

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

SAĞLIKLI DONÖRLERDE TROMBOSİT AFEREZİ İŞLEMİNİN  
KANIN REOLOJİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ




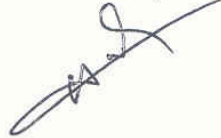

DR. HAKAN AKDAM

TEZ DANIŞMANI

PROF.DR. ALİ KESKİN

DENİZLİ-2006

İş bu çalışma jürimiz İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI'nda  
TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan	Prof.Dr. Ali KESKİN	
Üye	Doç.Dr. Mustafa YILMAZ	
Üye	Doç.Dr. Murat ÇOLAKOĞLU	
Üye	Doç.Dr. Veli ÇOBANKARA	
Üye	Doç.Dr. H.Asuman KAFTAN	

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

30.05/2006  
DEKAN  
  
Doç. Dr. Hüseyin BAĞCI  
Dekan

## TEŐEKKÜR

Araştırma Grevlisi olarak Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda sürdürmekte olduğum görevimi tamamlamak üzereyim. Bizlere bu uzmanlık eğitimini sağlayan Pamukkale Üniversitesi Rektörü Sayın Prof.Dr. Hasan KAZDAđLI'ya ve Tıp Fakóltesi Dekanı Sayın Prof.Dr. Hüseyin BAğCI'ya saygılarımı arz ederim.

Tezimin ve asistanlık sürecimin her aşamasında beni yönlendiren ve katkıda bulunan değerli hocalarım, başta tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ali KESKİN olmak üzere, Sayın Prof. Dr. A. Nadir YÖNETCİ, Sayın Prof. Dr. Yurdaer SERMEZ, Sayın Doç. Dr. Murat OLAKOğLU, Sayın Doç. Dr. Mustafa YILMAZ, Doç. Dr. Veli ÇOBANKARA, Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet BAŐTEMİR, Sayın Yrd. Doç. Dr. Fulya AKIN, Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa YILDIZ'a teőekkür ve saygılarımı sunarım. Ayrıca tezim süresince bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Sayın Yrd. Doç. Dr. Melek BOR-KÜÇÜKATAY'a teőekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanın akışkanlık özellikleri	3
2.2. Mikrodolaşım	6
2.3. Eritrositler	6
2.3.1. Eritrosit agregasyonu	7
2.3.2. Eritrosit deformabilitesi	8
2.3.3. Eritrosit deformabilitesini etkileyen fizyolojik ve fizyopatolojik mekanizmalar	10
2.4. Nitrik oksit	12
2.4.1. Nitrik oksit sentezi	13
2.4.2. Nitrik oksit'in kimyası ve farmakolojik özellikleri	15
2.4.3. Nitrik oksit'in metabolizması	17
2.4.5. Nitrik oksit vericileri	19
2.4.6. Nitrik oksit'in eritrosit üzerindeki etkisi	21
2.5. Aferez	22
2.5.1. Aferez terminolojisi	22
2.5.2. Tarihçe	25
2.5.3. İşlem	26
2.5.4. Haemonetics MCS 3p cihazı	27
2.5.5. Donör aferezi komplikasyonları	28
3.GEREÇ YÖNTEM	31
3.1. Deney protokolü	31
3.2. Hematolojik parametreler	31
3.3. Biyokimyasal parametreler	32
3.3.1. Fibrinojen	32
3.4. Hemoreolojik parametreler	32
3.4.1. Eritrosit deformabilitesinin değerlendirilmesi	32

3.4.2. Eritrosit agregasyonunun değerlendirilmesi	33
3.4.3. Tam kan ve plazma viskozitelerinin ölçülmesi	35
3.5. Sonuçların değerlendirilmesi	35
4.BULGULAR	36
5.TARTIŞMA	43
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	51
7.ÖZET	52
8.SUMMARY	53
9.KAYNAKLAR	54

## **TABLolar DİZİNİ**

<b>Tablo No</b>	<b>Tablo Adı</b>	<b>Sayfa</b>
Tablo-1:	Nitrik Oksit Sentaz (NOS) Enzimlerinin Vücutta Bulunduğu Yerler	15
Tablo-2:	Tanımlayıcı Bulgular	36
Tablo-3:	Hematolojik ve Biyokimyasal Değişiklikler	37
Tablo-4:	Otolog, Standart Hematokrit ve Plazma Viskozitesi Ortalama Değerleri	42

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa
Şekil-1:	L-Arjininden Nitrik Oksit (NO) Sentezi	15
Şekil-2:	Lorca Cihazı'nın Şematik Görünüşü	33
Şekil-3:	Syllectogram (Eritrosit agregasyonun zamana karşı logaritmik eğrisi)	34
Şekil-4:	Brookfield DV-II + Pro Digital Viskozimetresinin Şematik Görünüşü	35
Şekil-5:	Farklı Kayma Kuvvetlerinde Aferez Öncesi ve Sonrasındaki Eİ Değerleri	38
Şekil-6:	Sigara İçimlerine Göre İşlem Öncesi ve Sonrasındaki Eİ'leri (3,00 Pa'da)	39
Şekil-7:	3,00 Pa Kayma Kuvvetindeki Ortalama Eİ Değerleri	40
Şekil-8:	Otolog Hematokrit'te Agregasyon İndeksleri	41
Şekil-9:	Standart Hematokrit (%40)'te Agregasyon İndeksleri	41
Şekil-10:	Trombosit Aferezi öncesi ve sonrasında Fibrinojen değerleri	42

## 1.GİRİŞ

Kan dokusu plazma ve hücreselelemlardan meydana gelen kompleks bir sıvıdır. Kanın akışkanlık (reoloji) özellikleri organizmanın yeterli oksijenizasyonu ve canlılığın sürdürülmesinde belirleyici bir rol oynar.

17. yüzyılda William Harvey'in kan dolaşımını keşfi ve Herman Boerhaave'in fizik kanunlarını tıbbi düşünceye katmasının sonrasında, kanın fiziksel ve akışkanlık özelliklerinin incelenmesi, hastalıklarla ilişkisinin ortaya konması günümüze kadar giderek artmıştır. Son bir kaç dekattır kan akımının dinamik doğasının ve akışkanlık özelliklerinin incelenmesi çok geniş olarak araştırılmaya başlanmıştır. Kan ve komponentlerinin akım özelliklerinin çalışıldığı tekniklerdeki ilerleme ve sıvı dinamiğindeki modern düşüncelerdeki gelişim kan reolojisi veya hemoreoloji olarak adlandırılan yeni bir tıbbi sahanın oluşumunu sağlamıştır (1).

Kanın reolojik özellikleri daha çok kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, hipertansiyon gibi toplumda sık görülen hastalıklarda incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda periferik arter hastalığı, iskemik hastalıklar, diyabet ve hipertansiyon gibi hastalıklarda eritrosit şekil değiştirebilme yeteneğinin (deformabilitesi) azaldığı, eritrosit agregasyonu ve kan viskozitesinin arttığı bildirilmiştir (2-4).

Kanın hücreselelemları organizmanın kendi dolaşım sistemi içinde mekanik olarak hasar yapan kuvvetlere maruz kalırlar, fakat şiddetli patolojik koşullarda ve hastalıklarda bile kan hücrelerine etki eden mekanik travmanın büyüklüğü ölçülebilecek hasar seviyesine çıkmayabilir, veya klinik olarak önem arz etmeyebilir. Bununla birlikte kan hücreleri kardiyopulmoner by pass, aferez, hemodiyaliz gibi yapay dolaşım durumlarında daha yüksek mekanik strese maruz kalırlar (5). Yapay dolaşımın neden olduğu mekanik stresin, kanın reolojik özellikleri üzerine etkilerini araştıran az sayıda çalışma mevcuttur. Kardiyopulmoner by pass işleminin eritrosit deformabilitesini azalttığı, mekanik hemolize neden olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir (6,7). Bunun yanında hemodiyalizin eritrosit deformabilitesini azalttığı veya etkilemediği, tam kan viskozitesini artırdığı veya etkilemediği şeklinde yayınlar mevcuttur (8,9).



Başkurt ve arkadaşları 15 ile 120 sn arasında yüksek mekanik strese maruz bırakılan eritrositlerde uygulanan süre ile ters orantılı olarak eritrosit deformabilitesinin daha fazla azaldığını tespit etmişlerdir (5). Bu etkinin Nitrik oksit (NO) vericisi Sodyum nitroprussit (SNP) ile geri çevrilebildiği gösterilmiştir ve SNP'nin en etkin konsantrasyonu  $10^{-4} - 10^{-6}$  M olarak saptanmıştır. Vücutta bir çok biyolojik olayda görev olan NO'nin eritrosit deformabilitesi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı benzer çalışmalarda, Korbut ve arkadaşları NO'nin eritrosit deformabilitesi üzerinde doza bağımlı düzenleyici etkisi olduğunu bulmuşlardır (10). Bor-Küçükataç ve arkadaşları da NO'nin eritrosit deformabilitesini düzelttiğini göstermişlerdir (11).

Bugüne kadar kardiyovasküler hastalığı olanlarda veya hemodiyaliz hastalarında yapay dolaşımın oluşturduğu mekanik stresin kanın reolojik özellikleri üzerine olan etkisini inceleyen çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Kliniğimizde trombositopenik hastalar nedeniyle sağlıklı kişilerden donör trombosit aferezi işlemi sık uygulanmaktadır ve aferez işleminin donörlerin kan reolojisi üzerindeki olumlu veya olumsuz etkilerini değerlendiren bir çalışma yoktur. Bu nedenle bu çalışma sağlıklı kişilerde (donör) uygulanan trombosit aferezinin kanın reolojik özellikleri üzerine etkisinin araştırılması ve alt bir grupta da NO'nin trombosit aferezi sonrasında olası azalmış eritrosit deformabilitesi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amacıyla planlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. KANIN AKIŞKANLIK ÖZELLİKLERİ

Kan dokusu homojen olmayan çeşitli hücresel elemanların plazma içerisinde süspansiyon halinde dağıldığı, damar sistemi içerisinde dolduran, kalbin pompalama gücü ile bu sistem içinde tüm vücudu dolaşan, içerdiği hücreler, proteinler, hormonlar ve glukoz gibi moleküller nedeni ile vücutta taşıma, düzenleme ve savunma görevlerini üstlenen kompleks bir sıvıdır. Dokulara yeterli düzeyde kan akımı sağlanması kalbin pompalama gücü, damar yapısı ve kanın akışkanlık özelliklerine bağlıdır (1,2,12).

Akışkan dinamiğinde bir boru içinde iki farklı kesitinden aynı sürede aynı hacimde akışkan akması gerektiğinden, aynı borunun geniş kesitlerinde akım yavaşken, dar kesitlerinde akım hızlı olacaktır (1,13). Kan damar sisteminde de bir ağacın dalları gibi kalından inceye sayıları hızla artan arteriyollerin toplam kesit alanı, arterlerinkinden çok daha büyüktür. Bu nedenle kan arteriyol ağında, kalın arterlerde olduğundan çok daha yavaş hareket eder (1,2,13).

Kanın damarlardaki akımı normalde laminar (düzgün) akım karakterindedir. Laminar akım, sıvı tabakalarının birbiri üzerinde kayması şeklinde gerçekleşen düzenli bir akım şeklidir. Laminar akımda hız damarın merkezinde maksimum çeperinde ise minimumdur. Bernouilli yasasına göre bir akışkan içinde hızın maksimum olduğu yerde basınç minimum, hızın minimum olduğu yerde ise basınç maksimumdur (13). Buna göre basınç akım hızı ile ters orantılıdır ve çeperlerdeki daha yüksek basınç nedeni ile kanın şekilli elemanları merkeze doğru itilerek damarın merkezinde akarlar (1,2,12,13).

Vasküler sistemde kan akımı kalbin oluşturduğu basınç gradienti (perfüzyon basıncı), kan damarlarının hidrolik iletkenliği ve kanın akışkanlık özellikleri ile belirlenir. Hidrolik iletkenlik ve akışkanlık özellikleri direnç faktörü (R) olarak kabul edilirse; akım direnci (R), perfüzyon basıncı ( $\Delta P$ ), ve kan akımı (Q) bir formülle ifade edilebilir (2,3,14,15).

$$Q = \Delta P / R$$

Başka bir anlatımla sabit bir basınç altında kan akımı, akım direnci ile ters orantılıdır. Akım direnci damar sisteminin geometrik yapısı ve kanın akışkanlık özelliklerine bağlı olduğu için akım direnci incelenirken her iki faktördeki değişimler dikkate alınmalıdır (2,12,16,17).

Damar yatağındaki akım direncinin vasküler kısmı, damar ağının geometrisi ile belirlenir. Bu komponent damarsal engel olarak adlandırılır. Bir Fransız hekimi olan Jean Marie Poiseuille kan dolaşımına duyduğu ilgi ile kılcal borularda sıvı akışını incelerken bugün kendi adı ile anılan sıvı akış yasasını keşfetmiştir. Bu yasa laminar akış için geçerlidir (2,12,14). Poiseuille yasasına göre damar yatağındaki akım direnci kanın viskozitesi ve kanın içinden aktığı boru sisteminin uzunluğu ile doğru, yarıçapının dördüncü kuvveti ile de ters orantılıdır (2,12,13-15). Dolaşım sisteminde damarların yarıçapları çok değişkendir, damar yarıçapı lokal ve merkezi mekanizmalarla değiştirilerek dokulara yeterli kan akımı sağlanmaya çalışılır.

Sıvıların akışkanlık özelliklerinin belirleyicilerinden birisi de viskozitesi'dir. Viskozite akıma karşı içsel direnç olarak tanımlanmıştır ve akışkanın tabakaları arasındaki sürtünmeden kaynaklanan akma direncidir (1,2,14,16). Newton tarafından tanımlanan laminar sıvı akımında viskozite sıvı tabakalarını hareket ettiren kuvvetin (kayma kuvveti – shear stress) kayma hızına (shear rate) oranı olarak tanımlanmıştır (1,2,14,16-18). Newtonien sıvılarda sıvı viskozitesi sabit olup kayma kuvveti arttıkça kayma hızı da doğrusal olarak artmaktadır. Non Newtonien sıvılarda ise sıvı viskozitesi sabit değildir ve kayma hızına bağlı olarak değişir, sıvının cinsine göre kayma hızı arttıkça viskozite azalır veya artar. Kan dokusu içerdiği şekilli elamanlardan dolayı Non Newtonien bir sıvı olarak nitelendirilir (2,14,18,19). Kan dokusu 'shear-thinning' özellik gösterir, yani kan dokusunun viskozitesi kayma hızı arttıkça azalır. Tam kan viskozitesi düşük kayma hızında (0.1/sec) suyun viskozitesinden 50 - 200 kat büyük olabilir iken, büyük damarlarda yüksek kayma hızında (>100/sec) 3 – 5 kata kadar inmektedir (1,2,4,17).

Belli bir kayma kuvveti altında tam kan viskozitesi kan dokusunu oluşturan plazma ve hücresel elemanların reolojik özellikleri ile ilişkilidir. Tam kan viskozitesini etkileyen faktörler plazma viskozitesi, sıcaklık, hematokrit, kayma

kuvveti, kayma hızı, fibrinojen ve total protein düzeyi, eritositlerin şekil değiştirebilme (deformabilite) ve agregasyon özellikleridir (1,2,14,17).

Genel görüş 37 °C'de plazmanın Newtonien bir sıvı olduğudur (1,14,18,20). Plazma viskozitesi 37 °C'de 1,10 – 1,35 centi poise (cP) arasındadır (1,14). Sıcaklığın plazma viskozitesinde anlamlı etkisi vardır, ısı artışıyla viskozite azalır (1,4,14). 25 – 37 °C derece arasında her 1 °C ısı artışında plazma viskozitesi katsayısı % 2-3 oranında azalır (14). Plazma viskozitesi protein konsantrasyonunun artışı ile de artar (4,17). Fakat farklı proteinlerin şekil ve büyüklüklerine bağlı olarak plazma viskozitesinde farklı etkileri vardır. Plazma fibrinojeni ve globulinler ile plazma viskozitesi arasında yakın ilişki vardır (4,17,21).

Kan viskozitesi ile hematokrit arasında logaritmik doğrusal bir ilişki vardır, fakat doğrusallığı %20 – 60 arası hematokrit oranlarında görülür (1,4,17,20). Daha yüksek hematokritlerde tam kan viskozitesi orantısız olarak artar. Hematokrit artışıyla birlikte viskozitede artış kayma hızındaki azalma kadar büyüktür ve bu efektif hücre volümünün Chien's konsepti olarak adlandırılır (17).

Fibrinojen, total plazma proteinlerinin %5.5'ini oluşturduğu halde plazmada en fazla bulunan proteinlerden birisidir (17). Fibrinojen, plazma viskozitesini artıran ve düşük kayma kuvvetlerinde eritrosit agregasyonunu kolaylaştıran yüksek moleküler ağırlıklı asimetrik bir proteindir (4). Fibrinojen Non Newtonien akış karakterini ve sedimentasyon hızını artırır, bu nedenle plazma viskozitesi üzerinde en önemli etkendir. Fibrinojenin plazma viskozitesindeki etkisi serum ile plazma viskoziteleri arasındaki fark ile gösterilmiştir, plazma viskozitesi serumdan %20 daha viskoz saptanmıştır (17).

Kan dokusundaki hücresel elemanların %98-99'unu oluşturması nedeni ile eritrositler kanın reolojik davranışında önemli yer tutarlar (1,14,17). Eritrositlerin kan akım karakterini belirleyen iki önemli özelliği agregasyon eğilimleri ve deformabilite yetenekleridir (1,2,4,17,22). Eritrositlerin deformabilite yetenekleri sayesinde çok yüksek hematokrit değerlerinde bile kan akışı sağlanabilmektedir. Eritrositler staz halinde iken birbirleri ile kenetlenirler buna rulo formasyonu veya

agregasyon adı verilmektedir, bu durumda kanın akışkanlığı azalmıştır. Kayma hızı artıkça eritrosit agregatları parçalanarak kan viskozitesinde azalma sağlarlar. Kayma hızının belli bir eşiği aşması halinde eritrosit agregatları tamamen parçalanır ve kan viskozitesi kayma hızından bağımsız hale gelir ve kan Newtonien bir sıvı gibi davranır (1,17,22).

## 2.2. MİKRODOLAŞIM

Tüm yaşayan vücutlarda vasküler yatak aortadan kapillere ve kaval venlere kadar farklı çapa sahip damarlardan oluşmaktadır. 3 – 8 µm çapındaki kapiller lümende ilerleyen kan homojen bir sıvı değildir. Kan hücrelerinin çapından daha küçük çapa sahip kapillerlerdeki mikrodolaşımı anlamamızda akışkan mekaniği yeterli olmayacaktır. Kapillerlerde, ona komşu arteriyol ve venüllerde kan akımının sürdürülebilmesi büyük ölçüde eritrositlerin şekil değiştirebilme yeteneğine dayanır. Günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucu kapiller kan akımı direncini oluşturan 4 faktör belirlenmiştir (23); bunlar;

1. Eritrosit agregasyonunun artması (kapillerden geçerken kan akım hızının azalması ile eritrositler düzensiz rulo formasyonu oluştururlar)
2. Eritrosit deformabilitesinin azalması
3. Kapiller lümende eritrosit konsantrasyonunun artması
4. Lokal kan viskozitesinin artması

Damar içinden hücrelerin plazmadan daha hızlı geçmesi nedeniyle, damar içinde herhangi bir andaki hematokrit değerinin (dinamik hematokrit) damar içine giren kandan daha az olacağı bildirilmiştir, 300 µm çapından daha küçük damarlarda bu azalma anlamlı hale gelmektedir ve mikrodolaşımdaki kanın viskozitesini azaltmaktadır. Bu etkiye 'Fahreus-Lindquist' etkisi denir. Bu etki ile eritrositler kapillerden geçerken rulo formasyonu oluşturarak tek sıra halinde akar. Böylece kanın kendi içinde oluşturduğu visküz direnç ortadan kaldırılmış olur (14,15).

## 2.3. ERİTROSİTLER

Alyuvarlar ya da kırmızı kan korpuskülleri adı da verilen eritrositler, sitoplazmalarındaki hemoglobin proteini aracılığı ile akciğerde havadan aldıkları

oksijeni vücudun en uzak doku ve hücrelerine götürüp bunların metabolizmaları sonucu açığa çıkan karbondioksiti akciğerlere geri getirmek üzere özelleşmiş hücrelerdir. Dolaşımdaki ömürleri ortalama 120 gün olan eritrositlerde oksijen hemoglobine reversibl olarak bağlanır ve gerektiğinde hemoglobinden ayrılır. Organizmada sayıları en yüksek olan hücre grubudur. Sayıları, 1 mm<sup>3</sup> kanda kadınlarda ortalama 4,8 milyon, erkeklerde 5,4 milyondur. Görünüşleri bikonkav disk (orta bölgeleri alt ve üstten basık) şeklinde olan eritrositler sadece hemoglobin ve onu çevreleyen esnek eritrosit membranından ibarettir. Çekirdek, mitokondri, endoplazmik retikulum, golgi kompleksi ve ribozomlar gibi sitoplazmik orgonallere sahip olmayan eritrositler enerji üretimi için oksidatif fosforilasyon, protein sentezi yapmazlar ve mitozla çoğalamazlar. Gerekli enerjileri glukoz metabolizması ile glikoliz ve pentoz fosfat yolu ile sağlar. Kolayca şekil değiştirebilme yetenekleri sayesinde en dar çaplı kılcal damarlardan kolayca geçebilirler (12,14,24,25).

### 2.3.1. ERİTROSİT AGREGASYONU

Eritrositler kayma kuvveti azaldıkça geniş diskoid yüzeylerinden birbirlerine yaklaşarak kümelenirler ve üç boyutlu agregatlar oluştururlar. Eritrosit agregasyonunun büyüklüğü kayma hızı ile ters orantılıdır, akım hızının yavaşlaması ile eritrosit agregatları oluşması kan akımı içinde sıvı tabakaları arasındaki sürtünme kuvvetini artırır ve kanı daha visköz hale dönüştürür (26). Normal fizyolojik koşullarda eritrositlerin agregasyonu çok kompleks, dinamik, ve reversibl bir fenomendir (1,2,4,20). Eritrosit agregasyonunun oluşumu eritrositleri bir arada tutan kuvvetlerle (agregan kuvvetler), agregasyonu dağıtmaya çalışan kuvvetler (disagregan kuvvetler) arasındaki denge ile yakın ilişkilidir (1). Disagregan kuvvetler; kayma kuvveti, eritrosit membran yüzey yüküne bağlı ortaya çıkan elektrostatik itme kuvveti ve hücre membranın elastik enerjisi'dir. Eritrosit agregatlarını bir arada tutan agregan kuvvetler ile ilgili olarak ise iki hipotez mevcuttur.

1. Köprüleme hipotezi: Birbirine yakın hücrelerin yüzeylerine adsorbe olan ve bu hücreler arasındaki disagregan kuvvetleri azaltarak hücreler arasında köprüler oluşturan makromoleküller, agregatları bir arada tutarlar.

2. Deplezyon hipotezi: Makromoleküllerin eritrosit yüzeyinden fiziko-kimyasal mekanizmalarla uzak tutulması bir osmotik gradient ve hücrelerarası boşlukta bir sıvı hareketi oluşturur. Bu sıvı hareketinin yarattığı basınç farklılıkları komşu hücreleri birbirine doğru iter (1).

Eritrosit agregasyonu gerek plazmanın, gerekse eritrositlerin çeşitli özelliklerindeki değişimlerden etkilenir. Plazma fibrinojen konsantrasyonu eritrosit agregasyonu üzerinde belirleyici bir rol oynar. Plazma globulin fraksiyonlarındaki değişimler, osmolarite, eritrosit membranındaki sialik asit içeriği, pH değişiklikleri gibi faktörler de eritrosit agregasyonunu etkiler (4,17,20).

### 2.3.2. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ

Deformabilite, genel olarak belli bir yapının herhangi bir kuvvetin etkisi altında şeklini geri dönüşümlü olarak değiştirebilme yeteneğini ifade eder (27,28). Eritrosit deformabilitesi eritrosit üzerindeki kuvvete yanıt olarak şekil değiştirebilme kapasitesi olarak tanımlanabilir. Eritrositlerin kapillerleri geçerken ki belirgin şekil değiştirebilme yeteneği ilk kez Leeuwenhoek tarafından 1675 yılında tanımlanmıştır (29,30). Eritrosit deformabilitesi kan dolaşımında etkin bir rol oynar, 8 µm çapındaki eritrositlerin 2-3 µm çapındaki kapillerlerden geçmesini mümkün kılar (27-29).

Son iki dekatta yapılan çalışmalar eritrosit deformabilitesinin eritrositlerin yaşam süresinin belirlenmesinde baskın bir rol oynadığını göstermiştir. Eritrositler organların kapiller pasajlarından geçerken interendotelial yarıklar içinden geçebilmek için zorlanırlar, normal şekil değiştirebilen eritrositler bu yarıklardan geçebilirler, deformabilitideki azalma buradan geçişi zorlaştırır bu da dalak sekestrasyonuna ve yıkıma neden olur (29,31).

Eritrosit deformabilitesinin aynı zamanda geniş damarlarda akan kan viskozitesini azaltmada önemli bir faktör olduğu da bilinmektedir (29).

Eritrositlerin deformabilitesi üç faktör tarafından belirlenir (1,15,17,22,29):

## A . HÜCRE GEOMETRİSİ (YÜZEY HACİM İLİŞKİSİ)

Normal istirahat halindeki eritrositin bikonkav disk şeklindeki yapısı 90 femtolitre (fL) kadar bir hacime ve  $140 \mu\text{m}^2$  membran yüzey alanına sahiptir. Eritrositler sferosit şeklinde olsaydı aynı hacimdeki membran yüzey alanı  $97 \mu\text{m}^2$  olacaktı (22). Eritrositlerin bikonkav şekillerinden dolayı daha büyük yüzey alanına sahip olmaları, oksijen taşıma kapasitelerini artırmanın yanında onlara deforme olma yeteneği de sağlar (14,17,22). Yüzey alanı – hacim ilişkisi sayesinde eritrositler orjinal boylarının %30’una kadar lineer uzama gösterebilirler. Eritrosit hacminde bir değişiklik olmaksızın yüzey alanındaki %5-10’luk bir artış bile eritrositin parçalanma ve lizisine neden olur (29).

Sferoekinositlerde membran kaybına bağlı yüzey alanının azalması ve membranda iyon transportu bozukluğuna bağlı eritrositlerin şişerek hacimlerinin artması avantajlı yüzey alanı – hacim ilişkisini bozacağından bu gibi durumlar eritrosit deformabilitesinin azalmasına sebep olur. Herediter sferositoz ve otoimmün hemolitik anemilerde membran kaybına bağlı yüzey alanının hacime oranının, azalması deformabilitenin ve yaşam sürelerinin kılalmasında önemli rol oynar (1,15,22,29).

## B. SİTOPLAZMİK (İÇ) VİSKOZİTE

Eritrosit hacminin %70’i su, %25’i hemoglobin ve %5’i proteinler, lipoproteinler, ve membran materyalidir (12,24,25). Bu nedenle hemoglobin sitoplazmik viskozitenin en önemli belirtecidir. Eritrosit içindeki hemoglobin eriyiği 4 – 6 cp viskozitededir ve Newtonien sıvı gibi davranır (29). Normal koşullarda hemoglobinin sıvı yapısı ve düşük viskozitesi nedeniyle eritrosit deformabilitesini anlamlı ölçüde etkilemez. Hemoglobin molekülünün eritrosit içinde ortalama konsantrasyonu (OEHK) normal insanlarda 27-37 gr/dl arasındadır ve bu aralıkta sitoplazmik viskozite 5-15 cp kadardır (33,34). Olgun eritrositlerde hemoglobin sentezi ve yıkımı olmadığından hemoglobin konsantrasyon değişimleri büyük oranda hücrenin su ve iyon kapsamındaki değişimlere bağlıdır. Sitoplazmik viskozite hemoglobin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak üstel bir artış gösterir. Dehidratasyona bağlı olarak eritrositlerde OEHK 38 gr/dl’yi aşarsa iç viskozite 25 cp’ye kadar yükselebilir. Orak hücreli anemi gibi hemoglobinopatilerde de



hemoglobinin polimerize olması veya sitoplazmada çökmesi ile de iç viskozitenin artmasına bağlı eritrosit deformabilitesi azalır (1,22,29).

### C. ERİTROSİT MEMBRANININ VİSKOELASTİK ÖZELLİKLERİ

Eritrosit membranı ileri derecede akışkan asimetrik iki sıralı fosfolipid yapısı ve bunun altında bulunan spektrin, aktin, band 4.1 proteinlerinin hexagonal olarak dizildiği güçlü esnek membran iskeletinden oluşur (24,25,32). Lipid tabakanın akışkanlığı lipid kompozisyonuna bağlı olarak değişebilmektedir fakat bu değişiklik membranın bütün olarak viskoelastik davranışı üzerinde önemli bir etkisi gözlenmemiştir (33,34). Eritrosit membranı lipid tabakasının altındaki protein örgüsü özelliği sayesinde bir kuvvet altında kolaylıkla şeklini değiştirir ve kuvvet ortadan kalktığında tekrar eski şekline döner. Eritrosit membranında en fazla oranda bulunan iskelet membran proteini spektrin membranın doğal halinde katlanmış durumdadır. Kuvvet uygulandığında ise protein örgüsü yeniden organize olur ve uygulanan kuvvetin yönüne göre bazı spektrin molekülleri açılıp uzarken, bir kısmı daha fazla büzülür, bu da eritrositlerin deformabilitesini sağlar. Eritrosit membranının büyük bir kuvvete veya uzun süre düşük bir kuvvete maruz kalması veya ortamın ısısında ani değişmeler olması eritrosit membranının elastisitesini azaltır, eritrositlerde kalıcı şekil bozukluğu yapar (32).

### 2.3.3. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİNİ ETKİLEYEN FİZYOLOJİK VE FİZYOPATOLOJİK MEKANİZMALAR

Eritrositlerin bikonkav disk şekillerini koruması enerji gerektiren dinamik bir süreçle mümkün olmaktadır (1,35). Eritrositlerin hücre içinden dışarıya Na pompalamaları, dışarıdan içeriye K almaları membrandaki Na-K-ATP az aktif transport sistemi ile gerçekleşir. Eritrositlerde ATP sürekli azaltılıp yenilenmediği zaman hücre içinde Na retansiyonu gelişir ve bunun sonucunda eritrositler şişer, bikonkav disk yapısını kaybederek sferikleşir ve deformabiliteleri azalır (1,12).

ATP azlığı ikincil bir mekanizma ile de deformabiliteyi azaltır. Hücre membranında bulunan diğer bir ATP az, olan Ca ATP az ile Ca<sup>++</sup> hücre dışına taşınarak hücre içi Ca<sup>++</sup> değeri dengede tutulmaya çalışılır, ATP yokluğunda hücre

içi  $Ca^{++}$  artışı hücre içi sıvıyı jele dönüştürerek sitoplazmik viskoziteyi artırır ve bu da eritrosit deformabilitesini azaltır (1,2,4,36).

Eritrosit membranında kolesterol düzeyinin artması iki katmanlı lipid tabakasını etkileyerek eritrosit membranının sıvı özellikleri ve fonksiyonlarında olumsuz etki yapmaktadır. Eritrosit membranında kolesterol ve kolesterol / fosfolipid oranının artması membranda internal viskoziteyi artırır. Eritrosit deformabilitesi azalır ve daha rijid hale gelir. Yüksek kolesterol düzeyleri eritrosit yüzeyinde durgun bir tabaka gelişmesine neden olarak eritrositlerin oksijen salınımını ve perfüzyon sürecini bozar. Hipertansiyonlularda kolesterol / fosfolipid oranı sağlıklı insanlara göre daha yüksek bulunmuştur (4).

Dolaşım sistemini ilgilendiren hipertansiyon, iskemik hastalıklar, periferik ve koroner arter hastalıklarında kan viskozitesinde, eritrosit agregasyonunda artış, eritrosit deformabilitesinde azalma bir çok çalışmada gösterilmiştir. Çeşitli organlardaki iskemik hastalıkların kanın reolojik bozukluklarıyla ilişkisi bilinmektedir (2,3,22,36).

Mikro ve makrovasküler komplikasyonlarla karakterize diyabetik hastalarda da eritrosit deformabilitesi azalmış bulunmuştur (2,22). Eritrosit deformabilitesinin glisemik kontrol ile yakın ilişkisi bilinmektedir. Hiperglisemik hastalarda insülin ile glisemik kontrolün sağlanması deformabiliteyi hızlı olarak bir iki saat içinde düzeltmektedir, bu hızlı düzelmeye diyabetiklerde deformabilitenin membran proteinlerinin non enzimatik glikolizasyonuna bağlı olmadığını düşündürmektedir. İnsülin'in bilinmeyen bir mekanizma ile deformabiliteyi hızlı olarak düzelttiği düşünülmektedir (2,37). Ek olarak diyabetiklerde kan viskozitesinin ve eritrosit agregasyonunun vasküler komplikasyonlar başlamadan önce sağlıklılara göre artmış olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir. Diyabetiklerde HbA1c düzeyi ile; fibrinojen, eritrosit agregasyonu, kan viskozitesi arasında pozitif birliktelik saptanmıştır (2,22,38).

Eritrositlere yeterli metabolit takviyesi NADH, NADPH gibi antioksidan kofaktörlerin sentezi için gereklidir. Bu kofaktörlerin azalması eritrositlerde oksidan

hasarın artışı ile sonuçlanan oksidan-antioksidan dengenin bozulmasına yol açabilir, iskemik dokularda oksidan hasara neden olarak eritrosit deformabilitesini azaltabilir. Eritrosit mikro çevresindeki Ph, ozmolarite, ısı değişiklikleri gibi etkenlerde eritrositlerin mekanik özelliklerini etkileyebilir (1,13,22).

#### 2.4 NİTRİK OKSİT

Nitrojen ve oksijen atomlarının birbiriyle kovalent bağlanması ile iki molekülden oluşan NO yaklaşık iki yüzyıl önce 1772'de Joseph Prestly tarafından keşfedilmiştir (16,39). Bilimde ilk keşfedilen gazlardan birisidir. Renksiz ve kokusuz olan bu gaz iki yüzyıldan fazla sürece çok toksik olarak kabul edilmiş, kasten veya kazara yüksek doz inhalasyonu sonucu bir çok kimyacının toksik şok sendromu nedeni ile hayatını kaybetmesine neden olmuştur. Son iki dekada kadar hiç kimse bu öldürücü gazın düşük dozlarının insan ve hayvanlardaki çok önemli fonksiyonlarını tahmin edememiştir (39).

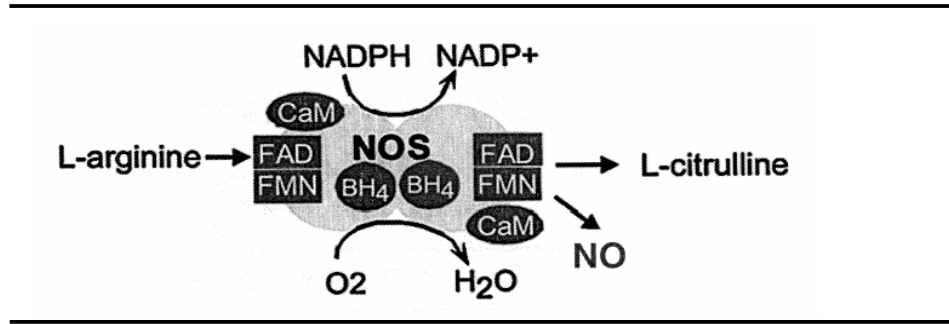
1980 de Furchgott ve Zawadzki kan damarlarında kasılma-gevşeme mekanizması üzerinde çalışırken, asetilkolinin endotelden salınan bir madde aracılığı ile damar gevşemesi yaptığı buldular ve bu maddeye Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör (EDRF) adını verdiler (40-42). 1983 yılında F.Murad ve arkadaşları EDRF'nin düz kasında cGMP bağımlı bir şekilde damar gevşemesi yaptığını gösterdiler. 1986 – 1987 yıllarında Furchgott ve L. Ignarro birbirinden bağımsız olarak EDRF'ün NO olabileceğini ileri sürdüler (41-44). 1987 yılında NO'in L-Arjinin amino asiditinden sentezlendiği ve bu sentezin basamakları S. Moncada ve arkadaşları tarafından ortaya kondu (39,41,42,45). 1987'den önce NO sentezinin bakteri savaşında nitrifikasyon veya denitrifikasyonu ile sınırlı olduğu düşünülürdü (39). 1990'ların başlarında, NO'in biyolojik sistemler üzerindeki rolü daha çok aydınlanmaya başlandı. Science dergisi NO'ü 1992 yılında 'yılın molekülü' olarak ilan etti (46-48). Bu molekülün önemi 1998'de tıp alanındaki Nobel ödülünün L. Ignarro, F. Furchgott, F. Murad'a verilmesi ile daha da önem kazanmıştır (39,41,47,48).

Endotelden sürekli olarak salınan dokularda 3-4 sn, kan dolaşımında 1-2 sn yarı ömre sahip NO'in komşu vasküler düz kaslarında soluble gualinat siklaz

aktivasyonu ile damarlarda gevşeme sağlaması gösterildikten sonra, NO'nun hücre üremesi, bakteriyel öldürme, anjiogenez gibi bir çok biyolojik fonksiyonlarda görev aldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Ayrıca günümüze kadar 27000'den fazla bilimsel makale yayınlanan NO'nun kanser, primer arteriyel hipertansiyon, diyabet, AIDS, inflamatuvar hastalıklar, kardiyoserobro vasküler hastalıklar, sepsis gibi çok çeşitli hastalıklarla da ilişkisi olduğu bilinmektedir (39,41,47).

#### 2.4.1. NİTRİK OKSİT SENTEZİ

NO, L-arjinin amino asidinden sentez edilir. Bu sentez omurgalılarda sitokrom P-450 redüktaz'ın homoloğu olan nitrik oksit sentaz (NOS) enzim ailesi tarafından hücre içinde oksijen ve nikotin adenin dinükleotid fosfat (NADPH) varlığında gerçekleşir, ve flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN), kalmodulin (CaM), tetrahidrobiopterin (BH<sub>4</sub>) gibi diğer kofaktörler de kullanılır. L-Arjinin, NOS enzimi tarafından L-sitrüline çevrilirken yan ürün olarak NO açığa çıkar. (Şekil 1.) (39,42,45,49-51).



**Şekil -1. L-Arjininden Nitrik Oksit (NO) Sentezi.** (Kaynak 50'den alınmıştır.)

Hücre içi NO sentezi, L-arjininin aktif olarak hücre içine alınması yoluyla gerçekleşir. Bu taşınma diğer katyonik aminoasitler içinde kullanılan y<sup>+</sup> taşıyıcıları ile gerçekleşir. L-N(G)-metilarjinin ve L-iminoetilornitin gibi bazı NOS inhibitörleri arjinin ile bu y<sup>+</sup> taşıyıcısı ile yarışmaya girerek inhibisyon yaparlar. NO'nun sentez ve salınımı Ca<sup>++</sup>'a bağlıdır. Ca<sup>++</sup>'un hücre içine alındığı Ca<sup>++</sup> kanal tipi veya hücre içi serbest Ca<sup>++</sup> düzeylerini artıran yolak bilinmemektedir, hücre içinde Ca<sup>++</sup> düzeyinin artırılmasının, voltaj aracılıklı değil, reseptör aracılıklı iyon kanallarıyla ve daha az oranda hücre içi depolardan Ca<sup>++</sup> salınımı ile olduğu düşünülmektedir (42,49,51).

NO sentezini katalizleyen NOS enzimlerinin yapısal (cNOS) ve indüklenbilir (iNOS) olmak üzere iki temel izoformu bulunur. Yapısal enzimin ayrıca iki formu vardır. Bunlardan birisi endotelial NOS (eNOS) diğeri nöronal NOS (nNOS) enzimidir. Bu üç enzim vücutta farklı genlerle kodlanmıştır (39,42,49,51,52).

#### A. NÖRONAL NOS (nNOS-NOS1);

İlk olarak sıçan sinir dokusunda tespit edilmiştir. Merkezi sinir sistemi ve nöronlarda haberci molekül olarak kullanılan NO'nun üretiminden sorumludur (42,53).

#### B. ENDOTELYAL NOS (eNOS);

İlk olarak sığır endotel hücrelerinde tanımlanmıştır. nNOS ve iNOS predominant eriyebilir enzim iken eNOS'un %90'dan fazlası partikülerdir (51).

Yapısal NOS (cNOS) enzimlerinin aktiviteleri  $Ca^{++}$ 'a bağımlıdır, hücre içinde yeterli  $Ca^{+2}$ 'un bulunduğu fizyolojik koşullarda  $Ca^{++}$  kalmodulin ile bağlanır,  $Ca^{+2}$ 'la aktive olan kalmodulin, ortamda kofaktör olarak bulunan flavinlerden NOS'ın hem bölgesine elektron transferinde görev alır. Bu elektron transferi NO biyosentezinde önemli bir basamak olan flavin indirgenmesi hızını belirler (42,49). Yapısal NOS olan eNOS ve nNOS'ın her ikisinin de aktivitesi ve miktarı artırılabilir, bu da bu izoformların da uyarılabileceğini düşündürmektedir. Gebelikte ve östrojen tedavisi ile her iki izoformun mRNA'larının artması, invitro aort endotelinde kayma kuvveti ve sabit egzersizin eNOS gen ekspresyonunu artırdığının gösterilmesi bu düşüncüyü desteklemektedir (47,51,53).

#### C. İNDÜKLENEBİLİR NOS (iNOS);

İlk olarak endotoksinler ve sitokinler aracılığı ile karaciğer hücreleri ve makrofajlarda uyarılan bir enzim olarak tanımlanmıştır. iNOS bakteriyel lipopolisakkaritler ve sitokinlerle uyarılarak endotel hücresi, makrofaj, hepatosit, nötrofil ve düz kas hücrelerinde eksprese edilirler. Bu enzimin aktivitesi için hücre içi  $Ca^{++}$  derişiminin artması gerekli değildir. NO sentezi  $Ca^{++}$  bağımlı değildir ve transkripsiyonu sitokinler tarafından düzenlenir. Düşük  $Ca^{++}$  konsantrasyonlarında bile maksimum flavin indirgenmesine olanak sağlar. iNOS cNOS'a göre daha fazla ve daha uzun ömürlü NO salınımı yapar. cNOS ve iNOS her ikisi de L-NMMA ve

diğer L-arjinin analogları ile inhibe olurken sadece iNOS steroidler ilede inhibe olur (42,49,51).

Günümüzde NOS enzimlerinin ekspresyon paternlerinin kompleks ve içiçe geçmiş olduğu, ayrıca vücudun çeşitli bölümlerindeki bir çok hücre tipinde NOS enziminin bulunduğu bilinmektedir.(Tablo 1.).

**Tablo - 1. Nitrik Oksit Sentaz (NOS) Enzimlerinin Vücutta Bulunduğu Yerler.**

(Kaynak 39'dan alınmıştır)

<u>Yapısal NOS (cNOS)</u>	<u>İndüklenebilir NOS (iNOS)</u>
Damar endoteli	Damar endoteli
Beyin	Damar düz kası
Trombosit	Makrofaj
Adrenal bez	Kupffer hücreleri
Periferik sinir	Hepatosit
Mast hücresi	Endokardiyum
Mezanjial hücre	Mesanjial hücre
Miyokardiyum	Lenfosit
	Kondrosit
	Fibroblast
	Neutrofil
	Megakaryosit

NO bazı özel durumlarda klasik yol dışında farklı mekanizmalarla da sentezlenebilir, bu yollar ksantiz oksidaz yolağı, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve L-arjinin katıldığı non enzimatik yol, nitritlerin asit ile redüksiyonu ve iskemik süreçte oluşan redüksiyon durumlarıdır (49,51).

#### 2.4.2. NİTRİK OKSİT'İN KİMYASI VE FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLERİ

NO oda havasında gaz halinde bulunan, nötral, heterodiatomik, renksiz kokusuz, inorganik serbest bir radikaldir. Lipofilik kimyasal stabilitesi olmayan NO reseptöre bağımlı olmadan kolayca hücre içine difuze olabilir. Son yörüngesindeki eşleşmemiş elektronu sayesinde ortamda bulunan oksijen ( $O_2$ ), süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ) ve

diğer serbest radikallerle bir kaç saniyede reaksiyona girebilir (49,51,54). NO'in birbiriyle ilişkili üç adet aktif redoks formu tanımlanmıştır, bunlar serbest radikal, nitrozonyum (NO<sup>+</sup>) ve nitroksil anyonudur (NO<sup>-</sup>).

NO'in biyolojik kimyası direkt ve indirekt etkiler şeklinde sınıflandırılabilir (51,54,55).

#### A. DİREKT ETKİLERİ:

Biyolojik sistemde NO'in en karakteristik direkt etkisi, metal içeren proteinler ve organik serbest radikallerle olan etkileşimidir. NO *invivo* demir içeren proteinlerin demirleri ile direkt reaksiyona girerek nitrosil kompleksi oluşturur. NO'in metal merkezlerle reaksiyona girebilmesi ona düzenleyici ve sinyal molekülü sıfatı kazandırır. NO'in bazı metal komplekslerle etkileşimi metal-nitrosil oluşumu ile sonuçlanır. NO'in bu şekildeki en önemli reaksiyonu guanilat siklaz ile olan reaksiyonudur. NO-Guanilat siklaz birleşmesi guanilat siklazın hem demirinin lokalizasyonunu değiştirerek enzimde katalitik süreci aktive eden konfürmasyonel değişikliğe neden olur. Böylece GTP'den cGMP oluşması vazodilatasyon, trombosit fonksiyonlarının inhibisyonu, düz kas relaksasyonunu içeren fizyolojik yanıt kaskadını başlatır. NO aynı etkileşimle sitokrom P-450, hem oksijenaz ve katalaz gibi metalloproteinazları inhibe edebilir. NO'in direkt serbest radikallerle reaksiyonu, metal veya enzim aracılıklı lipid peroksidasyonu katalizinde önemli olabilir. Lipid peroksidasyonu hidroksil radikali (OH<sup>-</sup>) gibi antioksidan maddelerin oluşumu ile başlar. Oksidan maddeler poliansature yağ asitlerinden Lipid alkil radikali (L<sup>-</sup>) oluştururlar. Bu radikal O<sub>2</sub> ile etkileşime girerek hidroperoksil radikale (LOO) dönüşür, oluşan LOO diğer bir poliansature yağ asitinden hidrojen atomu alır. Bu suretle serbest radikal reaksiyonu sürekli devam eder. NO tüm LOO ve LO ile etkileşime girerek LOONO ve LONO oluşturarak bu lipid peroksidasyonu kısır döngüsünü sonlandırmış olur, OH<sup>-</sup>, NO'in antioksidan etkisi ile elimine edilmiş olur (49,54-56).

#### B. İNDİREKT ETKİLERİ:

NO'in moleküler O<sub>2</sub> veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile olan reaksiyonlarından türeyen reaktif nitrojen oksit türleri NO'in indirekt etkilerine aracılık eder. O<sub>2</sub> varlığında NO

unstabil ve oto-okside olarak nitrojen oksit ( $\text{NO}_2$ ) oluşur, yine  $\text{O}_2$  varlığında  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$  ile etkileşir ve daha güçlü dinitrojen trioksit ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ) oluşur, bu nitroz ajanı nitrozamin ( $\text{RNNO}$ ) ve nitrozotiyol ( $\text{RSNO}$ ) derivelerini üretebilen N-nitrosate ve S-nitrosate kapasitesine sahiptir (51,54,56,57).

$\text{NO}$  ayrıca  $\text{O}_2^-$  ile reaksiyona girerek peroksinitriti ( $\text{ONOO}^-$ ) oluşturabilir, bu reaksiyon  $\text{NO}$ 'in diffüzyon hızı ile kontrol edilir.(24).  $\text{ONOO}^-$  nötral solüsyonlarda tiyollerini oksitleyen, tirozin kalıntılarını nitratlayan, lipit peroksidasyonunu başlatan ve DNA hasarı oluşturabilen güçlü bir oksidandır.  $\text{ONOO}^-$  fizyolojik pH'da kısmen proton alarak peroksinitröz asit'e dönüşür ve nitrata izomerize olabilir.  $\text{NO} - \text{O}_2^-$  etkileşiminin güçlü bir oksidan oluşturmasına rağmen, hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) oluşmadan  $\text{O}_2^-$ 'in ortadan kaldırıldığı detoksifikasyon yolağı olarak kabul edilir (54,56,57).

#### 2.4.3. NİTRİK OKSİT'İN METABOLİZMASI

Enzimatik bir mekanizma ile sentezlenen  $\text{NO}$ 'i ortamdan temizleyen özel bir enzim yoktur ve serbest radikal olması nedeniyle çok kısa ömürlü bir moleküldür.  $\text{NO}$  molekülleri kendi aralarında, oksijen ile tepkimeye girerler.  $\text{NO}$  oksidasyona uğrayarak  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_2^-$ , ve  $\text{NO}_3^-$  türlerini oluştururlar. Bu türler ortamdaki biyomoleküllerle tepkimeye girebilirler veya nitrit oluşturmak üzere bozunurlar. Yine aynı şekilde  $\text{NO}$  serbest sülfidril grubu içeren insan albumini, glutatyon, ditiotretiol ile oksidasyona uğrayarak sülfenik asit ( $\text{RS-OH}$ ) ve nitröz oksite ( $\text{N}_2\text{O}$ ) dönüşür. Normal koşullarda  $\text{NO}$ 'in fizyolojik derişimini kontrol eden en önemli faktör  $\text{NO}$  ile oksihemoglobin arasındaki tepkimedir. Oksihemoglobin ve oksimyoglobin büyük bir hızla  $\text{NO}$  ile tepkimeye girerek  $\text{NO}$ 'i inert bir form olan nitrata oksitler.  $\text{NO}$ 'in oksihemoglobin tarafından nitrata oksidasyonu  $\text{NO}$ 'in katalizlenen bir inaktivasyonu olarak değerlendirilebilir. Bu tepkime sonucunda oluşan methemoglobin ise, methemoglobin redüktaz enzimi tarafından NADPH kullanılarak tekrar hemoglobine indirgenir (49,51).

#### 2.4.4. NİTRİK OKSİT'İN ETKİ MEKANİZMASI

5-hidroksi triptamin, endotelin, insulin, trombin, ATP, ADP, asetilkolin, bradikinin, epinefrin, norepinefrin gibi çok sayıdaki vazoaktif etkiye sahip hormon



veya hormon benzeri moleküller ve mekanik olarak kayma kuvvetinin artırılması endotel hücresindeki NO sentez ve salınımını artırır. Kayma kuvveti potasyum kanallarının aktivasyonuna neden olarak hiperpolarizasyona; hiperpolarizasyon ise hücre içine daha fazla  $Ca^{++}$  girişine neden olur. Aynı şekilde yukarıda sayılan humoral bileşiklerin çoğu endotel hücre reseptörlerinde fosfolipaz C enzimini aktive ederek hücre içi  $Ca^{++}$  derişimini artırır,  $Ca^{++}$  aracılığı ile eNOS enziminin aktivasyonu sağlanır, ve NO sentez ve salınımı artırılır. Sentezlenen NO çevre hücrelere kolaylıkla diffuse olur. NO'in çok sayıdaki hedefleri içinde en önemlisi guanilat siklaz enzimidir (42,49,51). Hücrelerde cGMP sentezini katalizleyen birbirinden farklı iki guanilat siklaz enzimi vardır. Aktiviteleri farklı mekanizmalarla kontrol edilen bu enzimlerden biri zarsal guanilat siklaz ve diğeri ise NO gibi yaygın bir sinyal molekülünün hedef proteini olan sitoplazmik (eriyebilir) guanilat siklazdır. NO salınımı damar düz kas hücresi, trombosit, nöronlar, ve diğere hücrelerde sitoplazmik guanilat siklazı aktive ederek hücre içi cGMP düzeyini artırır. NO'in endojen reseptörü muhtemelen guanilat siklazın hem parçasıdır. cGMP protein kinaz G'yi aktive eden ikincil mesajcıdır (42,51). cGMP artışı temel olarak hücre içi serbest  $Ca^{++}$  konsantrasyonu azalmasına neden olan farklı mekanizmalarla damar düz kasında gevşeme yapar. cGMP ile ilişkili gevşeme için farklı çeşitli mekanizmalar tanımlanmıştır.

1. cGMP ve cGMP bağımlı protein kinazın uyarılmış fosfolipaz c formasyonunu inhibe etme yeteneği ile inositol trifosfat üretimini inhibe etmesi.
2. cGMP bağımlı protein kinaz'ın  $Ca^{++}$  ATPaz'ı düzenleyici proteini fosforillemesi ile sarkoplazmik retikulumdan hücre içi  $Ca^{++}$  atılımının uyarılması.
3. Reseptör ilişkili  $Ca^{++}$  kanallarının inhibisyonu.
4. cGMP bağımlı protein kinaz aktivasyonu  $Ca^{++}$  taşıyıcıları, g protein, reseptör ve kanal proteinleri fosforilleyerek intraselüler  $Ca^{++}$  kompleksleri oluşturması.
5. Membran  $Ca^{++}$  ATP az pompasının aktivasyonu.
6.  $Ca^{++}$  ile aktive olan  $K^+$  kanallarının aktivasyonu ile  $K^+$  geçirgenliğinin artması, bu şekilde membran hiperpolarizasyonunun sağlanarak hücre içi  $Ca^{++}$  atılımının artması.
7. Miyozin hafif zincir defosforilasyonunu artırarak miyozin'i inaktif formda tutması (42,51).

NO'in damar gevşetici etkisinin bir kısmı cGMP'den bağımsızdır, etki doğrudan olup, NO iyon kanal proteinlerindeki tiyollerin S-nitrozasyonuna veya tiyollerin oksidasyonuna neden olarak iyon kanallarının aktivitelerini değiştirir, hücre içi  $Ca^{++}$ 'u azaltır. NO cGMP üzerinden benzer bir mekanizma ile trombosit agregasyonunda da önemli rol oynar. Aktive olan protein kinaz G trombositlere özgül bir protein olan 'vasodilatory-stimulated phosphoprotein', fosfolipaz c ve diğer proteinleri fosforile eder. Bu proteinlerin fosforilasyonu hücre içi depolarda  $Ca^{++}$  salınımını azaltarak agregasyonu inhibe eder. Yine merkezi ve periferel sinir sisteminde yaygın bir nörotransmitter olan NO, hücrel etkilerinde cGMP'yi ikincil haberci olarak kullanır. İmmunolojik veya inflamatuvar sitokinlerle aktive olan iNOS büyük miktarda ve birkaç gün devam eden NO üretir, NO oksidan çevrelerde ONOO<sup>-</sup> oluşumunu katalizler bu molekülün özelliği ile güçlü antimikrobiyal ve antitümoral etkinlik gösterir. Ayrıca aşırı NO üretimi mitekondriyal oksidatif zinciri enzimlerini inaktive ederek hedef hücrelerde apoptozisi indükler (42,45,49,51).

#### 2.4.5. NİTRİK OKSİT VERİCİLERİ

Vücutta önemli koruyucu, regülatuar görevleri olan NO'in yarı ömrünün çok kısa olduğundan dolaşımında taşınamaması ve genelde gaz halinde bulunması nedeniyle kullanımı son derece kısıtlanmıştır. Bu sorunu aşmak için düşük hızlarda NO salınımı yapabilen, oral yada intravenöz verilebilen çeşitli NO-vericisi bileşikler sentezlenmiştir. Günümüzde çok çeşitli farklı moleküllerden NO üretilebilmektedir. Bunların bazıları enzimatik reaksiyona gereksinim duyarken, bazıları diğer moleküllerle reaksiyonu sırasında spontan olarak NO üretmektedir (42,48,49,51).

#### A. ORGANİK NİTRATLAR/NİTROVAZODİLATÖRLER:

Nitrovazodilatörler heterojen bir kimyasal bileşikler olup, NO şeklinde salınabilen kimyasal grup yada gruplar içerirler. İlk kez 1857 de amil nitritin anjinal ağrıda kullanılması ile gündeme gelmişlerdir. 1879 da gliseril trinitrat (nitrogliserin) anjina pectoris tedavisinde kullanılmıştır (51). Organik nitratlardan nitrogliserin, izosorbid dinitrat, izosorbid mono nitrat, eritrit tetranitrat ve pentaeritriol etranitrat dil altı ve oral tabletler şeklinde kullanılmaktadır. Organik nitratların enzimatik metabolizması sonrası salınımı gerçekleşir. Enzimatik biyoaktivasyonda p450 sistemi ve tiyollerin rol aldığı kabul ediliyor olsa da mekanizma henüz

aydınlatılamamıştır. Organik nitratlar vazodilatasyon yaparak koroner kan akımını artırmaları nedeni ile stabil ve anstabil anjina, akut miyokard infarktüsü, koroner vazospazm, ve konjestif kalp yetmezliğinde sıklıkla kullanılmaktadır (42,47,48,51,58).

#### B. DİAZENYUMDİOLAT BİLEŞİKLERİ:

X-(Nükleofil)'in NO ile tepkimesi sonucu oluşan X-[N(O)NO] bileşikleridir. Genellikle sodyum tuzu şeklinde stabildirler ve toz şeklinde uzun süre saklanabilirler. Bu bileşikler enzimatik olarak metabolize edilmeden kendiliğinden bozunurlar ve mol başına 2 mol NO üretirler. Sulu çözeltilerdeki bozunumları H<sup>+</sup> tarafından katalizlenir. Nötral pH'da birinci dereceden kinetik bir bozunumla NO salınımı gerçekleşir, 37 °C'deki yarı ömürleri sentezlenen türe bağlı olarak 2 saniye ile 20 saat arasında değişir. DEA/NO kısa yarı ömürlü, DETA/NO daha uzun süreli NO salınımı sağlar. Diazenyumdiolat bileşikleri DNA alkilizasyonu yapmaları nedeniyle invivo kullanımları uygun değildir, ancak invitro saf sistemlerde NO'in etkisini araştırmak amacıyla kullanılabilirler (51,56,58).

#### C. NİTROZOTİYOLLER:

Alkilnitritlerin bir grubu olan S-nitrozotiyoller stabil bileşikler olmayıp, özellikle hücrel koşullarda ortama NO salınımı yaparak bozunurlar. Fizyolojik koşullarda metal iyonları, süperoksit anyonu, S-transnitrozasyon tepkimeleri ve glutasyon peroksidaz tarafından bozunumları hızlandırılır. S-nitrozo-N-asetilpenisilamin (SNAP) nitrozotiyollerin ve NO'in etkilerinin çalışılmasında yaygın olarak kullanılan bir bileşiktir (42,51,58).

#### D.SODYUM NİTROPRUSSİT:

Vazodilatasyonda NO donörü olarak kullanılan maddelerden birisi de SNP'dir. Nitrik asit ile ferrisiyanisin sodyum ve potasyum tuzlarının Fe<sup>+2</sup> atomu ile birleşmesinden meydana gelir. Işığa ve ısıya duyarlı olan bu molekül damar düz kası içinde spontan NO salınımı yaparak direkt etki ile arteriyol ve venülleri genişleterek periferik damar direncini ve venöz dönüşü azaltır, kan basıncında belirgin azalma yapar. Acil hipotansif durumlarda kan basıncını düşürmek için uzun süredir yaygın olarak kullanılmaktadır (51,58,59). SNP vücutta hızla siyanüre yıkılır ve kanda

büyük bir kısmı eritrositlerde toplanır. Siyanür beyin dahil tüm dokularda sitokrom oksidaz etkinliğini inhibe ederek sitotoksik tipte hipoksi yapar. Siyanür iyonu karaciğerde redonaz enzimi ile tiyosiyanat'a dönüştürülerek yavaş yavaş böbrekler tarafından vücuttan uzaklaştırılır (59,60). SNP'nin NO salınımı yaparak trombonini indüklediği trombosit agregasyonunu inhibe eden 6-keto-prostoglandin  $F_{1\alpha}$  düzeylerini artırdığı bildirilmiştir. 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{saat}$  dozunda SNP infüzyonunun fare serebral arteriyol ve venüllerinde kayma hızını etkilemeden trombüs oluşumunu önlediği, damar çapını ve ortalama eritrosit hızını artırdığı gösterilmiştir (61).

#### E. L-ARJİNİN:

Çocukluk çağının esansiyel bir aminoasitidir. Farklı ve önemli enzimler için substrat görevi görür. Üre siklusunda arjinaz tarafından katabolize edilen L-arjininden, arjinin dekarboksilaz enzimi ile de  $\alpha^2$  adrenoreseptörler için endojen agonist olan agmantine sentezi gerçekleştirilir. Agmantinin yolağı ile L-arjininden NO oluşumu haricinde antihipertansif etkinlik yapabileceği belirtilmiştir. Agmantine resöptörlerinin damar düz kas hücre büyümesinde negatif düzenleyici rol oynayabileceği düşünülmektedir. Agmentine ve onun metaboliti olan hidroksiagmantine NO aracılıklı endotel kaynaklı relaksasyon sağlarlar. Agmantine ve hidroksiagmantinin NO biyosentezinde alternatif prekürsör olabileceği belirtilmiştir. Bu bilgilerde L-arjinin aktivasyon mekanizmasının karışık olduğunu göstermektedir (42). Sağlıklı insan ve hayvan modeli çalışmalarında L-arjinin infüzyonunun hipotansiyon oluşturduğu, ateroskleroza yavaşlattığı, endotel bağımlı relaksasyonu düzelttiği, total periferik direnci azalttığı, kalp hızını ve kardiyak outputu arttırdığı gösterilmiştir. L-arjinin'in tüm bu etkilerinin NO üretimini artırarak ve NO salınımını ve L-arjinin'in hipertansif hastalarda nöroendokrin hormon salınımını düzenleyerek sağladığı düşünülmektedir (42,51,58).

#### 2.4.6. NİTRİK OKSİT'İN ERİTROSİT ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

NO eritrosit membranın çeşitli bileşenleri, hemoglobin, hemoglobinin beta zinciri 93. aa olan sistein ile etkileşime girebilmektedir. Eritrositlerde eNOS ve iNOS izoformları bulunmaktadır, bu enzimler sayesinde eritrositler kendi NO'lerini sentezleyebilirler. Petrov ve arkadaşları tarafından eritrositlerde parçacıklı ve eriyebilir guanilat siklaz, fosfodiesteraz enzimlerinin varlığı gösterilmiştir (62,63).

Bu nedenle eritrosit içinde NO sentezlenmesinin eritrositlerin fizyolojik davranışlarını düzenleyebileceği ve aynı şekilde intraselüler ve ekstraselüler NO kaynaklarında eritrosit davranışlarını etkileyebileceği düşünülmüştür. Korbut ve arkadaşları NO'nun eritrosit deformabilitesi ve agregasyonunda düzenleyici etkisi olabileceğini ileri sürmüşler ve bu etkisinin doz bağımlı olduğunu göstermişlerdir (10). Aynı yazarlar septik şok'ta ve endotoksemik farelerde ise NOS inhibitörü'nün eritrosit deformabilitesinde koruyucu olduğunu göstermişlerdir (64,65). Sepsiste iNOS tarafından aşırı miktarda NO üretiminin eritrosit deformabilitesi, agregasyonunu artırdığı ve sistemik hipotansiyona neden olduğu septik hastalar ve hayvan modelleri ile gösterilmiştir (66,67). Bor-Küçükataç ve arkadaşları NOS inhibitörleri N-omega-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ve S-metil-izotioüre (SMT) ile inkübasyonun eritrosit deformabilitesini azalttığını ve NO vericileri (SNP ve DETA NONOate) ile inkübasyonun NOS inhibitörlerinin bu etkisini geri çevirdiğini tespit etmişlerdir. Sonuçta NO'nun eritrosit deformabilitesini belirgin şekilde etkilediğini ve normal eritrosit deformabilitesinin sağlanması ve korunmasında NO'nun düzenleyici bir rolü olduğunu belirtmişlerdir (11).

NO'nun hemoglobinin hem grubu demirlerine bağlanması ile nitrozilhemoglobin, bu proteindeki tiyol gruplarının reaktif NO türleri ile tepkimesi ile de S-nitrozohemoglobin oluşur. Bu tepkime sıklıkla hemoglobinin 93. aa'yi sistein ile gerçekleşir (51). Hemoglobinin hem demirine bağlı NO ile 93. aa sistein'e bağlı NO arasında denge vardır. Venöz kanda ve kapillerde nitrozodeoksihemoglobin ( $Hb(Fe^{2+}+NO)$ ) derişimi yüksek iken, arter kanında ise S-nitrozooksihemoglobin ( $SNO-Hb(Fe^{2+}+O_2)$ ) derişimi yüksektir. Deoksi-formundaki  $Hb(Fe^{2+}+NO)$  akciğere gelince, oksijenin yüksek parsiyel basıncı ile konformasyonu değişir ve  $SNO-Hb(Fe^{2+}+O_2)$  formuna dönüşür. Dolaşım sırasında prekapiller sistemik direnç damarlarında  $SNO-Hb(Fe^{2+}+O_2)$ 'den salınan NO kan damarlarını genişleterek kan akımı ve oksijenizasyonu sağlar (41,51,68).

## 2.5. AFEREZ

### 2.5.1 AFEREZ TERMİNOLOJİSİ

Aferезis yunanca kökenli bir kelime olup geniş olarak alma, uzaklaştırma anlamına sahiptir. Aferезis ve hemaferезis genellikle eş anlamlı kullanılırlar fakat

sıklıkla tercih edilen kelime aferez olmaktadır. Aferaz günümüzde tam kanın uzaklaştırılması, çeşitli bileşenlere ayrılması, bir veya daha fazla bileşenin toplanması ve/veya değiştirilmesini içeren pek çok sayıdaki işlemde söz etmek için kullanılır (69,70).

Aferaz uygulamaları hastalara ve sağlıklı donörlere yapılabilmektedir ve iki amaçla uygulanır

1. Donör Aferezi; kan komponenti gereksinimi olan hastalara vermek için sağlıklı donörlerden selektif olarak spesifik komponent ayrıştırılması ve komponent hazırlanmasıdır.
2. Terapötik Aferez; hastadan tedavi amaçlı kandan selektif olarak kan komponentlerinden bir kısmının uzaklaştırılmasıdır (69,71,72).

Diğer bir sınıflandırma ise aferez sırasında uzaklaştırılan komponente, yapılan işleme göre sınıflandırmadır. 3 ana bölümde toplanır (69,70,72).

#### A. SİTAFEREZİS:

Sitaferaz dolaşımında bulunan hücresel elemanların uzaklaştırılması veya toplanması amacıyla uygulanan işlemin genel adıdır

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

- Terapötik lökoferez: Periferik kandaki beyaz küre sayısının aşırı derecede arttığı durumlarda (kronik ve akut lösemiler), bu sayı özellikle 100000 – 200000 / $\mu$ L üzerinde ise hastalarda lökostat, lösemik infiltrasyon, lösemik trombus ve agregatlara yol açabileceği için bunları önlemek amacıyla lökositleri uzaklaştırmak için yapılan işlemdir.

- Granülosit Aferezi: Uzayan nötropenilerde fatal enfeksiyonların tedavisi amacıyla ile sağlıklı donörlerden granülosit toplanması işlemine denilir. Sık kullanılan bir yöntem değildir.

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

- Lenfosit Aferezi: Allojenik hematopoietik hücre nakli sonrası donör lenfosit infüzyonu amaçlı veya koruyucu bağışık yanıtın cevap vermediği ana dokunun

tahribatı ile sonuçlanan hastalıkların tedavisinde lenfositlerin uzaklaştırılmasıdır. Romatoid artrit ve multipl sklerozda kullanılmaktadır (69,70,72,73).

A.2- Eritrosit Aferezi: Esas olarak orak hücreli anemide doku perfüzyonunun düzeltilmesi ve yenidoğanın hemolitik anemisinde uygulanan eritrosit exchange'i esasına dayanan bir yöntemdir (70,72,73).

A.3- Trombosit Aferezi:

- Terapötik Trombosit Aferezi: Trombosit sayısının artışı özellikle 1000000/ $\mu$ L üzerinde olduğu kanama ve trombozla seyreden kronik myeloproliferatif hastalıklarda trombositleri uzaklaştırmak amacı ile uygulanan yöntemdir.

- Donör Trombosit Aferezi: Özellikle trombositopeni nedeni ile kanama riski yüksek lösemi hastalarında transfüzyon amacıyla sağlıklı donörlerden konsantre trombosit hazırlanmasıdır (69,70,72,73).

## B. KOMPONENT DEĞİŞİMİ:

- Terapötik Plazma Değişimi: Bazı hastalıkların patogeneğinde etken olan plazma bileşenlerinin büyük hacimlerde hastadan alınması ve bunun yerine replasman sıvısının konması işlemidir. Plazma değişimi kontrollü çalışmalarda hiperviskozite sendromu, kriyoglobulinemi, myastenia gravis, Guillain Barre sendromu, kronik inflamatuvar demyelizan polinöropati, homozigot familial hiperkolesterolemi, good pasture sendromu, refsum hastalığı, posttransfüzyon purpura, ve trombotik trombositopenik purpurada kesin olarak etkili bulunmuştur (69,72).

## C. İMMUNOTERAPİ/PLAZMAMODULATUAR TEDAVİ:

Burada selektif olarak toplama/temizleme işlemi gerçekleşir

C.1- İmmunadsorbsiyon: Özel kolonlar kullanılarak hastaların plazmalarından patolojik antikorlar ve immun komplekslerin uzaklaştırılması işlemidir (69).

C.2- LDL Aferezi: Homozigot familial hiperkolestorelemi'de çeşitli yöntemler (immunadsorbsiyon, adsorbsiyon, presipitasyon) kullanılarak plazmadan LDL'nin uzaklaştırılmasıdır (74,75).

C.3- Kaskad Filtrasyon: Çift filtre kullanılarak yapılan plazma filtrasyonu (69)

C.4-Fotoferez: Bir başka tanımla ekstrakorporeal fotokemoterapi (fotoimmunoterapi) yeni bir tedavi yöntemidir. Basit olarak psöralen ile etkileşime

girmiş periferik kan mononükleer hücrelerin ultraviyole-A (UVA) ile ışınlanmasıdır. Psöralen ve UVA birlikte hücre mitoz inhibisyonu, T hücrelerinde antijenik değişim, monositlerden TNF alfa salınımı ve dentritik hücre modifikasyonu yaparak terapötik etkinlik sağlar. Kullanımı ilk kez derinin T hücreli lenfomasında gündeme gelmiş, gidrek otoimmün hastalıklar, transplantasyonda rejeksiyon ve ‘graft-versus-host’ hastalığı ve tedavinin problem olduğu daha birçok klinik durumda kullanılmaya başlanmıştır (75,76).

Her geçen gün kanda bulunabilecek değişik patojen maddelerin uzaklaştırılması için yeni aferez yöntemleri geliştirilmekte ve uzaklaştırılan maddeye göre isim verilmektedir.

### 2.5.2. TARİHÇE

İlk deneysel aferez 1660 yılında Dr. Richard Lower tarafından Oxford'ta köpekler kullanılarak manuel yöntemle denenmiştir (69,70). 1914 yılında Abel ve ekibi santrifüjleme yoluyla kan bileşenlerinin ayrılmasının ilk uygulamasını yapmıştır. Bu araştırmacılar üremik köpeklerde hayatta kalmanın plazma değişimi işleminin ardışık flebotomi oluşturarak olumlu etkisi olabileceğini gösterdiler (77). Daha sonraları santrifüj yöntemi ile kan komponentleri ayrılmaya başlandı. 1962 yılında hemaferez makineleri gelişmeye başladı. Bu makinelerde donör ya da hastanın kanı pompa yardımıyla alınıp makine içinde santrifüjleme metoduyla tam kanın ayrımı yapıyordu. Aynı yıllarda Soloman ve Fahey hiperviskozite sendromu olan bir hastada terapötik plazmaferez uyguladılar ve tıp dünyasında terapötik aferez dönemini başlattılar. 1966'da gerekli plastik kan torbaların ve bağlantı sistemlerin geliştirilmesi ile ve santrifüjlemenin kullanılması ile tek oturumda komponent ayrımı sağlandı (77). 1971 yılında Dr. Cohn ve ekibi tarafından ilk otomatik trombosit aferezi, bir yıl sonra da Mr. Judson tarafından ilk lökoferez işlemi yapıldı. Yine aynı yıl Haemonetics (intermitant akım) Cobe ve Fenwall (devamlı akım) tarafından aferez cihazları piyasaya çıkmıştır. 1979'da ise bu cihazların daha gelişmiş modelleri olan ve bilgisayar programları desteğinde çalışan aferez cihazları kullanılmaya başlandı (69). 1980'lerin son yarısı boyunca ve 2000'lere doğru devamlı yeni teknolojiler tanıtıldı. Lipid aferezi için kullanılan aferez cihazları (LDL Aferezi,DALI), Fotoferez için ekstrakorporeal fotoimmunoterapi cihazı Therakos UVAR, immunadsorbsiyon uygulamaları için; Excorim, Prosorba, Immunosorba



cihazları geliştirildi. Günümüzde en sık kullanılan aferez cihazları arasında Cobe spectra, Fenwal CS3000 Plus, Fenwal Amicus, Haemonetics MCS, Haemonetics MCS Plus, Fresenius AS 104, Fresenius AS 204 yer almaktadır (69,77,78).

### 2.5.3. İŞLEM

Kanın komponentlere ayrılması kan hücrelerinin büyüklük ya da yoğunluklarının farklı özellikte olması esasına dayanılarak yapılır. Aferez üç temel işlem basamağından oluşur; kan komponentlerinin ayrılması, hedeflenen komponentlerin ayrılması ve son olarak ta geriye kalan komponentlerin donör/hastaya geri verilmesidir. Kan komponentlerini birbirinden ayırmak amacıyla çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Günümüzde kullanılan üç teknik mevcuttur (69,70,79).

#### A.SANTRİFÜJ İLE AYIRMA;

Bu teknikte kan komponentleri özgül ağırlıklarına göre birbirinden ayrılırlar. Bu işlem manuel olarak yapılabildiği gibi, aferez cihazlarında olduğu üzere otomatik olarak da yapılabilmektedir. Bir tüp içinde kan santrifüj edilecek olursa özgül ağırlıklarına göre hafiften ağıra doğru plazma, trombosit, mononükleer hücreler, granülosit ve eritrosit olarak sıralanır. Bu şekilde aferez cihazında santrifügasyon sonrasında ayrıştırılan kan komponentlerinden arzu edilen komponent plastik torbada toplanır, kalan komponent donöre/hastaya geri verilir (69,75,79).

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

gösterir. Bu cihazlar ile işlem süreleri daha kısa sürmekte ve vücut dışı kan hacimleri daha düşük olduğu için kardiyovasküler yan etkiler daha az izlenmektedir (69,71,75,79).

#### B. FİLTRASYON İLE AYIRMA;

Bu teknikle kan komponentleri büyüklüklerine göre birbirinden ayrılmaktadır. En küçük komponentleri (genellikle plazma) daha büyük komponentlerden (genellikle hücresel komponentler) ayırmak amacı ile içinde küçük delikler bulunduran yarı geçirgen membran kullanılır. Tam kan belirli basınç akımı ile belirli büyüklükte delikleri olan membrandan geçer, deliklerden daha küçük çapa sahip olan komponent membranın diğer tarafına geçmekte, çapı büyük olanlar ise iç kısımda kalarak ayrılma işlemi gerçekleşmektedir (79).

#### C. ADSORBSİYON İLE AYIRMA;

Tam kan ya da plazmadaki hastalığa yol açan patolojik yapıların uzaklaştırılmasıdır. Santrifüj ve filtrasyon yöntemlerine affinite kromatografi prensibi eklenerek spesifik zararlı yapılar vücut dışına alınır. Bu sistemde bir matriks içinde bulunan antijen, antikor, dextran sülfat ya da heparin gibi maddeler kandaki spesifik yapıları bağlayarak uzaklaştırır (79).

#### 2.5.4. HAEMONETİCS MCS 3p CİHAZI

Çalışmada trombosit aferezi için Haemonetics MCS 3p cihazı kullanıldığı için cihazın çalışma mekanizması hakkında bilgi verilecektir. Haemonetics MCS 3p Haemonetics V-50'den sonra çıkan Haemonetics marka kan işlemcilerinin mikroişlemcili bir sonraki nesillerinden birisidir. Plazmaferez, trombosit aferezi, sitoferez, plazma değişimi ve mononükleer kök hücre toplanması işlemlerini yapabilen taşınabilir özellikte aralıklı akım prensibi ile çalışan bir aferez cihazıdır. Kan komponentlerini ayırmak için kullanılan Latham kabı üç bölümden oluşmaktadır; hareketsiz tüp, dönen koni şekilli kase ve diğer ikisini birbirine bağlayan dönen kaçak önleyicisi. Antikoagulan pompası ile antikoagüle olmuş tam kan hareketsiz olan tüpe girip, kabın tabanına doğru ilerler ve burada iki konik yüzey arasından geçer. Burada santrifüj kuvveti, kırmızı kürelerin en dışta, daha sonrasında beyaz kan hücreleri ve trombositlerden oluşan ve Buffy Coat olarak isimlendirilen ince

katman, daha sonra plazma ve en son olarak da merkeze en yakın olarak steril havanın bulunduğu vertikal katmanlar meydana getirir. Tam kan kabın içine girmeye devam ettikçe, konik şekil ve G-kuvveti nedeni ile daha hafif olan komponentler yukarıya ve kabın merkezine doğru itilir. Kabın çıkış noktası tepesindedir, ilk önce kaptan steril hava çıkarken, bunu sırasıyla plazma, trombositler, beyaz küreler ve kırmızı küreler takip eder. Kırmızı ve beyaz kürelerden fakir trombosit veya kırmızı kürelerden fakir mononükleer hücrelerin toplanması için kabın optik aksamı buffy coat kasesinin tepesinde iken bunu farkeder, mikroişlemci çıkış hattı algılayıcısını harekete geçirir, donörden kan akımını durdurur ve hızlı bir şekilde dönmekte olan kabın içine plazma pompalar. Plazma hücreler ve buffy coat arasından süzülür ve kaptan çıkarken hat algılayıcısındaki optik dansite detektörü ile ölçülür. Optik dansiteler değiştikçe, mikroişlemci kaptan çıkanları uygun torbalara doldurmayı amacı ile kapakçıkları açar ve kapar. Kapta sadece kırmızı küreler kalınca sanrifügasyon durur, ve kan pompası otomatik olarak tersine hareket ederek istenmeyen komponentleri hastaya/donöre geri pompalar, ağırlıklı bir monitör tarafından kabın boş olduğu algılandığında, cihaz bir sonraki döngü için toplamaya başlar. Aferez esnasında vücut dışı kan hacmi donör/hastanın hematokriti, kas boyutları ve işlem sırasındaki yere göre oldukça değişkenlik gösterir. İki farklı kase bulunmakta olup, bunlar standart 225 ml ve 125 ml'lik pediatrik kasedir. Standart kasede %34 hct'de yaklaşık 602 ml, %54 hct'de yaklaşık 391 ml vücut dışı kan hacmi bulunur (75,78,80).

#### 2.5.5. DONÖR AFEREZİ KOMPLİKASYONLARI

Her alanda olduğu gibi aferez işlemlerinde de komplikasyonlarla karşılaşılır. Komplikasyonların gelişmemesi için donörün işlem öncesi ayrıntılı değerlendirilmesi büyük önem taşır. Aferez teknolojisinin gelişmesi de donör komplikasyonlarında belirgin azalma sağlamıştır (81).

Sitrat etkisi: Aferez işlemlerinde antikoagülasyona ihtiyaç duyulur.  $Ca^{++}$  iyonu şelasyonu yapan ve  $Ca^{++}$ 'a bağımlı pıhtılaşma faktör reaksiyonlarını bloke eden sitrat iyonu aferezde seçilen antikoagülan ajandır. Sitrat infüzyonu ile ortaya çıkan iyonize  $Ca^{++}$ 'daki azalma sitrat yan etkilerinden sorumludur. Tipik bir trombosit aferezi işlemi iyonize  $Ca^{++}$  da %25-30 oranında azalma ile sonuçlanır. İnfüze edilen sitratın

dilüsyonu, yeniden dağılımı, karaciğerde metabolize edilmesi ve böbreklerden atılımı organizmayı aşırı hipokalsemiye karşı korur. Genellikle aferez sırasındaki geçici hipokalsemi iyi tolere edilir. Farklı çalışmalarda sitrat toksisitesi donörlerin sadece %8-25'inde görülmüştür. Günümüzdeki gelişmiş cihazlarla daha az sitrat kullanılmakta ve bazı cihazlarda kan hacmi hesaplamaları ile sitrat dozu ve hızı otomatik olarak sınırlandırılmaktadır, dolayısıyla günümüz teknolojisi ile sitrat toksisitesi çok azalmıştır. Göreceli artmış sorunlar aralıklı akım sistemleri kullanan cihazlarda daha sıktır. Geçici hipokalsemiye bağlı donörlerde peroral ve/veya periferik pareteziler, bulantı baş dönmesi ve kasılmalar görülebilir, ağır olgularda karpopedal spazm, tetani görülebilir. Hafif olgularda tedavide total kan akış hızı veya tüm kana eklenen sitrat hızı cihazda düşürülmelidir, uyuşma artar bulantı gelişirse semptomlar geçinceye kadar işleme ara verilebilir, karpopedal, tetani bulgularında parenteral  $Ca^{++}$  verilmelidir. Oral  $Ca^{++}$ 'un aferezden önce ve sırasında etkinliği gösterilememiştir (81,82).

Hemodinamik etkiler: Devamlı akım cihazlarına göre aralıklı akım cihazları daha fazla hemodinamik bozukluk yaratırlar. Basit bir trombositaferezinde oldukça küçük net volüm açığı (yaklaşık 300 ml plazma) 60-100 dakika içinde ortaya çıkar. Dolaşan volumün azalması hipotansiyon gelişmesine neden olabilir. Azalmış dolaşan volüme kompensatuar cevap olarak kardiyak debiyi artırmak ve doku perfüzyonunu devam ettirmek için otonomik sempatik aktivite ile kalp hızı artırılır. Semptomatik donörde işleme ara verilip donör trendelenburg pozisyonuna getirilerek kan basıncı yükseltilmeye çalışılır. Gereğinde kristaloid kullanılır (69,81,82). Trombosit aferezi donörleri üzerinde yapılan uzun dönem çalışmalar, sık donasyonun donörün iliği üzerine olan kötü etkisinin minimal olduğunu göstermiştir. Seri donasyonlarda hemoglobin, trombosit sayısı ve lökosit sayısında anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (81).

Damar yolu problemleri: Damar yolu girişimleri ile ilişkili problemler sık görülür. Sağlıklı donörlerde uzun süreli kateter giriş yeri yoktur ve periferik venöz girişim tercih edilir. Aferez işleminin uzun süreli olması ve büyük iğne varlığı nedeni ile venöz giriş yerinde anjiospazm, tıkanıklık, işlem sonrasında hematoma oluşumu, enfeksiyon gelişebilir (69,81).

Vazovagal reaksiyonlar: Kan donasyonunda görülen en sık reaksiyonlar olan vazovagal reaksiyonlar aferez sırasında ve sonrasında ortaya çıkabilir. Emosyonel stres, iğne veya kan korkusu parasempatik cevabı tetikleyerek kalp hızını ve kan basıncını azaltır. Donörde solukluk, terleme, huzursuzluk, başdönmesi, hipotansiyon ve bardikardi gözlenir. Bu ataklar donörü supin pozisyonunda trendelenburg pozisyonuna getirerek tedavi edilebilir. Atak tamamen düzeline kadar da işleme son verilir. İzotonik solüsyonlar yaralı olabilir (69,81,82).

Yukarıda sayılan komplikasyonların dışında donördeki anksiyeteye bağlı hiperventilasyon, respiratuar alkaloz görülebilir, torbaya solutularak tedavi edilebilir. Çok çok nadir olarak aferez cihazındaki problemlere bağlı olarak hemoliz ve hava embolisi de görülebilir (81,82).

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Kasım 2005 – Şubat 2006 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kan Bankasına donör trombosit aferezi için başvuran sağlıklı, gönüllü, erişkin yirmi erkek alındı. Deneysel kısım Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı.

#### 3.1. DENEY PROTOKOLÜ

Donör trombosit aferezi için başvuran sağlıklı gönüllü erkeklerin, anamnez, fizik muayene ve serolojik olarak donör trombosit aferezi için uygun olduğu saptandıktan sonra, Haemonetics MCS 3P cihazı ile bu kişilerden aferez trombosit süspansiyonu hazırlandı. Trombosit aferezi işlemi öncesinde ve işlemden 15 dk sonra farklı üç tüpe toplam 12 cc venöz kan örnekleri alındı. Etilen-Diamin-Tetra-Asetik Asit (EDTA) (EDTA/K2 1.8 mg/ml vacutainer – BD)'li tüpe alınan venöz kan örnekleri hematolojik parametreler ve hemoreolojik parametrelerin (eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu, tam kan ve plazma viskozitesi) ölçümleri için; 9NC koagülasyon sodyum sitrat %3,2 içeren tüpe alınan venöz kan örneği fibrinojen ölçümü için; düz tüpe alınan venöz kan örnekleri biyokimyasal parametrelerin ölçümleri için kullanıldı. Venöz kan örnekleri alındıktan sonra yarım saat içinde hemoreolojik parametreler bekletilmeden çalışıldı. Sekiz kişilik alt bir grupta aferez sonrasında 1 ml EDTA'lı eritrosit süspansiyonları 1 saat süresince oda ısısında karanlık bir ortamda NO vericisi  $10^{-6}$  M SNP ile inkübe edilerek, eritrosit deformabilitelerine tekrar bakıldı. Trombosit aferezi işlemi uygulanan donörlerin boy, kilo, sigara içimi, yaş, kan basıncı değerleri kaydedildi.

#### 3.2. HEMATOLOJİK PARAMETRELER

Trombosit aferezi işlemi öncesi ve sonrasında kan örneklerinde trombosit, hemoglobin, hematokrit, ortalama eritrosit hacmi (OEH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (OEHK), kırmızı küre dağılım aralığı (RDW) değerleri hematoloji laboratuvarında Beckman Coulter LH 700 serisi hematoloji analizörü kullanılarak saptandı.

### 3.3. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER

Trombosit aferezi işlemi öncesi ve sonrasında 15. dakikada alınan kan örneklerinde serum glukoz, kolesterol, trigliserid, albumin, total protein değerleri Roche – Hitachi Modular (PE) cihazı ile otomatik olarak ölçüldü.

#### 3.3.1. FİBRİNOJEN

Sodyum sitratlı kan örneklerinde trombosit aferezi işlemi öncesi ve sonrasında serum fibrinojen düzeyleri Diagnostica Stago STA Compact tam otomatik koagülometre cihazı kullanılarak saptandı.

### 3.4. HEMOREOLOJİK PARAMETRELER

#### 3.4.1. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

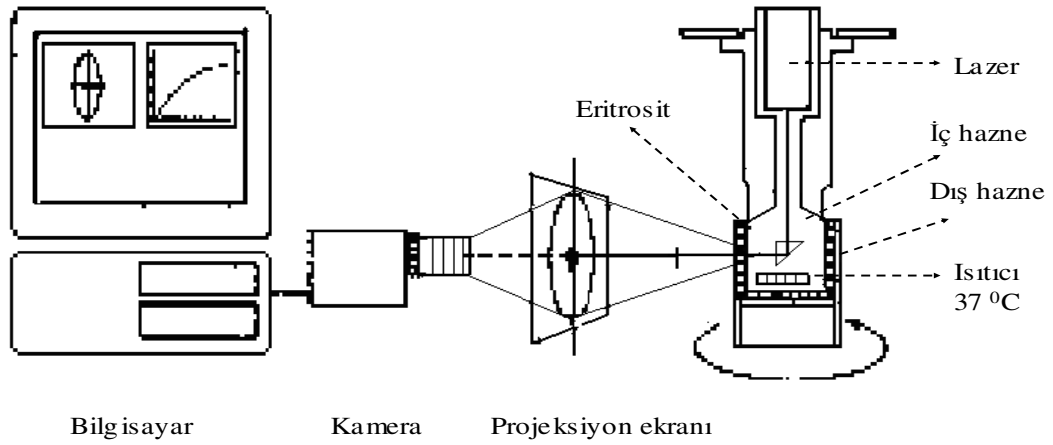
Eritrositler artan kayma kuvvetlerine paralel olarak dairesel formdan giderek uzayan elipsoid forma dönüşürler, eritrosit deformabilitesi'nin bir göstergesi olan bu şekil değişikliği Elongasyon İndeksi (Eİ, uzama indeksi) olarak adlandırılır. Eritrositlerin Eİ'i basit bir formülle hesaplanabilir (19).

$$EI = \frac{(A - B)}{(A + B)}$$

A = Eritrositin vertikal çapı  
B = Eritrositin horizontal çapı

Bu çalışmada 25.02 milipascal (mPa) viskoziteye sahip 2 ml Polyvinyl pyralidone çözeltisi içinde hazırlanan 10 µl tam kan süspansiyonu içindeki eritrositlerin Eİ'leri, 0.30 pascal'dan (Pa) 30 Pa'a kadar farklı kayma kuvvetleri altında hesaplandı. Eİ'lerinin hesaplanması otomatik olarak farklı kayma kuvvetleri oluşturabilen ve ölçüm yapabilen Laser-Işınlı Optik Rotasyonel Hücre Analizörü olarak adlandırılan LORCA (Laser-Assisted Optical Rotational Cell Analyzer) cihazı ile gerçekleştirildi (Şekil-2). IBM uyumlu bir bilgisayar ve yazıcı içeren LORCA sistemi silindirik yapıda içiçe, iki küvet sistemine sahiptir. Silindir küvetler arasında bulunan 0.3 mm'lik boşluğa flaş kanalı ile bağlantılı olan bir bölmeden gerek manuel olarak gerekse bir pompa yardımı ile 1.5 ml test süspansiyonu konabilmektedir. Işık kaynağı 640 nm, 4mW'luk diode lazer ışını olup, bir prizma yardımıyla hasasiyet sensörü ve 37 °C'e ayarlanmış sıcaklık kontrol ünitesinden geçerek, iç silindire

düşürölür ve süspansiyondaki eritrositlerin Őekilleri projeksiyon ekranına yansıtılır. İki silindirin arasındaki boşluğa doldurulan eritrosit süspansiyonu, dıştaki cam silindirin sistemi kontrol eden bilgisayar programı tarafından, uygun kayma kuvvetlerini oluşturmak üzere hesaplanan bir hızda döndürölmesi ile bu kuvvetlerin etkisinde bırakılarak, eritrositlerde Şekil değişikliği oluşturulur. Lazer ve kamera sistemi ile görölntölünen eritrositlerin EI'i yine aynı program tarafından otomatik olarak hesaplanır ve sonuçları yazdırılır (27,66,83).



**Şekil - 2. Lorca Cihazı'nın Şematik Görölnüőü.** (Kaynak 84'den alınmıştır)

Uygulanan ortalama geometrik kayma kuvveti, bilgisayar programı tarafından aşağıdaki formöl ile hesaplanmaktadır.

$$y = \frac{2w (r_1^2 \cdot r_2^2)}{r^2 (r_1^2 - r_2^2)}$$

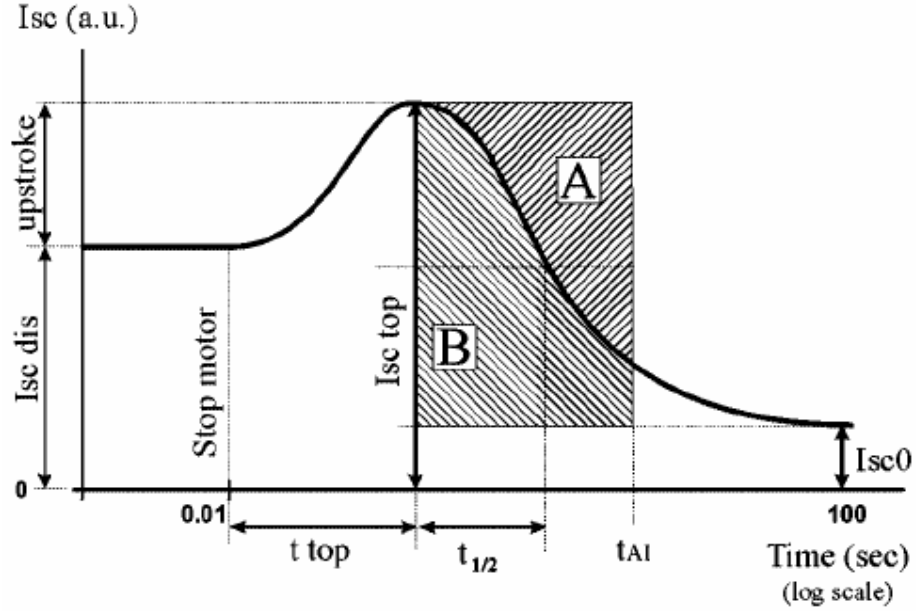
$w =$  açısalsal hız  $= 2\pi N/60$  ( $N=$  dönme sayısı/dk)  
 $r_1 =$  iç silindirin yarıçapı  
 $r_2 =$  dış silindirin yarıçapı  
 $r =$  boşluğun ortalama geometrik yarıçapı

### 3.5.2. ERİTROSİT AGREGASYONUNUN DEğERLENDİRİLMESİ

Eritrosit agregasyon ölçümleri de aynı LORCA cihazı ile gerçekteştirildi. Bu ölçümün esası lazer ışığının geriye saçılması ilkesine dayanmaktadır. Eritrositlere



tamamen birbirinden ayrılacak şekilde, ayarlanabilir bir kayma hızında, yeterli süre döndürme işlemi uygulandıktan sonra döndürme işlemi aniden durdurularak, elonge olmuş ve hıza uyum sağlamış eritrositlerin normal, bikonkav şekillerine dönmesi sağlanır, bu süreç laser ışığının geriye saçılan yoğunluğunda artışa neden olur, ve sonrasında agregasyon sürecinin başlaması ile laserin geriye saçılan yoğunluğunda azalma gerçekleşir. Bilgisayar programı yardımı ile laserin geriye saçılmasındaki bu değişikliklerin zamana karşı logaritmik bir eğrisi (Syllectogram) elde edilir (Şekil-3). Yine bilgisayar programı ile agregasyonun bir göstergesi olan agregasyon indeksi parametresi otomatik olarak hesaplanır (85).



Şekil - 3. Syllectogram. (Eritrosit agregasyonunun zamana karşı logaritmik eğrisi)  
(Kaynak 85'den alınmıştır.)

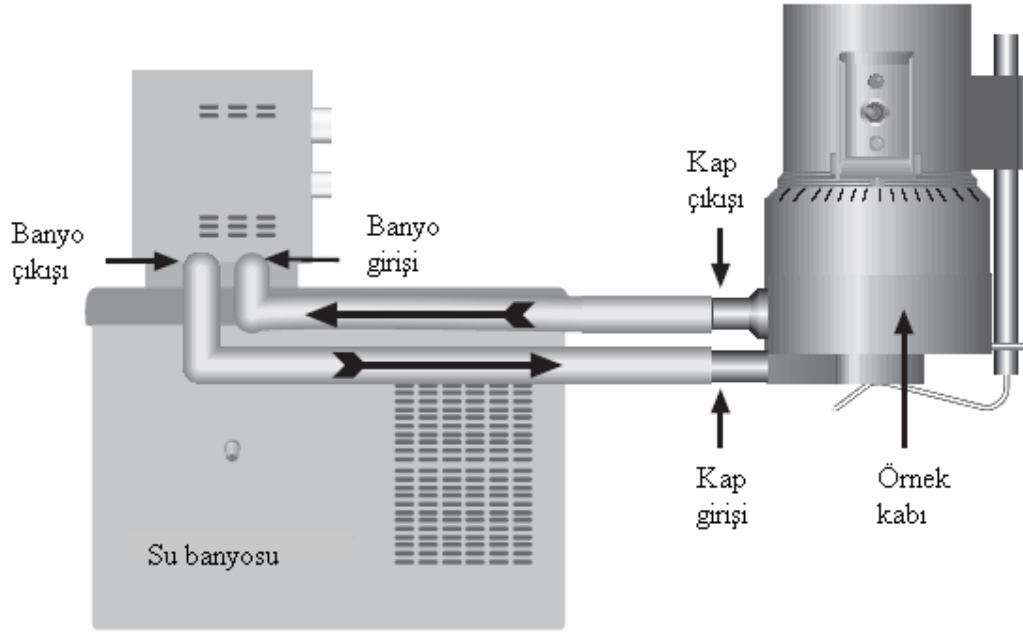
$$\text{Agregasyon İndeksi (AI)} = \frac{A}{A + B} \times 100\%, \text{ formülü ile hesaplanır}$$

(85).

Eritrosit agregasyonu ölçümü 2 ml EDTA'lı tam kan örnekleri ile yapıldı ve eritrosit agregasyonu ölçümü yapılmadan önce tam kan örneği 15 dakika boyunca ritmik hareketlerle karıştırılarak oksijenize edildi. Çalışmada tüm ölçümler 37 °C'de otolog hematokritte ve standart hematokrit (%40) değerine getirilerek yapıldı.

### 3.5.3. TAM KAN VE PLAZMA VİSKOZİTELERİNİN ÖLÇÜLMESİ

Tam kan ve plazma viskozitesi ölçümleri Brookfield DV-II + Pro Digital Viscometer marka viskozite cihazı ile yapıldı. Cihaz içine test örneğinin konduğu alet haznesi, bunun üzerinde dönme hızı ile farklı kayma kuvvetleri oluşturabilen motor miline monte edilebilen disk, alet haznesinin ölçüm cihazı ve su banyosuna giriş ve çıkış ile bağlı olduğu sistemden oluşmaktadır (Şekil-4). Çalışmada tam kan viskozitesi ölçümü 500 µl kan örneği, ve bu miktara uygun olan CP-40 no'lu disk kullanılarak 150 sn<sup>-1</sup> kayma hızında otolog ve standart hematokrit değerlerinde yapıldı. Plazma viskozitesi ölçümü de 150 sn<sup>-1</sup> kayma hızında 500 µl plazma kullanılarak yapıldı (86).



**Şekil – 4. Brookfield DV-II + Pro Digital Viskozimetresinin Şematik Görünüşü.**  
(Kaynak 86'dan alınmıştır.)

### 3.6. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmada donörlerden elde edilen örneklerden ölçülen parametreler, SPSS for Windows 11.0 paket bilgisayar programı kullanılarak, ortalamalar arası istatistiksel karşılaştırmalar Wilcoxon testi kullanılarak gerçekleştirildi. Anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edildi. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya alınan sağlıklı donörlerin hepsi erkek olup, yaş dağılımları 22 yaş – 48 yaş arasında değişiyordu ve ortama yaş 32,5 olarak saptanmıştır. Çoğunluğu A Rh(+) kan grubunda olan donörlerden, hiç B kan grubuna sahip donör yoktu ve bir kişi haricinde hepsi Rh(+) kan grubuna sahiptiler. Çalışmaya alınan sağlıklı donörlerin genel özellikleri Tablo 2’de özetlenmiştir.

**Tablo - 2. Tanımlayıcı Bulgular.**

		sayı	yüzde	Toplam
YAŞ	20 – 29 Yaş	7	% 35	20
	30 – 39 Yaş	10	% 50	
	40 ve üzeri	3	% 15	
VKİ *	20 – 24,9	7	% 35	20
	25 – 29,9	11	% 55	
	30 – üzeri	2	% 10	
KAN GRUBU	A Grubu	15	% 75	20
	AB Grubu	2	% 10	
	O Grubu	3	% 15	
SİGARA	İçiyor	12	% 60	20
	İçmiyor	8	% 40	

(\*: Vücut kitle indeksi)

Trombosit aferezi sonrasında beklenildiği şekilde donörlerin trombosit değerlerinde afererez öncesi değerlerine göre ortalama %16,7 (44850/mm<sup>3</sup> düzeyinde) oranında azalma saptanmıştır, fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0,001). Trombosit aferezi sonrasında hematokrit değerlerinde artış gözlenmiştir, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,05). Aferез öncesi ve sonrası hemoglobün, OEHK ve RDW değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmezken, aferез sonrasında OEH değerleri artmıştır, fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0,01).

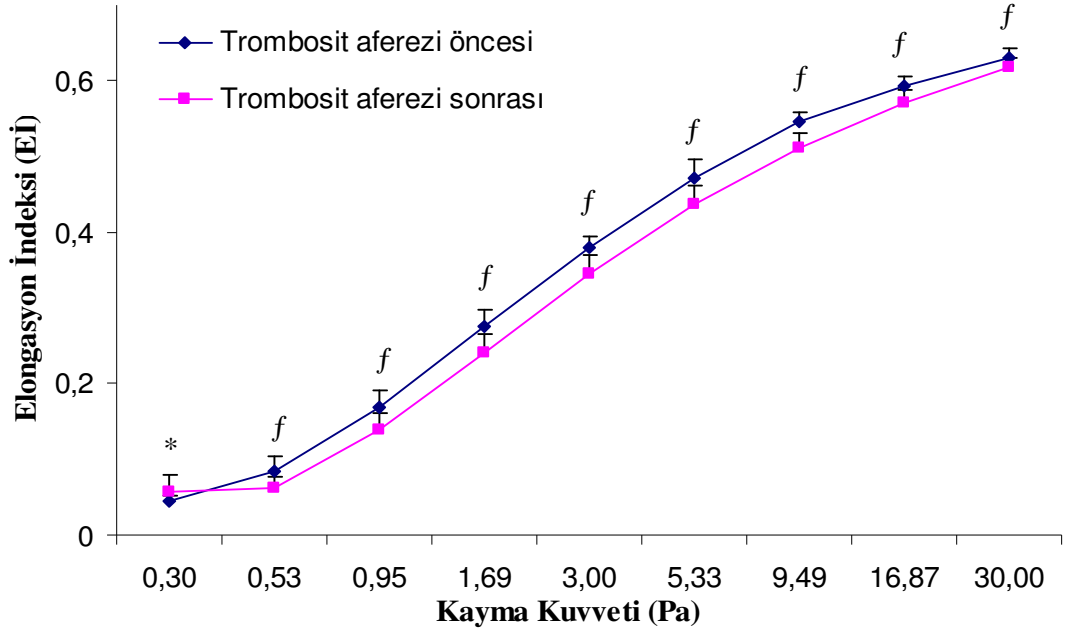
Biyokimyasal parametrelerden Total protein, total kolesterol, HDL değerleri belirgin olarak azalmıştır, fark istatikselsel olarak anlamlıdır ( $p<0,001$ ), trigliserid ve glukoz değerlerinde aferez öncesi ve sonrasında istatikselsel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Tablo 3'te trombosit aferezi sonrasında gözlenen hematolojik ve biyokimyasal değişiklikler toplu halde gösterilmiştir.

**Tablo-3. Hematolojik ve Biyokimyasal Değişiklikler.**

Parametreler	Trombosit aferezi öncesi Ortalama ( $\pm$ SS)	Trombosit aferezi sonrası Ortalama ( $\pm$ SS)
Glukoz (mg/dl)	107 ( $\pm$ 34,12)	104 ( $\pm$ 30,90)
T.protein (g/dl)	7,13 ( $\pm$ 0,48)	6,69 ( $\pm$ 0,54) <sup>f</sup>
Albumin(g/dl)	4,44 ( $\pm$ 0,27)	4,17 ( $\pm$ 0,32) <sup>f</sup>
T.kolesterol (mg/dl)	185 ( $\pm$ 32)	171 ( $\pm$ 32,5) <sup>f</sup>
Trigliserid (mg/dl)	215 ( $\pm$ 140)	220 ( $\pm$ 123)
Hemoglobin (g/dl)	15,55( $\pm$ 1,05)	15,75( $\pm$ 1,08)
Hematokrit (%)	45,13( $\pm$ 3,07)	45,83( $\pm$ 2,98) <sup>*</sup>
MCV (fL)	86,8( $\pm$ 2,82)	87,2( $\pm$ 2,7) <sup>z</sup>
Trombosit (mm <sup>3</sup> )	268300( $\pm$ 55277)	223450( $\pm$ 50395) <sup>f</sup>

(Ortalama  $\pm$  standart sapma; n=20, Trombosit aferezi öncesinden fark \*:  $p<0,05$ ; z:  $p<0,01$ ; f:  $p<0,001$ )

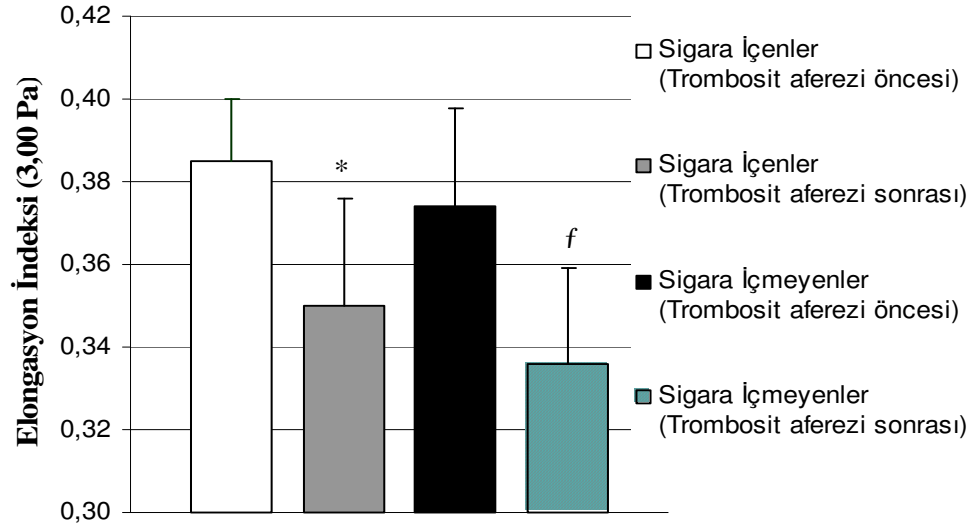
Trombosit aferezi öncesi ve sonrasında farklı dokuz kayma kuvvetlerinde (0,30 Pa–30,00 Pa) yapılan ölçümlerde, başlangıç ve en düşük kayma kuvveti olan 0,30 Pa kayma kuvveti dışındaki tüm kayma kuvvetlerinde eritrositlerin ortalama Eİ'i değerleri trombosit aferezi sonrasında azalmıştır, azalmalar istatikselsel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0,001$ ). 0,30 Pa kayma kuvvetinde ise trombosit aferezi sonrasında eritrositlerin ortalama Eİ'i değeri artmış bulunmuştur, fark istatikselsel olarak anlamlıdır ( $P<0,01$ ). Şekil 5'te trombosit aferezi öncesi ve sonrası farklı kayma kuvvetlerinde saptanan ortalama Eİ'i değerleri verilmiştir.



**Şekil - 5. Farklı Kayma Kuvvetlerinde Aferez Öncesi ve Sonrasındaki EI Değerleri.**

(EI; Ortalama  $\pm$  standart sapma; n=20, \*: Trombosit aferezi sonrasında fark,  $p < 0,01$ , f: Trombosit aferezi öncesinden fark,  $p < 0,001$ )

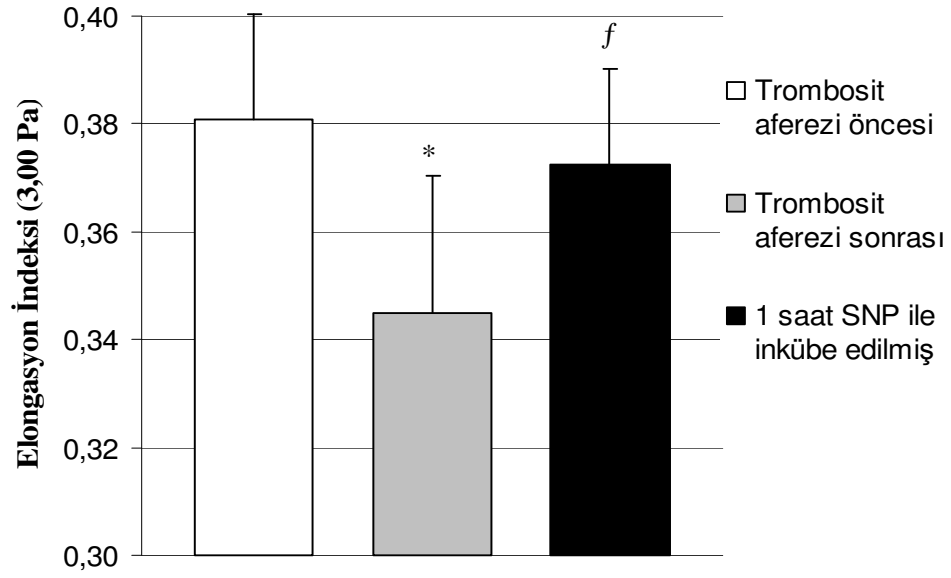
Trombosit aferezi donörleri sigara içenler (n=12) ve içmeyenler (n=8) olarak gruplandırıldığında, her iki grupta da trombosit aferezi sonrası eritrositlerin ortalama EI'i değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır. Sigara içen gruptaki donörlerin aynı kayma kuvvetlerinde aferez öncesi ve sonrasında saptanan eritrosit ortalama EI'i değerleri sigara içmeyenlere göre yüksek saptanmıştır, fakat trombosit aferezi sonrası EI'i değerlerinde içmeyenlere göre daha fazla azalma saptanmıştır. 3,0 Pa kayma kuvvetinde sigara içenlerde aferez öncesi eritrosit ortalama EI'i değeri  $0,385 \pm 0,01$ 'den aferez sonrasında  $0,350 \pm 0,02$ 'e gerilerken ( $p < 0,01$ ), sigara içmeyenlerde ise aferez öncesi ortalama EI'i değeri  $0,374 \pm 0,02$ 'den sonrasında  $0,336 \pm 0,02$ 'ye gerilemiştir ( $p < 0,05$ )(Şekil-6).



**Şekil - 6. Sigara İçimlerine Göre İşlem Öncesi ve Sonrasındaki Eİ'leri (3,00 Pa'da)**

(3,00 Pa kayma kuvvetinde Eİ; ortalama ± standart sapma; \*: Sigara içenlerde aferez öncesinden fark,  $p < 0,01$ ,  $n=12$ ; <sup>f</sup>: sigara içmeyenlerde aferez öncesinden fark,  $p < 0,05$ ,  $n=8$ )

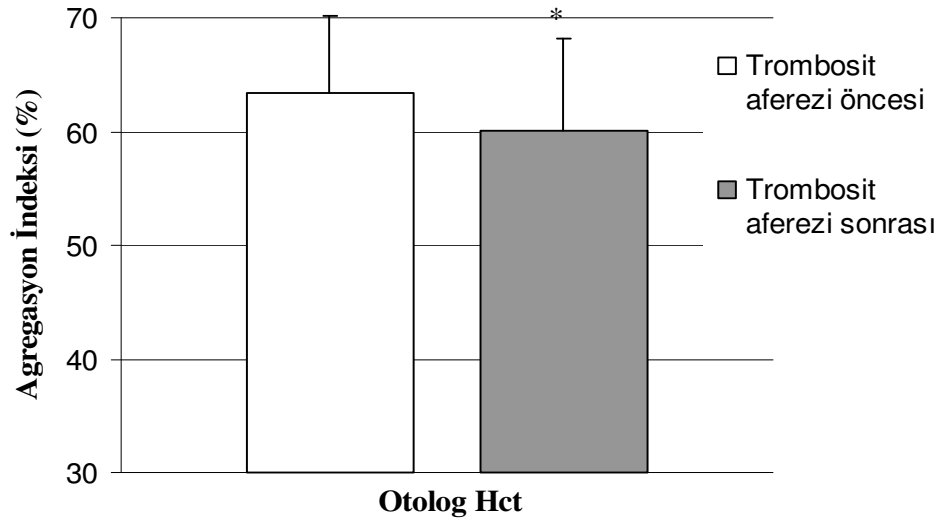
8 kişilik alt bir grupta trombosit aferezi sonrasında eritrositler 1 saat NO vericisi  $10^{-6}$  M SNP ile inkübe edildikten sonra aynı kayma kuvvetlerinde eritrositlerin Eİ'lerine tekrar bakılmıştır. Aferezin neden olduğu ortalama Eİ'i değerlerindeki azalmanın NO vericisi SNP ile inkübasyonla geri çevrildiği gösterilmiştir, ortalama Eİ'deki artış 0,30 Pa kayma kuvveti dışındakilerde istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). SNP inkübasyonu sonrası saptanan ortalama Eİ'i değerleri trombosit aferezi öncesi ortalama Eİ'i değerleri ile karşılaştırıldığında ise tüm kayma kuvvetlerinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $P > 0,05$ ). Şekil 7'de 3,00 Pa kayma kuvvetinde trombosit aferezi öncesi, sonrası, SNP ile inkübe edildikten sonra saptanan ortalama Eİ'i değerleri gösterilmiştir.



**Şekil - 7. 3,00 Pa Kayma Kuvvetindeki Ortalama Eİ Değerleri.**

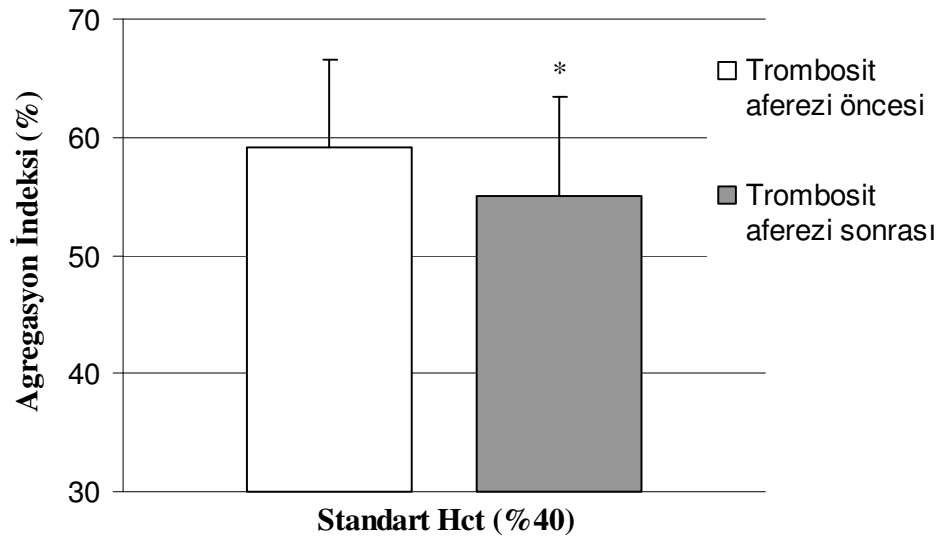
(3,00 Pa kayma kuvvetinde Eİ; ortalama  $\pm$  standart sapma; \*: Trombosit aferezi öncesinden fark,  $p < 0,001$ ,  $n=20$ ; f: Trombosit aferezi sonrasında fark,  $p < 0,05$ ,  $n=8$ )

Eritrositlerin agregasyonu değerlendirildiğinde, Trombosit aferezi öncesi otolog hematokrit'te agregasyon indeksi %  $63,31 \pm 6$ , aferez sonrasında ise %  $60,15 \pm 8$  saptanmıştır, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,01$ ). Standart hematokrit'te ise trombosit aferezi öncesinde agregasyon indeksi %  $59,08 \pm 7$ , aferez sonrasında %  $55,06 \pm 8$  saptanmıştır, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). Standart hematokrit'te otolog hematokrit'e göre agregasyon indeksinde daha fazla düşüş saptanmıştır (Şekil 8 ve 9).



**Şekil - 8. Otolog Hematokrit'te Agregasyon İndeksleri.**

(Agregasyon indeksi (%); ortalama, ± standart sapma; n=20, Aferez öncesinden fark \*: p<0,01)

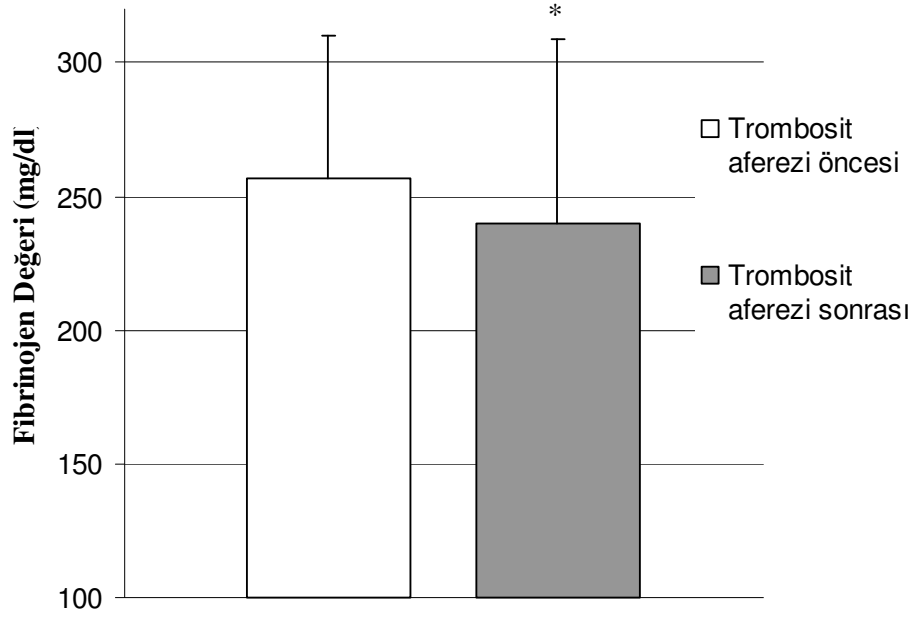


**Şekil – 9. Standart Hematokrit (%40)'te Agregasyon İndeksleri.**

(Agregasyon indeksi (%); ortalama, ± standart sapma; n=20, Aferez öncesinden fark \*: p<0,001)

Trombosit aferezi sonrasında ortama fibrinojen düzeyleri 256 mg/dl'den aferez sonrasında 239 mg/dl'ye düşmüştür, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,05) (Şekil- 10).





**Şekil – 10. Trombosit Aferezi Öncesi ve Sonrasında Fibrinojen Değerleri.**  
(Fibrinojen değeri (mg/dl); ortalama,  $\pm$  standart sapma; n=20, Aferez öncesinden fark \*: p<0,05)

Standart hematokrit'te trombosit aferezi öncesinde tam kan viskozitesi 4,42 cP'den trombosit aferezi sonrasında 4,36 cP'e gerilemiştir, fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır (P<0,05). Otolog hematokritte de tam kan viskozitesinde trombosit aferezi öncesine göre trombosit aferezi sonrasında azalma saptanmıştır, fakat fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Plazma viskozitesinde ise trombosit aferezi sonrasında hafif bir artış saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (Tablo 4).

**Tablo 4. Otolog, Standart Hematokrit ve Plazma Viskozitesi Ortalama Değerleri.**

	Trombosit aferezi öncesi	Trombosit aferezi sonrası
Otolog Hct		
Tam Kan Viskozitesi	4,83 $\pm$ 0,46	4,74 $\pm$ 0,38
Standart Hct (%40)		
Tam Kan Viskozitesi	4,42 $\pm$ 0,33	4,36 $\pm$ 0,42*
Plazma Viskozitesi	1,43 $\pm$ 0,14	1,47 $\pm$ 0,24

(ortalama  $\pm$  standart sapma; n=20, Trombosit aferezi öncesinden fark \*: p<0,05)

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada sağlıklı kişilere uygulanan trombosit aferezinin kanın reolojik özelliklerini etkilediği saptanmıştır. Aferez sonrasında olumsuz etki olarak eritrosit deformabilitesinin belirgin olarak azaldığı bulunmuştur. Alt bir grupta da NO vericisi SNP ile afereze bağlı azalmış eritrosit deformabilitesinin geri çevrilebildiği gösterilmiştir. Olumlu etki olarak da aferez sonrasında fibrinojen düzeyindeki azalma ile beraber eritrosit agregasyonunda azalma, tam kan viskozitesinde azalma saptanmıştır.

Günümüze kadar kanın reolojik özelliklerinin incelenmesi daha çok dolaşım sistemini etkileyen hastalıklar olan hipertansiyon ve diyabet üzerinde yoğunlaşmıştır (3,4,36,38). Aferez ve kan reolojisi ile ilgili yapılan çalışmalarda ise tedavi amaçlı farklı aferez methodları (plazmaferez, immunadsorpsiyon) ile yapılan terapötik lipid, özellikle de LDL aferezinin kan reolojisi üzerindeki etkileri araştırılmış ve tam kan viskozitesini azaltan olumlu etkileri vurgulanmış, eritrosit deformabilitesi değerlendirilmemiştir (87-90).

Aferezin eritrosit deformabilitesi üzerindeki direkt olumsuz etkisini araştıran çalışma yoktur. Afereze benzer şekilde vücut dışı kan dolaşımının gerçekleştiği kardiyopulmoner by pass, hemodiyaliz gibi durumlarda da yapılmış sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Yapılan bazı çalışmalarda eritrosit deformabilitesinin azaldığı belirtilirken bazı çalışmalarda ise eritrosit deformabilitesinin etkilenmediği vurgulanmıştır (8,9,91).

Aferez sınıflaması içinde yer almayan fakat bir tür aferez methodu olan ve vücuttan toksik maddelerin uzaklaştırıldığı hemodiyaliz'in eritrosit deformabilitesi ve lipid peroksidasyonu üzerindeki etkisini araştırmak üzere çalışma yapan Szikszai ve arkadaşları; son dönem böbrek yetmezlikli 45 hasta ile 30 sağlıklı kişinin bulgularını karşılaştırmışlardır (8). Bu çalışmada hemodiyaliz hastalarında hemodiyaliz öncesi ve sonrasında eritrosit deformabilitesi kontrol grubuna göre azalmış olarak bulunmuş, fakat hemodiyalizin eritrosit hasarı yapmadığı gösterilmiştir. Martinez ve arkadaşları hemodiyalizin hemoreolojik değişiklikler

üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada hemodiyaliz hastalarında hem kontrol grubuna göre, hem de hemodiyaliz sonrasında öncesine göre eritrosit deformabilitelerinde anlamlı düzeyde bir farklılık saptamamışlardır (9). Bu iki çalışmada hemodiyaliz sonrasında eritrositlerin deformabilitelerinde azalma olmaması; eritrositlerin hemodiyaliz esnasında, trombosit aferezindeki gibi ayırıştırma için uygulanan santrifüj ve G-kuvvetinin oluşturduğu yüksek mekanik strese maruz kalmamalarına bağlı olabilir.

Lohrer ve arkadaşları koroner by pass ameliyatı yapılacak 10 hastada yaptıkları çalışmada kardiyopulmoner by pass sonrasında eritrosit deformabilitesinin ve eritrosit membran proteinlerinin etkilenmediğini bulmuşlardır (91). Rehinhart ve arkadaşları vücut dışı kan dolaşımının eritrosit ve kanın akım özellikleri üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada 10 hastanın koroner by pass esnasında ve hemen sonrasında kısa süreli eritrositlerde ekinosit oluşumunu gözlelemişler, eritrosit deformabilitesinin ve eritrosit membran lipidlerinin etkilenmediğini bulmuşlar, fakat vücut dışı kan dolaşımı sonrasında eritrosit membran proteini olan ankrin membran proteininde azalma saptamışlardır (6). Proteaz inhibitörleri ile ankrin proteinin azalmasının önlenemediğini göstermişler, sonuç olarak vücut dışı kan dolaşımı esnasında proteolitik aktivitenin arttığını düşündürdüğünü belirtmişlerdir.

Bu bulgulara karşıt olarak kardiyopulmoner by pass esnasında vücut dışı dolaşımı süresince kanın yüksek kayma kuvveti, türbulans, uygulanan plazma nedeni ile dilüsyonuna bağlı onkotik basınçta azalma ve hipotermi gibi anormal mekanik ve çevresel faktörlere maruz kalması nedeni ile eritrosit deformabilitesinin azaldığı, eritrosit membran hasarına bağlı ekinosit oluşumu ve hemoliz geliştiği düşünölmektedir (7,92).

Kameneva ve arkadaşları inek eritrositlerinde yaptıkları çalışmada mekanik stressin, hipoterminin ve hemodilüsyonun eritrosit deformabilitesinde anlamlı azalmaya yol açtığını saptamışlardır (7). Bu faktörlerin eritrositlerde hasara ve mekanik özelliklerinde değişikliğe neden olarak deformabilitede azalmaya neden olduklarını belirtmişlerdir. Hakoshima ve arkadaşları Koroner by pass esnasında kullanılan fiber membran oksijenatörü veya buble oksijenatörünü karşılaştırdıkları

çalışmada vücut dışı kan dolaşımı esnasında buble oksijenatör kullanılan hastalarda eritrosit deformabilitesinde daha fazla azalma gözlemlenmiştir, eritrosit deformabilitesinin buble oksijenatör grubunda daha fazla olmasını geniş kan-gaz arayüzüne sekonder gelişen mekanik hasara atfetmişler ve kompleman aktivasyonuna bağlı nötrofil aracılıklı serbest oksijen radikali oluşumunun da katkısının olabileceğini belirtmişlerdir (92). Otsuki M donör kanı kullanmadığı 18 hastada yaptığı çalışmada açık kalp ameliyatı sonrasında eritrosit deformabilitesinde, eritrositlerin intrasellüler sodyum, potasyum ve 2-3 DPG içeriklerinde anlamlı azalma saptamıştır (93).

Kardiyo-pulmoner by pass esnasında kompleman sisteminin aktive olduğu ve C5a ve C5b-9 ürünlerinin trombosit ve nötrofil aktivasyonuna etki ettiği gösterilmiştir (94). Komplemanların eritrosit deformabilitesine etkileri ile ilgili yapılan bir çalışmada ise eritrositlerin C3d ile fiksasyonunun membran deformabilitesinin azalması ile sonuçlandığı gösterilmiştir (95). Kompleman sistemi aktivasyonunun eritrosit deformabilitesindeki azaltıcı etkisi yanında vücut dışı kan dolaşımının proteolitik aktivitenin uyarılması da eritrosit membran hasarı oluşturmaktadır (6,95), ve ayrıca daha önce de belirtildiği şekilde eritrositlerin sitoplazmik sodyum içeriğinin ve 2-3 DPG içeriğinin azalmasının eritrosit deformabilitesinin azalmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (93,95,96). Çalışmamızda aferez sonrasında eritrosit deformabilitesinde azalma gözlenmiştir. Bu durumun öncelikle yüksek kayma kuvveti ve G-kuvvetine maruz kalmaya bağlı mekanik hasara sekonder geliştiği düşünülebilir, ayrıca proteolitik ve kompleman sisteminin aktivasyonunun da katkısı olabilir.

Eritrosit deformabilitesi ve sigara üzerinde yapılmış çok sayıda çalışma vardır ve sigaranın kanın akım özelliklerini etkilediği, eritrositlerin reolojik davranışlarını değiştirdiği iyi bilinmektedir (97-99). Norton ve arkadaşları sigara içenlerde eritrosit deformabilitesinin daha düşük olduğunu göstermişler ve bunun sigara içenlerde eritrosit yüzey alanı/hacim oranının azalması ve eritrosit membranı esnekliğinin azalması ile ilişkili olduğunu ve bulguların sigaranın akut etkisinden ziyade kronik etkisine bağlı olduğunu düşündüğünü belirtmişlerdir (100). Tedavi altındaki hipertansif, tedavisiz hipertansif ve sağlıklı kişilerde invitro nikotinin eritrosit

deformabilitesi ve tedaviye yanıtta etkisi üzerine Salbas ve arkadaşları Ankara Üniversitesinde yaptıkları çalışmada üç grupta da nikotinin eritrosit deformabilitesini azalttığını ve tedavisiz grupta azalmanın daha anlamlı olduğunu bulmuşlardır (101). Yine Salbas'ın yaptığı çalışmada sigara içmeyen sağlıklı genç ve yaşlı grupta bir tane sigara içiminin gençlerde %15,3 yaşlı grupta ise %15,9 oranında eritrosit deformabilitesini azalttığı gösterilmiştir, eş zamanlı olarak eritrosit ATP düzeylerinin de azaldığı ve ATP düzeyinin eritrosit deformabilitesi ile ilişkisinin olabileceği belirtilmiştir (102).

Sigara içiminin reaktif oksijen radikali oluşumuna neden olduğu bilinmektedir ve yapılan bir çok çalışma sonucunda sigaranın eritrositlerde lipid peroksidasyonunu indüklediği ve böylece eritrosit deformabilitesini azalttığı düşünülmektedir (103,104). Aynun Nahar Begum ve Junji Terao'nun yaptıkları çalışmada, sigara katranı özü uygulamasının eritrosit membranında poliansature yağ asidi içeriğini azalttığını, eritrositlerdeki lipid peroksidasyonunu artırdığını ve antioksidan özelliği olan flavanoid'den zengin quercetin aglycone uygulamasının doz ile doğru orantılı şekilde deformabiliteyi artırdığını göstermişlerdir (97).

Bu çalışmada sigara içenlerdeki eritrosit deformabilitesinin yüksek saptanmış olması bu bilgiler ile ters düşmektedir, fakat çalışmamızda sigara içenlerde trombosit aferezi sonrasında eritrosit deformabilitesinin daha fazla azalmış olması sigara içenlerin eritrositlerinin vücut dışı dolaşıma bağlı gelişen mekanik hasara daha duyarlı olduğunu düşündürmektedir. Bu duyarlılık yukarıdaki çalışmalarda belirtilen, sigara içenlerdeki antioksidan aktivitenin azalması ile ilişkili olabilir.

Vasküler tonusun düzenlenmesinde ve vücuttaki bir çok fizyolojik ve patolojik olayda mediatör veya nörotransmitter olarak rol oynayan NO'in eritrosit deformabilitesi üzerindeki etkisi Korbut ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır (10). 1993'te in vitro polimorfonükleer lökositlerden (PML) salınan NO'in eritrosit deformabilitesini düzenlediği gösterilmiştir. Eritrositlerin PML ile inkübasyonunda, PML'lerin  $2.8 \times 10^6$  cells/ml konsantrasyonuna kadar deformabiliteyi arttırdığı, daha yüksek konsantrasyonlarda ise deformabiliteyi azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca deformabilitenin NO vericileri olan SNP ve sydnonimine (SIN-1) inkübasyonu ile

arttığı, NOS inhibitörü NG-monometil-L-arginin ile azaldığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak NO'in belli bir kritik konsantrasyona kadar eritrosit deformabilitesini arttırdığı; bu etkinin çok düşük ve çok yüksek NO konsantrasyonlarında ise ortadan kalktığı veya tersine döndüğü ileri sürülmüştür. Septik şok fare modelinde yapılan diğer bir çalışmada ise NOS inhibitörünün eritrosit deformabilitesinde koruyucu etkisi olduğu ve bu etkinin sepsiste lökositlerden aşırı miktarda NO üretimini engellemek suretiyle ortaya çıktığı belirtilmiştir (65). Bu iki çalışma sonucunda bazal NO salınımının eritrosit deformabilitesini koruduğu ve sepsis gibi akut faz yanıtına bağlı aşırı NO üretiminin veya bazal NO düzeyinin azaltılmasının eritrosit deformabilitesini azalttığı belirtilmiştir (10,65).

Benzer bir çalışmada NG-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME; 72 mg/kg/gün, 21 gün) uygulaması ile NO sentezi inhibisyonunun farelerde kan basıncını %60 artırdığı ve eritrosit deformabilitesini kontrol grubuna göre azalttığı gösterilmiştir (105). Bu hipertansif farelerin SNP ile inkübasyonunda sadece 10 µM SNP konsantrasyonunda eritrosit deformabilitesinde iyileşme gözlenirken, daha yüksek konsantrasyonlarda (100, 300, 1000 µM) değişiklik saptanmamıştır. Çalışmada hipertansif kişilerde olduğu gibi NOS inhibitörü (L-NAME) uygulaması sonrasında eritrosit sitoplazmik serbest Ca<sup>++</sup> konsantrasyonunda anlamlı yükseklik saptanmıştır, ve NO vericisi SNP uygulamasının sitozolik Ca<sup>++</sup> konsantrasyonu düzenlenmesinde rol alabileceği ve Ca<sup>++</sup> hemostazını değiştirerek deformabiliteyi etkileyebileceği düşünülmüştür (105).

Bateman ve arkadaşları peritonitli septik fare modelinde bir grupta sepsise bağlı aşırı NO üretimini ve eritrosit deformabilitesinin azaldığını göstermişlerdir (67). Diğer bir grupta ise aminoguanitidin (iNOS inhibitörü) uygulamasının aşırı NO üretimini ve eritrositlere akümülyasyonunu azaltarak, bazal NO düzeyini koruduğu ve eritrosit deformabilitesinin azalmasını önlediğini göstermişlerdir.

Melek Bor-Küçükkatay ve arkadaşları NO'in eritrosit deformabilitesi üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada eritrositlerin NOS inhibitörleri ((L-NAME, SMT) ve eriyebilir guanilat siklaz inhibitörü ile bir saat inkübasyonunun eritrosit deformabilitesini azalttığını, NO vericisi bileşiklerin (SNP, dietilenetriamine

NONOate), NO prekürsörü L-arginin ve potasyum kanal blokörünün (Tetraetilamonyum klorür) ise NOS inhibitörleri ve eriyebilir guanilat siklazın bu etkisini geriye çevirdiğini tespit etmişlerdir (11).  $10^{-6}$  M konsantrasyondaki SNP Eİ'ni kontrol grubuna göre önemli düzeyde artırmış ve daha yüksek veya düşük konsantrasyonlarda eritrosit deformabilitesine etkisi saptanmamıştır. Eriyebilir guanilat siklaz inhibitörünün eritrosit deformabilitesini azaltmasının NO'in eritrosit deformabilitesi üzerindeki düzenleyici etkisinin kısmen eriyebilir guanilat siklaz aracılığı ile olduğu, ancak başka mekanizmaların da NO'in bu etkisinin ortaya çıkmasında rol oynadığı belirtilmiştir. Eritrosit membranından potasyum taşınmasının blokajının, L-NAME'in eritrosit deformabilitesi üzerindeki olumsuz etkisini engellediğinin gösterilmesi NO sentezinin inhibisyonunun eritrosit membranının potasyum geçirgenliğini artırarak eritrosit deformabilitesini azalttığını düşündürdüğünü belirtmişlerdir (11).

Başkurt ve arkadaşları NO aracılı K kanal blokajının eritrosit deformabilitesi üzerindeki etkisini araştırmışlar (5). 120 Pa kayma kuvvetininin 15 sn den 120 sn'ye kadar uygulanması ile oluşturulan mekanik strese bağlı eritrosit deformabilitesinin azaldığını göstermişler ve mekanik stresi uygulama süresi arttıkça deformabilitenin daha da azaldığını bulmuşlardır. Azalan eritrosit deformabilitesi NO vericisi SNP uygulaması ile geri çevrilmiş ve SNP'nin en etkin konsantrasyonu  $10^{-4} - 10^{-6}$  olarak saptanmıştır. Ayrıca mekanik stres öncesi potasyum kanal blokörü (Tetraetilamonyum klorür, TEA) ile eritrositlerin 1 saat inkübe edilmesinin eritrositleri mekanik strese bağlı deformabiliteden koruduğu ve ortama NO eklenmesinin TEA'nın etkinliğini değiştirmediğini göstermişlerdir. Sonuç olarak NO'in eritrositleri yüksek kayma kuvvetine bağlı oluşacak hasardan koruyabileceği ve bu etkisinin potasyum kanal blokajına bağlı olabileceği belirtilmiştir (5). Yukarıdaki literatürlerle uyumlu olarak bu çalışmada da trombosit aferezi esnasında oluşan eritrosit deformabilitesindeki azalma, eritrositlerin aferez sonrasında bir saat NO vericisi olan  $10^{-6}$  konsantrasyonda SNP ile inkübasyonu ile geri çevrilmiştir.

Eritrosit agregasyonunun fibrinojen düzeyinden, tam kan viskozitesinin de fibrinojen düzeyi, hematokrit düzeyi ve serum proteinlerinden etkilendiklerini daha önce belirtmiş (1,4,17,20,21). Yapılan bir çalışmada koroner arter hastalığı olan

hiperlipidemik hastalarda direkt adsorbsiyon yöntemi ile uygulanan lipoprotein aferezinin fibrinojen düzeyi, eritrost agregasyonu, tam kan ve plazma vizkozitesini azalttığı gösterilmiştir, eritrosit agregasyonunun azalmasının muhtemelen aferez sonrasında fibrinojen düzeyinin azalmasına bağlı olabileceği belirtilmiştir (87). Benzer şekilde Fadul ve arkadaşlarının ekstrakorporeal hemaferaz tedavisinin kan reolojisi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, plazmaferaz ve immunuadsorbsiyon tekniklerinin işlem sonrasında plazma fibrinojen konsantrasyonunda, tam kan viskozitesinde ve eritrositlerin agregasyona eğilimlerinde anlamlı olarak azalma tespit etmişlerdir. Bu etkilerde muhtemelen plazma fibrinojen düzeyindeki azalmanın ana etken olduğunu belirtmişlerdir (90).

Hemodiyaliz uygulanan hastalarda ise hemodiyaliz sonrasında kanın reolojik özelliklerinin daha da kötüleştiği fibrinojen düzeyinin arttığı, tam kan viskozitesinin ve eritrosit agregasyonuna eğilimin arttığı gösterilmiştir (9,106). Kan viskozitesindeki artış ile birlikte eritrosit agregabilitesindeki artışın büyük olasılıkla agregasyona sebep olan büyük çaplı proteinlerin kullanılan diyaliz membranını geçememesine bağlı olduğu belirtilmiştir (106). Langer ve arkadaşları kronik myeloproliferatif hastalık tanılı 22 hastaya uygulanan teropatik trombosit aferezinin artmış kan viskozitesini normale getirdiğini ve eritrosit agregasyonunu anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir (107). Farklı bir çalışmada da sağlıklı donörlerde trombosit aferezi ve plazmaferaz kombinasyonu uygulaması ile eritrosit agregabilitesi, tam kan ve plazma viskozitesinde anlamlı azalma gözlemlenmiştir (108).

Eritrosit agregabilitesine ilgi, patolojik venöz ve arteryel trombüs formasyonuna katkıda bulunması nedeni ile giderek artmaktadır. Eritrosit agregabilitesinin en çok fibrinojen düzeyi, total kolestrol, LDL kolestrol ve trigliseridden etkilendiğinin bilinmesinden itibaren, bu parametre primer veya sekonder kardiyak olayları değerlendirmede kullanılmaya başlanmıştır. Kardiyak olaylardaki önemi nedeniyle fibrinojen düzeyi ve eritrosit agregasyonu arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada farklı hastalıklara sahip 179 hastada, fibrinojen düzeyi 400 mg/dl üzerinde olan grupta fibrinojen düzeyi 400 mg/dl'den az olan



gruba göre eritrosit agregasyonu artmış bulunmuştur, fibrinojen düzeylerinin artışı ile korele olarak eritrosit agregasyonunun da arttığı tespit edilmiştir (109).

Bu çalışmada da fibrinojen düzeyleri aferez sonrasında azalmış bulunmuştur. Eritrositlerin agregasyona eğilimlerini gösteren agregasyon indeksleri de aferez sonrasında azalmıştır, aferez sonrasında her iki parametrede azalma olması literatürdeki çalışmalar ile uyumludur ve serum fibrinojen konsantrasyonunun eritrosit agregasyonunun belirlenmesinde önemli bir faktör olduğu görüşünü desteklemektedir. Aferez sonrasında total kolesterol ve LDL kolestrol düzeylerindeki azalmanın da eritrosit agregasyonundaki değişikliğe katkısı olabilir.

Çalışmada trombosit aferezi sonrasında hematokrit değerinde artış gözlenmiştir, bu artışın aferez esnasındaki plazma kaybına bağlı gelişen hemokonsantrasyon nedeniyle geliştiği düşünülmüştür. Aferez öncesi ve sonrasında standartize edilmeden otolog hematokritte bakılan tam kan viskozitesinde aferez sonrasında değişiklik gözlenmemesi, hematokrit artışı ve eritrosit deformabilitesinin azalmasının tam kan viskozitesini artırıcı etkilerinin, fibrinojen düzeyi ve eritrosit agregasyonunun azalmasının tam kan viskozitesini azaltıcı etkileri ile nötralize edilmiş olmasına bağlı olabilir (1,2,14,17). Hematokrit standartize edilip %40 hematokritte ayarlanarak hematokritin tam kan viskozitesindeki belirleyici etkisi ortadan kaldırıldığında, tam kan viskozitesinde aferez sonrasında öncesine göre bir azalma gözlenmiştir. Bu azalma yukarıda belirtildiği şekilde fibrinojen ve eritrosit agregasyonunun azalmasının tam kan viskozitesini azaltıcı etkisine bağlı olabilir. Newtonien karakterde olan plazma viskozitesi aferez sonrasında minimal azalma gözlenmiştir, bu azalmanın fibrinojen düzeyinin azalmasına bağlı olduğu düşünülebilir (4,17,21).

## 6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. Donör trombosit aferezi sonrasında eritrosit deformabilitesi belirgin olarak azalmıştır.
2. Sigara içenlerde işlem sonrasında eritrosit deformabilitesinde daha belirgin azalma gözlenmiştir.
3. NO vericisi SNP uygulaması trombosit aferezinin neden olduğu eritrosit deformabilitesindeki azalmayı geri çevirmiştir.
4. Donör trombosit aferezi sonrasında serum fibrinojen, total kolesterol, LDL kolesterol düzeylerindeki azalma ile korele olarak eritrosit agregasyonu ve standart hematokritte (%40) tam kan viskozitesi azalmıştır.
5. Bu çalışmada ortaya çıkardığımız NO'in eritrosit deformabilitesini iyileştirme özelliği dikkate alınarak; kardiyo-pulmoner by pass ameliyatları, aferez işlemleri ve hemodiyaliz gibi vücut dışı kan dolaşımının gerçekleştiği işlemler sırasında; hemoreolojik açıdan hastaların bu işlemlerden zarar görmemeleri için, gelecekte NO'in tedavide kullanılıp kullanılmıyacağı ayrıca araştırılması gereken bir konu olarak değerlendirilebilir.

## 7. ÖZET

Günümüzde sıkça uygulanan donör trombosit aferezi esnasında kan dokusu bir tür yapay dolaşıma maruz kalmaktadır. Kan dokusunun akışkanlık özellikleri dokulara yeterli kan akımının sağlanmasında belirleyici bir rol oynar. Sağlıklı kişilerde uygulanan aferezin kanın reolojik özelliklerine etkisini inceleyen çalışma yoktur. Çalışmada donör trombosit aferezinin kanın reolojik özellikleri üzerine etkisinin araştırılması planlanmıştır.

Çalışmaya 20 sağlıklı donör alınmıştır. Aferez öncesi ve sonrasında alınan venöz kan örneklerinde hemoreolojik parametrelerden; eritrosit deformabilitesi bir ektasitometre kullanılarak farklı kayma kuvvetlerinde ölçülmüştür. Aynı cihaz ile otolog ve standart hematokritte (%40) eritrosit agregasyon indeksine bakılmıştır. Digital viskometer kullanılarak otolog ve standart hematokritte (%40) tam kan viskozitesi plazma viskozitesi ölçümleri yapılmıştır. Aferez öncesi ve sonrasında biyokimyasal ve hematolojik parametreler de değerlendirilmiştir. 8 kişilik alt bir grupta da Nitrik oksit vericisi sodyum nitroprusit'in trombosit aferezi sonrasında azalmış eritrosit deformabilitesi üzerindeki etkisine bakılmıştır.

Trombosit aferezi sonrasında eritrosit deformabilitesi belirgin olarak azalmıştır. 8 kişilik alt grupta SNP inkübasyonunun bu deformabilitedeki azalmayı geri çevirdiği saptanmıştır. Hem otolog hem de standart hematokritte (%40) bakılan eritrosit agregasyon indeksinin azaldığı, sadece otolog hematokritte bakılan tam kan viskozitesinin azaldığı ve plazma viskozitesinin değişmediği bulunmuştur. Aferez sonrasında fibrinojen ve total kolesterol düzeyleri azalmış, hematokrit ise artmış bulunmuştur.

Bu çalışmanın sonuçları sağlıklı donörlerde trombosit aferez işleminin kanın reolojik özelliklerini belirgin şekilde etkilediğini ve bu etkinin hem olumlu (eritrosit agregasyonu ve tam kan viskozitesinde azalma) hem de olumsuz (eritrosit deformabilitesinde azalma) yönleri olduğunu göstermiştir.

## **8. SUMMARY**

### **EFFECT OF THROMBOCYTE APHERESIS APPLICATIONS ON BLOOD RHEOLOGY PROPERTIES IN HEALTHY SUBJECTS**

During the thrombocyte apheresis that is used frequently today, blood tissue exposed to a kind of artificial circulation. Fluidity of blood plays a major role to ensure adequate blood supply to the tissues. There is no study available on the effects of apheresis on blood rheology on healthy donors. The present study was designed to study the effects of thrombocyte apheresis on the blood rheology.

Venous blood samples were obtained before and after the thrombocyte apheresis in twenty healthy donors. As an Hemorheological parameter erythrocyte deformability was determined at various shear stresses by ektacytometry. Erythrocyte aggregation index was calculated with the same device at autolog and standard hematocrit (%40) levels. By using digital viscometer whole blood viscosity at autolog and standard hematocrit (%40) levels, and plasma viscosity were evaluated. Biochemical and haematological parameters were analyzed before and after thrombocyte apheresis. The effect of sodium nitroprusside, a nitric oxide donor, on erythrocyte deformability after a thrombocyte apheresis was evaluated in eight donors of a healthy subgroup.

Erythrocyte deformability was clearly reduced after thrombocyte apheresis. SNP incubation was able to reverse the reduced erythrocyte deformability by a thrombocyte apheresis. In both autolog and standard hematocrit levels erythrocyte aggregation index reduced, whereas only autolog hematocrit of whole blood viscosity was found to be reduced and no change was observed in plasma viscosity. After thrombocyte apheresis, fibrinogen, total cholesterol concentration reduced, and hematocrit has increased.

These results suggested that thrombocyte apheresis clearly effected blood rheology in both favourable (decreased erythrocyte aggregation and whole blood viscosity) and unfavourable (decreased erythrocyte deformability) ways.

## 9. KAYNAKLAR

1. Başkurt OK, Meiselman H.J. Blood rheology and hemodynamics. *Sem Throm Hemostas* 2003; 29: 435-450.
2. Başkurt OK. Pathophysiological significance of blood rheology. *Turk J Med Sci* 2003; 33: 347-355.
3. Pirrelli A. Arterial hypertension and hemorheology. What is the relationship? *Clin Hemorheol Microcirc* 1999; 21: 157–160.
4. Ajmani RS. Hypertension and hemorheology. *Clin Hemorheol Microcirc* 1997; 17: 397–420.
5. Başkurt OK, Uykulu M., Meiselman H.J. Protection of erythrocytes from sub-hemolytic mechanical damage by nitric oxide mediated inhibition of potassium leakage. *Biorheology* 2004; 41: 79–89.
6. Reinhart WH, Ballmer PE, Rohner F, Ott P, et al. The influence of extracorporeal circulation on erythrocytes and flow properties of blood. *The J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 100: 538-545.
7. Kameneva MV, Undar A, Antaki JF, Watach MJ, et al. Decrease in red blood cell deformability caused by hypothermia, hemodilution, and mechanical stress: factors related to cardiopulmonary bypass. *ASAIO J* 1999; 45(4): 307-310.
8. Szikszai Z, Ujhelyi L, Imre SG. Effect of hemodialysis on the deformability and lipid peroxidation of erythrocytes in chronic renal failure. *Clin Hemorheol Microcirc* 2003; 28: 201–207.
9. Martinez M, Vaya A, Alvarino J, Barbera JL, et al. Hemorheological alterations in patients with chronic renal failure. Effect of hemodialysis. *Clin Hemorheol Microcirc* 1999; 21: 1–6.
10. Korb R, Gryglewski RJ. The effect of prostacyclin and nitric oxide on deformability of red blood cells in septic shock in rats. *J Physiol Pharmacol* 1996; 47(4): 591-599.
11. Bor-Küçükataş M, Wenby RB, Meiselman HJ, Başkurt OK. Effects of nitric oxide on red blood cell deformability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284: 1577–1584.
12. William F. Section VI. Circulation. *Review of Medical Physiology* (22nd edition). McGraw-Hill, March 2005.

13. Çelebi G. Akışkanlar. Biyomedikal Fizik. İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları 3. baskı 1999: 65-83.
14. Rheology of blood. The University of Iowa College of Engineering. <http://www.engineering.uiowa.edu/~bme155/rheologynotes.pdf> adresinden 21 Ocak 2006 tarihinde ulaşılmıştır.
15. McDonald KH. Sick cell anemia as a rheologic disease. *Am J Med* 1981; 70: 288-298.
16. Church TS. Effect of exercise on arteriolar blood rheology in health and cardiovascular disease. Tulane University, April 1998: 1-161.
17. El-Sayed MS, Ali N, Ali ZE. Haemorheology in exercise and training. *Sports Med* 2005; 35 (8): 649-670.
18. London M. The role of blood rheology in regulating blood pressure. *Clin Hemorheol Microcirc* 1997; 17: 93–106.
19. Kim S. A study of Non-Newtonian viscosity and yield stress of blood in a scanning capillary-tube rheometer. Drexel University. December 2002: 1-240.
20. Lipowsky HH. Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation* 2005; 12: 5–15.
21. Stoiber B, Zachb C, Izaya B, Windberger U. Whole blood, plasma viscosity, and erythrocyte aggregation as a determining factor of competitiveness in standard bred trotters. *Clin Hemorheol Microcirc* 2005; 32: 31–41.
22. Chien S. Red cell deformability and its relevance to blood flow. *Ann Rev Physiol* 1987; 49: 177-192.
23. Mchedlishvili G. Basic factors determining the hemorheological disorders in the microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004; 30: 179–180.
24. Greer JP, Foerster J, Lukens JN. *Wintrobe's Clinical Hematology* (2 Vol. Set) 11th edition. Lippincott Williams & Wilkins. November, 2003.
25. Guyton AC. Unit IV. The circulation. *Textbook of Medical Physiology*, 11th edition. Saunders, July 2005: 144-264.
26. Stoltz JF, Donner M. Hemorheology: Importance of erythrocyte aggregation. *Clin Hemorheol* 1987; 7: 15-23.
27. Başkurt OK, Meiselman HJ. Analyzing shear stress–elongation index curves: comparison of two approaches to simplify data presentation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004; 31: 23–30.

28. Usami S. Development of hemorheology: perspective in instrumentation development. *Clin Hemorheol Microcirc* 2000; 23: 77–83.
29. Mohandas N, Phillips WM, Bessis M. Red blood cell deformability and hemolytic anemias. *Semin Hematol* 1979; 16(2): 95-114.
30. Hardeman MR, Ince C. Clinical potential of in vitro measured red cell deformability, a myth? *Clin Hemorheol Microcirc* 1999; 21: 277–284.
31. Başkurt OK. The role of spleen in suppressing the rheological alterations in circulating blood. *Clin Hemorheol Microcirc* 1999; 20: 181–188.
32. Schrier SL. Thalassemia: pathophysiology of red cell changes. *Annu Rev Med* 1994; 45: 211-18.
33. Mohandas N, Chasis JA. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Semin Hematol* 1993; 30: 171-192.
34. Mohandas N, Chasis JA, Shohet SB. The influence of membrane skeleton on red cell deformability, membrane material properties, and shape. *Semin Hematol* 1983; 20: 225-242.
35. Plasenzotti R, Stoiber B, Poschb M, Windberger U. Red blood cell deformability and aggregation behaviour in different animal species. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004; 31: 105–111.
36. Cicco G, Pirrelli A. Red blood cell (RBC) deformability, RBC aggregability and tissue oxygenation in hypertension. *Clin Hemorheol Microcirc* 1999; 21: 169–77.
37. Vague P, Juhan I. Red cell deformability, platelet aggregation, and insülin action. *Diabetes* 1983; 32(2): 88-91.
38. Le Dévéhat C, Vimeux M, Khodabandehlou T. Blood rheology in patients with diabetes mellitus. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004; 30: 297–300.
39. Malinski T. The vital role of nitric oxide. <http://www2.oakland.edu/oujournal/files/Malinski.pdf> adresinden 07.02.2006 tarihinde ulaşılmıştır.
40. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 27;288(5789): 373-376.
41. Büyükafşar K. Nitrik oksidin fizyolojik ve fizyopatolojik olaylardaki rolü. Türk farmakoloji derneği farmakoloji eğitim sempozyumları programı nitrik oksidin farmakolojisi, Mersin seminer özetleri Mayıs 2005: 2-20.

42. Marin J, Rodriguez-Martinez MA. Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. *Pharmacol Ther* 1997; 75(2): 111-134.
43. Ignarro LJ. Nitric oxide: a unique endogenous signaling molecule in vascular biology. *Biosci Rep* 1999; 19: 51-71.
44. Vallance P, Hingorani A. Endothelial nitric oxide in humans in health and disease. *Int J Exp Path* 1999; 80: 291-303.
45. Nevin BJ, Broadley KJ. Nitric oxide in respiratory diseases. *Pharmacol Ther* 2002; 95: 259 – 293.
46. Koshland DE. Jr. The molecule of year. *Science* 1992; 258: 1861.
47. Li D. Nitric oxide synthase mechanisms. Albert Einstein College of Medicine Yeshiva University 2005: 1-245.
48. Barbato JE, Tzeng E. Nitric oxide and arterial disease. *J Vasc Surg* 2004; 40: 187-93.
49. Guix FX, Uribealago I, Coma M, Munoz FJ. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Prog Neurobiol* 2005; 76: 126–152.
50. Masri F. Biochemistry of nitric oxide in lung. Cleveland State University, 2005: 1-151.
51. Kılınç A, Kılınç K. Nitrik oksit biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Palme Yayıncılık, Ankara, 2003.
52. Bernstein.H-G, Bogerts B. The many faces of nitric oxide in schizophrenia. A review. *Schizophr Res* 2005; 78: 69– 86.
53. Duncan AJ, Heales SJ. Nitric oxide and neurological disorders. *Mol Aspects Med* 2005; 26: 67–96.
54. Root P. Chemical, biochemical, and physiological aspects of nitric oxide, S-nitrosothiols, and protein disulfide isomerase. Windsor University 2004: 1-212.
55. David A, Mitchell W, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 1998; 25( 4/5): 434–456.
56. Janero DR. Nitric oxide (no)-related pharmaceuticals: contemporary approaches to therapeutic no modulation. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(10): 1495–1506.
57. Hogg N. Biological chemistry and clinical potential of s-nitrosothiols. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(10): 1478–1486.



58. Low SY. Application of pharmaceuticals to nitric oxide. *Mol Aspects Med* 2005; 26: 97–138.
59. Kayaalp SO. Antianginal ilaçlar. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Ankara: Hacettepe Taş 8. baskı 1998: 472-496.
60. Ertürk M, Açikel Ü, Silistreli E, Hazan E, Oto Ö. Koroner arter by-pass (CABG) ameliyatı sonrası görülen hipertansiyon'un kontrolünde isradipine ve sodium nitroprusside etkinliğinin karşılaştırılması. *GKDC Dergisi* 1998; 6: 190-197.
61. Sodium nitroprusside dihydrate. <http://www.sigmaaldrich.com/sigma/product%20information%20sheet/s0501pis.pdf>. adresinden 02.03.2006 tarihinde ulaşılmıştır.
62. Petrov V, Amery A, Lijnen P. Role of cyclic GMP in atrial-natriuretic-peptide stimulation of erythrocyte Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange. *Eur J Biochem* 1994; 221: 195–199.
63. Petrov V. Lijnen P. Regulation of human erythrocyte Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange by soluble and particulate guanylate cyclase. *Am J Physiol Cell Physiol* 1996; 271: 1556–1564.
64. Korbut R, Gryglewski RJ. The effect of prostacyclin and nitric oxide on deformability of red blood cells in septic shock in rats. *J Physiol Pharmacol* 1996; 47(4): 591-599.
65. Starzyk D, Korbut R, Gryglewski RJ. The role of nitric oxide in regulation of deformability of red blood cells in acute phase of endotoxaemia in rats. *J Physiol Pharmacol* 1997; 48(4): 731-735.
66. Başkurt OK, Gelmont D, Meiselman H.J. Red blood cell deformability in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 421–427.
67. Bateman RM, Jagger JE, Sharpe MD, Ellsworth ML, et al. Erythrocyte deformability is a nitric oxide-mediated factor in decreased capillary density during sepsis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: 2848–2856.
68. Kosaka H. Nitric oxide and hemoglobin interactions in the vasculature. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1411: 370-377.
69. Arat M. Ortaçağda aforoz, günümüzde aferez. XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi, IV. Hematoloji İlk Basamak Kursu: 1-9. [http://www.thd.org.tr/sub/turk/kurs\\_pdf/Ortacagdaaforoz.pdf](http://www.thd.org.tr/sub/turk/kurs_pdf/Ortacagdaaforoz.pdf) adresinden 23.01.2006 tarihinde ulaşılmıştır.
70. Özcebe O. Terapotik Sitaferesis. XXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi Kongre kitabı, Ankara Kasım 1998: 177-182.

71. Öztürk G. Pediyatride terapötik aferez. *Damla dergisi*, eylül- ekim 2003; 56: 14-17.
72. Çetin T. Terapötik aferez endikasyonları. I. Ulusal Hemaferaz Kongresi Kongre kitabı, İstanbul Ekim 2003: 17-24.
73. Grima KM. Therapeutic apheresis in hematological and oncological diseases. *J Clin Apher* 2000; 15: 28–52.
74. Arslan Ö. Diğer terapötik aferez uygulamaları. I. Ulusal Hemaferaz Kongresi Kongre Kitabı, İstanbul Ekim 2003: 52-58.
75. McLeod BC. *Apheresis, Principles and Practice*, 2nd Edition, AABB Press, Bethesda, Maryland, 2003.
76. Özkalemkaş F. Fotoferaz. XXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi Kongre Kitabı Ankara Kasım 1998: 183-196.
77. Sink BL. History of the Development of Apheresis, In: Zielinski I.D, editor. *Principals of apheresis technology*, 3rd ed. Tuscon, American Society for Apheresis 2002: 31-32.
78. Burgstaler E.A. Blood component collection by apheresis. *J Clin Apher* 2005; 1-10.
79. Giraud CG, Korach JM, Andreu G, Lacaze C, et al. Principles of seperating blood elements. *Transfus clin biol* 2002; 9: 179-185.
80. Burgstaler EA. Apheresis instrumentation. In: Zielinski I.D, editor. *Principals of apheresis technology*, 3rd ed. Tuscon, American Society for Apheresis 2002; 41–55.
81. Omay SB Donör aferezi komplikasyonları. I. Ulusal Hemaferaz Kongresi kongre kitabı, İstanbul Ekim 2003: 116-121.
82. Winters J.L. Complications of donor apheresis. *J Clin Apher* 2005: 1-10.
83. Hardeman MR, Goedhart PT, Dobbe JGG, Lettinga KP. Laser assisted optical rotational cell analyzer (LORCA): a new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. *Clin Hemorheol Microcirc* 1994; 14: 605-618.
84. Laser assisted optical rotational cell analyzer. <http://www.mechatronics.nl/products/download/lorca.pdf> adresinden 05.05.2006 ulaşılmıştır.

85. Hardeman MR, Dobbe JGG, Ince C. The Laser-assisted optical rotational cell analyzer (LORCA) as red blood cell aggregometer. *Clin Hemorheol Microcirc* 2001; 25: 1–11.
86. Brookfield DV-II+Programmable viscometer operating instructions. [http://www.can-am.net/suppliers/brookfield/DVII+\\_D.pdf](http://www.can-am.net/suppliers/brookfield/DVII+_D.pdf) adresinden 08.05.2006 tarihinde ulaşılmıştır.
87. Otto C, Geiss HC, Laubach E, Schwandt P. Effects of direct adsorption of lipoproteins apheresis on lipoproteins, low-density lipoprotein subtypes, and hemorheology in hypercholesterolemic patients with coronary artery disease. *Ther Apher* 2002 ; 6(2): 130-135.
88. Walzl M, Walzl B, Kleinert G, Schied G, Lechner H. Heparin-induced extracorporeal LDL precipitation (HELP). A new therapeutic possibility in cerebral multi-infarct dementia. *Nervenarzt* 1993 ; 64(10): 648-652.
89. Bosch T, Keller T. Clinical effects of direct adsorption of lipoprotein apheresis: beyond cholesterol reduction. *Ther Apher Dial* 2003; 7(3): 341–344.
90. Fadul JE, Linde T, Sandhagen B, Wikstrom B, Danielson BG, et al. Effects of extracorporeal hemapheresis therapy on blood rheology. *J Clin Apher* 1997; 12: 183–186.
91. Lohrer RM, Trammer AR, Dietrich W, Hagl S, Linderkamp O. The influence of extracorporeal circulation and hemoseparation on red cell deformability and membrane proteins in coronary artery disease. *J Cardiovasc Surg* 1990; 99(4): 751-752.
92. Hakoshima A, Goto H, Abe K, Benson KT, et al. Alteration of red cell deformability during extracorporeal bypass: membrane v bubble oxygenator. *J Cardiothorac Anesth* 1989; 3(2): 189-192.
93. Otsuki M. The function of red blood cells under open-heart surgery with extracorporeal circulation without donor blood. *Masui* 1992; 41(10): 1627-1634.
94. Rinder CS, Rinder HM, Smith BR, Fitch JC, et al. Blockade of C5a and C5b-9 generation inhibits leukocyte and platelet activation during extracorporeal circulation. *J Clin Invest.* 1995; 96: 1564–1572.
95. Sung KL, Freedman J, Chabanel A, Chien S. Effect of complement on the viscoelastic properties of human erythrocyte membrane. *Br J Haematol* 1985; 61: 455–466.

96. Gilutz H. Extracorporeal Circulation. *Circulation* 1998; 97: 117.
97. Begum AN, Terao J. Protective effect of quercetin against cigarette tar extract-induced impairment of erythrocyte deformability. *J Nutr Biochem* 2002; 13: 265–272.
98. Galea G, Davidson RJ. Haematological and haemorheological changes associated with cigarette smoking. *J Clin Pathol* 1985; 38: 978–984.
99. Ernst E. Haemorheological consequences of chronic cigarette smoking. *J Cardiovasc Risk* 1995; 2: 435–439.
100. Norton JM, Rand PW. Decreased deformability of erythrocytes from smokers. *Blood* 1981; 57(4): 671-674.
101. Salbas K, Gürlek A, Akyol T. In vitro effect of nicotine on red blood cell deformability in untreated and treated essential hypertension. *Scand J Clin Lab Invest* 1994; 54(8): 659-663.
102. Salbas K. Effect of acute smoking on red blood cell deformability in healthy young and elderly non-smokers, and effect of verapamil on age- and acute smoking-induced change in red blood cell deformability. *Scand J Clin Lab Invest* 1994; 54(6): 411-416.
103. Codandabany U. Erythrocyte lipid peroxidation and antioxidants in cigarette smokers. *Cell Biochem Funct* 2000 ; 18: 99–102.
104. Miller ER, Apel LJ, Jiang L, Risby TH. Association between cigarette smoking and lipid peroxidation in a controlled feeding study. *Circulation* 1997; 19: 1097–1101.
105. Bor-Küçükataş M, Yalçın MÖ, Gökalp O, Kipmen-Korgun D, et al. Red blood cell rheological alterations in hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthesis in rats. *Clin Hemorheol Microcirc* 2000; 22: 267–275.
106. Doerp E., Hoidt B., Korten G., et al., Hemorheology in relation to hemodialysis, in: 10 European Conference on Clinical Haemorheology, Lisbon, C19 (Abstract), 1997.
107. Langer R, Gross D, Mansouri Taleghani B, Wiebecke D, et al. Therapeutic thrombocytapheresis--effect on hemorheologic parameters. *Infusionsther Transfusionsmed* 1997; 34: 265-272.
108. Mansouri Taleghani B, Manke F, Langer R, Henrich HA, et al. Changes in blood rheology and microcirculation after preparatory combined

thrombocytapheresis and plasmapheresis. *Beitr Infusionsther Transfusionsmed* 1997; 34: 123-127.

109. Falco C, Vaya A, Simo M, Contreras T, et al. Influence of fibrinogen levels on erythrocyte aggregation determined with the Myrenne aggregometer and the Sefam erythro-aggregometer. *Clin Hemorheol Microcirc* 2005; 33: 145–151.