen asennus ja vaihto. Sydänlihaskiopsiassa kiopsiainstrumentti kuljetetaan reisilaskimon kautta oikeaan kammioon. Keuhkovaltimoiden ja niiden läppien pallolaajennuksessa pallolaajennuskatetri viedään reisilaskimosta stenoosin kohdalle, jossa tehdään pallolaajennus. Tahdistimen asennuksessa käytetään solislaskimoa tahdistimen johtojen viemiseen sydämeen.



Kuva 1. ASDssä sydämessä on oikovirtausaukko vasemman ja oikean kammion välillä [5].



Kuva 2. ASD:n sulkulaite [5].



Kuva 3. PDA:ssa esiintyy oikovirtausta aorttan ja keuhkovaltimoiden välillä [6].

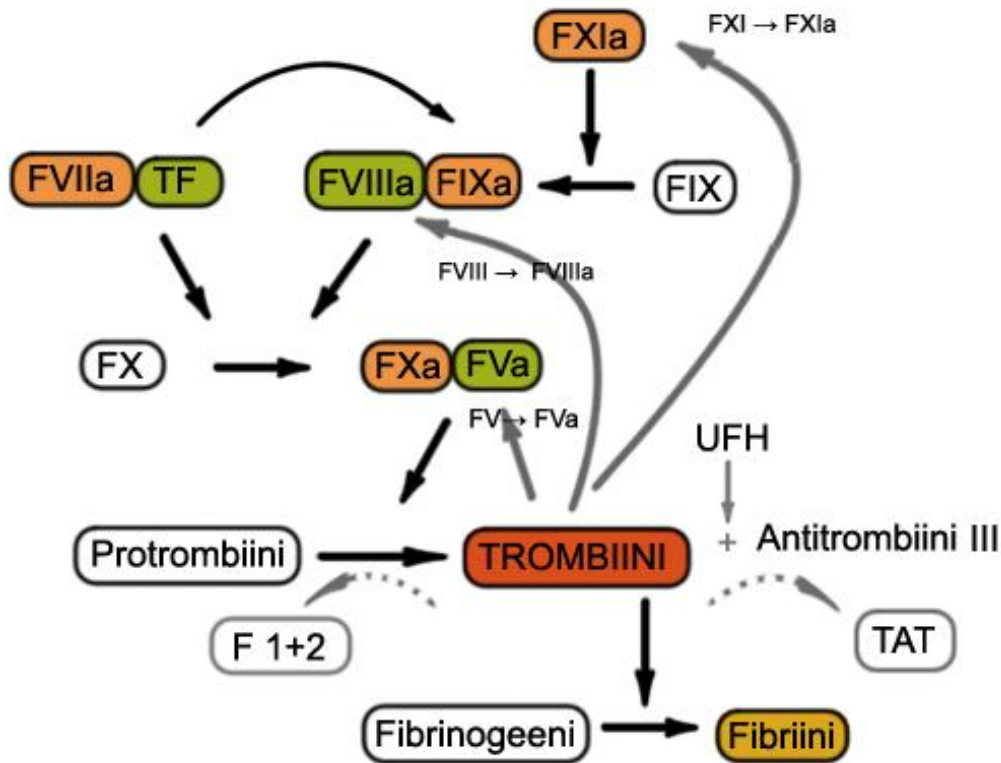


Kuva 4. PDA:n sulku metallikierteellä [7].

2.2 Veren hyytymisjärjestelmä

Veren hyytymisjärjestelmällä on tärkeä rooli elimistön hemostaasissa. Verisuonten endoteelivaurioiden seurauksena verihutaleet aktivoituvat ja kerääntyvät vauriokohdalle. Samanaikaisesti verihutaleiden pinnalla käynnistyy verisuonen seinämästä paljastuvan kudostekijän aloittamana veressä kiertävien hyytymistekijöiden aktivoituminen jonka lopputuloksena muodostuu trombiinia. Verihutaleiden ja muiden

solujen pinnalla trombiini aktivoi fibrinin esiastetta fibrinogeenia fibriniksi. Tällöin muodostuu fibriniverkko, joka kiinnittää hyytymän paikalleen [8-10] (Kuva 5.).



Kuva 5. Verisuonivauriossa FVIIa sitoutuu endoteelin alta paljastuvaan kudostekijään (tissue factor –TF) ja tämä kompleksi johtaa FX:n ja FIX:n aktivoitumiseen. Trombiini muodostuu protrombiinista FXa-FVa kompleksin avulla. Trombiini on keskeinen molekyyli, joka pystyy säätämään fibrininmuodostuksen lisäksi myös monien muiden hyytymistekijöiden toimintaa. Fraktioimaton hepariini (UFH) sitoutuu antitrombiiniin ja tehostaa antitrombiinin vaikutusta trombiinin inaktivoitumisessa. UFH estää myös FXa:a [8-10].

Trombiinilla on keskeinen osuus veren hyytymisessä ja tukoksen muodostumisessa. Elimistössä esiintyy luonnostaan pieniä määriä trombiinia, joka pilkkoo hyytymistekijöiden inaktiivisia esiasteita muodostaen hyytymiseen osallistuvia aktiivisia entsyymejä ja kofaktoreita. Trombiinin muodostus riippuu olennaisesti kahdesta hyytymistekijäkompleksista: tenaasikompleksista (FIXa, FVIIIa, FX) ja

protrombinaasikompleksista (FVa, FXa, protrombiini), joissa FVIIIa ja FVa ovat välttämättömiä kofaktoreita [8,9].

Terve verisuonen seinämän endoteeli pystyy rajaamaan hyytymistapahtuman vain vauriokohtiin. Hyytymän muodostuksen estossa on tärkeää estää trombiinin muodostusta sekä inhiboida trombiinin toimintaa. Antitrombiini, kudostekijätien estäjä, proteiini C ja proteiini S säätelevät trombiinin muodostusta. Antitrombiini inaktivoi trombiinia ja sen lisäksi myös hyytymistekijöitä IXa, Xa, XIa ja XIIa. Luonnollisesti elimistössä esiintyvä heparaanisulfaatti tehostaa plasmassa olevan antitrombiinin toimintaa sitoutumalla siihen. Lääkkeenä käytettävä hepariini muistuttaa toiminnaltaan heparaanisulfaattia, joka löytyy endoteelisolujen pinnasta. Antitrombiini pystyy inaktivoimaan vain verenkierrossa vapaana olevaa trombiinia. Fraktioimaton hepariini estää parhaiten trombiinin ja pienimolekyyläinen hepariini FXa:n toimintaa [8-10].

Katetritoimenpiteen alussa hepariinia annetaan katetrin kautta profylaktisesti ja sen käyttö vähentää trombinmuodostusriskiä 40%:sta alle 8%:iin [2]. Katetroinnin aikana on hyvin todennäköistä, että endoteeliin tulee lieviä vaurioita katetrin/instrumenttien kulkiessa suonessa tai harvinaisissa tapauksissa, suonon perforoitua. Katetrin sisäänvienti aiheuttaa myös väistämättä verisuonivaurion. Vierasesine, kuten esim. ASD- tai PDA-sulkija käynnistävät hyytymiskaskaadin.

Veren hemostaattinen mekanismi kehittyy ja kypsyä sikiöajasta lähtien aikuisikään saakka [10,11]. Voimakkainta muutosnopeus on ensimmäisen vuoden aikana ja jälleen teini-iässä, jolloin hyytymisjärjestelmä alkaa muuttua aikuisten kaltaiseksi [11-13]. Erityisesti protrombiinin ja proteiini C:n tasot ovat aikuisten tasoa matalampia koko lapsuusiän ajan [11,12]. Hyytymisjärjestelmän toiminta lapsuusiällä on kuitenkin fysiologista sillä tromboottisia ja vuotokomplikaatioita ei terveellä lapsella juurikaan esiinny. Kuitenkin tiettyjen sairauksien, kuten synnynnäisten sydänvikojen ja niiden korjausten ja esim. syöpäsairauksien yhteydessä hyytymisjärjestelmään liittyviä komplikaatioita esiintyy ja hyytymisjärjestelmän toiminta on otettava huomioon [14].

Tromboottisten komplikaatioiden hoidossa käytetään samoja lääkkeitä kuin aikuisillakin, fraktioimatonta hepariinia, pienimolekyyläistä hepariinia ja varfariinia.

Näiden lääkkeiden indikaatiot ja annostukset on usein ekstrapoloitu suoraan aikuisten hoito-ohjeista ja suhteellisen vähän tietoa on kyseisten lääkkeiden vaikutuksesta lapsen hyytymisjärjestelmään. Tiedetään tosin, että hyytymisjärjestelmän eroista johtuen esim. hepariinin vaikutus vaihtelee iän mukaan [15,16].

Halusimmekin tässä tutkimuksessa selvittää fraktioimattoman hepariinin vaikutuksia lapsen hyytymisjärjestelmän toimintaan melko yleisessä toimenpiteessä eli eri syistä johtuvassa sydänkatetrisaatiassa. Lisäksi halusimme verrata hepariinia saaneita potilaita sellaisiin potilaisiin joille ei toimenpiteen yhteydessä annettu hepariinia.

3 Potilaat ja menetelmät

3.1 Potilaat

Tutkimukseen otettiin 27 peräkkäistä tutkimuspotilasta ja 15 kontrollipotilasta, jotka tulivat HUSin Lasten ja nuorten sairaalan sydänasemalle sydänkatetrointia varten. Potilaat poimittiin soveltuvuuden (ikä, toimenpiteen laatu) perusteella systemaattisesti sydänkatetrointilistalta. Tutkimuspotilaiden vanhemmat saivat informaatiokaavakkeen, jossa oli tietoja tutkimuksesta ja he saivat myös tilaisuuden esittää kysymyksiä. Vanhemmat vahvistivat suostumuksensa lastensa osallistumisesta tutkimukseen kirjallisesti. Tutkimus on hyväksytty HUS:n Lasten ja nuorten sairaalan eettisessä toimikunnassa.

Tutkimuspotilaille annettiin sydänkatetroinnin yhteydessä normaaliin tapaan 100 IU/kg fraktioimatonta hepariinia. Kontrollipotilaita ei sydänkatetroinnin yhteydessä heparinisoitu, koska kyseisten potilaiden toimenpiteissä pääsy korjattavaan kohteeseen tapahtui laskimoreitin kautta, potilaille ei asennettu tromboosille altistavaa sulkulaitetta, eikä sydämessä ollut merkittävää oikovirtausta.

Potilaat olivat iältään 3-12-vuotiaita. Tutkimukseen osallistuvilla ei ollut edeltävästi käytössä veren hyytymisjärjestelmään vaikuttavia lääkityksiä lukuun ottamatta ASD-potilaita, jotka olivat saaneet edeltävänä iltana yhden annoksen asetosalisyylihappoa (3-5mg/kg), jonka hyytymistä estävä vaikutus perustuu trombosyyttien aggregaation estoon. Lisäksi, tutkimuspotilailla ei tiettävästi ollut veren hyytymisjärjestelmään vaikuttavia sairauksia. Potilaat kotiutuivat seuraavana päivänä hyväkuntoisina, eikä heillä todettu komplikaatioita. Niillä potilailla, joille tehtiin sydämen ultraäänitutkimus toimenpiteen jälkeen (28 potilasta), ei todettu trombeja. Tarkemmat kliiniset potilastiedot on eritelty taulukossa 1.

| | Potilasryhmä (n= 27) | Kontrolliryhmä (n= 15) | p |
|---------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|----------|
| Ikä (v.) | 5,7 (3,0-9,8) | 8,4 (3,1-13,0) | 0,01 |
| Sukupuoli | | | |
| Mies | 12 | 7 | |
| Nainen | 15 | 8 | |
| Paino (kg) | 20,7 (14,2-35,0) | 30,0 (10,2-57,5) | 0,03 |
| Diagnoosi | | | |
| ASD | 13 | | |
| PDA | 14 | | |
| Muu* | | 15 | |
| Hepariinimäärä (IU) | 2069 (1400-3500) | | |
| Toimenpiteen kesto (min) | 36 (19-63) | 57 (24-146) | 0,17 |

*** Verrokkiryhmässä oli potilaita joille suoritettiin: sydänlihasbiopsia tahdistinvaihto/-asennus tai keuhkovaltimoläpän tai keuhkovaltimon laajennus.**

Taulukko 1. Potilastiedot.

3.2 Menetelmät

Potilailta kerättiin neljä verinäytettä, joista kolme otettiin katetrointitoimeenpiteen yhteydessä ja yksi ensimmäisenä toimeenpiteen jälkeisenä päivänä. Ensimmäinen näyte otettiin toimeenpiteen alussa ennen hepariinin antoa, seuraava näyte 15 minuuttia hepariinin annon jälkeen (kontrollipotilailla 15 minuuttia toimeenpiteen alkamisesta), ja kolmas näyte toimeenpiteen lopussa. Näytteet kerättiin toimeenpiteen aikana katetrasta 2,7 ml:n sitraattiputkiin. Ensimmäisen toimeenpiteen jälkeisen päivän näyte otettiin laskimopistoksella tai hyvin toimivasta kanyylista. Näytteet vietiin suoraan laboratorioon, jossa plasma sentrifugoitiin ja pakastettiin -70°C :een myöhemmin suoritettavia analyysejä varten.

Verinäytteistä määritettiin hyytymisjärjestelmän yleistä tilaa mittaavat tromboplastiiniaika (TT) ja aktivoitu partiaalinen tromboplastiiniaika (APTT), trombiininmuodostuksesta ja hyytymisjärjestelmän aktiivisuudesta kertovat protrombiinifragmentti F1+2, trombiini-antitrombiinikompleksit ja D-dimeeri. Lisäksi antikoagulaation tasoa mitattiin anti-FXa- (pienimolekylärisen hepariinin ja fraktioimattoman hepariini kalibraatiolla) ja PiCT-tutkimuksilla (Taulukko 2).

| Hyytymisjärjestelmän seulontatutkimukset | |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tromboplastiiniaika | Mittaa hyytymistekijöitä II, VII, X |
| Aktivoitu partiaalinen tromboplastiiniaika | Mittaa hyytymistekijöitä XII, XI, X, IX, VIII, V |
| Hyytymisjärjestelmän aktivaation ja trombiinin mittaaminen | |
| Protrombiinifragmentti F1+2 | Muodostuu kun protrombiini aktivoidaan trombiiniksi. |
| Trombiini-antitrombiini-kompleksi | Muodostuu kun trombiini sitoutuu antitrombiiniin. |
| D- Dimeeri | Fibriinin hajoamistuote |
| Hepariinivaikutuksen mittaaminen | |
| Anti-faktori-X-aktiivisuus | Mittaa kuinka muodostuneet hepariini-antitrombiinikompleksit estävät näytteeseen lisättyä hyytymistekijä Xa:ta. |
| Prothrombinase-induced clotting time (PiCT) | Hyytymisajan mittaus näytteessä joka on preaktivoitu Russell viper venomkäärmeenmyrkyllä [17] |

Taulukko 2. Hyytymisjärjestelmän tilaa mittaavia laboratoriotutkimuksia.

3.2.1 Mittausmenetelmät

F1+2- ja TAT-määrityksessä käytettiin ELISA-pohjaisia Enzygnost F1+2- ja TAT-kittejä (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Saksa). F1+2- ja TAT-määritykset tehtiin Lasten ja nuorten sairaalan tutkimuslaboratoriossa. Muut määritykset tehtiin HUSLABin Meilahden sairaalan laboratoriossa käyttäen APTT:n määrityksessä Dade Actin FSL Activated PTT Reagent-kittiä (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg,

Saksa), PiCT:n määrittämisessä Pefakit PiCT-kittiä (Pentapharm, Basel, Sveitsi), D-Dimeerin määrittämisessä D-Dimer, Tina-quant-menetelmää (Roche/Hitachi, Mannheim, Saksa) ja Anti-FXa:n määrittämisessä Berichrom Heparin-menetelmää (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Saksa).

3.2.2 Tilastolliset menetelmät

Kaikkiin vertailuihin käytettiin ei-parametrisiä testejä. Korrelaatiot laskettiin Spearman R-korrelaatioina. Ryhmien välisissä tilastollisissa vertailuissa käytettiin Mann-Whitney U-testiä ja ryhmien sisäisissä vertailuissa Wilcoxonin testiä. Tulokset on ilmoitettu keskiarvoina. Tilastollisen merkitsevyyden rajana pidettiin p-arvoa <0.05. Tulokset on analysoitu SPSS- ja Prism-tilasto-ohjelmilla.

4 Tulokset

4.1 Hyytymisjärjestelmän tilanne ennen toimenpidettä

Toimenpiteen alussa ryhmien välillä oli lähes samanlainen lähtötilanne keskeisten hyytymisjärjestelmän tekijöiden suhteen (Taulukko 3.). Tilastollisesti merkitsevä ero todettiin TT-tasoissa. Lähes kaikki TT-arvot olivat kuitenkin viitealueella.

| | Potilasryhmä | Kontrolliryhmä | Aikuisten viitearvot | p |
|------------------|----------------|----------------|----------------------|------|
| TT (%) | 92 (69-130) | 78 (51-119) | 70-130 | 0,03 |
| APTT (s) | 37 (25-42) | 32 (22-37) | 23-33 | ns |
| D-dimeeri (mg/l) | 0,1 (0,1-0,6) | 0,1 (0,1-0,8) | <0,5 | ns |
| F1+2 (pmol/l) | 94 (54-342) | 110 (44-234) | 69-229 | ns |
| TAT (µg/l) | 2,1 (0,6-17,0) | 3,2 (0,0-34) | <4,0 | ns |

Taulukko 3. Hyytymisjärjestelmän tekijät katetrointitoimenpiteen alussa potilasryhmässä ja kontrolliryhmässä. Mukana myös aikuisten viitearvot. Ns= non significant; $p>0.05$.

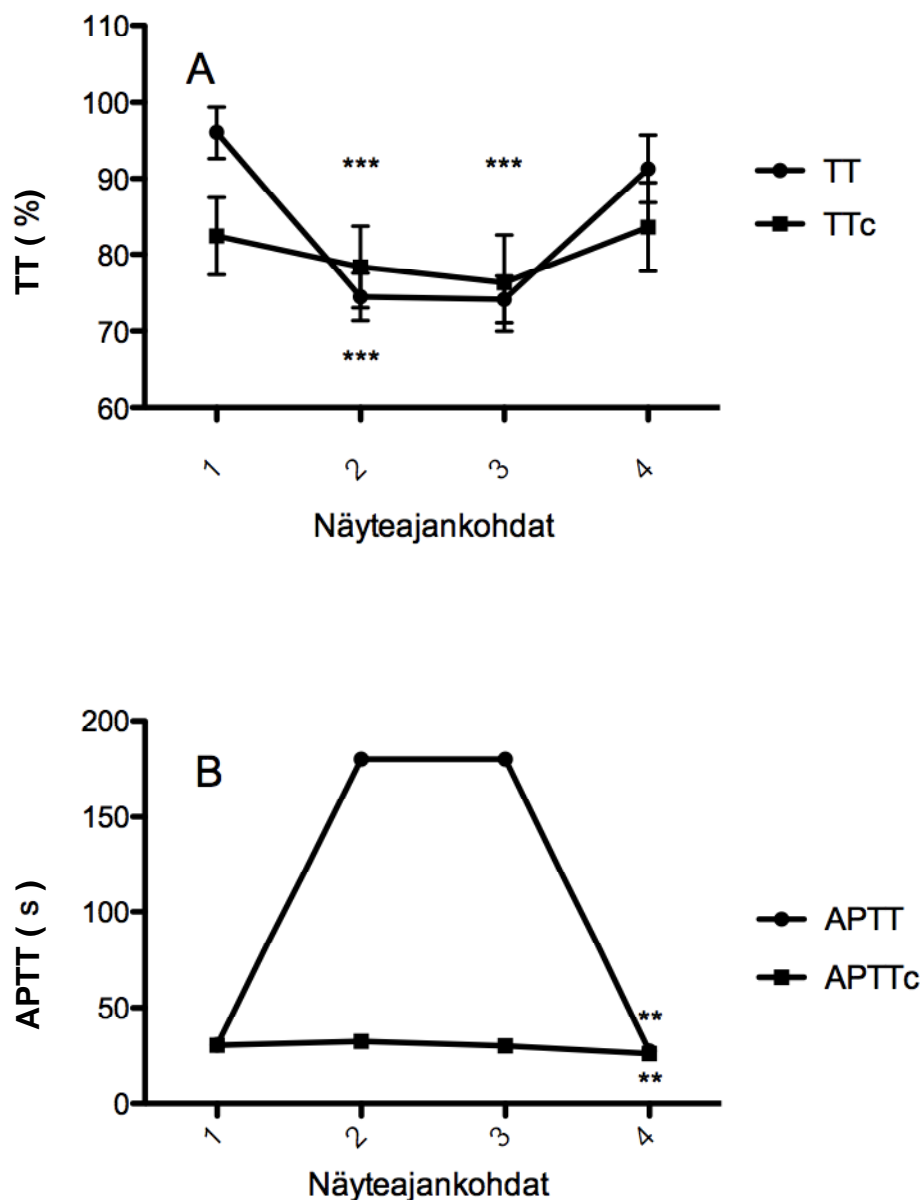
4.2 Hyytymisjärjestelmän tilanne toimenpiteen aikana

TT laski potilasryhmässä tilastollisesti merkitsevästi toimenpiteen aikana (Kuva 6a.). Samanlainen tilanne nähtiin myös kontrolliryhmässä. Toimenpiteen jälkeisenä päivänä TT oli palannut lähtötasoon molemmissa ryhmissä.

APTT:n osalta arvot olivat koholla potilasryhmässä heparinisaation vuoksi (Kuva 6b.). Kontrolliryhmässä APTT-tasot eivät muuttuneet toimenpiteen aikana. Ensimmäisenä toimenpiteen jälkeisenä päivänä APTT-arvot olivat merkitsevästi matalampia kuin lähtötilanteessa molemmilla ryhmillä.

| | Näyte II | | p | Näyte III | | p | Näyte IV | | p |
|------------------|---------------|----------------|------|----------------|------------------|-------|----------------|----------------|----|
| | Potilaat | Kontrollit | | Potilaat | Kontrollit | | Potilaat | Kontrollit | |
| TT (%) | 73 (53-106) | 71 (52-119) | ns | 68 (54-105) | 70 (51-121) | ns | 88 (53-120) | 74 (48-109) | ns |
| APTT (s) | 180 (180-180) | 31 (23-54) | na | 180 (180-180) | 31 (19-40) | na | 27 (23-33) | 27 (21-30) | ns |
| Anti-FXa (U/ml) | 1,4 (1,1-2,4) | 0,0 (0,0-0,1) | na | 1,3 (0,8-1,9) | 0,0 (0,0-0,2) | na | - | - | |
| D-dimeeri (mg/l) | 0,2 (0,1-0,3) | 0,1 (0,1-0,8) | ns | 0,2 (0,1-0,4) | 0,2 (0,1-0,9) | ns | 0,3 (0,1-0,9) | 0,5 (0,1-1,1) | ns |
| F1+2 (pmol/l) | 109 (64-306) | 138 (43-279) | ns | 97 (57-432) | 255 (159-1065) | <0,01 | 290 (52-495) | 127 (75-529) | ns |
| TAT (µg/l) | 2,4 (1,2-7,9) | 7,2 (0,0-35,8) | 0,01 | 3,0 (1,2-25,7) | 17,4 (1,2-242,5) | <0,01 | 3,2 (1,2-66,7) | 8,1 (1,1-63,0) | ns |
| PiCT (U/l) | 1,7 (1,3-2,4) | 0,0 (0,0-0,1) | na | 1,5 (0,9-2,2) | 0,0 (0,0-0,1) | na | - | - | |

Taulukko 4. Hyytymisjärjestelmän tekijät ja antikoagulaatiomittarit toimenpiteen aikana (näytteet II ja III) ja ensimmäisenä toimenpiteen jälkeisenä päivänä (näyte IV). Ns= non significant ($p>0.05$); na = non applicable.

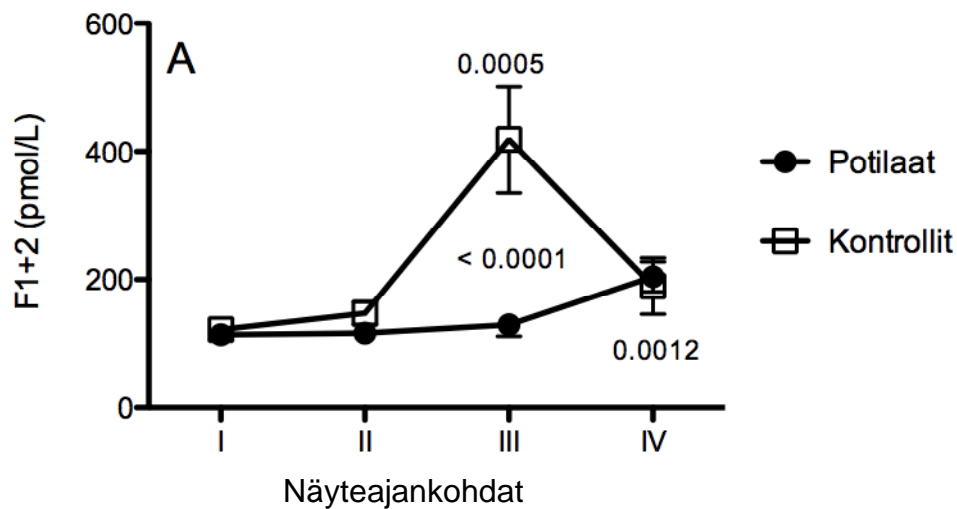


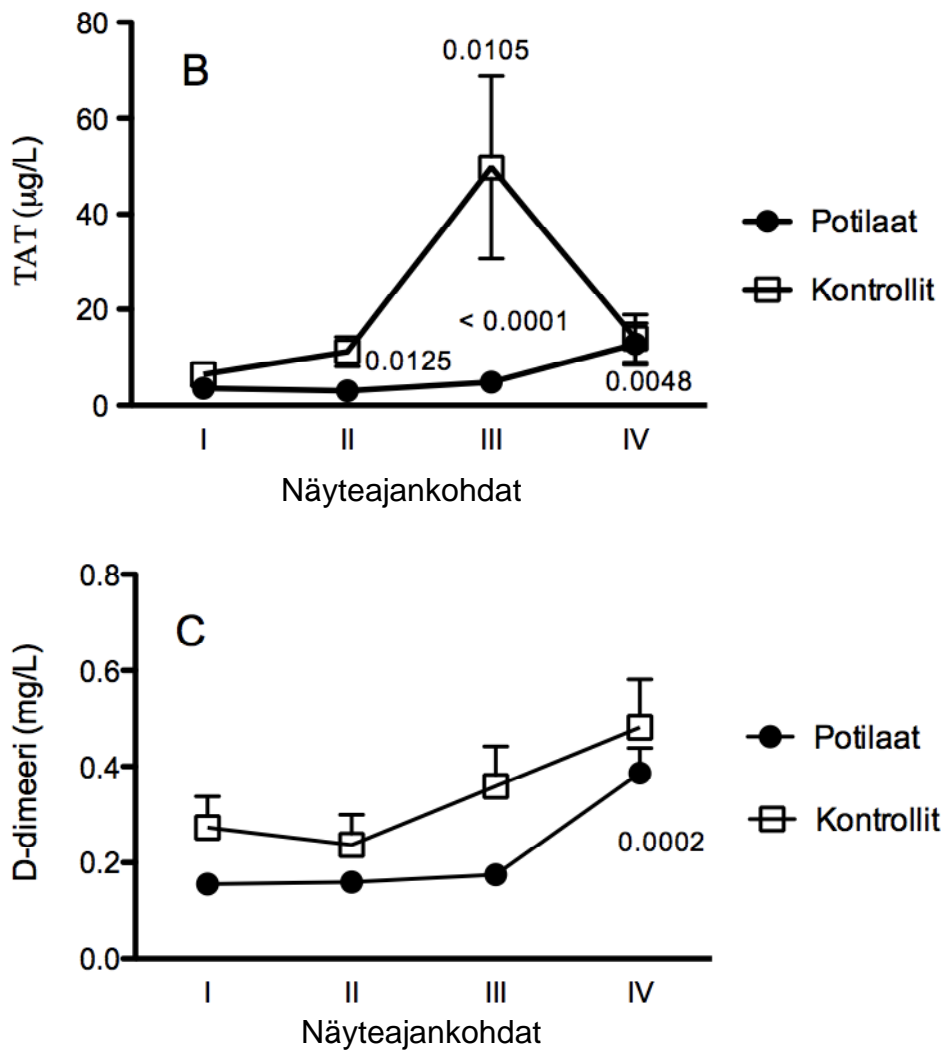
Kuva 6. TT ja APTT. TT ja APTT eri näyteajankohtina potilasryhmässä ja kontrolliryhmässä (c). A) TT oli potilasryhmässä tilastollisesti merkitsevästi matalampi katetrisaation aikana (ajankohdat 2 ja 3) kuin ennen katetrisaatiota ($p < 0.001$). Samoin kontrolliryhmässä TT oli merkitsevästi matalampi ajankohtana 2 eli 15 min operaation alkamisen jälkeen ($p < 0.01$). B) Potilasryhmässä APTT oli operaation ajan yli mittausrajan (> 180 s) heparinisaation vuoksi. Molemmissa ryhmissä APTT oli merkitsevästi matalampi ensimmäisenä toimenpiteen jälkeisenä päivänä verrattuna preoperatiiviseen näytteeseen.

4.3 Hyytymisjärjestelmän aktivaatio katetrisaation aikana

Potilasryhmässä F1+2, TAT ja D-dimeeri pysyivät matalina toimenpiteen aikana. Kontrolliryhmässä taas F1+2 ja TAT nousivat merkitsevästi verrattuna potilasryhmään (Kuva 7.). Ensimmäisen toimenpiteen jälkeisen päivän F1+2:n ja TAT-tasot olivat lähtöarvoja korkeammat molemmissa ryhmissä.

D-dimeeritasot eivät nousseet kontrolliryhmässäkään toimenpiteen aikana mutta arvot olivat molemmilla ryhmillä koholla ensimmäisenä toimenpiteen jälkeisenä päivänä lähtötilanteeseen verrattuna.

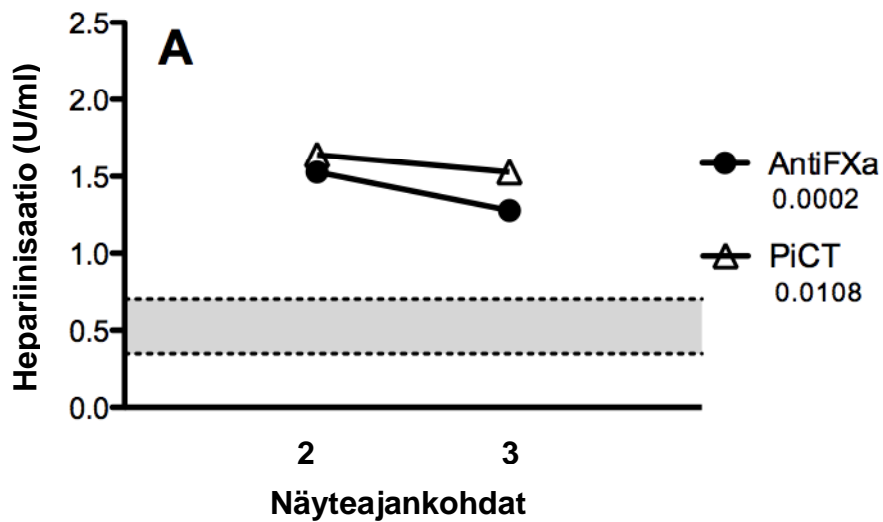


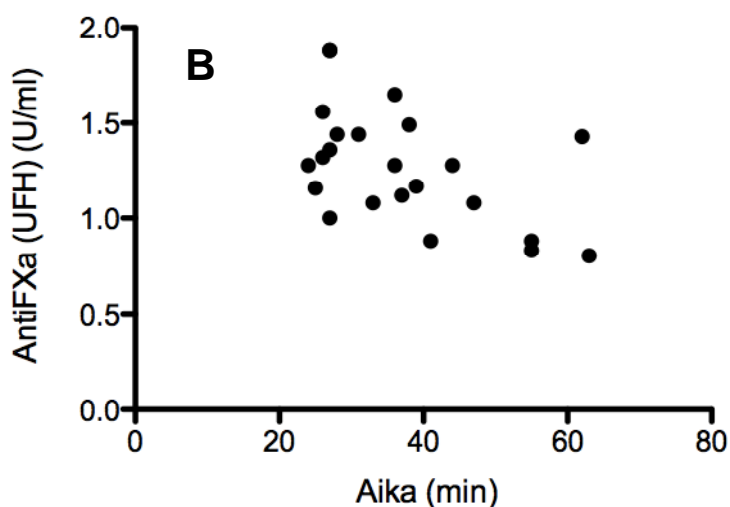


Kuva 7. Hyytymisjärjestelmän aktivaatio katetrisaatiotoimenpiteen yhteydessä. F1+2 ja TAT molemmat nousivat tilastollisesti merkitsevästi ($p < 0.0001$) kontrolliryhmässä verrattuna heparinisoituun potilasryhmään. D-dimeerin suhteen ryhmien välillä ei ollut eroja. F1+2 ja TAT nousivat tilastollisesti merkitsevästi myös verrattuna preoperatiivisiin tasoihin (F1+2 näyte I vs näyte III, $p = 0.0005$; TAT näyte I vs näyte II, $p = 0.0125$, TAT näyte I vs näyte III, $p = 0.0105$). F+2, TAT ja D-dimeeri olivat tilastollisesti merkitsevästi koholla potilasryhmässä ensimmäisenä toimenpiteen jälkeisenä päivänä verrattuna preoperatiiviseen näytteeseen (F1+2, $p = 0.0012$; TAT, $p = 0.0048$; D-dimeeri, $p = 0.0002$).

4.4 Antikoagulaatiovaikutuksen mittaus

Antikoagulaatioaktiivisuuden mittarit anti-FXa (UFH-kalibraatiolla) sekä PiCT korreloivat hyvin keskenään 15 minuuttia hepariinin annon jälkeen ($R=0.84$, $p<0.0001$); toimenpiteen lopussa korrelaatio oli matalampi ($R=0.41$, $p=0.07$). Hepariinin inhibiatiovaikutus laski potilasryhmässä toimenpiteen aikana ja toimenpiteen keston pidentyessä (Kuva 8.).





Kuva 8. Antikoagulaatiomittarit katetrisaation aikana. A) Molemmat antikoagulaatiomittarit näyttivät hepariinin aktivaation laskevan katetrisaation aikana. *P*-arvot on laskettu näyteajankohtien 2 ja 3 välillä. B) Anti-FXa:n pitoisuuden ja toimenpiteen keston korrelaatio ($R=-0.48$, $p=0.02$).

5 Pohdinta

Hepariinin käyttö vaikutti tutkimuspotilailla veren hyytymistä estävästi. Kontrollipotilailla taas todettiin veren hyytymisjärjestelmän aktivaatiota toimenpiteen aikana. Veren hyytymisjärjestelmän mittareista APTT käyttäytyi odotetusti nousten tutkimuspotilailla hepariinin vaikutuksesta mittaamattoman korkeaksi kun taas kontrollipotilailla, jotka eivät saaneet hepariinia, APTT pysyi tasaisena. TT taas laski erityisesti potilasryhmässä toimenpiteen aikana mahdollisesti hepariinin voimakkaaseen vaikutukseen liittyen.

F1+2 ja TAT, jotka eivät ole päivittäisessä rutiinilaboratiokäytössä, mittaavat erityisesti hyytymisjärjestelmän avainentsyymien, trombiinin, toimintaa. Kontrollipotilailla F1+2 ja TAT arvot nousivat toimenpiteen aikana, johtuen toimenpiteen aiheuttamasta trombiinin

muodostuksen kiihtymisestä. Heparinisoiduilla potilailla trombiinin muodostus taas pysyy matalana koko toimenpiteen ajan. Aiemmassa tutkimuksessa, missä mitattiin trombiinin muodostusta sydänkatetrisaation yhteydessä, fibrinopeptidi A:n tasot pysyivät matalina käyttäen samanlaista hepariiniannosta [18]. Toisaalta, avosydänleikkauksissa, joissa käytetään suurehko hepariiniannosta, trombiinin muodostus oli kiihtynyt aikuisilla sekä lapsilla [19,20]. Koska hepariinilla on ollut vaihteleva vaikutus trombiinin muodostukseen, oli kiinnostavaa selvittää trombiinin muodostusta meidän potilasryhmissä käyttäen suositeltua 100IU/kg hepariiniannosta. D-dimeerin muodostuksessa toimenpiteen aikana ryhmien välillä ei ollut merkitsevää eroa.

Molemmissa potilasryhmissä toimenpiteen jälkeisen päivän trombiininmuodostusta kuvaavat arvot ja D-dimeeri olivat toimenpiteen edeltävää tasoa korkeammat. Tämä voi selittyä endoteelivauriosta johtuvaa kudostekijän aktivaatio ja siitä seuraava hyytymiskaskaadin käynnistyminen.

Oikea hepariiniannostelu ja hepariinihoidon seuranta ovat aina olleet ongelmallisia lapsipotilailla, koska hoito-ohjeet on usein ekstrapoloitu aikuisilta, ja lapsilla hyytymisjärjestelmä on erilainen, ja myös hepariinin vaikutukset ovat erilaisia kuin aikuisilla. Viimeaikaisissa tutkimuksissa on todettu ikään liittyvää vaihtelua anti-FXa-arvoissa suhteessa APTT-arvoihin [15,16]. Näin ollen riippuen siitä kumpaa hepariinin toiminnan mittaria seurataan, saatetaan antaa liikaa tai liian vähän hepariinia. Huonoimmat korrelaatiot anti-FXa:n ja APTT:n välillä on todettu alle 2-vuotiailla lapsilla [16,21].

Tässä tutkimuksessa tutkimuspotilaille annetulla hepariiniannoksella hepariini vaikutus voitiin todeta vähintäänkin riittäväksi 100 IU/kg hepariiniannoksella, sillä molemmat hepariinin toimintaa mittaavat tutkimukset, APTT ja anti-FXa olivat selvästi korkeita viitaten voimakkaaseen hepariini vaikutukseen. Suositeltu anti-FXa-taso hepariinihoidon aikana on 0.35-0.7 U/ml. APTT-mittaus suositellaan kalibroitavaksi tätä tasoa vasten, jotta eri APTT-menetelmien vaihtelu vähenee [2,21]. Normaali terapeuttinen APTT-taso on 1,5-2.5 kertaa APTT:n lähtötaso. Tutkimuspotilailla APTT-lähtötaso oli keskimäärin

30 s ja heparinisaation jälkeen tasot olivat kaikilla tutkimuspotilailla vähintään 180 s joten heparinisaatio oli selvästi voimakasta, noin 6-kertaista lähtötasoon nähden. Lisäksi anti-FXa-taso oli katetrisaation kuluessa vähintään keskimäärin 1.3 U/ml. Näin ollen tämä taso oli myös korkea suhteessa suositeltuun terapeutiseen tasoon 0.35-0.7 U/ml.

Riittävä antikoagulaatiovaikutus on ehdottoman tärkeää koska tukoksen riski katetrisaatiotoimenpiteessä ilman antikoagulaatiota on suuri, jopa 40% [2]. Toisaalta, koska arvot olivat näinkin korkeat, voi olla mielenkiintoista pohtia riittäisikö pienempikin hepariinimäärä toivotun antikoagulaatiovaikutuksen saavuttamiseksi. Tässä potilasryhmässä ei voimakkaasta antikoagulaatiovaikutuksesta huolimatta todettu verenvuotokomplikaatioita.

Kontrolliryhmässä, jossa katetritoimenpiteet tehtiin laskimopuolen kautta, antikoagulaatiota ei lainkaan käytetty. Kontrolliryhmässä todettiin kuitenkin selvä trombiininmuodostuksen kiihtyminen. Näin ollen kyseiset potilaat ovat mahdollisesti myös alttiita tromboottisille komplikaatioille ja näin ollen antikoagulaatiohoidon aiheellisuutta kyseisessä ryhmässä voisi olla hyvä selvittää.

Hepariinin vaikutuksen hankalasta mittaamisesta johtuen halusimme tässä tutkimuksessa myös selvittää uuden antikoagulaation tasoa mittaavan PiCT-tutkimuksen toimintaa lapsipotilailla. PiCT mittaa hyytymisaikaa näytteessä, jossa FV on preaktivoitu ja näin ollen näytteen hyytyminen etenee suoraan protrombinaasikompleksin kautta. PiCT korreloi vahvasti anti-FXa:n kanssa katetrisaation alussa jolloin hepariini vaikutus oli voimakkaimmillaan. Aiemmin on raportoitu heikompi korrelaatio PiCT:in ja Anti-FXa:n välillä aikuispotilaissa avosydänleikkausten yhteydessä [22]. PiCT vaikuttaa mielenkiintoiselta menetelmältä ja voisi toimia myös lapsipotilailla.

Kaiken kaikkiaan tulokset olivat selkeitä ja loogisia, hyytymisjärjestelmän toiminnan aktivoituessa ilman hepariinia ja hyytymisaktivaatiomittareiden pysyessä matalana hepariinin avulla. Hepariini vaikutus oli voimakas ja selkeä, mahdollisesti odotettua voimakkaampikin hepariinin toimintaa mittaavien testien valossa. Tromboottisen

komplikaatiot saatiin pysymään poissa hepariinin avulla ja voimakkaassta heparinisaatiosta huolimatta vuotokomplikaatioitakaan ei esiintynyt. Uusi hepariinin toiminnan mittari PiCT vaikuttaa toimivalta lapsipotilailla ja toimivuus myös muissa kliinisissä tilanteissa olisi mielenkiintoista selvittää.

6 Johtopäätökset

Nykyään voidaan osa lapsista, joilla on synnynnäinen sydänvika, hoitaa katetrisaatiolla, ilman leikkausta. Antikoagulaatio on näissä toimenpiteissä tärkeää komplikaatioiden estämiseksi. Fraktoimaton hepariini on tehokas ja turvallinen antikoagulantti lapsilla, mutta oikeasta annostelusta on erilaisia näkemyksiä. Tässä tutkimuksessa antikoagulaatiovaikutus oli voimakas suositellulla hepariiniannostuksella. Sekä hepariinin vaikutusta mittaavat APTT että anti-FXa olivat heparinisaation aikana selvästi suositeltuja tasoja korkeammat. Vuotokomplikaatioita ei kuitenkaan esiintynyt ja tukoskomplikaatiotkin estyivät. Laskimopuolen kautta tehtävissä katetrisaatiotoimenpiteissä, jotka tehtiin ilman hepariinia, trombiininmuodostus toimenpiteen aikana oli voimakasta. On mahdollista että katetrisaation aikana pienemmälläkin hepariiniannoksella saataisiin aikaan riittävä antikoagulaatiovaikutus. Toisaalta, laskimopuolen kautta tehtävissä tutkimuksissakin olisi mahdollisesti aiheellista käyttää antikoagulaatiota.

Nykyään on kehitelty monia erilaisia mittareita, joilla voidaan seurata hepariinin vaikutusta veren hyytymisjärjestelmään. Yksi uusimmista on PiCT jossa hyytyminen etenee näytteessä jossa FV on preaktivoitu. Kyseinen tutkimus korreloi hyvin perinteisen anti-FXa-tutkimuksen kanssa erityisesti toimenpiteen alussa. Näin ollen Pict-tutkimus voi olla käyttökelpoinen lapsipotilailla myös muissa antikoagulaation monitorointia vaativissa tilanteissa.

Lähteet

1. Pihkala J & Kupari M. Katetritoimenpiteet synnynnäisissä sydänvioissa. *Duodecim* 2005;121:1207-15
2. Monagle P, Chalmers E, Chan A, DeVeber G, Kirkham F, Massicotte P, Michelson AD. Antithrombotic Therapy in Neonates and Children. American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *CHEST* 2008;133:887S-968S
3. Vitiello R, McCrindle BW, Nykanen D, Freedom RM, Benson LN. Complications associated with pediatric cardiac catheterization. *JACC* 1998;32:1433-40
4. Mehta R, Lee KJ, Chaturvedi R & Benson L. Complications of Pediatric Cardiac Catheterization. *Catheterization and Cardiovascular Interventions* 2008;72:278-285
5. Amplatzer Septal Occluder Patient Guide. http://international.amplatzer.com/portals/againtl/uploaded_docs/PatientGuides/MM00310_AMPLATZER_Septal_Occluder_Patient_Guide_English.pdf (03.05.2011)
6. Amplatzer Duct Occluder Patient Guide. http://international.amplatzer.com/portals/againtl/uploaded_docs/PatientGuides/MM00318_AMPLATZER_Duct_Occluder_Patient_Guide_English.pdf (03.05.2011)
7. MReye Flipper PDA Closure Detachable Coil
8. Tapani Ruutu, Allan Rajamäki, Riitta Lassila, Kimmo Porkka (toim.). 2007. *Veritaudit*, s. 32-44. Duodecim, Helsinki.
9. Dahlbäck B. Blood coagulation. *Lancet* 2000;355:1627-32
10. Långström S. 2007. 'Thrombin regulation in newborn infants'. Väitöskirja. University of Helsinki.
11. Andrew M, Vegh P, Johnston M, Bowker J, Ofosu F & Mitchell L. Maturation of the hemostatic system during childhood. *Blood* 1992;80:1998-2005
12. Monagle P, Barnes C, Ignjatovic V, Furmedge J, Newall F, Chan A, De Rosa L, Hamilton S, Ragg P, Robinson S, Auld A, Crock C, Roy N & Rowlands S.

- Developmental hemostasis. Impact for clinical hemostasis laboratories. *Thrombosis and Haemostasis* 2006;95:362-72
13. Monagle P, Ignatovic V & Savoia H. Hemostasis in neonates and children: Pitfalls and dilemmas. *Blood Reviews* 2010;24:151-162
 14. Andrew M, David M, Adams M, Ali K, Anderson R, Barnard D, Bernstein M, Brisson L, Cairney B, DeSai D, Grant R, Israels S, Jardine L, Luke B, Massicotte P & Silva M. Venous thromboembolic complications (VTE) in children: first analyses of the canadian registry of VTE. *Blood* 1994;83:1251-7
 15. Ignjatovic V, Summerhayes R, Than J, Gan A, Monagle P. Therapeutic range for unfractionated heparin therapy: age-related differences in response in children. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006;4:2280-3
 16. Ignjatovic V, Furmedge J, Newall F, Chan A, Berry L, Fong C, Cheng K, Monagle P. Age-related differences in heparin response. *Thrombosis Research* 2006;741-745
 17. Calatzis A, Peetz D, Haas S, Spannagl M, Rudin K, Wilmer M. PiCT. *American Journal of Pathology* 2008;130:446-454
 18. Grady RM, Eisenberg PR, Bridges ND. Rational approach to use of heparin during cardiac catheterization in children. *JACC* 1995;25:725-9.
 19. Raivio P, Kuitunen A, Suojaranta-Ylinen R, Lassila R, Petäjä J. Thrombin generation during reperfusion after coronary artery bypass surgery associates with postoperative myocardial damage. *J Thromb Haemost.* 2006 Jul;4(7):1523-9.
 20. Långström S, Rautiainen P, Mildh L, Peltola K, Wartiovaara-Kautto U, Heikinheimo M, Petäjä J. Thrombin regulation in neonates undergoing cardiopulmonary bypass. *Thromb Haemost.* 2008 Apr;99(4):791-2.
 21. Chan AK, Black L, Ing C, Brandão LR & Williams S. Utility of aPTT in monitoring unfractionated heparin in children. *Thrombosis Research* 2008;122:135 –136

22. Raivio P, Kuitunen A, Petäjä J, Ilveskero S, Lassila R. Monitoring high-dose heparinization during cardiopulmonary bypass – A comparison between prothrombinase-induced clotting time (PiCT) and two chromogenic anti-factor Xa activity assays. *Thromb Haemost* 2008;99:427-434.