

Klinik Araştırma



Farklı Molekül Ağırlığındaki Hidroksietil Nişasta ve %0,9 İzotonik NaCl Solüsyonlarının Trombosit Agregasyon Fonksiyonları Üzerine İn Vitro Etkisi

Ant UZAY¹, Özgür OKUTURLAR², Mahmut BAYIK³, Yıldız OKUTURLAR^{4,a}, Cafer ADIGÜZEL⁵, Ahmet Muzaffer DEMİR⁶

¹Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Özel Maslak Cerrahi Tıp Merkezi, İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye

³Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Genel Dahiliye Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁵Medicana Ataşehir Hastanesi, Hematoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁶Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı, Edirne, Türkiye

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı agregometre yöntemi yardımı ile, farklı molekül ağırlığında Hidroksietil Nişasta (HES) ve %0,9 İzotonik NaCl solüsyonlarının trombosit agregasyon fonksiyonları üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Sağlıklı 20 bireyden alınan tam kan örneği ile, HES 130, HES 200, HES 450 ve %0,9 İzotonik solüsyonları ile dilüe edilerek agregometre yöntemi kullanılarak trombosit agregasyon fonksiyonları incelendi.

Bulgular: Çalışmamızda, agregasyon eğim değerlerinin hiçbir dilüsyon molekülünden etkilenmediği saptanmıştır. Bunun yanı sıra, yüksek molekül ağırlığındaki HES solüsyonunun maksimal agregasyon değerini yükselterek hiperagregasyona neden olduğu bulunmuştur.

10 M ADP (5-15 M) ile yapılan çalışmada maksimal agregasyon değerleri arasında hiçbir dilüsyon grubu için, kontrole göre anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,225). Ristocetin ile indüklenen agregasyonda HES 450 dilüsyonunda diğerlerine göre istatistiksel anlamlı daha yüksek maksimal agregasyon değeri saptandı (p=0,0063). Kolajen ile yapılan agregasyon çalışması sonucunda elde edilen maksimal agregasyon değerleri açısından HES 450 gruplarının sonuçları kontrol grubuna göre farklı olarak bulunmuştur (p=0,0137).

Sonuç: Yüksek molekül ağırlığındaki HES'in invitro hiperagregasyon etkisi çalışmalarda gösterilmemiştir. Ancak önceki çalışmalara dayanarak, bu etkinin HES'in trombosit yüzeyini kaplaması sonucunda, vWF ve fibrinojeni bağlayarak, trombosit agregasyonunu artırdığı kanısındayız.

Anahtar Sözcükler: Hidroksietil Nişasta, Trombosit Agregasyonu, von Willebrand Faktörü.

ABSTRACT

In Vitro Effects of Hydroxyethyl Starch and 0.9% Isotonic NaCl Solutions with Different Molecular Weights on Platelet Aggregation

Objective: This study aimed to investigate the in vitro effects of hydroxyethyl starch (HES) solutions of different molecular weights and 0.9% isotonic NaCl on platelet aggregation functions using aggregometry.

Material and Method: Whole blood samples were collected from 20 healthy individuals. Platelet aggregation was assessed via aggregometry following dilution with HES 130, HES 200, HES 450, and 0.9% isotonic NaCl solutions.

Results: The aggregation slope values were not affected by any of the dilution solutions. However, the high-molecular-weight HES solution (HES 450) induced hyperaggregation, as evidenced by an increase in the maximal aggregation value. In ADP-induced aggregation (10 µM), no significant difference was observed in maximal aggregation values between the dilution groups and the control (p=0.225). In ristocetin-induced aggregation, the HES 450 group exhibited a statistically significantly higher maximal aggregation value compared to other groups (p=0.0063). Similarly, in collagen-induced aggregation, the maximal aggregation values for the HES 450 group were significantly different from those of the control group (p=0.0137).

Conclusion: The in vitro hyperaggregation effect of high-molecular-weight HES demonstrated in this study has not been widely reported previously. Based on our findings and previous literature, we propose that this effect may be mediated by HES binding to von Willebrand factor (vWF) and fibrinogen after coating the platelet surface, thereby enhancing platelet aggregation.

Keywords: Hydroxyethyl Starch, Platelet Aggregation, von Willebrand Factor.

Bu makale atıfta nasıl kullanılır: Uzay A, Okuturlar Ö, Bayık M, Okuturlar Y, Adigüzel C, Demir AM. Farklı Molekül Ağırlığındaki Hidroksietil Nişasta ve %0,9 İzotonik NaCl Solüsyonlarının Trombosit Agregasyon Fonksiyonları Üzerine İn Vitro Etkisi. Fırat Tıp Dergisi 2025; 30(3): 194-201.

How to cite this article: Uzay A, Okuturlar O, Bayık M, Okuturlar Y, Adigüzel C, Demir AM. In Vitro Effect of Hydroxyethyl Starch and 0.9% Isotonic NaCl Solutions of Different Molecular Weights on Platelet Aggregation Functions. Fırat Med J 2025; 30(3): 194-201.

ORCID IDs: A.U. 0000-0003-1381-4188, Ö.O. 0000-0003-2297-7464, M.B. 0000-0003-3185-8520, Y.O. 0000-0002-1994-0014, C.A. 0000-0002-0633-5691, A.M.D. 0000-0002-2073-5405.

^aYazışma Adresi: Yıldız OKUTURLAR, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Tel: 0212 404 4042

Geliş Tarihi/Received: 22.05.2024

* Bu çalışma 30. Uluslararası Hematoloji Derneği Dünya Kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuştur (28 Eylül-02 Ekim 2005, İstanbul).

e-mail: okuturlary@gmail.com

Kabul Tarihi/Accepted: 11.08.2025

İzotonik NaCl ve Ringer Laktat gibi kristaloitler hiperkoagülasyona neden olurken, özellikle Hidroksietil Nişasta (HES) gibi kolloidlerin pıhtılaşma zamanını uzattığı ve dolayısıyla operasyon geçiren hastalarda artmış kanama komplikasyonlarına neden olabileceği ileri sürülmüştür.

HES'in pıhtılaşma üzerindeki etkileri, birçok invitro ve invivo çalışmada incelenmiştir. Bu çalışmaların sonucunda, HES'in özellikle yüksek molekül ağırlığındaki (>200kd) solüsyonları, plazma vWF'nü azaltarak, von Willebrand hastalığına neden oldukları bildirilmiştir. Ayrıca son dönemde yapılan araştırmalarda, platelet function analyser (PFA) yöntemi kullanarak, HES'in trombosit fonksiyonlarını olumsuz etkilediği bildirilmiştir. Saptanan anti-trombositik etkinin, trombosit agregasyon inhibisyonu olabileceği ileri sürülmüştür. Yapılan tüm çalışmalarda koagülasyonu ve primer hemostazı bir bütün olarak inceleyen yöntemler kullanılmış olması nedeniyle, HES 'in trombosit agregasyonu üzerindeki etkisi bugüne dek, net bir şekilde tanımlanmamıştır.

Kanama riski olan hastalarda, reperfüzyon amacıyla kullanılan farklı solüsyonların, koagülasyon üzerinde farklı etkileri bildirilmiştir. Preoperatif ve intraoperatif dönemde kullanılacak perfüzyon sıvısının seçimi operasyonun kanama komplikasyonlarını en aza indirmek için önemlidir. Şu ana kadar, perioperatif dönemde kullanılan sıvılara bağlı majör kanama komplikasyonu bildirilmemiş olmasına rağmen, kristaloitlerin ve özellikle de kolloidlerin, pıhtılaşma üzerindeki etkileri gittikçe daha fazla araştırılmaktadır.

Son yıllarda, koagülasyon üzerindeki etkileri en çok araştırılan HES solüsyonudur. HES, uygun maliyet, farklı moleküler ağırlık ve farklı hidroksilasyon yüzdesinde solüsyonlar hazırlama olanağı sunduğundan, diğer birçok kolloide göre daha sık kullanılmaktadır.

HES ile volüm yüklemesi yapmadan etkin ve dolaşım açısından güvenli bir şekilde plazma volümü genişletilebilir. Albümin ve Jelatine göre daha sık kullanılması na rağmen, HES in pıhtılaşma zamanını uzattığı bilinmektedir (1). Bu etkinin fizyopatolojisi incelendiğinde, özellikle yüksek moleküler ağırlığındaki HES solüsyonlarının, FVIII:RCo, vWF:Ag ve vWF düzeyini azaltarak tip 2b von Willebrand hastalığına benzer bir tabloya sebep olduğu bulunmuştur (2). Böyle bir etki bildirilmiş olmasına rağmen klinik olarak anlamlı bulunmamıştır (3-5). Ancak bu aşamadan sonra HES in güvenilirliği tartışılmaya açık hale gelmiştir ve pıhtılaşma üzerindeki etkisi ayrıntılı bir şekilde birçok çalışmada irdelenmiştir. Bu araştırmalarda HES in primer hemostazı etkilediği ve anti-trombosit etkisi olduğu gösterilmiştir (6-9). Anti-trombosit etkinin hangi mekanizmayla oluştuğu halen tartışma konusudur.

Yukarıda söz edilen çalışmalarda, koagülasyonu ve primer hemostazı, global olarak inceleyen yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemlerle olası artmış kanama riskini önceden tahmin etmek mümkün gözükse de hastalar üzerinde yapılan çalışmalar bu öngörüğü desteklememektedir. Bundan yola çıkarak HES in primer

hemostaz ve trombositler üzerindeki etkisini tüm ayrıntılarıyla incelemeye devam etmek gerektiğini söyleyebiliriz. Günümüze dek yapılan araştırmalar birçok soru yanıtlanmış olmasına rağmen halen açıklanması gereken bazı noktalar vardır.

HES molekülünün koagülasyon üzerindeki birçok etkisi tanımlanmış olmasına rağmen trombositlerin agregasyon fonksiyonlarının ne şekilde etkilendiği halen bilinmemektedir. HES' in GPIIb-IIIa ekspresyonu üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar, agregasyon açısından ancak dolaylı bilgi vermektedir. Günümüzde, trombosit agregasyon bozuklukların tanısında kullanılan altın standart niteliği taşıyan yöntem, agregometre yöntemidir (10-12). Çalışılması zahmetli ve yorumlanması zor olan bu yöntem belki de haklı bir gerekçe ile HES ile ilgili çalışmalarda şu ana kadar kullanılmamıştır.

Trombosit agregasyonu primer hemostazın en önemli basamaklarından biri olmasından dolayı, HES' in agregasyon üzerindeki etkisini agregometre yöntemi ile araştırmak ve sayısal veriler ile bu etkiyi açıklama gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Mevcut çalışmada, üç farklı molekül ağırlığında HES solüsyonu ve İzotonik ile %20'lik hemodilüsyon sağlandıktan sonra trombosit agregasyon fonksiyonları, farklı agregan ajanlar kullanarak, agregometre ile araştırılmıştır. Amaçlardan birincisi trombosit agregasyonundaki değişiklikleri kesin sonuç veren bir yöntemle araştırmaktır. İkinci amaç, farklı molekül ağırlığındaki HES solüsyonları arasında, agregasyon üzerinde farklı etkilerini incelemektir. Üçüncü amaç ise, %0,9 İzotonik NaCl ile dilüe edilen kanların, trombosit agregasyon fonksiyonlarındaki olası değişiklikleri incelemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Ekim 2004 ile Ocak 2005 arasında, Hematoloji-İmmünoloji laboratuvarı ve hastanemiz kan bankasında yürütülmüştür. Tanımlayıcı, in vitro çalışma olarak tasarlanmıştır. Araştırma için hastanemiz etik kurulundan onay alınmıştır.

Örneklerin Seçilmesi

Araştırmaya kan bankamızın sağlıklı kan donörü kriterlerine uyan 20 kişi alınmıştır. Çalışmaya dahil edilme kriterleri şunlardır: 18 ile 50 yaş arasında olması, erkeklerin 60 kg üzerinde, kadınların ise 50 kg üzerinde olması, boyun 150 cm'den uzun olması, kan verme öncesinde ölçülen tansiyon değerleri: Sistolik 110-145 mmHg, Diastolik 70- 90mmHg olması, hematokrit değerinin % 38'den yüksek olması, HBV, HCV, HIV, VDRL testlerin negatif olması, bazal trombosit sayısının 120,000/ml den yüksek olması, son bir hafta içinde herhangi bir ilaç kullanmamış olması, ailede kanama diyatezi öyküsünün olmaması.

Çoklu şüpheli cinsel ilişki öyküsü olan, özgeçmişinde uyuşturucu kullanımı olan, son iki hafta içinde solunum yolu hastalığı, döküntülü cilt hastalığı, konjonktivit ve gastroenterit öyküsü olanlar ve kendisinde veya

birinci derece akrabasında bağ dokusu hastalığı olanlar, gebeler, bilinen sistemik hastalığı olanlar, son altı ay içinde majör cerrahi girişim geçiren ve son 3 ay içinde kan vermiş olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışmaya, kan bankasına gönüllü olarak kan bağıışı için başvuran kişiler katılmıştır. Katılan 20 kişiden 15'i erkek, 5'i kadındır. Her katılımcıya, araştırmayı yürütenler tarafından çalışma hakkında sözlü bilgi verilmiştir ve ardından onay formu okutularak, karşılıklı olarak imzalanmıştır.

Çalışmaya katılan kişilerden, bilgi verildikten ve onay formu imzalatıldıktan sonra, kan sayımı, serolojik testler ve kan grubu tespiti için antekubital bölgeden Vacutainer yöntemi ile kan alınmıştır. Donör için uygunluk kriterleri tamamlandıktan sonra, katılımcıların tansiyonları ölçülmüştür, ardından, diğer koldan, yine antekubital bölgeden, kan torbasının iğnesi (22 G) aracılığı ile 70ml CPD içeren torbaya (Kansuk) kan toplanmıştır. Kan verme esnasında torbalar otomatik shaker içinde ajite edilmiştir, torba belirlenen 450 ml kan ile dolunca, shaker otomatik olarak durdurulmuş ve kan akımı kesilmiştir.

Bu işlemten sonra CPD'li torbanın içindeki kandan, "sterile cutting device" aracılığı ile bağlanan başka bir boş torbaya 110 ml kan aktarılmıştır. Buradaki kan çalışmada kullanılmak üzere Hematoloji-İmmünoloji laboratuvarına nakledilmiştir. Kan numuneleri alındıktan en geç 30 dk içinde çalışma başlatılmıştır. Kalan 340ml donör kanı, komponentlerine ayrılmış ve klinikte kullanılmak üzere kan bankamızda muhafaza-ya alınmıştır.

Çalışma için ayrılan 110 ml kandan 4 adet 50cc olan Falcon plastik tüpe 20 ml, 1 tüpe 25ml aktarılmıştır. Geri kalan 5ml kan atılmıştır. 20 ml kan ile dolu olan tüplere sırasıyla HES 130, HES 200, HES 450 ve %0,9 İzotonik 'ten 5'er mililitre eklenip, %20 oranında dilüsyon elde edilmiştir. Yirmi beş ml kan ile dolu olan tüp kontrol kanı olarak çalışılmıştır.

Dilüsyon işlemi ve bazal kan sayımı yapıldıktan sonra, farklı molekül ağırlıklarındaki HES ve izotonik solüsyonu ile karıştırılan kanlar, 37° C deki etüvde 30 dakika boyunca bekletildi. Bunun amacı, bir makromolekül olan HES'in trombosit reseptörleri ve fibrinojen ile etkileşime girmesi için zaman tanımaktır.

Bu arada kontrol kanından, daha önce anlatılan prosedür ile PRP ve PPP hazırlandı. Çalışmada kullanılan tüm PRP'lerdeki trombosit sayısı 250,000/ml'ye en yakın değerde olacak şekilde ayarlandı. Öte yandan hazırlanan tüm PPP'lerdeki trombosit sayısı da 5000/ml den düşüktür.

Kontrol kanından hazırlanan her PPP'den 0,5ml küvete dolduruldu ve agregometrenin %100 ışık geçirgenliği temsil eden yuvasına kondu, ardından PRP'den de üç ayrı küvete ayrı ayrı 0,5ml dolduruldu ve küvetlerin içine karıştırma çubuğu konduktan sonra 2 dakika boyunca 37° C de ısıtıldı. Bu işlemin ardından, PRP küvetlerinden biri agregometrenin %0 ışık geçirgenliği temsil eden yuvasına kondu. Agregometrenin eğri

çizen cihazını çalıştırdıktan sonra, grafik başlangıcı olan 0 ile 100 arasını temsil eden y eksenini çizildi. Ardından 1 dakika boyunca bazal eğri çizgisi çizdirildi. Bu noktada PRP'ye agonist eklendi ve daha sonra da agregasyon eğrisi maksimal değere ulaşınca dek agregasyon devam ettirildi.

Çalışmamızda, değişken sonuçlar vermesinden dolayı, agonist olarak epinefrin kullanılmamıştır. Kullanılan agonistler: ADP, 5- 15M arasında değişen konsantrasyonlarda, Ristosetin 5-8 mg/ml dozunda ve 1-3 M Kolajendir. Çalışma boyunca agonistler, (-20) ° C de Eppendorf tüpleri içinde muhafaza edilmiştir. Çalışma esnasında, kullandığımız agonistler çözündürülmüştür ve soğuk zincire dikkat ederek kullanılmıştır, 6 saatten daha fazla çözölmüş halde bulunan agonistler kullanılmamıştır.

Yukarıda tarif edilen işlemler dilüe edilen kan örnekleri için ayrı ayrı olarak tekrarlanmış olup her bir örnek için ayrı agregasyon eğrileri elde edilmiştir.

Agregasyon eğrilerindeki parametreler, uluslararası kılavuzları önerdiği şekilde ölçüldükten sonra kaydedilmiştir.

HES saklama koşulları; Hastane eczanesinin ruhsat ve yönetmeliğe uygun olarak 25 °C altında oda sıcaklığında ışıktan koruyarak muhafaza edilmiştir.

Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

HES 130- Voluven®, HES 200-Haes sterile®, HES 450- Varihes®

Kan torbası- Kansuk®, WAG® sterile cutting device, Falcon® 50 cc olan tüpler, Coulter® hemogram cihazı, Agregometre cihazı

Agregometre cihazı; Helena AggRAM analyzer, 1530 Lindbergh Dr, Beaumont, Texas, 77707, USA. Absorbance range (absorbans aralığı) 0.0-2.0 OD, Ölçüm dalga boyu 650 nm.

İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel analizde, İNSTAT bilgisayar yazılım programı yardımı ile elde edilen sonuçların ortalamaları arasındaki karşılaştırma "Yinelenmiş Ölçümlerim Ortalama Karşılaştırma testi" ile yapılmıştır. Elde edilen ölçümlerin ortalamaları arasındaki farklar "Student Newman Keuls Çoklu karşılaştırma testi" kullanılarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

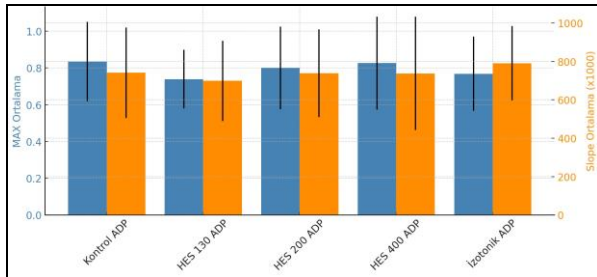
Çalışmanın sonucunda, kontrol kanları ile birlikte, HES 130, HES 200, HES 450 ve izotonik dilüsyonlarının ADP, Ristosetin ve Kolajen ile oluşturulan maksimal agregasyon değerleri ve agregasyon eğimlerinin değerleri ölçülmüştür. Ortalama maksimal agregasyon değerleri her agonist için ayrı ayrı olarak dilüsyon grupları ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Aynı işlem ortalama agregasyon eğimi değerleri için de yapılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Kontrol ve dilüsyon solüsyonlarının agregasyon yanıtlarının ortalamaları.

	ADP	Kolajen	Ristosetin
Kontrol Max değer	0.835 ± 0.216	0.860 ± 0.209	1.050 ± 0.226
Kontrol Slope değer	741.250 ± 235.818 (x1000)	781.250 ± 254.289 (x1000)	675.600 ± 407.788 (x1000)
HES 130 Max değer	0.800 ± 0.225	0.937 ± 0.209	1.107 ± 0.204
HES 130 Slope değer	698.500 ± 208.580 (x1000)	896.250 ± 283.572 (x1000)	622.750 ± 282.463 (x1000)
HES 200 Max değer	0.800 ± 0.225	0.970 ± 0.176	1.100 ± 0.145
HES 200 Slope değer	738.000 ± 229.010 (x1000)	905.000 ± 234.184 (x1000)	718.000 ± 326.434 (x1000)
HES 400 Max değer	0.826 ± 0.253	0.973 ± 0.286	1.229 ± 0.316
HES 400 Slope değer	737.500 ± 295.860 (x1000)	847.250 ± 305.745 (x1000)	705.600 ± 274.568 (x1000)
İzotonik Max değeri	0.768 ± 0.202	0.899 ± 0.180	1.090 ± 0.201
İzotonik Slope değeri	790.600 ± 193.809 (x1000)	827.150 ± 231.631	685.250 ± 316.616 (x1000)

Ortalama 10 M ADP (5-15 M) agonisti ile yapılan agregasyon çalışmasında maksimal agregasyon değerleri arasındaki karşılaştırma sonucunda hiçbir dilüsyon grubu için diğerlerine ve kontrole göre anlamlı fark saptanmamıştır. P değeri 0,2250 ($p > 0,05$) olarak hesaplanmış olup farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 1). ADP ile yapılan agregasyon çalışmasında elde edilen değerler içinde sınırdaki agregasyon yanıtları değerleri olmasına rağmen, birbirinden farklı moleküller ile yapılan dilüsyonun sonucunda, ortalamalara bakılarak normal agregasyon yanıtının elde edildiğini söylenebilir. Neticede, HES'in farklı moleküler ağırlığındaki formları ve izotonik solüsyonunun ADP agregasyonunu etkilemediği saptanmıştır.

ADP'nin agregasyon eğimi değerleri karşılaştırıldığında, HES 130, HES 200, HES 450 ve İzotonik arasında anlamlı fark saptanmamıştır $p > 0,05$ (Şekil 1).

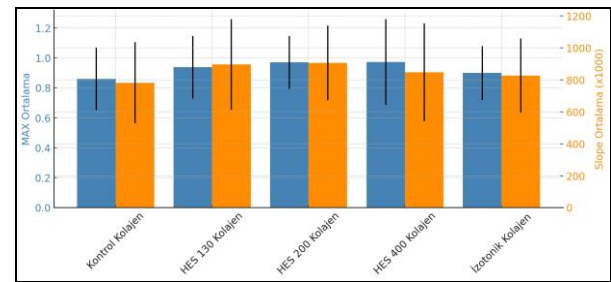
**Şekil 1.** ADP için MAX ve Slope ortalama değerleri.

Bu moleküllerle yapılan dilüsyonun agregasyon eğimini de etkilemediği bulunmuştur.

Ristosetin ile yapılan agregasyon çalışması sonucunda HES 450 dilüsyonunda, diğer gruplara ve kontrole kıyasla maksimal agregasyon değerinde, fark bulunmuştur. HES 450'nin HES 130, HES 200 ve izotonik dilüsyonlarının maksimal agregasyon değerleri karşılaştırılınca p değeri $< 0,05$ olarak hesaplanmış olup anlamlı olarak bulunmuştur. HES 450'nin ristosetin maksimal agregasyon değeri kontrol ile karşılaştırıldığında p değeri 0,0063 olarak ölçülmüş olup ($p < 0,01$) bu anlamlılık istatistiksel açıdan daha da belirgin hale gelmektedir. HES 450'nin dışındaki gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. İstatistiksel anlamı olan farklar incelendiğinde, HES 450'deki ristosetine karşı oluşan maksimal agregasyon yanıtları, kontrol grubu başta olmak üzere, diğer tüm gruplardaki değerlere göre yüksek bulunmuştur. Bu durumda HES

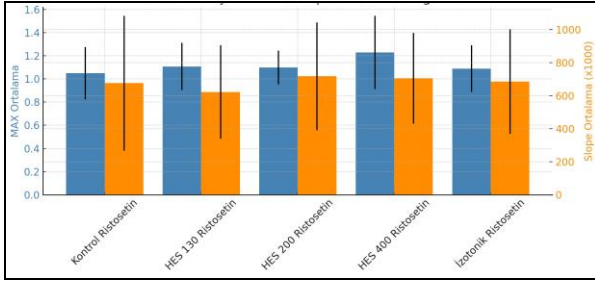
450'de ristosetine karşı bir "hiperagregasyon" durumu gözlenmiştir (Şekil 2).

Ristosetin çalışmasında ölçülen agregasyon eğim değerleri arasında yapılan karşılaştırmada fark saptanmamıştır. Tüm gruplar arasında yapılan karşılaştırma sonucunda p değeri 0.5930 olarak hesaplanmıştır ($p > 0,05$). Buna göre dilüsyon grupları arasında ve kontrol grubuna göre Ristosetin ile elde edilen agregasyon eğimi üzerinde, HES moleküllerinin ve izotonik solüsyonunun etkisi bulunmamıştır (Şekil 2).

**Şekil 2.** KOLAJEN için MAX ve Slope ortalama değerleri.

Kolajen ile yapılan agregasyon çalışması sonucunda elde edilen maksimal agregasyon değerleri açısından, HES 200 ve HES 450 gruplarının sonuçları kontrol grubuna göre farklı olarak bulunmuştur. Ölçülen p değeri 0,0137 ($p < 0,05$) olup, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). HES 200 ve HES 450 gruplarının, kontrol grubuna göre olan farkı incelendiğinde, bu gruplardaki maksimal agregasyon değerleri daha yüksek bulunmuştur. Daha önce HES 450'deki Ristosetin maksimal değerinde olduğu gibi, HES 200 ve HES 450'nin Kolajen maksimal agregasyon değerlerinde de kontrole göre yüksek agregasyon cevabı gözlenmiştir (Şekil 3).

Kolajen ile yapılan agregasyon çalışmasında elde edilen agregasyon eğim değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Ölçülen p değeri 0,0576 olup istatistiksel anlamlılık taşımamaktadır ($p > 0,05$). Bu çalışmada, HES'in farklı formları ve izotonik Kolajen agregasyonundaki eğim üzerinde etkisi bulunmamıştır (Şekil 3).



Şekil 3. RISTOSETİN için MAX ve Slope ortalama değeri.

Tüm veriler değerlendirildiğinde bu çalışmanın sonuçları şöyle özetlenebilir:

1. İn vitro ortamda, HES veya izotonik ile dilüe edilen kanda, trombositlerin ADP'ye karşı agregasyon yanıtı değişmemektedir.
2. HES 450 ile dilüe edilmiş kandaki trombositlerin Ristasetin yanıtı, diğer HES moleküllerine, izotonige ve kontrole göre belirgin olarak fazladır. Daha az çarpıcı olmakla beraber, benzer bir sonuç HES 200 ve HES 450'in Kolajen maksimal agregasyon yanıtında da tespit edilmiştir. Hiperagregasyon olarak tanımlanabilecek bu etki, daha önce tanımlanmadığından, bu aşamada önemi bilinmemektedir.
3. Agregasyon eğimleri bu çalışmada kullanılmış olan HES 130, HES 200, HES 450 ve izotonikten etkilenmemiştir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada trombositlerin ADP, ristasetin ve kolajene karşı agregasyon yanıtları incelenmiştir. Yirmi sağlıklı donörden alınan kanlar ile her HES molekülü ve İzotonik için ayrı ayrı dilüsyon hazırlanmış olup, her dilüsyon grubu bu üç agonist ile aktive edildikten sonra agregasyon eğrileri elde edilmiştir. Elde edilen agregasyon eğrilerinden maksimal agregasyon oranı ve agregasyon eğrisinin eğimi hesaplanmıştır.

Ortalama 10 M ADP (5-15M) ile çalışılan agregasyon sonucunda, maksimal agregasyon oranı açısından HES 130, HES 200, HES 450 ve İzotonik NaCl dilüsyonları ile kontrol kanı arasında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Yine ADP çalışması sonucunda, tüm dilüsyon grupları ve kontrol için elde edilen agregasyon eğimleri karşılaştırıldığında gruplar arasında fark saptanmamıştır. Bu bulgular neticesinde, HES in farklı molekülleri ve İzotonik NaCl 'ün ADP ile uyarılmış trombosit agregasyonunu etkilemediği söylenebilir.

ADP uyarımı sonucunda intrasitoplazmik serbest kalsiyum miktarı artar ve trombosit membranının şekilsel değişikliği başlar. Bizim çalışmamızın sonuçlarına dayanarak HES in, intrasitoplazmik kalsiyum miktarı üzerine etkisi olmadığı söylenebilir. Gamsjager ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptığı in vitro çalışmada (13) HES 450, HES 130, HES 70 ve İzotonik ile %20 hemodilüsyon elde ettikten sonra işaretli kalsiyum kullanarak flow sitometrik yöntem ile intrasitoplazmik kalsiyum miktarındaki değişiklikler incelenmiştir. Bu

çalışmanın sonucunda, dilüe edilmemiş ve farklı HES solüsyonları ile dilüe edilmiş kanlardaki trombositlerin, intrasitoplazmik kalsiyum düzeyleri arasında fark saptanmamıştır. Gamsjager ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonuçları, çalışmamızın ADP agregasyonu ile ilgili sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Ristasetin (0,5-0,8 mg/dl) ile yapılan agregasyon çalışmasında, HES 450'nin, diğer HES moleküllerine, İzotonik NaCl ve kontrol kanına göre anlamlı olarak daha yüksek maksimal agregasyon değerine ulaştığı tespit edilmiştir ($p < 0,01$). Bu etki hiperagregasyon olarak değerlendirilmiştir ve yüksek molekül ağırlıklı HES'in ristasetin ile hiperagregasyon oluşturma yanıtı, bu şekilde, ilk defa tanımlanmaktadır.

HES in farklı molekülleri ile yapılan çalışmalarda koagülasyon üzerinde başlıca iki etki tanımlanmaktadır. Bunlar, vWF düzeyinin ve GP IIb-IIIa ekspresyonunun azalmasıdır (14).

VWF düzeyinin azalması, bu faktörün HES varlığında, trombositler tarafından daha fazla tüketilmesi sonucunda olabileceği ileri sürülmektedir ancak bu etki henüz gösterilmemiştir.

HES 450'nin yüksek moleküler ağırlığında olması nedeniyle negatif elektriksel yükü de yüksektir. HES 450 ile dilüe edilen kanlarda trombosit üzerine yapışan HES in oluşturduğu yüksek negatif elektriksel yük vWF a karşı afinitiyi arttırabileceği ve bu şekilde trombositlerin vWF ü daha fazla ve hızla tüketmesi mümkündür. vWF, hem trombosit adezyonunda hem de agregasyonunda rol alan önemli bir ligandır. Sağlıklı trombositlerde, primer hemostaz, GP Ib-IX un vWF'na bağlanması ardından, gerçekleşen adezyon ile başlar. İkinci aşamada, fibrinojen ve vWF ünü bağlayan GP IIb-IIIa devreye girer ve trombositler arasında bağlar kurularak agregasyon aşaması başlar. Agregasyon ile trombosit granüllerinden sekresyon süreci de devam eder. HES molekülünün trombosit üzerine yapıştığı ve fibrinojen gibi ligandları bağlayabildiği bilinmektedir. HES ile yapılan koagülasyon çalışmaları, adezyon süreci tamamlanmadan, trombosit yüzeyindeki HES molekülü fibrinojen ve büyük olasılıkla vWF' nı bağladığı, bunun sonucunda prematür ve yüksek aktiviteli agregasyon başladığı düşünülebilir. Bu erken agregasyon esnasında, vWF ün trombosit yüzeyindeki HES tarafından hızla tüketilmesi nedeniyle, adezyon süresi çok uzayabilir. TEG ile yapılan çalışmalarda trombosit fonksiyonlarını yansıtan, K zamanında uzama, HES in etkisi nedeniyle, primer hemostazın uzadığı göstermektedir ve ilk bakışta bizim sonuçlarla çelişmektedir. Ancak primer hemostazın uzaması, agregasyon veya adezyon süreçlerinin her biri veya birlikte uzaması sonucunda meydana gelir. HES in vWF düzeyini düşürerek adezyonu uzattığı ve bu etkinin TEG grafiği üzerinde K zamanının uzaması şeklinde yansıdığını düşünmekteyiz. Normal şartlarda, vWF' ün eksik olduğu hastalarda ristasetine karşı yanıtsızlık olması beklenirken bizim çalışmamızda HES 450 ile aşırı yanıt, diğer HES molekülleri ile ise normal ristasetin yanıtları elde edilmiştir. Von Willebrand hastalarında trombosit adezyonu ve agregasyonu bozuk

olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda agregasyon yanıtının bozulmaması hatta artması, vWF ün düzeyi düşük olmasına rağmen gerçek anlamda von Willebrand hastalığı gelişmediği ileri sürülebilir. Eğer HES 450 vWF afinitesini arttırıyorsa, hızlı vWF mobilizasyonu sonucunda, adezyon süreci tamamlanmadan başlayan hızlı bir agregasyon süreci, adezyonun uzaması ile sonuçlanabilir bu da TEG de primer hemostazın uzamasını açıklayabilir.

Son dönemde HES in primer hemostaz üzerindeki etkileri PFA kullanılarak incelenmiştir. PFA yöntemi, aynı kanama zamanı yöntemi gibi trombositlerin tüm fonksiyonlarını eş zamanlı olarak inceler. Innerhoffer, Sögermüller, Schaeber ve Franz'ın son 4 yıldaki araştırmalarında (6, 7, 9), HES in PFA analizlerinde uzamaya neden olduğu tespit edilmiştir. Sögermüller ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, GP IIb-IIIa ekspresyonun azaldığı, dolayısı ile HES molekülünün agregasyonu olumsuz etkilediği ve primer hemostazın bundan dolayı uzadığı ileri sürülmüştür (7). HES in GP IIb-IIIa yı azalttığı, Deusch ve Franz tarafından da tespit edilmesi sonucunda bu etkinin oluşum mekanizması araştırılmıştır (8, 9). Yine Deusch ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptığı çalışmada, flouresan boya ile işaretlenmiş HES 200 kullanarak HES molekülünün trombosit yüzeyine yapıştığı ve bu şekilde GP IIb-IIIa 'nın üzerini kaplayarak ekspresyonunu azaldığı gösterilmiştir. Buna dayanarak, fibrinojen reseptörü olan GP IIb-IIIa nın azalması sonucunda, agregasyon yanıtının da azalması beklenir. Diğer çalışmalarda primer hemostazın uzadığı gösterilmiş olmasına rağmen, bizim çalışmamızda agregasyonun etkilenmediği hatta HES 450 ile arttığı gözlenmiştir. Bu verilerin ışığında HES in GP IIb-IIIa ekspresyonunu azalttığı ancak agregasyonun etkilenmediği söylemek gerekir. Böyle bir etkinin mümkün olması için trombosit yüzeyinde, fibrinojeni bağlayan, GP IIb-IIIa'nın dışında başka bir molekül olması gerekmektedir. Bunu HES in kendisi ile açıklayabiliriz. HES molekülünün fibrinojenin yüksek oranda bağladığı ve neticesinde koagülasyon esnasında fibrin oluşumunu engellediği bildirilmiştir (1, 15-17). Trombosit yüzeyine yapışan HES molekülüne ve geride kalan GP IIb-IIIa ya yüksek oranda fibrinojen bağlanması sonucunda, GP IIb-IIIa ekspresyonu düşük olmasına rağmen agregasyonun normal bir şekilde devam etmesi mümkün gözükmemektedir. Ayrıca, bizim hiperagregasyon saptadığımız ajan ristosetin olduğundan, ristosetine bağlı trombosit agregasyonunda, ristosetin-vWF-GP Ib ilişkisi önemlidir.

HES 450 molekülünün fibrinojeni ve vWF'ünü bağlayarak erken ve hızlı agregasyon başlattığını ileri sürerek, bu etkinin neden diğer agonistlerde de aynı şekilde gözlenmediğini de açıklamamız gerekir.

Ristosetin agonisti trombositlerin vWF'ne bağlanmasını potansiyalize eden bir moleküldür. Çalışmamızda kullanılan diğer agonistlerin vWF'üne bağlanması üzerinde bu kadar belirgin etkileri yoktur. Ristosetin vWF üzerindeki etkisinden yola çıkarak, von Willebrand hastalığı ve Bernard-Soulier sendromu tanısı

koymak için, bu agonist ile agregasyon çalışmaları yapılmaktadır.

HES 450 varlığında, vWF ve fibrinojen ligandlarının artmış bağlanma hızına, ristosetin agonistinin bu reaksiyonu güçlendiren etkisini eklersek, ristosetin agregasyon eğrilerinde gözlenen yüksek maksimal yanıtların nedenini açıklayabiliriz.

Ristosetin çalışmasında ölçülen agregasyon eğimleri HES molekülleri, İzotonik NaCl ve kontrol kanda benzer düzeyde olduğu ve aralarında anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$). Agregasyon eğimi ortalamaları arasında anlamlı fark olmamasına rağmen, ristosetine karşı belirgin hiperagregasyon cevabı gözlenen kanlarda agregasyon eğiminin de iki katına çıktığı gözlenmiştir. Bunun sonucunda hiperagregasyonun, sadece güçlü değil aynı zamanda hızlı seyreden bir süreç olduğu söylenebilir. Agregasyon sürecinin hızlı seyretmesi agonistin gücüne ve GP IIb-IIIa gibi fibrinojen bağlayan moleküllerin yüksek düzeyde ekspresyonuna bağlıdır. GP IIb-IIIa ekspresyonunu azalttığı bilinen bir molekülün agregasyon hızının arttırması, alternatif bir fibrinojen bağlama mekanizması ile açıklanabilir. Ristosetin çalışmasında hiperagregasyon cevabı olan kanların agregasyon eğimindeki yükseklik, HES moleküllerinin fibrinojeni bağlama özelliğinin agregasyon için ne kadar önemli olduğu göstermektedir. PFA ve TEG çalışmaların sonucunda gözlenen anti trombosit etkiyi, çalışmamızın sonuçlarını göz önünde bulundurarak, adezyon zamanında uzama olarak tarif edebiliriz.

Kolajen (1-3M) ile yapılan agregasyon çalışmasında, HES 200 ve HES 450'nin maksimal agregasyon değerleri kontrol kanlarına göre anlamlı olarak daha yüksek düzeyde saptanmıştır. ($p < 0,05$). HES 130, HES 200, HES 450 ve İzotonik NaCl dilüsyonlarının maksimal agregasyonları arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Kolajen ile elde edilen agregasyon eğimleri arasında ise hiçbir dilüsyon grubu için kontrol kanına göre anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

Kolajen molekülü, trombositlerin, adezyonunu, granül sekresyonunu ve agregasyonunu aktive eden güçlü bir agonisttir. Aynı ADP de olduğu gibi, kolajen uyarımı sonucunda hücre içi kalsiyum miktarı artar ve trombositler aktive olur. Trombositlerin kolajeni bağlayan esas proteinler GPVI ve GP Ia/IIa olmasına rağmen, trombositlerin kolajene normal bir şekilde bağlanması için, vWF ile GP Ib arasında sağlıklı bir etkileşim olması gerekir. HES 450 gibi yüksek moleküler ağırlıklı bir solüsyonun fibrinojen ve vWF'nü bağlayarak yüksek yanıtı agregasyona sebep olabileceğini ifade etmiştik. Kolajen yanıtı ristosetin yanıtı kadar olmasa da vWF ne bağımlı bir yanıt olduğu bilinmektedir (11). HES 450'nin yüksek oranda ligand bağlama özelliği, kolajen uyarımı ile birlikte, kolajen agregasyon yanıtını arttırabilir. Benzer etki, daha önce yüksek moleküler ağırlıklı HES 450 de ristosetin yanıtında gözlenmişti, ancak HES 200 molekülünde mevcut değildi. HES 200 ün kolajen agregasyonunu kontrol kanına oranla daha yüksek düzeyde olması, aynı HES 450'deki gibi, ligand bağlama özelliği ile açıklamak mümkündür. An-

cak, vWF ne daha çok bağımlı olan ristosetin agregasyonunda böyle bir etkinin gözlenmemesi, diğer yandan vWF' ne daha az bağımlı olan kolajen agregasyonunda kontrole göre yüksek yanıt oluşturmaları düşündürücüdür. Hiperagregasyonun, sadece HES molekülünün artmış ligand bağlama özelliğine bağlı olduğunu söylersek, o zaman HES 200 ün ristosetin yanıtı da kolajende olduğu gibi, daha yüksek olmasını beklerdik. Bu aşamada, HES moleküllerinin, yine molekül ağırlıklarına bağlı olarak, kolajen agregasyonunda daha farklı etkileri olduğu söylemek gerekir. Bu etki, HES molekülünün direkt olarak kolajene bağlanması ile açıklanabilir. Eğer HES molekülünün gerçekten böyle bir etkisi varsa, ristosetin agregasyonu etkilenmeyeceğinden, ristosetin eğrilerinde artma gözlenmeyecektir. Ristosetin agregasyonu vWF'nü yüksek oranda bağımlı olması nedeniyle, agregasyon cevapları sadece vWF'nün bağlanma özelliklerine göre değişecektir. Halbuki kolajen agregasyonu belirli oranda vWF' ne bağımlı olması yanı sıra, trombositlerin kolajene adezyonuna da bağımlıdır. Bu durumda trombositlerin kolajene yapışmasını arttıran bir madde, kolajen agregasyon cevabını da arttıracaktır. HES moleküllerinin böyle bir etkiye sahip oldukları hakkında bilinen bir araştırma yoktur, ancak trombosit yüzeyine, fibrinojene, fibronektine ve vWF'ne bağlanma yetenekleri düşünülürse, aynı şekilde kolajeni de bağlayabilecekleri de akla gelmektedir. Bu olasılığı araştırmak için başka çalışmaların yapılması gerekmektedir. Kolajen çalışmasında dikkati çeken başka bir sonuç daha vardır. HES 200, HES 450 ve İzotonik NaCl 'ün kolajen ile oluşturulan agregasyonları arasında fark saptanmamıştır. Diğer taraftan da İzotonik NaCl 'ün hiperagregasyona neden olmadığı tespit edilmiştir. Hiperagregasyona neden olmadığı bilinen bir solüsyon ile hiperagregasyon yapan başka bir solüsyon arasında kolajen agregasyonu açısından fark saptanmaması, bahsi geçen hiperagregasyonun istatistiksel olarak anlamlılık sayısını ancak aşan bir matematiksel sonuç olabileceği akla getirmektedir. Bu çelişkiyi yanıtlamak için daha fazla denek sayısı ile, kolajen agregasyonunu araştıran başka çalışmaların yapılması gerektiği inancındayız. Mevcut çalışmanın sonucunda, HES solüsyonunun farklı moleküler ağırlığındaki bileşiklerin trombosit

agregasyonunu engellemediği tespit edilmiştir. Yüksek moleküler ağırlığındaki HES 450' nin, büyük olasılıkla vWF ve fibrinojeni bağlayarak, ristosetin çalışmasında hiperagregasyona neden olduğu bulunmuştur. Kolajen agregasyonu esnasında HES 200 ve HES 450' deki hiperagregasyon, HES' in kolajeni de bağlayabileceğini düşündürmektedir.

Diğer çalışmaların sonucunda, primer hemostazı belirgin bir şekilde uzattığı gösterilen HES in trombosit agregasyonunu etkilememesi, meydana gelen değişikliklerin, trombosit adezyonundaki yetersizliği ile açıklanabilir.

Çalışmamızda, agregasyon deneyinde kullandığımız İzotonik NaCl solüsyonunun, trombosit agregasyonu üzerinde etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda, kristaloitlerle oluşturulan hemodilüsyonun hiperkoagülasyona neden olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmaların sonucunda hiperkoagülasyonun, trombin-antitrombin III oranının bozulması nedeniyle gerçekleştiği ileri sürülmüştür. İzotonik NaCl 'ün trombosit agregasyonunu etkilememesi, vWF ve fibrinojen gibi moleküllerin üzerinde etkisi olmadığı ve bu nedenle primer hemostazı etkilemediği düşünülebilir. Bu nedenle oluşan hiperkoagülasyon, primer hemostazdan bağımsız bir etki olabileceği ileri sürülebilir. İn vitro bir çalışma olması nedeniyle klinik etkileri öngörmek doğru olmayacaktır. Ancak trombosit adezyonunu bozan, yüksek oranda fibrinojen, vWF ve belki de kolajen bağlayan HES' in, operasyon geçiren hastaların kanama riskinin arttıracığı ve yara iyileşmesinin uzatacağı düşünülebilir.

Çalışmamızda saptanan hiperagregasyon, hiperkoagülasyon değildir ve artmış tromboz eğilimi olarak değerlendirilmemelidir. Tarif edilen hiperagregasyon, aslında atipik bir agregasyon yanıtı olduğunu ve trombosit adezyonunu olumsuz etkilediğini düşünmekteyiz.

Bilimdeki gelişmelere rağmen trombosit fonksiyonları hakkındaki bilgiler hala tam değildir. Trombositlerin değişen ortam şartlarına ne şekilde uyum sağladığı ve fonksiyonlarının ne düzeyde etkilendiği birçok çalışma ile açıklanmaya çalışılmaktadır. Mevcut çalışmanın klinik yanı olması yanı sıra belki de en önemli tarafı trombosit fizyolojisi hakkında yaptığı katkıdır.

KAYNAKLAR

1. Kapiotis S, Quehenberger P, Eichler H-G et al. Effect of hydroxyethyl starch on the activity of blood coagulation and fibrinolysis in healthy volunteers: comparison with albumin. *Crit Care Med* 1994; 22: 606-12.
2. Sanfelippo MJ, Suberviola PD, Geimer NF. Development of a von Willebrand-like syndrome after prolonged use of hydroxyethyl starch. *Am J Clin Pathol* 1987; 88: 653-5.
3. Schierhout G, Roberts I. Fluid resuscitation with colloid or crystalloid solutions in critically ill patients: a systematic review of randomised trials. *BMJ* 1998; 316: 961-4.
4. Symington B. Hetastarch and bleeding complications. *Ann Intern Med* 1986; 105: 627-8.
5. Arabi YM, Belley-Cote E, Carsetti A et al. European Society of Intensive Care Medicine clinical practice guideline on fluid therapy in adult critically ill patients. Part 1: the choice of resuscitation fluids. *Intensive Care Med* 2024; 50: 813-31.
6. Scharbert G, Deusch E, Kress HG, Greher M, Gustorff B, Kozek-Langenecker SA. Inhibition of platelet function by hydroxyethyl starch solutions in chronic pain patients undergoing peridural anesthesia. *Anesth Analg* 2004; 99: 823-7.
7. Stöger Müller B, Stark J, Willschke H, Felfernig M, Hoerauf K, Kozek-Langenecker SA. The effect of hydroxyethyl starch 200 kD on platelet function. *Anesth Analg* 2000; 91: 823-7.
8. Deusch E, Thaler U, Kozek-Langenecker SA. The effects of high molecular weight hydroxyethyl starch solutions on platelets. *Anesth Analg* 2004; 99: 665-8.
9. Franz A, Bräunlich P, Gamsjäger T, Felfernig M, Gustorff B, Kozek-Langenecker SA. The effects of hydroxyethyl starches of varying molecular weights on platelet function. *Anesth Analg* 2001; 92: 1402-7.
10. Hoffman R, Benz Jr EJ, Silberstein LE, Heslop H, Anastasi J, Weitz J. *Hematology: basic principles and practice*: Elsevier Health Sciences 2013.
11. White MM, Jennings LK. *Platelet protocols: research and clinical laboratory procedures*: Elsevier 1999.
12. Larsen JB, Hvas AM, Højbjerg JA. Platelet Function Testing: Update and Future Directions. *Semin Thromb Hemost* 2023; 49: 600-8.
13. Gamsjäger T, Gustorff B, Kozek-Langenecker SA. The effects of hydroxyethyl starches on intracellular calcium in platelets. *Anesth Analg* 2002; 95: 866-9.
14. Stump D, Strauss R, Henriksen R, Petersen R, Saunders R. Effects of hydroxyethyl starch on blood coagulation, particularly factor VIII. *Transfusion* 1985; 25: 349-54.
15. Strauss R, Stump D, Henriksen R, Saunders R. Effects of hydroxyethyl starch on fibrinogen, fibrin clot formation, and fibrinolysis. *Transfusion* 1985; 25: 230-4.
16. Innerhofer P, Fries D, Margreiter J et al. The effects of perioperatively administered colloids and crystalloids on primary platelet-mediated hemostasis and clot formation. *Anesth Analg* 2002; 95: 858-65.
17. Gratz J, Zotti O, Pausch A et al. Effect of Goal-Directed Crystalloid versus Colloid Administration on Perioperative Hemostasis in Partial Hepatectomy: A Randomized, Controlled Trial. *J Clin Med* 2021; 10: 1651.