

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

**GÖNÜLLÜ TROMBOSİT AFEREZ VERİCİLERİNDE SİNGLE
VE DOUBLE TROMBOSİT AFEREZİNİN HEMOSTATİK
TESTLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. ŞERİFE TOK

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. HAKAN İSMAİL SARI**

DENİZLİ – 2013

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

**GÖNÜLLÜ TROMBOSİT AFEREZ VERİCİLERİNDE SINGLE
VE DOUBLE TROMBOSİT AFEREZİNİN HEMOSTATİK
TESTLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. ŞERİFE TOK

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. HAKAN İSMAİL SARI**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 01.03.2012 tarih ve 02 sayılı 2012TPF006 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ – 2013

Doç. Dr. Hakan İsmail SARI danışmanlığında Dr. Şerife TOK tarafından yapılan “ Gönüllü trombosit aferez vericilerinde single ve double trombosit aferezinin hemostatik testler üzerine etkilerinin karşılaştırılması ” başlıklı tez çalışması gün.../ay.../yıl... tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

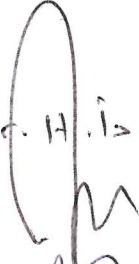
BAŞKAN

Prof. Dr. Ali Keskin



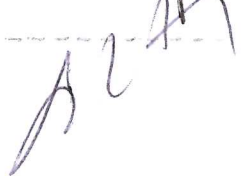
ÜYE

Doç. Dr. H. İsmail SARI

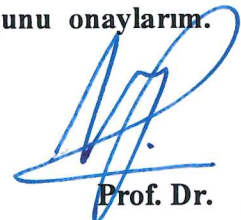


ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Dilek Hocugözü



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.
gün.../ay.../yıl.



Prof. Dr.

.....
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŐEKKÖR

Bugüne kadar her anımda yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen anneme, babama , kardeşime, eğitime katkıda bulunan hocalarıma, çalışma arkadaşlarıma, tez çalışmam sırasında sabır ve titizlikle her aşamada yardımlarını esirgemeyen ve büyük emek harcayan **Doç. Dr. İsmail SARI**' ya ve İç Hastalıkları Anabilim dalı bünyesinde çalışan tüm sağlık çalışanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
ÖZET	IX
İNGİLİZCE ÖZET	XI
GİRİŞ	
GENEL BİLGİLER	1
Aferez	1
Plt fizyolojisi	13
Hemostaz	22
GEREÇ VE YÖNTEM	30
BULGULAR	31
TARTIŞMA	36
SONUÇLAR	41
KAYNAKLAR	42
EKLER	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACD-A : Acitsitratdextroseformula-A

ADP : Adenozin difosfat

APTT : Parsiyel tromboplastin zamanı

ASO : Arteriosklerozis Obliterans

AT : Antitrombin

CaCl₂: Kalsiyum klorür

cAMP: Siklik adenozin monofosfat

CF : Kaskad Filtrasyon

CIPD : Kronik inflamatuvar demyelinizan poliradikülönöropati

DİK: Dissemine intravasküler koagülopati

DFFP : Duple membran filtrasyonu

EDRF : Endotelyal-derived relaxing factor

EPCR : Endotelial protein C reseptörü

FYÜ: Fibrinojen yıkım ürünleri

GDP : Guanozin difosfat

Gp: Glikoprotein

GTP : Guanozin trifosfat

HCV : HEPATİT C VİRUSU

INR : International Normalized Ratio

ISI : International Sensitivity Index

LMWH : Düşük molekül ağırlıklı heparin

NO : Nitrik oksit

NSAI : Nonsteroid antiinflamatuvar

PAI-1: Plasminojen aktivatör inhibitörü

PANDAS: Streptokokal enfeksiyonlarla ilişkili pediatrik otoimmün nöropsikiyatrik bozukluklar

PFA : Platelet fonksiyon analizatörü

Plt: Trombosit

PPP: Trombositten fakir plazma)

PRP: Trombositten zengin plazma

PT: Protrombin zamanı
RPM : Dakikadaki devir sayısı
SC :Sydenham chorea
SLE : Sisitemik lupus eritematozis
SPSS : Statistical package for the social science
TEG : Thrombelastografi
TF : Doku faktörü
t-PA : Doku plazminojen aktivatörü
TT : Thrombin time
TxA2: Tromboksan A2
UVA: Ultraviyole A
VASP : The vasodilator-stimulated phosphoprotein
vCJH : Creutzfeldt-Jakob hastalığı
Vwf: Von willebrand faktör
vWFag : vWF antijeni
YİMD : Yağ ilişkili makular dejenerasyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1	14
Şekil 2	15
Şekil 3	20
Şekil 4	21
Şekil 5	23
Şekil 6	24
Şekil 7	24
Şekil 8	26
Şekil 9	26
Şekil 10	31

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.....	18
Tablo 2.....	20
Tablo 3.....	32
Tablo 4	33
Tablo 5	34

ÖZET

Aferez günümüzde tam kanın uzaklaştırılması, çeşitli bileşenlere ayrılması, bir veya daha fazla bileşenin toplanması ve/veya değiştirilmesini içeren pek çok sayıdaki işlemde söz etmek için kullanılır. Terapotik aferez, donör aferezi ve kök hücre aferezi olmak üzere 3 amaçla uygulanabilir. Çalışmamızda donör aferezinin hemostatik testler üzerine olan etkileri değerlendirildi. Literatüre bakıldığında single veya double işlem öncesi ve sonrası hemostatik testlerin karşılaştırılmasını içeren ayrı ayrı çalışmalar bulunduğu ancak double ve single işlemi karşılaştıran bir çalışma olmadığı gözlemlendi. Çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak hem işlem öncesi ve sonrası hemostatik parametreler değerlendirildi. Hem de iki işlem tipi arasında bu değerler açısından fark olup olmadığı karşılaştırıldı.

Nisan 2012 ile Nisan 2013 arasında Pamukkale Üniversitesi Hastanesi transfüzyon merkezine başvuran gönüllü aferez vericileri çalışmaya dahil edildi. Vericiler belirlenirken donör olma kriterleri esas alındı. Aferez toplama işlemi Amicus tp Separator cihazı ile yapıldı. İşlem öncesi ve işlemde 15 dakika sonrasında olmak üzere 2 kere kan numunesi alındı. Alınan örneklerden protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) ve trombosit fonksiyon testleri (KOLLAJEN, ADP, EPİNEFRİN, RİSTOSETİN) değerlendirildi. Trombosit fonksiyon testleri Chrono-log 560 CA cihazında değerlendirildi. İşlem öncesi trombosit fonksiyon testi normal olan bireyler çalışmaya dahil edilerek sadece işleme bağlı trombosit fonksiyon testlerinin değişiminin gözlenmesi amaçlandı.

Double ve single grubu arası verilerin analizinde Mann-Whitney U Wilcoxon testi, işlem öncesi ve sonrası değerlerin karşılaştırılmasında ise t testi kullanıldı. P değeri 0,05'in altında ise anlamlı olarak kabul edildi.

Single aferez işlemine alınan 39, double aferez işlemine alınan 38 olmak üzere toplam 77 donör çalışmaya dahil edildi. Vericilerin hepsi erkek cinsiyette olup yaş aralığı 19-54 arasında, yaş ortalaması $34,12 \pm 8,137$ idi. Single işlemde PT, INR değerlerinde işlem sonrasında anlamlı uzama gözlemlendi. Kollajen amplitud değerinde işlem öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık gözlenmedi (p: 0,390). aPTT, PT yüzdesi, ADP amplitud ve slope, kollajen slope, epinefrin amplitud ve slope, ristosetin

amplitud ve slope değerlerinde işlem sonrası azalma saptandı ve istatistiksel olarak anlamlıydı.

Double işlem öncesi ve sonrası kıyaslandığında PT, INR değerlerinde işlem sonrasında anlamlı uzama gözlemlendi. ADP amplitud ve slope, kollajen amplitud ve slope değerinde işlem öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık gözlemlenmedi. aPTT, PT yüzdesi, epinefrin amplitud ve slope, ristosetin amplitud ve slope değerlerinde işlem sonrası azalma saptandı ve istatistiksel olarak anlamlıydı.

Donörler işlem tipine göre double ve single olmak üzere 2 gruba ayrıldı. İki grubun işlem öncesi ve işlem sonrası laboratuvar değerleri karşılaştırıldı. PT, aPTT, INR, PT yüzdesi, yaş, boy, ADP amplitud ve slope, kollajen amplitud ve slope, epinefrin amplitud ve slope, ristosetin amplitud ve slope değerlerinde single ve double grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Çalışmamızda double veya single işleminde hemostatik parametreler ve trombosit fonksiyon testleri açısından anlamlı farklılık tesbit edilmemiştir. Benzer çalışmalar ile desteklenerek uygun olan vericilerde daha sık ve gönül rahatlığıyla double aferez işlemi uygulanabilir. Double aferez işlemi ile bir vericiden çift trombosit ürünü elde edilerek ihtiyaç duyulan daha fazla hastaya replasman yapılabilmesi sağlanabilir. Ayrıca kan bankasında single aferez işlemindeki gibi bir set kullanılarak çift ürün toplanması, maliyetin düşmesine ve kan bankasındaki görevli elemanların iş yükünün ve zaman kaybının azalmasına katkıda bulunabilir.

SUMMARY

Today, apheresis is used to mention about several processes including removal of whole blood or separation into components, one or more component collection/alteration of whole blood. It can be applied either for therapeutic apheresis, donor apheresis or stem cell apheresis. The effects of donor apheresis on hemostatic tests were evaluated in this study. When we look at the literature, while there are different studies including the comparisons of hemostatic tests in the single or double pre process, there aren't any studies comparing double and single process. In this study, different from other studies, both pre and post process hemostatic parameters are evaluated. In addition, regarding these values, whether there are any differences between these two process types or not is compared.

In this study, the volunteered Apheresis donors applying Pamukkale University Hospital Transfusion Center between April 2012 and April 2013 are involved. While determining the donors, the criterias of being a donor are considered. The act of collecting apheresis is carried out with Amicus Tp Separator device. Two sample blood is taken as pre- process and after the fifteen minutes of the process. From these patterns, protrombin time (PT), active parsiyel tromboplastin time (aPTT) and trombosit function tests (KOLLAJEN, ADP , EPİNEFRİN , RİSTOSETİN) are evaluated. Trombosit function tests are appraised in Chrono-log 560 CA device. By including the individuals whom trombosit function tests are normal, observing the changes in the trombosit function tests only depends on the process is aimed.

In the analyze of datas between double and single groups Mann-WhitneyU Wilcoxon test, in the comparison of values in the pre and post process T test were used. It is accepted as meaningful if P value is under 0,05.

Thirty- nine in the single apheresis process and thirty eight in the double apheresis process, seventy- seven donors were involved in the study. All the donors are male and the age range is between 19-24 and age average is $34,12 \pm 8,137$. In the single process, in the PT and INR values significant elongation is observed after the process. In the kollejen amplitude, any meaningful differences weren't seen in the pre and post of the process. (p: 0,390). In the aPTT, PT percent , ADP amlitude and

slope, kollajen slope, epinefrin amplitude and slope, ristosetin amplitude and slope values, decline in the post process was seen and it was meaningful statistically.

When double pre and post process was compared, in the PT and INR values, significant extension was observed. In the ADP amplitude and slope, kollajen amplitude and slope values, meaningful differences aren't seen in the pre and post process. In the aPTT, PT percent, epinefrin amplitude and slope, ristosetin amplitude and slope values, decline was seen after the process and it was meaningful statistically.

The donors were classified into two groups as double and single considering the process types. The pre and post process laboratory values of both groups were compared. Between the double and single group significant differences weren't seen in the PT , aPTT , INR , PT percent, age, height, ADP amplitude and slope, kollajen amplitude and slope, epinefrin amplitude and slope, ristosetin amplitude and slope values.

In this study, regarding hemostatic parameters and trombositi function tests, significant differences weren't seen in the double or single process. Double apheresis can be applied more frequently and peacefully in the suitable donors when supporting similar studies. With the help of double apheresis process, by obtaining double trombositi product from a donor, replacement can be provided to more patients needing. Besides, collecting double product by using a set like in the single apheresis process can contribute to the decline in the cost and the decrease in the workload of employers and time loss in the blood banks.

GENEL BİLGİLER

AFEREZ

Aferez Terminolojisi

‘‘Aferezis’’ yunanca kökenli bir kelime olup geniş olarak alma, uzaklaştırma anlamına sahiptir. Aferezis ve hemaferezis genellikle eş anlamlı kullanılmakla birlikte sıklıkla tercih edilen kelime aferez olmaktadır. Aferez günümüzde tam kanın uzaklaştırılması, çeşitli bileşenlere ayrılması, bir veya daha fazla bileşenin toplanması ve/veya değiştirilmesini içeren pek çok sayıdaki işlemde söz etmek için kullanılır (1,2).

Aferez uygulamaları hastalara ve sağlıklı donörlere yapılabilmektedir ve üç amaçla uygulanır:

1. Donör Aferezi: Kan komponenti gereksinimi olan hastalara vermek için sağlıklı donörlerden selektif olarak spesifik komponent ayrıştırılması ve komponent hazırlanmasıdır.
2. Terapötik Aferez: Hastadan tedavi amaçlı kandan selektif olarak kan komponentlerinden bir kısmının uzaklaştırılmasıdır (1,3,4).
3. Periferik Kök Hücre Aferezi: Otolog ve allojenik olmak üzere 2 çeşittir.

Diğer bir sınıflandırma ise aferez sırasında uzaklaştırılan komponente, yapılan işleme göre sınıflandırmadır. 3 ana bölümde toplanır (1,2,4).

Sitaferesis

Sitaferesis dolaşımda bulunan hücresel elemanların uzaklaştırılması veya toplanması amacıyla uygulanan işlemin genel adıdır.

A.1- Lökoferez: Lökoferez donör veya hastalarda lökosit toplanması ve uzaklaştırılması için yapılan aferez işlemlerine verilen genel addır.

a) Terapötik lökoferez: Kronik ve akut lösemilerde periferik kandaki beyaz küre sayısının aşırı derecede arttığı durumlarda (bu sayı özellikle 100.000 – 200.000 /MI üzerinde ise hastalarda lökostat, lösemik infiltrasyon , lösemik trombüs ve agregatlara yol açabileceği için) bunları önlemek amacıyla

lökositleri uzaklaştırmak için yapılan işlemdir.

b) Granülosit Aferezi: Uzayan nütropenilerde fatal enfeksiyonların tedavisi amacı ile sağlıklı dönerlerden granülosit toplanması işlemine denir. Sık kullanılan bir yöntem değildir.

c) Periferik Kök Hücre Aferezi: Solid organ tümörleri, akut ve kronik lösemilerde otolog ve allojenik amaçlı hematopoietik kök hücre nakilleri için kök hücre toplanması işlemidir.

d) Lenfosit Aferezi: Allojenik hematopoietik hücre nakli sonrası donör lenfosit infüzyonu amaçlı veya koruyucu bağışık yanıtın cevap vermediği ana dokunun tahribatı ile sonuçlanan hastalıkların tedavisinde lenfositlerin uzaklaştırılmasıdır. Kök hücre nakilleri dışında romatoid artrit ve multipl sklerozda kullanılmaktadır (1,2,4,5).

A.2- Eritrosit Aferezi: Hastanın ya da gönüllü vericinin kanını tıbbi bir cihazdan geçirmek sureti ile kırmızı kan hücrelerini kanın diğer bileşenlerinden ayıran, uzaklaştıran ve gerekli olduğu koşullarda kristalloid ya da kolloid solüsyonu ile değiştiren bir işlemdir. Orak hücreli anemide doku perfüzyonunun düzeltilmesi ve yenidoğanın hemolitik anemisinde uygulanan eritrosit değişimi esasına dayanan bir yöntemdir (2,4,5).

A.3- Trombosit Aferezi:

a) Terapötik Trombosit Aferezi: Hastanın kanından, kanının tıbbi bir cihazdan geçirilmek sureti ile trombositlerinin ayrılarak toplandığı ve hastanın kalan kanının kolloid ve/veya kristalloid solüsyon gibi replasman sıvısı eklenerek ya da eklenmeden tekrar geri verildiği tedavi amaçlı bir işlemdir.

b) Donör Trombosit Aferezi: Özellikle trombositopeni nedeni ile kanama riski yüksek lösemi hastalarında transfüzyon amacıyla sağlıklı donörlerden konsantre trombosit hazırlanmasıdır (1,2,4,5).

Komponent Değişimi:

Terapötik Plazma Değişimi: Bazı hastalıkların patogeneğinde etken olan plazma bileşenlerinin büyük hacimlerde hastadan alınması ve bunun yerine replasman sıvısının konması işlemidir. Aşağıda terapötik plazma değişimi endikasyonları belirtilmiştir (1, 2).

1. ABO uyumsuz hemotopoetik kök hücre transplantasyonu
2. ABO uyumsuz solid organ transplantasyonu
3. Ailesel hiperkolesterolemi
4. Akciğer allograft rejeksiyonu
5. Akut dissemine ensefalomyelit
6. Akut karaciğer yetmezliği
7. ANCA ilişkili hızlı ilerleyen glomerulonefrit (Wegener granülomatoz)
8. Anti-Glomerüler bazal membran hastalığı (Goodpasture sendromu)
9. Aplastik anemi; saf kırmızı hücre aplazisi
10. Babesioz
11. Diyabetik ayak ülseri
12. Dilate kardiyomiopati
13. Eritrositoz ve Polistemia vera
14. Fitamik asit depo (refsum) hastalığı
15. Fokal segmental glomeruloskleroz
16. Fulminan Wilson hastalığı
17. Gebelikte eritrosit alloimmunizasyonu
18. Guillain-Barre sendromu
19. Graft versus host hastalığı
20. HELLP sendromu
21. Hemolitik üremik sendrom
22. Herediter hemokromatoz
23. Hiperlökositoz
24. Hipertrigliseridemik pankreatit
25. İlaç ilişkili trombotik mikroangiopati (tiklopidin/klopidogrel)
26. İnflamatuvar bağırsak hastalığı
27. Kardiyak allograft rejeksiyonu
28. Katastrofik antifosfolipid sendrom
29. Koagülasyon faktör inhibitörleri
30. Kriyoglobulinemi
31. Kronik fokal ensefalit (rasmussen ensefalit)
32. Kronik inflamatuvar demyelinizan poliradikülönöropati (CIDP)

33. Kutanöz T hücreli lenfoma
34. Lambert-Eaton Myastenik Sendromu
35. Malarya
36. Malign romatoid artrit
37. Myastenia gravis
38. Monoklonal gamapatiye bağlı hiperviskozite
39. Multiple Skleroz
40. Myelom kast nefropatisi
41. Nöromyelitis optika
42. Orak hücreli anemi
43. Otoimmün hemolitik anemi
44. Paraneoplastik nörolojik sendromlar
45. Paraproteinemik polinöropatiler
46. Pemfigus vulgaris/ Büllöz pemfigoid
47. Perifer arter hastalığı (Arteriosklerozis Obliterans ~ ASO)
48. Posttransfüzyon purpura
49. Renal transplant
50. Sepsis
51. Sistemik lupus eritematozis (SLE)
52. Skleroderma
53. Streptokokal enfeksiyonlarla ilişkili pediatrik otoimmün nöropsikiyatrik bozukluklar (PANDAS) ve Sydenham chorea (SC)
54. Trombositoz
55. Trombotik trombositopenik purpura
56. Viral eradikasyon – uzaklaştırma
57. Yağ ilişkili makular dejenerasyon (YİMD)
58. Zehirlenmeler

İmmunoterapi / Plazmamodulator Tedavi:

Burada selektif olarak toplama/temizleme işlemi gerçekleşir

1- İmmunadsorbsiyon: Hastanın kanından ayrılmış plazmasını,

immunoglobulinlerini uzaklaştırmak için tıbbi bir cihazdan geçirmek sureti ile aktif bileşenine (örn. stafilokok protein A, poliklonal antikolar, triptofan & fenilalenin immobilize polivinilalkol jel) spesifik olarak bağlayarak uzaklaştırma kapasitesi olan bir işlemdir (1).

2- LDL Aferezi: Kandaki dūřuk yoėunluklu lipoproteinlerin seçilerek uzaklařtırılması ve kalan bileřenlerin tekrar geri verilmesidir. LDL kolesterolünü uzaklařtırabilen yūke baėlı (dekstan sūlfat ve/veya poliakrilat), boyut (duble membran filtrasyonu ~DFPP), dūřuk pH'da çökelti oluřumu (HELP) veya anti-Apo B-100 antikolarıyla immuno-adsorpsiyon gibi çeřitli araçlar mevcuttur (6,7).

3- Kaskad Filtrasyon/ Duple filtrasyon plazmaferez-DFPP: Temelinde ‘‘Filtrasyon Selektif Ayırma’’ işlemlerinden olan CF ve DFPP, birer terapötik plazmaferez işlemi olup, birbirinden işleme tabi tutulacak plazmanın filtre veya santrifūj ile ayrılmasına gōre farklılık gōsterir. Plazma filtre ile ayrılırsa işlem DFPP, santrifūj ile ayrılırsa CF olarak adlandırılır. Etki olarak birbirlerine yakın olmakla beraber hasta ihtiyacına ve/veya endikasyona ve/veya teknik ve aferez merkezi cihaz altyapısına gōre uygun olan metot kullanılabilir (1)

4-Reoforez: Hastanın kanından ayrılmıř plazmasını, kan reolojisini olumsuz etkilediėi dūřünōlen bileřenleri (fibrinojen, fibronektin, vWF, dolařımdaki immūn-kompleksler, LDL gibi) uzaklařtırmak/arındırmak için tıbbi bir cihazdan geçirmek sureti ile tekrar dolařıma dōndürōldūėu terapötik bir iřlemdir.

5-Ekstrakorporeal fotoferez: Hastanın kanından buffy-coat'un ayrıldığı; fotoreaktif bir bileşenle ultraviyole A işığına maruz bırakılarak (örn. fisoralen) ekstrakorporeal olarak tedavi edildiği ve ardından aynı işlem esnasında geri verildiği terapötik bir işlemdir. Fisoralen ve UVA birlikte hūcre mitoz inhibisyonu, T hūcrelerinde antijenik değişim, monositlerden TNF alfa salınımı ve dentritik hūcre modifikasyonu yaparak terapötik etkinlik sağlar. Kullanımı ilk kez derinin T hūcreli lenfomasında gündeme gelmiş, giderek otoimmun hastalıklar, transplantasyonda rejeksiyon ve ‘graft-versus-host’ hastalığı ve tedavinin problem olduğu daha birçok klinik durumda kullanılmaya

başlanmıştır (7,8). Değişik patojen maddelerin uzaklaştırılması için yeni aferez yöntemleri geliştirilmekte ve uzaklaştırılan maddeye göre isim verilmektedir.

TARİHÇE

İlk deneysel aferez 1660 yılında Dr. Richard Lower tarafından Oxford'ta köpekler kullanılarak manuel yöntemle denenmiştir (1,2). 1914 yılında Abel ve ekibi santrifüjleme yoluyla kan bileşenlerinin ayrılmasının ilk uygulamasını yapmıştır. Bu araştırmacılar üremik köpeklerde hayatta kalmanın plazma değişimi işleminin ardışık flebotomi oluşturarak olumlu etkisi olabileceğini gösterdiler (9). Daha sonraları santrifüj yöntemi ile kan komponentleri ayrılmaya başlandı. 1962 yılında aferez makineleri geliştirilmeye başladı. Bu makinelerde donör ya da hastanın kanı pompa yardımıyla alınıp makine içinde santrifüjleme metoduyla tam kanın ayrımı yapıyordu. Aynı yıllarda Solomon ve Fahey hiperviskozite sendromu olan bir hastada terapötik plazmaferez uyguladılar ve tıp dünyasında terapötik aferez dönemini başlattılar. 1966'da gerekli plastik kan torbaların ve bağlantı sistemlerinin geliştirilmesi ve santrifüjlemenin kullanılması ile tek oturumda komponent ayrımı sağlandı (9). 1971 yılında Dr. Cohn ve ekibi tarafından ilk otomatik trombosit aferezi, bir yıl sonra da Mr. Judson tarafından ilk lökoferez işlemi yapıldı. Yine aynı yıl Haemonetics (intermitant akım) Cobe ve Fenwall (devamlı akım) tarafından aferez cihazları piyasaya çıkmıştır. 1979'da ise bu cihazların daha gelişmiş modelleri olan ve bilgisayar programları desteğinde çalışan aferez cihazları kullanılmaya başlanmıştır (1). 1980'lerin son yarısı boyunca ve 2000'lere doğru devamlı yeni teknolojiler tanıtıldı. Lipid aferezi için kullanılan aferez cihazları (LDL Aferezi,DALI), fotoferez için ekstrakorporeal fotoimmunoterapi cihazı Therakos UVAR , immunadsorbsiyon uygulamaları için; Excorim, ProSORBA, Immunosorba cihazları geliştirildi. Günümüzde en sık kullanılan aferez cihazları arasında Cobespectra, Fenwal CS3000 Plus, Fenwal Amicus, Haemonetics MCS, HaemoneticsMCS Plus, Fresenius AS 104, Fresenius AS 204 yer almaktadır (1,9,10).

İŞLEM

Kanın komponentlere ayrılması kan hücrelerinin büyüklük ya da yoğunluklarının farklı özellikte olması esasına dayanılarak yapılır. Aferez üç temel işlem basamağından oluşur; kan komponentlerinin ayrılması, hedeflenen komponentlerin ayrılması ve son olarak da geriye kalan komponentlerin donör/hastaya geri verilmesidir. Kan komponentlerini birbirinden ayırmak amacıyla çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Günümüzde kullanılan üç teknik mevcuttur (1,2,11).

A.Santrifüj ile Ayırma;

Bu teknikte kan komponentleri özgül ağırlıklarına göre birbirinden ayrılırlar. Bu işlem manuel olarak yapılabilirdi gibi, aferez cihazlarında olduğu üzere otomatik olarak da yapılabilmektedir. Bir tüp içinde kan santrifüj edilecek olursa özgül ağırlıklarına göre hafiften ağıra doğru plazma, trombosit, mononükleer hücreler, granülosit ve eritrosit olarak sıralanır. Bu şekilde aferez cihazında santrifügasyon sonrasında ayrıştırılan kan komponentlerinden arzu edilen komponent plastik torbada toplanır, kalan komponent donöre/hastaya geri verilir (1,7,11).

Santrifügasyonla ayırım yapan cihazlar, aralıklı akım ve devamlı akımla çalışanlar olarak iki grupta toplanır. Aralıklı akım prensibi ile çalışan cihazlarda yüksek hacimde kan (400 – 700 ml) santrifüj bölümüne alınarak işlenir, istenen komponent ayrıldıktan sonra geri kalanı geri verilir. Bu şekilde kanın alınıp işlenip tekrar geri verilmesi sikluslar şeklinde tekrarlanır. Tek damar yolu ile çalışan bu cihazlarda hasta/donör açısından avantaj olmakla beraber aynı damar yolunun hem alış hemde dönüş yolu olarak kullanılması nedeni ile işlem süresi uzamaktadır. Küçük ve taşınabilir özelliği olan bu cihazlarda geniş hacimde kan vücut dışına çıkarıldığı için volüm değişikliğine bağlı kardiyovasküler yan etkiler sık izlenmektedir. Devamlı akım prensibi ile çalışan cihazlarda biri alış diğeri dönüş olan iki damar yolu ile çalışırlar. Alınan kanın işlenip geri verilmesi süreklilik gösterir. Bu cihazlar ile işlem

süreleri daha kısa sürmekte ve vücut dışı kan hacimleri daha düşük olduğu için kardiyovasküler yan etkiler daha az izlenmektedir (1,3,7,11).

B. Filtrasyon Ayırma;

Bu teknikte kan komponentleri büyüklüklerine göre birbirinden ayrılmaktadır. En küçük komponentleri (genellikle plazma) daha büyük komponentlerden (genellikle hücresel komponentler) ayırmak amacı ile içinde küçük delikler bulunduran yarı geçirgen membran kullanılır. Tam kan belirli basınç akımı ile belirli büyüklükte delikleri olan membrandan geçer, deliklerden daha küçük çapa sahip olan komponent membranın diğer tarafına geçmekte, çapı büyük olanlar ise iç kısımda kalarak ayrılma işlemi gerçekleşmektedir (11).

C. Adsorbsiyon İle Ayırma;

Tam kan ya da plazmadaki hastalığa yol açan patolojik yapıların uzaklaştırılmasıdır. Santrifüj ve filtrasyon yöntemlerine affinite kromatografi prensibi eklenerek spesifik zararlı yapılar vücut dışına alınır. Bu sistemde bir matriks içinde bulunan antijen, antikor, dextran sülfat ya da heparin gibi maddeler kandaki spesifik yapıları bağlayarak uzaklaştırır (11).

AMİCUS TP SEPERATOR CİHAZI

Çalışmada trombosit aferezi için amicus tp seperator cihazı kullanıldığı için bu cihaz hakkında bilgi verilecektir. Plazmaferez, trombosit aferezi, sitoferez, plazma değişimi ve mononükleer kök hücre toplanması işlemlerini yapabilen taşınabilir özellikte sürekli akım prensibi ile çalışan bir aferez cihazıdır. Cihazın eski modellerden farkı tek donörden double trombosit alınabilmesidir. Tek trombositte $3,3 \times 10^{11}$ plt 200-300 ml üründe elde edilirken, double trombositte $6,6 \times 10^{11}$ plt 400-500 ml üründe elde edilir. Ayrıca bu cihaz kök hücre aferezi için de tercih edilir. Bunun nedeni trombosit kontaminasyonunun çok az olması ve ürün volümünün ayarlanabilmesidir.

Aferez Donörü Olma Kriterleri

1- Donör Açısından;

- a- 18 – 60 yaş
- b- 60 kg ve üzeri vücut ağırlığına sahip olmalıdır. Double aferez işlemi uygulanacaksa 80 kg ve üzeri vücut ağırlığına sahip olmalıdır.
- c- Trombosit sayısı single aferez işlemi için $150.000/mm^3$ 'ün üzerinde double aferez işlemi için $250.000/mm^3$ 'ün üzerinde olmalıdır.
- d- Hematokrit düzeyi % 38'in ve hemoglobin düzeyi erkek için > 13.5 , kadın için > 12.5 olmalıdır.
- e- Vital bulgular: Nabız ritmik ve 50-100 vuru/dakika arasında olmalıdır. Yüksek egzersiz toleransı olan atletlerde dakikada 50 atımdan daha düşük olan nabız sayıları bile kabul edilebilir. Sistolik kan basıncı 180, diastolik kan basıncı 100 mm Hg'dan yüksek olmamalıdır. Donörün ölçülen ateşi 37.5 C yi geçmemelidir.
- f - Özgeçmişte serebral, kardiyak ve pulmoner hastalık öyküsü olmamalıdır.
- g - Hamile olmamalıdır.
- h - Son 5 gün içerisinde astilsalisilikasit kullanımı olmayan
- ı - Son 72 saat içerisinde NSAİ (nonsteroid antiinflamavur) kullanımı olmayan kişiler donör olarak tercih edilebilir.

2- Alıcı Sağlığı Açısından;

- a- Donörde akut hastalık olmamalıdır.
- b- Cilt: Donörün antekubital alanında akne, psöriatik lezyonlar ya da enjeksiyon izleri gibi izler bulunmamalı ve donörde herhangi bir cilt enfeksiyonu olmamalıdır.
- c- Kanser: Hematolojik malignite öyküsü olanlar donör olarak kabul edilemezler. Komplike olmayan lokal deri kanserleri bağış için engel oluşturmaz. Diğer kanser tiplerinde ise bağış kabulü, merkeze göre değişmektedir. Genel yaklaşım, tüm tedavileri bitmiş ve 5 yıldır hastaliksız olanların donör olarak kabul edilmesidir.

d- Kanama diyatezi öyküsüne sahip olan tüm donör adayları reddedilmelidir. Bu durumda aferez işlemi hem donör hem de alıcı için risk taşır.

e- Hepatit riski: Genelde, viral hepatit geçirmiş adaylar tüm hayatları boyunca kan bağışında bulunmamalıdır. Bunun istisnası yaşamın ilk 10 yılında hepatit geçirenlerdir. Hepatit atağı enfeksiyöz mononükleoz, sitomegalovirüs veya ilaç kullanımına bağılı olan kişiler de donör olarak kabul edilebilir. Aydınlatılmamış sarılık, karaciğer hastalığı öyküsü olanlar, anti-HCV ve HbsAg pozitif olanlar ve intravenöz ilaç bağımlısı olanlar yaşamları boyunca donör olmamalıdır. Hepatit virüsü ile enfeksiyon riski yüksek olan kişilerin bağış yapmaları 12 ay ertelenmelidir.

f- Dış ülkelere seyahat: Sıtma, Chagas hastalığı veya varyant Creutzfeldt-Jakob hastalığına (vCJH) yakalanma riski yüksek olan bölgelere seyahat sorgulanmalıdır.

g- Zührevi hastalık: Sifiliz tarama ve doğrulama testleri pozitif çıkan adayların, sifiliz ve gonore öyküsü olanların donör olmaları gerekli tedavinin tamamlanmasından sonra 12 ay süreyle ertelenir. Çünkü bu enfeksiyonlar HIV riskini artıran göstergelerdir.

h- HIV: Donörler HIV negatif olmalıdır. Homoseksüalite, paralı seks öyküsü olan, seksüel partneri ilaç veya kan ürünü kullananlar ile HIV pozitif kişi ile veya kan ürünleriyle teması olan adaylar temastan sonra 12 ay süre ile donör olamazlar.

3- Donasyon Sıklığı Açısından

Bir trombosit donörünün 2 trombosit aferezi arasında en az 48 saat süre geçmelidir. Haftada en fazla 2 kez trombosit verilebilir. Bir yılda ise maksimum 24 kez trombosit donörü olabilirler (15).

DONÖR AFEREZİ KOMPLİKASYONLARI

Her alanda olduğu gibi aferez işlemlerinde de komplikasyonlarla karşılaşılır. Komplikasyonların gelişmemesi için donörün işlem öncesi ayrıntılı

değerlendirilmesi büyük önem taşır. Aferez teknolojisinin gelişmesi ile donör komplikasyonlarında belirgin azalma sağlanmıştır (13).

Sitrat etkisi: Aferez işlemlerinde antikoagülasyona ihtiyaç duyulur. Ca^{++} iyonu şelasyonu yapan ve Ca^{++} 'a bağımlı pıhtılaşma faktör reaksiyonlarını bloke eden sitrat iyonu aferezde seçilen antikoagülan ajandır. Sitrat infüzyonu ile ortaya çıkan iyonize Ca^{++} 'daki azalma sitrat yan etkilerinden sorumludur. Tipik bir trombosit aferezi işlemi iyonize Ca^{++} da %25-30 oranında azalma ile sonuçlanır. İnfüze edilen sitratın dilüsyonu, yeniden dağılımı, karaciğerde metabolize edilmesi ve böbreklerden atılımı organizmayı aşırı hipokalsemiye karşı korur. Genellikle aferez sırasındaki geçici hipokalsemi iyi tolere edilir. Farklı çalışmalarda sitrat toksisitesi donörlerin sadece %8-25'inde görülmüştür. Günümüzdeki gelişmiş cihazlarla daha az sitrat kullanılmakta ve bazı cihazlarda kan hacmi hesaplamaları ile sitrat dozu ve hızı otomatik olarak sınırlandırılmaktadır, dolayısıyla günümüz teknolojisi ile sitrat toksisitesi çok azalmıştır. Göreceli artmış sorunlar aralıklı akım sistemleri kullanan cihazlarda daha sıktır. Geçici hipokalsemiye bağlı donörlerde peroral ve/veya periferik pareteziler, bulantı, baş dönmesi ve kasılmalar, ağır olgularda karpopedal spazm ve tetani görülebilir. Hafif olgularda tedavide total kan akış hızı veya tüm kana eklenen sitrat hızı cihazda düşürülmelidir. Uyuşma artar ve bulantı gelişirse semptomlar geçinceye kadar işleme ara verilebilir. Karpopedal, tetani bulgularında parenteral Ca^{++} verilmelidir. Oral Ca^{++} 'un aferez öncesi ve sırasında etkinliği gösterilememiştir (13,14).

Hemodinamik etkiler: Devamlı akım cihazlarına göre aralıklı akım cihazları daha fazla hemodinamik bozukluk yaratırlar. Basit bir trombosit aferezinde oldukça küçük net volüm açığı (yaklaşık 300 ml plazma) 60-100 dakika içinde ortaya çıkar. Dolaşan volümün azalması hipotansiyon gelişmesine neden olabilir. Azalmış dolaşan volüme kompensatuar cevap olarak kardiyak debiyi artırmak ve doku perfüzyonunu devam ettirmek için otonomik sempatik aktivite ile kalp hızı artırılır. Semptomatik donörde işleme ara verilip donör trendelenburg pozisyonuna getirilerek kan basıncı yükseltilmeye çalışılır. Gereğinde kristaloid kullanılır (1,13,14). Trombosit aferezi donörleri üzerinde

yapılan uzun dönem çalışmalar, sık donasyonun donörün iliği üzerine olan kötü etkisinin minimal olduğunu göstermiştir. Seri donasyonlarda hemoglobin, trombosit sayısı ve lökosit sayısında anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (13).

Damar yolu problemleri: Damar yolu girişimleri ile ilişkili problemler sık görülür. Sağlıklı donörlerde uzun süreli kateter giriş yeri yoktur ve periferel venöz girişim tercih edilir. Aferez işleminin uzun süreli olması ve büyük iğne varlığı nedeni ile venöz giriş yerinde anjiospazm, tıkanıklık, işlem sonrasında hematom oluşumu ve enfeksiyon gelişebilir (1,13).

Vazovagal reaksiyonlar: Kan donasyonunda görülen en sık reaksiyonlar olan vazovagal reaksiyonlar aferez sırasında ve sonrasında ortaya çıkabilir. Emosyonel stres, iğne veya kan korkusu parasempatik cevabı tetikleyerek kalp hızını ve kan basıncını azaltır. Donörde solukluk, terleme, huzursuzluk, baş dönmesi, hipotansiyon ve bradikardi gözlenir. Bu ataklar donörü supin pozisyonunda trendelenburg pozisyonuna getirerek tedavi edilebilir. Atak tamamen düzelene kadar da işleme son verilir. İzotonik solüsyonlar yararlı olabilir (1,13,14).

Yukarıda sayılan komplikasyonların dışında donördeki anksiyeteye bağlı hiperventilasyon, respiratuar alkaloz görülebilir, torbaya solutularak tedavi edilebilir. Çok çok nadir olarak aferez cihazındaki problemlere bağlı olarak hemoliz ve hava embolisi de görülebilir (13,14).

TROMBOSİT FİZYOLOJİSİ

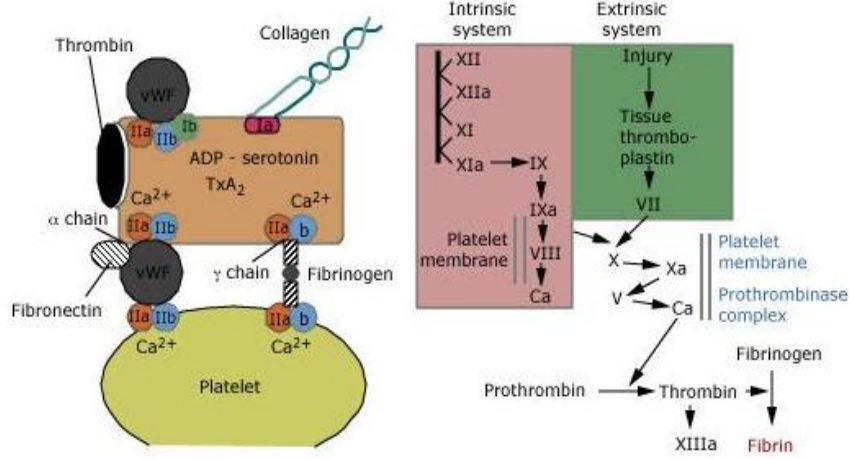
Trombosit, disk yapılı, dolaşımında çekirdeksiz olarak bulunan bir hücre olup hemostaz mekanizmalarının başlamasından sorumludur. Dört majör trombosit fonksiyonu mevcuttur (31):

- 1) Trombosit adhezyonu
- 2) Trombosit aktivasyonu ve sekresyonu
- 3) Trombosit agregasyonu
- 4) Koagülasyon faktörleri ile etkileşim

Trombosit Fonksiyonları

Normalde, dolaşan trombositler subendotelyal matriks ile temas etmez. Ancak vasküler endotelyal bütünlükte hasar meydana gelirse, trombositler subendotelyal kollajen fibriller ile etkileşime geçer. Trombositin kollajen ile teması, sadece adhezyon için yüzey oluşturmakla kalmaz aynı zamanda trombosit aktivasyonunu uyarır. Bu olay (trombositin subendotelyal kollajene adhezyonu), trombositin şekil değiştirmesine, kollajen fibrilin uzunluğu boyunca yayılmasına ve dolaşıma tromboksan A2 (TxA2) ve ADP sekrete etmesine neden olan bir takım sinyal yollarını tetikler. Salınan TxA2 ve ADP komşu trombositleri stimüle ederek aktive eder ve onlarında ADP ve TxA2 sekrete etmelerini sağlamış olur. Aktive trombositler sadece TxA2 ve ADP sekrete etmez, aynı zamanda trombosit yüzeyinde bulunan bir integrin olan Glikoprotein IIb/IIIa reseptörleri ile dolaşımda bulunan koagülasyon proteini olan fibrinojene direk bağlanır (32,33). Fibrinojen eşzamanlı olarak iki GpIIb/IIIa reseptörüne bağlanabildiği için iki trombosit arasında köprü vazifesi görebilir. Bu trombosit-fibrinojen-trombosit bağlantısı trombosit agregasyonunu başlatır (34). Her trombosit, yüzeyinde yaklaşık olarak 40.000 ile 80.000 arasında GpIIb/IIIa reseptörü taşır. Bu nedenle aktivasyon bölgesinde büyük trombosit agregatları oluşur (35,36). Son olarak büyüyen trombosit agregatları, çapraz bağlanan fibrinojen ile satibilize edilir.

Kollajen, TxA2 ve ADP'nin yanı sıra, hasar bölgesindeki başka agonistler de trombositleri aktive edebilir. Endotelyal hücreler dışındaki tüm hücrelerden sentezlenen doku faktörü, endotelyal hasar olması durumunda, subendotelyal bölgede kan ile temasa geçer. Bu temas sonucunda, doku faktörü, faktör VIIa'yı aktifleştirip pıhtılaşma kaskadını ve sonunda da, en güçlü trombosit agonistlerinden biri olan trombin üretimine neden olmaktadır (Şekil-2).



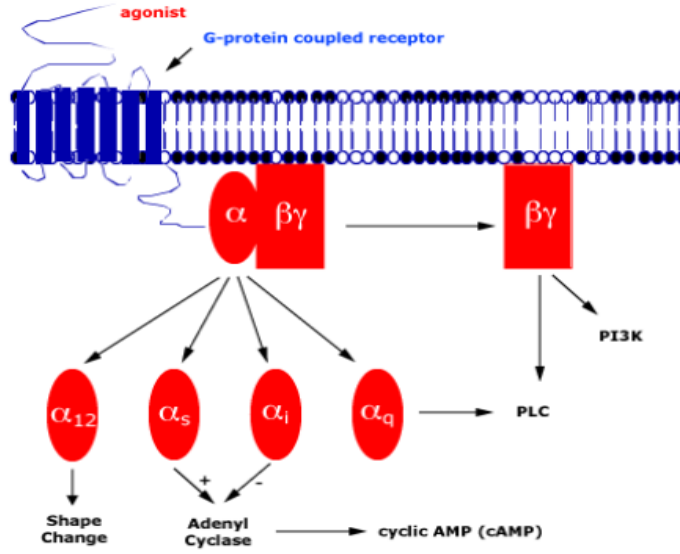
Şekil 1 : Trombosit aktivasyon yolları (44)

Trombosit Agonistleri ve Reseptörleri

Trombin, ADP, TxA₂ ve Epinefrin gibi pek çok trombosit agonistleri, trombosit membranında bulunan yüzey reseptörlerini aktive eder. Bu reseptörlerin stoplazmik yüzeyleri heteromerik G proteinleri ile ilişkidir. Bu G proteinleri GTP bağlayan alfa subuniti ve beta-gama heteromerlerinden meydana gelir (Şekil-3) (37).

GDP'nin alfa subünitesine bağlı olduğu durumlarda, G proteinleri inaktiftir. Agonist trombosit yüzey reseptörlerini stimüle ettiğinde G proteinlerine bağlı bulunan GDP, GTP ile yer değiştirir. G proteinlerine bağlı reseptörler kısıtlı bir aktivasyon süresine sahiptir. Aktivasyondan hemen sonra fosforile olur veya endositozla temizlenip aktivasyon süreci biter.

G alfa sunitlerinin iki farklı formu mevcuttur: s (stimüle eden) ve i (inhibe eden). "s" sınıfı cAMP üretimini artırırken, "i" sınıfı cAMP üretimini azaltır (38). Trombosit agonistleri bazen güçlü ve zayıf olarak sınıflandırılır.



Şekil 2 : G proteinine bağlı trombosit reseptörleri

Agonistler (trombin, kollajen) fosfoinozid hidrolizini uyarır ve siklo-oksijenaz inhibitörlerinden pek etkilenmez. Daha zayıf agonistler (ADP, epinefrin) fosfoinozid hidrolizini çok fazla etkilemez ve siklooksijenaz inhibitörlerinden oldukça etkilenir.

A) **Kollajen** : Subendotelyal kollajenin, hem trombosit adezyonu için substrat hemde güçlü bir trombosit agonisti olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Kollajen – trombosit interaksyonu neticesinde fosfoinozid hidrolizi , TxA₂ oluşumu, protein fosforilasyonu ve sitozolik serbest kalsiyumda artış meydana gelir. Tıpkı trombinde olduğu gibi, kollajen aracılı trombosit aktivasyonu sadece TxA₂ üzerinden olmadığı için siklo-oksijenaz inhibitörlerinin bu yanıt üzerine etkisi azdır. Son yıllarda trombosit yüzeyinde iki farklı kollajen reseptörü gösterilmiştir (39).

Glikoprotein Ia/IIa — VLA-2 olarak da bilinir. Esas görevi trombosit ile kollajen arasındaki adezyonu sağlamaktır (40). Edinsel olarak GpIa/IIa eksikliği hafif kanama diyatezine neden olur (41).

Glikoprotein VI — Hafif kanama diyatezi olup GpIa/IIa miktarı normal olan şahıslarda trombosit glikoprotein VI (GpVI) düzeyinin oldukça düşük olduğu izlenmiş , bu da GpVI'nin önemli bir kollajen reseptörü olduğunu düşündürmüştür (42). GPVI primer kollajen agonist reseptörüdür ve kollajen

aracılı trombosit agregasyonu ve sekresyonundan sorumludur. Aynı zamanda düşük shear strese kollajen adezyon reseptörü olarak da görev yapmaktadır.

B) Adenozin Difosfat (ADP) : ADP, trombositlerin yoğun granüllerinde depolanır ve trombosit aktivasyonu ile salınır. ADP, G proteini ile ilişkili iki purinerjik reseptör üzerinden etki gösterir: P2Y1 ve P2Y12. ADP trombosit P2Y1 – G-alfa-s proteinlerini stimüle ettiğinde fosfoinozitid hidrolizi, TxA2 oluşumu, protein fosforilasyonu ve sitozolik serbest kalsiyumda artış meydana gelir. ADP, P2Y12 – G-alfa-i reseptörleri üzerinden de cAMP oluşumunu azaltmaktadır. Tam bir ADP yanıtı için her iki reseptörde uyarılmalıdır (43).

C) Epinefrin: Trombosit agregasyonunu indükleyen zayıf uyarıcı ajanlardan biridir. Aynı zamanda diğer uyarıcı ajanların agregan etkilerini potansiyalize ettiği de gösterilmiştir. Primer agregasyonu takiben gerçekleşen sekresyona bağımlı sekonder agregasyon, epinefrinin optik agregometredeki tipik bifazik agregasyon eğrisini verir (16,18). Epinefrin trombosit yüzeyindeki α 2A adrenerjik reseptörleri üzerinden Gi proteininin aktif alt birimi olan $G_{i\alpha 2}$ proteinini aktive eder ve AC inhibe olur. cAMP'nin azalması trombosit aktivasyonu için yeterli olmasa bile diğer uyarıcı ajanların düşük konsantrasyonlarda agregasyon oluşturmalarını sağlar. Epinefrinin AC'ı inhibe etmesinin yanı sıra tam olarak bilinmeyen yollar üzerinden PLC'yi aktive ettiği, TxA2 sentezini arttırdığı ve granül sekresyonuna neden olduğu da gösterilmiştir (17,19,20). Patofizyolojik şartlarda lokal olarak artan epinefrin ve norepinefrinin, trombositlerin agregasyon yanıtını arttırdığı ve trombotik riskin artmasına sebep olduğu düşünülmektedir (16).

Bazı klinik durumlarda özellikle myeloproliferatif hastalıklarda, trombositlerin epinefrine karşı yanıtının azaldığı bilinmektedir (21-24). Sağlıklı insanlarda yapılan trombosit agregasyon çalışmalarında epinefrine karşı yanıtın herkeste aynı olmadığı, yanıtın azalmasının yanı sıra yanıtızlığın da olduğu gösterilmiştir. Farklı etnik topluluklarda ve ülkelerde yapılmış olan çalışmalarda her 3–6 kişiden birinde trombositlerin epinefrine yanıtız olduğu bildirilmiştir. (25-28) Epinefrine yanıtızlık gösterenlerin ADP'ye karşı da agregasyon yanıtının azaldığı gösterilmiştir (26,29).

D) Ristosetin: Trombositopeni yapıcı etkisi sebebi ile tedavide artık kullanılmayan bir antibiyotik olan ristosetin güçlü bir trombosit aggregasyon yapıtıcı ajandır. Bunun etki mekanizması diğer agregan ajanlardan farklıdır. vWF'ün GPIb/IX/V kompleksine bağlanmasına aracılık eder. Normal sonuç sağlanabilmesi için fonksiyonel vWF ve normal GPIb/IX/V gereklidir. Ristosetin ile vW hastalığı ve Bernard-Soulier sendromu gibi trombosit fonksiyon bozukluğu saptanabilir. Ristosetin ile PRP karşılaştırılmasında kısa bir başlangıç fazını büyük bir yanıtın izlediği aggregasyon eğrisi çizilir.

Trombosit Fonksiyon Testleri

Trombosit fonksiyon ölçüm metodları aşağıdaki tabloda özetlenmiştir. Çalışmamızda turbidometrik aggregometre (optik aggregometre) kullanıldığı için detaylı bahsedilecektir.

Optik agregometreler : Modifiye edilmiş spektrofotometrik aletlerdir. Trombositten zengin plazmanın belirli bir hızda karıştırılırken uyarıcı ajanın eklenip trombositlerin agregatlar oluşturması ile ışık geçirgenliğindeki değişikliğin ölçülmesi prensibi ile çalışırlar. Kan alımından sonra test öncesinde 30 dk beklenilmeli (bu sırada trombositler fonksiyon kazanırlar) ve mutlaka 3 saat içinde test tamamlanmalıdır. Test için kontrol ve hasta örnekleri alınarak 37 °C'de 10 dk inkubasyon kuyularında test öncesi bekletilir. Alet 800-1200 rpm ile dönerek trombositlerin süspansiyon halinde kalmasını sağlar. Daha sonra agonist (agregan ajan) karışıma konularak reaksiyon başlatılır. Aggregasyon 6-10 dk'da tamamlanır.

Aggregometre PRP ile yapılacaksa özel fotometre kullanılır. Yaklaşık olarak örnek içinde 300×10^9 trombosit olması istenildiğinden gerekirse PPP (trombosit fakir plazma) ile karıştırılır. Sonra örnekten beyaz ışık geçirilir. Geçen ışık bir ışık toplayıcıda toplandığında agonist eklenmeden önce geçiş %0'dır. Örneğe agonist eklendikten sonra ışık geçirmesi değerlendirilir. Agonist eklendiğinde trombositler önce diskoid yapıdan sferik hale döner ve aggregasyon olur böylece ışık geçirmesi artar.

Tablo 1 : Platelet fonksiyon ölçüm metodları

Test	Fizyoloji	Avantaj	Dezavantaj
Türbidometrik Aggregometre	Platelet agregasyonu	Altın standart	Yüksek örnek hacmi Hazırlık Zaman alıcı
İmpedans Aggregometre	Platelet agregasyonu	Tam kan ölçümü	Yüksek örnek hacmi Hazırlık Zaman alıcı
Verify Now	Platelet agregasyonu	Basit,hızlı Düşük örnek hacmi Tam kan ölçümü	Htc ve plt sayısı Limitasyonudur
Plateletworks	Platelet agregasyonu	Minimal örnek hacmi Tam kan ölçümü	Yeterli çalışma yok
TEG	Pıhtıya Plt katkısı	Tam kan ölçümü Pıhtı hakkında bilgi	Yeterli çalışma yok Pipet gerekli
İmpact Cone and Plate(let) Analyzer	Akıma bağlı platelet adezyonu	Hızlı ve basit Düşük örnek hacmi Hazırlık yok Tam kan ölçümü	Yaygın kullanımı yok Pipet gerekli

Trombosit GpIIbIIIa trombosit P- Selectin Lökosit – trombosit agregatları	Aktivasyona bağlı Plt Yüzey değişikliği	Düşük örnek hacmi Tam kan ölçümü	Hazırlık , teknisyen Flow sitometri
VASP	Aktivasyona bağlı sinyal	Hedef P2Y12 Düşük örnek hacmi Tam kan ölçümü	Hazırlık , teknisyen Flow sitometri
PFA-100	Akım hızına bağlı Plt tıkaçı	Hızlı ve basit Düşük örnek hacmi Hazırlık yok Tam kan ölçümü	Pipet gerekli Klopidogrel için uygun değil Düşük örnek hacmi VWF ve Hb dikkat

Testlerde en sık kullanılan agonistler ADP, kollajen, araşidonik asit, epinefrin, trombin ve ristosetindir. ADP ve epinefrin için optimal agregasyon yanıtı bifazik bir yapı oluşturur. Agregasyonun ilk dalgası GPIIb/IIIa membran reseptörlerinin aktivasyonunun ve takiben trombositlerin fibrinojen aracılığıyla birbirine bağlanmalarının sonucudur. Agregasyonun ikinci dalgası ise trombosit granüllerinin boşalması ve bunların etkisi ile agregasyonun güçlenmesi ile oluşur. Araşidonik asit, kollajen ve trombin ise bir tane agregasyon dalgası oluştururlar. Diğer önemli agonist olan ristosetin vWF'ün GPIb/IX/V kompleksine bağlanmasına aracılık eder. Agregasyon çalışması ristosetin değişik konsantrasyonları ile yapılarak, ristosetine olan duyarlılık test edilebilir. Normal sonuç sağlanabilmesi için fonksiyonel vWF ve normal

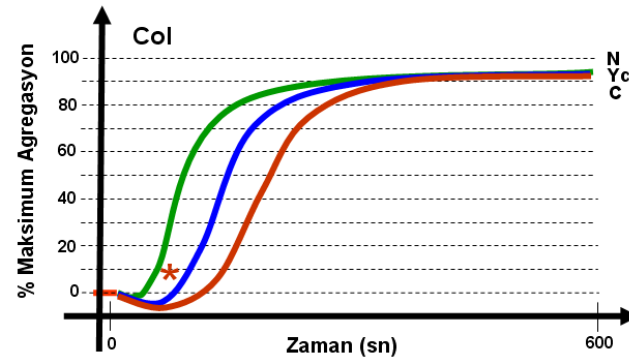
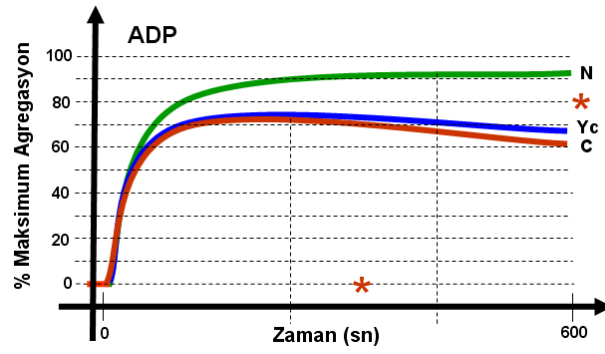
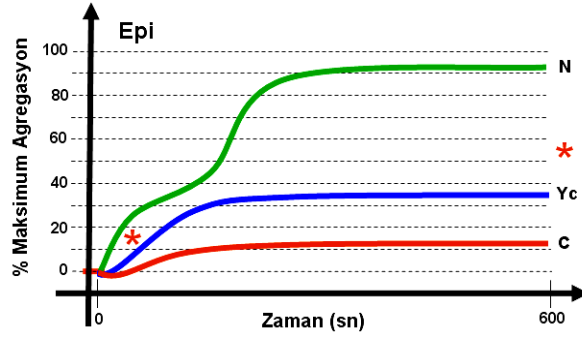
GPIIb/IX/V gereklidir. Bu nedenle ristosetin ile vWF hastalığı ve Bernard-Soulier sendromu gibi trombosit fonksiyon bozukluğu saptanabilir.



Şekil 3: Chrono-log 560 CA

Tablo 2 : Trombosit agonistleri ve yolakları

AGONİST	KONSANTRASYON	YOLAK
Trombin	0,3 ü / ml	Direkt salınım
ADP	10 mcm	GPII a III b
ADP	5 mcm	ADP salınımı
Epinefrin	10 mcm 2 mcm	ADP salınımı
Kollajen	5- 10 mcm/ ml	Membran fosfalipaz
Araşidonik asit	1 Mm	siklooksijenaz
Ristosetin	1 mg / ml	agglutinasyon



Epi: epinefrin, Kol: kollajen

N; epinefrine cevabı normal,

C: cevapsız, Yc: yarıcevaplı

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılıklar.

Şekil 4 : Trombositlerin Epi, ADP ve Kol'e yanıtlarının optik agregometre ile gösterilmesi.

Hemostaz

Hemostaz; kanın dolaşımında sıvı halde kalmasını sağlayan fizyolojik mekanizmadır. Kanın pıhtılaşması (hemostaz) ve pıhtının erimesi (fibrinoliz) süreçleri birbiri ile yakından ilişkilidir ve sisteme ait kavram ve kuramlar yeni bilgiler ışığında sürekli değişim içindedir. Sistemin karmaşıklığı, çok sayıdaki hastalığı ve bu hastalıkları saptamada kullanılan testleri ile kafa karıştırıcı olabilir. Hemostaz ile koagülasyon zaman zaman aynı anlamda kullanılmakta ise de koagülasyonun hemostazın sadece bir fazı olduğu unutulmamalıdır. Hemostaz mekanizmasının üç önemli komponenti, vasküler yapılar, koagülasyon sistemi ile birlikte trombositler ve fibrinolitik sistemdir (48,49). Hemostazı sağlamak için bu sistemler denge halinde olmalıdır. Bu dengenin bozulması anormal tromboz veya kanamaya neden olabilir (50,51). Hemostaz sisteminin iki temel özelliği vardır:

1-Düzenleme ve Kontrol Mekanizmaları

- Hemostazda görev alan her sistem, bir başka karşıt işlev gören veya inhibitör sistemle dengelenmiştir.
- Çok sayıda negatif geri besleme yolları (feedback loop) vardır.
- Her sistem karşıt sistemi ile eş zamanlı faaliyete geçirilir. Çoğu kez bir sistem uyarıldığında karşıt sistemini kendi devreye sokar.

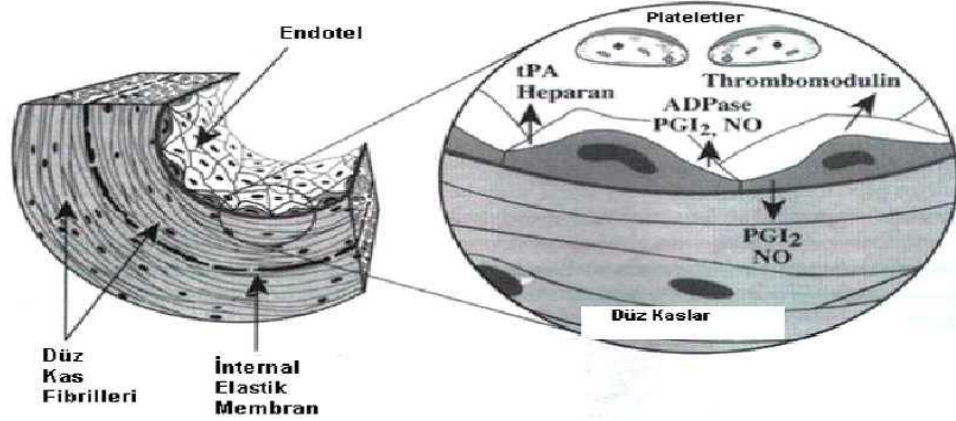
2-Yüzey Bağımlılığı

- Hemostaz bir fosfolipid yüzey üzerinde işlev görmek üzere tasarlanmıştır. Bu sayede pıhtılaşma sadece hasarlanmış yüzeye sınırlı kalır ve tüm dolaşım sistemini etkilemez. Trombosit yüzeyindeki fosfolipidler koagülasyon için primer pıhtılaşma alanını oluşturur.

Hemostazda Endotel Hücrelerinin Yeri

Endotel hücreler sadece birer pasif damar duvarı elemanı olarak görülmemelidir. Tam tersine bu hücreler hemostaz sürecinin aktif katılımcıdır. Özellikle de koagülasyonun önlenmesinde önemli rol oynarlar.

Endotelial hücre yüzey molekülleri: Endotelial hücreler koagülasyonun düzenlenmesinde önemli görevlere sahip birçok molekülü yüzeylerinde eksprese ederler. Bunlara örnek olarak heparan sülfat ve trombomodulin verilebilir.



Sekil 5 : Endotelial Yüzey Molekülleri ve Metabolik Ürünler

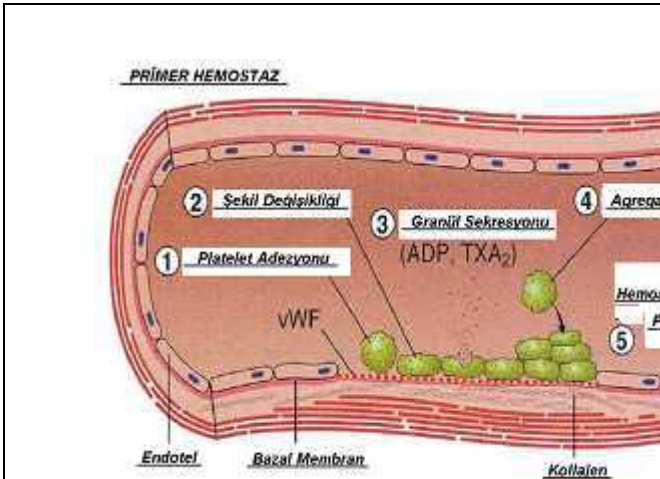
Endotelial hücre metabolik ürünleri: Endotelial hücreler trombozun engellenmesinde kritik öneme sahip bir çok metabolik molekül üretirler. Fibrinolitik sistemi faaliyete geçiren doku plazminojen aktivatörü (t-PA), TF-FVIIa-Xa kompleksi üzerinden koagülasyonu inhibe eden TFPI ve potent bir vazodilatatör ve trombosit antagonisti olan prostasiklin (PGI₂) bunların bazılarıdır. Ayrıca önceleri endotelial hücre kökenli gevşetici faktör (endothelial-derived relaxing factor (EDRF)) olarak bilinen ve potent bir vazodilatatör ve trombosit antagonisti olan NO (nitrik oksit) ve bir vazokonstriktör olan endotelin maddesini de üretirler (Sekil 6) (47). Endotelden üretilen ADM ise NO üzerinden trombosit aktivasyonu ve agregasyonunu inhibe eder (45,46).

Hemostatik süreç aslında bir bütün olmasına rağmen klinik pratikte primer ve sekonder hemostaz olarak alt aşamalarda incelenebilir. Damar hasarının olduğu bölgede trombositlerin tıkaç oluşturmasına primer, bunu

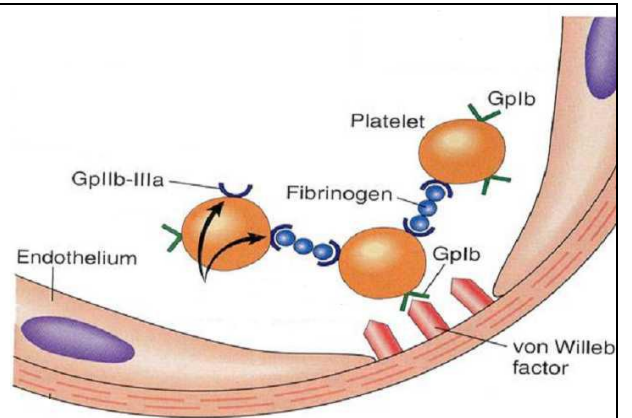
takiben koagülasyon sisteminin aktif hale gelerek fibrin pıhtısını oluşturmasına sekonder hemostaz adı verilir (48).

Primer Hemostaz,

Trombositlerin ve endotel hücrelerinin aktivasyonu ile gerçekleşir (Sekil 7) (48). Trombositler hasarlı bölgeye gelerek, yapışma (adezyon), granül içeriklerin ortama salgılama (sekresyon) ve kümeleşme (agregasyon) fonksiyonlarını yerine getirirler. Trombositler hasar sonucu açığa çıkan vasküler subendotelial bölgedeki kollajene direk glikoprotein Ia/IIa reseptörü aracılığı ile veya glikoprotein Ib-IX/V reseptörü ile endoteldeki von Willebrand faktöre (vWf) bağlanarak yapışırlar. Takiben trombositler granül içeriklerini salgılayarak yeni trombositlerin aktif hale gelmesini sağlarlar. Aktive olmuş trombositler glikoprotein IIb/IIIa reseptörleri ve fibrinojen aracılığı ile kümeleşerek primer hemostatik tıkaçı oluştururlar (Sekil8) (50). Eğer endotel hasarı küçük ise oluşan trombosit tıkaçı kanamayı durdurmakta yeterli olabilir, ancak daha büyük yaralanmalarda koagülasyon proteinlerinin de aktive olarak sekonder hemostazı başlatması gerekir (52).



Sekil 6 : Primer Hemostaz



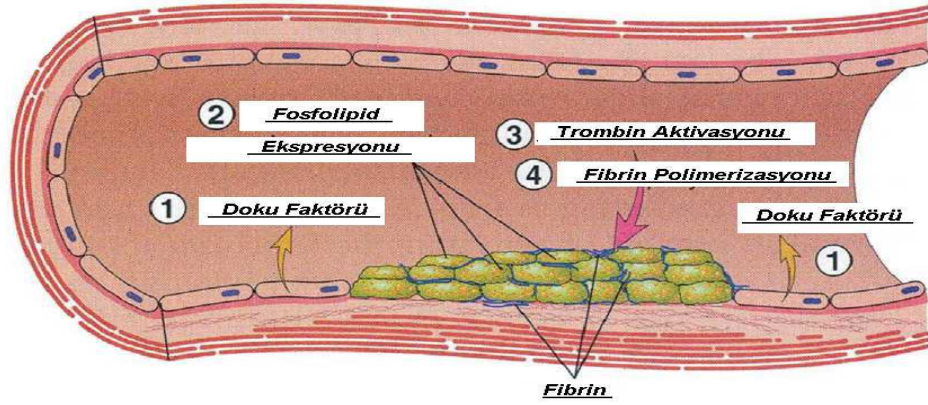
Sekil 7: Trombosit Adezyon ve Agregasyonu

Sekonder Hemostaz

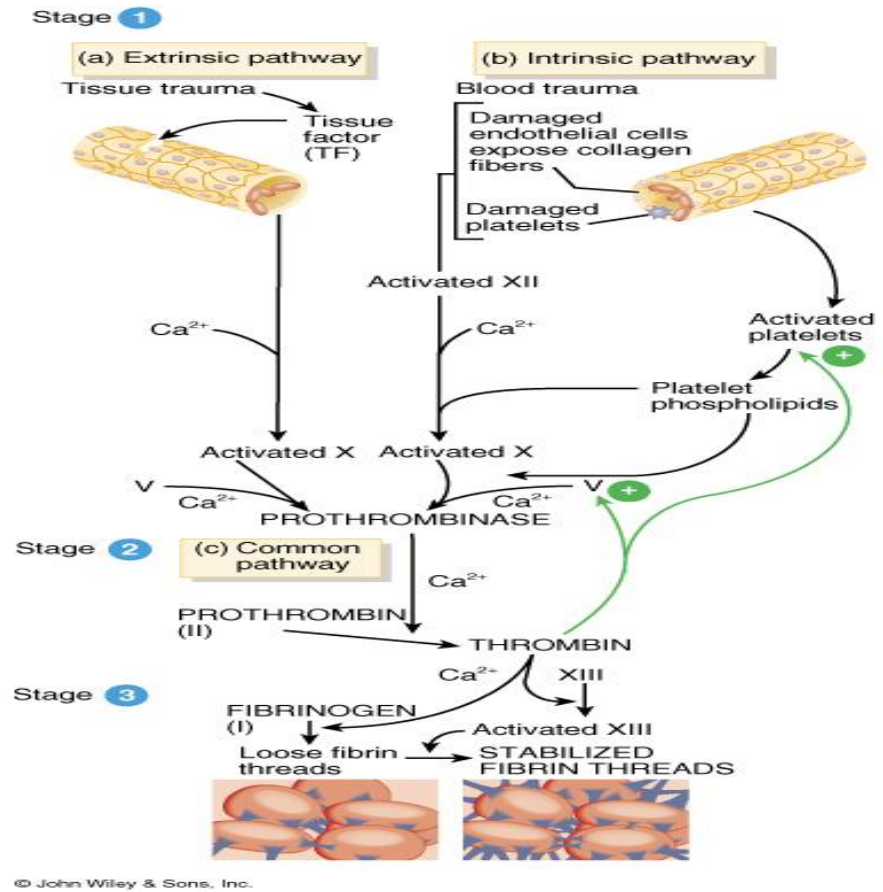
Başlıca bileşenleri koagülasyon ve fibrinolitik sistemlerdir. Eski yıllarda koagülasyonun FXII'den başlayarak intrinsik yoldan veya FVII'den başlayarak ekstrinsik yoldan aktive olduğu kabul ediliyordu. Günümüzde artık tek bir koagülasyon yolu olduğu, eskiden intrinsik yol diye tanımlanan sürecin basit bir laboratuvar artefakından kaynaklandığı ve pıhtılaşma sisteminin in vivo şartlarda, sadece TF üzerinden aktive olduğu anlaşılmıştır (Sekil 9) (48,53).

Koagülasyon sisteminin fizyolojik başlatıcısı olan TF, FVIIa ile birlikte görev yapan 45 kDa ağırlığında bir membran reseptörüdür. Perivasküler subendotelial fibroblastlar, monositler ve nötrofiller başlıca TF kaynaklarıdır (53). Damar hasarı, endotoksinler, infeksiyon, inflamasyon ve kanserler TF salınımını uyarabilir ve sekonder hemostazı başlatabilirler (50). TF-VIIa kompleksi (ekstrinsik tenaz), FX ve FIX'u aktive eder. FXa, aktive FV, kalsiyum ve fosfolipid (protrombinaz kompleks) varlığında protrombin trombin'e dönüştürülür (48). FX'un sürekli aktivasyonu ayrıca FIXa-FVIIIa kompleks (intrinsik tenaz) aktivitesine de gereksinim duyar. Diğer taraftan aktive olan FIXa, FVIIIa, fosfolipid ve kalsiyum varlığında FX'u aktive ederler. Her iki tenaz kompleks aktivitesi de fosfolipid bağımlıdır ve ayrıca ortamda kalsiyum bulunması gereklidir. Aktive olmuş trombositlerin yüzeyi negatif yüklü fosfolipidlerden zengindir. Bunlar pıhtılaşma sistemi faktörleri ile birleşerek reaksiyonların devamını sağlarlar. Protrombinaz kompleksi (FXa, FVa, membran fosfolipidleri, kalsiyum), protrombin (FII)'i trombin (FIIa)'e çevirir. Ortak yoldan devam eden reaksiyonlar sonucunda oluşan fibrin polimerize olur ve FXIIIa tarafından çözünür olmayan fibrin pıhtısını oluşturur (Sekil 10) (51). Trombin, koagülasyon sisteminin başlıca etkin molekülüdür. Trombin, koagülasyon kaskadını retrograd olarak aktive ederek (FVIII, FV, FXI) tenaz komplekslerini uyarır. Fibrinojeni fibrine çevirir. FXIII'u aktive ederek stabil fibrin oluşmasını sağlar. Trombin, ayrıca potent bir trombosit agonistidir (52). Bunun yanında monositler ve granüositler için kemoatraktan bir molekül olduğundan ek TF kaynakları sağlar. Düz kas kontraksiyonu ve proliferasyonu yaparak vasküler endotel üzerinden de primer hemostazı uyarır (53,54).

SEKONDER HEMOSTAZ



Sekil 8: Sekonder Hemostaz



Sekil 9: Koagülasyon Kaskadı

Koagülasyon kaskadı, aktivatör ve inhibitörlerle çok sıkı denetlenen bir sistemdir. Bu reaksiyonlar devam ederken, pıhtılaşmayı sadece gerekli bölgeye sınırlamak için doğal koagülasyon inhibitörleri devreye girer. Trombin eş zamanlı olarak endoteldeki reseptörü, trombomoduline bağlanarak vücuttaki en güçlü antikoagülan süreçlerden birisi olan protein C antikoagülan yolunu başlatır (49). Trombin-trombomodulin kompleksinin protein C'yi aktive etme sürecinde endotelial protein C reseptörü (EPCR) de kolaylaştırıcı bir rol üstlenir. İnflamasyon ve endotoksinler de bu süreci uyarabilirler. Aktive protein C, protein S varlığında FVa ve FVIIIa'nın inaktivasyonunda görev alır. Dolaşımdaki protein S'in önemli bir kısmı bir akut faz reaktanı olan C4b-binding protein ile taşınır. Bu nedenle infeksiyon, inflamasyon, kanser gibi akut faz yanıtını uyan patolojik durumlarda protein S düzeyi azalabilir (49). Diğer doğal koagülasyon inhibitörleri, anti-Xa ve anti-IIa özelliklerine sahip AT ve TF-FVIIa kompleksini inaktive eden TFPI'dir. TFPI bu inaktivasyonu 2 basamakta gerçekleştirir. Öncelikle FXa'ya bağlanarak kalsiyum varlığında FX inhibisyonunu gerçekleştirir. Ardından TFPI-FX kompleksi FVIIa inhibisyonu yapar. Heparin ve düşük molekül ağırlıklı heparin (LMWH) endotel havuzunda bulunan TFPI'nın salınımını potent biçimde uyarır. Böylece heparinler hem AT üzerinden hem de TFPI üzerinden antitrombotik-antikoagülan özelliklerini gösterirler. TFPI molekülleri, ayrıca trombositlerin alfa granüllerinde bulunur ve trombosit aktivasyonu sırasında da salınırlar (54,55).

Koagülasyon süreci, doğal koagülasyon inhibitörleri yanısıra fibrinolitik sistem ile de dengelenir. Fibrinolitik sistemin amacı, fibrini parçalamaktır. Bu süreci aktif enzim plazmin ile yapar. Plazminojen ön-enziminin aktivasyonu ile plazmin oluşur. Bu süreci katalizleyen t-PA ile onu inaktive eden PAI-1, arasındaki dinamik denge endojen fibrinolitik yanıtı belirler. t-PA ve PAI-1, vasküler endotelde sentezlenir (56). PAI-1, trombosit alfa granüllerinde de vardır. Fibrinoliz inhibitörleri, α -2 antiplazmin ve PAI-1 'dir. Streptokinaz, ürokinaz, rekombinan t-PA gibi profibrinolitik ilaçlarla farmakolojik olarak fibrinolizi uyarılabilir ve bu yaklaşım akut arteriyel ve venöz tromboz tedavisinde kullanılabilir

Aktive Protrombin Zamanı (PT):

PT testi doku tromboplastini olarak tavşan beyni gibi doku kaynakları kullanılarak yapılır. Tavşan beyni hem doku tromboplastini hem de pıhtılaşma için gerekli fosfolipid yüzeyi sağlar. Önceden ısıtılmış kalsiyum klorür (CaCl_2) içindeki PT reaktanı sitratla antikoagüle edilmiş durumdaki hasta plazmasına eklenir. CaCl_2 hasta plazmasındaki sitratın etkisini nötralize eder ve koagülasyonu başlatır. Pıhtılaşma (fibrin polimerizasyonu) foto-optik ya da mekanik yöntemlerle saptanır. PT ile ekstrinsik ve ortak yol kontrol edilir; FVII ve ortak yolda yer alan FX, FV, protrombin ve fibrinojen eksikliğinde PT uzun bulunur. Karaciğer hastalığı, vitamin K eksikliği, varfarin veya heparin tedavisi, DİK ve yüksek düzeyde FYÜ varlığı da PT uzamasına neden olabilir (58). DİK vakalarının % 90'dan fazlasında FV ve fibrinojenin düşmesi ve fibrin yıkım ürünlerinin artışı ile PT değeri uzar (57). PT varfarin gibi vitamin K antagonistleri ile yapılan antikoagülan tedavinin takibinde kullanılır. Varfarin tedavisini monitorize ederken PT sonucu genellikle Uluslararası Normalizasyon Oranı (International Normalized Ratio [INR]) olarak bildirilir. INR değeri, Dünya Sağlık Örgütü tarafından duyarlılığı standart olarak kabul edilen bir doku tromboplastin örneğine göre uyarlanmış protrombin zamanını verir. $\text{INR} = \frac{\text{hastanın PT'si}}{\text{ortalama normal PT}}^{\text{ISI}}$ formülü ile hesaplanır. Burada ISI (International Sensitivity Index) PT ölçümünde kullanılan kitin referans alınan doku tromboplastinine göre duyarlılığını gösteren bir değerdir. Hedeflenen INR değeri tedavi edilen hastalığa göre değişkenlik gösterir. PT için normal referans aralığı 11-13 saniyedir. Her laboratuvar kendi alet donanımına göre kendi normallerini belirlemelidir.

Parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT):

Genellikle tavşan veya sığır beyninden elde edilen bir fosfolipid (parsiyel tromboplastin reaktanı) ve kontakt aktivasyon sistemini aktive edecek silika partikülleri kullanılarak ölçülür. Anti-koagülanlı hasta plazması parsiyel tromboplastin/silika karışımı ile kısa bir süre inkübe edilir, plazma sodyum sitrat ile $37\text{ }^\circ\text{C}$ 'de inkübasyonda iken faktör XII'nin XIIa'ya aktivasyonu ile gerçekleşir. Faktör XIIa, faktör XI'i faktör XIa'ya dönüştürür. Fosfolipid ve

kalsiyum klorür eklenmesi ile pıhtılaşma sürecinin devamı sağlanır. Bu aşamadan itibaren yukarıda anlatıldığı gibi pıhtılaşma başlar ve pıhtı oluşumu gözlenir. Görülebilir pıhtı oluşum zamanı kaydedilir. aPTT intrinsik (F XII, XI, IX, VIII) ve ortak (FX, FV, prothrombin, fibrinogen) yolda yer alan faktörlerin eksikliğinde uzar (47,58). Karaciğer hastalığında, vitamin K eksikliğinde, terapötik amaçlı varfarin ve heparin kullanımında, DİK'de ve artmış FYÜ varlığında aPTT uzar. DİK tablosunda aPTT değeri uzamış bulunur fakat normal değerinin geniş bir sınır içinde olmasından dolayı DİK için her zaman sabit bir bulgu değildir (57). aPTT için normal referans aralığı 23 - 35 saniyedir

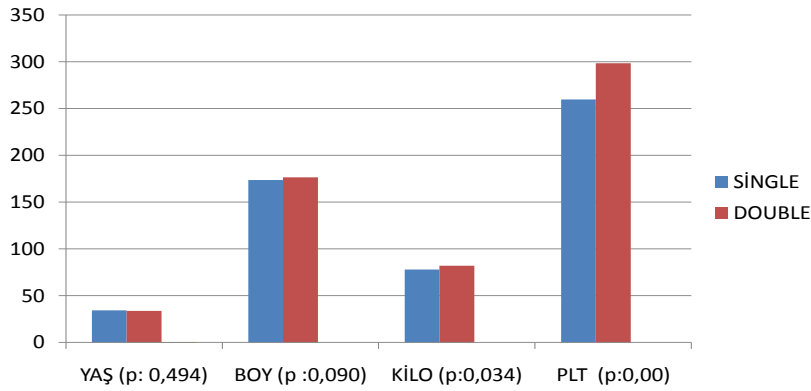
GEREÇ ve YÖNTEM

Nisan 2012 ile Nisan 2013 arasında Pamukkale Üniversitesi Hastanesi transfüzyon merkezine başvuran gönüllü aferez vericileri çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya katılım için gönüllülük esas alındı. Çalışma için Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi 25.10.2011 tarih ve 19 sayılı Tıbbi Etik Kurul onayı alındı. Double veya single aferez toplama işlemine tabi tutulan vericiler randomize olarak seçilerek işlem tipine göre 2 gruba ayrıldı. Single 39 double 38 olmak üzere toplam 77 verici çalışmaya dahil edildi. Vericiler belirlenirken kan bankasına başvuruda donör olma kriterleri esas alındı. Aferez toplama işlemi Amicus TP Separator cihazı ile yapıldı. Cihazın ACD-A / kan volüm oranı 1/10'du. Deneklerden üst kola hafif staz uygulanarak antecubial venden 0.109 M sodyum sitratlı tüplere 1,8 ml kan alındı. İşlem öncesi ve işlemden 15 dakika sonrasında olmak üzere 2 kere kan numunesi alındı. Alınan örneklerden protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) ve trombosit fonksiyon testleri (Kollajen, ADP, epinefrin, ristosetin) değerlendirildi. Numuneler bekletilmeden santrifüjlenerek test en geç 2 saat içerisinde tamamlandı. Trombosit fonksiyon testleri için alınan numuneler 1000 devirde 6 dakika santrifüjlendi ve plateletten zengin plasma (PRP) elde edildi. Chrono-log 560 CA cihazında 450 µl PRP üzerine uyarıcı ajan eklenerek değerlendirildi. Uyarıcı ajanlar kollajen 2 µl, ADP 3 µl, epinefrin 4 µl, ristosetin 4 µl şeklinde eklendi. İşlem öncesi trombosit fonksiyon testi normal olan bireyler çalışmaya dahil edilerek sadece işleme bağlı trombosit fonksiyon testlerinin değişiminin gözlenmesi amaçlandı.

Bu çalışmada ‘‘statistical package for the social science’’ (SPSS17.0) programı kullanıldı. Değerler tanımlayıcı istatistik kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar %, ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edildi. Veriler hem işlem öncesi ve sonrası farklılık açısından hem de double ve single işleme göre farklılık açısından değerlendirildi. Double ve single grubunun karşılaştırıldığı verilerin analizinde Mann-Whitney U Wilcoxon testi, işlem öncesi ve sonrası değerlerin karşılaştırılmasında t testi kullanıldı. P değeri 0,05'in altında ise anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya toplam 100 gönüllü donör alındı, 23 donör çeşitli sebeplerle çalışmadan dışlandı. 21 tanesinde işlem öncesi alınan örneklerde trombosit fonksiyon testlerinde reaksiyon gözlenmedi. 1 tanesinin lipemik serum sebebi ile işlemine devam edilemedi. Bir donörde de damar yolu problemi oluştu ve işlem bitmeden sonlandırıldı. Single aferez işlemine alınan 39, double aferez işlemine alınan 38 olmak üzere toplam 77 donör çalışmayadahil edildi. Vericilerin hepsi erkek cinsiyette olup yaş aralığı 19-54 arasında, yaş ortalaması $34,12 \pm 8,137$ idi. Single grubunda yaş ortalaması $34,36 \pm 8,573$ double grubunda $33,87 \pm 7,771$ olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p = 0,494$). Single grubunda boy ortalaması $173,67 \pm 6,179$ double grubunda $176,53 \pm 7,399$ olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p = 0,090$). Double grubunda plt sayısı ve kilo değeri anlamlı olarak daha yüksek tesbit edildi. Bu farklılık çalışmadaki kan bankası aferez donörü olma kriterlerinden double işlem uygulanacak donörlerin $plt > 250.000$ kilo > 80 olması gerekliliğine bağlı düşünüldü.



ŞEKİL 10 : Double ve single aferez işlem grubunda yaş, boy, kilo, plt karşılaştırılması

Single aferez işlem grubu işlem öncesi ve sonrası hematoloji laboratuvar sonuçları tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3 : Single aferez işlemi uygulanan donörlerde işlem öncesi ve sonrası klinik ve laboratuvar değerleri

SİNGLE GRUP	İŞLEM ÖNCESİ	İŞLEM SONRASI		
	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD	VERİCİ SAYISI	P Değeri
PT	11,090 ± 0,909	11,474 ± 1,0039	39	<0,0001
aPTT	28,736 ± 2,7745	27,908 ± 3,2420	39	0,021
INR	0,6551 ± 0,0808	0,9918 ± 0,0847	39	<0,0001
PT yüzdesi	110,38 ± 15,003	104,51 ± 14,268	39	<0,0001
ADP Amplitud	59,32 ± 17,256	49,29 ± 21,218	31	<0,0001
ADP Slope	67,52 ± 28,545	47,81 ± 22,870	31	<0,0001
KOLLAJEN Amplitud	74,47 ± 19,193	75,86 ± 19,641	36	0,390
KOLLAJEN Slope	130,22 ± 40,749	120,36 ± 37,981	36	0,035
EPİNEFRİN Amplitud	69,88 ± 25,939	51,82 ± 31,087	34	0,002
EPİNEFRİN Slope	68,06 ± 32,461	43,18 ± 28,324	34	<0,0001
RİSTOSETİN Amplitud	66,03 ± 18,085	52,67 ± 26,570	30	0,019
RİSTOSETİN Slope	73,83 ± 29,876	58,17 ± 33,805	30	0,036

İşlem öncesi ve sonrası kıyaslandığında PT, INR değerlerinde işlem sonrasında anlamlı uzama gözlemlendi. Kollajen amplitud değerinde işlem öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık gözlenmedi (p= 0,390). aPTT , PT yüzdesi , ADP amplitud ve slope, kollajen slope, epinefrin amplitud ve slope, ristosetin amplitud ve

slope değerlerinde işlem sonrası azalma saptandı ve istatistiksel olarak anlamlıydı (tablo 3).

Double aferez işlem grubu işlem öncesi ve sonrası hematoloji laboratuvar sonuçları tablo 4'de gösterilmiştir. İşlem öncesi ve sonrası kıyaslandığında PT, INR değerlerinde işlem sonrasında anlamlı uzama gözlemlendi .

Tablo 4 : Double aferez işlemi uygulanan donörlerde işlem öncesi ve sonrası laboratuvar değerleri

DOUBLE GRUP	İŞLEM ÖNCESİ	İŞLEM SONRASI		
	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD	VERİCİ SAYISI	P Değeri
PT	11,258 ± 0,9394	11,737 ± 0,9821	38	<0,0001
aPTT	28,103 ± 2,7531	27,118 ± 3,5490	38	0,003
INR	0,9708 ± 0,0814	1,0042 ± 0,1058	38	0,001
PT yüzdesi	106,42 ± 12,712	99,32 ± 11,204	38	<0,0001
ADP Amplitud	59,03 ± 22,311	54,55 ± 19,413	33	0,269
ADP Slope	67,64 ± 29,850	56,97 ± 25,915	33	0,050
KOLLAJEN Amplitud	77,81 ± 16,154	81,94 ± 12,005	36	0,081
KOLLAJEN Slope	135,58 ± 33,970	126,22 ± 29,495	36	0,111
EPİNEFRİN Amplitud	76,31 ± 19,206	63,47 ± 27,548	32	0,018
EPİNEFRİN Slope	78,63 ± 28,633	49,97 ± 20,452	32	<0,0001
RİSTOSETİN Amplitud	68,32 ± 19,228	54,92 ± 26,019	25	0,012
RİSTOSETİN Slope	76,48 ± 25,776	48,16 ± 29,789	25	<0,0001

ADP amplitud ve slope, kollajen amplitud ve slope değerinde işlem öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık gözlenmedi. APTT, PT yüzdesi , epinefrin amplitud ve slope, ristosetin amplitud ve slope değerlerinde işlem sonrası azalma saptandı ve istatistiksel olarak anlamlıydı (tablo 4).

Donörler işlem tipine göre double ve single olmak üzere 2 gruba ayrıldı. 2 grubun işlem öncesi ve işlem sonrası laboratuvar değerleri karşılaştırıldı. PT, APTT, INR, PT yüzdesi, yaş, boy, ADP amplitud ve slope, kollajen amplitud ve slope, epinefrin amplitud ve slope, ristosetin amplitud ve slope değerlerinde single ve double grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Sadece plt ve kilo açısından anlamlı farklılık gözlemlendi. Double grubunda plt sayısı ve kilo değeri anlamlı olarak daha yüksek tesbit edildi. Bu farklılık çalışmadaki Kan Bankası aferez donörü olma kriterlerinden double işlem uygulanacak donörlerin plt > 250.000, kilo > 80 olması gerekliliğine bağlı düşünülürdü.

Tablo 5 : Double ve single aferez işlemi öncesi ve sonrası laboratuvar değerleri

		N	Ortalama ± SD	P Değeri
Pre-PT	Single	39	11,090 ± 0,9090	0,414
	Double	38	11,258 ± 0,9394	
Post- PT	Single	39	11,474 ± 1,0039	0,239
	Double	38	11,737 ± 0,9821	
Pre – aPTT	Single	39	28,736 ± 2,7745	0,201
	Double	38	28,103 ± 2,7531	
Post – aPTT	Single	39	27,908 ±3,2420	0,258
	Double	38	27,118 ±3,5490	
Pre – INR	Single	39	0,9551 ±0,0808	0,414
	Double	38	0,9708 ±0,0814	
Post- INR	Single	39	0,9918 ±0,8479	0,305
	Double	38	1,0042 ±0,1058	
Pre- PT yüzde	Single	39	110,38 ±15,003	0,264
	Double	38	106,42 ±12,712	
Post – PT yüzde	Single	39	104,51 ±14,268	0,145
	Double	38	99,32 ±11,204	
Yaş	Single	39	34,36 ±8,573	0,494
	Double	38	33,87 ±7,771	
Boy	Single	39	173,67 ±6,179	0,090
	Double	38	176,53 ±7,399	
Kilo	Single	39	77,97 ±9,424	0,034
	Double	38	81,97 ±8,560	
Plt	Single	39	259,69 ±52,960	<0,0001
	Double	38	298,63 ±41,078	
Pre – ADP amplitud	Single	31	59,32 ±17,256	0,614
	Double	33	59,03 ±22,311	

		N	Ortalama ± SD	P Değeri
Post – ADP amplitud	Single	31	49,29 ±21,218	0,361
	Double	33	54,55 ±19,413	
Pre – ADP slope	Single	31	67,52 ±28,545	0,898
	Double	33	67,64 ±29,850	
Pre – ADP slope	Single	31	47,81 ± 22,870	0,234
	Double	33	56,97 ±25,915	
Pre – kollajen amplitud	Single	36	74,47 ±19,193	0,434
	Double	36	77,81 ±16,154	
Post – kollajen amplitud	Single	36	75,86 ±19,641	0,195
	Double	36	81,94 ±12,005	
Pre – kollajen slope	Single	36	130,22 ±40,749	0,536
	Double	36	135,58 ±33,970	
Post –kollajen slope	Single	36	120,36 ±37,981	0,356
	Double	36	126,22 ±29,495	
Pre – epinefrin amplitud	Single	34	69,88 ±25,939	0,359
	Double	32	76,31 ± 19,206	
Post – epinefrin amplitud	Single	34	51,82 ±31,087	0,110
	Double	32	63,47 ±27,548	
Pre – epinefrin slope	Single	34	68,06 ±32,461	0,166
	Double	32	78,63 ±28,633	
Post – epinefrin slope	Single	34	43,18 ±28,324	0,080
	Double	32	49,97 ± 20,452	
Pre- ristosetin amplitud	Single	30	66,03 ±18,085	0,588
	Double	25	68,32 ±19,228	
Post – ristosetin amplitud	Single	30	52,67 ±26,570	0,879
	Double	25	54,92 ±26,019	
Pre – ristosetin slope	Single	30	73,83 ±26,876	0,886
	Double	25	76,48 ±25,776	
Post – ristosetin amplitud	Single	30	58,17 ±33,805	0,335
	Double	25	48,16 ±29,789	

TARTIŞMA

Çalışmamıza Pamukkale üniversitesi transfüzyon merkezine donör aferezi için başvuran gönüllü donörler alındı. İşlem öncesi ve sonrası kan numuneleri alınarak aferez işleminin hemostatik testler (PT, aPTT , trombosit fonksiyon testleri; ADP, kollajen, epinefrin ve ristosetin) üzerine olan etkisi araştırıldı. Double veya single trombosit aferez işlem tipine göre vericiler 2 gruba ayrıldı ve 2 grup arasındaki farklar karşılaştırıldı. Literatüre bakıldığında single veya double işlem öncesi ve sonrası hemostatik testlerin karşılaştırılmasını içeren ayrı ayrı çalışmalar bulunduğu ancak double ve single işlemini karşılaştıran bir çalışma olmadığı gözlemlendi. Çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak hem işlem öncesi ve sonrası hemostatik parametreler değerlendirildi, hemde iki işlem tipi arasında bu değerler açısından fark olup olmadığına bakıldı.

Single trombosit aferez işlemi için Beyan.C ve ark.'nın (59) yaptığı çalışmada yaş ortalaması $24,63 \pm 6,22$ olan 40 verici (36 erkek , 4 kadın) değerlendirilmiştir. İşlem sırasında antikoagulan olarak acitsitratdextroseformula-A (ACD-A) kullanılmış , toplama işleminde Fresenius AS-204 ve Fenwall CS 3000 kullanılmış. Sırasıyla ACD-A / kan volüm oranı 1/8 ve 1/9 imiş. İşlem öncesi ve sonrası alınan örneklerden PT, aPTT, thrombin time (TT) ve plazminojen düzeyleri bakılmış. aPTT ve TT değerlerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. PT düzeyinde işlem sonrasında anlamlı uzama ($p=0,0028$), plasminojen düzeyinde belirgin düşme ($p= 0,0009$) saptanmıştır. PT ve plazminojen düzeyindeki değişiklikler; sitratın iyonize kalsiyumu bağlaması ve kanın santirifugasyon ile ayrıca plastik maddelerle temas sonucunda trombosit aktivitesini etkilemesine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Sitratın iyonize kalsiyumu azaltması göz önünde bulundurularak normal sınıra gelecek şekilde kalsiyum replase edilmiş ve PT deki uzama laboratuvar artefaktı olarak değerlendirilmiştir. aPTT ve TT ölçümünde iyonize kalsiyuma duyarlı olmayan bir ajan kullanılmış ve işlem sonrası değerlerinde bir farklılık gözlenmemiş. Bosch ve arkadaşlarının (60) yaptığı çalışmada lipit aferezinde sitrat ile antikoagülasyonun etkisi ve güvenliği araştırılmış. ADC -A / kan volüm oranı 1/20 ve 1/ 40 şeklinde 2 grup oluşturulmuş. Kanama veya tromboz komplikasyonu gelişmemiş. Her iki grup içinde PT düzeyinde uzama gözlenmiş olup benzer sonuçlar elde edilmiş. PT düzeyinde işlem sonrasında anlamlı uzama

($p=0,0028$), plasminojen düzeyinde belirgin düşme ($p= 0,0009$) saptanmıştır. Her iki çalışmada da farklı sitrat yoğunluğu kullanılmış ve benzer sonuçlar bulunmuştur. Bu sebeple sitrat yoğunluğu ile hemostatik testlerdeki değişikliğin korele olmadığı düşünüldü. Bizim çalışmamızda amicus tp seperator cihazı ile aferez toplama işlemi yapıldı. Hemostatik testler üzerindeki etkileri en aza indirmek için tek tip cihaz ve aynı oranda sitrat kullanıldı. ACD-A/Kan volüm oranı 1/10'du. Önceki çalışmalarda aPTT değerinde herhangi bir farklılık saptanmamıştı fakat bizim çalışmamızda bundan farklı olarak aPTT değerlerinde anlamlı kısalma ($p= 0,021$) tesbit edildi. PT değerlerinde ise diğer çalışmalar ile uyumlu olarak anlamlı uzama ($p<0,0001$) gözlemlendi. Her iki değerde normal sınırlar arasında kaldı.

Macher S ve arkadaşlarının (61) yaptığı çalışmada ; 18'i erkek 6'sı kadın 24 verici (yaş ortalaması $41,7 \pm 9,9$ ve $38,2 \pm 6,9$) Amicus Fenwall ve/ veya Trima Accel cihazı ile işleme alınmış. ACD-A/kan volüm oranı 1/10 ve 1/11 olarak ayarlanmış. İşlem öncesi, işlem sonrası, işlemden 2 gün sonra vericilerden kan örnekleri alınarak hemostatik parametreler değerlendirilmiş. PT, aPTT, d-dimer, fibrinojen, faktör 8 aktivitesi, vonWillebrand faktör (vWF) aktivitesi ve vWF antijeni (vWFag) bakılmış. PT için işlem sonrası anlamlı düzeyde uzama var iken 2. günde anlamlı değişiklik saptanmamış. APTT değerlerinde işlem sonrası anlamlı farklılık gözlenmemişken, 2. günde anlamlı olarak azalma gözlenmiş. Faktör 8, vWF aktivite, vWFag, d-dimer, fibrinojen değerlerinde işlem sonrası anlamlı azalma saptanmış, ikinci günde ise anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Jong Weon Choi ve arkadaşlarının (62) yaptığı çalışmaya ; ilaç öyküsü ve kanama diyatez öyküsü olmayan, yaş ortalaması 36,4 olan, 192 verici (% 53 ü erkek) dahil edilmiş. Plt, PT, aPTT, d-dimer ve trombosit agregasyon yanıtları değerlendirilmiş. Haemonetics cihazı ile toplama yapılmış ACD-A/kan volüm oranı 1/9 PT, aPTT ve d-dimer düzeylerinde işlem sonrası anlamlı bir farklılık gözlenmemiş. Sadece plt sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir düşme saptanmış ($p < 0.01$).

Double trombosit aferez işlemi etkilerini incelemek için Mustafa Yılmaz ve arkadaşlarının (63) yaptığı çalışmada yaş ortalaması 25 ± 7 olan 45 verici (40 erkek, 5 kadın) dahil edilmiş. Kan numuneleri işlem öncesi ve işlemden 15 dakika sonra alınmıştır. Koagülasyon parametrelerinden PT, aPTT, protein c, protein s,

antitrombin -3 (AT-3), faktör 5, faktör 7, faktör 8, faktör 9, faktör 10 ve fibrinojen değerlendirilmiştir. Aferez işleminde Baxter Amicus seperatör cihazı kullanılmış ve ADC-A / kan volüm oranı 1/ 10 muş. PT, aPTT, protein c, protein s , AT-3 faktör 7 ve faktör 10 değerleri için işlem sonrasında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Fibrinojen, faktör 5, faktör 8, faktör 9 düzeylerinde ise anlamlı azalma saptanmıştır (p = 0.004 , p= 0.005 , p= 0.026 , p= 0.016) . İstatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmış olsa da bütün değerler normal sınırlar içerisinde seyretmiştir. Bizim çalışmamızda double aferez işlemine alınan 38 erkek verici mevcuttu, ADC-A/kan volüm 1/10'du. PT ve aPTT düzeyleri bu çalışmada olduğu gibi işlem öncesi ve işlemden 15 dakika sonrasında alınan örnekler ile değerlendirildi. PT değerinde uzama, aPTT değerinde kısalma gözlendi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Mevcut değişikliklere rağmen her ikisi de normal sınırlar içerisindeydi. Bu çalışmalar ışığında işlem sonrası bazı parametrelerde değişiklikler mevcut olsa da incelenen bütün parametreler normal sınırlar içerisinde seyretmiş olmasından dolayı double aferez işleminin ciddi bir komplikasyon yaratacak hemostatik problem oluşturmadığı düşünüldü.

Çalışmamızda PT ve aPTT'ye ek aferez trombosit işleminin trombosit fonksiyon testleri üzerine etkileri incelendi. ADP, kollajen, epinefrin, ristosetin kitleri çalışıldı. Benzer bir çalışma olarak Jong Weon Choi ve arkadaşlarının (62) yaptığı çalışmaya yaş ortalaması 36, 4 olan 192 verici (% 53 ü erkek) dahil edilmiş. Çalışmaya dahil edilen hastalarda kafeinin etkilerinden kaçınılmış. Son 48 saat içerisinde kahve ve yeşil çay veya siyah çay içmeyenler alınmış. Haemonetics cihazı ile toplama yapılmış ACD-A / Kan volüm oranı 1/ 9 imiş. 0,0129 M sodyum sitrat içeren vacutainer tüp ile alınmış. ADP (10 µM), kollajen (10 µg/ ml), epinefrin (300 µM) ve ristosetin (1500 µg/ ml) kitleri kullanılarak PACKS -4 aggregometre ile çalışılmış. Yanıtlara göre üç gruba ayrılmış. <% 20 yanıtızsız, % 20-60 arası yarı yanıtı , > % 60 normal cevap olarak değerlendirilmiş. İşlem öncesi ve sonrası değerlendirildiğinde hepsinin agregasyon değerlerinde düşme gözlenmiş. İstatistiksel olarak sadece epinefrin için anlamlı bulunmuş. Epinefrin işlem öncesi değeri 81,8 ± 9,3 işlem sonrası 40,6 ± 7.5 (p < 0.01) saptanmış. İşlem sonrası yanıtlara bakıldığında epinefrin için 34'ü yanıtızsız, 31 yarı yanıtı , 127 normal yanıt , ADP için 3 yanıtızsız , 9 yarı yanıtı, 180 normal yanıt, kollajen için 7 yarı yanıtı 185 normal

yanıt, ristosetin 4 yarı yanıt, 188 normal yanıt gözlenmiş. Yanıtsız ve yarı yanıt alınanlar işlemden 24-72 saat sonra ve 3 hafta sonra tekrar değerlendirilmiş. Dört kit içinde 24-72 saat ve 3. haftada agregasyon yanıtında artma gözlenmiş. Sadece epinefrin için (işlem sonrası $40,9 \pm 8,1$ 24-72 sa sonra $73,5 \pm 9,2$ 3 hafta sonra $79,2 \pm 8,6$) ($p < 0,01$) istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır. İşlem sonrası trombosit agregasyon değerlerindeki yanıt azalması ve 2 .gün ve 3. haftada değerlerin yükselme eğiliminde olması ekstrakorporeal dolaşımın vericinin kanında geçici bir bozukluk yaratarak trombosit reaktivitesini etkilediği düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda ise sadece işlem öncesi ve işlemden 15 dakika sonrası numuneler alınarak değerlendirildi. Single grubunda işlem sonrası kollajen, ADP, epinefrin, ristosetin için agregasyon yanıtlarında azalma gözlendi. Sadece kollajen amplitud değerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p = 0,390$).

Macher.S ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (61) 18'i erkek 6'sı kadın 24 verici (yaş ortalaması $41,7 \pm 9,9$ ve $38,2 \pm 6,9$) Amicus Fenwall ve / veya Trima Accel cihazı ile işleme alınmış ACD-A / Kan volüm oranı 1/ 10 ve 1/ 11 miş. İşlem öncesi, işlem sonrası, işlemden 2 gün sonra vericilerden kan örnekleri alınarak ADP için agregasyon yanıtı değerlendirilmiş. Her iki cihaz içinde ADP değerlerinde işlem sonrası ve işlemden 2 gün sonra agregasyon değerlerinde azalma gözlenmiş. Trima cihazı ile işleme alınanlarda; işlem öncesi $82,8 \pm 8,9$ işlem sonrası $76,5 \pm 13,5$, 2. günde $81,9 \pm 9,4$, Amicus ile işlem yapılanlarda; işlem öncesi $78,9 \pm 8,6$ işlem sonrası $76,1 \pm 10,3$ ve 2. Günde $84,7 \pm 6,9$ imiş. İkinci gündeki değerler istatistiksel olarak anlamlı olmayıp sadece işlem sonrasındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı saptanmış.

Blasi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (65); 54 vericide işlem öncesi ve işlemden 1 saat sonra örnek alınmış, % 10 unda trombosit reaktivitesinde artış gözlenmiştir. İstatistiksel olarak aferez işleminin trombosit reaktivitesini etkilemediği saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda optik agregometre kullanılmış olup aferez öncesi ve sonrası trombosit fonksiyon testlerini değerlendirmede bazı çalışmalarda PFA 100 cihazı kullanılmıştır. PFA100, kanama zamanı yerini almış olan in vitro primer hemostaz testidir. Bu cihaz kapiller damarlardaki kan akışına benzer şartlar taşıyan bir kanaldan tam kanın akışının trombosit adezyon ve agregasyonu ile tıkanması

esasına dayanır. Tıkanmaya kadar geçen süreye kapanma zamanı denir (closer time). Françoise Boehlen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (64) ; yaş ortalaması 39 olan 84 hasta (% 65 erkek) Amicus cihazı ile aferez işlemine alınmış, işlem öncesi ve sonrası kollajen/epinefrin ve kollajen/ADP'nin PFA -100 cihazı ile kapanma zamanları gözlenmiştir. Kollajen/epinefrin'in işlem öncesi kapanma zamanı 141, işlem sonrası 160 (p=0.003), kollajen/ADP'nin işlem öncesi 105 işlem sonrası 118 (p= 0.006) saptanmıştır. Sterese bağlı bazı aktive faktörlerin aktive olup trombosit fonksiyon testini etkileyeceği düşünülmüştür. Ayrıca işlem sırasında cihaz içerisinde von willebrand absorpsiyonu olup olmadığı dışlanamamış ve sonuç olarak net bir sebep ortaya konulamamıştır. Aferez işlemi sonrası her iki kit içinde kapanma zamanlarında uzama olması çalışmamızdaki aggregasyon yanıtının az ve geç olma bulgusunu destekler görünmektedir.

Çalışmamızda trombosit fonksiyon testleri için chrono-log 560 CA kullanıldı. Kollajen , ADP, epinefrin ve ristosetin ile çalışıldı. Sonuçlar işlem öncesi ve sonrası ayrıca işlem tipine göre karşılaştırıldı. İşlem öncesi tetkiklerde agregasyon yanıtı alınan vericiler çalışmaya dahil edildi. Single işlem yapılanlarda işlem sonrası trombosit agregasyon değerlerinde düşme gözlendi. Sadece kollajen amplitud değerinde ki düşme istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.0390). Diğer bütün verilerde düşme anlamlı bulundu. Double işlem yapılanlar değerlendirildiğinde kollajen ve ADP amplitud/slope değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tesbit edilmedi. Diğer agregasyon yanıtlarında anlamlı azalma gözlendi. Double ve single işlem grupları karşılaştırıldı. Trombosit agregasyon yanıtları açısından anlamlı farklılık gözlenmedi.

Trombosit fonksiyonlarında bozulma, PT değerinde ki uzamanın işlem sırasında kullanılan maddelere (sitrarla veya heparinle antikoagulasyon da oldu gibi), kullanılan setlere, vücut dışında trombositlerin aktive olup granüllerinin (ADP içeren) salınımına, volüm degisikliklerine bağlı olabilecegi seklinde değerlendirildi. Fakat bu konu henüz tamamiyle aydınlanmamıştır, literatür verileri de sınırlıdır.

SONUÇ

Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde aferez işlemi öncesi ve sonrası hemostatik parametreler açısından farklı sonuçlar elde edilmiştir. Ancak hepsinin ortak noktası değerlerde azalma veya artma olsa da sonuç olarak bütün parametreler normal sınırlar içerisinde gözlenmiştir. Bu sebeple aferez işleminin ciddi komplikasyon yaratacak hemostatik bir problem oluşturmadığı düşünülmüştür. Farklı çalışmalarda antikoagülan olarak farklı sitrat yoğunlukları kullanılmış olup benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sitrat yoğunluğu ile bu değişikliklerin korele olmadığı gözlenmiştir. Ancak çalışmalarda sitrat ile korelasyon olmasa da sitratın iyonize kalsiyumu bağlayarak koagülasyon sistemini etkilediği görüşü hala geçerli gibi görünmektedir. Ayrıca ekstrakorporeal dolaşıma bağlı volüm değişikliğine, kullanılan setlere, vücut dışında trombositlerin aktive olup granüllerinin (ADP içeren) salınımına bağlı olarak trombosit fonksiyon testlerinin etkilendiği düşünülmüştür. Çalışmamızda sitrat yoğunluğu sabit kullanılmış olup bu farklılıktan bilerek kaçınılmıştır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda single veya double aferez işlemi işlem öncesi ve sonrası olmak üzere kendi içerisinde değerlendirilmiştir. Double ve single aferez işlemini karşılaştıran bir çalışma gözlenmemiş olup çalışmamızda iki işlemin karşılaştırılması yapılmıştır. Double veya Single işleminde hemostatik parametreler ve trombosit fonksiyon testleri açısından anlamlı farklılık tesbit edilmemiştir. Bu nedenle benzer çalışmalar ile desteklenerek uygun olan vericilerde daha sık ve gönül rahatlığıyla double aferez işlemi uygulanabilir. Double aferez işlemi ile bir vericiden çift trombosit ürünü elde edilerek ihtiyaç duyulan daha fazla hastaya replasman yapılabilmesi sağlanabilir. Ayrıca kan merkezlerinde single aferez işlemindeki gibi bir set kullanılarak çift ürün toplanması, maliyetin düşmesine ve kan bankasındaki görevli elemanların iş yükünün ve zaman kaybının azalmasına katkıda bulunabilir.

KAYNAKÇA

1. Arat M. Ortaçagda aforoz, günümüzde aferez. XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi, IV. Hematoloji İlk Basamak Kursu: 1-9.
http://www.thd.org.tr/sub/turk/kurs_pdf/Ortacagdaaforoz.pdf adresinden 23.01.2006 tarihinde ulaşılmıştır.
2. Özcebe O. Terapotik Sitaferesis. XXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi Kongre kitabı, Ankara
3. Öztürk G. Pedyatride terapötik aferez. Damla dergisi, Eylül-Ekim 2003; 56:14-17.
4. Çetin T. Terapötik aferez endikasyonları. I. Ulusal Hemaferes Kongresi Kongre kitabı, İstanbul Ekim 2003: 17-24.
5. Grima KM. Therapeutic apheresis in hematological and oncological diseases. J Clin Apher 2000; 15: 28–52.
6. Arslan Ö. Diğer terapötik aferez uygulamaları. I. Ulusal Hemaferes Kongresi Kongre Kitabı, İstanbul Ekim 2003: 52-58.
7. McLeod BC. Apheresis, Principles and Practice, 2nd Edition, AABB Press, Bethesda, Maryland, 2003.
8. Özkalemkas F. Fotoferesis. XXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi Kongre Kitabı Ankara Kasım 1998: 183-196.
9. Sink BL. History of the Development of Apheresis, In: Zielinski I.D, editor. Principals of apheresis technology, 3rd ed. Tuscon, American Society for Apheresis 2002: 31-32.

10. Burgstaler E.A. Blood component collection by apheresis. *J Clin Apher* 2005; 1-10.
11. Giraud CG, Korach JM, Andreu G, Lacaze C, et al. Principles of separating blood elements. *Transfus clin biol* 2002; 9: 179-185.
12. Burgstaler EA. Apheresis instrumentation. In: Zielinski I.D, editor. *Principals of apheresis technology*, 3rd ed. Tuscon, American Society for Apheresis 2002;41-55.
13. Omay SB Donör aferezi komplikasyonları. I. Ulusal Hemaferaz Kongresi kongre kitabı, İstanbul Ekim 2003: 116-121.
14. Winters J.L. Complications of donor apheresis. *J Clin Apher* 2005: 1-10. 5–151.
15. Eser B. Aferez uygulamalarında sitrat etkisi ve kalsiyum replasmanı. I. Ulusal Hemaferaz Kongresi Kongre Kitabı, İstanbul Ekim 2003: 10-16.
16. Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN *Hemostasis and Thrombosis: Basic Priciples and Clinical Practice*. 4th Edition. Philadelphia: J.B.Lippincott Company; 2001.
17. Yang J, Wu J, Jiang H, Mortensen R, Austin S, Manning DR et al. Signaling through Gi family members in platelets. *J Biol Chem* 2002; 277: 46035–42.
18. Breddin HK. Can platelet aggregometry be standardized? *Platelets* 2005; 16: 151-8.
19. Keularts IMLW, van Gorp RMA, Feijge MAH, Vuist WMJ, Heemskerk JWM. α 2A-adrenergic receptor stimulation potentiates calcium release in platelets by modulating cAMP levels. *J Biol Chem* 2000; 275: 1763–72.

20. Yang J, Wu J, Kowalska MA, Dalvi A, Prevost N, O'Brien PJ et al. Loss of signalling through the G protein, G_z, results in abnormal platelet activation and altered responses to psychoactive drugs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 9984-89.
21. Swart SS, Pearson D, Wood JK, Barnett DB. Functional significance of the platelet alpha₂-adrenoceptor: studies in patients with myeloproliferative disorders. *Thromb Res* 1984; 33: 531-41.
22. Avram S, Lupu A, Angelescu S, Olteanu N, Mut-Popescu D. Abnormalities of platelet aggregation in chronic myeloproliferative disorders. *J Cell Mol Med* 2001; 5: 79-87.
23. Kaywin P, McDonough M, Insel PA, Shattil SJ. Platelet function in essential thrombocythemia. Decreased epinephrine responsiveness associated with a deficiency of platelet alpha₂adrenergic receptors. *N Engl J Med* 1978; 299: 505-9.
24. Yamamoto K, Sekiguchi E, Takatani O. Abnormalities of epinephrine-induced platelet aggregation and adenine nucleotides in myeloproliferative disorders. *Thromb Haemost* 1984; 52: 292-6.
25. Kambayashi J, Shinoki N, Nakamura T, et al. Prevalence of impaired responsiveness to epinephrine in platelets among Japanese. *Thromb Res* 1996; 81: 85-90.
26. Choi JW. Incidence of nonresponsiveness to epinephrine in platelets from healthy humans. *Acta Haematol* 2002; 108: 106-8.
27. Theodoropoulos I, Christopoulos C, Metcalfe P, Dimitriadou E, Economopoulos P, Loucopoulos D. The effect of human platelet

alloantigen polymorphisms on the in vitro responsiveness to adrenaline and collagen. *Br J Haematol* 2001; 114: 387–93.

28. Pyo MK, Yun-Choi HS, Hong YJ. Apparent heterogeneous responsiveness of human platelet rich plasma to catecholamines. *Platelets* 2003; 14: 171–8.
29. Nakahashi TK, Kambayashi J, Nakamura T, Le SN, Yoshitake M, Tandon NN et al. Platelets in nonresponders to epinephrine stimulation showed reduced response to ADP. *Thromb Res* 2001; 104: 127-35.
30. Sağdılek E, Büyükcoşkun N, Özlük K Trombositlerin Epinefrine Yanıtlarının Optik Agregometre ve PFA–100 İle İncelenmesi, *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 32 (1) 15-20, 2006
- 31- Quinn M, Fitzgerald D, Michelson AD. Platelet physiology. In: *Platelet Function: Assessment, Diagnosis, and Treatment*. New Jersey: Humanapress, 2005.
- 32- Shattil, SJ, Newman, PJ. Integrins: dynamic scaffolds for adhesion and signaling in platelets. *Blood* 2004; 104:1606.
- 33- Coller, BS, Shattil, SJ. The GPIIb/IIIa (integrin alphaIIbeta3) odyssey: a technologydriven saga of a receptor with twists, turns, and even a bend. *Blood* 2008; 112:3011.
- 34-Jackson, SP. The growing complexity of platelet aggregation. *Blood* 2007; 109:5087.
- 35- Bennett, JS, Vilaire, G. Exposure of platelet fibrinogen receptors by ADP and epinephrine. *J Clin Invest* 1979; 64:1393.
- 36-Wagner, CL, Mascelli, MA, Neblock, DS, Weisman HF, Coller BS . Analysis of GPIIb/IIIareceptor number by quantification of 7E3 binding to

human platelets. *Blood* 1996; 88:907.

37- Offermanns, S. The role of heterotrimeric G proteins in platelet activation. *Biol Chem* 2000; 381:389.

38- Yang, J, Wu, J, Jiang, H, Mortensen R, Austin S, Manning DR et al. Signaling through Gi family members in platelets. Redundancy and specificity in the regulation of adenylyl cyclase and other effectors. *J Biol Chem* 2002; 277:46035.

39- Clemetson, KJ, Clemetson, JM. Platelet collagen receptors. *Thromb Haemost* 2001; 86:189.

40- Holtkotter, O, Nieswandt, B, Smyth, N, Müller W, Hafner M, Schulte V et al. Integrin alpha 2-deficient mice develop normally, are fertile, but display partially defective platelet interaction with collagen. *J Biol Chem* 2002; 277:10789.

41- Nieuwenhuis, HK, Akkerman, JW, Houdijk, WP, Sixma, JJ. Human blood platelets showing no response to collagen fail to express surface glycoprotein Ia. *Nature* 1985; 318:470.

42- Moroi, M, Jung, SM, Okuma, M, Shinmyozu, K. A patient with platelets deficient in glycoprotein VI that lack both collagen-induced aggregation and adhesion. *J Clin Invest* 1989; 84:1440

43- Kunapuli, SP, Dorsam, RT, Kim, S, Quinton, TM. Platelet purinergic receptors. *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3:175.

44- Stein, B, Fuster, V, Israel, DH, Cohen M, Badimon L, Badimon JJ et al. Platelet inhibitor agents in cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol* 1989; 14:813.

45. Shimekake Y, Nagata K, Ohta S, Kambayashi Y, Teraoka H, Kitamura K et al. Adrenomedullin stimulates twosignal transduction pathways, Camp accumulation and Ca²⁺ mobilization, in bovine aortic endothelial cells. *J Biol Chem.* 1995;270:4412-7.
46. Alonso D, Radomski MW. Nitric oxide, platelet function, myocardial infarction and reperfusion therapies. *Heart Fail Rev.* 2003;8:47-54.
47. Monagle P, Andrew M. Acquired disorders of hemostasis. In: Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT (eds), *Nathan and Oski's hematology of Infancy and Childhood (6th ed)* Saunders, Philadelphia. 2003, pp. 1633-5.
48. Dahlback B. Blood coagulation. *Lancet.* 2000;355:1627-32.
49. Dahlback B. Blood coagulation and its regulation by anticoagulant pathways: genetic pathogenesis of bleeding and thrombotic diseases. *J. Intern Med.* 2005;257:209-23.
50. Rosenberg RD, Aird WC. Vascular-bed--specific hemostasis and hypercoagulable states. *N Engl J Med.* 1999;340:1555-64.
51. Haznedaroglu IC. Hemostaz Mekanizmaları. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci.* 2005;1:15.
52. De Cristofaro R, De Candia E. Thrombin interaction with platelet GpIb: structural mapping and effects on platelet activation. *Int J Mol Med.* 1999;3:363-71.
53. Morrissey JH. Tissue factor: a key molecule in hemostatic and nonhemostatic systems. *Int J Hematol.* 2004;79:103-8.

54. Hathcock J. Vascular biology-the role of tissue factor. *Semin Hematol.* 2004;41:30-4.
55. Lwaleed BA, Bass PS. Tissue factor pathway inhibitor: structure, biology and involvement in disease. *J Pathol.* 2006;208:327-39.
56. Horrevoets AJ. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1): in vitro activities and clinical relevance. *Br J Haematol.* 2004;125:12-23.
57. Toh CH, Downey C. Back to the future: testing in disseminated intravascular coagulation. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2005;16:535-42.
58. Kern WF. *PDQ Hematoloji.* BC Deckers Inc. London, 2005 pp, 381-429.
59. Beyan C, Kaptan K, Savaşçı S, İfran A, Öztürk Y, Ökmen B. Platelet apheresis affects prothrombin time and plasminogen levels in healthy donors *Transfusionandapheresisscience* 33 (2005) 47-50
60. Bosch T, Heinemann O, Duhr C, Wendler T, Keller C, Fink E, et al. Effect of low-dose citrate anticoagulation on the clinical safety and efficacy of direct adsorption of lipoproteins(DALI apheresis) in hypercholesterolemic patients: a prospective controlled clinical trial. *ArtifOrgans* 2000;24:790–6.
61. Macher S, Sipurzynski-Budraß S, Rosskopf K, Semmelrock M, Prüller F, Griesbacher A et al. Influence of multicomponent apheresis on donors haematological and coagulation parameters , iron stage and platelet function. *VoxSanguinis* (2012) 103 , 194-200
62. JongWeonChoi .Thrombapheresis causes a transient impairment of platelet responsiveness to epinephrine in healthy donors

63. Yılmaz M, Dikmen T ,Sönmez M , Akdoğan E, Durmuş A , Omay S et al.
Change of coagulation parameters after double plateletpheresis. *Tranfusion and Apheresis Science* 37 (2007) 161-163
64. Boehlen F , Michel M , Reber G , Moerloose P . Analysis of Platelet Donors Function Before and After Thrombapheresis Using the Platelet Function Analyzer PFA-100. *Thrombosis Research* 102 (2001) 49-52
65. Bläsi U, Jung F, Mrowietz C, Kiesewetter H, Pindur G, Wenzel E.
Determination of platelet aggregation of donor blood before and after thrombocytapheresis. *Beitr Infusionsther Transfusionsmed.*
1994;32:339-40