

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**KÖPEKLERDE KONSANTRE ERİTROSİT
TRANSFÜZYONUNUN OLUŞTURDUĞU İMMÜNOLOJİK
DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI**

GÜLDAL İNAL GÜLTEKİN

**DANIŞMAN
PROF. DR. ÜLKER ÇÖTELİOĞLU**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
FİZYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2007

GÜLDAL İNAL GÜLTEKİN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2007

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek lisans / Doktora. Tezi olarak kabul edilmiştir.

/ /

Prof.Dr.Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı :
Programın seviyesi : Yüksek Lisans () Doktora ()
Anabilim Dalı :
Tez Sahibi :
Tez Başlığı :
Sınav Yeri :
Sınav Tarihi :

Tez Sınav Jürisi

- 1."Ünvanı Adı Soyadı" , Xxxxx Üniv., Xxxxx Fak./Yük.Ok./Enst., Xxxxx ABD.
"Tez Danışmanı/Tez İzleme Komitesi Üyesi olanlar isimden sonra parantez içinde belirtilecek"
- 2."Ünvanı Adı Soyadı" , Xxxxx Üniv., Xxxxx Fak./Yük.Ok./Enst., Xxxxx ABD.
"Tez Danışmanı/Tez İzleme Komitesi Üyesi olanlar isimden sonra parantez içinde belirtilecek"
- 3."Ünvanı Adı Soyadı" , Xxxxx Üniv., Xxxxx Fak./Yük.Ok./Enst., Xxxxx ABD.
"Tez Danışmanı/Tez İzleme Komitesi Üyesi olanlar isimden sonra parantez içinde belirtilecek"
- 4."Ünvanı Adı Soyadı" , Xxxxx Üniv., Xxxxx Fak./Yük.Ok./Enst., Xxxxx ABD.
"Tez Danışmanı/Tez İzleme Komitesi Üyesi olanlar isimden sonra parantez içinde belirtilecek"
- 5."Ünvanı Adı Soyadı" , Xxxxx Üniv., Xxxxx Fak./Yük.Ok./Enst., Xxxxx ABD.
"Tez Danışmanı/Tez İzleme Komitesi Üyesi olanlar isimden sonra parantez içinde belirtilecek"

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Güldal İNAL GÜLTEKİN

İTHAF

Yaman,

Karabaş,

Çelebi Yaman,

Mafya,

Ala,

Bozo,

Kleoşka'ma

Ve sevgili eşim, kardeşim, annem, babam ve anneanneme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve çalışmalarım süresince bana her konuda yol gösteren ve destek olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ülker ÇÖTELİOĞLU'na, doktoram süresince her alanda desteğini, bilgisini, ve sabrını hiç esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanım Sayın Prof. Dr. Mukaddes ÖZCAN'a, jüri üyelerinden Sayın Prof. Dr. Hüseyin YILMAZ ve gerek laboratuvar çalışmalarım, gerekse tezimin yazım aşamasında bilgi ve birikimleriyle bana destek olan Doç. Dr. Murat ARSLAN'a, tüm çalışmam boyunca bana her konuda destek olan ve en zor kısımlarında beni yalnız bırakmayan Doç. Dr. Erdal MATUR'a, Cumhuriyet Üniversitesi Kangal Araştırma ve Yetiştirme Merkezi'nden Dr. Yusuf Ziya OĞRAK'a, çalışmamın başlangıcında Sivas'a kadar gelerek Kangal köpeklerin seçiminde beni yalnız bırakmayan Araş. Gör. Dr. İbrahim AKYAZI'ya, kan nakilleri sırasında yardımlarını esirgemeyen Yard. Doç. Dr. Abdullah KAYAR'a ve asistan arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. Elif ERGÜL EKİZ, Araş. Gör. Dr. Evren ERASLAN UYGUR ve Doktora Öğrencisi Deniz AKTARAN BALA'ya, tüm doktora eğitimin boyunca hiçbir konuda yardımını esirgemeyen laborant Nigün KUŞ'a, çalışmamın ilk aşamasında laboratuvar olanaklarından ve bilgi birikiminden yararlanmam konusundaki desteğinden dolayı Florence Nightingale Hastanesi Kan Ünitesi Başkanı Sayın Dr. Aydın AYDINLI'ya, immünolojik parametrelerin yorumlanmasında desteğini esirgemeyen İ.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü İmmunoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Günnür DENİZ'e ve analizlerimin yapımında büyük emekleri olan Araş.Gör. Dr. Esin AKTAŞ'a, bilgi ve desteğini esirgemeyen Centro Laboratuvarları Flow Sitometri Laboratuvar sorumlusu Sayın Dr. Gülderen DEMİREL YANIKKAYA'ya, parazitolojik muayenelerde desteğini esirgemeyen Araş. Gör. Dr. Handan ÇETİNKAYA'ya, istatistiksel analizlerimde

yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN ve Doç. Dr. Bülent EKİZ'e, logaritmik hesaplamaların yapılmasında ve istatistik modelini anlamam için bana zaman ayıran dayım Turgay GÖKER'e, çalışmada kullanılan kan torbaları, filtreleri, transfüzyon setleri ve plazma ekstraktörünü bedelsiz olarak sağlayan LaboMed Sağlık Ürünleri Ltd'den Burak SERTER'e, deney köpeklerinin yemlerini bedelsiz olarak sağlayan Lesa Yem ve Gıda Tic. ve San A.Ş.'den Veteriner Hekim Dr. Talat GÜLBAYA'a, çalışmalarım boyunca tüm köpeklerimin aşılarını bedelsiz olarak sağlayan Intervet ve Pfizer yetkililerine ve deneylerimin tüm aşamasında yanımda olan, zaman ayıran ve desteklerini esirgemeyen Veteriner Fakültesi öğrencilerinden Ufuk GÜNDOĞDU, Oruç AKGÜL, Gökhan ÖZER, Eray DÖNER, Mehmet KARABOĞA, İlyas KUŞCU, Ferak KILIÇ, Ali Özer KALENDER, Özer MERT, Aslı Derya CİNSOY ve asistan öğrencilerimiz Seda ARSLAN ve Ayşen ŞENBAŞ'a, ve tabii ki sevgili aileme ve ismini unutmuş olabileceğim bana destek veren, inanan herkese teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 301/05012005 nolu proje olarak desteklemiştir.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLolar LİSTESİ.....	Xİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	17
2. GENEL BİLGİLER	21
2.1 Köpek kan grupları	21
2.1.1 DEA 1 kan grubu sistemi	21
2.1.2 Kan gruplarının kan nakillerinde antijenik önemi	21
2.1.3 Köpeklerde doğal antikor yokluğunun kan nakillerine sunduğu avantajlar	23
2.1.4 Kan grubu tiplendirmesi ve çapraz karşılaştırma testleri.....	24
2.2 Tam kan ve kan ürünleri	26
2.2.1 Kan toplama sistemleri.....	27
2.2.1.1 Antikoagülan ve koruyucu solüsyonlar.....	28
2.2.2 Kan ürünlerinin hazırlanması ve saklama koşulları	29
2.2.2.1 kRBC ve plazma	30
2.2.2.2 Lökosit miktarı azaltılmış kRBC ürünü	31
2.2.2.3 Kriyopresipitat.....	37
2.2.2.4 Plateletten zengin plazma.....	37
2.2.3 Kan ürünleri ve kullanım alanları	38
2.2.3.1 Tam kan.....	38
2.2.3.2 kRBC süspansiyonu	39
2.2.3.3 Lökositi azaltılmış kRBC süspansiyonu	40
2.2.3.4 Plazma ürünleri	41

2.3 Kan nakilleri.....	43
2.3.1 Donör seçimi	43
2.3.2 Dozaj ve nakil hızı	44
2.3.2.1 RBC içeren ürünler	45
2.3.2.2 Plazma ürünleri	45
2.3.3 Kan nakli riskleri.....	45
2.4 Kan naklinin bağışıklık sistemi üzerine etkileri.....	50
2.4.1 Antijen tanıma.....	50
2.4.2 Lökositlerin immünomodülatif etkileri	52
2.4.2.1 Kan nakline bağlı immunomodülasyon	52
2.4.2.2 Lökositler ve kanser	53
2.4.2.3 Kan nakil ve postoperatif enfeksiyon.....	54
2.4.2.4 Lökositler ve FNHTR	55
2.4.2.5 Köpeklerde kan nakli ve lökositlerin yeri	56
2.4.2.6 Kan nakli ve immunomodülasyona yönelik klinik çalışmalar	57
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	59
3.1 Verici Kangal köpeklerin deneyler için seçilmesi ve hazırlanması	59
3.2 Alıcı köpeklerin deneyler için seçilmesi ve ön hazırlık dönemi.....	61
3.3 Deney dönemi	62
3.3.1 Analizler için kan örneklerinin toplanılması.....	64
3.3.2 Kangal’larda DEA 1.1 kan grubunun ve hastalıkların belirlenmesi	64
3.3.2.1 Kullanılan malzemeler	64
3.3.2.2 DEA 1.1 kan grubunun belirlenmesi.....	65
3.3.2.3 Dirofilaria, Ehrlichia ve Lyme hastalıklarının belirlenmesi	65
3.3.2.4 Leishmania hastalığının belirlenmesi.....	66
3.3.3 Çapraz karşılaştırma testleri.....	66
3.3.3.1 Kullanılan malzemeler	66
3.3.3.2 Çapraz karşılaştırma testlerinin yapılışı	67
3.3.4 Deplesyonlu ve deplesyonsuz kRBC ürünlerinin hazırlanması.....	67
3.3.4.1 Kullanılan malzeme ve cihazlar	67
3.3.4.2 kRBC ürünü elde edilmesi ve LD	67
3.3.5 Filtre etkinliğinin saptanması.....	70
3.3.5.1 Kullanılan malzemeler	70

3.3.5.2 Lökosit sayım tekniği.....	71
3.3.6 Kan nakilleri.....	71
3.3.6.1 Kullanılan malzemeler	72
3.3.6.2 Kan nakillerinin yapılması	72
3.4 Alıcı köpeklerin immünolojik analizleri.....	72
3.4.1 İmmünolojik analizler için kullanılan solüsyonlar ve hazırlanışı	72
3.4.2 İmmünprofil	73
3.4.2.1 Kullanılan malzemeler	73
3.4.2.2 Alıcı köpeklerde immünprofil.....	73
3.4.3 Nötrofil fonksiyon testleri.....	75
3.4.3.1 Kullanılan malzemeler	75
3.4.3.2 Nötrofil fonksiyon test yöntemi	76
3.4.4 Lökosit yüzdelerinin belirlenmesi.....	78
3.4.4.1 Kullanılan malzemeler	78
3.4.4.2 Yöntem.....	78
3.5 İstatistiksel değerlendirme	78
4. BULGULAR.....	79
4.1 Kangal’larda DEA 1.1 negatiflik düzeyi	79
4.2 Çapraz karşılaştırma testleri.....	79
4.3 Kan nakli deneyleri	79
4.4 Alıcı köpeklerin immünolojik analizleri.....	79
4.4.1 İmmünprofil	79
4.4.2 Nötrofil fonksiyon testleri.....	80
4.4.3 Lökosit tipleri.....	80
4.5 Deplezyon oranı ve filtre etkinliği	80
5. TARTIŞMA.....	89
5.1 Kangal Irkı köpeklerde DEA 1.1 kan grubu	89
5.2 Kan nakli ile bulaşan hastalıklar	89
5.3 Filtrasyon etkinliği.....	89
5.4 Sağlıklı genç melez köpeklerde kan nakillerinin bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri	90
5.5 Sonuç.....	94
KAYNAKLAR	95

ETİK KURUL KARARI	110
ÖZGEÇMİŞ	111

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: DEA 1 kan grubu sisteminin genotipik ve fenotipik olasılıkları (Hale 1995)	22
Tablo 2-2: Klinik kullanım amaçlı lökodelsionsuz kan ürünlerinde bulunan WBC ve lenfosit hücrelerinin ortalama değerleri (Bordin, Heddle ve ark. 1994).....	35
Tablo 2-3: LD sonrası bir ünite kanda geriye kalan WBC miktarı ve deplezyon etkinliği (Karger ve Kretschmer 2002)	36
Tablo 2-4: Transfüzyon reaksiyonları (Harrell ve Kristensen 1995; Bistner ve ark. 2000 pp. 576-577; Jutkowitz 2004)	46
Tablo 2-5: Köpeklerde transfüzyon reaksiyonlarının klinik semptomları (Hohenhaus 2003).....	47
Tablo 3-1: Toplanan kan örnekleri, araştırılan parametreler ve yöntemleri	63
Tablo 3-2: Verici ve alıcı köpekler arasında yapılan kan nakilleri.....	71
Tablo 3-3: Yüzey molekülü ekspresyonu tayininde kullanılan mAb'lar	74
Tablo 4-1: Lenfosit yüzey belirteçlerine ait grup, gün ve genel ortalamalar ve ortalamaların standart hatası	86
Tablo 4-2: Nötrofil fonksiyon testlerine ait grup, gün ve genel ortalamalar ile ortalamaların standart hatası	87
Tablo 4-3: Lökosit tiplerine ait grup, gün ve genel ortalamalar ile ortalamaların standart hatası	88

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: CPD Sag-M ikili kan torbası (Kansuk a)	28
Şekil 2-2: Altı-üstlü torba ve optik seperasyon (Kansuk b)	31
Şekil 2-3: Santrifüjden sonra BC hattın gözlenmesi (Kansuk b).....	32
Şekil 2-4: Dahili lökosit filtreli torba sistemi (Kansuk c).....	34
Şekil 2-5: Farklı WBC filtreleri, a. Polyester, b. Poliüretan, c. Poliüretan filtrenin iç görünümü (a: Pall, b ve c: Terumo a; b)	34
Şekil 3-1: Kan grubu ve hastalıklar taramasında kullanılan form	60
Şekil 3-2: Deneysel çalışma şeması.....	62
Şekil 3-3: DEA 1.1 kan grubu belirleme testi.....	66
Şekil 3-4: İki'li CPD Sag-M kan torbası	68
Şekil 3-5: Imugard III RC-4P filtresi	68
Şekil 3-6: Kan torbalarının godelere vesantrifüj cihazına yerleştirilmesi	69
Şekil 3-7: Kan ürünlerinin hazırlanışı ve filtrasyon aşaması [a: santrifüj edilen TK'nın plazma ekstraktörüne yerleştirilmesi, b: plazma ekstraksiyonu BC hattı (ok ile gösterilen bölüm), c, d, e: kRBC ürününün filtrasyonu]	70
Şekil 3-8: Bir örneğin FSC-SSC, CD8a, B lenfosit ve CD4 ve CD45RA lenfosit popülasyonunun kapılanması.....	75
Şekil 3-9: Nötrofil fonksiyon testleri histogramları (A: 0. ve B: 20. dakika).....	77
Şekil 4-1: Gruplara göre immünprofil karşılaştırması	81
Şekil 4-2: T lenfositlerin günlere göre karşılaştırması.....	81
Şekil 4-3: B ve olgunlaşmamış T lenfositlerin günlere göre karşılaştırması	82
Şekil 4-4: Nötrofil fonksiyon testlerinin gruplara göre karşılaştırması	82
Şekil 4-5: Nötrofil fonksiyon testlerinin günlere göre karşılaştırması	83
Şekil 4-6: Lökosit tiplerinin gruplara göre karşılaştırması	83
Şekil 4-7: Lökosit tiplerinin günlere göre karşılaştırması	84
Şekil 4-8: Gruplara göre lökosit sayılarının logaritmik ifadesi	84
Şekil 4-9: Gruplara göre WBC sayıları.....	85

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Köpek eritrosit antijeni	DEA
Eritrosit	RBC
Lökosit	WBC
Platelet	PLT
Hematokrit	Hct
Lökodeplezyon	LD
Lökoplaketer hat	BC
Allojenik kan nakli	AKN
Transfüzyonla ilgili immunomodülasyon	TRİM
Etilen-diamin-tetra-asetik-asit	EDTA
Alıcı	A
Verici	V
Tam kan	TK
Taze tam kan	TTK
Saklanmış tam kan	STK
Konsantre eritrosit	kRBC
Taze dondurulmuş plazma	TDP
Plateletten zengin plazma	PZP
Platelet konsantresi	PC
Kriyopresipitat	Cryo
Sitrat-dekstroz-fosfat	CPD
Saline-adenine-glukoz-mannitol	Sag-M
Adenine-sitrat dekstroz	ACD
Sitrat-fosfat-dekstroz-adenin	CPDA-1
American Association of Blood Banks	AABB
Food and Drug Administration	FDA
Faktör	F
von Willebrand Faktör	vWF
Yaygın intravasküler coagülopati	DIC
Non-hemolitik ateşli transfüzyon reaksiyonları	NHFTR
T lenfosit hücre reseptörü	TCR

Farklılaşma kümesi (Cluster of differentiation)	CD
Büyük uyuşum kompleksi	MHC
Antijen sunan hücreler	APC
Tam kan lizis yöntemi	TKL yöntemi
Monoklonal antikor	mAb
Fosfat buffer saline	PBS
Phorbol 12-myristate 13-acetate	PMA
N-Formyl Methionyl-Leucyl-Phenylalanine	f-MLP

ÖZET

İnal Gültekin, G. (2007). Köpeklerde Konsantre Eritrosit Transfüzyonunun Oluşturduğu İmmunolojik Değişimlerin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fiyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Köpeklerde kan ve kan ürünleri naklinde köpek eritrosit antijeni (DEA) 1.1 antijeni önem taşımakta ve DEA 1.1 negatif kan grubundan köpekler genel verici olarak değerlendirilmektedir. İnsanlarda kan nakillerine bağlı immunmodulasyonların lökositlerden (WBC) kaynaklandığı düşünülmektedir. Kan ürünlerinde WBC miktarının azaltılması olarak bilinen lökodepleksiyonlu (LD) ürünler, lökoplaketer hattın (BC-LD) uzaklaştırılması veya konsantre eritrosit (kRBC) süspansiyonunun filtrasyonu ile elde edilmektedir. Günümüzde, kan ürünlerine LD yapılmasının bütün hasta grupları için avantaj sağlayamayacağı yapılan çalışmalar ile gösterilmektedir. Sağlıklı bireylerde, LD'lu ürünlere karşı gelişen immun cevabı anlamak için hayvan modelleri önem taşımaktadır. Çalışmamızda, Kangal ırkı köpeklerde DEA 1.1 kan grubunun prevalansının saptanması ve BC-LD'lu kRBC naklinin bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Yapılan kan grubu taramasında Kangal ırkında DEA 1.1 negatiflik oranı %38,30 olarak saptanmıştır. BC-LD ve non-BC-LD kRBC nakli sonucunda, farklı günlerde (0., 10., 21., 31. ve 42. günler) alınan kan örneklerinde, CD3⁺ T lenfosit düzeyi 42. günde, 21. gün hariç diğer tüm günlere kıyasla bir azalma göstermiştir ($p \leq 0,05$). İncelenen kan frotilerinde, lenfosit yüzdesi non-BC-LD'lu grupta azalmıştır ($p \leq 0,05$). Buna karşın incelenen diğer parametrelerde grup ve gün yönünden anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Kangal köpeklerinin DEA 1.1 negatif kan grubu düzeyi nispeten düşük bulunmuştur. Ayrıca, sağlıklı melez köpeklerde BC-LD'lu kRBC nakillerinin bağışıklık sisteminde belirgin bir immüsupresyon yaratmadığı; ancak iki kere uyumlu kan nakli uygulamasının, alıcı köpekte bazı immünolojik değişimler yarattığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, kan nakli ile bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimin daha iyi anlaşılması için, deneysel kan nakli yapılan köpeklerin daha uzun süre incelenmesinin ve nakil sayısının artırılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Hasta köpeklerin ise, bağışıklık sisteminin çoğunlukla fizyolojik sınırlar dışına çıktığı varsayılırsa, kan ürünlerinde bulunan WBC'lerden farklı şekillerde etkilenebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler : Köpek, DEA 1.1 , Kan nakli, İmmüsupresyon, Deplesyon

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 301/05012005 no'lu proje olarak desteklemiştir.

ABSTRACT

İnal Gültekin, G. (2007). A Research on the Immunomodulating Effects of Packed Red Blood Suspension Transfusion in Dogs. Istanbul University, Institute of Health Science, Physiology Department. Doctorate Thesis. Istanbul.

Dog erythrocyte antigen (DEA) 1.1 blood type is of great importance for blood transfusion in dogs, and DEA 1.1 negative dogs are preferred as donors. The immunomodulation occurring in human transfusion medicine is thought to be a result of the leukocytes (WBC) present in blood components. Leukodepletion (LD), which is the reduction of WBCs from blood components, can be achieved by either buffy-coat depletion (BC-LD) or by an additional filtration step of packed red blood cell (pRBC) components. It has been demonstrated that not all patient groups would benefit from LD. Animal models are valuable for the understanding of the immune answer that takes place towards LD blood products in healthy individuals. In this study, we have investigated the DEA 1.1 prevalence of Kangal dogs and the effects of BC-LD pRBC transfusion on the canine immune system. The 38.30% of Kangal breed has shown DEA 1.1 negative blood type. The immune system was investigated on different blood withdrawal days (0, 10, 21, 31. and 42.) by using flow cytometry methods. A non-statistical difference was observed between groups and days for the investigated parameters except for CD3⁺ and lymphocyte count on the thin blood smear. CD3⁺ T lymphocytes of recipient dogs, decreased on day 42 compared to day 0, 10 and 31 ($p \leq 0.05$). Percentage of lymphocytes decreased in the non-BC-LD group compared to the BC-LD group ($p \leq 0.05$). DEA 1.1 negativity in Kangal dogs has resulted in a low percentage thus, we could not conclude Kangal breed as a potential universal donor. We also found that the immune system of healthy mongrel dogs did not react differently to the pRBC transfusion whether it was WBC reduced or not. Although, we have found that, two consecutive compatible pRBC transfusions led to a statistically significant decline in CD3⁺ T lymphocyte cells, these mild changes in the immune system are yet far away of concluding an immunosuppressive effect of blood transfusion in healthy dogs. In conclusion, long-term follow up and higher units of pRBC transfusions are suggested for further understanding on the immunomodulatory effects related to blood transfusions. WBC's transfused in blood products might have different consequences in ill patients since they are often immunocompromised.

Key Words: Dog, DEA 1.1, Blood transfusion, Immunosuppression, Depletion

This study was supported by The Research Support Unit of İstanbul University as the project no 301/05012005.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Veteriner Hekimlik alanında teşhis ve tedavi yöntemleri ilerleyen teknoloji ile birlikte gelişmektedir. Artan donanım ve bilgi Veteriner hekimlerin farklı tedavi protokollerine yönelmelerini mümkün kılmaktadır. Veteriner hekimlikte, kan nakillerinin tedavide etkinleşmesiyle birlikte (Schneider 1995; Bistner ve ark. 2000 p. 578; Hohenhaus 2005 p. 464) bu uygulama araştırma ve incelemelere açık bir konuma gelmiştir.

Kan nakli basitleştirilmiş bir organ nakli olarak değerlendirilmekte ve burada nakledilen organın kan olduğu belirtilmektedir. Karaciğer, böbrek veya kalp nakillerinde olduğu gibi, kan nakli de çeşitli karşıt reaksiyonlara ve hastalıkların bulaşmasına neden olabilmektedir. Dolayısıyla, kanın fonksiyonel özelliklerini koruyabilmesi için, elde edildiği donör, kan ürünlerinin hazırlanması ve bunların saklanmasına dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Feldman ve Kristensen, 1995).

İnsanlarda olduğu gibi, köpeklerde de kan nakilleri esasında, kan grupları hayati önemdedir. Veteriner hekimlikte kan transfüzyonu pratiği arttıkça, köpek kan grupları bir çok çalışmaya konu edilmiş ve 8 tanesi uluslararası standartta tanınmış 13'ün üzerinde kan grubu saptanmıştır (Hale 1995). Köpeklerin kan grupları, köpek eritrosit antijeni (DEA) olarak tanımlanan, eritrosit (RBC) hücre membranında bulunan glikoprotein ve glikolipid karakterinde antijenlerle belirlenmektedir. DEA 1.1 antijeni transfüzyon açısından en çok önem taşıyan kan grubudur (Battaglia 2001 p. 62; Lanevski ve Wardrop 2001). DEA 1.1 antijenini taşımayan köpekler, genel verici olarak kabul edilmektedirler (Battaglia 2001 p. 62). Köpeklerin ırklara göre kan grubu tipleri henüz bilinmemekte (Smith 1991), ancak Greyhound Irkı köpekler DEA 1.1 antijenini taşımadıklarından literatürde "universal donör" olarak kabul edilmektedirler (Bistner ve ark 2000 p. 579).

Köpekler diğer türlerden farklı olarak kendi kan grupları dışındaki kan gruplarına karşı doğal antikor taşımamaktadırlar (Battaglia 2001 p. 62; Stone ve ark. 1992; Giger ve ark. 1995). Bundan dolayı, ilk kan transfüzyonunda herhangi bir karşıt reaksiyon oluşmadığından kan uyumu aranmayabilir (Battaglia 2001 p. 63). Ancak birinci transfüzyondan sonra yabancı kan grubuna karşı antikor sentezi şekillenecek

(Giger ve ark. 1995, Hale 1995), ikinci transfüzyonlarda ise mutlaka uyumlu kan nakli yapılması zorunluluğu doğacaktır (Stone ve ark. 1992). Aksi taktirde ateşten ölüme kadar değişen immunolojik ve non-immunolojik transfüzyon reaksiyonlarının şekillenebileceği ifade edilmektedir (Giger ve ark. 1995). Ülkemizde, köpeklerde kan grupları belirlenmeksizin çapraz karşılaştırma testleri nadiren yapılmaktadır. Dolayısıyla yapılan kan transfüzyonları sırasında veya sonrasında karşı reaksiyon riskinin olabileceği düşünülmektedir.

Kan ürünleri bütün acil hematolojik ve bazı kanser vakalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Battaglia 2001 p. 57; Hohenhaus 2003). Örneğin, kan kaybı, hemoliz ve kemik iliği yetersizlikleri, gastrointestinal ve kalp hastalıkları, cerrahi müdahaleler, travma, şiddetli diş hastalıkları ve toksik madde zehirlenmeleri (Kerl ve Hohenhaus 1993), acil reoksijenizasyonu sağlamak amacıyla veya cerrahi operasyon öncesi aneminin düzeltilmesi, kronik hastalıklar, hemolize ve bazı kanser türlerine bağlı anemilerin tedavisinde RBC içeren kan ürünleri naklinin tercih edilen bir uygulama olduğu belirtilmektedir (Battaglia 2001 p. 58; Lanevschi ve Wardrop 2001; Bistner ve ark 2000 p. 573; Hohenhaus 2003). Plazma ürünlerinin ise, koagülasyon faktörleri, albümin, alpha-macroglobulin veya immunoglobulin sağlaması için aktarıldığı ifade edilmektedir (Logan ve ark. 2001).

İnsan hekimliğinde, allojenik kan nakli (AKN), uzun yıllardan beri hayat kurtarıcı olarak bilinmektedir (Haynes ve ark. 2001). Dolayısıyla, RBC nakilleri, kan hacminin yerine konulması, oksijen taşımalarının artırılması ve anemi semptomlarının düzeltilmesi gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır. Ancak, son 20 yıl içerisinde, kan naklinin potansiyel yan etkilerinin farkedilmesiyle, kan naklinin klinik anlamda tekrar değerlendirilmesine gidildiği belirtilmektedir (Blajchman ve Hébert 2001; Haynes ve ark. 2001; Jutkowitz 2004). Kan naklinin, bağışıklık sistemi üzerindeki “immunomodülatif” etkisi vücudun savunma cevabında bir artış veya azalma ile kendini göstermektedir (Kirkley 1999).

İnsan çalışmaları oldukça ileri düzeylerde olup, böbrek nakli, aort cerrahisi ve kanser hastalarında kan transfüzyonunun, graft reddi ve kötü huylu tümörler üzerindeki etkileri araştırılmaktadır (Blajchman ve ark. 1993; Kirkley 1999; Claas ve ark. 2001; Haynes ve ark. 2001; Vamvakas ve Blajchman 2001a; Brand 2002). Bu konuda allojenik transfüzyonunun yarattığı immunomodülasyonun, immun tolerans geliştirerek

transplant reddini engelleyebileceği ve immunosupresyon sonucu tümör ve hastalıkların gelişebileceği bildirilmektedir (Claas ve ark. 2001; Vamvakas ve Blajchman 2001a). Bu etkileri ortaya çıkarmak için, allojenik transfüzyonun hücrel immunité üzerine etkisi bir çok çalışmaya konu olmuştur (Mathiesen ve ark. 1998). Allojenik kan transfüzyonu alıcıya önemli miktarda eriyebilen ve hücrel yabancı antijen girişine neden olmaktadır. Bu antijenlerin bu şekilde dolaşımda kalmalarının bağışıklık sisteminin çökmesine neden olacak ortamı hazırladığı bildirilmektedir (Vamvakas ve Blajchman 2001a).

Uyumlu kan naklinde görülen immunosupresyon ve bazı transfüzyon reaksiyonları oluşumundan lökosit (WBC) ve plateletler (PLT) sorumlu tutulmaktadır (Blajchman ve ark. 1993; Giger ve ark. 1995; Kristensen ve Feldman 1995a p.349; Claas ve ark. 2001; Vamvakas ve Blajchman 2001a; Roddie ve ark. 2000; King ve ark. 2004; Lucas ve ark. 2004). Son 10 yıl içinde, Avrupa, Kuzey Amerika (Vamvakas 2007), Avustralya ve Asya'da hücrel komponentlerin kullanılmadan önce filtrasyon aşamasından geçirilerek WBC miktarının azaltılması -lökodeplezyon (LD)- yerleşmiş bir teknoloji haline dönmüştür (Dzik ve ark. 2000). WBC filtrasyonu 90'lı yılların sonunda çoğu ülkede zorunlu hale getirilmeden önce, kan naklinin olumsuz etkilerini inceleyen çalışmalarda lökoplaketer hattı (BC) uzaklaştırılmış (BC-LD) kan ürünleri kullanılmış ve çalışmalarda kan nakli yapılmayan ile BC-LD RBC nakli yapılan gruplar arasında karşılaştırmalar yapılmıştır (Bordin, Bardossy ve ark. 1994; van de Watering ve ark. 1998; Dzik ve ark. 2000). Ancak daha sonra, filtre kullanımı ile kan ünitelerinde filtrasyondan sonra geriye kalan WBC sayıları 1×10^6 (Avrupa Konseyi Yayınları 2004b p. 103) düzeyine kadar indirilmiştir.

LD'nun immunomodülasyonu engellemekteki etkileri henüz tartışmalı olmasına rağmen, transfüzyon hekimliğinde alloimmunizasyon risk ve sonuçlarını azaltmak veya engellemek amacıyla LD yapılan kan komponentleri kullanılmaktadır (Kirkley 1999; Roddie ve ark. 2000; Brand 2002; Bontadini ve ark. 2002; King ve ark. 2004; Vamvakas ve Blajchman 2007). Üzerinde birçok çalışma yapılmasına rağmen, AKN'nin olumsuz etkilerinin varlığı henüz kesinlik kazanmamıştır (Blajchman 1997; Claas ve ark 2001). Nitekim, araştırmalar bütün hasta gruplarının LD'dan aynı ölçüde faydalanamayacağını göstermektedir. Sağlıklı bireylerde, LD'lu ürünlere karşı gelişen

immun cevabı anlamak için hayvan modellerinin önemi vurgulanmaktadır (Semple 2004).

Köpeklerde en sık gözlenen transfüzyon reaksiyonunun, FNHTR'lar olduğu ve nakil yapılan köpeklerin %3-5'inde gözlemlendiği belirtilmektedir (Brownlee ve ark. 2000; Lanevschi ve Wardrop 2001). Köpeklerde WBC'lere bağlı olarak gelişen transfüzyon reaksiyonlarının ve kan nakli ile enfektif hastalıkların bulaşma riskinin LD ile engellenebileceği önerilmektedir (Brownlee ve ark. 2000). Ancak, kan naklinin oldukça sık yapıldığı köpeklerde LD'nun, hastalıkların yayılmasında (Giger ve Schantz 2002) ve FNHTR'ların oluşumunu engellemekte ne derece başarılı olacağı bilinmemektedir. Nitekim uyumlu kan nakli sonucu gelişen immunolojik yanıt hakkında yeterli verinin bulunmadığı ifade edilmektedir (Kristensen ve Feldman 1995a p. 357).

Bu bilgiler ışığında, çalışmanın birinci aşamasında, ülkemizde ve dünyada özgün bir ırk olarak kabul edilen Kangal ırkı köpeklerin, DEA 1.1 kan grubu prevalansını tespit etmek, ikinci aşamasında ise, sağlıklı melez erkek köpeklerde WBC miktarı azaltılmış kRBC süspansiyon naklinin immunmodülatif etkilerini flow sitometri yöntemleri ile belirlemek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Köpek kan grupları

Köpeklerin kan grubu RBC yüzeyinde bulunan glikolipid ve glikoprotein karakterli moleküller ile belirlenmektedir (Hale 1995; Lanevschi ve Wardrop 2001). Köpek eritrosit antijeni, “DEA” kısaltması ve bunu takip eden bir sayı ile belirtilmekte (Giger ve ark. 1995; Hale 1995), ve kan grupları, DEA 1.1, 1.2, 3, 4, 5 ve 7 olarak gösterilmektedir. Köpeklerde bilinen 8 farklı kan grubu sistemine yakın zamanda 5 adet yeni kan grubu daha eklenmiştir (Smith 1991; Hale 1995; Battaglia 2001 p. 62). Çok yakın zamanda ise Dalmaçya ırkı köpeklerde “Dal” olarak isimlendirilen yeni bir kan grubu daha saptanmıştır (Blais ve ark. 2007).

2.1.1 DEA 1 kan grubu sistemi

DEA 1 sisteminin üç alt grubu bulunmakta ve DEA 1.1, 1.2 ve 1.3 şeklinde sınıflandırılmaktadır. Bir köpeğin RBC’lerinin, bu alt tiplerden herhangi biri için pozitif olabileceği gibi hepsi açısından negatif olabileceği de belirtilmektedir (Giger ve ark. 1995; Hale 1995). DEA 1 kan grubu sisteminin, Mendel kurallarına göre dağılım gösterdiği bildirilmekte (Hale 1995) ve bir köpeğin, DEA 1.1 pozitif veya negatif olabileceği ve sadece DEA 1.1 negatif köpeklerin, DEA 1.2 pozitif veya negatif olabileceği ifade edilmektedir (Giger ve ark. 2005) (Tablo 2-1). DEA 1.3 kan grubuna ait tiplendirme ayraçlarının bulunmayışı ise, kan nakillerinde bir önem taşıyıp taşımadığını ortaya koymayı engellemektedir (Hale 1995).

DEA 1.1 antijenin bilinen en güçlü hemolizin olması (Giger ve ark. 1995), DEA 1.1 negatif donörlerin, kan nakli için yeterli güvenliği sağladığını düşündürmekle birlikte (Battaglia 2001 p. 62), DEA 3, 4, 5 ve 7 kan gruplarına karşı gelişen karşıt reaksiyonların belgelendiği de göz ardı edilmemelidir (Hale 1995; Melzer ve ark. 2003).

2.1.2 Kan gruplarının kan nakillerinde antijenik önemi

DEA 1.1, 1.2, 3, 5, 7 negatif ve 4 pozitif köpekler “universal donör” olarak kabul edilmektedir (Hale 1995; Melzer ve ark. 2003). Köpek popülasyonunun %98’inin DEA 4 pozitif olduğu ve bu kan grubuna karşı doğal antikorların şekillenmediği belirtilmektedir (Hale 1995). Ancak, yakın zamanda yapılan bir çalışmada, DEA 4 antijeninin kan nakillerinde herhangi bir tehlike teşkil etmediği yönündeki düşüncelerin

aksine, DEA 4 negatif köpeklere, DEA 4 pozitif köpeklerden yapılan kan nakillerinde, transfüzyon reaksiyonlarının oluşabileceği belirtilmektedir (Melzer ve ark. 2003).

Tablo 2-1: DEA 1 kan grubu sisteminin genotipik ve fenotipik olasılıkları (Hale 1995)

Fenotip	Genotip
DEA 1.1	1.1/1.1, 1.1/1.2, 1.1/1.3, 1.1/-
DEA 1.2	1.2/1.2, 1.2/1.3, 1.2/-
DEA 1.3	1.3/1.3, 1.3/-
DEA negatif	-/-

DEA 3, 5 ve 7 antijenlerini taşımayan köpeklerde, bu kan gruplarına karşı doğal antikorların varlığından şüphe edilmektedir. Nitekim, DEA 3, 5 ve 7 negatif köpeklere, DEA 3, 5 ve 7 pozitif RBC nakli yapılmasıyla, nakli takip eden ilk 72 saat içerisinde gecikmiş tipte tranfüzyon reaksiyonların gerçekleşebileceği ileri sürülmektedir. Dolayısıyla DEA 3, 5, ve 7 pozitif köpeklerin donör olarak kullanılması önerilmemektedir (Hale 1995). DEA 7 kan grubu, diğerleri arasında en çok tartışılan kan grubu olmakla birlikte doğal antikor varlığından şüphelenilmektedir. Köpek popülasyonunda, DEA 7 kan grubunun doğal antikor düzeyi Feldman (1999) tarafından %15, Hale (1995) tarafından ise %20-50 arasında bildirilmektedir. Giger ve ark. (1995) sonuçlar arasındaki farkın, DEA 7 antikorumun soğuk aglutinin oluşu ile açıklanabileceğini, nitekim test ettikleri 23 DEA 7 negatif köpekte anti-DEA 7 sıcak alloantikor tespit edemediklerini vurgulamaktadırlar (Giger ve ark. 1995).

Kan nakillerinde, özellikle DEA 1.1, 1.2 ve DEA 7 kan grupları önem taşımakta (Battaglia 2001 p. 62), dolayısıyla DEA 1.1, 1.2 ve DEA 7 negatif olan köpekler ideal donör (Kerl ve Hohenhaus 1993) olarak kabul edilmektedirler. Bunlar arasında DEA 1.1 en yüksek antijenite gösterdiğinden, DEA 1.2 ve DEA 7'nin nakil için daha az önem taşıdığı vurgulanmaktadır (Giger ve ark. 1995; Battaglia 2001 p. 62). Dolayısıyla, DEA 1.1 antijenini taşımayan köpekler verici olarak kabul edilebilmektedirler (Battaglia 2001

p. 62). Nitekim, DEA 1.1 haricindeki kan gruplarının, kan nakli açısından pek önem taşımadığı ileri sürülmektedir (Giger ve ark. 2005). Ayrıca, bütün kan gruplarına yönelik, kliniklerde rutin kullanıma hazır ticari kitlerin bulunmadığı, bu kan gruplarının tespiti için laboratuvar koşullarının gerektiği de bildirimler arasındadır (Hale 1995).

Köpeklerin ırklara göre kan grubu tipleri henüz bilinmemekte (Smith 1991), ancak, Greyhound ırkı köpeklerin çoğunluğu DEA 1.1 ve 7 antijenlerini taşımadıklarından dolayı literatürde “universal donör” olarak kabul edilmektedirler (Bistner ve ark 2000 p. 579). Güney Afrika’da, DEA 1.1 prevalansının ölçülmesine yönelik yapılan bir çalışmada, köpeklerin %47’sinde DEA 1.1 pozitiflik saptanmış, Greyhound (n=8), Boxer (n=8) ve Alman Çoban (n=55) köpek ırklarının sırasıyla %100, %88, %84 oranlarında DEA 1.1 negatif oldukları bildirilmiştir (van der Merwe ve ark. 2002). Brezilya’daki benzer bir çalışmada ise, DEA 1.1 pozitiflik oranı %51,3 (n=77) olarak tespit edilmiş, Alman Çoban (n=19), Boxer (n=5) ırkı köpeklerde, DEA 1.1 pozitiflik sırasıyla %36,84 ve %20 olarak saptanmıştır (Novais ve ark. 1999). Güney Afrika ve Brezilya’daki melez köpeklerde ise, DEA 1.1 pozitif kan grubu, sırasıyla %48 (n=23) (van der Merwe ve ark. 2002) ve %46,57 (n=73) (Novais ve ark. 1999) gibi birbirine oldukça yakın sonuçlar bulunmuştur.

2.1.3 Köpeklerde doğal antikor yokluğunun kan nakillerine sunduğu avantajlar

İnsan ve kedilerin (Griot-Wenk ve Giger 1995) aksine, köpeklerde yabancı kan gruplarına karşı doğal antikor bulunmamakta (Giger ve ark. 2005) ve bu durum, ilk kez uygulanan kan naklinde, transfüzyon riskini ortadan kaldırmaktadır (Stone ve ark. 1992; Giger ve ark. 1995; Battaglia 2001 p. 62; Chiaramonte 2004). Ancak birinci kan naklinde, alıcı ve verici kan grupları uyumsuz ise, nakli takip eden 4-14 gün (Giger ve ark. 1995) ve hatta 21 gün (Battaglia 2001 p. 62) sonra, aktarılan kan grubuna karşı antikor şekillenecek, başka bir deyişle alıcı köpek uyarılmış olacaktır. Üretilen antikorlar, ileride uygulanacak nakiller için tehlike oluşturmaktadır (Stone ve ark. 1992). DEA 1.1 kan grubunun yüksek antijenitesi nedeniyle, DEA 1.1 antijenini taşıyan verici köpeklerin kanları, sadece DEA 1.1 pozitif alıcıya aktarılmalıdır. Aksi takdirde, birinci kan naklini takip eden günlerde, alıcıda, anti-DEA 1.1 antikorları üretilecek ve aktarılan RBC’lerin yaşam süreleri kısılacaktır (Giger ve ark. 1995; Battaglia 2001 pp. 62-63). Uyarılmış alıcılara ikinci nakilde, tekrar DEA 1.1 pozitif kan verilmesi ise

hastanın ölümüne kadar varabilen şiddetli transfüzyon reaksiyonlarına neden olabilecektir (Smith 1991; Giger ve ark. 1995).

2.1.4 Kan grubu tiplendirmesi ve çapraz karşılaştırma testleri

Köpeklerde kan naklinden önce, kan gruplarının mutlaka değerlendirilmesi gerekmektedir (Smith 1991). Köpeklerin kan gruplarının belirlenmesinde, antijen antikör reaksiyonu sonucu gözle görülen hemoliz veya aglütinasyon (Hale 1995) oluşumuna dayanan ticari kitler kullanılmaktadır (Lanevschi ve Wardrop 2001, Giger ve ark. 2005). 1990'lı yıllardan itibaren ticari olarak elde edilebilen kart yöntemi, bir damla antikoagülanlı kanın, kartlara emdirilmiş kemirgenlerden elde edilen DEA 1.1 monoklonal antikoru (mAb) ile reaksiyona girmesi prensibine dayanmaktadır (Battaglia 2001 p. 63; Giger ve ark. 2005). Daha yakın zamanda, insanlarda kan grubu belirleme tekniklerinden adapte edilen DEA 1.1 mAb'ları içeren mikrokolon jel testleri de RBC aglütinasyon prensibine dayanmaktadır (Giger ve ark. 2005). DEA 1.1, 1.2, 3, 4, 5, 6 ve 7 kan gruplarının ise, sadece Michigan State University (MSU) yöntemi ile belirlendiği belirtilmektedir (Hale 1995; Giger ve ark. 2005).

Kan gruplarının belirlenemediği veya acil durumlarda, çapraz karşılaştırma testleri uygulanmaktadır (Hale 1995; Battaglia 2001 p. 63). Bu testlerin yapılışı üç temel amaca dayanmaktadır (Feldman ve Kristensen 1995; Lanevschi ve Wardrop 2001):

- (i) Karşı reaksiyon oluşma riskini azaltmak (doğal antikör bulunan veya daha önce duyarlı hale gelmiş hastalarda ve neonatal izoeritrolizisi engellemek),
- (ii) Hastayı nakilden dolayı duyarlı hale getirmemek,
- (iii) Nakilden sonra RBC ömrünü uzatmak.

Çapraz karşılaştırma testleri, köpeklerin kan gruplarını belirleyememekte; ancak nakilden önce, iki köpek arasındaki serolojik uyumun in vitro olarak değerlendirilmesini sağlamaktadır (Giger ve ark. 1995; Feldman 1999; Battaglia 2001 p. 67; Lanevschi ve Wardrop 2001). İlk defa kan nakli yapılan bir köpekte, kan grupları farklı olsa bile, doğal antikör bulunmadığından, çapraz karşılaştırma testlerinde aglütinasyon saptanamamaktadır (Feldman ve Kristensen 1995; Giger ve ark. 1995; Battaglia 2001 p. 67). Dolayısıyla, negatif sonuç veren çapraz karşılaştırma testleri, iki köpeğin aynı kan

grubuna dahil olduğunu göstermemektedir (Lanevschi ve Wardrop 2001). Her kan nakli alıcıda yeni antikor oluşumuna neden olabileceğinden, kan nakilleri arasında 4 gün geçmiş ise (Giger ve ark. 1995; Hohenhaus 2003) ve hasta anemnezinde, kan nakli veya gebelik bulunması halinde (Lucas ve ark. 2004), çapraz karşılaştırma testlerinin mutlaka yapılması önerilmektedir.

Çapraz karşılaştırma testleri, major ve minör olmak üzere, iki bölümden oluşmaktadır. Major testte, alıcının plazmasında, vericinin RBC'lerine karşı antikor varlığı; minör testte ise, vericinin plazmasında, alıcının RBC'lerine karşı antikor varlığı aranmaktadır (Smith 1991; Feldman ve Kristensen 1995; Giger ve ark. 1995; Griot-Wenk ve Giger 1995; Battaglia 2001 p. 67, Lucas ve ark. 2004). Testlerin sonucu, aglutinasyon veya hemoliz görülmesi ile değerlendirilmektedir (Lanevschi ve Wardrop 2001; Lucas ve ark. 2004). Çaprazlama testlerinin, aglutinasyon varlığının tespiti için mutlaka mikroskopik olarak test edilmesi önerilmektedir (Battaglia 2001 p. 68). Çapraz karşılaştırma testlerinde RBC'lerde gözlenebilen rulo oluşumu, aglutinasyon ile karıştırılmamalıdır (Giger ve ark. 1995; AABB Technical Manuel 2005f, p. 409). Çaprazlamadan elde edilen sonuç pozitif ise, transfüzyon reaksiyonlarının oluşma riskinin büyük olduğu; negatif ise, az olduğu kabul edilmektedir (Lucas ve ark. 2004). Çaprazlama testlerinde, RBC ve plazma arasındaki uyum kontrol edilmekte; ancak WBC ve PLT'ler değerlendirilememektedir. Oysa, uyumlu kan naklinde görülen non-hemolitik transfüzyon reaksiyonlarının en büyük kaynağını, WBC ve PLT'lerin oluşturduğu ifade edilmektedir (Giger ve ark. 1995; Feldman ve Kristensen 1995; Lucas ve ark. 2004).

Köpeklerde birinci kan nakli, uyumsuz bir kan grubu ile yapılmış ise, alıcı köpek nakledilen kan grubuna karşı uyarılmış olacağından, aynı vericiyle yapılan ikinci nakilden önce, çaprazlama testlerinde aglutinasyon veya hemolizin belirgin olarak gözleneceği belirtilmektedir (Giger ve ark. 1995; Lanevschi ve Wardrop 2001; Lucas ve ark. 2004). Dolayısıyla, özellikle ikinci nakiller öncesinde, çapraz karşılaştırma testlerinin yapılması önem kazanmaktadır (Battaglia 2001 p. 67; Hohenhaus 2005 p. 466). Reaksiyonlar, ortam ısısına bağlı olarak gelişebileceğinden (Harrell ve Kristensen 1995), testlerin 3 farklı ortam ısısında yapılması önerilmekte, nitekim DEA 7 anitjeni reaksiyonunun oluşumunda ısı önem taşımaktadır (Smith 1991). Çapraz karşılaştırma testleri lam üzerinde yapılabileceği gibi (Plunkett 1993 p. 189) tüple de yapılabilir. Tüp

kullanımında aglütinasyon +1, +2, +3 ve +4 olarak derecelendirilmektedir (Kristensen ve Feldman 1995a, p. 350).

2.2 Tam kan ve kan ürünleri

Kanın hücresel ve plazma kısımları, vücutta farklı görevleri yerine getirmekte ve bazı hastalıklarda, kanın sadece bir bölümüne gereksinim duyulmaktadır (Battaglia 2001 p. 57). Kan ürünleri, antikoagülanlı ve koruyucu madde içeren kan torbalarına toplanan TK'ın santrifüj edilip komponentlerine ayrılması ile elde edilmektedir. Taze tam kan (TTK), saklanmış tam kan (STK), konsantre RBC (kRBC) ve WBC miktarı azaltılmış kRBC kan ürünleri, RBC içermektedir (Prittie 2003; Hohenhaus 2005 p. 465). Taze dondurulmuş plazma (TDP), plateletten zengin plazma (PZP) ve kriyopresipitat (Cryo) ürünleri ise toplanan kanın plazma bölümünden elde edilen kan ürünleridir (Kristensen ve Feldman 1995a, p. 350).

Kan komponentlerinin elde edilmesiyle, tam kan (TK) kullanımının genel olarak azaldığı (Kristensen ve Feldman 1995a p. 347) ve tedavide kan komponentlerinin tercih edilmesiyle transfüzyon risklerinin daha az görüldüğü belirtilmesine rağmen (Chiaromonte 2004), Amerika'da, köpeklerde kan nakli uygulamasının yaygınlığını inceleyen bir çalışma (Howard ve ark. 1992), bir çok veteriner hekimin, kan ürünlerine nazaran elde edilmesi daha kolay olan TK kullanımını tercih ettiklerini ortaya koymuştur. Ancak, kRBC veya plazma gibi kan ürünleri, TK uygulamasına göre çeşitli avantajlar sağlamaktadır (Stone ve ark. 1992). Bu kapsamda, hastanın spesifik eksikliği olan komponentin yerine konulması, nakillere bağlı karşı reaksiyonların azalması (Stone ve ark. 1992; Hohenhaus 2005 p. 464) ve nakil süresinin kısalması, ürün kullanımının avantajları olarak sıralanmaktadır (Bistner ve ark 2000 p. 571; Battaglia 2001 p. 57; Logan ve ark. 2001). Örneğin, kardivasküler sistem hastalığı olan anemik bir köpeğin oksijen taşıma kapasitesinin artırılması için, TK yerine kRBC ürünü kullanımı, hasta için gerekli olmayan plazmanın aktarılmasını önleyerek, dolaşım hacminin aşırı artışı ve kalp yetmezliği oluşumunu engelleyebilmektedir (Battaglia 2001 p. 58). Kan ürünlerinin TK nakline göre başka bir üstün yanı ise, toplanan kanın komponentlerine ayrılmasıyla elde edilen kan ürünlerinin, birden fazla hastaya uygulanması ve dolayısıyla kan kaynaklarının daha ekonomik kullanımını sağlamasındadır (Stone ve ark. 1992; Kerl ve Hohenhaus 1993; Logan ve ark. 2001; Rozanski ve De Laforcade 2004; Hohenhaus 2005 p. 466). Nitekim, ayrılan plazma,

başka bir hastaya nakledilebilmekte veya daha sonra kullanılmak üzere dondurularak saklanabilmektedir (Kerl ve Hohenhaus 1993).

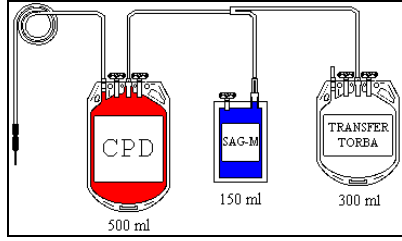
1986-1989 yılları arasında yapılan kan nakillerini inceleyen geriye dönük bir çalışmada; özellikle 1987 yılından itibaren kan bankasının işlevliğinin artmasıyla beraber, kan ürünleri kullanımının arttığı vurgulanmaktadır (Stone ve ark. 1992). Logan ve ark. (2001), Pennsylvania Üniversite Veteriner Hastanesinde, plazma kullanımının, 1987 yılında, 200 ünite civarındayken; 1999 yılında, on kat artış göstererek, 2295 ünite plazmanın kullanıldığını belgelemekte ve üniversite hastaneleri ile ticari kan bankalarında tekniklerin gelişmesiyle, veteriner hekimlik alanında plazma kullanımının geçtiğimiz son 20 yıl içinde önemli miktarda arttığını vurgulamaktadırlar.

2.2.1 Kan toplama sistemleri

Verici köpekten kan toplanırken, “kapalı sistem” kan torbaları kullanılmaktadır (AABB Technical Manuel 2005a p.104). Steril torbalar kan toplama, TK’ı işleme ve saklama basamaklarının dış ortama açılmadan yapılmasını sağlamakta, böylece bakteriyel kontaminasyon riskini azaltmaktadır. Tekli kan toplama torbası, TK kullanımı için uygun olup; antikoagülan ve koruyucu sıvı içeren tek torbadan oluşmaktadır. Ancak komponentlerin toplanmasında, kapalı sisteme dışarıdan girilmesi gerekeceği için, sistem “açık” hale geçmekte, dolayısıyla kontaminasyon riski artmaktadır (Schneider 1995; Battaglia 2001 pp. 64-65). Bu ürünlerin 24 saat içinde kullanılması önerilmektedir (Battaglia 2001 p. 65).

Kan komponentlerini hazırlamak için ikili, üçlü ve dörtlü kan torbaları tercih edilmektedir (Schneider 1995; Battaglia 2001 p. 65). Kan toplama sistemleri, kan ürünleri hazırlanırken, tamamen “kapalı sistem”de çalışmaya olanak vererek asepsiyi sağlamakta ve bakteriyel kontaminasyon riskini en aza indirmektedir (Battaglia 2001 p. 64; Lucas ve ark. 2004). Sitrata-fosfat-dekstroza (CPD) ikili torba sisteminde, antikoagülan solüsyonu taşıyan birincil torbaya, biri tamamen kuru (transfer torbası) ve diğerinde saline-adenin-glukoz-mannitol (Sag-M) (Sollberger ve ark. 2002) koruyucu solüsyonunu içeren iki adet uydu torba bağlıdır (Şekil 2.1) (Wardrop 1995). Kan, CPD içeren birincil torbaya toplanmakta ve santrifüj işlemini takiben, plazma, transfer torbasına aktarıldıktan sonra torba sisteminden hortumun kesilmesiyle uzaklaştırılmaktadır. Nihayet, diğer uydu torbada bulunan koruyucu solüsyon, hem akışkanlığı sağlamak, hem de RBC ömrünü uzatmak amacıyla geride kalan kRBC

üzerine aktarılarak, kRBC süspansiyonu elde edilmektedir (Schneider 1995; Wardrop 1995; Battaglia 2001 p. 65; Lucas ve ark. 2004; Kansuk a).



Şekil 2-1: CPD Sag-M ikili kan torbası (Kansuk a)

2.2.1.1 Antikoagülan ve koruyucu solüsyonlar

Transfüzyon amaçlı toplanan kan için, çeşitli antikoagülan ve koruyucu solüsyonlar kullanılmaktadır. Bu sıvılar, RBC ömrünün, saklama sırasında ve nakilden sonra uzun olmasını sağlamak amaçlı kullanılmaktadır (Battaglia 2001 p. 65). American Association of Blood Banks (AABB) standartlarına göre, RBC canlılığının, 35 günlük saklama sonunda (Feldman ve Kristensen 1995) ve nakilden 24 saat sonra %75 oranında sürmesi arzu edilmektedir (Battaglia 2001 p. 66). Kan naklinin başarılı sayılabilmesi için nakil sonrası canlılığın devamının bir kriter olduğu da belirtilmektedir (Battaglia 2001 p. 65).

Kan torbalarının içerisinde, 63-70 ml antikoagülan bulunmaktadır (Hohenhaus 2005 p. 464). Depolama sırasında oluşan biyokimyasal değişimlerin araştırılması ile RBC içeren ürünlerin raf ömrünün koruyucu solüsyona bağlı olarak farklılık gösterdiği vurgulanmaktadır (Schneider 1995; Battaglia 2001 p. 66). RBC'lerde gözlenen değişimler, "saklama lezyonu" olarak isimlendirilmekte ve ATP, pH, 2,3-DPG (Battaglia 2001 p. 66; Perrotta ve Snyder 2001) ve potasyum azalması (Perrotta ve Snyder 2001) ile laktik asit artışı (Battaglia 2001 p. 66) kapsamaktadır. Saklama lezyonları RBC'lerde canlılık ve fonksiyon kaybına yol açmakta (Battaglia 2001 p. 66), dolayısıyla kan naklini etkisiz hale getirebilmektedir. (Wardrop 1995). RBC naklinin doku reoksijenizasyonu üzerindeki etkileri incelendiğinde, 15 günün üzerinde saklanan RBC'lerde, ATP kaybindan ötürü, esneklik kaybı şekillenebileceği (Wardrop 1995), dolayısıyla RBC'lerin kapillar dolaşımı engellenerek doku reoksijenizasyonunda problem yaşanacağı belirtilmektedir (Prittie 2003). Nitekim, 2 hafta saklanan sıçan kanı

taze kan ile karşılaştırıldığında, RBC'lerin ekinositik şekil aldığı ve kapillar reoksijenizasyonun yeterli düzeyde yapılamadığı gösterilmiştir (Gonzalez ve ark. 2007).

CPD ve asit-sitrat-dekstroz (ACD) antikoagülan solüsyonları kRBC ürününün 21 gün boyunca saklanmasına olanak sağlamaktadır (Battaglia 2001 p. 66). Sitrat-fosfat-dekstroz-adenin-1 (CPDA-1) antikoagülan solüsyonunun, RBC fonksiyon ve canlılığını desteklediği, 2,3-DPG ve ATP'yi daha iyi koruduğu, saklama sürelerini ise 3-5 haftaya (21-35 gün) kadar uzattığı bildirilmektedir (Wardrop 1995; Battaglia 2001 p. 66).

Koruyucu solüsyonlar içeren torba sistemlerinde, birincil torbada genel olarak CPD antikoagülanı bulunmaktadır (Wardrop 1995). Bu sistemlerin uydu torbalarında ise, hücrel metabolizmayı sürdürmek ve canlılığı devam ettirmek için gerekli dekstroz, adenin, mannitol ve sodyum klorid gibi maddeleri içeren (Lanevschi ve Wardrop 2001) ancak protein taşımayan katkı solüsyonları bulunmaktadır (Wardrop 1995; Battaglia 2001 p. 66). Plazması ayrılmış kRBC'lere, ilave edilen Adsol[®], Nutricel[®], Optisol[®] katkı solüsyonlarının, kRBC saklama sürelerini 35-37 (Battaglia 2001 p. 66; Rozanski ve De Laforcade 2004), hatta 42 güne kadar uzattığı bildirimler arasındadır (Wardrop 1995; Perrotta ve Snyder 2001). Koruyucu solüsyonların, içerdikleri yoğun konsantrasyonda dekstroz ve adeninin maddelerinin, RBC enerji metabolizmasında kullanılmasıyla, RBC saklama süresini uzattığı belirtilmektedir (Wardrop 1995).

Heparin kullanımının, uzun vadeli saklama için uygun olmayacağı ve heparinli TK'nın toplandıktan sonra, ilk 24 saat içerisinde kullanılması gerektiği belirtilmekle birlikte (Lanevschi ve Wardrop 2001), heparinin transfüzyon amaçlı kullanılması önerilmemektedir (Wardrop 1995; Battaglia 2001 p. 66).

2.2.2 Kan ürünlerinin hazırlanması ve saklama koşulları

Köpeklerden toplanan bir ünite kan miktarı, bir çok hayvan kan bankasında, 450ml olarak standardize edilmiştir (Feldman ve Kristensen 1995; Battaglia 2001 p. 65; Rozanski ve de Laforcade 2004; Hohenhaus 2005 p. 464). Toplanan TK, ayrıştırma işlemlerine başlayana kadar 4-6°C'de tutulmalıdır (Lucas ve ark. 2004; Battaglia 2001 p. 58; AABB Technical Manuel 2005d pp. 178-179). Ancak, soğutulmuş ortamda, PLT'lerde fonksiyon ve canlılık kaybı şekilleneceği (Hohenhaus 2005 p. 467) ve depolandıktan ilk 24 saat sonra PLT fonksiyonun ve labil koagülasyon faktörlerinin

azalacağı belirtilmektedir (Battaglia 2001 p. 58). Dolayısıyla, PZP hazırlamak için komponentlerine ayrılana kadar TK'nın, 20°C'nin altına inmemek şartıyla, mutlaka oda ısısında muhafaza edilmesi önerilmektedir (Battaglia 2001 p. 58; Lucas ve ark. 2004; AABB Technical Manuel 2005d pp. 178-179). Kan ürünlerinin hazırlanmasında, santrifüj aşamasının, santrifüjün kullanım talimatlarına (model, rotor gücü, hacmi, hızlanma süresi-ivme ve frenleme sistemi) uygun olarak protokolda değişiklikler yapılabileceği belirtilmektedir (Battaglia 2001 p. 58; Lucas ve ark. 2004). Ayrıştırma işlemine başlamadan önce, santrifüj 4-10°C'ye soğutulmalıdır (Lucas ve ark. 2004). Köpekten, 63 ml antikoagülan içeren kan torbasına toplanan bir ünite kan, ilk 6 saat içerisinde kullanıldığında veya işlendiğinde TTK olarak isimlendirilmektedir. TK 24 saat depolamadan sonra protein açısından zengin ve Hct değeri ortalama %33 olan RBC süspansiyonu olarak (AABB Technical Manuel 2005d p. 175) veya STK olarak isimlendirilmektedir (Battaglia 2001 p. 58).

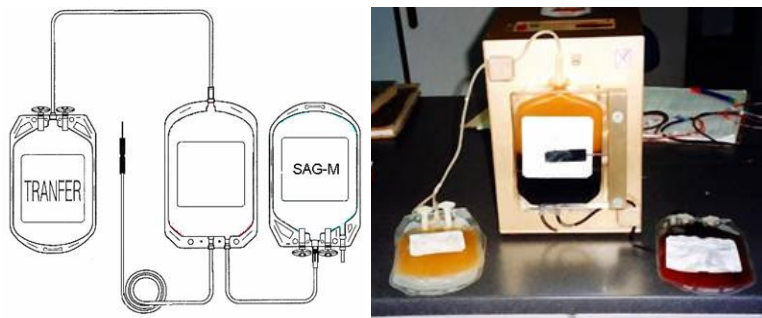
Kullanılan torba sistemine göre, birincil ve uydu torbaların üzerinde yer alan etiketlere, kanın toplandığı tarih, vericinin adı ve kan grubu yazılmalıdır (Schneider 1995). Ayrıca kRBC ürününün nakli sırasında, izotonik solüsyon ile gereksiz sulandırılmasını önlemek amacıyla, additif solüsyonun ilave edilip edilmediği de belirtilmelidir (AABB Technical Manuel 2005b p. 172). Ürünlerin etiketlenmesinde, hazırlayan kişinin adı ve ürüne göre, son kullanım saatine kadar ayrıntılandırılabilmesi belirtilmektedir (Avrupa Konseyi Yayınları 2004a p. 134).

2.2.2.1 kRBC ve plazma

kRBC hazırlama protokolleri, elde edilen ürün aynı olduğu halde santrifüj hızı, ısısı ve süresi yönünden farklılıklar göstermektedir. kRBC hazırlama protokollerini, Kerl ve Hohenhaus (1993) 5000×g'de 1-6°C'de 25 dakika, Battaglia (2001 p. 66) 5000×g'de 4-6°C'de 5-7 dakika, ve Lucas ve ark. (2004) dakikada 4000 devirde 10°C'de 15 dakika olarak bildirmektedirler. Santrifüj işleminden sonra, santrifüj godelerinden sarsılmadan çıkarılan kan torbaları, manüel plazma ekstraktörüne yerleştirilmektedir. RBC-plazma ayrımı net olarak gözlemlendikten sonra, plazma, torba sisteminde bulunan kuru transfer torbasına aktarılmaktadır (Schneider 1995). Kan ürünlerinin hazırlanışı esnasında, antikoagülan sıvının plazmada kaldığı belirtilmektedir (Hohenhaus 2005 p. 466).

Plazma, ayrıldıktan ilk 6 saat içerisinde dondurulduğunda, TDP olarak isimlendirilmekte ve -18°C ile -20°C 'nin altında 1 yıl boyunca saklanabilmektedir (Battaglia 2001 p. 67; Lucas ve ark. 2004; AABB Technical Manuel 2005d p.180; Hohenhaus 2005 p. 466). TDP ürünü PLT taşımamaktadır (Battaglia 2001 p. 67; BSAVA 2000). Toplandıktan 1 yıl sonra, TDP ürünü dondurulmuş plazma (DP) olarak tekrar isimlendirilmekte ve 4 sene daha (Battaglia 2001 p. 67; Rozanski ve De Laforcade 2004), -65°C 'nin altında ise TDP'nin 7 yıl boyunca saklanabileceği belirtilmektedir (AABB Technical Manuel 2005d p. 180). Plazmanın, saklama esnasında herhangi bir nedenle çözülmesi ve tekrar dondurulması, pıhtılaşma faktörleri açısından olumsuz etki yapmaktadır. Kan bankalarında, donmuş plazma ürünlerinin, kalite kontrolünü sağlamak amacıyla, torba etrafının lastik bant ile ortadan sıkıştırılmış bir halde dondurulması önerilmektedir. Nitekim, herhangi bir nedenle plazma çözündürülüp tekrar dondurulduğunda torbanın ortasındaki iz kaybolacaktır (Schneider 1995).

Kan komponentlerini, otomatik sistemler ile elde etmek mümkün olup, altlı-üstlü torbalarla plazma ve RBC ürünleri aynı anda hazırlanmaktadır. Plazma, torbanın üstünde bulunan hortum ile transfer torbasına, RBC'ler ise torbanın altındaki hortum aracılığıyla koruyucu solüsyonun bulunduğu uydu torbaya aktarılmaktadır (Racz 1997) (Şekil 2.2).

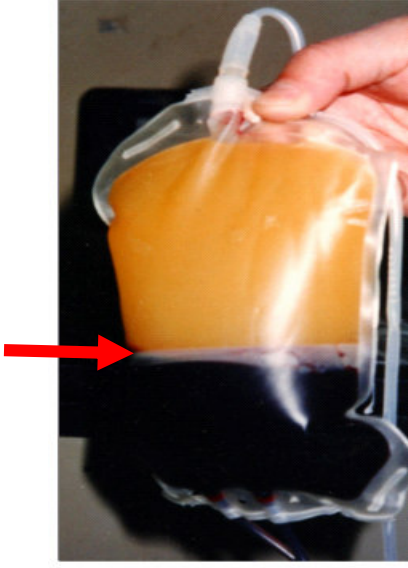


Şekil 2-2: Altı-üstlü torba ve optik seperasyon (Kansuk b)

2.2.2.2 Lökosit miktarı azaltılmış kRBC ürünü

Santrifüj sonunda lökoplaketer hattın (BC) (Şekil 2-3) uzaklaştırılması, WBC miktarı azaltılmış kRBC ürünü elde etmek için Avrupa ülkelerinde yaygın olarak

kullanılmaktadır (Dzik ve ark. 2000; International Forum 2001, Karger ve Kretschmer 2002). BC'nin uzaklaştırılmasıyla, WBC miktarı %70-80 (Roddie ve ark. 2000), %65-75 (Mynster ve ark. 1998), %50-90 (Karger ve Kretschmer 2002), ve %60-80 (Blumberg 2005) düzeyinde azaltılmış kRBC ürünü elde edildiği, geriye kalan WBC miktarı %20-30 civarında olan bir nevi lökopenik (BC-LD) ürün elde edildiği (Dzik ve ark. 2000) belirtilmektedir.



Şekil 2-3: Santrifüjden sonra BC hattın gözlenmesi (Kansuk b)

LD'lu kRBC ürünü ise, kRBC süspansiyonunun filtrasyon aşamasından geçirilerek elde edilen WBC miktarı azaltılmış bir üründür (Fergusson ve ark. 2002; Hohenhaus 2005 p. 466). BC'nin uzaklaştırılması ve filtrasyonun kombine edilerek kullanılması önerilmektedir (Avrupa Konseyi Yayınları 2004b p.103). Maksimum WBC azaltılması ve minimum RBC kaybını sağlamak amacıyla (van der Meer ve ark. 1999; Hohenhaus 2005 p. 466), filtre teknolojisi, bir çok aşamadan geçmiş (Swank ve Seaman 2000), üretildiği materyal ve etkinliğine bağlı olarak, jenerasyonlara göre sınıflandırılmıştır (Brownlee ve ark. 2000).

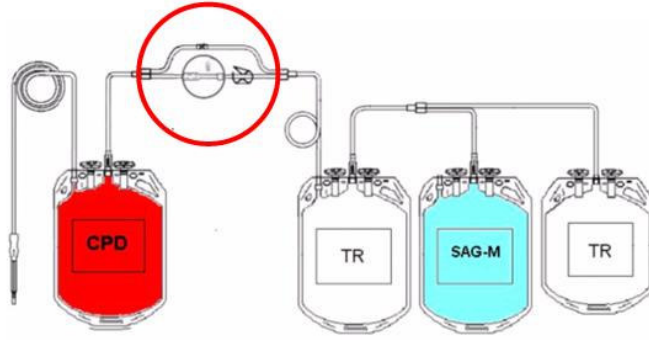
Altmışlı yıllarda, 170-240 µm boyutunda porları olan standart kan pıhtısı filtreleri, büyük pıhtı veya yabancı cisimlerin alıcıya nakledilmesini engellemek için kullanılan (Swank ve Seaman 2000), birinci jenerasyon filtreler olarak isimlendirilmiştir

(Roddie ve ark. 2000). Bu filtreler gözle görülemeyen, kan hücresi agregatları, yağ, fibrin iplikçikleri ve hücrel döküntüsü gibi mikroembolileri kan ürünlerinden uzaklaştırmakta yetersiz kalmaktadır (Swank ve Seaman 2000). İkinci jenerasyon filtrelerin por genişliği, 40 µm olup; mikroagregatları tutabilmekte, ancak WBC'leri \log_{10} düzeyinde azalttığı için LD'lu kan ürünü elde etmekte yetersiz kalmaktadır. Üçüncü jenerasyon filtreler özellikle LD'lu ürün elde edilmesine yönelik üretilmiş olup, ünite başına WBC miktarını $3\log_{10}$ düzeyinde azaltarak $<5 \times 10^6$ sayısına indirmektedir. Modern üçüncü jenerasyon filtreler bu düzeyden daha yüksek deplesyon sağlayabilmektedir (Roddie ve ark. 2000). Yeni üretilen bir filtre kullanımı ile, $5\log_{10}$ düzeyinde deplesyon seviyesine ulaşmanın mümkün olduğu belirtilmektedir (Bontadini ve ark. 1997). Dahili WBC filtreli kan torba sistemleri de bulunmakta ve TK filtreden geçirilerek WBC miktarı azaltıldıktan sonra kan ürünlerine ayrıştırılmaktadır (Şekil 2-4). Filtreler polyester veya poliüretan tabakalarından üretilmekte ve ölü aralık alanları düşük tutulmaktadır. Polyester filtrelerin WBC'lerin,

- (i) Mekanik olarak filtre materyaline yakalanması,
- (ii) Filtre materyaline direkt olarak yapışması ve
- (iii) İndirekt olarak PLT'lere yapışmasıyla,

yakaladığı belirtilmektedir (Steneker ve ark. 1992).

Poliüretan filtrelerin (Imugard III-RC 4P) ise, oda ısısındaki etkinliği filtre materyalinin yapısına bağlanmaktadır (van der Meer ve ark. 1999). WBC'lerin poliüretan materyalin küçük porları arasında mekanik olarak sıkışmasıyla tutulduğu belirtilmektedir (Terumo a). Şekil 2-5'de iki 2 farklı filtre ve sunulan çalışmada kullanılan filtrenin iç yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2-4: Dahili lökosit filtreli torba sistemi (Kansuk c)



Şekil 2-5: Farklı WBC filtreleri, a. Polyester, b. Poliüretan, c. Poliüretan filtrenin iç görünümü (a: Pall, b ve c: Terumo a; b)

Hüresel kan ürünlerinin (TK, kRBC, PZP) 10^8 - 10^{10} arasında WBC içerdiği belirtilmektedir (Lee ve ark. 1995). Kan ürünlerine göre toplam WBC ve lenfosit ortalama miktarları Tablo 2-2'de gösterilmektedir (Bordin, Heddle ve ark. 1994). 4°C 'ye soğutulan köpek kRBC ürünündeki WBC miktarının dahili filtrasyon ile 4Log_{10} düzeyinde, %99,99 oranında azaltıldığı bildirilmektedir (Brownlee ve ark. 2000).

AABB ve FDA standartlarına göre, LD'lu ürünlerde, WBC miktarının 5×10^6 'nın altında olması gerektiği belirtilmektedir (Dzik ve ark. 2000). Böylece, WBC'lerin, antijenite yaratabileceği belirli bir sayının altında tutularak, kan nakli sonucu alloimmünizasyonu engellemek amaçlanmaktadır (Brownlee ve ark. 2000). FDA kalite kontrol standartlarına göre, LD'lu ürünlerin %1'inde WBC sayımı yapılması (ayda 400 ünite LD'lu ürün hazırlayan birimlerde 4 sayım) ve test edilen ürünlerin hepsinde WBC yükünün 5×10^6 'nın altında olması gerekmektedir (Dzik ve ark. 2000). Buna karşın, Avrupa standartları, deplesyondan sonra ünite başına geriye kalan WBC sayısının 1×10^6 'dan az olması (Avrupa Konseyi Yayınları 2004b p. 103) ve kalite kontrol testlerinin ürünlerin %10'nunda yetersizlik tespit edebilecek sıklıkta yapılmasını

önermektedir (Dzik ve ark. 2000; Roddie ve ark. 2000). Günümüzde yapılan filtrasyon işlemleri 1×10^6 oranında WBC depleasyonu sağlamakta süreklilik göstererek, her iki standardı da karşılamaktadır (Dzik ve ark. 2000).

Tablo 2-2: Klinik kullanım amaçlı lökodepleyonsuz kan ürünlerinde bulunan WBC ve lenfosit hücrelerinin ortalama değerleri (Bordin, Heddle ve ark. 1994)

Kan ürünü	WBC/ünite	Lenfosit/ünite
TK	10^9	5×10^8
kRBC	5×10^8	10^8
Taze plazma	5×10^5	10^5
TDP Cryo	Belirlenemiyor	Belirlenemiyor

Hücrel kan ürünlerinde, LD için 3 farklı yöntem izlenmektedir. Bunlar (Dzik ve ark. 2000),

- (i) Kanın toplandığı birimde laboratuvar koşullarında saklamadan önce filtrasyon,
- (ii) Hastane laboratuvarında saklama sonrası filtrasyon ve
- (iii) Hasta başında filtrasyon yöntemleridir.

Farklı LD yöntemleriyle, geriye kalan WBC miktarları ve depleasyon etkinliği Tablo 2-3'de gösterilmektedir (Karger ve Kretschmer 2002).

Çoğunlukla hasta başında filtrasyon yapılmasına rağmen, laboratuvar koşullarında yapılan LD'un, hasta başında yapılana nazaran tercih edildiği belirtilmektedir. Nitekim hasta başı depleasyonlarında, RBC'lere yönelik filtre performansı daha düşük olmakta ve saklama esnasında sitokin birikimi engellenememektedir. Depleasyon oranını; filtrasyon işlemi sırasında kanın ısısı, filtreden geçen kanın akım hızı, plazma proteini miktarı, filtreden geçen "WBC yükü"

olarak bilinen WBC miktarı ve kanın toplanmasından filtrasyona başlayana kadar geçen süre gibi bir çok biofizik faktör etkilemektedir (Dzik ve ark. 2000). Filtrasyon yapılırken, özellikle kanın ısısı deplesyon etkinliğinde önem taşımaktadır (Dzik ve ark. 2000; Brownlee ve ark. 2000; van der Meer ve ark. 1999).

Tablo 2-3: LD sonrası bir ünite kanda geriye kalan WBC miktarı ve deplesyon etkinliği (Karger ve Kretschmer 2002)

Metod	Ünite başına geriye kalan WBC miktarı	Deplesyon etkinliği (%)
Kontrol (non-LD)	$1,8 \times 10^9 - 4,5 \times 10^9$	-
Lökoplaketer hattın uzaklaştırılması (BC-LD)	$5 \times 10^8 - 1,2 \times 10^9$	50 – 90
Hasta başı filtrasyon	$5 \times 10^5 - 1 \times 10^7$	99,8 – 99,99
Dahili filtrasyon	$5 \times 10^4 - 1 \times 10^6$	99,98 – 99,999

Van der Meer ve ark. (1999), BC azaltılmış kRBC ürünlerinde, ortam ısının LD üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla, filtrasyon işlemini iki değişik ortamda, oda ısısı (20°-24°C) ve 4°C’de gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan 6 farklı filtrede, ünite başına $<5 \times 10^6$ oranında LD düzeyine ulaşıldığı belirtilmektedir. 4°C’de yapılan filtrasyonların, poliüretan materyalden olan filtre hariç (Imugard III RC-4P) oda ısısında yapılanlara oranla daha etkili olduğu saptanmıştır. Ortam ısısı yanısıra, akım hızının da, filtrasyon performansını etkileyebileceği belirtilmektedir. Nitekim, 4°C’de kan viskozitesinin daha yüksek olmasının, akım hızını azaltabileceği, dolayısıyla filtre materyalinde WBC yakalanma ihtimalinin artırabileceği ileri sürülmektedir (van der Meer ve ark. 1999). Köpeklerde dahili filtre sistemi kullanılarak, ortam ısısının filtrasyon üzerindeki etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, benzer sonuçlar elde edilmiş ve düşük ortam ısısında (4°C) filtrasyonun daha etkili olduğu saptanmıştır (Brownlee ve ark. 2000). LD’lu ürünlerde, WBC miktarının $<1 \times 10^6$ olması gerektiğini belirten Avrupa standartlarının, 4°C’de Leucoflex, PF4, Sepacell ve oda ısısında

Imugard III RC-4P filtrelerinin karşıladığı belirtilmektedir (van der Meer ve ark. 1999). LD'lu ürünlerde filtrasyon sonrası geriye kalan WBC'lerin sayılmasında Nageotte lamı yaygın olarak kullanılmaktadır (Bordin, Heddle ve ark. 1994; Bontadini ve ark. 2002; Bae ve ark. 2007).

2.2.2.3 Kriyopresipitat

Cryo ürünü, TDP ürününden hazırlanmaktadır. Cryo ürünü elde etmek için, TDP ortalama 12-18 saat içinde 1-6°C (Battaglia 2001 p. 67) veya 4°C'de bekletilerek bulanık köpüklü bir görüntüye ulaşana kadar çözünmeye bırakılır (Schneider 1995; Hohenhaus 2005 p. 466). Çözündürme işleminin, +4°C'de genellikle 3-4 saat süreceği belirtilmektedir (Stokol ve Perry 1998). TDP içinde, birkaç parça büyük buz kristali bırakılarak (Stokol ve Perry 1998), beyaz köpüklü çökelti görüntüsü şekillendiğinde çözündürme işlemi sonlandırılır ve 5000×g'de 4°C'de 6-10 dakika santrifüj edilir (Stokol ve Perry 1998; Battaglia 2001 p. 67). Üstte kalan plazma (cryosupernatant), plazma ekstraktörü yardımıyla uydu torbaya aktarılır ve geride Battaglia'ya (2001 p. 67) göre 25-50 ml, Stokol ve Perry'ye (1998) göre 30-40 ml plazma içinde, torbanın alt çeperine yapışmış köpüklü Cryo çökeltisi kalmaktadır. Cryo ürününün, TTK'nın toplandığı tarihten itibaren -20°C'de 1 yıl (Battaglia 2001 p. 59; Hohenhaus 2005 p. 466), -18°C ile -20°C arasında 3 ay, -25°C altında 2 yıl boyunca saklanabileceği belirtilmekte (Avrupa Konseyi Yayınları 2004a p.134) ve çözündürüldükten sonra ise ilk 4 saat içinde uygulanması önerilmektedir (Kristensen ve Feldman 1995a p. 352; Battaglia 2001 p. 67).

2.2.2.4 Plateletten zengin plazma

PZP, TTK'ın santrifüj edilmesiyle elde edilmektedir (Schneider 1995). Normal plazma hazırlanışından daha düşük devir (Hohenhaus 2005 p. 467) ve daha yüksek ısı kullanılarak, TTK 1000×g hızında 20-24°C'de 4 dakika santrifüj edilir (Abrams-Ogg ve ark. 1993; Battaglia 2001 p. 67). Santrifüj sonunda üstte PLT açısından zengin plazma uydu torbaya aktarılır ve PLT'lerin torbanın alt kısmına çökmesi için plazma torbası, 2000×g hızında 10 dakika yüksek devirde santrifüj edilir. PLT'ten fakir olan plazma bölümü PLT peletinden uzaklaştırılarak, 40-70 ml plazma içinde platelet konsantresi (PC) ürünü elde edilmektedir (Abrams-Ogg ve ark. 1993; Avrupa Konseyi Yayınları 2004d p. 115). Raf ömrü 3-5 gün arasında değişen PZP ve PC ürünleri (Schneider 1995):

- (i) Oda ısısı 20-24°C tutulmalı,
- (ii) Sürekli hafifçe ajitasyon sağlanmalı,
- (iii) PLT'lere yönelik plastik torbası olan sistemlerde saklanmalıdır.

Kullanılan torbanın PLT'ler için gereken oksijeni sağlayabilecek geçirgenlikte, keza ajitasyonun da yeterli oksijeni sağlayabilecek etkinlikte olması halinde PLT süspansiyonları 5 güne boyunca oda ısısında saklanabilmektedir (Avrupa Konseyi Yayınları 2004d p. 117). Hastayı tedavi etmeye yetecek miktarda PZP elde edilme güçlüğü, ürünün kullanım süresinin kısa olması ve hazırlandıktan sonra kısa sürede hastaya verilmesi zorunluluğu, ayrıca birinci transfüzyon sonrası alloimmünizasyonun şekillenmesi, dolayısıyla bir sonraki transfüzyonları etkisiz hale getirmesi ve karşıt reaksiyon olasılığının yüksek olması, kullanımındaki engeller olarak bildirilmektedir. PZP ürününün dezavantajlarından dolayı veteriner hekimlik alanında nadiren kullanıldığı kaydedilmektedir (De Gopegui ve Feldman 1995; Battaglia 2001 p. 58; Rozanski ve De Laforcade 2004).

2.2.3 Kan ürünleri ve kullanım alanları

2.2.3.1 Tam kan

TK içerisinde, RBC, PLT, WBC, pıhtılaşma faktörleri, plazma ve plazma proteinleri bulunmaktadır (Battaglia 2001 p. 57). Toplanan kan eskidikçe, labil koagülasyon faktörlerinden, faktör V (FV) ve VIII (FVIII) düzeyleri ve soğukta saklandıkça PLT canlılığı azalmaktadır (Lucas ve ark. 2004; AABB Technical Manuel 2005d pp. 178-179; AABB Technical Manuel 2005c p.485; Hohenhaus 2005 p. 467).

TTK, travma sonucu şekillenen akut kanamalarda, koagülopati ile seyreden şiddetli kan kayıplarında bütün komponentlerin aktarılması için ve bazı yaygın intravasküler koagülopati (DIC) vakalarında kullanılmaktadır (Battaglia 2001 p. 57). Şiddetli ve akut kanamalı bir köpeğin yaşamı, doku reoksijenizasyonu ve kan hacminin yerine konulmasına bağlıdır (Lanevschi ve Wardrop 2001). TTK, toplandıktan hemen sonra uygulandığında, reoksijenizasyon, kan hacminin yerine konulması ve kanamanın durdurulması için etkili olmaktadır. Ancak, kan torbasındaki antikoagülan sıvının sulandırıcı etkisinden dolayı bir ünite TTK'da Hct düzeyinin, verici köpeğin Hct değerinden daha düşük olduğu unutulmamalıdır (Kristensen ve Feldman 1995b). TTK kullanımının zorunlu olmadığı ve kan ürünlerinin elde edilebildiği durumlarda, kan

ürünlerinin TTK'ya oranla daha fazla tercih edildiği belirtilmektedir (Bistner ve ark 2000 p. 578).

2.2.3.2 kRBC süspansiyonu

kRBC ürününün, torba sisteminde bulunan 100 ml besleyici ve koruyucu sıvı ile sulandırılması, Hct değerini %70-80'den (Stone ve ark. 1992; Battaglia 2001 p. 66; Hohenhaus 2003; 2005 p. 466; AABB Technical Manuel 2005d p. 176) %55-60'a düşürmesine karşın, RBC'ler için daha uygun saklama koşulu ve nakil için gerekli olan akışkanlığı sağlamaktadır (Battaglia 2001 p. 67; Hohenhaus 2003; 2005 p. 466; AABB Technical Manuel 2005d p. 176). kRBC süspansiyonu sulandırılmamış ise, nakilden önce sadece %0,9'luk serum izotonik ile sulandırılabilmesi belirtilmektedir (Feldman ve Kristensen 1995; Hohenhaus 2003; Lucas ve ark. 2004; Hohenhaus 2005 p. 466). Nitekim, %5'lik dekstrozu serumunun RBC hasarına (Battaglia 2001 p. 67), laktatlı ringer solüsyonun içerdiği kalsiyumun sitratlı antikoagülanı nötralize ederek PLT aktivasyonu ile pıhtılaşmayı aktifleştireceği (Battaglia 2001 p. 67; Prittie 2003), dekstrozu solüsyonların ise, aktarılan kanlarda hemolize neden olabileceği belirtilmektedir (Prittie 2003).

Öncelikle, kullanılan RBC ürününün, alıcı plazmasıyla uyumlu olması gerekmektedir (AABB Technical Manuel 2005f p. 411). Normovolemik hastalarda, kan nakli ile gelişecek hipervoleminin önüne geçmek için kRBC kullanımı önerilmektedir (Rozanski ve De Laforcade 2004). Nitekim, düşük onkotik baskıncılı kRBC ürününün (Rozanski ve De Laforcade 2004; Chiamonte 2004), normovolemik anemik köpeklerde, doku reoksijenizasyonunu sağlamak için en uygun kan ürünü olduğu belirtilmektedir (Lanevski ve Wardrop 2001). Ayrıca, normovolemik anemik köpeklerde, hipervolemiye yol açmamak için kan ürünlerinin çok düşük hızlarda yapılması da ileri sürülmektedir (Rozanski ve De Laforcade 2004).

Bir yıl içinde farklı hayvan hastanelerinde yapılan kRBC nakil nedenleri ve nakil kararının, hangi kriterlere göre verildiği incelenmiş ve belirlenen bu kriterler doğrultusunda, köpeklerde kRBC transfüzyon skalası oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu kapsamda 131 köpek incelenmiş, fiziksel muayenelerinde, yorgunluk, yüksek solunum hızı, taşikardi saptanmış ve bir çoğunda Hct düzeyinin %25'in altında olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada, kan kaybı (%70), hemoliz (%22) ve kemik iliği yetersizlikleri (%8) vakalarında, köpeklere kan nakli yapıldığı belirtilmektedir. Kanama

nedenleri, farklı birincil hastalıklardan kaynaklanmakta olup; hematolojik (otoimmün hemolitik anemi ve immün kaynaklı trombositopeni), gastrointestinal (gastrik ve duodenal ülserasyonlar), kalp hastalıkları ve cerrahi müdahaleler (patent duktus arteriosus ve pulmoner stenoz), travma, şiddetli diş hastalıkları ve toksik madde zehirlenmeleri (antikoagülan etkili rodentisitler ve çinko zehirlenmeleri) tedavilerinde kan nakli yapıldığı belirtilmektedir (Kerl ve Hohenhaus 1993). Köpeklerde anemiye neden olan kanserlerde de kRBC ürünü kullanıldığı belirtilmektedir (Rudloff 1995; Hohenhaus 2003). Acil reoksijenizasyonu sağlamak, cerrahi operasyon öncesinde aneminin düzeltilmesi, kan kaybı, kronik hastalıklar, hemoliz ve kemik iliği yetersizliğinden kaynaklanan anemiler için, kRBC nakli, diğer yazarlar tarafından da desteklenmektedir (Lanevschi ve Wardrop 2001; Bistner ve ark 2000 p. 573).

2.2.3.3 Lökositi azaltılmış kRBC süspansiyonu

WBC'lerin, bazı transfüzyon reaksiyonlarına neden olabileceği ileri sürüldüğünden beri, kan ürünlerinden filtrasyon yoluyla uzaklaştırılmaları gündeme gelmiş (Hohenhaus 2005 p. 466) ve son 10 yıl içerisinde, Avrupa, Kuzey Amerika (Vamvakas 2007), Avustralya ve Asya'da hücresel komponentlerden WBC miktarının azaltılması, yerleşmiş bir teknoloji haline dönüşmüştür (Dzik ve ark. 2000). Amerika'da, WBC miktarı azaltılmış kan kullanımının, son birkaç yıl içinde %20'den %70'e çıktığı belirtilmektedir (Ariga ve ark. 2003). 1998 yılından itibaren, Fransa (Fergusson ve ark. 2002), İngiltere, Kanada, Portekiz (Vamvakas ve Blajchman 2001b; Fergusson ve ark. 2002) ve İrlanda 'da (Vamvakas ve Blajchman 2001b) tüm kan komponentlerinde LD yapılması zorunlu kılınmıştır. Avrupa ülkelerinde LD ile, bulaşıcı süngerimsi ensefalopati varyant Creutzfeldt-Jakob hastalığının, kan nakliyle bulaşma riskini önlemek amaçlanmaktadır. Amerika'da ise, bu hastalıkların düşük risk taşıdıkları; ancak, LD'un, daha çok allojenik kan naklinin (AKN) immünmodülatif etkilerini engellemek amacıyla yapıldığı belirtilmektedir (Roddie ve ark. 2000). Ateşli non-hemolitik reaksiyonların, LD ile engellendiği kesinleştirilmiştir (Dzik ve ark. 2000; King ve ark. 2004). WBC miktarı azaltılmış kRBC kullanımı ile, non-hemolitik ateş, immunosupresyon ve transfüzyon ile bulaşabilecek enfeksiyon risklerinin azalabileceği, oluşabilecek en önemli transfüzyon reaksiyonunun ise akut hemolitik transfüzyon reaksiyonu olduğu belirtilmektedir (Hohenhaus 2005 p. 466). Saklama öncesi filtrasyon ile WBC miktarı azaltılmış kan ürünlerinde her hangi bir transfüzyon riskinin

bulunmadığı belirtilmektedir (Vamvakas ve Blajchman 2001b). Buna karşın, AKN'nin, kanser metastazı veya agresifleşmesi, postoperatif enfeksiyon riski ve belirli hastalıklarda mortalitenin artmasına yönelik etkileri bir çok araştırmaya konu olmakta ve LD'nun olumlu veya olumsuz etkileri hala tartışılmaktadır (Vamvakas ve Blajchman 2001b; Dzik ve ark. 2000; Karger ve Kretschmer 2002; Rouger 2004; Vamvakas ve Blajchman 2007).

2.2.3.4 Plazma ürünleri

Öncelikle, kullanılan TDP ürününün, alıcı RBC'leri ile uyumlu olması gerekmektedir (AABB Technical Manuel 2005f p. 411). TDP ürünü, su ve elektrolitler yanı sıra tüm koagülasyon faktörlerini (stabil ve labil) (Kristensen ve Feldman 1995b), albumin ve immunoglobülinleri, normal plazma düzeylerinde içermektedir (Battaglia 2001 p. 59; Avrupa Konseyleri Yayınları 2004c p. 127). Pıhtılaşma faktörleri açısından çok zengin bir ürün olduğundan kanama ve koagülopati ile seyreden birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilen bir ürün olup (Battaglia 2001 p. 59; Hohenhaus 2003; 2005 p. 466), FII, V, X ve XI yetmezliğinde kullanılmaktadır (AABB Technical Manuel 2005c p. 498). Taze plazmanın dondurulmasıyla, FV ve VIII miktarlarının korunduğu belirtilmektedir (Kristensen ve Feldman 1995b). Köpek TDP ünitelerinde, farklı depolama süre ve ısılarında koagülasyon faktörleri [FVIII, IX, X ve von Willebrand faktörü (vWf)] düzeylerinde saklama öncesi ve sonrası düzeyleri arasında belirgin değişiklikler saptanamamıştır (Wardrop ve Brooks 2001).

DP ürününün, K vitaminine dayalı stabil pıhtılaşma faktörleri (FII, VII, IX ve X) (Kristensen ve Feldman 1995b) ve albumin kaynağı olarak kullanıldığı belirtilmektedir (Battaglia 2001 p. 59; Hohenhaus 2005 p. 466). Ayrıca passif transfer yetmezliği olan yavru kedi ve köpeklerde DP kullanımı önerilmektedir (Hohenhaus 2005 p. 466).

TDP, koagülasyon faktörleri açısından faydalı bir ürün olmakla birlikte, Cryo ürününün bu faktörler yönünden daha yoğun olduğu belirtilmektedir (BSAVA 2000). Cryo ürünü, vWf, FVIII ve XIII, fibrinogen ve fibronektin açısından zengin olup (Kristensen ve Feldman 1995b; Lanevski ve Wardrop 2001; Hohenhaus 2005 p. 466; AABB Technical Manuel 2005e p. 572); birden fazla koagülasyon proteininin az miktarda plazma içerisinde verilmesi avantajını da sunmaktadır (De Gopegui ve Feldman 1995; Lanevski ve Wardrop 2001). Faktör VIII ve vWf eksikliği, sırasıyla hemofili A (Yılmaz 2000 p. 133) ve von Willebrand kalıtsal hastalıklarına neden

olmakta (Brooks ve Catalfamo 2005 p. 1224) ve tedavileri için, TK veya TDP kullanılabilir gibi, özellikle, FVIII ve vWf açısından daha konsantre (Stone ve ark. 1992) olmasıyla Cryo ürünü kullanımı önerilmektedir (Stokol ve Parry 1995; 1998; Battaglia 2001 p. 59). von Willebrand hastalığında 1 ünite/10 kg dozunda Cryo kullanılabilir belirtilemektedir (De Gopegui ve Feldman 1995; Hohenhaus 2005 p. 466).

Logan ve ark. (2001), veteriner hekimliğinde, TDP ürünü için kullanım standartları eksikliğinin olduğunu bildirmektedirler. Yaptıkları geriye dönük çalışmada, TDP ürününe yönelik kullanım standardının oluşturulması amaçlanmış ve üniversite hastanesi bünyesinde, köpeklerde TDP ürününün, koagülasyon faktörleri, albumin, alpha-macroglobulin veya immunoglobulin sağlanması için aktarıldığı saptanmıştır. Bu amaçla, Ekim–Aralık 1999 tarihleri arasında, hastaneye getirilen 74 köpeğin dosyası incelenmiş ve 144 adet TDP uygulamasının yapıldığı saptanmıştır. TDP'nin, gastrointestinal kanamalar, hepatopatiler ve yüksek karaciğer enzimi aktivasyonu, rodentisit toksikasyonu, akciğer tromboembolizmi ve kanamaları, sepsis, hemotoraks, abdominal neoplazi, bakteriyel peritonitis ve pnömoniler veya peritonitis nedeniyle şekillenen bakteriyel septisemiler, diare, inatçı kusma ve pankreatitler, parvoviral enterit gibi, farklı hastalıklarda kullanıldığı saptanmıştır. Bir diğer üniversite hastanesinde ise, kan ürünlerinin kullanım alanlarını belirlemek amacıyla, 1986-1989 yıllarına ait kayıtların incelenmesiyle yapılan çalışmada; labil koagülasyon faktörlerini gerektiren koagülopatilerde, TDP; hipoproteinemi vakalarında ise DP veya TDP ürünlerinin kullanıldığı saptanmıştır. Özellikle DIC tedavileri için, TDP kullanımının 1987 yılından itibaren artış gösterdiği belirtilmektedir (Stone ve ark. 1992). Hemangiosarcoma ve lenfoma sonucu gelişen DIC, hemofili ile von Willebrand hastalıkları ve redentisit toksikasyonu sonucu gelişen birçok koagülopatiler için TDP nakli önerilmektedir (Hohenhaus 2003). Aşırı protein kaybına neden olan hastalıklarda veya yetersiz protein alımı durumlarında, plazmanın, protein kaynağı olarak uzun süreli kullanılmasının sakıncalı olabileceği belirtilmekte ve önerilmemektedir (Stone ve ark. 1992; Hohenhaus 2003).

2.3 Kan nakilleri

2.3.1 Donör seçimi

İdeal verici olarak seçilen köpeklerin vücut ağırlıklarının, en az 25 kg (BSAVA 2000; Battaglia 2001 p. 62), 30 kg (Stone ve ark. 1992) veya üstü (Lanevschi ve Wardrop 2001) olması tercih edilmektedir. Köpeğin donör olabilmesi için, DEA 1.1 negatif, uysal mizaçlı, sağlıklı (Battaglia 2001 p. 62; Lanevschi ve Wardrop 2001), Hct değerinin %40 (Stone ve ark. 1992; Lanevschi ve Wardrop 2001), hemoglobin miktarının 13,5 g/dl (Battaglia 2001 p. 62) olması gerekmektedir. Ayrıca, daha önce bir kan nakli ve dişilerin gebelik geçirmemiş olmaları istenmektedir (Schneider 1995). Donör köpeklerin düzenli sağlık kontrolünden geçirilmesi ve kan vermeden önce, klinikopatolojik tarama (Feldman ve Kristensen 1995; Prittie 2003) (hemogram, serum biyokimyasal parametreler, idrar ve dışkı muayenesi) yapılması önerilmektedir (Wardrop ve ark. 2005). Donör köpeğin aşı programında eksiklik olmaması (Schneider 1995; Battaglia 2001 p. 62; Prittie 2003), yabancı köpeklerle bağlantıya geçtiği takdirde, iç parazit etkenlerine karşı 6 ayda bir dışkı muayenesi yapılması önerilmektedir (Schneider 1995).

Bir köpeğin donör olarak kabul edilebilmesi, referans laboratuvarlarında, bütün DEA antijenleri açısından test edilmesine bağlıdır (Lucas ve ark. 2004). Greyhound ırkı köpekler, uyumlu mizaçları ve büyük bir çoğunluğunun DEA 1.1 ve 7 kan grubu antijenlerini taşınamalarından dolayı “ideal donör” olarak kabul edilmektedir (Bistner ve ark 2000 p. 579). Donör köpeklerde boyun derisinin sıkı olması, Vena Jugularis’e ulaşma açısından kolaylık sağlayan bir unsurdur (Schneider 1995). Verici köpeklerden, en fazla 3 hafta aralıklarla, 15-20 ml/kg miktarında kan alınabilmekle birlikte, bu sıklıkta kan veren donörlere demir takviyesi yapılması gerektiği vurgulanmaktadır (Lanevschi ve Wardrop 2001). Köpekler normal şartlarda yılda toplam 3-4 kez kan verebilmektedirler (Battaglia 2001 p. 62). Donör köpekten, masa üzerinde latero-lateral pozisyonda yatırılarak veya masa üzerinde oturtularak kan alınabileceği belirtilmektedir (Schneider 1995).

Birçok veteriner kliniğinde, kan nakillerinden önce donörlerin kan yoluyla bulaşan hastalıklar yönünden test edilmediği gösterilmiştir (Howard ve ark. 1992). Oysa, transfüzyon risklerinden biri de, kan yoluyla bulaşan hastalıkların aktarılmasıdır. Verici köpeklerde hastalık taramalarının yapılması, bu riski azaltabilmektedir.

Taramalara, kan nakli yoluyla bulaşan etkenler gözönünde tutularak, hastalıkların coğrafi dağılımına (Kristensen ve Feldman 1995a p. 355; Battaglia 2001 p. 62; Prittie 2003) ve ırk predispozisyonlarına göre yön verilmektedir (Wardrop ve ark. 2005). Köpeklerin buldukları coğrafi bölgeye göre, kalp kurdu (*Dirofilaria*) enfeksiyonuna ve ektoparazitlere karşı profilaktik tedavileri yapılmalıdır (Battaglia 2001 p. 62; Reine, 2004). Donör köpeklerin, *Dirofilaria immitis*, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* (Battaglia 2001 p. 62), *Rickettsia rickettsii*, *Trypanozomi cruzi*, *Brucella canis* ve *Borrelia burgdorferi* hastalık etkenleri açısından sero-negatif olmalıdır (Bistner ve ark 2000 p. 579). Nitekim, test edilen hastalık açısından sero-pozitif köpeklerin, hala enfekte olabilecekleri düşüncesiyle, donör havuzundan çıkartılmaları önerilmektedir (Wardrop ve ark. 2005). Verici olmaya aday bir köpeğin, yakın zamanda yaptığı yolculuklar, daha önce geçirdiği hastalıklar ve bütün anamnez bilgileri alınmalıdır (Reine 2004; Wardrop ve ark. 2005). Donör adayı, ayrıntılı fiziksel muayenede, kene ve pire gibi ektoparazitler açısından kontrol edilmeli ve parazitlerin varlığında verici olarak kabul edilmemelidir (Wardrop ve ark. 2005).

2.3.2 Dozaj ve nakil hızı

Nakil, alıcı hastanın durumuna ve nakledilen ürüne göre değişik hızlarda yapılabilmektedir (Hohenhaus 2003). Hipovolemik alıcı köpeklerde, nakiller normovolemik kronik anemisi olanlara nazaran daha hızlı yapılabilmektedir. Nitekim hipovolemik hastalarda, hipervolemi oluşumu daha az bir risk taşımaktadır. Kan nakline, ilk 10-15 dakika boyunca 1ml/kg infüzyon hızı ile başlanarak, akut transfüzyon reaksiyonlarının oluşumu izlenmelidir. İlerleyen dakikalarda ise, nakil hızı arttırılabilmektedir. Normal hastalara yapılan kan nakillerinde, 22ml/kg/saat; kardivasküler hastalıkları olan hastalarda ise, 4ml/kg/saat'ten daha yüksek hızlara çıkılmaması önerilmektedir (Battaglia 2001 p. 69). Ancak, seçilen hız ne olursa olsun, potansiyel bakteri üremesi tehlikesine karşın, kan naklinin 4 saat içerisinde sonlandırılması gerekmektedir (Battaglia 2001 p. 69; Hohenhaus 2003). Bütün kan nakillerinin, kanın toplanması ve depolanması sırasında oluşabilecek pıhtı veya hücresel döküntünün aktarılmasını engellemek amacıyla, ticari olarak elde edilebilen, 170-270 µm filtresi olan kan nakli setleri ile uygulanması önerilmektedir (Battaglia 2001 p. 70; Prittie 2003; Hohenhaus 2003; Chiaramonte 2004).

2.3.2.1 RBC içeren ürünler

Kan nakli ile hastanın Hct değerini normal sınırlara getirmekten ziyade, semptomların düzeltilmesi amaçlanmaktadır. Genellikle Hct değerinde, ortalama %10'luk bir artış hedeflenmektedir (Bistner ve ark. 2000 p. 573). kRBC kullanımında, 10ml/kg dozunda uygulanan kan naklinin, Hct değerini ~%10 (Bistner ve ark. 2000 p. 573; Prittie 2003) veya 1ml/kg dozunda uygulananın ~%1 (Rozanski ve De Laforcade 2004) oranında yükselttiği belirtilmektedir. Normovolemik anemik hastalarda, kan naklinin ilk yarım saatinde 0,25ml/kg dozunda uygulanması, karşıt reaksiyonların şekillenmediği takdirde nakil hızının artırılabilceği bildirilmektedir (Hohenhaus 2003). TTK ve STK ürünlerinin 10-20ml/kg, koruyucu solüsyon içeren kRBC ve LD'lu kRBC ürünlerinin 10-15ml/kg dozunda uygulanması (Hohenhaus 2005 p. 466), hemorajik şokta olan köpeklere ise mümkün olduğunca hızlı kan nakli yapılması önerilmektedir (Hohenhaus 2003). Hastanın Hct değerine göre aktarılacak kan miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanabilmektedir (2-1) (Bistner ve ark 2000 p. 579).

Aktarılacak kan miktarı = Vücut ağırlığı (kg) × 90 × (istenilen Hct – alıcının Hct değeri) / aktarılan kanın Hct değeri. (2-1).

2.3.2.2 Plazma ürünleri

Logan ve ark. (2001), koagülasyon faktörlerini sağlamak amacıyla TDP ürününü, 5-15 ml/kg dozunda 8-12 saat ara ile uygulamış ve nakil sonrasında kanama ve koagülasyon sürelerinin kontrol edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir (Logan ve ark. 2001). Hohenhaus (2003; 2005 p. 466), tedavi edilen hastalığa ve alıcının cevabına göre, TDP ürününün 6-10 ml/kg dozunda günde 3 defaya kadar verilmesini önermektedir. Veteriner hekimlikte, TDP ürünü, albümin kaynağı olarak önerilmemekle birlikte, 45ml/kg dozunda uygulanması ile albümin konsantrasyonunda 1g/dl düzeyinde artış elde edileceği belirtilmektedir (Hohenhaus 2005 p. 466).

2.3.3 Kan nakli riskleri

Transfüzyon reaksiyonları Tablo 2-4'de (Harrell ve Kristensen 1995; Bistner ve ark. 2000 pp. 576-577; Jutkowitz 2004), köpeklerde gözlenen transfüzyon reaksiyonlarının klinik semptomları ise Tablo 2-5'de (Hohenhaus 2003) sunulmaktadır.

Tablo 2-4: Transfüzyon reaksiyonları (Harrell ve Kristensen 1995; Bistner ve ark. 2000 pp. 576-577; Jutkowitz 2004)

	İmmünolojik	Non-immünolojik
Akut	<p>Hemolitik reaksiyonlar</p> <p>Akut hipersensitivite</p> <p>İmmunosupresyon</p> <p>Ateşli non-hemolitik transfüzyon reaksiyonları</p>	<p>Mekanik hemoliz</p> <p>Dolaşım hacmi artışı</p> <p>Bakteriyel kontaminasyon</p> <p>Kanın dilusyonuna bağlı koagülopati</p> <p>Hipocalsemi / Hipomagnezemi</p> <p>Asidoz</p> <p>Hipotermi</p> <p>Hava embolisi</p> <p>Pulmoner mikroemboli</p>
Geçikmiş	<p>Nakil sonrası purpura</p> <p>Akut akciğer hasarı</p> <p>Hemolitik reaksiyonlar</p>	<p>Hastalık nakli</p>

Tablo 2-5: Köpeklerde transfüzyon reaksiyonlarının klinik semptomları (Hohenhaus 2003)

1. Ateş	7. Hemoglobinemi
2. Urticaria	8. Salivasyon
3. Yüzde ödem	9. Dispnea
4. Kusma	10. Taşipnea
5. Defekasyon / İshal	11. Peteşi oluşumu
6. Pigmenturi	12. HCT değerinde düşüş veya artış görülmemesi

Kan nakline başlarken, nakil sırasında ve bittikten sonra vücut ısısı, kalp atım hızı ve kalitesi, solunum hızı ve karakteri, muköz membran rengi, kapiller dolum zamanı, Hct, plazma ve idrar rengi ile hastanın genel durumunun kaydedilmesi gerektiği belirtilmektedir (Giger ve ark. 1995; Battaglia 2001 p. 69; Chiaramonte 2004). Bu parametrelerin, nakilin ilk saatinde her 15 dakikada bir ve naklin birinci saatinden bitimine kadar saatte bir kontrol edilmesi önerilmektedir (Chiaramonte 2004). Bununla birlikte, nakli takip eden 1., 12. ve 24. saatlerde (Chiaramonte 2004) hatta birkaç hafta (Battaglia 2001 p. 69) boyunca hem olası gecikmiş transfüzyon reaksiyonlarının varlığını tespit etmek, hem de kan nakliyle arzu edilen etkiye ulaşıp ulaşılmadığını saptamak amacıyla hastanın kontrol altında tutulmasının önemi vurgulanmaktadır (Chiaramonte 2004). Kan naklinin etkinliğinin değerlendirilmesi için, alıcının Hct düzeyine bakılabileceği veya koagülasyon profilinin incelenebileceği belirtilmektedir (Chiaramonte 2004).

Karşı reaksiyonların ciddiyeti geniş bir alana yayılmakta, orta düzeyden (ateş) şiddetli düzeylere (ölüm) kadar farklılık göstermektedir (Lanevschi ve Wardrop 2001). Transfüzyon reaksiyonlarının aktarılan RBC veya plazmanın miktarı ile bağlantılı olduğu vurgulanmakta, herhangi bir reaksiyon şekillendiği anda naklin derhal kesilmesi önerilmektedir (Bistner ve ark. 2000 p. 582; Hohenhaus 2003; Chiaramonte 2004). Köpeklerde dört yıl içerisinde yapılan toplam 680 kan nakli sonuçlarının incelendiği bir

çalışmada, sadece 20 köpekte (%2,9) transfüzyon reaksiyonu şekillendiği, ciddi ve ölümcül reaksiyonların ender olduğu, genelde orta düzeyde olup kendiliğinden kaybolan geçici ateş, kusma, yüzde şişme gibi semptomların gözlemlendiği belirtilmektedir (Kristensen ve Feldman 1995a p. 355). Başka bir çalışmada ise, 131 köpekten 17'sinde (%13) transfüzyon reaksiyonu gözlenmiş, reaksiyonların 10 tanesi ilk 24 saat içinde, geriye kalan 7 tanesi ise transfüzyonu takip eden birkaç gün içerisinde şekillenmiş ve sırasıyla, akut ve gecikmiş olarak değerlendirilmiştir (Kerl ve Hohenhaus 1993).

Nakil reaksiyonları, oluşum hızına göre akut ve gecikmiş, oluşum kaynağına göre immun ve non-immun olarak sınıflandırılmaktadır (Battaglia 2001 p. 69; Bansal ve Marwaha 2001). İmmun kaynaklı transfüzyon reaksiyonları, akut ve gecikmiş hemolitik reaksiyonları içermektedir. Akut hemolitik reaksiyonlar, nadiren görülen ancak nakil sonucu oluşabilen en tehlikeli reaksiyonlardır. Bunlar immünolojik reaksiyonlar olup; önceden uyarılmış DEA 1.1 negatif köpeklere, tekrar DEA 1.1 pozitif kan nakli yapılması ile oluşmaktadır (Giger ve ark. 1995; Battaglia 2001 p. 69; Chiaramonte 2004). Hemolitik transfüzyon reaksiyonlarının, antikorlarla kaplı RBC'lerin klirensinin yaratacağı zarar sonucunda, böbrek yetmezliğine neden olabileceği belirtilmektedir (Battaglia 2001 p. 69). Köpeklerde ilk nakilde, akut hemolitik reaksiyon oluşumuna ilişkin risk oranı, doğal antikorların düşük prevalansı nedeniyle düşüktür. Ancak, ikinci kez DEA 1.1 pozitif kan nakli yapılan alıcılar yüksek risk grubunu oluşturmaktadırlar. DEA 7 negatif köpeklerde ise, anti-DEA 7 doğal antikorları bulunabileceği, ancak akut hemolitik reaksiyonlara neden olmayacakları belirtilmektedir (Lanevschi ve Wardrop 2001).

Gecikmiş hemolitik reaksiyonların, daha sık şekillenebileceği belirtilmektedir. Nitekim kan naklini takip eden 21 gün sonra, alıcı köpekte oluşan antikorların hemolize neden olabildiği bildirilmektedir (Battaglia 2001 p. 69). Hct değerinde artıştan sonra ani bir düşüş, ayrıca bilirubinemi ve bulirubinuri ile seyreden semptomlar gözlemlenmektedir. Bu semptomların, çoğu zaman fark edilmediği, dolayısıyla, transfüzyon hastalarının uzun vadede kontrol edilmesi önerilmektedir. Kan nakli ile alıcılara bulaşan hastalıklar da, gecikmiş bir reaksiyon olarak kategorize edilmektedir (Bistner ve ark. 2000 p. 576; Prittie 2003).

Neonatal izoeritrolizis, kan nakilleri sonucu oluşan immun kökenli transfüzyon reaksiyonlarından olup (Prittie 2003), DEA 1.1 ve 1.2 negatif dişi köpeklerin, DEA 1.1

veya 1.2 pozitif olan yeni doğan yavrularında görülebilen akut hemolitik bir hastalıktır. DEA 1.1 ve 1.2 negatif dişi ile DEA 1.1 veya 1.2 pozitif erkek köpeklerin yavruları DEA 1.1 veya 1.2 pozitif kan grubuna sahip olacaklardır. Dişi köpeğin eskiden yapılmış uyumsuz kan nakli (Giger ve ark. 2005) sonucu gelişen anti-DEA 1.1 ve 1.2 antikorlarının, kolustrum ile yavrulara geçerek ilk 24 saat içerisinde neonatal izoeritroliz hastalığına neden olacağı belirtilmektedir (Harrell ve Kristensen 1995).

Donör WBC, PLT veya plazma proteinlerine karşı alıcı köpeğin dolaşımında oluşan antilökosit antikorlarının reaksiyonu sonucunda, non-hemolitik reaksiyonlar oluşmaktadır (Battaglia 2001 p. 69; Lanevski ve Wardrop 2001; Hohenhaus 2005 p. 466). Hayvanlarda kan nakillerinin ortalama %3-5'inde ve nakli takip eden ilk saat içerisinde, non-hemolitik reaksiyonların oluşabileceği gözlemlenmiştir (Brownlee ve ark. 2000; Lanevski ve Wardrop 2001). Bu reaksiyonların, alıcı köpeğin kan dolaşımında bulunan anti-lökosit antikorlarıyla ilgili olabileceği (Lanevski ve Wardrop 2001), geçici olup ürtikaria, pruritus, pireksia ve nörolojik semptomlar ile seyrettiği ancak hayati tehlike taşımadığı belirtilmektedir (Battaglia 2001 p. 69). İnsanlarda, RBC, PLT veya plazma nakli sırasında veya nakil bitiminden bir kaç dakika-saat sonra non-hemolitik ateşli transfüzyon reaksiyonları (NHFTR) şekillenebilmektedir. İnsanlarda RBC naklinde, NHFTR görülme sıklığı %0,5 oranında olup, ateş (>1°C artış), titreme, bazen bulantı, kusma, dispnea ve hipotansiyon ile karakterize edilmektedir (Perrotta ve Snyder 2001). Bir çok araştırmacı tarafından, iyi huylu ve hayati tehlike teşkil etmeyen bir karşıt reaksiyon olarak kabul edilse bile, transfüzyonu takip eden 4-6 saat içerisinde semptomlarda gerileme olmadığı takdirde, ateşe neden olabilecek sepsis veya hemoliz gibi daha ciddi transfüzyon reaksiyonları üzerinde durulması gerektiği belirtilmektedir (Brownlee ve ark. 2000; Perrotta ve Snyder 2001; King ve ark. 2004). Deplesyonlu kRBC ürünü kullanımı ile, non-hemolitik reaksiyonların azaltılabileceği vurgulanmaktadır (Prittie 2003).

Akut hemolitik reaksiyonlardan bağımsız olarak, hayvan kan nakillerinde anafilaktik şok tespit edilmediği belirtilmektedir (Lanevski ve Wardrop 2001). İnsanlarda kan nakilleri sonucunda bulantı meydana geldiği belirtilmekte, bu olası komplikasyonu engellemek amacıyla, köpeklerin de nakil öncesi aç olmaları önerilmektedir (Battaglia 2001 p. 70).

Bütün plazma ürünlerinin alıcılarda dolaşım hacminin aşırı artışına ve allerjik reaksiyonlara neden olabileceği belirtilmektedir. PLT nakillerinin, allerjik reaksiyonlara veya ateşe, tekrarlanan PLT nakillerinin ise alloimmünizasyon ve PLT duyarsızlığına neden olabileceği ileri sürülmektedir (Hohenhaus 2005 p. 467). Antikoagülan sıvı plazma kısmında kaldığından (Hohenhaus 2005 p. 466), bir üniteden daha az miktarda kan toplanması amaçlandığında, birincil torbadaki antikoagülan miktarı fazla gelecek ve hazırlanan plazma ürününe aktarılacaktır (Schneider 1995). Plazmada gereğinden fazla sitrat bulunmasının, alıcı hayvanda sitrat toksikasyonuna neden olacağı vurgulanmaktadır (Battaglia 2001 p. 70; Lucas ve ark. 2004).

Köpek kan nakillerinde, en sık rastlanılan karşıt reaksiyonların dolaşım hipervolemisi olduğu belirtilmektedir. Özellikle normovolemik ve kardiyovasküler yetmezliği olan alıcılarda, TK veya fazla miktarda kan ürünü nakli hipervolemi oluşumuna neden olmaktadır. Şiddetli hipervolemilerin ise akciğer ödemi ile sonuçlanabileceği belirtilmektedir (Harrel ve Kristensen 1995).

2.4 Kan naklinin bağışıklık sistemi üzerine etkileri

2.4.1 Antijen tanıma

Bağışıklık sisteminde, T ve B lenfositler, hücre yüzeylerinde bulunan reseptörler ile antijenleri spesifik olarak tanıyabilen tek hücrelerdir (Coe Clough ve Roth 1998 p. 15; Guyton 2000 pp. 404-405). Tek bir T veya B lenfosit hücre yüzeyinde bulunan antijen reseptörleri birbirinin aynısı olup, tek bir antijeni veya birbirine çok benzeyen antijenleri tanıyabilmektedir (Coe Clough ve Roth 1998 p. 15).

Dolaşım kanında lenfositlerin %65-75'ini T lenfositler oluşturmaktadır (Lanier 1991 p. 64). Bir tek T lenfosit üzerinde yüzbin spesifik antijen reseptörü bulunabilmektedir (Guyton 2000 p. 408). Lenfositler, hücre yüzeyinde bulunan antijen reseptörleri ve farklılaşma kümesi (CD) molekülleri ile birbirinden ayırt edilmektedir (Lanier 1991 p. 61). Her lenfosit yüzeyindeki antijen reseptörleri identik ve spesifiktir. T hücre reseptörü (TCR) olarak isimlendirilen T lenfositlerin antijen reseptörleri, iki farklı kompleks alfa-beta ve gamma-delta protein zincirlerinden oluşmaktadır. TCR molekülü yanısıra, T lenfositler, hayvan türleri arasında çok az değişkenlik gösteren CD3 molekülünü taşımaktadırlar. CD3 molekülü, ekstraselüler ortamda oluşan sinyalleri hücre çekirdeğine iletmekle sorumludur. Ayrıca, T lenfositlerin TCR moleküllerinin yanında CD4 veya CD8 yardımcı reseptör proteinleri bulunmaktadır

(Coe Clough ve Roth 1998 pp. 40-42; Lanier 1991 pp. 61-67). CD4 ve CD8 molekülleri, stimüle edilen lenfositlerden oluşacak sinyalleri düzenlemekle sorumludurlar. Nitekim, CD4 molekülünü taşıyan bir lenfosit, yardımcı fonksiyonları stimüle etmekteyken, CD8 molekülü yabancı antijenlere karşı sitotoksik etki yapmaktadır. T lenfositler, bu moleküllerden sadece birini taşıyabilmekte ve CD4⁺ veya CD8⁺ T lenfosit olarak isimlendirilmektedirler (Coe Clough ve Roth 1998 pp. 41-42).

T lenfositlerin antijenlerini tanıyabilmeleri için, bunların küçük parçalara ayrılması, işlenmesi ve sunulması gerekmektedir. Bu işlemleri antijen sunan hücreler (APC) gerçekleştirmekte, dendritik hücreler ve makrofajlar profesyonel APC olarak bilinmektedirler. Endojen (virüsler) ve eksojen (bakteriler) antijenler, APC'ler içinde küçük antijenik peptitlere parçlanmakta, ardından hücre içindeki major histokompatibilite kompleks (MHC) molekülleriyle birleşerek hücre yüzeyine taşınmakta ve T lenfositlere sunulmaktadır. Endojen antijenik epitoplara sınıf I MHC, eksojen antijenik epitoplara ise sınıf II MHC molekülleri ile sunulmaktadır (Coe Clough ve Roth 1998 pp. 55-57). Sınıf I MHC ile sunulan antijenler, genelde CD8⁺, sınıf II MHC ile sunulanlar ise, CD4⁺ T lenfositler tarafından tanınmaktadır (Lanier 1991 pp. 66-67; Coe Clough ve Roth 1998 p. 58). Antijen-MHC molekülü TCR molekülü ile 3 boyutlu olarak birleşirken (Coe Clough ve Roth 1998 p. 58), CD4 veya CD8 molekülleri, antijenin sunulduğu MHC molekülüne, antijenin sunulduğu bölgenin yakınında bir bölgeden bağlanarak, T lenfosit-MHC bağlantısını stabilize etmekte ve T lenfosit-MHC bağlantı affinitesini 100 kat artırmaktadır (Coe Clough ve Roth 1998 pp. 41-42). Böylece, T lenfosit nükleusuna gerekli sinyaller iletilerek, lenfosit aktive edilmektedir (Coe Clough ve Roth 1998 p. 58).

B lenfositlerin yüzeyinde bulunan antijen reseptörleri ise bu hücreden salınan antikorlar olup, antikorun Fc segmenti hücre membranına bağlı, spesifik olarak antijen bağlayan Fab segmenti ise ekstraselüler kısma dönüktür (Coe Clough ve Roth 1998 p. 42). B lenfositler, spesifik antijenlerini değişikliğe uğratılmadan tanıyabilme özelliğine sahip (Lanier 1991 p. 67; Coe Clough ve Roth 1998 p. 55) olup, MHC molekülleri bulunmadan spesifik antijeni tanıyabilirler. Ayrıca, B lenfositler CD19 ve CD20 yardımcı reseptör moleküllerini aynı anda taşımaktadırlar (Lanier 1991 p. 69; Coe Clough ve Roth 1998 p. 42).

Lenfosit yüzeyinde bulunan reseptör sayısı, hücre ömrü boyunca değişkenlik gösterebilmekte, nitekim antijen reseptör sayısı fazla olan lenfositler, sayısı az olanlara oranla, düşük antijen konsantrasyonlarına karşı daha yüksek bağlanma afinitesi ve aktifleşme göstermektedirler (Coe Clough ve Roth 1998 p. 43).

2.4.2 Lökositlerin immünomodülatif etkileri

2.4.2.1 Kan nakline bağlı immunomodülasyon

WBC'ler, kan nakli ile alıcılara aktarılan istenilmeyen kan komponentleridir (Brand 2002; Roddie ve ark. 2000). RBC kan ürünlerinin tedavi edici özelliklerinin yanısıra, içerdikleri WBC'lerden dolayı allojenik kan naklinden (AKN) sonra komplikasyon oluşturma potansiyeli taşıdığı da belirtilmektedir (Roddie ve ark. 2000). AKN ile hastaya, eriyebilen ve hücrenel kaynaklı yüksek miktarda antijenik yapı aktarılmaktadır. Bu antijenlerin, alıcı bireyin kan dolaşımında kalmalarının, bağışıklık sisteminde baskılanmaya yol açabileceği belirtilmektedir (Vamvakas ve Blajchman 2001b). Nitekim, kan naklinin potansiyel yan etkilerinin farkedilmesiyle klinik alanda kan naklinin tekrar değerlendirilmesine gidildiği bildirimler arasındadır (Blajchman ve Hébert 2001; Jutkowitz 2004). Transfüzyonun, bağışıklık sistemi üzerindeki "immünomodülatif" etkisi vücudun savunma cevabında bir artış veya azalma ile kendini göstermekte (Kirkley 1999) ve "kan nakline bağlı immunomodülasyon-TRİM" olarak tanımlanmaktadır (Blajchman 1997; Vamvakas ve Blajchman 2007). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda, kan nakli sonucu oluşan TRİM etkilerinden allojenik WBC'ler sorumlu tutulmaktadır (Vamvakas 2007). TRİM, ilk tanımlandığında, sadece immunomodülatif bir etki olarak kabul edilmiş; ancak günümüzde yapılan çalışmalar ışığında AKN'ye bağlı olarak gelişen "pro-inflamatuvar" etkilerin de tanıma dahil edildiği belirtilmiştir (Vamvakas ve Blajchman 2007). TRİM'in klinik etkileri, ilk olarak, böbrek allograftının, kan nakli yapılan hastalarda daha yüksek oranlarda kabul edildiğinin gösterilmesiyle karakterize edilmiştir (Blumberg ve ark. 1986; Karger ve Kretschmer 2002). Böbrek nakli öncesinde uygulanan AKN ile oluşan ve hala günümüzde de bilinen en iyi yerleşmiş olumlu TRİM etkisi için, allojenik WBC'lerin canlı olması gerektiği bilinmektedir (Vamvakas ve Blajchman 2007).

Kan naklinin bağışıklık sistemini baskılaması, organ nakilleri için olumlu etkiler yaratmaktadır (Blajchman 1997; Dzik ve ark. 2000; Claas ve ark. 2001). AKN ile alıcılara aktarılan allojenik WBC'lerin yarattığı immunsupresyon niteliğindeki

immunomodülatif etkinin, böbrek allograft alıcılarında ve tekrarlayan spontan abortların görüldüğü kadınlarda olumlu sonuçlar verdiği yerleşmiş bir bilgidir (Blajchman 1997). Ayrıca, allojenik WBC'lerin, tolerans oluşumu, adoptif immun tedavi, organ nakillerinde kimerizm oluşumu ve gen tedavilerinde de terapötik etkilerinin olabileceği düşünülmektedir (Lee ve ark. 2001). AKN'nin olumlu etkilerine karşın, postopretatif enfeksiyon riskinde artış (van de Watering ve ark. 1998), tümör büyümesi ve yayılmasında artış ve latent viral enfeksiyonlarda aktivasyon gibi (Rouger 2004), her hasta grubu için olumlu etkilerinin olmayabileceği belirtilmektedir (Blajchman 1997). Gümüzde de TRİM'in etkileri hala tartışmalıdır (Blajchman 2006; Vamvakas ve Blajchman 2007).

Böbrek naklinden önce yapılan kan naklinin, immun cevabı zayıflattığı anlaşıldığında, AKN ile oluşan immunosupresif etkinin kanser ilerlemesini hızlandıracağı (Claas ve ark. 2001; Brand 2002) veya enfeksiyon oluşumunu (Claas ve ark. 2001) destekliyeceği yönünde endişeler belirmiştir. Dolayısıyla, AKN ile böbrek nakli arasındaki immunomodülatif etkiler temel alınarak bazı hipotezler ileri sürülmüştür. Bu hipotezler;

- (i) Malign hücrelerin tespit edilip yok edildiği bağışıklık sistemi kan nakli ile baskılanmaktaysa, AKN alıcılarda tümör oluşumunu destekleyebilir,
- (ii) Kan nakli bağışıklık sistemini baskılıyorsa, perioperatif kan nakilleri, postoperatif dönemde enfeksiyon riskini artırabilir,

yönündedir (Vamvakas ve Blajchman 2001a).

2.4.2.2 Lökositler ve kanser

Blumberg ve ark. (1986), yaptıkları geriye dönük analiz çalışmasında, kanserli hastalarda TK ve kRBC ürününün kanser tekrarlaması ve mortalitesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada kan nakli yapılan (n=216) ve yapılmayan (n=257) farklı kanserli hastalarda, LD etkileri çalışmaya ilave edilmeksizin, TK ve kRBC nakilleri karşılaştırılmıştır. İncelenen değişik kanser hastalarında, tümör türlerinin nüksetme biyolojilerinin farklılık gösterdiği ve bir çok faktöre bağlı olduğu belirtilmekle birlikte, kRBC nakli yapılan hastalarda kanser nüksü ve mortalite oranlarının TK nakline göre daha düşük olduğu saptanmıştır (p<0,05). Ayrıca nakil

sayısıyla doğru orantılı olarak, nüks ve mortalite oranlarının arttığı saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda klinik olarak gerekmediği müddetçe kan nakli yapılmaması, naklin şart olduğu durumlarda ise kRBC kan ürünlerinin tercih edilmesi önerilmektedir. AKN'nin immunmodülatif etkilerinden, kanın WBC kompartmanının sorumlu olduğunu açıkça kanıtlayan ilk çalışma, Blajchman ve ark. (1993) tarafından yapılmıştır. Çalışmanın, 0. ve 3. günlerinde 2 kere allojenik ve LD'lu AKN yapılan fare ve tavşanlara, 10. günde tümör hücresi inoküle edilmiş, 21. günde ise akciğerde metastaz nodülleri sayılmıştır. Çalışmada nodül oluşumu, LD'lu AKN yapılan hayvanlarda, non-LD'lu yapılanlara nazaran belirgin olarak düşük bulunmuştur (fare $p=0,0002$, tavşan $p=0,0001$). Bu çalışma ile, kan naklinin immunmodülatif etkilerinden verici WBC'lerin sorumlu olduğu anlaşıldığı gibi tümör oluşumu üzerindeki zararlı etkilerinin transfüzyon öncesinde LD yapılmasıyla azaltılabileceği belirlenmiştir. Bu bulguların hemen ardından, insanlarda görülen klinik tablonun benzerinin oluşturulabilmesi için, tümörlü fare ve tavşanlara uygulanan AKN'nin tümör büyümesini tetikleyip tetiklemediği incelenmiştir. Çalışma sonuçları pulmoner metastaz odaklarının, LD'lu AKN yapılan hayvanlarda, non-LD AKN ($p=0,0001$) ve BC azaltılmış AKN ($p<0,0001$) yapılanlara oranla daha düşük olduğunu, non-LD AKN ile BC azaltılmış AKN arasında ise fark bulunmadığını göstermektedir (Bordin, Bardossy ve ark. 1994). Kan naklinin tümör büyümesi üzerindeki etkilerini araştıran farklı çalışmalar arasındaki çelişkiyi aydınlatabilecek bir çalışmada ise (Shirwadkar ve ark. 1990), farelerde AKN ile tümör hücresi sayısının ilişkili olduğu saptanmıştır.

Donör immünesinin kan nakliyle alıcılara nakledilebileceği de gösterilmiştir (Lee ve ark. 2001). WBC'lerin gecikmiş hipersensitivite fonksiyonunun kan nakli ile alıcılara aktarıldığı gösterilmiştir. Bu amaçla, spesifik bir antijenle daha önce karşılaşmamış alıcı dişi farelere, antijene karşı duyarlı hale getirilmiş erkek donörlerden kan nakli yapılmıştır. Nakilden 24 saat sonra, dişi fareler aynı allerjen madde ile uyarılmış ve kontrol grubuna kıyasla allerjen maddeye karşı bir reaksiyon şekillendiği tespit edilmiş ($p<0,05$), ancak duyarlılık cevabının nakilden bir hafta sonra yok olduğu belirtilmiştir.

2.4.2.3 Kan nakil ve postoperatif enfeksiyon

İnsanlarda, kan naklinin postoperatif enfeksiyon oluşumu üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada (Vamvakas ve Carven 1998), WBC içeren AKN'nin postoperatif

dönemde yara enfeksiyonu oluşumunu, istatistiksel olarak anlam taşımamakla birlikte artırdığı saptanmıştır. Bu çalışmada, postoperatif dönemde yara enfeksiyonu oluşumunda, nakledilen ünite başına %7, ortalama nakil dozu 3,6 ünite olan hastalarda ise %25 oranında artış saptanmıştır. Bu sonuçların, istatistiksel anlam taşımamakla birlikte, göz ardı edilememesi gerektiği belirtilmektedir (Vamvakas ve Carven 1998). BC hattı uzaklaştırılmış kRBC ile LD'lu kan ürünü naklinin kalp ameliyatı yapılan hasta grubunda postoperatif enfeksiyon oluşumu ve mortalite üzerindeki etkileri incelenmiştir. Postoperatif enfeksiyon oluşumunu ve mortalitenin nakil sayısı (>3 ünite) ile doğru orantılı olarak arttığı ve LD-RBC nakli yapılan hastalarda, sadece BC-LD-RBC nakli yapılanlara göre enfeksiyon ve mortalitenin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$) (van de Watering ve ark. 1998). Bu bulgu, nakil sayısı ile böbrek allograftının kabul edilmesi arasında doğru orantılı ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptayan Opelz ve Terasaki'nin (1978) bulguları ile benzerdir. Buna karşın, AKN ile kolorektal tümör metastazı ilişkisinde, kan nakli dozu ile ilgili bir bağlantı saptanamadığı belirtilmektedir (Blumberg ve ark. 1986).

Bu olumlu sayılabilecek bulgulara karşın, fazla sayıda kan nakli gerektiren kalp ameliyatı yapılan hastalarda, postoperatif enfeksiyon riskinde azalma beklenirken, LD'nun enfeksiyon oluşumunda herhangi bir etkisi saptanamamış, üstelik çalışmanın yapıldığı ülkede, LD yapılan RBC ürün fiyatlarının arttığı belirtilmiştir (Capraro ve ark. 2007). Ağır travmayı takip eden ilk 48 saat sonra LD'lu kan nakli yapılması, mortalite, hayatta kalma veya hastanede kalış süresi gibi faktörler açısından etkili bulunmamıştır (Phelan ve ark. 2007).

2.4.2.4 Lökositler ve FNHTR

RBC'lere karşı gelişen FNHTR'ların şekillenmesi, donör WBC'lerin alıcı antikorlarıyla immünolojik olarak tanınması ve yok edilmesine bağlanmakta (Dzik ve ark. 2000; Brand 2002), dolayısıyla bu reaksiyonlardan WBC'ler sorumlu tutulmaktadır (Brand 2002; King ve ark. 2004; Blajchman 2006). FNHTR'larının engellenmesinde LD'nun (Bansal ve Marwaha 2001; Prittie 2003; King ve ark. 2004; Blajchman 2006), özellikle saklama öncesi filtrasyon yapılmasıyla (Dzik ve ark. 2000) etkili olacağına inanılmaktadır. Saklama öncesi filtrasyonla, immünolojik olarak aktif hücrelerin yanı sıra eriyebilen biyolojik etkenlerin de kan ürününden uzaklaştırılabileceği dolayısıyla daha etkili olacağı belirtilmektedir (Bordin, Bardossy ve ark. 1994; Dzik ve ark. 2000;

Vamvakas ve Blajchman 2001b). Geriye dönük bir çalışmada (King ve ark. 2004), RBC ürünlerinin depolama öncesinde WBC miktarının azaltılması ile NHFTR'ların görülme sıklığının düştüğü saptanmıştır. Bu çalışmada, hastanede yapılan kan nakillerinin, 1994 yılında %96'sında LD yapılmadığı, 2001 yılında %99,5'inde depolama öncesi LD uygulandığı belirtilmekte; ve gözlenen NHFTR'larının, %0,37'den %0,19'a düştüğü saptanmıştır (King ve ark. 2004). Nitekim tümürlü tavşanlarda, pulmoner nodül sayısının, saklama öncesi LD'lu AKN'yle, saklama sonrasına ve non-LD'lu AKN'lerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır (Bordin, Bardossy ve ark. 1994).

2.4.2.5 Köpeklerde kan nakli ve lökositlerin yeri

Kanser tanısı konulan köpeklerde kemoterapi ve radyasyon tedavisinin, hasta sahiplerinin isteği üzerine arttığı vurgulanmaktadır. Ancak, kemoterapinin artmasıyla birlikte kanserle ilişkili hematolojik ve koagülopati bozukların daha sık gözleendiği ifade edilmektedir (Rudloff 1995). Kanserli köpeklerde, TK ve kan ürünleri nakli, kanser tedavisine genellikle yardımcı tedavi olarak ilave edilmektedir (Hohenhaus 2003). Nitekim, anemi veya kanser tedavisi gören köpeklere uygulanan kan naklinin, semptomatik bir tedavi olup geçici olduğu ve asıl hastalığı tedavi etmediğinin altı çizilmekte, ancak hayat kurtarıcı ve destekleyici etki göstererek (Wardrop ve ark. 1998), asıl hastalığı teşhis ve tedavi etmek için zaman kazandıracığı belirtilmektedir. (Prittie 2003; Hohenhaus 2003; 2005 p. 456).

Köpeklerde en sık gözlenen transfüzyon reaksiyonunun FNHTR'lar olduğu ve nakil yapılan köpeklerin %3-5'inde gözleendiği belirtilmektedir (Brownlee ve ark. 2000; Lanevski ve Wardrop 2001). Tromboembolik hastalıklara ise köpeklerde sık rastlanıldığı (Brownlee ve ark. 2000) ve kan torbalarında oluşan mikroembolilerin (Swank ve Seaman 2000) tromboz riskini artırdığı ve lökofiltrasyon ile köpeklerde tromboembolizmin önüne geçilebileceği belirtilmektedir (Brownlee ve ark. 2000).

Transfüzyon ile enfeksiyöz etkenlerin bulaştığına dair veri bulunmadığı belirtilmekle birlikte (Brownlee ve ark. 2000; Reine 2004), Ehrlichia etkenlerine dikkat edilmesi gerektiği belirtilmektedir (Brownlee ve ark. 2000). Yeni çalışmalar Leishmania organizmalarının kan nakliyle köpeklere (Owens ve ark. 2001; Giger ve Schantz 2002) ve deney hayvanlarına (de Freitas ve ark. 2006) aktarıldığı tespit etmiştir. Akdeniz bölgesi hastalığı olarak bilinen Leishmania'nın (Wardrop ve ark. 2005), Türkiye'de, köpeklerde yaygın olarak görüldüğü çeşitli çalışmalarla belgelenmiştir (Özbel ve ark.

2000; Aslantaş ve ark. 2005; Doğan ve ark. 2006). Leishmania etkenlerinin mononükleer fagositoz sisteminde bulunması, dikkatleri özellikle filtre edilmeyen kRBC kan ürünlerine çekmektedir (Brownlee ve ark. 2000; de Freitas ve ark. 2006). Leishmania etkenlerinin kan yoluyla yayılmasında LD'nun etkinliğinin bilinmediği vurgulanmaktadır (Giger ve Schantz 2002). Buna karşın, köpeklerde enfektif hastalıkların kan nakli ile bulaşma riskinin LD ile engellenebileceği belirtilmektedir (Brownlee ve ark. 2000).

Sonuç olarak köpeklerde WBC'lere bağlı olarak birçok transfüzyon reaksiyonu şekillenebileceği ve WBC miktarının azaltılmasının birçok avantaj sunduğu vurgulanmaktadır. Ancak köpek WBC'lerin ticari filtreler ile uyumunun ve köpeklerde yapılan nakiller için LD'nun olumlu etkilerinin olup olmadığının mutlaka incelenmesi gerektiği belirtilmektedir (Brownlee ve ark. 2000). Ayrıca kan naklinin köpeklerin bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmaların eksikliği de vurgulanmaktadır (Kristensen ve Feldman 1995a p. 357).

2.4.2.6 Kan nakli ve immunmodülasyona yönelik klinik çalışmalar

Deneysel hayvan çalışmalarında, saklama öncesi filtrasyon ile AKN'ye bağlı tümör büyümesinin engellendiği saptanmış ancak geniş kapsamlı klinik çalışmalarda benzer sonuçlara ulaşılamamıştır. TRİM etkilerinin birçok biyolojik mekanizmaya bağlı olabileceği, ancak bu çalışmaların genellikle deney hayvanlarında (kemirgenler) yapıldığı belirtilmektedir (Vamvakas ve Blajchman 2007).

AKN ile tümör büyümesi veya postoperatif enfeksiyon oluşumu arasındaki gözlenen olumsuz ilişki uzun zamandır araştırılan bir konu olmasına rağmen (Roddie ve ark. 2000; Claas 2001), kan naklinin zararlı etkilerinin varlığı geniş kapsamlı klinik çalışmalarla gösterilememiştir (Claas 2001). Sayısız klinik çalışmanın yapılmasına rağmen, her iki durum için de LD'nun henüz tartışmalı olduğu (Roddie ve ark. 2000) ve kan nakline bağlı immunmodülatif etkilerin varlığı konusunda çelişkili sonuçlar sunulmaktadır (Kirkley 1999; Vamvakas 2007). Kirkley (1999) LD'nun faydalarını araştıran insan çalışmalarında, araştırma tiplerinin, nakil dozunun ve ürün hazırlama yöntemlerinin değişiklik göstermesinden dolayı sonuçların farklılık gösterebileceğini vurgulamaktadır. Blumberg ve ark. (1986) ile Dzik ve ark. (2000), kan nakliyle kanser ve enfeksiyon oluşumu arasındaki etkileşimin, çalışma protokolleri farklılıkları, hekimler ve hastaneler arası kan nakli uygulamalarındaki değişkenlikler, enfeksiyon

tanımındaki farklılıklar nedeniyle açıklanamadığını dolayısıyla çalışmaların karşılaştırılmadığını belirterek Kirkley'in (1999) ifadesini desteklemektedir.

Yapılan tüm çalışma sonuçları incelendiğinde LD'nun, normal bağışıklık cevap oluşturamayan hasta gruplarında olumlu etkileri gözlemlenirken, bağışıklık sistemi normal çalışan hasta grubundaki etkileri tam olarak bilinmediği, dolayısıyla bütün hasta gruplarının LD'den faydalanamayacağı ileri sürülmektedir. Sağlıklı bireylerde, LD'lu ürünlere karşı gelişen immün cevabı anlamak için hayvan modelleri üzerinde çalışılması gerektiği ileri sürülmektedir (Semple 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Sivas ili ve çevre köylerinde 100 adet erkek Kangal köpekte DEA 1.1 kan grubu taraması yapıldı. Bunlar arasından rastgele seçilen 30 köpek de *Dirofilaira*, *Ehrlichia*, Lyme ve *Leishmania* hastalıkları yönünden tarandı. Bu hastalıklar yönünden seronegatif ve DEA 1.1 negatif 6 adet Kangal verici olarak seçildi. Alıcı olarak da, BC-LD (n=12) ve non-BC-LD (n=12) 2 grupta, toplam 24 adet melez erkek köpek kullanıldı. Vericilerden 3 ay arayla 4 kez, kan nakli için 450-480 ml TK alındı. Alınan kanın yarısı filtre edilerek LD'lu ürün elde edildi. Elde edilen ürünler, 21 gün arayla 4 nakil döneminde farklı alıcı köpeklere nakledildi. Nakil öncesi (0.gün) ve nakil sonrası (10., 21., 31. ve 42. günler) kan örnekleri alındı. Örneklerde, toplam T lenfosit, CD4⁺ ve CD8⁺ lenfosit, CD45RA⁺ ve B lenfosit yüzdeleri belirlendi ve nötrofil fonksiyon testleri incelendi.

3.1 Verici Kangal köpeklerin deneyler için seçilmesi ve hazırlanması

Verici Kangal ırkı köpeklerin seçilmesi amacıyla, 17-30 Ağustos 2005 tarihleri arasında, Sivas ilinin çeşitli köy ve yetiştirme çiftliklerinde bulunan, 1-9 yaş arasında, 100 adet Kangal Irkı erkek köpekte, kan grubu taraması yapıldı. Bunlar arasından rastgele seçilen 30 köpek, *Dirofilaria*, *Ehrlichia*, Lyme ve *Leishmania* hastalıkları yönünden tarandı. Kan grubu ve hastalık taramasında kullanılan form Şekil 3-1'de gösterilmektedir. Bütün taramalar sonucunda, DEA 1.1 negatif, *Dirofilaria*, *Ehrlichia*, Lyme ve *Leishmania* kan hastalıkları açısından seronegatif, sağlıklı, uysal mizaçlı, 3-6 yaş arasında, erkek, 6 adet Kangal köpek verici olarak seçildi ve Sivas'tan İstanbul'a kamyon içinde getirildi. Kamyon, 6 adet yetişkin Kangal köpeğini barındıracak büyüklükte seçildi. Kamyon, her köpek için 1 m²'lik alan düşecek şekilde tahta ve sunta kullanımı ile 6 eşit bölüme ayrıldı. Köpekler, yolculuktan 6 saat önce aç bırakıldı ve önlerine devrilmeyecek şekilde su kapları yerleştirildi.

Verici Kangal'lar İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesine, 30 Ağustos 2005 tarihinde teslim alındı. Adaptasyonları için 2 hafta beklenildi, genel olarak sağlık gözlemleri yapıldı, aynı zamanda endoparaziter ve ektoparaziter profilaktik antiparaziter ilaçlamaya başlandı. Aşılama dönemine başlamadan önce, genel muayeneleri yapıldı, hemogram (Medonic CA620) ve bazı biyokimyasal parametrelerine (otoanalizatör Boeki Medikal Sistemleri) (creatinin, üre, AST, ALT, total protein, Ca, Fe, albümin,

direkt bilirubin) bakıldı. Hematolojik [5 ml Etilen-diamin-tetra-asetik-asit (EDTA'lı)] ve immünprofil belirlemesi (10 ml Heparin'li) için her 6 verici Kangal'dan kan örneği toplandı. Biyokimyasal parametreler için ise, 10 ml kandan hazırlanan serum ile çalışıldı. Bu sürenin sonunda, 3 hafta süren aşılama dönemine başlandı. Birinci hafta kuduz (Rabies, Novibac®) ve karma (DHPPI-LEPTO, Novibac®), ikinci hafta bronchicine (Bronchicine™ CA, Pfizer) ve üçüncü hafta karma tekrar aşıları yapıldı. Her nakil döneminden önce verici Kangal'ların vücut ağırlıkları, ortalama 41,56 kg (38-45 kg) olarak ölçüldü.

No:	Donör Köpek Bilgi Formu	... /... / 2005
1. Köpek adı:	4. Kan grubu ve hastalıkları	
2. Sahip bilgileri:	Pozitif	Negatif
1. İsim:	1. DEA 1.1	<input type="checkbox"/>
2. Adres:	2. Drophilaria	<input type="checkbox"/>
3. Tel:	3. Ehrlichia	<input type="checkbox"/>
4. Cep:	4. Lyme	<input type="checkbox"/>
3. Köpek bilgileri:	5. Leishmania	<input type="checkbox"/>
1. Yaş:	5. Mizaç	Hırçın <input type="checkbox"/> Uysal <input type="checkbox"/>
2. Kilo:	6. Sonuç:	
3. Boy:	VERİCİ	<input type="checkbox"/>

Şekil 3-1: Kan grubu ve hastalıklar taramasında kullanılan form

Çalışma boyunca, verici Kangal'lar, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dahiliye Anabilim Dalı'nın küçük hayvan bokslarında barındırıldı. Her bir verici Kangal'ın bakımları bir bölümü kapalı, bir bölümü açık odalarda, toplam 10 m²'lik bir alanda yapıldı. Hayvanlar, günlük 700–1000 g yetişkin köpek yemi ile beslendi ve suları günlük olarak tazelandı. Ayrıca, günlük olarak dış ortamda dolaştırıldılar. Verici Kangallar, V1-V6 olmak üzere numaralandırıldı, V1, V2 ve V3 numaralı verici Kangallar'dan birinci nakiller, V4, V5 ve V6 numaralı vericilerden ise ikinci nakiller için tam kan toplandı.

3.2 Alıcı köpeklerin deneyler için seçilmesi ve ön hazırlık dönemi

Kan nakillerinde alıcı olarak, İstanbul'un farklı hayvan barınaklarından 1-3 yaş arasında, sağlıklı ve kısırlaştırılmamış uysal mizaçlı erkek köpekler seçildi (n=24).

Çalışma, 4 farklı "kan nakli dönemi"nde yürütüldüğünden, çalışma boyunca köpekler 6'şarlı gruplar halinde Cerrahi Anabilim Dalı küçük hayvan bokslarına yerleştirildi ve kendi içlerinde, rastgele 3'erli gruplara bölündü. Çalışma koşullarına kolaylık sağlaması amacıyla, köpekler 3'erli gruplar halinde, bir odada deplesyonlu grup (BC-LD) AD1-AD12 (n=12), diğer odada non-deplesyonlu grup (non-BC-LD) A1-A12 (n=12) olmak üzere iki farklı odaya yerleştirildi. Köpeklerin her biri bireysel kafeslerde tutuldu, günlük olarak kafes temizliği yapıldı, 500-600 g yem verildi ve suları tazelendi. Günde 2-3 kez gözetim altında dolaşma avlusuna tümü beraberce salındı.

Fakülteye getirildikten sonra, alıcı köpeklerin ön hazırlık dönemi, ilk 2 haftayı kapsayan adaptasyon ve genel muayeneleri, ardından 3 hafta süren aşı dönemi ve bunu takip eden 5 haftalık dinlenme periyodundan oluşmaktadır.

Alıcı köpekler birinci haftada, enfektif hastalıklar açısından gözlem altında tutuldu, tümünde öksürük, burun ve göz akıntısı, ishal, idrar ve dışkı rengi, dışkıda olgun parazitlerin varlığı, iştah gibi gözleme dayalı parametrelere bakıldı.

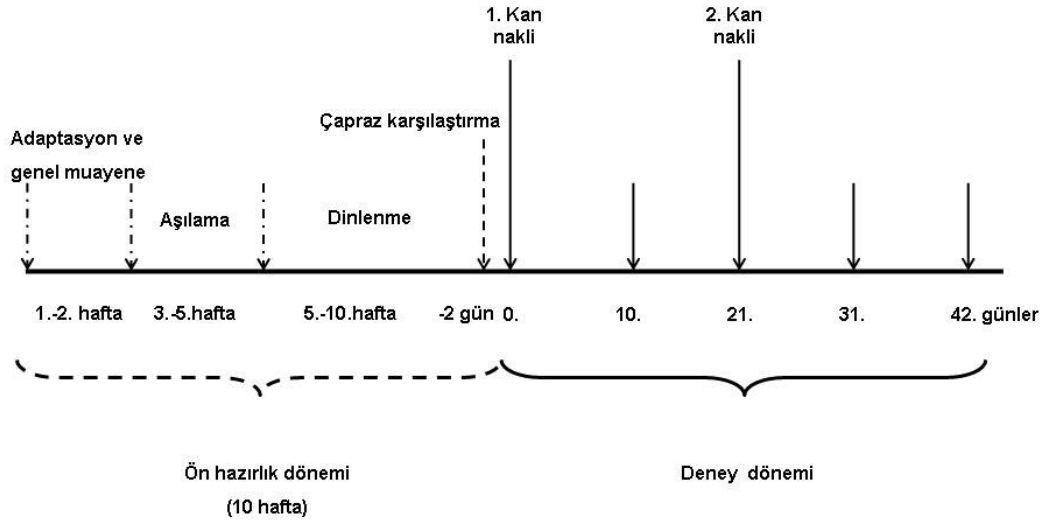
İkinci hafta, klinik muayenede, akciğer ve kalp oskültasyonu, lenf yumruları palpasyonu, vücut ağırlığı, ateş ve mukoza rengi kaydedildi. Hemogram (Medonic CA620) ve biyokimyasal parametrelerin (otoanalizatör Boeki Medikal Sistemleri) (AST, ALT, ALP, üre, kreatinin, glukoz, albümin, total protein, albümin ve bilirubin) incelenmesiyle sağlık durumları belirlendi. Köpeklerin vücut ağırlıklarına göre, iç ve dış parazit tedavilerine başlandı. İç parazit mücadelesinde, Drontal® tablet ve Siropar® şurup, dış parazit mücadelesinde ise, Stronghold spot-on® (Pfizer) kullanıldı.

Sağlıklı oldukları kesinleştirildikten sonra, 3 hafta süren aşılama dönemine başlandı. Birinci hafta kuduz (Rabies, Novibac®) ve karma (DHPPI-LEPTO, Novibac®) aşıları birlikte uygulandı. İkinci hafta Brochicine® (Bronchicine™ CA, Pfizer) aşısı yapıldı, üçüncü haftada ise karma aşısı tekrarlandı. Antiparaziter tedaviye, uzun sürmesi nedeniyle, aşılama döneminde de devam edildi. Alıcı köpeklerin antiparaziter tedavileri bittikten sonra, natif dışkı muayenesi yapıldı. Aşı döneminden sonra, bağışıklık

sisteminin normal aktivite seviyesine dönmesi için minimum 5 haftalık dinlenme periyodu uygulandı.

3.3 Deney dönemi

Toplam 42 günlük deney döneminde, deneylerden önceki hafta, verici ve alıcılar arasında çapraz karşılaştırma testleri, 0. ve 21. günlerde 2 kere kan nakli ve alıcı köpeklerden 0., 10., 21., 31. ve 42. günlerde toplanan kan örneklerinde immünolojik analizler yapıldı (Şekil 3-2). Çalışmada yapılan testler, incelenen parametreler ve yöntemleri Tablo 3-1’de verilmiştir.



Şekil 3-2: Deneysel çalışma şeması

Tablo 3-1: Toplanan kan örnekleri, araştırılan parametreler ve yöntemleri

Örnek		Parametre	Yöntem
Verici Kangal'lar	5 ml EDTA'lı tam kan	Kan grubu belirlenmesi	Serolojik
		Kan hastalıkları testleri	ELİZA
		Nakil öncesi ve sonrası hemogram	Otomatik yöntem ile Cell Counter
		Formül lökosit	Papenheim'in Panoptik Boyama yöntemi
		Çapraz karşılaştırma testleri	Serolojik
	1ml BC-LD kRBC	WBC sayımı	Nageotte lamında hemositometrik yöntem
1ml non-BC-LD kRBC	Thoma lamında hemositometrik yöntem		
Alıcı köpekler	10 ml Heparinli tam kan	T lenfosit yüzey antijenleri (CD3 ⁺ , CD4 ⁺ , CD8 ⁺ , CD45RA ⁺ , CD4 ⁺ CD45RA ⁺ , CD4/CD8)	Tam kan lizis yöntemi
		B Lenfosit	Tam kan lizis yöntemi
		Nötrofil fonksiyon testleri (fagositoz, kemotaksi, oksidatif patlama)	Flow sitometri yöntemi
	5 ml EDAT'lı tam kan	Formül lökosit	Papenheim'in Panoptik Boyama yöntemi
		Çapraz karşılaştırma testleri	Serolojik

3.3.1 Analizler için kan örneklerinin toplanılması

Kan grubu ve hastalık taraması yapılan 100 adet Kangal ırkı köpekten, 5 ml'lik EDTA'lı vakumlu tüplere, V. cephalica antebrachii'den kan örnekleri toplanmıştır.

Kan örnekleri tüm köpeklerden oturur halde V. jugularis'ten alındı, sadece torbalara kan aktarımı sırasında verici Kangal'lar, latero-lateral pozisyonda yatırıldı (Schneider 1995).

Nakil öncesinde, alıcı ve vericiler arasında çapraz karşılaştırma testleri ile verici köpeklerde hemogramın belirlenmesi için EDTA'lı tüplere 5 ml kan alındı. Her nakil öncesi (0. ve 21. günlerde) ve nakil sonrasında (10., 31. ve 42. günlerde) ise, alıcı köpeklerden formül lökosit için 5 ml kan örneği, immünolojik analizler için 10 ml kan örneği, sırasıyla EDTA'lı ve heparinli tüplere toplandı.

Verici Kangal'ların V. Jugularis'inden, ikili CPD Sag-M kan torbalarına ortalama 450-480 ml kan toplandı. Kan alımı sırasında hassas terazide tartılan kan torbaları, kanın antikoagülan ile karışması için hafif hareketlerle sallandı.

Ayrıca filtrasyon etkinliğini saptamak amacıyla, transfüzyon setleri takılan BC-LD ve non-BC-LD kRBC ürünlerinden 1 ml kan örneği alındı.

3.3.2 Kangal'larda DEA 1.1 kan grubunun ve hastalıkların belirlenmesi

DEA 1.1 kan grubu taraması yapılan Kangal ırkı erkek köpekler (n=100) arasından rastgele seçilen 30 Kangal'da, hastalık testleri yapılmasına rağmen her kan naklinden önce, olası hastalık bulaşmasını engellemek amacıyla, hastalık testleri tekrar edildi.

3.3.2.1 Kullanılan malzemeler

- 5 ml EDTA'lı tam kan
- DEA 1.1 kan grubu belirleme kiti (DMS rapidVet-H Canine, DMS Laboratories Inc.)
 - Test kartları
 - Pozitif kontrol test kanı ve PBS
 - Karıştırıcı çubuk ve Pastör pipeti
- Dirofilaria, Erhlichia, Lyme Hastalık testleri (3DX Snap test, IDEXX)

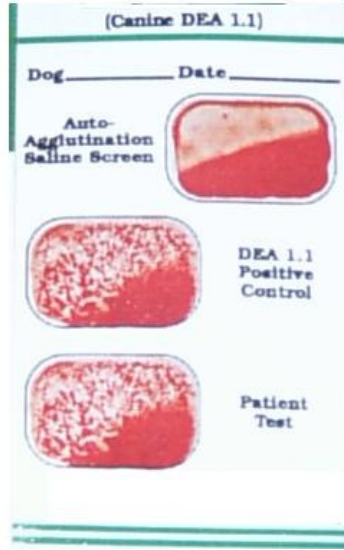
- Test aracı ve ayıraç solüsyonu
- Pastör pipeti
- Taşınabilir santrifüj (Hettich EBA III)
- Leishmania testi (Kalazar Detect™, InBios International Inc.)
 - Test çubuğu ve ayıraç solüsyonu
 - Taşınabilir santrifüj (Hettich EBA III)
 - 20 µl otomatik pipet

3.3.2.2 DEA 1.1 kan grubunun belirlenmesi

DEA 1.1 kan grubunu belirlemek için hem klinik hem de saha çalışmaları için pratik (Giger ve ark. 2005) bir test olan kart yöntemi kullanılmıştır. Kart üstünde bulunan her bir test alanına, önce PBS damlatıldı ve kart ileri geri hafifçe hareket ettirilerek, liyofilize materyalin sulanması sağlandı. PBS damlatılan otoaglutinasyon test alanına, pastör pipetiyle, 1 damla test örneği eklendi ve karıştırıcı çubuk ile karıştırıldı. Otoaglutinasyon görülmeyen testlere devam edildi. Pozitif kontrol test alanına pozitif kontrol kanı, test alanına ise kan örneğinden 1'er damla farklı pastör pipeti kullanarak damlatıldı (Şekil 3-3). Farklı karıştırıcı çubuklarla, kan örnekleri ve liyofilize maddenin karışması ve test alanına yayılması sağlandı. Test kartı 2 dakika boyunca, yatay dairesel hareket ettirilip, ardından 10°'lik bir açı ile düz yüzeye konuldu. Pozitif kontrol ve deney alanları aglutinasyon varlığı açısından makroskopik olarak incelendi (Lanevski ve Wardrop 2001; Giger ve ark. 2005). Kartlar üzerindeki materyal kurduktan sonra kalıcı kayıt olarak plastik kılıfların içinde saklanılmıştır.

3.3.2.3 Dirofilaria, Ehrlichia ve Lyme hastalıklarının belirlenmesi

Test kitinde bulunan plastik tüplerin içine, pastör pipetleriyle 3 damla plazma, bunun üstüne 4 damla ayıraç solüsyonu damlatıldı ve tüplerin ağzı kapatılarak karışmaları sağlandı. Ardından, bütün karışım, düz bir zemin üzerinde tutulan test aygıtının örnek kuyusuna boşaltıldı. Sekiz dakika süren inkübasyon periyodundan sonra, test sonucu makroskopik olarak okundu (Stone ve ark. 2005; O'Connor ve ark. 2006; Snap Test 3DX). Testler kalıcı kayıt olarak plastik poşetler içinde saklanmıştır.



Şekil 3-3: DEA 1.1 kan grubu belirleme testi

3.3.2.4 Leishmania hastalığının belirlenmesi

Test çubuğunun test alanına 20 µl plazma ve bir tüp içine 2-3 damla test ayırıcı damlatıldı. Test çubuğu tüp içine daldırılarak, plazmanın ayıraç solüsyonu ile teması sağlandı. On dakika inkübasyon periyodundan sonra, sonuç makroskobik olarak okundu (Toz ve ark. 2004).

3.3.3 Çapraz karşılaştırma testleri

Birinci nakil öncesinde, Tablo 3-2’de gösterilen tüm vericiler (V1-V6) ile alıcı karşılıkları arasında, ikinci nakiller öncesinde ise, sadece V4, V5 ve V6 numaralı verici köpeklerin alıcıları ile çapraz karşılaştırma testleri yapıldı.

3.3.3.1 Kullanılan malzemeler

- 5 ml EDTA’lı alıcı ve verici kanları
- Santrifüj (Haraeus Labofuge 400, Function Line)
- Tüp, lam ve lamel
- Işık mikroskopu (Olympus BHC)
- %0,9’luk serum fizyolojik
- Otomatik pipet

3.3.3.2 Çapraz karşılaştırma testlerinin yapılışı

Çapraz karşılaştırma testleri için, lam aglütinasyon yöntemi kullanıldı. Alıcı ve verici köpeklerden EDTA'lı tüplerde toplanan kan örnekleri santrifüj edildi. Plazmalar, alıcı (A) ve verici (V) olarak isimlendirilen tüplere otomatik pipetle pipetlendi ve 4,9 ml %0,9'luk serum fizyolojik üzerine 0,1 ml RBC ilave edilerek %2'lik RBC süspansiyonu hazırlandı. RBC süspansiyonu hazırlandıktan sonra, major test için, verici RBC süspansiyonundan ve alıcı plazmasından lamın sol tarafına, minör test için ise, alıcı RBC süspansiyonundan ve verici plazmasından aynı lamın sağ tarafına birer damla damlatıldı. Aynı bir lamda ise, alıcı ve verici köpeklerin, kendi RBC ve plazmaları aynı yöntemle birleştirilerek kontrol deneyleri yapıldı. RBC süspansiyonları ve plazma lamel yardımıyla karıştırıldıktan sonra, aynı lamelle kapatıldı, mikroskopta 10'luk ve 40'luk büyütmede incelendi (Battaglia 2001 p. 68; Lanevschi ve Wardrop 2001; Lucas ve ark. 2004; Plunkett 1993 p. 189).

3.3.4 Deplesyonlu ve deplesyonsuz kRBC ürünlerinin hazırlanması

Her bir vericiden toplanan 450 ml TK'dan elde edilen kRBC süspansiyonunun, yarısı filtreden geçirilerek LD'lu (BC-LD kRBC), diğer yarısı ise WBC miktarı azaltılmamış (non-BC-LD kRBC) olmak üzere, 2 farklı ürün elde edildi.

3.3.4.1 Kullanılan malzeme ve cihazlar

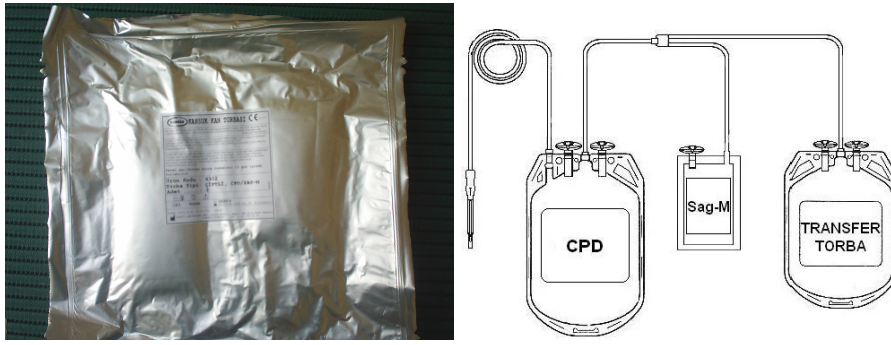
- Çift'li CDP Sag-M kan torbaları (Kansuk)
- WBC filtreleri (Imugard III RC-4P)
- Hassas terazi (Precisa XT 6200C)
- Kan trobası santrifüjü (Beckman Coulter J6-M1 santrifüjü, JS-4.2 rotor)
- Plazma ekstraktörü (Treumo Teruflex ACS-201)
- Hortum kapatıcısı (Biosealer CR6, Liungberg ve Kögel AB)
- Derin dondurucu (Sanyo MDF-U2086S)

3.3.4.2 kRBC ürünü elde edilmesi ve LD

Çalışmada, 16 gauge iğneli, 69 ml CPD içeren birincil kan toplama torbası, plazma için bir adet kuru transfer torbası ve 100 ml koruyucu Sag-M solüsyonunu

içeren toplam 3 torbadan oluşan ikili CDP Sag-M kan torbaları ile (Şekil 3-4) Imugard III RC-4P filtreleri kullanıldı (Şekil 3-5).

Santrifüj godelerine torbalar arka arkaya gelecek ve godenin içinde dik duracak şekilde yerleştirildi, kalan boşluklar sünger kullanımı ile dolduruldu. Santrifüje konulan bütün godelerin ağırlıkları, virgülden sonrasına kadar hassas terazide plastik ağırlıklar kullanılarak eşitlendi (AABB Technical Manuel 2005d p. 180). Plastik ağırlıklar ile kan torbası sistemi teması sünger kullanımı ile engellendi (Şekil 3-6).



Şekil 3-4: İki'li CPD Sag-M kan torbası



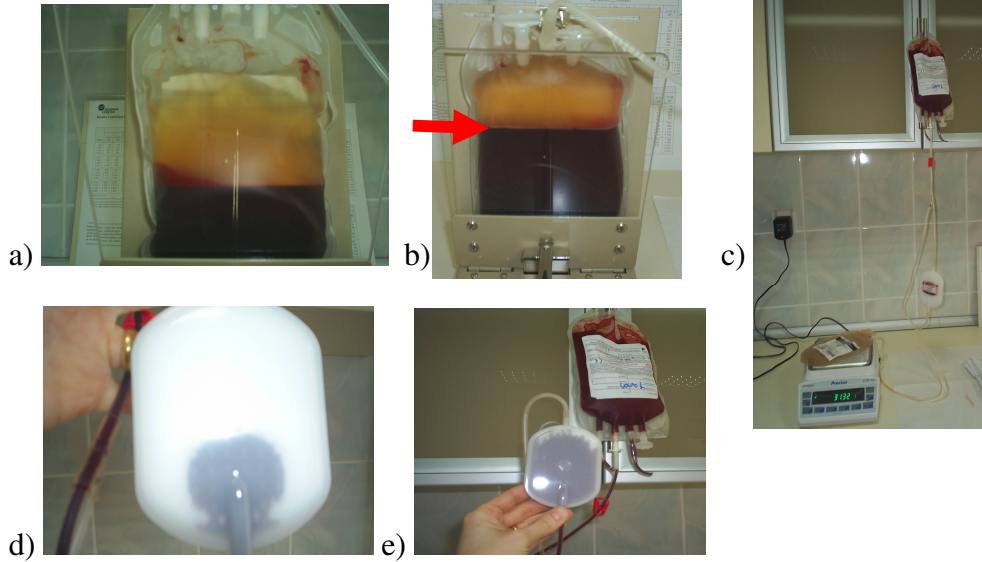
Şekil 3-5: Imugard III RC-4P filtresi



Şekil 3-6: Kan torbalarının godelere vesantrifüj cihazına yerleştirilmesi

2800 devirde 7 dakika 17 °C’de yapılan santrifüj işleminde hızlanma ve yavaşlama, sırasıyla 6 ve 7 olarak seçildi. Kan torbaları santrifüj godelerinin içerisinde, plazma ekstraktörünün yanına taşındı ve godelerden sarsılmadan çıkarılarak plazma ekstraktörüne yerleştirildi (Şekil 3-7a). RBC-plazma ayrımı net olarak gözlemlendikten sonra, birincil torbanın çıkış noktasında bulunan kırılma parçası, hortumun hafifçe bükülmesiyle kırıldıktan sonra, ekstraktör basıncı uygulandı ve plazma torba sisteminde bulunan kuru transfer torbaya aktarıldı (Şekil 3-7b). RBC’ler üzerinde bulunan BC hattı (Şekil 3-7b kırmızı ok) kRBC ürününe bırakıldı ve plazma ekstraksiyonu torbanın çıkış noktası ile RBC’ler arasında 2 cm (Lucas ve ark. 2004) kalınca durduruldu. Plazma ekstraksiyonunu sonlandırmak için önce birincil torbadan çıkan hortum hemostatik pens ile sıkıştırıldı ardından ekstraktörün basıncı kaldırıldı. Plazma hortumu hortum kapatıcısı ile kesilerek, plazma ürünü torba sisteminden uzaklaştırıldı. Uydu torbada bulunan 100 ml Sag-M koruyucu solüsyonu yukarıya kaldırılarak diğer torbadaki RBC’ler üzerine yer çekimi kuvveti ile ilave edildi. Sag-M solüsyonunun hepsi aktarıldıktan sonra, kRBC ürünü hortumu hemostatik pens ile sıkıştırıldı ve Sag-M torbası hortum kapatıcısı ile kesilerek uzaklaştırıldı. Elde edilen kRBC süspansiyonu ve plazma ürünleri, hassas terazide tartıldı. Plazma ürünleri, TDP olarak etiketlenerek derin dondurucuda -80°C’de saklandı. kRBC ürünü ise, hassas terazi yardımıyla, ½’si filtre edilerek (Şekil 3-7c, d, e), 2 eşit bölüme ayrıldı. Filtreden geçen LD’lu kan, filtre torbasında toplandı. Birincil torbada kalan ile filtre torbasında toplanan kan miktarları eşitlendiğinde, torbalar arasındaki bağlantı hortum kapatıcısı ile kesilerek filtre sistemden uzaklaştırıldı. Filtre edilmiş deplesyonlu (BC-LD) ve filtre edilmeden

birincil torbada kalan (non-BC-LD) kRBC süspansiyon torbalarının üzerine hazırlandığı vericinin ve nakledileceği alıcının numaraları yazıldı.



Şekil 3-7: Kan ürünlerinin hazırlanışı ve filtrasyon aşaması [a: santrifüj edilen TK'nın plazma ekstraktörüne yerleştirilmesi, b: plazma ekstraksiyonu BC hattı (ok ile gösterilen bölüm), c, d, e: kRBC ürününün filtrasyonu]

3.3.5 Filtre etkinliğinin saptanması

BC-LD'lu ve non-BC-LD'lu kRBC süspansiyonlarından toplanan örneklerde, WBC sayımı sırasıyla Nageotte ve Thoma lamalarında hemositometrik yöntemle belirlendi. Filtre öncesi ve sonrası WBC miktarları oranlanarak % filtrasyon etkinliği saptandı.

3.3.5.1 Kullanılan malzemeler

- BC-LD'lu ve non-BC-LD'lu kRBC ürünlerinden 1 ml kan örneği
- Nageotte lamı (Superior Marienfeld)
- Türk eriyiği
- Otomatik pipet, 1000 µl ve 100 µl
- Tüp
- Vorteks (Yello^{lab} Labworld-Online Inc)

- Petri kutusu
- Işık mikroskopu (Olympus BHC)

3.3.5.2 Lökosit sayım tekniği

Bir tüpe 100 µl BC-LD'lu kRBC süspansiyonu alındı, üzerine 900 µl Türk solüsyonu pipetlenerek 1:10 oranında dilüe edildi. Örnek vorteksle karıştırıldı. RBC'lerin parçalanması için 10-15 dakika beklenildi. Sayım alanı lamelle kapatıldı ve Nageotte lamının sayım kamarasını dolduracak kadar örnek (100 µl) pipetlendi. Lam, WBC'lerin çökmesi için, 15 dakika nemli petri kutusunda inkübe edildi. Işık mikroskopunda 40'lık büyütmede bütün alandaki (40 dikdörtgen) hücreler sayıldı. Sayılan WBC miktarı, dilüsyon oranı ile çarpılarak µl'deki WBC sayısı elde edildi (Bontadini ve ark. 2002; Bae ve ark. 2007). Non-BC-LD'lu kan örneğinde, WBC sayımı Thoma lamı kullanılarak hemositometrik yöntemle (Çötelioglu 2002) yapıldı.

3.3.6 Kan nakilleri

Kan nakillerinin yapıldığı verici ve alıcı köpeklerin numaraları Tablo 3-2'te sunulmuştur.

Tablo 3-2: Verici ve alıcı köpekler arasında yapılan kan nakilleri

Kan nakilleri	Verici	Alıcı	
		BC-LD grup	Non-BC-LDgrup
Birinci kan nakli (0.gün)	V1	AD1, AD4, AD7, AD10	A1, A4, A7, A10
	V2	AD2, AD5, AD8, AD11	A2, A5, A8, A11
	V3	AD3, AD6, AD9, AD12	A3, A6, A9, A12
İkinci kan nakli (21. gün)	V4	AD1, AD4, AD7, AD10	A1, A4, A7, A10
	V5	AD2, AD5, AD8, AD11	A2, A5, A8, A11
	V6	AD3, AD6, AD9, AD12	A3, A6, A9, A12

3.3.6.1 Kullanılan malzemeler

- Mavi anjiokat (22 gauge)
- Transfüzyon seti (Cathsen)
- Hassas terazi (Precisa XT 6200)
- Dijital termometre

3.3.6.2 Kan nakillerinin yapılması

Alıcı köpekler, kan naklinin yapılacağı masalara alındı ve anjiokatları takıldı. Kan nakline başlamadan önce, 0. dakikada solunum ve kalp atım sayıları, vücut ısısı ve kapiller dolum zamanı belirlendi. Aynı parametreler, nakilin 10., 20., 30., 60. dakikalarında ve nakili takip eden ilk 6 saate kadar saat başı, kan naklini takip eden 6. saatten 30. saate kadar 12 saatte bir, ardından 42., ve 54. saatlerde kaydedildi. Aynı süreler sırasında hayvanlar kusma, yüzde şişme ve hematüri yönünden gözlemlendi. Kan nakli ilk 30 dakika boyunca 0,5 ml/dak (12 saniyede 1 damla) ardından 2 ml/dak (3 saniyede 1 damla) hızında olmak üzere 6 ml/kg canlı ağırlık dozunda yapıldı.

Bütün kan nakilleri başladıkları saatten itibaren, ortalama 2 saat içinde tamamlandı. Kan nakli biten alıcı köpekler, alışık oldukları bireysel kafeslerine geri konuldu. İdrar rengi ve kusma gibi semptomların rahat gözlenebilmesi amacıyla, alıcı köpeklerin kafeslerine hasta petleri (Hohenhaus 2003) serildi.

3.4 Alıcı köpeklerin immünolojik analizleri

Toplam T lenfosit ve T lenfosit alt tipleri ve B lenfosit yüzde oranları belirlendi. Nötrofiller, fagositoz, kemotaksi ve oksidatif patlama özellikleri yönünden incelendi.

3.4.1 İmmünolojik analizler için kullanılan solüsyonlar ve hazırlanışı

- Paraformaldehit (%1) (Sigma-Aldrich, P6148)
- Fosfat buffer solüsyonu pH=7,4 (PBS) (Sigma)

PBS solüsyonu hazırlamak için, 1 tablet PBS 100 ml distile su içinde çözüldürüldü. PBS üzerine 1 gr paraformaldehit ilave edilip 100°C'de 1 saat kaynatılarak %1'lik paraformaldehit hazırlandı.

3.4.2 İmmünprofil

3.4.2.1 Kullanılan malzemeler

- Heparin antikoagülanlı 10 ml kan örneği
- Flow Sitometri (BD FACS Calibur)
- Santrifüj (Nüve, NF 1000 R)
- 5ml polysteren Flow tüpleri (BD)
- Otomatik pipet
- mAb'lar (Serotec)
- Lyzing bufer (BD 349202)
- %1'lik paraformaldehit (Sigma-Aldrich, P6148)

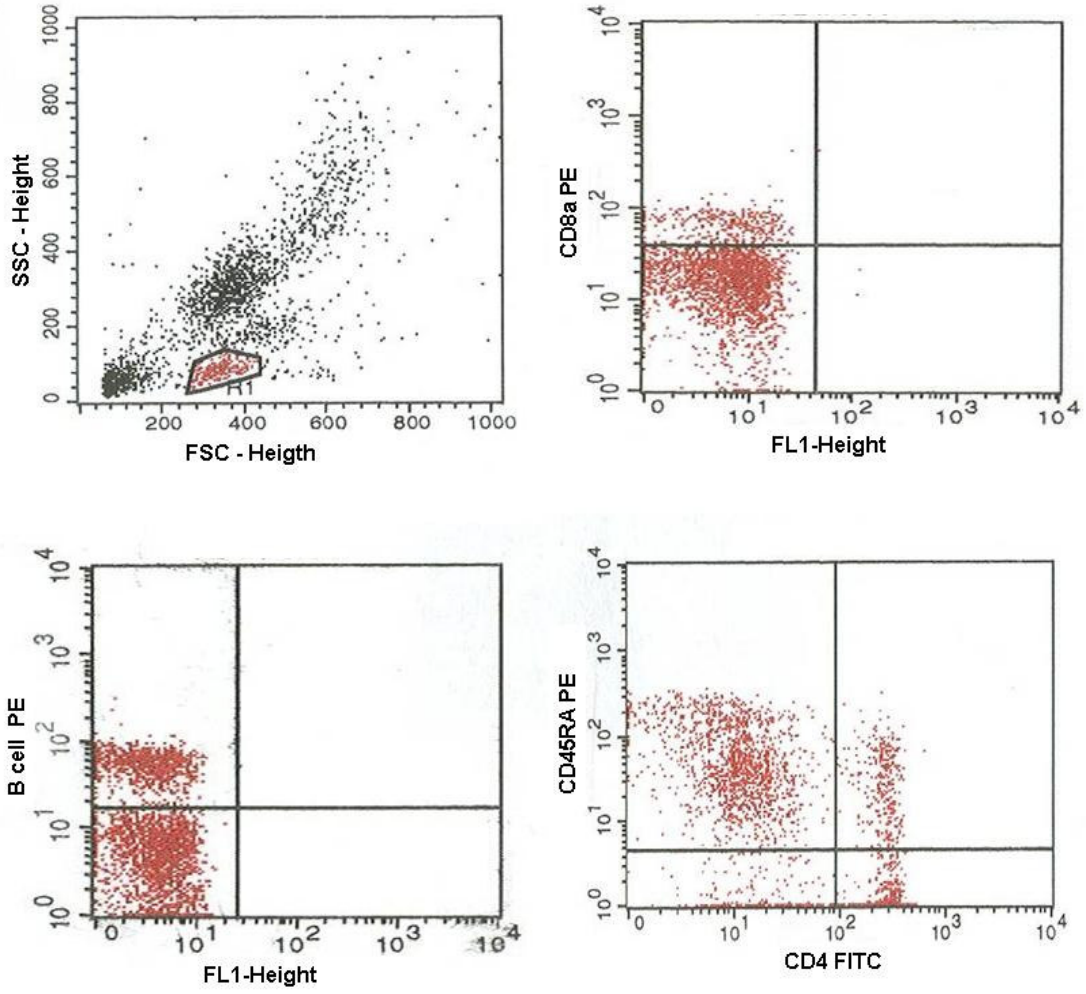
3.4.2.2 Alıcı köpeklerde immünprofil

CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺, CD45RA⁺CD4⁺ ve B lenfosit yüzde oranları, tam kan lizis (TKL) yöntemi ile (Faldyna ve ark. 2001) belirlendi. 100 µl heparinize periferik kan örneği üzerine adı geçen antikorlardan 5 µl eklenerek 20 dakika oda ısısında, karanlıkta inkübe edildi. RBC'leri lize etmek için tüp başına 2 ml Lyzing buffer ilave edildi ve yine karanlıkta, oda ısısında 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyonu takiben hücreler 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası hücre pelleti PBS ile yıkandı ve herbir tüpe, 500 µl %1'lik paraformaldehit ilave edildi.

CD45RA yüzey molekülü için indirekt, diğer yüzey molekülleri direkt boyama tekniği kullanılarak TKL yöntemiyle belirlendi ve % ekspresyonları Facs Calibur cihazında CELLQuestTM kullanarak saptandı. Çalışmada kullanılan fluorescein isothiocyanate (FITC) ve phycoerythrin (PE) konjüge, ticari olarak elde edilen mAb'ların spesifite ve izotipleri Tablo 3-3'de gösterilmiştir. Lenfosit popülasyonları forward - önden (FSC) ve side - yandan (SSC) saçılım özelliklerine göre belirlenmiş (Şekil 3-8) ve floresan işaretli tüpler flow sitometriden geçirilerek, hücre yüzey molekül ekspresyonu % olarak belirlenmiştir.

Tablo 3-3: Yüzey molekülü ekspresyonu tayininde kullanılan mAb'lar

Monoklonal antikor	Spesifitesi	İzotip
Rat IgG2a Negatif kontrol: FITC	Rat mAb IgG2a	IgG2a (rat)
Mouse IgG1 Negatif kontrol: FITC	Mouse mAb IgG1	IgG1 (mouse)
Mouse anti-canine CD3: FITC	Total T lenfosit	IgG1 (mouse)
Rat anti-canine CD4: FITC	Yardımcı T lenfosit	IgG2 (rat)
Rat anti-canine CD8a: RPE	Sitotoksik T lenfosit	IgG1 (rat)
Mouse anti-canine CD45RA	Naif T lenfosit	IgG1 (mouse)
F(ab') ₂ rabbit anti-mouse IgG: RPE (seconder antikor)	Mouse IgG	Mouse IgG
Mouse anti-canine B hücre: RPE	B lenfosit	IgG1 (mouse)



Şekil 3-8: Bir örneğin FSC-SSC, CD8a, B lenfosit ve CD4 ve CD45RA lenfosit popülasyonunun kapılanması

3.4.3 Nötrofil fonksiyon testleri

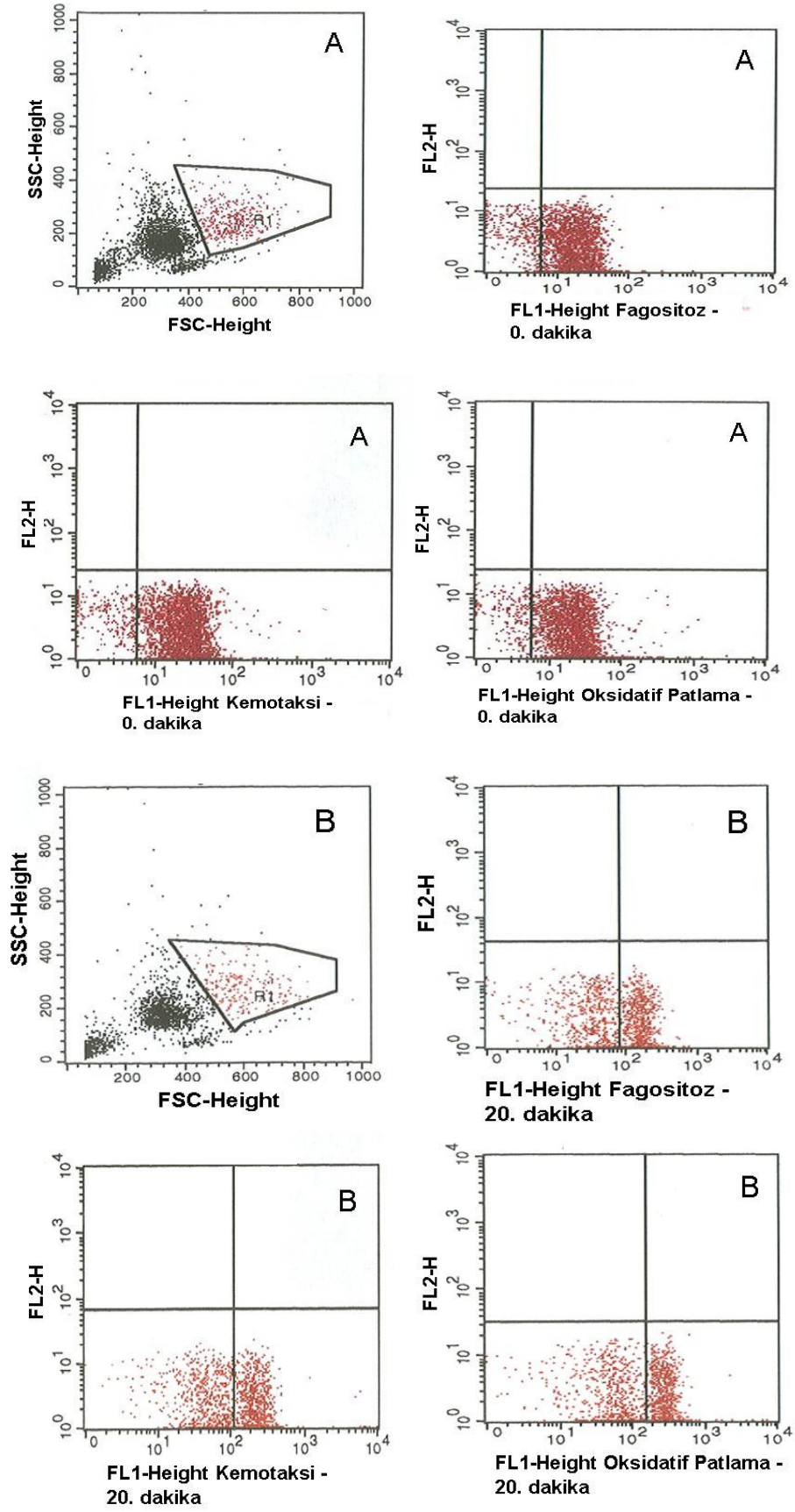
3.4.3.1 Kullanılan malzemeler

- 10 ml Heparin antikoagülanlı kan örneği
- Flow Sitometri (BD FACS Calibur)
- Santrifüj (Nüve, NF 1000 R)
- 5ml polysteren flow tüpleri (BD)
- Otomatik pipet
- Su banyosu (37°C)

- Hystopaque[®]-1077 (Sigma-Aldrich,105K6168)
- Phosphate buffer saline pH=7,4 (PBS) (Sigma)
- *E. coli* (5×10^9) (İ.Ü. Çapa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Abd)
- N-Formyl-Met-Leu-Phe (f-MLP) (1nM/ml) (Fluka, BioChemika 47729)
- Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) (20 µg/ml) (Sigma)

3.4.3.2 Nötrofil fonksiyon test yöntemi

1:2 oranında Hystopaque Ficoll üzerine heparinli (van Eeden ve ark. 1999) tam kan örnekleri yayıldı ve 15-20 dakika oda ısısında bekletildi. Bu sürenin sonunda, RBC'ler üzerinden plazma ile Ficoll interfazı arasında kalan polimorfonükleer lökositler toplandı. Negatif kontrol, fagositoz, kemotaksi ve oksidatif patlama ölçümleri için 4 ayrı tüpe 10 µl dihydro-Rhodamine 123 boyası (10 µg/ml) ve üzerine 20 µl hücre (5×10^4) pipetlendi. Tüpler su banyosunda 20 dakika 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, negatif kontrol, fagositoz, kemotaksi ve oksidatif patlama tüplerine sırasıyla her bir tüpe 10 µl olacak şekilde PBS, *E.coli*, f-MLP ve PMA pipetlendi. Ardından tüpler, 0. ve 20. dakikalarda flow sitometriden geçirilerek, sırasıyla X_1 ve X_2 değerleri saptandı (Şekil 3-9). İki ölçüm arasında tüpler 37°C su banyosunda inkübe edildi. X_2/X_1 oranı ile fagositik indeks hesaplandı (Bilgiç ve ark. 2007).



Şekil 3-9: Nötrofil fonksiyon testleri histogramları (A: 0. ve B: 20. dakika)

3.4.4 Lökosit yüzdelerinin belirlenmesi

3.4.4.1 Kullanılan malzemeler

- 5 ml EDTA antikoagülanlı kan örneği
- May Grünwald solüsyonu
- Giemsa ana eriği
- Distile su
- Lam ve lamel

3.4.4.2 Yöntem

Kan örneklerinden hazırlanan frotiler Papenheim'in Panoptik boyama yöntemiyle boyandı ve ışık mikroskopunda immersiyon objektifiyle sayım yapıldı (Çötelioglu 2002).

3.5 İstatistiksel değerlendirme

İstatistiksel analizler SPSS 13.0 programında yapıldı, minimum önemlilik düzeyi olarak $p \leq 0,05$ kabul edildi. Veri setinin analizi için General Linear Model prosedürü izlendi. Kullanılan istatistik modelde sabit faktör olarak grup (BC-LD ve non-BC-LD), gün (0., 10., 21., 31. ve 42.) ve grup \times gün interaksyonu yer aldı.

4. BULGULAR

4.1 Kangal'larda DEA 1.1 negatiflik düzeyi

Kangal köpeklerde DEA 1.1 negatiflik düzeyi %38,30 oranında saptandı. DEA 1.1 pozitif olan test sonuçlarının %22,41'inde minör aglütinasyon saptandı. Rastgele seçilen Kangal'lardan sadece 2'si *Dirofilaria seropozitif*ti.

4.2 Çapraz karşılaştırma testleri

Her iki nakil öncesinde, major ve minör testlerinde herhangi bir aglütinasyon ve kontrol testlerinde de otoaglütinasyon saptanmayıp, deneyler boyunca alıcı ve verici köpekler arasında yapılan tüm çapraz karşılaştırma testlerinin uyumlu olduğu saptandı. RBC'lerde sadece rulo oluşumu gözlemlendi.

4.3 Kan nakli deneyleri

Kan nakli deneylerine başlamadan önce verici Kangal'ların hemogram ve bazı biyokimyasal parametreleri incelendi, her nakil döneminde hemogram tekrarlandı ve normal sınırlar içerisinde olduğu gözlemlendi. Deneylere başlamadan önce hepsinin aşı programları tamamlandı, kan yoluyla bulaşabilen enfektif hastalıklar açısından seronegatif oldukları kesinleştirildi. Tüm deney dönemi boyunca koruyucu antiparaziter tedaviye devam edildi. Verici Kangal köpekler, mizaç ve vücut ağırlıkları yönünden bir ünite kan vermeye müsait olup, literatürde belirtildiği gibi köpeklerden 3 ay arayla kan toplandı. Tüm kan nakilleri süresince, kan naklinin durdurulmasını gerektirecek herhangi bir transfüzyon reaksiyonu şekillenmediği gibi nakilden sonra 54 saat gözlem altında tutulan alıcılarda, her hangi bir transfüzyon reaksiyonu ile karşılaşılmadı.

4.4 Alıcı köpeklerin immünolojik analizleri

4.4.1 İmmünprofil

Lenfosit yüzey belirteçlerine ait grup, gün ve genel ortalamalar ile ortalamaların standart hataları Tablo 4-1'de, gruplara göre immünprofil karşılaştırması Şekil 4-1'de, T lenfositlerin günlere göre karşılaştırması Şekil 4-2'de, B ve olgunlaşmamış T lenfositlerin günlere göre karşılaştırması Şekil 4-3'de sunulmaktadır. Alıcı köpeklerin immünprofil değerlendirmesinde, gruplar arasında ve grup \times gün interaksiyonunda farklılık saptanmadı.

CD3⁺ T lenfositler, 0. günden 31. güne kadar tedricen azaldı, 31. günde hafif bir artışla 42. gün en düşük seviyeye ulaştı. 42. günkü düzey, 21. gün hariç, diğer tüm günlerle istatistiksel önemde farklı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4-1, Şekil 4-2).

CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ oranı (Tablo 4-1, Şekil 4-2), CD45RA⁺, CD4⁺CD45RA⁺ ekspresyonu ile B lenfosit yüzdeleri günler yönünden anlamlı bir farklılık göstermedi (Tablo 4-1, Şekil 4-3).

4.4.2 Nötrofil fonksiyon testleri

Nötrofil fonksiyon testlerine ait grup, gün ve genel ortalamaları ile ortalamaların standart hataları Tablo 4-2'de, ayrıca nötrofil fonksiyon testlerinin gruplara ve günlere göre karşılaştırması sırasıyla Şekil 4-4 ve Şekil 4-5'de sunulmaktadır. Nötrofil fonksiyon testleri yönünden alıcı köpeklerde gruplar arası, günler ve grup \times gün interaksyonu yönünden bir farklılık saptanmadı.

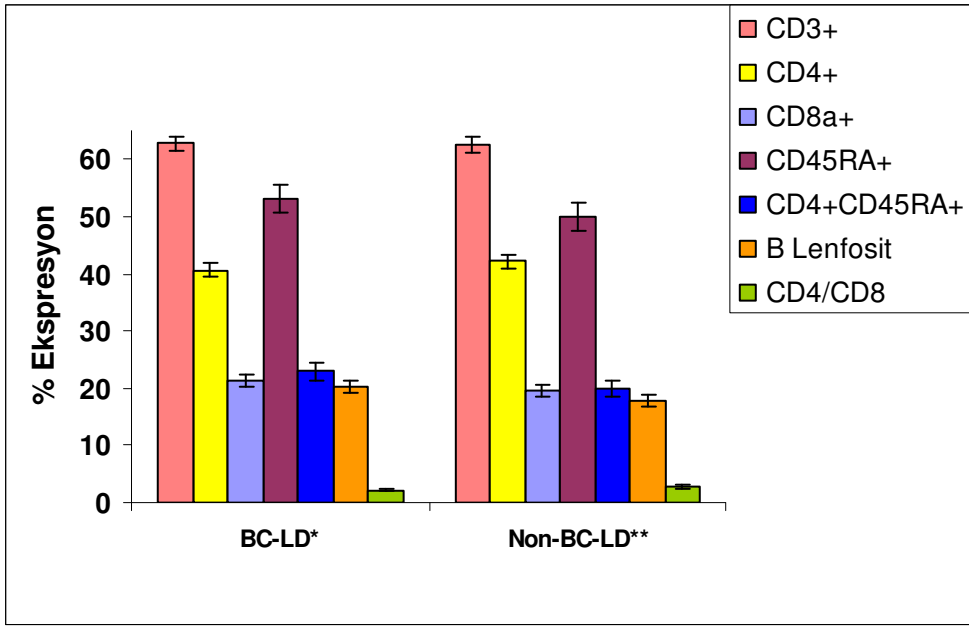
4.4.3 Lökosit tipleri

WBC tiplerine ait grup, gün ve genel ortalamalar ile ortalamaların standart hataları Tablo 4-3'de, ayrıca WBC tiplerinin gruplara ve günlere göre karşılaştırması sırasıyla Şekil 4-6 ve Şekil 4-7'de sunulmaktadır. Çubuk ve parçalı nötrofil, eozinofil ve monosit hücreleri değerlerinde, grup, gün ve grup \times gün interaksyonu yönünden anlamlı bir sonuç saptanmadı.

Lenfositler yüzdeleri, non-BC-LD'lu grupta BC-LD'lu gruba kıyasla belirgin olarak düşük bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4-3, Şekil 4-6). Deneylerde, sadece 4 köpekte 0. günde ve başka bir köpekte 21. günde normal fizyolojik sınırlar içerisinde bazofil hücresine rastlanıldı. 0. gün ile 10., 31. ve 42. günler arasında bazofil değerleri anlamlı bulunmuştur ($p\leq 0,05$) (Tablo 4-3). Deneyler boyunca yapılan natif dışkı muayenelerinde parazit yumurtasına ve olgun parazitlere rastlanılmadı.

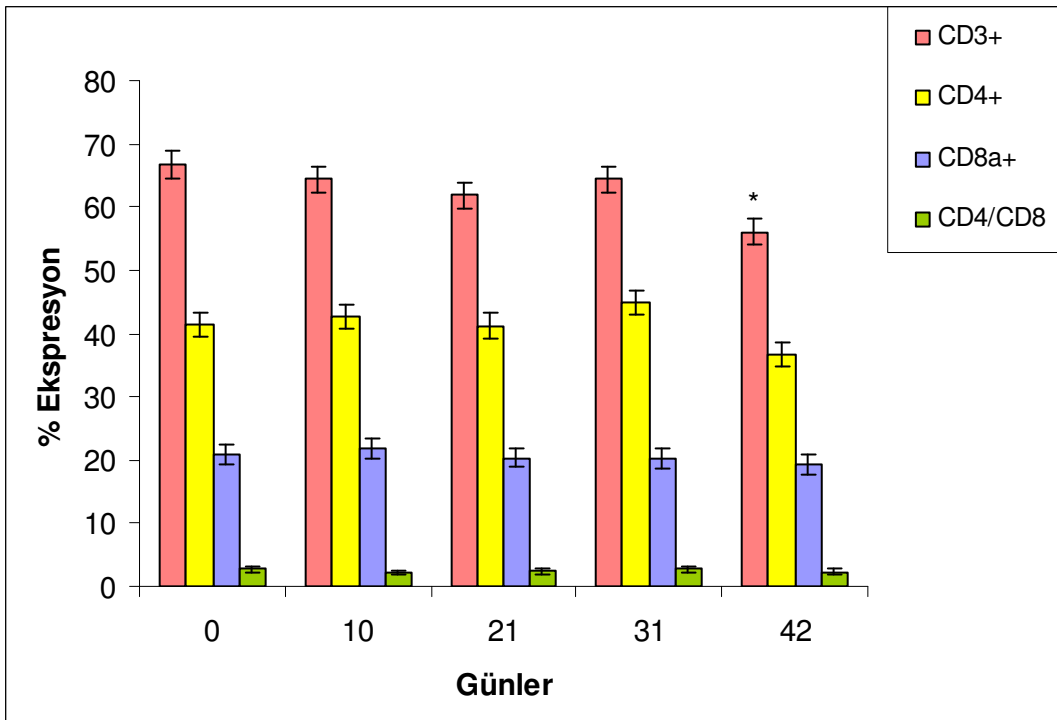
4.5 Deplezyon oranı ve filtre etkinliği

Bu çalışmada %96,45 oranında, 1,4 Log₁₀ düzeyinde WBC deplezyonu elde edildi. Deplezyon etkinliği Şekil 4-8'de logaritmik olarak ve Şekil 4-9'da gruplara göre WBC sayıları gösterilmiştir.



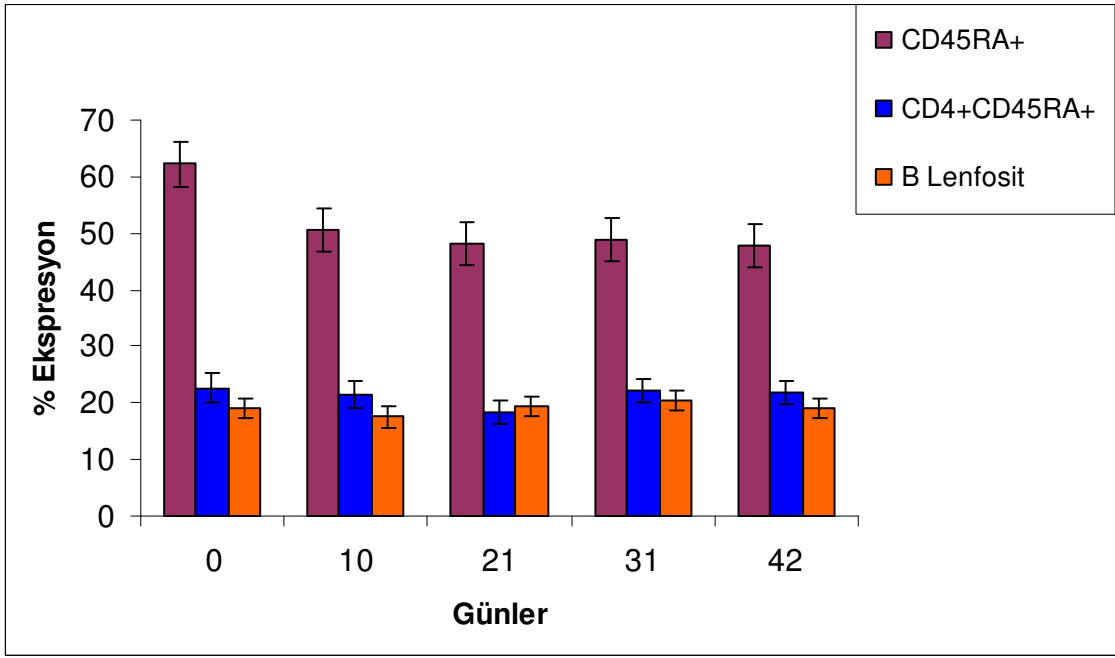
Şekil 4-1: Gruplara göre immünprofil karşılaştırması

(* BC-LD: WBC miktarı azaltılmış, ** Non-BC-LD: WBC miktarı azaltılmamış)

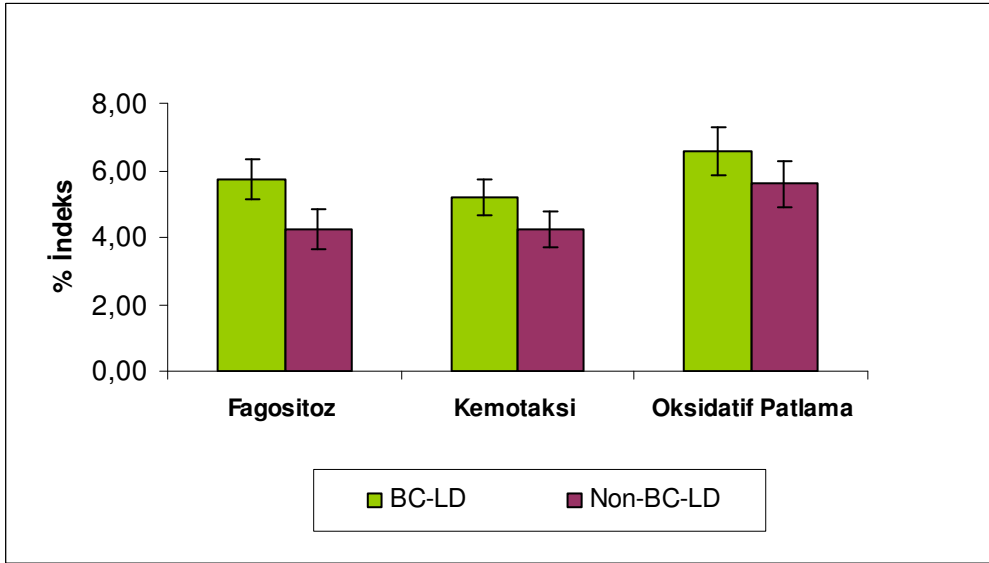


Şekil 4-2: T lenfositlerin günlere göre karşılaştırması

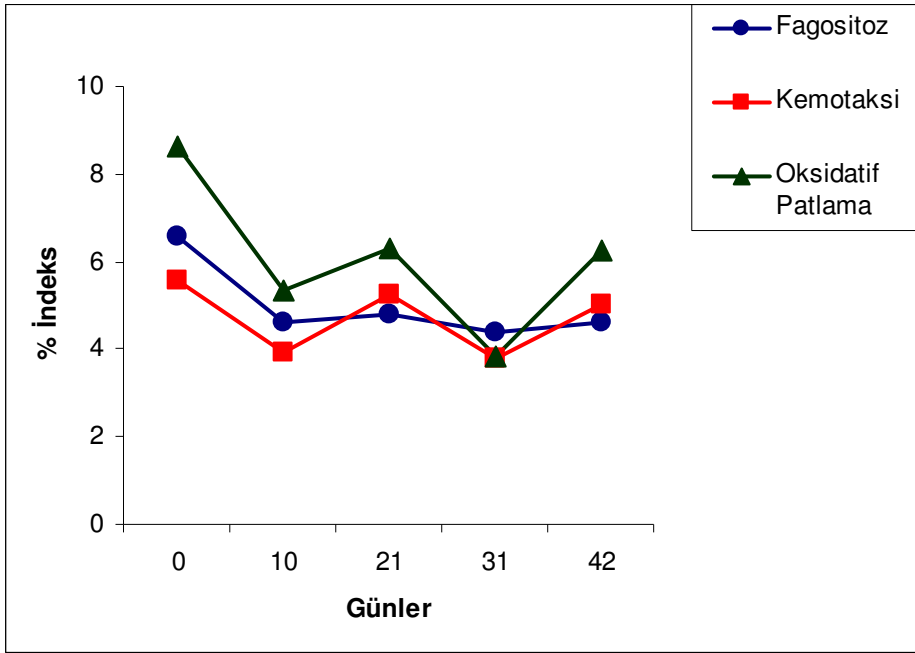
* : $p < 0,05$



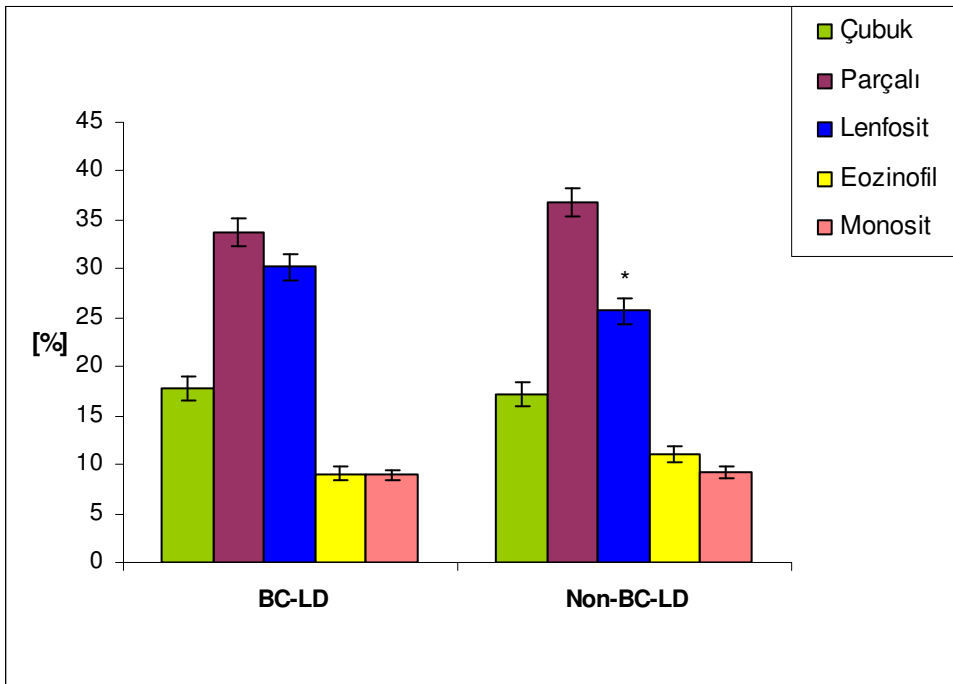
Şekil 4-3: B ve olgunlaşmamış T lenfositlerin günlere göre karşılaştırması



Şekil 4-4: Nötrofil fonksiyon testlerinin gruplara göre karşılaştırması

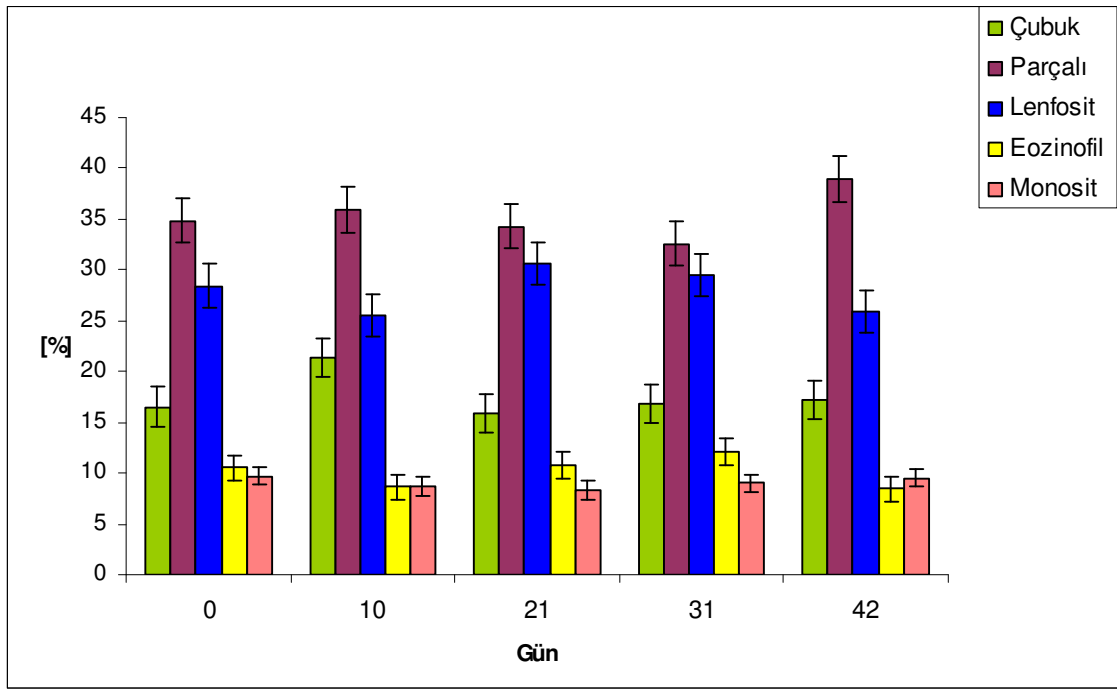


Şekil 4-5: Nötrofil fonksiyon testlerinin günlere göre karşılaştırması

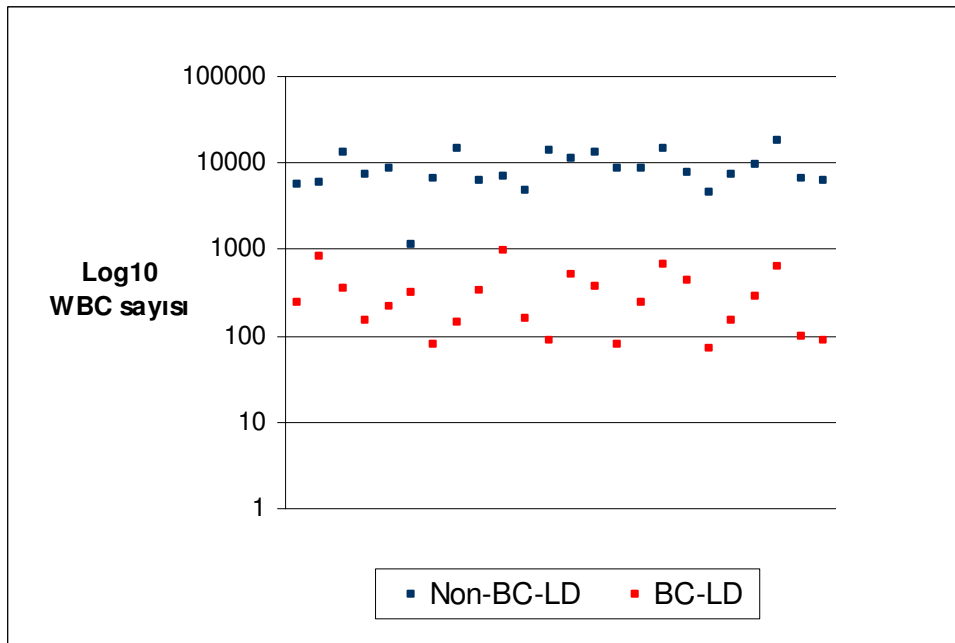


Şekil 4-6: Lökosit tiplerinin gruplara göre karşılaştırması

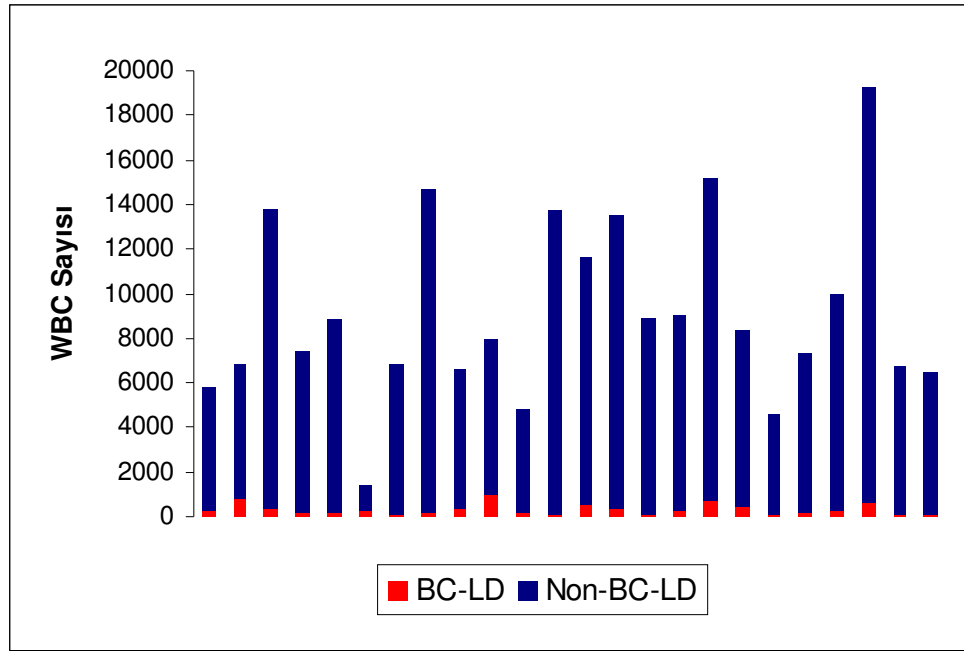
* : $p < 0,05$



Şekil 4-7: Lökosit tiplerinin günlere göre karşılaştırması



Şekil 4-8: Gruplara göre lökosit sayılarının logaritmik ifadesi



Şekil 4-9: Gruplara göre WBC sayıları

Tablo 4-1: Lenfosit yüzey belirteçlerine ait grup, gün ve genel ortalamalar ve ortalamaların standart hatası

Faktör	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD45RA ⁺	CD4 ⁺ CD45RA ⁺	B lenfosit	CD4/CD8	
	(%) (X±SX)	(%) (X±SX)	(%) (X±SX)	(%) (X±SX)	(%) (X±SX)	(%) (X±SX)	(%) (X±SX)	
Grup	BC-LD	62,74 ± 1,35	40,57 ± 1,22	21,39 ± 0,97	53,10± 2,46	22,90 ± 1,44	20,17 ± 1,11	2,24 ± 0,24
	Non-BC-LD	62,59 ± 1,35	42,19 ± 1,22	19,62 ± 0,97	49,99 ± 2,46	19,80 ± 1,44	17,92 ± 1,11	2,75 ± 0,24
Gün	0	66,67 ± 2,13 ^a	41,45 ± 1,93	20,81 ± 1,53	62,23 ± 3,89	22,69 ± 2,47	19,15 ± 1,75	2,74 ± 0,38
	10	64,36 ± 2,13 ^a	42,64 ± 1,93	21,72 ± 1,53	50,65 ± 3,89	21,59 ± 2,47	17,51 ± 1,75	2,26 ± 0,38
	21	61,90 ± 2,13 ^{ab}	41,26 ± 1,93	20,35 ± 1,53	48,11 ± 3,89	18,33 ± 2,14	19,32 ± 1,75	2,41 ± 0,38
	31	64,36 ± 2,13 ^a	44,84 ± 1,93	20,31 ± 1,53	48,86 ± 3,89	22,22 ± 2,14	20,33 ± 1,75	2,74 ± 0,38
	42	56,05 ± 2,13 ^b	36,71 ± 1,93	19,34 ± 1,53	47,87 ± 3,89	21,91 ± 2,14	18,92 ± 1,75	2,34 ± 0,38
Genel	62,67 ± 0,95	41,38 ± 0,86	20,51 ± 0,68	51,54 ± 1,74	21,35 ± 1,02	19,05 ± 0,78	2,50 ± 0,17	

^{a, b} Aynı sütünde farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0,05)

Tablo 4-2: Nötrofil fonksiyon testlerine ait grup, gün ve genel ortalamalar ile ortalamaların standart hatası

Faktör	Fagositoz (%) (X±SX)	Kemotaksi (%) (X±SX)	Oksidatif Patlama (%) (X±SX)	
Grup	BC-LD	5,723 ± 0,607	5,186 ± 0,534	6,570 ± 0,709
	Non-BC-LD	4,257 ± 0,607	4,243 ± 0,534	5,586 ± 0,709
Gün	0	6,572 ± 0,960	5,562 ± 0,844	8,627 ± 1,122
	10	4,594 ± 0,960	3,941 ± 0,844	5,365 ± 1,122
	21	4,786 ± 0,960	5,251 ± 0,844	6,302 ± 1,122
	31	4,396 ± 0,960	3,790 ± 0,844	3,845 ± 1,122
	42	4,600 ± 0,960	5,030 ± 0,844	6,249 ± 1,122
Genel	4,990 ± 0,429	4,715 ± 0,377	6,078 ± 0,502	

Tablo 4-3: Lökosit tiplerine ait grup, gün ve genel ortalamalar ile ortalamaların standart hatası

Faktör	Nötrofil (%)		Lenfosit (%) (X±SX)	Eozinofil (%) (X±SX)	Bazofil (%) (X±SX)	Monosit (%) (X±SX)	
	Çubuk (X±SX)	Parçalı (X±SX)					
Grup	BC-LD	17,85 ± 1,21	33,80 ± 1,41	30,25 ± 1,35 ^a	9,10 ± 0,80	0,08 ± 0,04	8,92 ± 0,55
	Non-BC-LD	17,25 ± 1,21	36,82 ± 1,41	25,73 ± 1,3 ^b	11,07 ± 0,80	0,05 ± 0,04	9,20 ± 0,55
Gün	0	16,54 ± 1,92	34,88 ± 2,23	28,42 ± 2,13	10,50 ± 1,26	0,25 ± 0,07 ^a	9,71 ± 0,88
	10	21,33 ± 1,92	35,88 ± 2,23	25,50 ± 2,13	8,63 ± 1,26	0,00 ± 0,07 ^b	8,67 ± 0,88
	21	15,88 ± 1,92	34,29 ± 2,23	30,67 ± 2,13	10,75 ± 1,26	0,08 ± 0,07 ^{ab}	8,33 ± 0,88
	31	16,79 ± 1,92	32,58 ± 2,23	29,46 ± 2,13	12,13 ± 1,26	0,00 ± 0,07 ^b	9,04 ± 0,88
	42	17,21 ± 1,92	38,92 ± 2,23	25,92 ± 2,13	8,42 ± 1,26	0,00 ± 0,07 ^b	9,54 ± 0,88
Genel		17,55 ± 0,86	35,31 ± 1,00	27,99 ± 0,95	10,08 ± 0,56	0,07 ± 0,03	9,06 ± 0,39

^{a, b} Aynı sütünde farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0,05)

5. TARTIŞMA

5.1 Kangal Irkı köpeklerde DEA 1.1 kan grubu

Erkek kangal köpeklerde, DEA 1.1 negatif kan grubu düzeyi %38,30 olarak saptanmıştır. DEA 1.1 pozitif sonuçların %22,41'inde minör aglütinasyon saptandı. Nitekim Giger ve ark. (2005), DEA 1.1 ve 1.2 antijenlerinin yapısal benzerliğinden kaynaklanan minör aglütinasyonlara işaret etmektedirler. Bu çalışmada DEA 1.1 pozitif popülasyonunun yaygınlığı kart testi kullanımına bağlanabilir.

Uygulanan kan nakilleri hematolojik bir uyumsuzluğa veya akut hemolitik reaksiyonlara yol açmamıştır. Bu, nakillerde DEA 1.1 negatif verici köpeklerin kullanılmış olmasından kaynaklanmakta olup, diğer bildirimlerle uyumludur (Kerl ve Hohenhaus 1993; Giger ve ark. 1995; Battaglia 2001 p. 62). Birinci ve ikinci kan nakillerinden önce yapılan çapraz karşılaştırma testlerinin de hiçbirinde aglütinasyon saptanmamış olması, birinci nakilden sonra alıcı köpeklerin DEA 1.1 antijenine karşı duyarlı hale gelmediklerini göstermektedir.

5.2 Kan nakli ile bulaşan hastalıklar

Bu çalışmada incelenen köpeklerden ikisinin *Dirofilaria* seropozitif olmasının yanı sıra, *Dirofilariasis* (Öncel ve Vural 2005; Toparlak ve ark. 2005), *Ehrlichiosis* (Sancak ve ark. 2002), *Lyme* (Gülanber ve ark. 2007) ve *Leishmaniasis* (Özbel ve ark. 2000; Aslantaş ve ark. 2005; Doğan ve ark. 2006) hastalık etkenlerinin Türkiye'deki varlığının belgelenmiş olması, donör köpeklerin bu hastalıklar yönünden taranmasını zounlu hale getirmektedir (Battaglia 2001 p. 62; Bistner ve ark 2000 p. 579; Prittie 2003; Reine 2004; Wardrop ve ark. 2005). Ayrıca *Leishmania* seropozitif donörlerden kan nakli yapılan alıcılara bu hastalığın nakledildiği belgelenmiştir (Owens ve ark. 2001; Giger ve Schantz 2002). Köpeklerde enfektif hastalıkların kan nakli ile bulaşma riskinin LD ile engellenebileceği belirtilmektedir (Brownlee ve ark. 2000).

5.3 Filtrasyon etkinliği

Oda ısısında en etkili filtre olması (van der Meer ve ark. 1999), insan ile köpek WBC çap büyüklüklerinin benzerliği (Breazil 1971 pp. 215-217; McClintic 1978 p. 281; Yılmaz 2000 p. 96; Çötelioglu 2002), Avrupa standartlarını karşılaması (van der Meer ve ark. 1999; Dzik ve ark. 2000; Avrupa Konseyi Yayınları 2004b p. 103) ve 1

verici köpekten 2 alıcı köpek için biri WBC azaltılmış diğeri azaltılmamış 2 adet kRBC süspansiyonu hazırlanmasına uygun olması nedeniyle çalışmada WBC'lerin azaltılmasında Imugard III RC-4P filtresi kullanılmıştır.

Bu çalışmada, filtre edilmeyen (non-BC-LD) ve edilen (BC-LD) kRBC örneklerinin WBC miktarları karşılaştırıldığında %96,45 ($1,4\text{Log}_{10}$) düzeyinde bir filtrasyon etkinliği saptandı (Şekil 4-8). Imugard III RC-4P filtresi kullanımı ile, insanlarda kan ürünlerinde ortalama 2×10^5 'ten daha düşük seviyelerde WBC kalıntısına rastlanıldığı ifade edilmiş (Terumo b) ve bu bilgi BC azaltılmış kRBC ünitelerin oda ısısında filtrasyonu için doğrulanmıştır (van der Meer ve ark. 1999). Brownlee ve ark. (2000) 4°C'ye soğutulmuş köpek kRBC süspansiyonlarında Sepacell-RS2000 dahili filtre torba sistemi kullanarak %99,99'luk (4Log_{10}) deplezyon düzeyine ulaştıklarını bildirmektedir. Buna karşın, insanlarda 4°C'ye soğutulmuş BC azaltılmış kRBC ünitelerinin Sepacell RZ-200B1 ile filtrasyonunda $3,46\text{Log}_{10}$ (van der Meer ve ark. 1999) düzeyinde deplezyon elde edildiği ifade edilmiştir. Çalışmamızda WBC'lerin sözü edilen literatürlerden daha düşük düzeyde filtre edilmesi, filtrasyonun işlemi (Brownlee ve ark. 2000) ile BC'nin azaltılmış (van der Meer ve ark. 1999) olmasından kaynaklanmış olabilir. Bu araştırmada, BC hattı uzaklaştırılmış ürünlerde elde edilen deplezyon düzeyi ile çalışılmıştır (Roddie ve ark. 2000; Mynster ve ark. 1998; Karger ve Kretschmer 2002; Blumberg 2005).

5.4 Sağlıklı genç melez köpeklerde kan nakillerinin bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri

Literatürde, kan nakli sırasında aktarılan WBC'lerin alıcı köpeklerin bağışıklık sistemi üzerine olan etkilerini araştıran bir çalışma bulunmamış, daha çok kan naklinin insan veya deney hayvanlarında organ nakilleri (Opelz ve Terasaki 1978; Noris ve ark. 1999; Tzimas ve ark. 2004), tümöral olgular (Blumberg ve ark 1986; Blajchman ve ark. 1993; Bordin, Bardossy ve ark. 1994; Mathiesen ve ark. 1998), aort (Haynes ve ark. 2001) ve kalp ameliyatları (van de Watering ve ark. 1998) üzerindeki etkileri ve transfüzyon reaksiyonları (Turner ve Ironside 1998; Lin ve ark. 2002; King ve ark. 2004) incelenmiştir.

Köpeklerde yaş, ırk, cinsiyet gibi faktörlerin ve çeşitli hastalıkların bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerinin incelenmesinde flow sitometri ile immünofenotipleme oldukça yaygın kullanım alanı bulmuştur (Chabanne ve ark. 1995; Dirscherl ve ark.

1995; Greeley ve ark. 1996; Bourdoiseau ve ark. 1997; Byrne ve ark. 2000; Faldyna ve ark. 2001; Heaton ve ark. 2002). İmmunfenotipleme tekniklerinin köpeklerde T ve B hücre lenfoma teşhis ve prognozunda da kullandığı belirtilmektedir (Winnicka ve ark. 2002; Miniscalco ve ark. 2003; Sözman ve ark. 2005; Guija de Arespachaga ve ark. 2007). Nitekim, periferik kandaki lenfositlerin, mAb'lar ve flow sitometri ile fenotipik olarak değerlendirilmesi, multiparametrik, kalitatif ve kantitatif bir teknik olarak ileri sürülmektedir (Byrne ve ark. 2000). Çalışmamızda lenfosit alt tiplerini belirlemek için tercih edilen TKL yöntemi, küçük hayvan hekimliğinde toplanılabilen kan hacminin sınırlı olmasından dolayı tercih edilmiştir (Faldyna ve ark. 2001).

Çalışmada alıcı olarak seçilen melez erkek köpeklerin 1-3 yaş arasında olmalarına özen gösterilmiştir. Nitekim, Labrador retriever ırkı köpeklerde yaşın hücresel bağışıklık sistemi üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalarda, yaşın ilerlemesiyle toplam T (CD3⁺) ve CD8⁺ sitotoksik T lenfosit yüzdelерinin arttığı (Greeley ve ark., 1996; Heaton ve ark. 2002), B lenfosit yüzdelерinin ise azaldığı saptanmıştır (Greeley ve ark. 1996). Buna karşın, Beagle ırkı köpeklerde, CD3⁺ lenfosit yüzdelерinde, artan yaş ile herhangi bir değişim saptanmamıştır (Byrne ve ark. 2000; Faldyna ve ark. 2001). Greeley ve ark. (1996) ile Byrne ve ark. (2000), ırk farklılığına rağmen, B lenfosit oranının yaş ile azaldığı konusunda birbirini desteklemektedir. Ayrıca Greeley ve ark. (1996) aynı çalışmada, ilerleyen yaş ile mitojen cevabın erkek köpeklerde dişilere nazaran daha etkin olduğunu da vurgulamaktadır.

Bu çalışmada, CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺, CD4⁺CD45RA⁺ ve B lenfosit yüzdelерinde günler yönünden bir farklılık saptanmamış (Tablo 4-1, Şekil 4-2 ve 4-3), keza CD4/CD8 oranında da bir değişim görülmemiştir.

1,4Log₁₀ (%96,45) düzeyinde yapılan LD (Şekil 4-8) ile aktarılan kRBC ürünü, alıcılarda CD3, CD4, CD8, CD45RA, CD4CD45RA molekül ekspresyonu, B lenfosit yüzdesi ve CD4/CD8 oranı yönünden gruplar (BC-LD ve non-BC-LD) arasında bir değişikliğe neden olmamıştır (Tablo 4-1, Şekil 4-1). Sonuçlarımız, immünprofilde WBC'lere bağlı zararlı etkilerin oluşmadığını desteklemektedir. Buna karşın araştırılan süre içerisinde, BC-LD grubuna oranla non-BC-LD grubuna dahil alıcı köpeklerin lenfosit yüzdesinde saptanan düşüş (Tablo 4-3, Şekil 4-6), non-BC-LD grubunda aktarılan WBC'lerin alıcı lenfosit yüzdesinde bir baskılanmaya neden olduğunu göstermektedir. Ayrıca, CD3⁺ T lenfosit yüzdesinin zamana bağlı azalma gösterdiği

belirlenmiştir (Tablo 4-1, Şekil 4-2). CD3 ekspresyonunun 1. kan naklinden sonra, 31. gün hariç sürekli bir azalma gösterdiği, 42. günde ise en düşük seviyeye indiği görülmekte dolayısıyla, kan nakli yapılan köpeklerde T lenfosit yüzdesinin zamana ve nakil sayısına bağlı olarak azaldığı ileri sürülebilir. Nakil sonrası incelenen sürenin uzatılması immünsuppresif etkilerin daha belirgin olarak ortaya çıkmasına neden olabilir. Nitekim insanlarda LD yapılmamış ve BC azaltılmış kan nakli karşılaştırmasında, immünsuppresif etkilerin 6 ay sonra devam ettiği saptanmıştır (Mathiesen ve ark. 1998). Ayrıca bir çok çalışmada, uygulanan ünite sayısının artmasıyla kan naklinin immünsupressif etkisinin daha belirgin olarak gözlenmesi (Opelz ve Terasaki 1978; Vamvakas ve Carven 1998; van de Watering ve ark. 1998), çalışmamızda ikinci nakilden sonra 42. günde elde edilen CD3⁺ T lenfosit yüzdesinin azalmasını açıklamaktadır. Dolayısıyla, sağlıklı köpeklerde kan nakli sayısının artırılması ile immünsupresyonun daha belirgin bir hale gelebileceği söylenebilir.

Literatürde sağlıklı köpeklerin CD4⁺CD45RA⁺ molekül ekspresyonlarına dair bilgi bulunamamaktadır. Bu nedenle bu parametrelere ait elde edilen veriler sağlıklı 1-3 yaş arası erkek melez köpekler için referans değer olarak kabul edilebilir.

Farklı çalışmalarda (Chabanne ve ark. 1995; Dirscherl ve ark. 1995; Greeley ve ark. 1996; Faldyna ve ark. 2001) ortalama yaşları 2,4-5,5 arasında olan köpeklerin CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺, B hücre yüzdeleri ile bu çalışmadaki 0. gün (Tablo 4-1, Şekil 4-2 ve 4-3) değerleri arasında benzerlik bulunmaktadır. Bu çalışmada, elde edilen genel CD4⁺ yardımcı T lenfosit yüzdeleri, melez köpeklerde TKL yöntemiyle lenfosit popülasyonu dağılımını inceleyen Byrne ve ark.'ın (2000) sonuçları ile aynı doğrultuda olup, CD3⁺, CD8⁺ ve B lenfosit yüzdeleri daha düşük bulunmuştur. Bu farklılıklar kullanılan mAb'ların klon ve kaynağı, incelenen hayvanların ırk ve yaşı, protokol ve analiz yöntemlerine bağlanabilir (Byrne ve ark. 2000). CD4/CD8 oranının grup, gün ve genel ortalamalara ait tüm sonuçlar köpeklerle yapılan çalışmaların kontrol kollarında saptanan değerlerle örtüşmektedir (Chabanne ve ark. 1995, Dirscherl ve ark. 1995, Greeley ve ark. 1996, Faldyna ve ark. 2001). Nitekim, CD4⁺ veya CD8⁺ T lenfosit yüzdelerinde bu oranı değiştirecek kadar önemli değişimler şekillenmemiştir.

Köpeklerde, hastalıkların bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri incelendiğinde, bazı hastalıklarda CD4⁺ yardımcı T lenfosit düzeyinin azaldığı ancak CD8⁺ sitotoksik T lenfosit yüzdesinin arttığı dolayısıyla CD4/CD8 oranının azaldığı, B lenfosit yüzdesinin

ise azaldığı (Chabanne ve ark. 1995; Caswell ve ark. 1997; Bourdoiseau ve ark. 1997; Guglielmino ve ark. 2004), viral etkenlerde CD4⁺, CD8⁺ ve B lenfosit yüzdelерinin azaldığı (Schobesberger ve ark. 2005), kanser vakalarında ise CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfosit yüzdelерinin azaldığı buna karşın B lenfosit yüzdesinin arttığı saptanmıştır (Winnicka ve ark. 2002). Kanser vakalarında kan ürünleri kullanımının desteklendiği de düşünöldüğünde (Rudloff 1995; Hohenhaus 2003) bağışıklık sisteminde gözlenen bu değışimlerin, bir çok hastalık durumunda gözlenebileceği ve kan nakli ile additif etki göstererek bağışıklık sisteminin daha çok baskılanabileceğini düşündürmektedir. Nitekim, alıcıların sağlık durumunun, kan nakline karşı gelişecek immun cevapta kritik bir rol oynayacağı belirtilmektedir (Semple 2004).

İkinci kan naklinden 10 gün sonra yapılan 31. gün ölçümünde CD3, CD4, CD45RA, CD4CD45RA molekül ekspresyonlarında anlamlı olmamakla birlikte bir artış gözlenmiştir (Tablo 4-1, Şekil 4-2 ve 4-3). T lenfosit belirteçlerindeki artış, alıcı köpeklerin 2. kan nakline karşı oluşan geçici hücresele bir tepki olabileceği gibi (Mathiesen ve ark. 1998), ikinci kan naklinden sonra aktarılan donör WBC'lerin proliferasyonundan da kaynaklanabileceği düşünölmektedir (Lee ve ark. 1995).

Bazofil hücreleri yüzde ortalamalarında 0. günde, 21. gün hariç diğer günlere göre saptanan anlamlı artış normal fizyolojik sınırlar (Çöteliöglü 2002) içerisinde bulunmuştur (Tablo 4-3).

Sunulan bu çalışmada, fagosit fonksiyonlarının değerdirmesinde, WBC miktarı azaltılmış (BC-LD) ve azaltılmamış (non-BC-LD) kan nakli uygulamasında fagositoz, kemotaksi ve oksidatif patlama özelliklerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 4-2 ve Şekil 4-4 ve 4-5). Fagositoz özelliği birinci kan naklinden sonra azalmış, kemotaksi oranları 0. güne kıyasla dalgalanmalar göstermiş, her kan naklinden sonra azalmış fakat her iki kan naklinden 21 gün sonra (21. ve 42. günler) tekrar 0. gün değerine yaklaşmıştır. Oksidatif patlama ise, 0. güne kıyasla, her kan naklinden 10 gün sonra (10. ve 31. günler) azalmış fakat sonra (21. ve 42. günlerde) tekrar artmıştır (Şekil 4-5). Sonuçlar arasında bir anlam bulunmayışı, 1,4Log₁₀ düzeyinde yapılan depresyonun sağlıklı köpeklerin nötrofil fonksiyon testlerinde bir değışime neden olmadığını göstermektedir. Ancak bu düzeyde BC-LD yapılan kan ürünlerinin hasta hayvanlara nakledilmesiyle nötrofil fonksiyonlarının farklı sonuçlar gösterebileceği gözardı edilmemelidir.

5.5 Sonuç

Bu çalışmada Kangal ırkı köpeklerde DEA 1.1 negatiflik oranı %38,30 olarak saptanmıştır. DEA 1.1 kan grubunun, Türkiye’de yetiştirilen tüm Kangal ırkı köpek popülasyonunda, cinsiyeti de bir faktör olarak değerlendirerek daha geniş kapsamda incelenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir. DEA 1.1 pozitif köpeklerin %22,41’inde minör aglütinasyon saptanmıştır. Bu nedenle Kangalların DEA 1.2, 3, 4, 5 ve 7 gibi diğer kan grupları açısından da incelenmeleri universal donör olup olmadıklarının belirlenmesinde etkili olacaktır.

Sunulan çalışmada, sağlıklı köpeklerde kan naklinin immünite üzerindeki etkileri incelenmiştir. Nitekim hastalık durumunda kan nakline karşı gelişen immün cevabın niteliğini anlayabilmek için öncelikle sağlıklı hayvanlarda gözlenmesinin önemi büyüktür.

kRBC nakli yapılan sağlıklı alıcılarda CD3⁺ ve WBC tiplerinden lenfosit yüzdeleri hariç incelenen parametreler yönünden belirgin bir immüsupresyon gözlenmemiştir. Çalışma bulguları, BC-LD’lu AKN’nin sağlıklı köpeklerde yoğun bir immüsupresif etkisinin olmadığını göstermektedir. Ancak, sağlıklı köpeklerde non-BC-LD, BC-LD ve LD’lu nakillerin karşılaştırmalı olarak yapılması olası immünmodülasyonun anlaşılmasında yarar sağlayacaktır.

Bunun yanısıra bu çalışma, kan nakli yapılan hasta hayvanların immünomodülasyon yönünden incelenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Nitekim, hastalık halinde bağışıklık sisteminin fizyolojik sınırlar dışında çalıştığı varsayılırsa, hasta köpeklerde yapılan kan nakillerinin bağışıklık sistemi üzerinde yaratacağı immünomodülasyonun farklı sonuçlar doğuracağı olasıdır. Bu nedenle, sunulan bulguların hasta köpeklerde yapılan kan nakli ile bağışıklık sistemi arasındaki ilişkinin saptanmasına yönelik yapılacak diğer çalışmalara yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- AABB Technical Manuel, (2005a). Brecher, M.E. (ED). Allogeneic donor selection and blood collection. (15th ed.) Bethesda, Maryland, 97-115.
- AABB Technical Manuel, (2005b). Brecher, M.E. (ED) Blood component testing and labeling. (15th ed.) Bethesda, Maryland, 163-174.
- AABB Technical Manuel, (2005c). Brecher, M.E. (ED) Blood transfusion practice. (15th ed.) Bethesda, Maryland, 483-519.
- AABB Technical Manuel, (2005d). Brecher, M.E. (ED) Collection, preparation, storage, and distribution of components from whole blood donations. (15th ed.) Bethesda, Maryland, 175-201
- AABB Technical Manuel, (2005e). Brecher, M.E. (ED) Neonatal and pediatric transfusion practice. (15th ed.) Bethesda, Maryland, 557-580.
- AABB Technical Manuel, (2005f). Brecher, M.E. (ED) Pretransfusion screening. (15th ed.) Bethesda, Maryland, 407-421.
- Abrams-Ogg, A.C.G., Kruth, S.A., Carter, R.F., Valli, V.E., Kamel-Reid, S. ve Dubé, I.D. (1993). Preparation and transfusion of canine platelet concentrates. *American Journal of Veterinary Research*, **54**, 635-642.
- Ariga, H., Lee, T.H., Laycock, M.E., Mohr, B.A. Kalish, L.A., Yomtovian, R. ve ark. (2003). Residual WBC subsets in filtered prestorage RBCs. *Transfusion*, **43**, 98-106.
- Aslantaş, Ö., Özdemir, V., Kılıç, S. ve Babür, C. (2005). Seroepidemiolgy of leptospirosis, toxoplasmosis, and leishmaniosis among dogs in Ankara, Turkey. *Veterinary Parasitology*, **129**, 187-191.
- Avrupa Konseyi Yayınları, (2004a). Kriyopresipitat. İçinde: *Kan komponentleri hazırlama, kullanım ve kalite kontrol güvencesi rehberi*. (9. Ed) İstanbul Türkiye, 133-136.
- Avrupa Konseyi Yayınları, (2004b). Lökositi azaltılmış eritrositler. İçinde: *Kan komponentleri hazırlama, kullanım ve kalite kontrol güvencesi rehberi*. 9.Baskı. İstanbul Türkiye, 103-106
- Avrupa Konseyi Yayınları, (2004c). Taze donmuş plazma. İçinde: *Kan komponentleri hazırlama, kullanım ve kalite kontrol güvencesi rehberi*. 9.Baskı. İstanbul Türkiye, 127-132.

- Avrupa Konseyi Yayınları, (2004d). Trombositler: Tam kandan. İçinde: *Kan komponentleri hazırlama, kullanım ve kalite kontrol güvencesi rehberi*. 9.Baskı. İstanbul Türkiye, 115-120.
- Bae, S.Y., Lee, C.H., Kim, J.S., Lim, C.S., Lee, C.K., Lee, K.N ve ark. (2007). Portable microscopic cell counter for the determination of residual leucocytes in blood components. *Vox Sanguinis*, **92**, 64-68.
- Bansal, D. ve Marwaha, R.K. (2001). Transfusion reactions. *Indian Journal of Pediatrics*, **68**, 133- 139.
- Battaglia, A.M. (2001) (Ed). Small animal transfusion medicine. İçinde: *Small Animal Emergency and Critical Care: A Manuel for the Veterinary Technicians*. WB Saunders Company, Philadelphia, USA, 57-71.
- Bilgiç, S., Aktaş, E., Salman, F., Erşahin, G., Erten, G., Yılmaz, M.T. ve Deniz, G. (2007). Intracytoplasmic cytokine levels and neutrophil functions in early clinical stage of type 1 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, (2007), doi: 10.1016/j.diabres. 2007.06.001 (Basım Aşamasında) Erişim Tarihi (29.10.2007)
- http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T5Y-4PG2RPN-1&_user=747273&_coverDate=08%2F20%2F2007&_alid=656026363&_rdoc=1&_fmt=full&_orig=search&_cdi=5015&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_ct=4&_acct=C000041838&_version=1&_urlVersion=0&_userid=747273&_md5=d6f4175da763c39b72099ad598223707
- Bistner, S.I., Ford, R.B. ve Raffle, M.R. (2000) (Eds). Blood component therapy. İçinde: *Handbook of Veterinary Procedures and Emergency Treatment*. (7th ed). WB Saunders Company, Philadelphia, USA, 571-582.
- Blais, M.C., Berman, L., Oakley, D.A. ve Giger, U. (2007). Canine Dal blood type: A red cell antigen lacking in some Dalmatians. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **21**, 281-286. (Abstrakt, Pubmed, PMID: 17427389) Erişim Tarihi (15.10.2007)
- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=17427389&ordinalpos=2&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum

- Blajchman, M.A. (1997). Allogeneic blood transfusions, immunomodulation, and postoperative bacterial infection: Do we have the answers yet? *Transfusion*, **37**, 121-125.
- Blajchman, M.A. (2006). The clinical benefits of the leukoreduction of blood products. *Journal of Trauma*, **60**, S83-S90.
- Blajchman, M.A. ve Hébert, P.C. (2001). Red blood cell transfusion strategies. *Transfusion Clinique et Biologique*, **8**, 207-210.
- Blajchman, M.A., Bardossy, L., Carmen, R., Sastry, A. ve Singal, D.P. (1993). Allogeneic blood transfusion-induced enhancement of tumor growth: Two animal models showing amelioration by leukodepletion and passive transfer using spleen cells. *Blood*, **81**, 1880-1882.
- Blumberg, N. (2005). Deleterious clinical effects of transfusion immunomodulation: Proven beyond a reasonable doubt. *Transfusion*, **45** (supplement), 33S-39S.
- Blumberg, N., Heal, J.H., Murphey, P., Agarwal, M.M. ve Chuang, C. (1986). Association between transfusion of whole blood and recurrence of cancer. *British Medical Journal*, **293**, 530-533.
- Bontadini, A., Fruet, F. ve Conte, R. (1997). A new tool in white blood cell reduction for packed red blood cells: 5 Log depletion. *Transfusion Medicine*, **7**, 29-32.
- Bontadini, A., Tazzari, P.L., Manfroi, S., Tassi, C. ve Conte, B. (2002). Apoptosis in leukoreduced packed red blood cells. *Vox Sanguinis*, **83**, 35-41.
- Bordin, J.O., Bardossy, L. ve Blajchman, M.A. (1994). Growth enhancement of established tumors by allogeneic blood transfusion in experimental animals and its amelioration by leukodepletion: The importance of timing of the leukodepletion. *Blood*, **84**, 344-348.
- Bordin, J.O., Heddle, N.M. ve Blajchman, M.A. (1994). Biological effects of leukocytes present in transfused cellular blood products. *Blood*, **84**, 1703-1721.
- Bourdoiseau, G., Bonnefont, C., Magnol, J.P., Saint-André, I. ve Chabanne, L. (1997). Lymphocyte subset abnormalities in canine leishmaniasis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **56**, 345-351.
- Brand, A. (2002). Immunological aspect of blood transfusion. *Transplant Immunology*, **10**, 183-190.

- Breazil, J.E. (1971). Blood. İçinde: *Textbook of Veterinary Physiology*. Breazil, J.E. (Ed). Lea & Febiger Copyright, Philadelphia. 215-217.
- Bronwlee, L., Wardrop, K.J., Sellon, R.K. ve Meyers, K.M. (2000). Use of prestorage leukoreduction filter effectively removes leukocytes from canine whole blood while preserving red blood cell viability. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **14**, 412-417.
- Brooks, M. ve Catalfamo, J.L. (2005). Platelet disorders and von Willebrand disease. İçinde: *Textbook of Veterinary Internal Medicine Diseases of the Dog and Cat*. Ettinger, S.J. ve Feldman, E.C. (Eds) (6th ed.) Elsevier Saunders, Missouri; 1918-1933.
- BSAVA's Scientific Committee (2000). Blood transfusion. BSAVA News, *Journal of Small Animal Practice*, **41**, 431-434.
- Byrne, K.M., Kim, H.W., Chew, B.P., Reinhart, G.A. ve Hayek, M.G. (2000). A standardized gating technique for the generation of flow cytometry data for normal canine and normal feline blood lymphocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **73**, 167-182.
- Capraro, L., Kuitunen, A., Vento, A.E., Suojaranta-Ylinen, R., Kolho, E. ve Pettila, V. (2007). Universal leukocyte reduction of transfused red cells does not provide benefit to patients undergoing cardiac surgery. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, **21**, 232-236.
- Caswell, J.L., Yager, J.A., Parker, W.M. ve Moore, P.F. (1997). A prospective study of immunophenotype and temporal changes in the histologic lesions of canine demodicosis. *Veterinary Pathology*, **34**, 279-287.
- Chabanne, L., Marchal, T., Denerolle, P., Magnol, J.P., Fournel, C., Monier, J.C. ve ark. (1995). Lymphocyte subset abnormalities in German shepherd dog pyoderma (GSP). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **49**, 189-198.
- Chiaromonte, D. (2004). Blood-component therapy: Selection, administration and monitoring. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, **19**, 63-67.
- Claas, F.H.J., Roelen, D.L., van Rood, J.J. ve Brand, A. (2001). Modulation of the alloimmune response by blood transfusions. *Transfusion Clinique et Biologique*, **8**, 315-317.
- Coe Clough, N. ve Roth, J.A. (1998) (EDs). Understanding Immunology. Mosby's Biomedical Science Series, St. Louis, Missouri, U.S.A.

- Çötelioglu (2002). Pratik Fizyoloji Ders Notları. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Masafüstü Yayıncılık Ünitesi.
- de Freitas, E., Melo, M.N., da Costa-Val, A.P. ve Michalick, M.S.M. (2006). Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: Potential for infection and importance of clinical factors. *Veterinary Parasitology*, **137**, 159-167.
- De Gopegui, R.R. ve Feldman, B.F. (1995). Use of blood and blood components in canine and feline patients with hemostatic disorders. İçinde: Canine and Feline Transfusion Medicine, Kristensen, A.T. ve Feldman, B.F. (Eds), *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, **25**, 1387-1402.
- Dirscherl, P., Beisker, W., Kremmer, E, Mihalkov, A., Voss, C. ve Ziesenis, A. (1995). İmmunophenotyping of canine bronchoalveolar and peripheral blood lymphocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **48**, 1-10.
- Doğan, N., Özbel, Y., Toz Özensoy, S., Dinleyici, E. Ç. Ve Bor, Ö. (2006). Sero-epidemiological survey on canine visceral leishmaniasis and the distribution of sandfly vectors in northwestern Turkey: Prevention strategies for childhood visceral leishmaniasis. *Journal of Tropical Pediatrics*, **52**, 212-217.
- Dzik, S., Aubuchon, J., Jeffries, L., Kleinman, S., Manno, C., Murphey, M.F. ve ark. (2000). Leukocyte reduction of blood components: Public policy and new technology. *Transfusion Medicine Reviews*, **14**, 34-52.
- Faldyna, M., Leva, L., Knötigova, P. ve Toman, M. (2001). Lymphocyte subsets in peripheral blood of dogs- a flow cytometric study. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **82**, 23-37.
- Feldman, B. F. (1999). In-house canine and feline blood typing. *Journal of the American Animal Hospital Association*, **35**, 455-456.
- Feldman, B.F. ve Kristensen, A.T. (1995). Modern veterinary blood banking practices and their applications in companion animal practice. İçinde: Canine and Feline Transfusion Medicine, Kristensen, A.T. ve Feldman, B.F. (Eds), *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, **25**, 1231-1243.
- Fergusson, D., Hebert, P. ve Shapiro, S. (2002). The before/after study in transfusion medicine: Methodologic considerations. *Transfusion Medicine Reviews*, **16**, 296-303.

- Giger, U. ve Schantz, P. (2002). *Leishmania donovani* transmission by packed RBC transfusion to anemic dogs in the United States. *Transfusion*, **42**, 381-383.
- Giger, U., Gelens, C.J., Callan, M.B. ve Oakley, D.A. (1995). An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1 incompatibility in previously sensitized dog. *Journal of American Veterinary Medical Association*, **206**, 1358-1362.
- Giger, U., Stieger, K. ve Palos, H. (2005). Comparison of various canine blood-typing methods. *American Journal of Veterinary Research*, **66**, 1386-1392.
- Gonzalez, A.M., Yazıcı, İ., Kusza, K. ve Sieminow, M. (2007). Effects of fresh versus banked blood transfusions on microcirculatory hemodynamics and tissue oxygenation in the rat cremaster model. *Surgey*, **141**, 630-609.
- Greeley, E.H., Kealy, R.D., Ballam, J.M., Lawler, D.F. ve Segre, M. (1996). The influence of age on the canine immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **55**, 1-10.
- Griot-Wenk, M.E. ve Giger, U. (1995). Feline transfusion medicine. Blood types and their clinical importance. İçinde: Canine and Feline Transfusion Medicine, Kristensen, A.T. ve Feldman, B.F. (Eds), *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, **25**, 1305-1322.
- Guglielmino, R., Miniscalco, B., Tarducci, A., Borgarelli, M., Riondata, F., Zini, E. ve ark. (2004). Blood lymphocyte subsets in canine idiopathic pericardial effusion. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **98**, 167-173.
- Guija de Arespachaga, A., Schwendenwein, I. Ve Weissenböck, H. (2007). Retrospective study of 82 cases of canine lymphoma in Austria based on the working formulation and immunophenotyping. *Journal of Comparative Pathology*, **136**, 186-192.
- Gülanber, E.G., Gülanber, A., Albayrak, R., Gülanber, N.G. ve Polat, E. (2007). Lyme disease (Borreliosis) in a Saint Bernard dog: first clinical case in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, **31**, 1-3.
- Guyton, A.C. ve Hall, J.E. (2000). (Eds) Resistance of the body to infections: II. Immunity and allergy. İçinde: *Textbook of Medical Physiology*. (10th ed) W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA, 402-412.
- Hale, A.S. (1995). Canine blood groups and their importance in veterinary transfusion medicine. İçinde: Canine and Feline Transfusion Medicine,

- Kristensen, A.T. ve Feldman, B.F. (Eds), *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, **25**, 1323-1332.
- Harrell, K.A. ve Kristensen, A.T. (1995). Canine transfusion reactions and their management. İçinde: *Canine and Feline Transfusion Medicine*, Kristensen, A.T. ve Feldman, B.F. (Eds), *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, **25**, 1333-1364.
- Haynes, S.L., Wong, J.C.L., Torella, F., Dalrymple, K., Pilsworth, L. ve McCollum, C.N. (2001). The influence of homologous blood transfusion on immunity and clinical outcome in aortic surgery. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, **22**, 244-250.
- Heaton, P.R., Blount, D.G., Devlin, P., Koelsch, S., Mann, S.J., Smith, B.H.E. ve ark. (2002). *Journal of Nutrition*, **132**, 1655-1657.
- Hohenhaus, A.E. (2003). Transfusion issues in cancer patients. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, **18**, 135-138.
- Hohenhaus, A.E. (2005). Blood transfusions, component therapy, and oxygen-carrying solutions. İçinde *Textbook of Veterinary Internal Medicine Diseases of the Dog and Cat*. Ettinger, S.J. ve Feldman, E.C. (Eds) (6th ed) Elsevier Saunders, Missouri; 464-468.
- Howard, A., Callan, B., Sweeney, M. ve Giger, U. (1992). Transfusion practices and costs in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, **201**, 1697-1701.
- International Forum (2001). Universal leucocyte-depletion of blood components: cell concentrates and plasma. *Vox Sanguinis*, **81**, 56-77.
- Jutkowitz, L.A. (2004). Blood transfusion in the perioperative period. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, **19**, 75-82.
- Kansuk, a. Kansuk Laboratuvarları San. ve Tic. A.Ş. İnternet. Erişim Tarihi (28.05.2007)
http://www.kansuk.com/turkce/urunler/kan_torbalari/kilavuzlar/CİFTLİ_SAG-M_dosyalar/frame.htm
- Kansuk, b. Kansuk Laboratuvarları San. ve Tic. A.Ş. İnternet. Erişim Tarihi (11.11.2007)
http://www.kansuk.com/turkce/urunler/kan_torbalari/kilavuzlar/6374A_dosyalar/frame.htm

- Kansuk, c. Kansuk Laboratuvarları San. ve Tic. A.Ş. İnternet. Erişim Tarihi (23.11.2007) http://www.kansuk.com/turkce/urunler/kan_torbalari/6701.htm
- Karger, R. ve Kretschmer, V. (2002). Inline-filtration. *Transfusion and Apheresis*, **27**, 137-152.
- Kerl, M.E. ve Hohenhaus, A.E. (1993). Packed red blood cell transfusions in dogs: 131 cases (1989). *Journal of American Veterinary Medical Association*, **202**, 1495-1498.
- King, K.E., Shirey, R.S., Thoman, S.K., Benson-Kennedy, D., Tanz, W.S. ve Ness, P.M. (2004). Universal leukoreduction decreases the incidence of febrile nonhemolytic transfusion reactions to RBCs. *Transfusion*, **44**, 25-29.
- Kirkley, S.A. (1999). Proposed mechanisms of transfusion-induced immunomodulation. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, **6**, 652-657.
- Kristensen, A.T. ve Feldman, B.F. (1995a). Blood banking and transfusion medicine. İçinde: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger ve Feldman (Eds), (4th ed.) Philadelphia, WB Saunders, 347-360.
- Kristensen, A.T. ve Feldman, B.F. (1995b). General principles of small animal blood component administration. İçinde: *Canine and Feline Transfusion Medicine*, Kristensen, A.T. ve Feldman, B.F. (Eds), *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, **25**, 1277-1290.
- Lanevski, A. ve Wardrop, K.J. (2001). Principles of transfusion medicine in small animals. *Canadian Veterinary Journal*, **42**, 447-454.
- Lanier, L. (1991). Cells of the immune response: Lymphocytes and mononuclear phagocytes. İçinde: *Basic and Clinical Immunology*, Stites, D.P. ve Terr, A.I. (Eds.), (7th ed) Middle East Edition, Appleton/Lange, Lebanon, 61-72.
- Lee, T.H., Donegan, E., Slichter, S. ve Busch, M.P. (1995). Transient increase in circulating donor leukocytes after allogeneic transfusions in immunocompetent recipients compatible with donor cell proliferation. *Blood*, **85**, 1207-1214.
- Lee, T.H., Reed, W., Mangawang-Montalvo, L., Watson, J. ve Busch, M.P. (2001). Donor WBCs can persist and transiently mediate immunologic function in a murine transfusion model: effects of irradiation, storage, and histocompatibility. *Transfusion*, **41**, 637-642

- Lin, J.-S., Tzeng, C.-H., Hao, T.-C., Hu, H.-Y., Ho, Y.-T., Lyou, J.-Y. ve ark. (2002). Cytokine release in febrile non-hemolytic red cell transfusion. *Vox Sanguinis*, **82**, 156-160.
- Logan, J.C., Callan, M.B., Drew, K., Marryotte, K., Oakley, D.A., Jefferies, L. ve ark. (2001). Clinical indications for use of fresh frozen plasma in dogs: 74 dogs (October through December 1999). *Journal of American Veterinary Medical Association*, **218**, 1449-1455.
- Lucas, R.L., Lentz, K.D. ve Hale, A.S. (2004). Collection and preparation of blood products. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, **19**, 55-62.
- Mathiesen, O., Lund, L., Brodthagen, U., Gandrup, P., Grunnet, N., Balslev, I. ve ark. (1998). Leukocyte filtration does not affect lymphocyte subpopulations and NK cell function in recipients of blood transfusions. *Vox Sanguinis*, **74**, 15-20.
- McClintic, J.R. (1978). (Ed). The blood and lymph. İçinde: *Physiology of the Human Body*. (2nd ed). John Wiley and Sons, U.S.A.
- Melzer, K.J., Wardrop, K.J., Hale, A.S. ve Wong, V.M. (2003). A hemolytic transfusion reaction due to DEA 4 alloantibodies in a dog. *Journal of Internal Medicine*, **17**, 931-933.
- Miniscalco, B., Guglielmino, R., Morello, E., Tarducci, A. ve Guena, M. (2003). Clinical usefulness of peripheral blood lymphocyte subsets in canine lymphoma. *Veterinary Research Communications*, **27**, Suppl. 1, 407-409.
- Mynster, T., Dybkjoer, E., Kronborg, G., Nielsen, H.J. (1998). Immunomodulating effect of blood transfusion: Is storage time important? *Vox Sanguinis*, **74**, 176-181.
- Noris, M., Azzollini, N., Mister, M., Pezzotta, A., Piccinini, G., Casiraghi, F. ve ark. (1999). Peripheral donor leukocytes prolong survival of rat renal allografts. *Kidney International*, **56**, 1101-1112.
- Novais, A.A., Santana ve Vincentin, L.A. (1999). Prevalence of DEA 1 canine blood group system in dogs (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) reared in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, **35**, Erişim Tarihi (23.10.2007)
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95961999000100004&lng=en&nrm=iso&tlng=en

- O'Connor, T.P., Hanscom, J.L., Hegarty, B.C., Groat, R.G. ve Breitschwerdt, E.B. (2006). Comparison of an indirect immunofluorescence assay, western blot analysis, and a commercially available ELISA for detection of *Ehrlichia canis* antibodies in canine sera. *American Journal of Veterinary Research*, **67**, 206-210.
- Öncel, T. ve Vural, G. (2005). Seroprevalence of *Dirofilaria immitis* in stray dogs in Istanbul and Izmir. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, **29**, 785-789.
- Opelz, G. ve Terasaki, P.I. (1978). Improvement of kidney-graft survival with increased numbers of blood transfusions. *New England Journal Medicine*, **15**, 799-803. (Abstrakt Pubmed PMID: 357971) Erişim Tarihi (1.12.2006) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=357971&ordinalpos=4&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum
- Owens, S.D., Oakley, D.A., Marrayott, K., Hatchett, W., Walton, R., Nolan, T.J ve ark. (2001). Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusions from infected English Foxhound to anemic dogs. *Journal of Veterinary Medical Association*, **219**, 1076-1083.
- Özbel, Y., Oskam, L., Özensoy, S., Turgay, N., Alkan, M.Z., Jaffe, C.L. ve ark. (2000). A survey on canine leishmaniasis in western Turkey by parasite, DNA and antibody detection assays. *Acta Tropica*, **74**, 1-6.
- Pall, Leukocyte reduction filter systems for red blood cells. Erişim Tarihi (01.03.2007) <http://www.pall.com/tab3.pdf>
- Perrotta, P.L. ve Snyder, E.L. (2001). Non-infectious complications of transfusion therapy. *Blood Reviews*, **15**, 69-83.
- Phelan, H.A., Sperry, J.L., Friese, R.S. (2007). Leukoreduction before red cell transfusion has no impact on mortality in trauma patients. *Journal of Surgical Research*, **138**, 32-36.
- Plunkett, S.J. (1993) (Ed). Blood cross matching. İçinde: *Emergency Procedures for the Small Animal Veterinarian*. (3rd ed). WB Saunders Company, Philadelphia, USA, 189.

- Prittie, J.E. (2003). Triggers for use, optimal dosing, and problems associated with red cell transfusion. *The Veterinary Clinics of Small Animal Practice*, **33**, 1261-1275.
- Racz, Z. (1997). Differential reduction in lymphocyte and granulocyte content by removal of the buffy coat from fresh and overnight-stored blood. Comparison of manual and automated blood processing systems. *Transfusion Science*, **18**, 393-398.
- Reine, N.J. (2004). Infection and blood transfusion: A guide to donor screening. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, **19**, 68-74.
- Roddie, P.H., Turner, M.L. ve Williamson, L.M. (2000). Leukocyte depletion of blood components. *Blood Reviews*, **14**, 145-156.
- Rouger, P. (2004). Transfusion induced immunomodulation: Myth or reality? *Transfusion Clinique et Biologique*, **11**, 115-116. (Editorial)
- Rozanski, E. ve De Laforcade, A.M. (2004). Transfusion medicine in veterinary emergency and critical care medicine. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, **19**, 83-87.
- Rudloff, E. (1995). The role of blood component therapy in the management of canine and feline patients with cancer. İçinde: Canine and Feline Transfusion Medicine, Kristensen, A.T. ve Feldman, B.F. (Eds), *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, **25**, 1403-1416.
- Sancak, A.A., Erdeger, J., Ataseven, L. ve Kurt, A. (2002). Serological survey for *Ehrlichia canis* in dogs from the Mediterranean coast of Turkey. *WSAVA Congress Proceedings*. Erişim Tarihi (10.11.2007)
<http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2002&PID=2724&Category=456>
- Schneider, A. (1995). Blood components. İçinde: Canine and Feline Transfusion Medicine. Kristensen, A.T. ve Feldman, B.F. (Eds), *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, **25**, 1245-1261.
- Schobesberger, M., Summerfield, A., Doherr, M.G., Zurbriggen, A. ve Griot, C. (2005). Canine distemper virus-induced depletion of uninfected lymphocytes is associated with apoptosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **104**, 33-44.

- Semple, J.W. (2004). Leucodepletion and immune response mechanisms. *Vox Sanguinis*, **87** (Supplement 2), 136S-138S.
- Shirwadkar, S., Blajchman, M.,A., Frame, B., Orr, F.W. ve Singal, D.P. (1990). Effect of blood transfusion on experimental pulmonary metastases in mice. *Transfusion*, **30**, 188-190. (Abstrakt, Pubmed PMID: 2305446) Erişim Tarihi (11.06.2007)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=2305446&ordinalpos=2&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum
- Smith, C.A (1991). Transfusion medicine: The challenge of practical use. *Journal of American Veterinary Medical Association*, **198**, 747-752.
- Snap Test 3DX. Canine Heartworm Antigen/*Borrelia Burgdorferi*/ *Ehrlichia canis* Antibody Test Kit, Erişim Tarihi (10.11.2007)
<http://www.idexx.com/animalhealth/testkits/3dx/3dxinsert.pdf>
- Sollberger, T., Walter, R., Brand,B., Contesse, J., Meredith, D.O. ve Reinhart, W.H. (2002). Influence of prestorage leukocyte depletion and storage time on rheologic properties of erythrocyte concentrates. *Vox Sanguinis*, **82**, 191-197.
- Sözmen, M., Tasca, S., Carli, E., De Lorenzi, D., Furlanello, T. ve Caldin, M. (2005). Use of fine needle aspirates and flow cytometry for the diagnosis, classification, and immunophenotyping of canine lymphomas. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **17**, 323-329.
- Steneker, I., van Luyn, M.J.A., van Wachem, P.B. ve Biewenga, J. (1992). Electronmicroscopic examination of white cell reduction by four white cell-reduction filter. *Transfusion*, **32**, 450-457.
- Stokol, T. ve Parry, B.W. (1995). Stability of von Willebrand factor and factor VIII in canine cryoprecipitate under various conditions of storage. *Research in Veterinary Science*, **59**, 152-155.
- Stokol, T. ve Parry, B.W. (1998). Efficacy of fresh-frozen plasma and cryoprecipitate in dogs with von Willebrand's disease or hemophilia A. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **12**, 84-92.
- Stone, E., Badner, D. ve Cotter, S.M. (1992). Trends in transfusion medicine in dogs at a veterinary school clinic: 315 cases (1986-1989). *Journal of American Veterinary Medical Association*, **200**, 1000-1004.

- Stone, E.G., Lacombe, E.H. ve Rand, P.W. (2005). Antibody testing and Lyme disease risk. *Emerging Infectious Diseases*, **11**, 722-724. Erişim Tarihi (10.11.2007) www.cdc.gov/eid
- Swank, R.L. ve Seaman, G.V.F. (2000). Microfiltration and microemboli: A history. *Transfusion*, **40**, 114-119.
- Terumo, a, Leukocyte Filters: Info on polyurethane. Erişim Tarihi (19.09.2007) http://www.terumoeurope.com/trans_products_pages/trans_filters.html
- Terumo, b. Leukocyte filters for red blood cells. Erişim Tarihi (01.03.2007) http://www.terumo-europe.com/trans_products_pages/trans_filters_1.html
- Toparlak, M., Gargılı, A., Ulutas-Esatgil, M. ve Çetinkaya, H. (2005) Canine filariasis around Istanbul, Turkey. *Acta Veterinaria Brno*, **74**, 233-236. Erişim Tarihi (1.11.2007) <http://vfu-www.vfu.cz/acta-vet/vol74/74-233.pdf>
- Toz, S.O., Chang, K.P., Özbel, Y. Ve Alkan, M.Z. (2004). Diagnostic value of rK39 dipstick in zoonotic visceral leishmaniasis in Turkey. *Journal of Parasitology*, **90**, 1484-1486. (Abstrakt Pubmed PMID: 15715249) Erişim Tarihi (10.11.2007) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=15715249&ordinalpos=1&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum
- Turner, M.L. ve Ironside, J.W. (1998). New-variant Creutzfeldt-Jakob disease: The risk of transmission by blood transfusion. *Blood Reviews*, **12**, 255-268.
- Tzimas, G.N., Deschenes, M., Barkun, J.S., Wong, P., Tchervenkov, J.I., Hayati, H. ve ark. (2004). Leukoreduction and acute rejection in liver transplantation: An interim analysis. *Transplantation Proceedings*, **36**, 1760-1762.
- Vamvakas, E.C. (2007). White-blood-cell-containing allogeneic blood transfusion and postoperative infection or mortality: An updated meta-analysis. *Vox Sanguinis, The Authors Journal Compilation, Blackwell Publishing Ltd.* p.1-9.
- Vamvakas, E.C. ve Blajchman, M.A. (2001a). Deleterious clinical effects of transfusion-associated immunomodulation: Fact or fiction? *Blood*, **97**, 1180-1195.
- Vamvakas, E.C. ve Blajchman, M.A. (2001b). Universal WBC reduction: The case for and against. *Transfusion*, **41**, 691-712.

- Vamvakas, E.C. ve Blajchman, M.A. (2007). Transfusion-related immunomodulation (TRIM): An update. *Blood Reviews*, (2007), doi:10.1016/j.blre.2007.07.003 (Basım Aşamasında) Erişim Tarihi (10.10.2007)
http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WBW-4PK8MSC-1&_user=747273&_coverDate=11%2F30%2F2007&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_acct=C000041838&_version=1&_urlVersion=0&_userid=747273&md5=3ead4dbf0d2bb75a83fd76be7ed77fd
- Vamvakas, E.C. ve Carven, J.H. (1998). Transfusion of white-cell containing allogeneic blood components and postoperative wound infection: effects of confounding factors. *Transfusion Medicine*, **8**, 29-36.
- van de Watering, L.M.G., Hermans, J., Houbiers, J.G.A., van den Broek, PJ, Bouter, H., Boer, F. ve ark. (1998). Beneficial effects of leukocyte depletion of transfused blood on postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery. *Circulation*, **97**, 562-568.
- van der Meer, P.F., Pietersz, R.N.I., Nelis, J.T., Hinloopen, B., Dekker, W.J.A. ve Reesink, H.W. (1999). Six filters for the evaluation of white cells from red cell concentrates, evaluated at 4°C and/or at room temperature. *Transfusion*, **39**, 265-270.
- van der Merwe, L.L., Jacobson, L.S. ve Pretorius, G.J. (2002) The breed prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in the Onderstepoort area of South Africa and its significance in selection of canine blood donors. *South African Veterinary Association*, **73**, 53-56.
- van Eeden, S.F., Klut, M.E., Walker, B.A.M. ve Hogg, J.C. (1999). The use of flow cytometry to measure neutrophil function. *Journal of Immunological Methods*, **232**, 23-43.
- Wardrop, K.J. (1995). Selection of anticoagulant-preservatives for canine and feline blood storage. İçinde: Canine and Feline Transfusion Medicine, Kristensen, A.T. ve Feldman, B.F. (Eds), *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, **25**, 1263-1276.
- Wardrop, K.J. ve Brooks, M.B. (2001). Stability of hemostatic proteins in canine fresh frozen plasma units. *Veterinary Clinical Pathology*, **30**, 91-95.

- Wardrop, K.J., Reine, N., Birkenheuer, A., Hale, A., Hohenhaus, A., Crawford, C. ve ark. (2005). Canine and feline blood donor screening for infectious disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **19**, 135-142.
- Wardrop, K.J., Tucker, R.L. ve Anderson, E.R. (1998). Use of an in vitro biotinylation technique for determination of posttransfusion viability of stored canine packed red blood cells. *American Journal of Veterinary Research*, **59**, 397-400.
- Winnicka, A., Jagielski, D., Hoffmann-Jagielski, M. ve Lechowski, R. (2002). Cytometric evaluation of peripheral blood lymphocytes in dogs with lymphoma during chemotherapy. *Journal of Veterinary Medicine, A, Physiology, Pathology and Clinical Medicine*, **49**, 303-306.
- Yılmaz, B. (2000). Fizyoloji. Feryal Matbaacılık, Ankara.

ETİK KURUL KARARI

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Güldal	Soyadı	İNAL GÜLTEKİN
Doğ.Yeri	ANKARA	Doğ.Tar.	15.10.1977
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	
Email	guldalinal@yahoo.com	Tel	0212-473 70 70 / 17242

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	-
Yük.Lis.	-	-
Lisans	İ.Ü. Veteriner Fakültesi	2000
Lise	Galatasaray Lisesi	1995

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araş. Gör.	İ.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	2001-2007
2.	Veteriner Hekim	Anatolia Hayvan Hastanesi	2000-2001
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	83	
Fransızca	Çok iyi	İyi	İyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	50,175	51,202	52,229
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS. Word Office	Çok iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

GÜZEL, Ö., İNAL, G., ÇIRAK, T.Z., AKTAŞ, M., ERASLAN, E.,: The effects of propofol and sevoflurane anesthesia on some parameters in rabbits. *Medycyna Weterynaryjna*, 62 (12): 1337-1464 (2006).

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Müzik ve spor