

## Trombocytopenia indukowana heparyną (HIT) jako powikłanie operacyjnego leczenia choroby niedokrwiennej serca – opis przypadku



Heparin induced thrombocytopenia as a complication of coronary artery by-pass surgery – case report

Ewa Kucewicz-Czech<sup>1</sup>, Jacek Kaczmarek<sup>2</sup>, Ewa Podwińska<sup>3</sup>, Jacek Wojarski<sup>4</sup>, Waldemar Pakosiewicz<sup>1</sup>, Roman Przybylski<sup>4</sup>, Piotr Knapik<sup>1</sup>, Marian Zembala<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Oddział Kliniczny Kardioanestezji i Intensywnej Opieki Pooperacyjnej ŚAM, Śląskie Centrum Chorób Serca, Zabrze

<sup>2</sup>Pracownia Krzepnięcia Krwi, Śląskie Centrum Chorób Serca, Zabrze

<sup>3</sup>Oddział Kliniczny Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Wydział Lekarski ŚAM, Zabrze

<sup>4</sup>Katedra i Oddział Kliniczny Kardiochirurgii i Transplantologii ŚAM, Śląskie Centrum Chorób Serca, Zabrze

Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska 2006; 3 (1): 64–67

### Streszczenie

67-letnia chora z kardiomiopatią pozawałową (EF=32%) została przyjęta do Kliniki Kardiochirurgii w celu operacyjnego leczenia miażdżycy tętnic wieńcowych. Operację wykonano techniką OPCAB. We wczesnym okresie pooperacyjnym rozpoznano zespół małego rzutu serca z koniecznością mechanicznego wspomaganie lewej komory serca balonem wewnątrzaoortalnym. Do terapii włączono ciągły wlew heparyny. W kolejnych dobach obserwowano poprawę funkcji serca z możliwością zakończenia kontrapulsacji wewnątrzaoortalnej, a wlew heparyny zastąpiono frakcjonowanymi dawkami heparyny drobnocząsteczkowej. W 10. dobie pooperacyjnej nastąpił nagły, gwałtowny spadek liczby płytek krwi. W obrazie klinicznym nie obserwowano objawów zakrzepicy. Odstawiono heparynę drobnocząsteczkową i włączono acenokumarol w małej dawce, utrzymując INR w granicach 2,5–3. W badaniach dodatkowych 2-krotnie potwierdzono obecność przeciwciał przeciwplatekcyjnych indukowanych heparyną. Po kilkunastu dniach terapii uzyskano prawidłową liczbę trombocytów we krwi.

Pacjenci poddawani operacjom kardiochirurgicznym znajdują się w grupie zagrożonej wystąpieniem HIT. Obecność przeciwciał przeciwplatekcyjnych indukowanych heparyną stwierdza się u 25–50% chorych w okresie pooperacyjnym. Częściej HIT rozwija się u pacjentów, u których stosuje się po operacji profilaktycznie heparynę.

**Słowa kluczowe:** trombocytopenia, heparyna, pomostowanie tętnic wieńcowych, leczenie przeciwkrzepliwe.

### Summary

A 67-year-old woman with ischemic cardiomyopathy (EF=32%) was scheduled for elective coronary artery by-pass grafting surgery. The operation was performed on the beating heart (OPCAB). In the early postoperative period the syndrome of low cardiac output was diagnosed and intraaortic pump was inserted. The continuous infusion of unfractionated heparin was started. In a few postoperative days improvement in cardiac function was observed and intraaortic counterpulsation was terminated. Simultaneously the infusion of heparin was stopped and low molecular weight heparin was applied. On the 10th postoperative day an unexpected fall in platelet count was observed. Clinical signs of thrombosis were not present. The low molecular weight heparin treatment was discontinued and warfarin introduced. INR was kept below 3. The results of laboratory tests for heparin – induced thrombocytopenia antibodies were positive. After several days of treatment the platelet count returned within the normal range.

Patients undergoing cardiac surgery are at risk of HIT. The reported incidence of postoperative antibody seroconversion in cardiac surgery patients ranges between 25-50%. The risk of developing clinical HIT is influenced by the heparin treatment.

**Key words:** thrombocytopenia, heparin, coronary artery by-pass, antithrombotic therapy.

**Adres do korespondencji:** dr hab. med. Ewa Kucewicz-Czech, Oddział Kliniczny Kardioanestezji i Intensywnej Terapii Pooperacyjnej ŚAM, Śląskie Centrum Chorób Serca, ul. Szpitalna 2, 41-800 Zabrze, tel./faks +48 32 273 27 31, e-mail: kardanest@slam.katowice.pl

## Wstęp

Heparyna we współczesnej medycynie jest najczęściej stosowanym parenteralnie antykoagulantem. W Stanach Zjednoczonych 12 mln pacjentów rocznie otrzymuje ten lek. Terapia heparyną jest w przeważającej liczbie przypadków bezpieczna i skuteczna. Najgroźniejszym powikłaniem jej stosowania jest trombocytopenia [1]. Indukowana heparyną trombocytopenia (HIT – *heparin-induced thrombocytopenia*) w zależności od ciężkości przebiegu dzieli się na 2 typy. Typ I (HIT I) ma charakter asymptomatyczny, przemijający mimo podaży heparyny, a liczba płytek krwi nie zmniejsza się poniżej  $100 \times 10^9/l$ . W tym wypadku przyczyną trombocytopenii nie jest reakcja immunologiczna. Typ II (HIT II) charakteryzuje przewlekły przebieg, często skojarzony z zakrzepicą, a liczba płytek krwi spada poniżej granicy  $100 \times 10^9/l$  [2]. HIT jest najczęściej konsekwencją stosowania heparyny niefrakcjonowanej, ale preparaty drobnocząsteczkowe mogą także być przyczyną trombocytopenii, z 10-krotnie mniejszą częstością.

Trombocytopenia wywołana heparyną (HIT II) jest powikłaniem generowanym przez przeciwciała klasy IgG. Przeciwciała formowane pod wpływem heparyny łączą się z czynnikiem płytkowym 4 (PF4) umieszczonym w ziarnistościach  $\alpha$  płytek krwi. W ten sposób na powierzchni trombocytu lokalizuje się wielocząsteczkowy kompleks składający się z przeciwciała, heparyny i czynnika PF4. Aktywacja płytek jest konsekwencją interakcji pomiędzy receptorami Fc przeciwciała przeciwheparynowego i błonowego receptora płytkowego Fc $\gamma$ IIa. Oprócz aktywacji płytek krwi przeciwciała generują nadkrzepliwość w mechanizmie stymulacji wytwarzania trombiny. Ich prozakrzepowe działanie ma charakter wielopłaszczyznowy i przejawia się także destrukcją komórek śródbłonna [3]. Paradoksalnie, pacjenci z rozpoznaniem zespołem HIT, pomimo obniżonej liczby płytek są narażeni na ryzyko zakrzepicy.

Podstawowym objawem HIT jest obniżona liczba płytek krwi w odpowiedzi na leczenie heparyną, pojawiająca się 5 do 14 dni od wdrożenia terapii (dzień 0.). Ryzyko zakrzepicy waha się w granicach 30–50% u chorych z umiarkowaną trombocytopenią i przekracza 90% u pacjentów z dramatycznie niskim poziomem płytek krwi. Zakrzepica żylna występuje częściej niż tętnicza. Najczęściej mamy do czynienia z zakrzepicą żył głębokich i zatorem tętnicy płucnej. Stosunkowo częstym powikłaniem jest także zakrzepica tętnic kończyn dolnych. Konsekwencjami HIT mogą być również udar OUN, zawał serca, zakrzepica naczyń trzewnych, a także krwotoczna martwica rdzenia nadnerczy [3].

Rozpoznanie trombocytopenii wywołanej heparyną ustala się na podstawie obrazu klinicznego i badań laboratoryjnych. Test laboratoryjny o charakterze czynnościowym ocenia uwalnianie serotoniny z wzorcowych płytek pod wpływem badanej surowicy (SRA – *serotonin release assay*). Jest to badanie o dużej czułości, ale niestety, rzadko dostępne. Najpopularniejszy jest test immunoenzymatyczny, na podstawie którego stwierdza się obecność przeciwciał, bez możliwości oceny ich wpływu na funkcję płytek. Negatywny wynik testu przemawia za wykluczeniem HIT, dodatni wynik nie jest jednoznaczny z rozpoznaniem [1].

Badanie charakteryzuje niska swoistość, wynikająca z możliwości wykrywania przeciwciał, które nie powodują małopłytkowości [4].

## Opis przypadku

67-letnia chora z kardiomiopatią pozawałową (frakcja wyrzutowa lewej komory 32%) została przyjęta na Oddział Kliniczny Kardiochirurgii i Transplantologii w celu wykonania planowej rewaskularyzacji mięśnia sercowego. Operację wykonano techniką OPCAB (*off pump coronary artery by-pass*). Zabieg powikłany krwawieniem z koniecznością retorakotomii oraz zespołem małego rzutu serca, wymagającym mechanicznego wspomaganie lewej komory serca balonem wewnątrzaoortalnym. We wczesnym okresie pooperacyjnym obserwowano obniżoną liczbę płytek krwi ( $<30 \times 10^9/l$ ). Dwukrotnie przetoczono masę płytkową. Po uzyskaniu stabilizacji hemodynamicznej i usunięciu balonu wewnątrzaoortalnego (5. doba pooperacyjna) nastąpił stały wzrost liczby trombocytów (w ciągu 4 dni kolejno: 53, 94,  $100 \times 10^9/l$ ). W tym czasie zakończono wlew ciągły heparyny niefrakcjonowanej, a do leczenia włączono heparynę drobnocząsteczkową. W 10. dobie pooperacyjnej wystąpił nagły, gwałtowny spadek liczby płytek do  $23 \times 10^9/l$ , a w kolejnych dobach  $<20 \times 10^9/l$ . W obrazie klinicznym nie obserwowano objawów zakrzepicy. Odstawiono heparynę drobnocząsteczkową i nie dysponując pochodnymi hirudyny do leczenia włączono acenokumarol w małej dawce, utrzymując INR w granicach 2,5–3. W badaniach dodatkowych (test GTI–PF4–ELISA ASSAY) 2-krotnie potwierdzono obecność przeciwciał przeciwplatekcyjnych indukowanych heparyną. W tym czasie zanotowano także wysokie stężenie D-dimerów (7,97  $\mu g/ml$  FEU). Dla porównania, w 3. dobie pooperacyjnej, po intensywnych przetoczeniach krwi i jej preparatów D-dimery utrzymywały się na poziomie 3,64  $\mu g/ml$  FEU. Po 10 dniach leczenia zanotowano powolny wzrost liczby trombocytów (kolejno: 33, 36, 55,  $71 \times 10^9/l$ ), w 20. dobie od postawienia rozpoznania HIT II liczba płytek krwi przekroczyła  $100 \times 10^9/l$ . Okres pooperacyjny był dodatkowo powikłany zapaleniem płuc, o etiologii atypowej (*Pneumocystis carinii*). W 37. dobie po operacji chorą przekazano w stanie ogólnym zadowolającym do kliniki kardiologii do dalszego leczenia i rehabilitacji.

## Omówienie

Typowa postać HIT charakteryzuje się wystąpieniem pierwszych objawów 5 do 14 dni od podania heparyny. Zdarza się jednak postać ostra, z gorączką, dreszczami, hipotensją, tachykardią, zaburzeniami oddechu, bólem w klatce piersiowej czy nawet zatrzymaniem krążenia. Objawy manifestują się w ciągu 30 min od dożylnego podania heparyny. Taki obraz kliniczny jest wynikiem ostrej aktywacji płytek krążącymi we krwi przeciwciałami, zsyntezowanymi w odpowiedzi na wcześniejsze podanie heparyny. Ryzyko ostrej reakcji jest ograniczone do 100 dni (najczęściej 3 tyg.) po wcześniejszym podaniu heparyny. Jest to czas utrzymywania się przeciwciał przeciwplatekcyjnych we krwi. Powtórnie podana heparyna nie zawsze uaktywnia krążące prze-

ciwciata [5]. Inna postać HIT ma charakter reakcji opóźnionej i objawia się kilkanaście dni lub nawet kilka tygodni po ekspozycji na heparynę. W tej postaci HIT charakterystyczne jest wysokie miano przeciwciał, które aktywują płytki nawet wobec braku heparyny [6].

W praktyce klinicznej dostępne są 2 rodzaje heparyny. Źródłem jednej z nich są płuca wołowe, drugiej śluzówka jelit wieprzowych. Wstępne badania sugerują większą częstość występowania HIT po zastosowaniu heparyny izolowanej z płuc wołowych [7].

Pacjenci poddawani operacjom kardiologicznym znajdują się w grupie zagrożonej wystąpieniem HIT. Obecność przeciwciał przeciwplatekcyjnych indukowanych heparyną stwierdza się u 25–50% chorych w okresie pooperacyjnym. Częściej HIT rozwija się u pacjentów, którzy otrzymali preparat wyekstrahowany z płuc wołowych i w grupie, w której stosuje się profilaktyczne leczenie heparyną po operacji. Częstość występowania HIT u pacjentów po zabiegach kardiologicznych waha się w granicach 1–3%. U chorych z objawami klinicznymi ryzyko zakrzepicy wynosi 38–81%, a ryzyko śmierci 28% [8]. Częstość identyfikacji przeciwciał przeciwplatekcyjnych w okresie pooperacyjnym jest identyczna u chorych po rewaskularyzacji mięśnia sercowego bez użycia krążenia pozaustrojowego (OPCAB – *off pump coronary artery by-pass*) i u pacjentów, którzy wymagali zastosowania perfuzji pozaustrojowej (CPB – *cardiopulmonary by-pass*) [7].

Warkentin i wsp. rozpoznają pooperacyjną trombocytopenię indukowaną heparyną na podstawie liczby płytek krwi i wyników badań laboratoryjnych. Ponad 50% spadek liczby trombocytów w stosunku do najwyższej wartości po operacji (pooperacyjny szczyt) od 5. do 14. doby i pozytywny wynik przynajmniej jednego badania laboratoryjnego potwierdzającego obecność przeciwciał przeciwplatekcyjnych, dowodzą istnienia HIT. Warunkiem rozpoznania jest wykluczenie współistnienia innych przyczyn trombocytopenii (sepsa) lub obserwacja kliniczna dotycząca wzrastającej liczby płytek mimo stosowania heparyny [4]. Blakeman na podstawie retrospektywnej analizy ponad 4000 pacjentów operowanych z użyciem krążenia pozaustrojowego wylicza parametry, które powinny być brane pod uwagę przy diagnozowaniu HIT. Należą do nich: objawy kliniczne zakrzepicy, 50% zmniejszenie liczby płytek krwi w stosunku do wartości wyjściowej, ich bezwzględna liczba poniżej  $100 \times 10^9/l$  i obecność przeciwciał w trzech testach laboratoryjnych wykonywanych w ciągu 3 kolejnych dni [9]. W różnicowaniu należy pamiętać o hemodilucji i zużyciu płytek krwi (aktywacja na powierzchniach układu do krążenia pozaustrojowego) charakterystycznych dla operacji kardiologicznych. W 2., 3. dobie pooperacyjnej liczba płytek stanowi 40–60% wartości wyjściowej. W typowym przebiegu pooperacyjnym w kolejnych dobach obserwuje się trombocytopenię, a po miesiącu powrót do normy sprzed zabiegu [10].

Pacjenci zakwalifikowani do operacji kardiologicznej z rozpoznaniem ostrej postaci HIT i chorzy po przeby-

tym HIT z obecnością krążących we krwi przeciwciał nie powinni być w krótkim czasie leczeni heparyną. Jeżeli nie wymagają oni operacji w trybie pilnym, należy odroczyć zabieg do czasu uzyskania ujemnych testów laboratoryjnych. Zaleca się także unikanie stosowania heparyny (niefrakcjonowanej i frakcjonowanej) w okresie przed- i pooperacyjnym. Jeżeli leczenie przeciwkrzepliwne jest konieczne, należy wykorzystać terapię alternatywną [8].

Chorzy z rozpoznaniem HIT, którzy muszą być poddani leczeniu kardiologicznemu w trybie pilnym, wymagają nietypowego postępowania w zakresie antykoagulacji. Na uwagę zasługuje fakt wyeliminowania heparyny. Dotyczy to także płukania cewników dożylnych i dotętnicznych oraz używania heparynizowanych kaniuli.

Do krążenia pozaustrojowego można użyć heparyny w połączeniu z silnym inhibitorem platekcyjnym, jakim jest prostacyklina (preparaty *Iloprost*, *Flolan*). Zaproponowana kombinacja leków jest skuteczna i nie powoduje nadmiernej utraty krwi w okresie pooperacyjnym (akceptowalny drenaż). Należy jednak pamiętać, że prostacyklina jest przyczyną niskiego ciśnienia krwi. W ten sposób hipotonia indukowana w czasie krążenia pozaustrojowego wymaga podawania leków obkurczających naczynia (*levonor*) [2]. W literaturze można znaleźć także doniesienia na temat zastosowania wraz z heparyną innych leków przeciwplatekcyjnych (tirofiban – *Aggrastat* i abciximab – *ReoPro*) [6]. Alternatywnym postępowaniem jest użycie preparatu danaparoid sodium, heparynoidu o cechach inhibitora trombiny. Niestety, charakterystyka tego leku stanowi o jego ograniczonej przydatności jako antykoagulantu, stosowanego w czasie krążenia pozaustrojowego. Nie dysponujemy antidotum w stosunku do danaparoidu i jego czas wiązania z czynnikiem Xa wynosi średnio 25 godz. Z tą cechą preparatu wiążą się konsekwencje jego użycia – wzmożone krwawienie pooperacyjne i masywne przetoczenia. Poza tym lek daje krzyżową reakcję z heparyną, co dotyczy ok. 10% pacjentów [2]. Alternatywą jest także zastosowanie rekombinowanej hirudyny (preparaty lepirudin, desirudin). Hirudyna jest antykoagulantem naturalnie wydzielanym przez gruczoły ślinowe pijawki lekarskiej [6]. Blokują one całkowicie aktywność trombiny. Inaktywuje dwa miejsca receptorowe trombiny (łącznie fibrynę i katalizator). Doświadczenia z rekombinowaną hirudyną są ograniczone. Problem stanowi brak antidotum, czas półtrwania 2 godz. (wydłużony u chorych z niewydolnością nerek) i brak możliwości monitorowania poziomu antykoagulacji [2]. Eliminację leków nieposiadających swojego antidotum umożliwia zastosowanie hemofiltracji bezpośrednio po zakończeniu krążenia pozaustrojowego. Dodatkowo po zabiegu całą krew zgromadzoną w zbiorniku żylnym należy przed przetoczeniem przepłukać za pomocą *cell saver* [6]. Biwalirudina jest kolejnym lekiem z omawianej grupy, umożliwiającym alternatywną antykoagulację. Jest to preparat syntetyczny, oparty na modelu hirudyny. Jego czas półtrwania wynosi 25 min, metabolizm następuje na drodze rozpadu enzymatycznego. Hemofiltracja usuwa 70% leku [8]. Biwalirudina stanowi obiecującą opcję antykoagulacji

w HIT i jest obecnie testowana w wieloośrodkowym badaniu. Kolejnym syntetycznym preparatem o cechach inhibitora trombiny jest argatroban. Wyniki badań prowadzonych z wykorzystaniem tego preparatu wskazują na przydatność tromboelastografii w monitorowaniu poziomu antykoagulacji [11]. Analiza stosowania argatrobenu w operacjach typu OPCAB sugeruje utrzymywanie aktywowanego czasu krzepnięcia (ACT) w czasie operacji na poziomie przyjętym dla zabiegów wykonywanych z użyciem krążenia pozaustrojowego. Niższa wartość ACT może powodować tworzenie skrzepin [12].

U pacjentów z potwierdzonym HIT lub u chorych z poważnym podejrzeniem zespołu w okresie pooperacyjnym należy stosować alternatywne leki przeciwkrzepliwe, niezależnie od tego czy występują objawy zakrzepicy, czy nie. W omawianej grupie chorych zaleca się także wykonywanie badań ultrasonograficznych układu żylnego kończyn w celu rozpoznania zakrzepicy żył głębokich [5]. Wybór leku determinuje stan pacjenta. Argatroban jest wydalany z żółcią, dlatego jest wskazany u pacjentów z niewydolnością nerek. Odwrotnie lepirudin, który wydalany jest z moczem. Biwalirudina w 80% metabolizowana jest w osoczu, nie ma więc ograniczeń w stosowaniu jej u chorych z ograniczeniem funkcji nerek i wątroby. Pochodne kumaryny są przeciwwskazane w tej grupie chorych, przynajmniej do czasu normalizacji liczby płytek. Ich podawanie może spowodować martwicę skóry w następstwie mikrozatorów. Są one wynikiem uszczuplenia zasobów zależnych od witaminy K naturalnych antykoagulantów, białka C i S. U 5–10% pacjentów z zakrzepicą żył głębokich, towarzyszącą HIT, leczonych pochodnymi kumaryny, u których INR wzrósł powyżej 3,5 może dojść do martwicy kończyn. Powodem jest nadkrzepliwość związana z niedoborem białka C [6]. U pacjentów, którzy nie krwawią silnie, nie zaleca się także przetaczania koncentratu krwinek płytkowych [5].

W Stanach Zjednoczonych w leczeniu HIT II stosuje się 2 leki: leparudin i argatroban [13], zatwierdzone przez FDA (*Food and Drug Administration*). Analiza dotycząca skuteczności i bezpieczeństwa ich użycia pochodzi z badań prospektywnych, a punkt odniesienia stanowią retrospektywne dane z okresu przed wprowadzeniem inhibitorów

trombiny do praktyki klinicznej. Wyniki porównania metody tradycyjnej i alternatywnej wskazują na skuteczność inhibitorów trombiny w zapobieganiu epizodom zakrzepicy, ale ich zastosowanie zwiększa ryzyko krwawienia. Ostateczny bilans przemawia na korzyść inhibitorów trombiny. Takie są też zalecenia *American College of Chest Physicians* [5, 14]. W Polsce klinicyści mają do dyspozycji biwalirudin (nazwa handlowa *Angioks*). Preparat można wykorzystać do przeprowadzenia operacji w krążeniu pozaustrojowym, jak też do terapii we wczesnym okresie pooperacyjnym u chorych z rozpoznaniem zespołem HIT.

## Piśmiennictwo

- Francis JL. Detection and significance of heparin-platelet factor 4 antibodies. *Semin Hematol* 2005; 42: S9-S14.
- Aouifi A, Blanc P, Piriou V, Bastien OH, Ffrench P, Hanss M, Lehot JJ. Cardiac surgery with cardiopulmonary bypass in patients with type II heparin-induced thrombocytopenia. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 678-683.
- Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia and the anesthesiologist. *Can J Anaesth* 2002; 49: S36-S49.
- Warkentin TE, Sheppard JA, Horsewood P, Simpson PJ, Moore JC, Kelton JG. Impact of the patient population on the risk for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2000; 96: 1703-1708.
- Warkentin TE, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: recognition, treatment, and prevention: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004; 126: 311S-337S.
- Warkentin TE, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia and cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2003; 76: 2121-2131.
- Francis JL, Palmer GJ 3rd, Moroosse R, Drexler A. Comparison of bovine and porcine heparin in heparin antibody formation after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2003; 75: 17-22.
- Spiess D.B. Update on heparin – induced thrombocytopenia and cardiovascular interventions. *Semin Hematol* 2005; 42: S22-S27.
- Blakeman B. Management of heparin – induced thrombocytopenia: a cardiovascular surgeons perspective. *Semin Hematol* 1999; 36 (suppl 1): 37-41.
- Pouplard C, May MA, Regina S, Marchand M, Fuscuardi 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: 837-841.
- Kieta DR, McCammon AT, Holman WL, Nielsen VG. Hemostatic analysis of a patient undergoing off-pump coronary artery bypass surgery with argatroban anticoagulation. *Anesth Analg* 2003; 96: 956-958.
- Cannon MA, Butterworth J, Riley RD, Hyland JM. Failure of argatroban anticoagulation during off-pump coronary artery by-pass surgery. *Ann Thorac Surg* 2004; 77: 711-713.
- Di Nisio M, Middeldorp S, Buller HR. Direct thrombin inhibitors. *N Engl J Med* 2005; 353: 1028-1041.
- Guyatt G, Schunemann HJ, Cook D, Jaeschke R, Pauker S. Applying the grades of recommendation for antithrombotic and thrombolytic therapy: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004; 126: 179S-187S.