

T. C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

SAĞLIKLI DONÖRLERDE TROMBOSİT AFEREZİNİN BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER VE QT_c DİSPERSİYONU ÜZERİNE
ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ender YILMAZ

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr.Mine MİSKİOĞLU

Manisa-2008

T. C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

SAĞLIKLI DONÖRLERDE TROMBOSİT AFEREZİNİN BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER VE QT_c DİSPERSİYONU ÜZERİNE
ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ender YILMAZ

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Mine MİSKİOĞLU

Manisa-2008

ÖNSÖZ

CBÜTF İç Hastalıkları Kliniğinde, hekimliğe adım attığım ilk günden itibaren, bütün asistanlık eğitimim süresince her zaman değerli bilgileri ve tecrübeleriyle bana yol gösteren ve beni destekleyen, yetişmemde büyük emekleri olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Hakan Yüceyar'a, tezimin her aşamasında fikirleri ile yol gösterici ve destek olan, bilim ve insanlık adına kendisinden çok şey öğrendiğim Hematoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Mine MİSKİOĞLU'na, eğitimime büyük ölçüde katkıda bulunan ve birlikte çalışmaktan büyük onur duyduğum sayın hocalarım Prof. Dr. Seyhun Kürşat'a, Doç. Dr. Ülkü Ergene'ye, Doç. Dr. Bilgin Özmen'e, Doç. Dr. Zeliha Hekimsoy'a, Doç. Dr. Ender Ellidokuz'a, Doç. Dr. Cengiz Kırmaz'a, Doç. Dr. Timur Pırıldar'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tüm hayatımda olduğu gibi bu süreçte de benim her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini sakınmayan sevgili anneme, babama, kardeşime ve bana her zaman, her konuda destek olan sevgili eşime çok teşekkür ederim.

Dr. Ender YILMAZ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	
İÇİNDEKİLER	
KISALTMALAR	
I.GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
1.AFEREZ	3
1- Terminoloji	3
2- Tarihçe	6
3- Aferez işlemi	7
4- Haemonetics MCS Plus cihazı	8
5- Aferez donörü olma kriterleri	9
6- Donör aferezi komplikasyonları	10
2. QTc DİSPERSİYONU	14
3. OSTEOPROTEGERİN / RANKL	17
4. KALSİYUM / PARATHORMON	20
5. C-REAKTİF PROTEİN	24
III. GEREÇ VE YÖNTEM	26
IV. BULGULAR	29
V. TARTIŞMA	40
VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	44
VII. ÖZET	45
VIII. İNGİLİZCE ÖZET	48
IX. KAYNAKLAR	51

KISALTMALAR

ALP	: Alkalen fosfataz
BALP	: Kemik alkalen fosfataz
Ca	: Kalsiyum
cDNA	: sirküler DNA
CRP	: C reaktif protein
EKG	: Elektrokardiyografi
HIV	: Human immün deficiency virus
IL	: İnterlökin
K	: Potasyum
LDL	: Low dansity lipoprotein
Mg	: Magnezyum
Na	: Sodyum
OPG	: OCIF – Osteoprotegerin - Osteoklast inhibitör faktör
PTH	: Parathormon
RANK	: Nükleer faktör kappa β reseptörü
RANKL	: ODF - OPGL - Nükleer faktör kappa β reseptör ligandı
QTcd	: Düzeltilmiş QT dispersiyonu
QTc	: Düzeltilmiş QT
QTd	: QT dispersiyonu
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TNFR	: Tümör nekrozis faktör reseptörleri
TGF- β	: Transforming growth faktör- β
vCJH	: varyant Creutzfeld-Jakob Hastalığı
1,25 (OH) ₂ D	: 1,25 Di Hidroksi Kolekalsiferol

1-GİRİŞ

Donör trombosit aferezi, sağlıklı gönüllü donör kanının, hücre ayırıcı (aferez cihazı) vasıtasıyla trombosit komponentinin bir torbaya alınıp, geri kalanının donöre geri verilmesi esasına dayanan bir işlemdir. Bu işlem sayesinde, çeşitli nedenlere bağlı olan ve mortaliteyle sonuçlanabilen trombositopenilerin tedavisi olanaklı hale gelmiştir. Trombosit aferezinin hematoloji pratiğinde her geçen gün daha sık kullanılan bir işlem olmakta ve dolayısıyla donör gereksinimi her geçen gün artmaktadır. Donör trombosit aferezi, trombosit ihtiyacı olan hastalara faydasının yanı sıra, donörler için bazı riskleri de beraberinde getiren bir işlemdir.

Donör trombosit aferezi sırasında donörden alınan kanın pıhtılaşmasını engellemek amacıyla sisteme, dolaylı olarak da donöre sitrat verilmektedir. Sitrata bağlı yan etki sıklığı seyrek olup ölümcül reaksiyonlar oldukça nadirdir. Sitratın bilinen -ağız çevresinde ve yüzde uyuşukluk, el ve ayaklarda parestezi, titreme, bulantı, kusma, baş dönmesi, kas krampları, bulanık görme, bilinç kaybı, aritmi gibi- yan etkilerinden iyonize kalsiyum düzeyini düşürmesinin sorumlu olduğu bilinmektedir. Bunların dışında myokard kontraktilesinde azalma ve aritmi riski de mevcuttur (1). Aritmiler arasında supraventriküler ve ventriküler erken vurular, sağ dal bloğu, ST segment yükselmesi veya baskılanması, uzamış QT intervali, sivri-düzleşmiş ya da ters T dalgaları mevcut olabilir.

Aferez esnasındaki sitrat infüzyonunun EKG değişiklikleri ve QT de uzama yaptığı ve bu değişikliklerin iyonize kalsiyum düzeyleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca aferez işlemi sırasında magnezyum düzeylerinin de düştüğü, parathormon (PTH) düzeyinde yükselme olduğu gösterilmiştir (2, 3). QTc dispersiyonundaki artışın ventriküler aritmilere ve kardiyak arreste yol

açabildiği bilinmekte olup, QTd nin periferik damar hastalığında, iskemik kalp hastalığı, kardiyomiyopati, hipertansiyon, diabetes mellitus ve son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda artmış kardiyovasküler mortalite ve morbidite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (4, 5). Bununla birlikte trombosit aferezinden QTc dispersiyonunun etkilenip etkilenmediği ile ilişkili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Aferez işleminde verilen sitrata bağlı olarak oluşan hipokalseminin ve EKG değişikliklerinin yanısıra PTH düzeylerinde artış olduğunun bilinmesine karşın, literatürde, bu durumun kemik yapım/yıkımında rolü olan ve son yıllarda koroner ateroskleroz ve inflamasyonla da ilişkili olduğu gösterilen OPG ve RANKL düzeylerini nasıl etkilediğini gösteren yayın mevcut değildir (6, 7). OPG' nin inflamasyonla ilişkisi gösterilmiş olmakla birlikte, bunun inflamasyonun en önemli belirteçlerinden biri olan CRP ile ilişkisini gösteren yayına da rastlanmamıştır. Bu çalışmada donör trombosit aferez işleminin QTcd 'ye ek olarak, CRP, PTH ve OPG, RANKL düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

2- GENEL BİLGİLER

1. Aferez

1.1. Terminoloji

Aferezis Yunanca'dan köken alan bir kelime olup ayırmak, uzaklaştırmak anlamına gelir. Aferezis ve hemaferesis genellikle eş anlamlı kullanılmakla birlikte aferez sözcüğü daha çok tercih edilmektedir. Aferez ifadesi, tam kanın uzaklaştırılması, çeşitli bileşenlere ayrılması, bir veya daha fazla bileşenin toplanması ve/veya değiştirilmesini içeren pek çok sayıdaki işlemde söz etmek için kullanılabilir (8). Ayrılan hücre ya da komponent aferez kelimesinin başına getirilerek (lökaferes, eritrositaferes, plazmaferes gibi) yapılan işlem tanımlanır.

Aferez işlemi, hastalara ya da sağlıklı donörlere yapılabilmesine göre ikiye ayrılır.

- Terapötik aferez: Hastanın kanından, tedavi amacıyla beliri kan komponentlerinden bir kısmının uzaklaştırılması işlemidir (8, 9).

- Donör aferezi: Hastalara ihtiyacı olan kan komponentini vermek amacıyla, sağlıklı donörlerden spesifik bir kan komponentinin ayrıştırılması ve komponent hazırlanmasıdır.

Aferez işlemi, uzaklaştırılan komponente ve yapılan işleme göre yapılan bir diğer sınıflandırmada ise 3 grupta incelenir (8, 9).

A) Sitaferesis:

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

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

- Terapötik lökoferez: Akut ve kronik lösemiler ile lenfomanın lösemik fazı gibi, periferik kandaki beyaz küre sayısının aşırı derecede arttığı durumlarda, malign lökositleri dolaşımdan uzaklaştırmak amacıyla yapılan işlemdir. Hiperlökositozlu lösemilerde, belirli eşik değerlerin aşıldığı durumlarda ya da lökostaz tablosunun varlığında lösemik hücreleri hızlı bir şekilde azaltmak için acil lökoferez endikasyonu vardır. Özellikle lökosit sayısı $>100.000/mm^3$ olan akut myeloid lösemili hastalarda lökostaz nedeniyle gelişen intraserebral kanama veya pulmoner lökostaza bağlı solunum yetmezliği nedeniyle hastalığın erken dönemlerinde yüksek mortalite oranının olduğu bilinmektedir. Bu hastalarda tek bir lökoferez işlemi ile lökosit sayısında %20–60 gibi önemli bir oranda azalma sağlanabilir. Lökostaz tablosu mevcut olmayan, lökosit sayısı $>100.000/mm^3$ olan akut myeloid lösemili hastalarda uygulanacak terapötik lökoferez ile erken dönemdeki mortalite belirgin oranda azaltılabilir.

- Granülosit Aferezi: Uzamış nötropenilerde fatal olabilen enfeksiyonların tedavisi amacıyla sağlıklı donörlerden granülosit toplanması işlemidir.

- Periferik Kök Hücre Aferezi: Akut ve kronik lösemilerle bazı solid organ tümörlerinde, otolog ve allojenik amaçlı hematopoietik hücre nakilleri için kök hücre toplanması işlemine verilen addır.

- 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 uzaklaştırılması işlemidir. Romatoid artrit ve multipl skleroz gibi hastalıklarda kullanılabilir (8–10).

2- Eritrosit aferezi: En sık olarak orak hücreli anemide, doku perfüzyonunun düzeltilmesi amacıyla ve yenidoğanın hemolitik anemisinde uygulanan eritrosit exchange'i esasına dayanan bir tedavi yöntemidir (9, 10).

3- Trombosit Aferezi:

- Terapötik trombosit aferezi: Özellikle esansiyel trombositemi ve polistemia vera olmak üzere kronik myeloproliferatif hastalıkların seyri sırasında arteryel ve venöz trombozlar ile kanamaların önemli morbidite ve mortalite nedeni olduğu bilinmektedir. Her ne kadar trombosit sayısı ile

trombotik olaylar ve kanamaların gelişimi arasında kesin bir ilişki saptanamamış olsa da, trombosit sayısının hızla düşürülmesi ile klinik tabloda belirgin düzelme sağlandığı gözlenmiştir. Bu hastalarda ilaç tedavisiyle trombosit sayısının düşürülmesi günler süreceğinden, özellikle önemli trombohemorajik olaylarda hızlı bir şekilde trombositleri düşürmek için trombosit aferezi kullanılmalıdır.

- Donör Trombosit Aferezi: Başta trombositopeni nedeniyle kanama riski yüksek lösemi hastalarında olmak üzere, çok sayıda trombositopeni tablosunda, transfüzyon amacıyla sağlıklı dönerlerden yoğunlaştırılmış trombosit hazırlanması ve hastaya verilmesi işlemidir (8, 10).

B) Komponent değişimi

1- Terapötik plazma değişimi: Bazı hastalıkların patogeneğinde etken olan plazma bileşenlerinin büyük hacimlerde hastadan alınması ve yerine replasman sıvısı ya da plazma verilmesi işlemidir. Aşağıda terapötik plazma değişimi endikasyonları belirtilmiştir (8, 9).

I-Hematolojik Hastalıklar:

- Trombotik trombositopenik purpura
- İmmün trombositopenik purpura
- Posttransfüzyon purpura
- Hiperviskozite
- Soğuk aglütinin sendromu
- ABO uyumsuz ilik nakli (alıcıda)

II- Otoimmün Hastalıklar:

- Kriyoglobulinemi
- Romatoid artrit
- Myastenia gravis
- Goodpasture sendromu
- Guillain-Barre sendromu
- Kronik inflamatuvar demyelinizan polinöropati

III- Metabolik ve diğer hastalıklar:

- Homozigot familyal hiperkolesterolemi
- Refsum hastalığı

- İlaç intoksikasyonu ve zehirlenmeler

2- İmmünoterapi/Plazma modülasyonu tedavi: Selektif olarak kandan bir maddenin temizlenmesi işlemidir.

- İmmunadsorbsiyon: Hastaların plazmalarından patolojik antikolar ve immün komplekslerin uzaklaştırılması işlemidir (8).

- LDL Aferezi: Homozigot familial hiperkolestoremi tanılı hastalarda çeşitli yöntemler (immunadsorbsiyon, adsorbsiyon, presipitasyon) kullanılarak plazmadan LDL'nin uzaklaştırılması işlemine verilen addır (11).

- Kaskad Filtrasyon: Çift filtre kullanılarak yapılan plazma filtrasyonudur (8).

- Fotoferez: Otomatize ekstrakorporeal fotokemoterapi olarak da adlandırılan (fotoimmünoterapi) yeni bir tedavi yöntemidir. Işığa duyarlı 8-metoksipsoralenin oral alımı sonrasında exvivo ultraviyole A ile irradiye edilen lökositlerin yeniden infüze edilmesi esasına dayanır. Fotoferez muhtemelen patojenik T lenfositler ve antijen sunan dendritik hücrelerin apoptozisini sağlamaktadır. Psöralen ve UVA birlikte hücre mitoz inhibisyonu, T hücrelerinde antijenik değişim, monositlerden TNF-alfa salınımı ve dendritik hücre modifikasyonu yaparak terapötik etkinlik sağlar. İlk kez derinin T hücreli lenfomasında kullanılmış olan tedavi son derece etkin olup, toksisite riski düşüktür (8).

Bunun yanı sıra diğer otoimmün hastalıklarda, solid organ graft rejeksiyonunda ve kemik iliği nakli sonrası graft versus host hastalığında kullanılmaktadır (12,13). Her geçen gün kanda bulunabilecek değişik patojen maddelerin uzaklaştırılması için yeni aferez yöntemleri geliştirilmekte ve uzaklaştırılan maddeye göre isim verilmektedir.

1.2. Tarihçe

İlk olarak deneysel aferez 1666'da Dr. Richard Lower tarafından köpekler kullanılarak manuel yöntemle denenmiştir (8). 1914'de Abel ve ark. üremik köpeklerde hayatta kalmanın plazma değişimi işleminin ardışık flebotomi oluşturarak olumlu etkisi olabileceğini gösterdi (14). İlk terapötik plazmaferez ise 1960'da Dr. Soloman tarafından hiperviskozite sendromu olan bir hastada gerçekleştirildi. 1971'de Dr. Cohn ve ekibi tarafından ilk otomatik trombosit

aferezi, 1972 yılında da Mr. Judson tarafından ilk lökoferez işlemi yapıldı. Yine 1972'de Haemonetics (aralıklı akım), Cobe ve Fenwall (devamlı akım) tarafından aferez cihazları piyasaya çıkarılmıştır. 1979'da ise bu cihazların daha gelişmiş modelleri ve bilgisayar programları desteğinde çalısın aferez cihazları kullanılmaya başlandı (1). 1980'lerin son yarısı boyunca ve 2000'lere doğru devamlı yeni teknolojiler tanıtıldı. Lipid aferezi için kullanılan aferez cihazları (LDL Aferezi, DALI), fotoferez için ekstrakorporeal fotoimmunoterapi cihazı Therakos UVAR, immunadsorbsiyon uygulamaları için; Excorim, ProSORba, Immunosorba cihazları geliştirilmiştir. En sık kullanılan aferez cihazları arasında Cobe spectra, Fenwal CS3000 Plus, Fenwal Amicus, Haemonetics MCS, Haemonetics MCS Plus, Fresenius AS 204 gibi cihazlar yer almaktadır (8, 14, 15).

1.3. Aferez İşlemi

Kanın komponentlere ayrılması kan hücrelerinin büyüklük ya da yoğunluklarının farklı özellikte olması esasına dayanılarak yapılır. Aferez üç temel işlem basamağından oluşur; kan komponentlerinin ayrılması, hedeflenen komponentlerin ayrılması ve son olarak da kalan komponentlerin donör/hastaya geri verilmesidir. Kan komponentlerini birbirinden ayırmak amacıyla çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Günümüzde kullanılan üç teknik mevcuttur (8, 16).

1. Santrifüj tekniğı: Kan komponentlerinin özgül ağırlıklarına göre birbirlerinden ayrılması esasına dayanır. Manuel yapılabildiğı gibi, aferez cihazlarında olduğı üzere otomatik olarak da yapılabilmektedir. Santrifügasyon sonrası hücresel elemanlar özgül ağırlıklarına göre en içte plazma; daha sonra sırasıyla, trombositler, mononükleer hücreler, granülositler (nötrofil, eozinofil ve bazofiller) ve eritrositler olmak üzere sıralanır.

2. Filtrasyon tekniğı: Kan komponentlerinin birbirlerinden büyüklüklerine göre ayrılması esasına dayanır. Delikli bir membrandan geçirilen hücreler ve plazma membrandaki porların çaplarına göre hücreler birbirlerinden ayrılabilir.

3. Adsorpsiyon tekniği: Daha çok immunoadsorpsiyon işlemi için kullanılan bir uygulamadır. Biyoaktif membranlar kullanılarak istenilen elemanların plazmadan ayrılması esasına dayanır.

1.4. Haemonetics MCS ve MCS Plus:

Haemonetics MCS, oldukça küçük bir cihaz olup, plazmaferez, tromboferez, terapötik sitaferez, plazma değişimi ve kök hücre toplama yapılabilmektedir. Cihazda hava dedektörleri, basınç ve hat sensörleri, antikoagulan ve an pompaları, LED ekran mevcuttur. İşlemler tek koldan ve aralıklı akım sistemiyle yapılır. MCS Plus, Haemonetics MCS'nin aynısı olup, modifiye edilmiş ve kuvvetlendirilmiş bir bilgisayar programı ve ek olarak plazma pompasına sahiptir. Plazma pompası primer olarak ürünün beyaz kan hücresi oranını azaltmak amacıyla trombosit aferezi sırasında kullanılmaktadır. Mikroişlemci kritik akışı belirler ve otomatik olarak plazma pompasının hızını giriş pompasının hızına uyduracak şekilde değiştirir. Kritik akış trombositlerin lenfositlerden ayrılmasına neden olur. Böylece autosurge olduğunda lökositler olmadan trombositlerin uzaklaştırılması daha kolay olur. Plazma pompası yine autosurge sırasında plazmanın pompalanması için ve reinfüzyon sırasında kırmızı kan hücrelerinin plazmayla karıştırılması amacıyla da kullanılır.

MCS Plus'un LN9000 versiyonu birkaç cihazın tek bir ekran yardımı ile monitorize edilmesine imkan tanıyan daha büyük bir ekran, online yardım ekranları, güncelleştirilmiş işlem istatistikleri ve bilgisayar arayüz yetenekleri sunar. İşlemlerin çoğu tam otomatiktir.



Resim 1. Haemonetics MCS Plus

1.5. Aferez Donörü Olma Kriterleri

1- Donör Açısından

a- 18 yaş üzeri olmalıdır.

b- 50 kg ve üzeri vücut ağırlığına sahip olmalıdır.

c- Platelet sayısı 150.000 / mm³'ün üzerinde olmalıdır.

d- Hematokrit düzeyi % 38'in üzerinde olmalıdır.

e-Vital bulgular: Nabız ritmik ve 50-100 vuru/dakika arasında olmalıdır.

Yüksek egzersiz toleransı olan atletlerde dakikada 50 atımdan daha düşük olan nabız sayıları bile kabul edilebilir. Sistolik kan basıncı 180, diastolik kan basıncı 100 mmHg'dan yüksek olmamalıdır. Donörün dilaltından ölçülen ateşi 37.5 C yi geçmemelidir.

f- Özgeçmişte serebral, kardiyak ve pulmoner hastalık öyküsü olmamalıdır.

g- Hamile olmamalıdır.

2- Alıcı Sağlığı Açısından

a- Donörde akut hastalık olmamalıdır.

b- Cilt: Donörün antekubital alanında akne, psöriatik lezyonlar ya da enjeksiyon izleri gibi izler olmamalıdır. Donörde herhangi bir cilt enfeksiyonu olmamalıdır.

c- Kanser: Hematolojik malignite öyküsü olanlar donör olarak kabul edilemezler. Komplike olmayan lokal deri kanserleri bağış için engel oluşturmaz. Diğer kanser tiplerinde ise bağış kabulü, merkeze göre değişmektedir. Genel yaklaşım, tüm tedavileri bitmiş ve 5 yıldır hastaliksız olanların donör olarak kabul edilmesidir.

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

e- Hepatit riski: Genelde, viral hepatit geçirmiş adaylar tüm hayatları boyunca kan bağışında bulunmamalıdır. Bunun istisnası yaşamın ilk 10 yılında hepatit geçirenlerdir. Hepatit atağı enfeksiyöz mononükleoz, sitomegalovirüs veya ilaç kullanımına bağlı olan kişiler de donör olarak kabul

edilebilir. Aydınlatılmamış sarılık, karaciğer hastalığı öyküsü olanlar, anti-HCV ve HbsAg) pozitif olanlar, intravenöz ilaç bağımlısı olanlar yaşamları boyunca donör olmamalıdır. Hepatit virüsü ile enfeksiyon riski yüksek olan kişilerin bağış yapmaları 12 ay ertelenmelidir.

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

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

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

3- Donasyon Sıklığı Açısından

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

1.6. Donör Aferezi Komplikasyonları

Donör aferezi işleminde komplikasyon görülme sıklığı % 2-3'dür. Fakat aferez işlemin sonlandırılmasına sebep olan komplikasyon oranı % 0.1-1 oranındadır. Komplikasyonların gelişmemesi için donörün işlem öncesi ayrıntılı değerlendirilmesi büyük önem taşır. Aferez teknolojisinin gelişmesi de donör komplikasyonlarında belirgin azalma sağlamıştır (17).

1- Antikoagülasyona bağlı yan etkiler:

Aferez işleminde hem donör aferezi, hem de terapötik aferezde antikoagülan ajan olarak sitrat kullanılmaktadır. Kalsiyum iyonu şelasyonu yapması ve kalsiyuma bağımlı pıhtılaşma faktör reaksiyonlarını bloke etmesi, sitratin etki mekanizmasını oluşturmaktadır. Donöre sitrat verilirken en önemli konulardan biri sitratin antikoagülan etkisi ve toksisitesi arasındaki dengenin kurulmasıdır. Sitrat dağılımı ve infüzyon hızının hesaplanması, donörün ne

kadar sitrat alacağını tahmin ettirir, ama donörün sitratı nasıl tolere edeceğini göstermez. Sitrat karaciğerde, böbreklerde ve kaslarda metabolize olur. Bu nedenle renal ve hepatik disfonksiyonu olan bireylerin sitratı metabolize etme yeteneği zayıflamıştır.

Sitratın fizyolojik etkileri: Genellikle aferez sırasındaki geçici hipokalsemi iyi tolere edilir. İyonize kalsiyum düzeylerindeki azalma, sinir hücre membran uyarılabilirliğini arttırarak spontan depolarizasyona yol açabilir. Bu da aferez sırasında karşılaşılabilen ağız çevresinde ya da periferal parestezilere yol açar. Farklı çalışmalarda sitrat toksisitesi donörlerin % 8–25’inde görülmüştür. Daha küçük bir grupta ise bulantı, baş dönmesi, titreme ve kasılmalar ortaya çıkmıştır. Ağır hipokalsemide ise karpopedal spazm ve sonrasında da konvülsiyonlar ile laringospazm oluşabilir. Tüm bu nedenlerle ve hiperventilasyona bağlı respiratuar alkaloz neticesinde ölüm olabilir.

Aferez sırasında iyonize kalsiyum düzeyindeki azalmalar myokardial depolarizasyonun plato fazını uzatarak EKG’de QT aralığının uzamasına neden olabilir. Çalışmaların çoğunda bu QT uzamasına ilişkin olumsuz kardiyak sonuçlar gözlenmemiştir. Daha yüksek sitrat seviyelerinde ise myokardial kontraktilite baskılanabilmektedir (17, 18). Günümüzdeki daha gelişmiş aferez cihazlarında daha az sitrat kullanılmakta, sitratlı plazma daha yavaş ve sabit bir hızda geri dönmektedir. Yine bazı cihazlarda kan hacmi hesaplamaları ile sitrat dozu ve hızı otomatik olarak sınırlandırılmaktadır, dolayısıyla günümüz teknolojisi ile sitrat toksisitesi çok azalmıştır. Göreceli olarak, artmış sorunlar aralıklı akım sistemleri kullanan cihazlarda daha sıktır.

Hipokalsemik sitrat reaksiyonundan korunmak için sitrat infüzyon hızının izlenmesi ve işlem süresince donörün yakın takibi gereklidir. Donörün sitrata bağlı kalsiyum toksisitesi ile ilgili yakınması olursa, hafif olgularda tedavide total kan akış hızı veya tüm kana eklenen sitrat hızı cihazda düşürülmelidir. Uyuşma artar ve bulantı gelişirse semptomlar geçinceye kadar işleme ara verilebilir. Karpopedal spazm ve tetani bulgularında ise parenteral kalsiyum verilmelidir. Oral kalsiyumun aferezden önce ve aferez sırasında etkinliği gösterilememiştir (17, 18).

İşlem türü açısından en az yan etkinin trombositaferez sırasında olduğu bildirilmektedir (18). Trombosit aferezi, cihaza ve donöre göre değişmekle birlikte, genelde 90 dk dan kısa bir işlemdir. Bu sırada daha çok antikoagulan olarak acid citrate dextrose-A (ACD-A) kullanılır. Aslında sitrat infüzyon oranı arttıkça, işlenen hacim ve toplanan trombosit miktarı artmaktadır. Yapılan çalışmalarda serum sitrat düzeyi artışı ile orantılı olarak iyonize kalsiyum düzeyinde düşme ve QT mesafesinde uzama gösterilmiştir. Uygulanan ACD-A kademeli olarak azaltıldığında, birinci saatteki iyonize Ca düşüklüğünün azaldığı ve ikinci saatte önemli bir değişiklik olmadığı bildirilmektedir (2, 3).

Sitratla ilgili yan etkiler açısından donör, işlem boyunca yakından takip edilmelidir. Sitratla ilişkili yan etkiler Tablo.1’de verilmiştir.

Tablo1. Sitrat toksisitesi ve hipokalsemi belirtileri

Hafif	Ağız çevresi parestезisi-ağız çevresi ve yüzde uyuşukluk Hapşırma Dudakları çiğnemek
Orta	Eller, ayaklar ve/veya göğüse ilerleyen parestezi Kan ısıtıcısı kullanılmasına rağmen titreme Bulantı-kusma, abdominal kramp Baş dönmesi ve hafif hipotansiyon Huzursuzluk
Ağır	Kas krampları, şiddetli abdominal kramp Tremor Mesane inkontinansı Ölüm korkusu Bulanık veya çift görme Bilinç kaybı

2- Hemodinamik yan etkiler:

Aferezin fizyolojik cevapları içinde ikinci önemli kategori sıvı kaymalarına bağlı hemodinamik değişikliklerdir. Tam kanın alınması, bir ya da daha fazla komponentinin alınıp, kalan komponentlerin geri verilmesi ile ortaya çıkar. İntravasküler volümde meydana gelen bu değişiklikler hemodinamik dengeyi değiştirebilir. Devamlı akım cihazlarına göre aralıklı akım cihazları daha fazla hemodinamik bozukluk yaratırlar. Basit bir trombosit aferezinde oldukça

küçük net volüm açığı (yaklaşık 300 ml plazma) 60-100 dakika içinde ortaya çıkar. Dolaşan volumün azalması hipotansiyona neden olabilir. Azalmış dolaşan volüme 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 (8, 17, 18). Trombosit aferezi donörleri üzerinde yapılan uzun dönem çalışmalar, sık donasyonun donörün kemik iliği üzerine olan kötü etkisinin minimal olduğunu göstermiştir. Seri işlemlerde hemoglobin, trombosit sayısı ve lökosit sayısında anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (17).

3- Hücre kaybı:

Aferez cihazında donörün büyük hacimlerde kanı dolaştığı için kan hücrelerinde kayıplar olabilse de yapılan birçok çalışmanın sonucunda trombosit aferezi donörlerinde dolaşan kan hücre sayılarında son derece hafif azalmalar olduğu gösterilmiştir

4- Diğer yan etkiler:

a- Vazovagal reaksiyonlar: Kan baışı sırasında görülen en sık reaksiyon olan vazovagal reaksiyonlar aferez sırasında ve sonrasında ortaya çıkabilir. Emosyonel stres, iğne veya kan korkusu parasempatik cevabı tetikleyerek kalp hızını ve kan basıncını azaltır. Donörde solukluk, terleme, huzursuzluk, baş dönmesi, hipotansiyon ve bardikardi gözlenir. Daha şiddetli reaksiyonlar bulantı, kusma, konvülsiyon ve senkopa kadar gidebilir. Daha çok ilk kez donör olanlarda görülür. Bu ataklar donörü supin pozisyonunda trendelenburg pozisyonuna getirerek tedavi edilebilir. Atak tamamen düzeline kadar işleme son verilir. İzotonik solüsyonlar verilebilir (8, 17, 18).

b- Hiperventilasyon: Eğer aferez donöründe anksiyete gelişirse buna bağlı hiperventilasyon olabilir ve respiratuar alkalozaya yol açabilir. Donör sakinleştirilmelidir, bu mümkün olmazsa bir torbaya solutulması uygundur.

c- Damar yolu problemleri: Damar yolu girişimleri ile ilişkili problemler sık görülür. Sağlıklı donörlerde uzun süreli kateter giriş yeri yoktur ve periferel venöz girişim tercih edilir. Aferez işleminin uzun süreli olması ve büyük iğne

varlığı nedeni ile venöz giriş yerinde anjiospazm, tromboz, işlem sonrasında hematoma oluşumu, ve enfeksiyon gelişebilir (8, 17).

d- Hemoliz: Aferez sistemindeki problemler hemolize yol açabilir. Bu nedenle donör plazmasının renk değişikliği açısından yakından izlenmesi gereklidir. Hemoliz oluşursa işlem hemen durdurulmalıdır. Burada önemli olan bu komplikasyondan korunmadır, bu nedenle cihaz kurulurken daima iki kez kontrol edilmeli ve doğru sıvıların bağlandığından emin olunmalıdır.

e- Hava embolisi: Çok nadir görülen bir komplikasyondur. Günümüzdeki modern cihazlar sistemdeki havayı tesbit etmede son derece başarılıdır. Yine de bu komplikasyondan kuşkulanırsa işlem hemen durdurulmalı, donör sol tarafına trendelenburg pozisyonuna yerleştirilmelidir.

2. QTc Dispersiyonu

Q dalgasının başlangıcından T dalgasının izoelektrik hatta dönüşüne kadar geçen süre QT mesafesi olarak adlandırılır. QT mesafesi, ventrikül myokardının depolarizasyon ve repolarizasyonunun toplam süresini gösterir ve erişkinlerde 0,35 ile 0,44 saniye arasında değişir (19). Her derivasyon için o lokalizasyona uyan ventriküler miyokardın elektriksel aktivasyon ve istirahat toplam süresini verir.

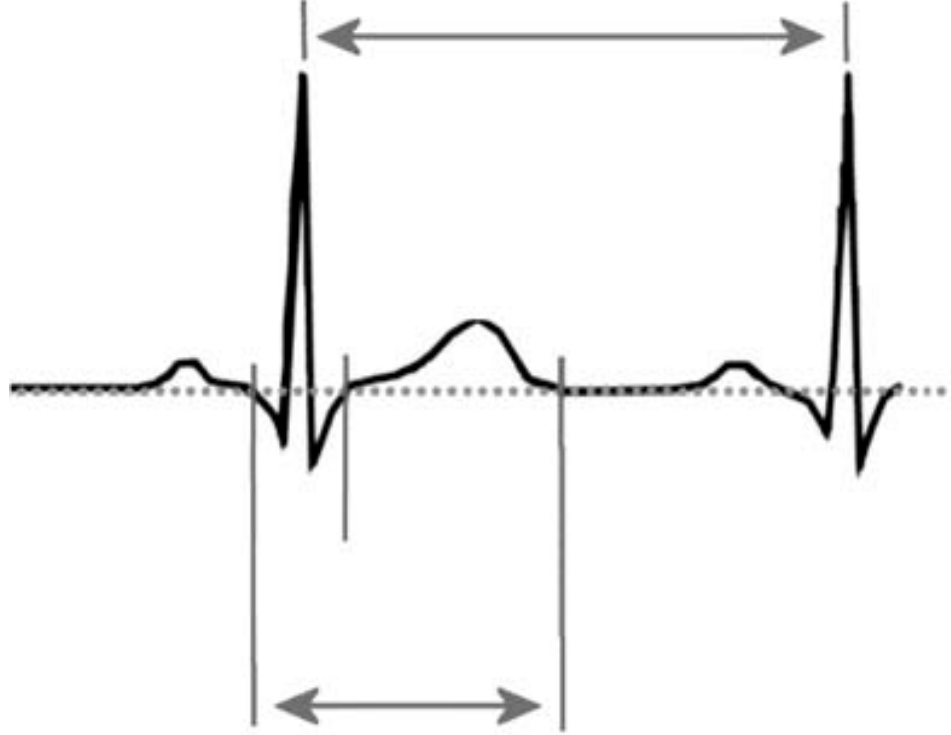
QT süresi, otonomik tonus, katekolaminler, cinsiyet, kalp hızı ve gece-gündüz farkından etkilenir. Kalp hızının artması QT aralığında kısalmaya neden olurken, hızın azalması QT uzamasına yol açar. Bu nedenle QT süresinin beklenen değerlerde olduğunu veya anormal olarak uzadığını söylemek için kalp hızı göz önüne alınarak hesap yapılmalıdır. Çeşitli formüllerle QT aralığı kalp hızına göre düzeltilir. Düzeltilmiş QT (corrected QT = QTc) kalp hızı dikkate alınarak ve bazı formüllerde ortalama kalp hızı 60/dakika ya göre düzeltilmiş QT değeridir.

Düzeltilme için pek çok hesaplama formülü kullanılmaktaysa da, 1918 yılında tanımlanan Bazette formülü halen en sık kullanılan hesaplama yöntemidir (20, 21). Düzeltilmiş QT mesafesi (QTc) QT mesafesinin RR mesafesinin kareköküne bölünmesiyle elde edilir. Düzeltilmiş QT mesafesinin üst sınırı 0.44 sn (440 ms) dir. Ekzersiz sırasında kalp hızı 120/dk oluncaya kadar QTc artar, bu hızın üstünde azalmaya başlar. Ayrıca QT intervalinin

süresi EKG derivasyonlarına bağlıdır. V2-V3'de en uzundur. Normal bireyde derivasyonlar arasında 50 milisaniyeye kadar fark olabilir.

Bazette Formülü:

$$\text{Düzeltilmiş QT intervali (QTc)} = \frac{\text{QT intervali (ölçülen)}}{\sqrt{\text{R-R interval (sn)}}}$$



Şekil 1. QTc hesaplanması için QT ölçümü

Ani kardiyak ölümlere ve senkopa yol açabilen uzun QT sendromu idiyopatik olabileceği gibi ilaçlara, elektrolit bozukluklarına bağlı veya kalıtsal olabilir. Kalıtsal formu daha çok potasyum kanalları ile ilişkili genlerdeki mutasyonla birlikteyken antiaritmik kardiyak ilaçlar da dâhil olmak üzere pekçok ilaç QT uzamasına yol açabilir. Bazı durumlarda genetik defektlere ek olarak bazı ilaçların terapötik dozları dahi kullanılması ölümcül QT uzamasına neden olabilmektedir (20). Tablo 2 ve 3'de QT uzamasına ve QT kısalmasına yol açan nedenler sıralanmıştır.

Tablo 2. QT aralığının uzamasına ve kısalmasına yol açan durumlar

QT'de Uzama Nedenleri

- 1- İlaçlar
- 2- Elektrolit dengesizlikleri: Hipopotasemi, hipokalsemi, hipomagnezemi
- 3- Kardiyak bozukluklar: Myokard iskemisi, kardiyomyopatiler, akut kardit, 2.-3. derece A-V blok, akut kor pulmonale, sinus bradikardisi, mitral valv prolapsusu
- 4- Hipotermi
- 5- Nörolojik bozukluklar: Serebrovasküler olay, kafa travması, nöroşirürjik işlemler
- 6- Endokrinolojik nedenler: Diabetes mellitus, feokromositoma, adrenal yetmezlik
- 7- Konjenital uzun QT sendromu

QT uzamasına yol açan ilaçlar

- 1- Antiaritmik ilaçlar
 - a- Sınıf 1a antiaritmikler: Kinidin, dizopiramid, prokainamid
 - b- Sınıf 1c antiaritmikler: Propafenon
 - c- Sınıf 3 antiaritmikler: Amiodaron, bretilyum, butilide, defotilide, sematilid, sotalol
 - d- Sınıf 4 antiaritmikler: Bepridil
- 2- Antibiyotikler: Eritromisin, klaritromisin, trimetoprim-sulfametaksazol, klindamisin, levofloxacin, moxifloxacin, ketokonazol, flukanazol, itrakanazol, klorokin, amantidin, pentamidin
- 3- Antiviraller: Foskarnet
- 4- Antineoplastikler: Tamoksifen, antrasiklinler
- 5- Antihipertansifler: Nikardipin, isradipin
- 6- Antihistaminikler: Terfenadin, astemizol
- 7- Antimigren ilaçlar: Sumatriptan, naratriptan, zolmitriptan
- 8- Antidepresanlar: İmipramin, desimipramin, amitriptilin, nortriptilin, pimozid, doksepin, sertralin, fluoksetin
- 9- Nöroleptikler: Klorpromazin, haloperidol, droperidol, tioridazin, risperidon, ziprasidon, ketapin, sertindol
- 10- Kolinergikler: Sisaprid
- 11- Diğer: Sildenafil, prednizon, karbamazepin, kloral hidrat, probukol, oktreotid, amrinon, milrinon

Kısa QT Nedenleri

- 1- Hiperkalemi, hiperkalsemi
 - 2- Asidoz
 - 3- Dijital intoksikasyonu
 - 4- Hipertiroidi
 - 5- Hipertermi
 - 6- Artmış sempatik aktivite
-

EKG de ölçülen tek bir QT aralığı ventrikül dinlenme zamanı ve repolarizasyon dağılım değişkenliği hakkında tam bir bilgi vermediği için bölgesel değişiklikleri en iyi şekilde QT dispersiyonu (QTd) yansıtır. EKG deki en uzun QT mesafesi ile en kısa QT mesafesi arasındaki farka QT dispersiyonu (QTd), eğer düzeltilmiş QT mesafeleri kullanılırsa düzeltilmiş QTc dispersiyonu (QTcd) denir (20, 22). QT dispersiyonun normal aralığı 40-50 msn, maksimum 65 msn olarak kabul edilir. Ventriküler aritmi riskini kolay ve invazif olmayan bir yöntemle göstermesi, QTd'nin en büyük avantajıdır.

QT dispersiyonunun miyokard repolarizasyonunda ki bölgesel heterojeniteyi gösterdiği kabul edilir. Homojen olmayan miyokard repolarizasyon zamanının nedeni; bölgesel ileti yavaşlaması veya ileti yolu değişmesi sonucu aksiyon potansiyel süresindeki gecikme ile açıklanmaktadır. QT dispersiyonu ne kadar fazla ise ventriküler repolarizasyon homojenitesi o kadar azdır ve dolayısıyla ventriküler instabilite o kadar fazla demektir (23). Ventriküllerin farklı bölgelerindeki homojen olmayan ileti hızları veya repolarizasyon reentri mekanizması yolu ile ciddi ventriküler aritmilere dolayısıyla da ani kalp ölümlerine sebep olabilir (24).

Koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği, hipertrofik kardiyomiyopati, periferik vasküler hastalıklar, alkolik karaciğer hastalığı, diyabetik nefropati, hipertansiyon, otonomik disfonksiyon gibi çok sayıda patoloji ile QT intervalindeki anormallikler ve buna bağlı mortalite arasında belirgin ilişki olduğu gösterilmiştir.

QTd'nin periferik damar hastalığı, iskemik kalp hastalığı, dilate ve hipertrofik kardiyomiyopati, hipertansiyon, diabetes mellitus ve son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda artmış kardiyovasküler mortalite ve morbidite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (4, 5). Çok yakın zamanda yapılan bir çalışmada eritrosit aferezi yapılan orak hücreli anemi hastalarında da QTc değerlerinde uzama olduğu gösterilmiştir (25).

3.Osteoprotegerin / RANKL

Osteoprotegerin (OPG), iki farklı bilim adamı grubu tarafından, 1997'de keşfedilmiş olup, osteoclast inhibitory factor (OCIF) olarak da bilinir (26, 27). Amgen grubu tarafından sıçanların intestinal cDNA sıralama projesi sırasında

bulunmuş ve TNF reseptör (TNFR) ailesinin bir üyesi olduğu anlaşılmıştır. Snow Brand Milk grubu ise osteoklast uyarıcı ve baskılayıcı faktörleri araştırırken insan embriyonik fibroblastlarından osteoklast baskılayıcı protein (OCIF) ayırtmış, kısa bir süre sonra cDNA sıralaması yapıldığında ise OCIF'in OPG ile aynı olduğu görülmüştür.

OPG, başlangıçta 401 amino asit olarak sentezlenen bir polipeptid olup, 21 amino asitlik propeptid kısmı ayrıldıktan sonra 380 amino asitlik olgun protein oluşur. Hücre dışına 60 kDa'luk monomerik ve 120 kDa'luk disülfid bağı içeren homodimerik, çözünür bir glikoprotein olarak salgılanır. OPG, tümör nekroz faktörü reseptörleri (TNFR) süper ailesinin bir üyesi olup bu ailenin diğer reseptörlerinden farklı olarak transmembran ve sitoplazmik kısımlar içermez, yani hücre membran üzerinde ve stoplazmik alanda bulunmaz. Direk sinyal kapasitesi yoktur, etkilerini tuzak reseptörü olarak gösterir.

Esas olarak kemik iliği stromal hücreleri ve osteoblastlar tarafından üretilmekle beraber; kardiyovasküler sistem hücreleri (kalp, arter ve venler), böbrek, karaciğer, dalak, beyin, spinal kord, akciğer, barsaklar ve tiroid bezinde de mRNA'sı gösterilmiştir. En önemli biyolojik etkisi osteoklastların farklılaşmasını ve aktivasyonunu baskılamasıdır. Sonuç olarak osteoklastların yaptığı kemik yıkımını inhibe eder. Hipokalsemik ve antirezorptif etkilidir. OPG, RANKL'a bağlanarak tuzak reseptör gibi etkisini gösterir ve RANKL'ın RANK'a bağlanmasını engeller (28). Sonuç olarak RANKL kemik rezorpsiyonu oluşturamaz, osteoklast farklılaşması ve aktivasyonu inhibe edilmiş olur (28-30).

Çok sayıda hormon, sitokin ve ilaç, OPG üretimini etkilemektedir. Parathormon, 1,25(OH)₂D₃, PGE₂, interlökin-1, fibroblast büyüme faktörü-2 ve glukokortikoidler OPG üretimini azaltırken; östrojen, TNF-alfa, TGF-β ve interlökin-18 arttırmaktadır.

Kemik iliği hücrelerinin sentezlediği OPG'nin yaşla azaldığı görülmüştür. Kemik yüzeyine uygulanan gerilme kuvveti ise OPG mRNA sentezini artırır. Bunlar senil osteoporoz ve immobilizasyona bağlı kemik kaybı durumunda OPG'nin önemli bir mediyatör olduğunu göstermektedir. Renal osteodistrofi,

romatoid artrit, primer bilier siroz, Cushing ve HIV hastaları ve kemik metastazı olan prostat kanserlerinde OPG seviyelerinde artma, litik kemik lezyonu olan multipl miyelom hastalarında ise OPG seviyelerinde azalma tespit edilmiştir (31-33).

OPG'nin temel fonksiyonu osteoklast farklılaşması ve aktivasyonunun inhibisyonu olmakla birlikte, diğer dokularda sentezlenen OPG'nin rolü tam olarak bilinmemektedir. Koroner arter düz kası, endotel hücreleri, büyük arterlerin mediası gibi farklı damar hücre tiplerinde OPG sentezinin gösterilmiş olması vasküler yatakta fonksiyonu olduğunu göstermektedir (34).

OPG yoksun farelerde, sadece artmış osteoklast aktivasyonuna bağlı olarak osteoporoz oluşmakla kalmayıp, aynı zamanda büyük arterlerde kalsifikasyon, intima ve medialarında proliferasyon ve aort diseksiyonu görülmüş olması, OPG'nin büyük arterleri medial kalsifikasyona karşı koruduğunu göstermektedir (34, 35). OPG ve RANKL'in osteoporoz ve arteriyel kalsifikasyonla ilişkisi özellikle postmenopozal kadınlar ve osteoporozlu yaşlılarda klinik olarak kardiyovasküler hastalık ve arteriyel kalsifikasyonla uygunluk göstermektedir (36, 37). Yaşlı kadınlarda serum OPG seviyeleri ile kardiyovasküler mortalite arasında önemli bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (38).

RANKL (NF- κ β reseptör aktivatör ligandı, OPGL); yine OPG'yi bulan iki grup tarafından, osteoprotegerinin bulunmasından kısa bir süre sonra bulunmuştur. Snow Brand Milk grubu kemik iliği stromal hücrelerinden izole etmişler ve osteoklast farklılaşma faktörü (ODF) olarak adlandırmışlardır (39). Amgen grubu tarafından ise sıçan miyelomonositik hücrelerinden sentezlenmiş ve OPG-Ligand (OPGL) olarak adlandırmışlardır (40).

Normal ve patolojik durumlarda kemik rezorpsiyonunun anahtar mediyatörü olan RANKL, TNF ligand ailesinin bir üyesidir. 40-45 kDa'luk membrana bağlı hücresel ve 32 kDa'luk biyolojik olarak aktif, çözünür iki formdan oluşmuş 317 amino asitlik bir peptiddir. Lenf nodları, timus, peyer plakları ve dalak gibi lenfoid dokularda ve akciğerde daha fazla olmak üzere kemik iliği stromal hücreleri ile osteoblastlarda sentezlenir (40).

RANKL; öncül ve olgun osteoklastlar, uyarılmış T ve dendritik hücrelerin yüzeyinde bulunan kendine ait reseptörü RANK'a bağlanarak bu hücreleri uyarır . RANK'ın RANKL tarafından uyarılması öncül osteoklastların olgun osteoklastlara farklılaşmasını, aktive olmasını ve canlılıklarını sürdürmelerini sağlar. RANKL'ın kemikteki ana görevi osteoklast oluşumunu ve apoptozun inhibisyonunu sağlayarak kemik kaybı ve rezorpsiyonunu arttırmaktır (40). Osteoblastlar yanında T hücrelerinden de artmış miktarda RANKL salgılanması, artrit ve diğer inflamatuvar hastalıklara bağlı kemik kaybında RANKL'ın rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Etkileri bir tuzak reseptörü olan OPG ile engellenmektedir (26). Genetik yapısı değiştirilerek OPGL üretimi durdurulan farelerde şiddetli osteopetrozis geliştiği ve osteoklast sayısında belirgin azalma olduğu görülmüştür (41). Birçok hormon ve sitokin RANKL üretimini etkilemektedir. 1,25 (OH)₂ D₃, PTH, IL-1 β , TNF- α , glukokortikoidler RANKL üretimini artırırken; TGF- β azaltmaktadır (28).

OPG/RANKL oranının kemik kütlesini belirleyen esas faktör olduğu belirtilmiştir (32). Osteoblastlar sentezledikleri RANKL miktarını değiştirebilirler ve RANKL sentezini indükleyen pek çok faktör, osteoblastlarda OPG sentezini de düzenler. Genellikle RANKL seviyesindeki artma, OPG seviyesindeki azalma ile birliktelik gösterir. OPG/RANKL oranını azaltan glukokortikoidler, fibroblast büyüme faktörü-2, PTH (OPG sentezini inhibe eder ve RANKL sentezini arttırırlar), IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-11, IL-17 ve TNF- α gibi bazı sitokinler (RANKL sentezini artırır), prostaglandin E₂, pek çok mezenkimal transkripsiyon faktörü (cbfa-1, PPAR- γ) ve 1,25-dihidroksi vitamin D₃ gibi pek çok faktör kemik rezorpsiyonuna sebep olurken, OPG/RANKL oranını arttıran östrojen (osteoblastik hücrelerde OPG sentezini artırır ve RANKL sentezini inhibe eder) ve TGF- β (OPG sentezini artırır) antirezorptif etki gösterir.

4- Kalsiyum / Parathormon

Kalsiyum yapısal olarak kemik ve dişlerin yapısında yer alırken, fonksiyonel olarak da kan pıhtılaşması, hormonların salgılanması, iyon transportu ve nöromusküler eksitabilite olaylarında görev alır.

Toplam vücut kalsiyum miktarı 1.2-1.4 kg kadardır. Kalsiyumun % 99'undan fazlası iskelet yapısında ve çoğunlukla hidroksiapatit kristalleri şeklinde bulunur. % 1 kadarı ekstrasellüler sıvıda bulunur. Kemikteki kalsiyumun 150-200 mg kadarı kemik yapım döngüsünde kemik ile ekstrasellüler sıvı arasında değişir (42). Plazma Ca düzeyi 8.4-10.2 mg/dl (2.1-2.6 mmol/L) arasındadır.

Ekstrasellüler sıvıdaki Ca (özellikle plazmada) üç şekilde bulunur.

1- Serum proteinlerine bağlı- % 40 (% 80-90 albümine, % 10-20 ise globüline bağlı)

2- Kompleks oluşturmuş şekil- % 10 (sitrat, bikarbonat, laktat ve fosfat anyonları ile)

3- İyonize kalsiyum şeklinde- % 50

Ca homeostazı; barsaktan emilimi ve salgılanması, böbrekten emilimi ve salgılanması, kemikten rezorbsiyonu ve kemiğe reabsorbsiyonu ile devam ettirilir. Erişkin bir kişi diyetle günde ortalama 800-1200 mg Ca alır (43). Bunun altındaki alımlarda negatif kalsiyum dengesi oluşur. Süt ve süt ürünleri kalsiyum bakımından zengin besinlerdir. Diyetteki kalsiyumun %20-70 'i barsaktan emilir (44). Bu oran kişinin ihtiyacına göre belirlenir. Günde ortalama 400 mg kadar kalsiyum ince barsaktan emilirken, ortalama 200mg kadar kalsiyum ise barsak sıvıları ile sekrete edilir. Yani günde 200 mg kadar kalsiyum barsaktan kana geçer. Kalsiyum emilimi oral alımı takiben 4 saat içinde gerçekleşir ve emilim kişinin gereksinimine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Puberte, gebelik, laktasyon gibi fizyolojik durumlar ile vitamin D fazlalığı ve akromegali gibi patolojik durumlarda Ca emilimi artar.

Kalsiyum-fosfor oranının yüksekliği; diyetteki fitik asit, sitrat ve oksalat oranının fazla olması; kolsişin, teofilin, florid ve glukokortikoid gibi ilaçlar, kalsiyum emilimini olumsuz etkiler. Östrojen eksikliği, ileri yaş, gastrektomi, kısa barsak sendromu, motilitenin hızlı olması, barsak emilim bozukluğu sendromlarında, diyabette ve böbrek yetmezliğinde kalsiyum emilimi azalır. Protein eksikliğinin de Ca emilimini azalttığı gösterilmiştir (45).

Böbrekler, kalsiyum homeostazının dakikalar içinde düzenlenmesinde rol alırken, barsak ve iskelet, orta ve uzun dönemde kalsiyum dengesinin

düzenlenmesinde önemlidir (46). Normal bir erişkinde günlük glomerülden filtre olan kalsiyum miktarı 10000 mg kadardır ve bunun % 97-99 'u geri emilir. Geri emilimin büyük kısmı (% 50-70) proksimal tübülden ve aktif transportla olur. Buradaki Ca emilimi, Na geri emilimi ile yakından ilişkilidir ve PTH kontrolündedir (47). İdrarla Ca atılımı oral alınan ve idrarla atılan sodyumdan etkilenir. Ekstraselüler volüm artışı gibi böbrek sodyum atılımını etkileyen faktörler, benzer biçimde böbrek kalsiyum atılımını da etkilemektedir. Mineralokortikoidlerle ekstraselüler hacmin kronik olarak genişlemesi, idrarla Ca atılımını arttırmaktadır. Kalsiyum geri emiliminin % 30-40'ı henle kulpunun çıkan kolunda gerçekleşir. Burada sodyum ve kalsiyumun geri emilimi aynı yönde olmaktadır. Henlenin çıkan kalın kolunda kalsiyum transportu pasiftir. Bu basamakta Ca nakli, hassas reseptörlerin katıldığı hücre dışı kalsiyum konsantrasyonu tarafından düzenlenir. Kalsiyum geri emiliminin % 10'u ise distal kıvrıntılı tübülden gerçekleşir. Distal tübülden kalsiyum geri emilimi aktif yolla olur ve bu basamak PTH ve kalsitriol tarafından düzenlenir.

Serum proteinlerindeki değişiklikler, plazma Ca seviyesini değiştirir. Serum albüminindeki 1 g/dl artış proteine bağlı kalsiyumu 0.8 mg/dl arttırırken, globülin konsantrasyonundaki 1 gr/dl artış proteine bağlı kalsiyumu 0.16 mg/dl kadar arttırır. Proteine bağlı kalsiyum aşağıdaki formülle hesaplanır (48, 49).

$$\text{Proteine bağlı Ca oranı(\%)} = 8 \times \text{Albümin (gr/dl)} + 2 \times \text{Globülin} + 3$$

Proteine bağlı kalsiyumu etkileyen bir diğer faktör ise pH değişiklikleridir. pH'da 0.1' lik bir artış, proteine bağlı kalsiyumu 0.12 mg/dl artırıp iyonize kalsiyum seviyesinde düşmeye neden olurken, pH'daki azalma ise proteine bağlı kalsiyumu azaltıp iyonize kalsiyum miktarında artışa yol açar (50).

Parathormon (PTH), 84 aminoasitli ve 9500 molekül ağırlığında, tek bir polipeptid zincirinden oluşmuş bir hormondur. Paratiroid bezindeki esas hücrelerde 115 aminoasitli preprohormon olarak yapılır, esas hücrelerin endoplazmik retikulumu ve golgi organelindeki bazı işlemler sonrası 84 aminoasitlik parathormon olarak dolaşıma salınır. Hormonun 1-34 amino asit

kısmı, amino terminal, geri kalanı ise karboksi terminal kısmıdır. Biyolojik aktif kısmı amino terminal kısmıdır. İntakt PTH düzeyi 10-60 pg/ml seviyesindedir.

PTH düzeyini belirleyen en önemli etken, plazma iyonize Ca düzeyidir. Kalsiyum düzeyi düşünce PTH salgısında ani bir artış olur. Artan PTH etkisi ile böbrek, kemik ve dolaylı olarak da barsaklar üzerindeki etkisi ile kalsiyumun dolaşımdaki seviyesini fizyolojik aralığa getirir ve sonrasında PTH salgısı tekrar azalır. Kalsiyum konsantrasyonunun parathormon biyosentezi üzerindeki etkisi parathormon salgısında olduğu gibi çabuk ortaya çıkan bir etki değildir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda serum fosfatındaki değişikliklerin PTH denetlenmesinde etkili olduğu yönündedir. Yüksek fosfat düzeylerinde, PTH salınım ve sentezi artarken, düşük fosfat düzeylerinde ise azalmaktadır. PTH salgısının kontrolünde ayrıca serum magnezyum düzeyi ve kan pH da önemlidir. Parathormonun etkisi en hızlı olarak böbreklerde görülür. Kalsiyum ve magnezyumun geri emilimlerini arttırarak vücutta tutulmalarını sağlar. Fosfor ve bikarbonatın ise proksimal tübüllerdeki geri emilimini baskılar. Sonuç olarak idrarla atılan fosfor ve bikarbonat miktarı artmış olur, fazla bikarbonat atılması asidoza yol açar. Asidoz nedeniyle albümine bağlanan kalsiyum miktarı azalacağından dolaşımdaki iyonize kalsiyum düzeyi de artmış olur.

Parathormon böbreklerdeki hipofosfatemik etkisi ile ya da doğrudan böbreklerdeki 1- α redüktaz enzimini uyararak aktif vitamin D₃ (1, 25 (OH)₂ D) yapımını artırır. Magnezyumun PTH salgısı üzerine etkisi kalsiyuma benzerdir. Yalnız çok düşük magnezyum seviyelerinde (< 1mg/dl) ters etki ile PTH salgısı baskılanmaktadır (51). PTH, kemik ve böbrekler üzerindeki etkisini doğrudan gösterirken, barsaklar üzerindeki etkisi dolaylı olarak görülür. Etki, hedef hücre membranı üzerinde bulunan reseptörlere bağlanarak oluşur.

PTH, kemik yeniden şekillenmesinde önemli bir hormon olup, hem osteoklast sayısını ve rezorpsiyonunu artırır, hem de osteoblastları aktive ederek kemik yapımını uyarır. Böylece kemik döngüsünü uyarır. PTH reseptörleri kemik yapıcı hücreler ve osteoblastlar üzerinde bulunurken, osteoklastlar üzerinde bulunmaz (52). PTH etkilerini bu reseptörler üzerinden

doğrudan gösterir. Osteoklastlar üzerindeki etkisini ise, PTH'nin aktive ettiği osteoblastlar, osteoklast sayı ve aktivitesini artırarak dolaylı olarak gösterir. PTH'nin kemik üzerine etkisini gösterebilmesi için D vitamini gereklidir. Bunların yanı sıra son yıllarda PTH düzeyinin kemik dokudaki OPG ve RANKL düzeyleriyle ilişkisini araştıran yayınlarda OPG düzeyi ile negatif korelasyon gösterdiği görülmüştür. RANKL düzeyleri ise PTH fazlalığında, bazı çalışmalarda artmış iken, bazılarında ise azalmış bulunmuştur (53). PTH'un devamlı yüksek düzeyde olması ile aralıklı maruziyetin, RANKL:OPG oranını farklı biçimde etkilediğini düşündüren çalışmalar mevcuttur. Sürekli PTH etkisiyle RANKL:OPG oranının arttığı, bunun da osteoklast farklılaşması ve aktivasyonuna ve kemik kaybında artışa yol açtığı ileri sürülmektedir (54).

5. C-Reaktif Protein (C-RP)

İnflamasyonun lokal etkilerinin yanında akut faz cevabı olarak bilinen bir sistemik cevap da söz konusudur ve bu cevap bazı proteinlerin ve diğer maddelerin dolaşımdaki belirgin artışı ile karakterizedir. Bu maddelere akut faz reaktanları veya proteinleri denir (55, 56). Akut faz cevabı; ateş, lökositoz ve bazı plazma proteinlerinin düzeylerinde belirgin artışla karakterizedir.

Hastaların klinik değerlendirilmesinde akut faz cevabı, alttaki patolojinin varlığını, aktivitesini ve yaygınlığını yansıtır. Bu nedenle akut faz reaktanlarının monitörizasyonu, hastalığın ciddiyeti ve tedavinin etkinliği için objektif bir kriter sağlar (56). C-reaktif protein (CRP), akut faz reaktanı gibi davrandığı tespit edilen ilk proteindir. İlk kez pnömokokların somatik C-polisakkaridlerine bağlanıp presipite ettiği tespit edildiği için bu isim verilmiştir (57).

CRP karaciğer tarafından sentezlenir ve IL-6, TNF- α gibi sitokinler aracılığı ile sentezi uyarılır (58).

CRP inflamasyonun en önemli belirtecidir (59). Artmış CRP düzeyleri, inflamasyonun varlığını ve şiddetini belirlemektedir. Doku hasarı, inflamasyon ve infeksiyon, sitokin aracılığı ile CRP'nin dolaşımdaki düzeyini 1000 kata kadar arttırabilir. Artan CPP, 7-12 günde bazal düzeylere inebilmektedir (60).

CRP düzeyinin, yaş, günlük içilen sigara miktarı, vücut kitle indeksi, sistolik ve diastolik kan basıncı, total kolesterol, trigliserid, homosistein, fibrinojen ve

D-dimer miktarı ile pozitif korelasyon ve HDL, egzersiz miktarı ile negatif korelasyon gösterdiği bildirilmektedir (61).

CRP'nin konak immün savunmasında rol oynadığı bilinmekle birlikte, özellikle uzun süren ve sık tekrarlayan yüksek CRP düzeylerinin bazı zararlı etkileri de son yıllarda gösterilmiştir.

CRP, aterosklerotik plaklarda selektif olarak LDL'ye bağlanmakta ve kompleman sistemini aktive ederek mevcut inflamasyonun artmasına neden olmaktadır. CRP'nin bu nitelikleri ile aterotromboz patogenezine katılarak iskemik hasarı arttırdığı düşünülmektedir (62).

3- GEREÇ VE YÖNTEM

Aralık 2006–Haziran 2007 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı Aferez Ünitesi'nde gönüllü trombosit donörü olarak kabul edilmiş olan 42 sağlıklı birey çalışmaya dâhil edildi. Donörler çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onayları alındı. 42 donör, cinsiyet, yaş, daha önceki transfüzyon öyküleri, hipertansiyon, senkop, sigara ve ilaç kullanımı varlığı ve soygeçmişinde senkop veya kalp hastalığı olup olmadığı yönünden sorgulandı.

Aferez ünitesinde bulunan Haemonetics MCS Plus cihazı ile aferez işlemi tamamlanabilen 37 donörden aferez trombosit süspansiyonu hazırlandı. Donörlerin, aferez işleminden önce, işlemin başlamasından 1 saat sonra ve işlem bitiminden 30 dakika sonra olmak üzere, 3 kez EKG kayıtları alındı. Biyokimyasal parametreler için, yine, aferez işleminin başlamasından hemen önce, işlem başladıktan 1 saat sonra ve işlem bitiminden 30 dakika sonra olmak üzere 3 kez, antekübital venden, vakumlu tüplere kan örnekleri alınmıştır. İyonize kalsiyum için kan örnekleri heparinli enjektöre alınarak biyokimya laboratuvarında bekletilmeden çalışılmış, diğer kan örnekleri ise santrifüj edilip serumu ayrılarak -80 °C derin dondurucuda çalışma zamanına dek bekletilmiştir.

3.1. QTcd Ölçümleri:

EKG'de QT dispersiyonunun hesaplanıp değerlendirilebilmesi için konvansiyonel similtan oniki derivasyonlu EKG kayıtları (Hewlett Packard 200i kayıtçısı tarafından 25 mm/sn'lik kâğıt hızı ile) alındı. EKG trasesi aynı fotokopi makinesi tarafından % 200 kez büyütüldü. EKG trasesinde her derivasyona ait QT intervalleri (QRS kompleksinin ilk defleksiyonundan, T dalgasının yok olduğu son nokta arasındaki uzaklık), bir ölçümcü tarafından

el ile pergel eşliğinde olarak 3 kardiyak siklusun ölçümünün ortalaması olarak alındı. Bazzet's formülü [(QTc = Ölçülen QT intervali (saniye) / $\sqrt{R-R}$ interval (saniye))] kullanılarak, düzeltilmiş QT intervali (QTc) hesaplandı. QT ve QTc dispersiyonları, minimal-maksimal QT ve QTc değerlerinin arasındaki farklılık olarak tanımlandı.

T dalgası ölçülemeyen, atriyal fibrilasyonu olan, EKG' de dal bloğu paterni olan ve QT intervali uzamasına neden olabilecek antiaritmik ve diğer gruplara ait ilaç kullanımı olan hastalar çalışmaya dâhil edilmedi.

3.2. Biyokimyasal Analizler:

Her aferez işleminden önce, işlemin başlamasından 1 saat sonra ve işlem bitiminden 30 dakika sonra olmak üzere venöz yoldan alınan kanda ise serum intakt parathormon Immulite 2000 cihazında Biodpc kitleri (Biodpc, Los Angeles, USA) ile, total kalsiyum, magnezyum, sodyum, potasyum, alkalen fosfataz, UniCel DxC 800 cihazında Beckman Coulter kitleri ile (Beckman Coulter, Galway, Ireland), iyonize kalsiyum, Roche Omnic kan gazı sisteminde (Roche Diagnostics, Mannheim, GERMANY), kemik alkalen fosfataz ELISA yöntemi ile Metro BAP kiti ile (Quidel Corporation, San Diego, USA), C-reaktif protein düzeyleri, Roche C-reaktif protein kiti ile Cobas integra analizöründe çalışıldı. Osteoprotegerin ve RANKL ELISA yöntemi ile (Biomedica, Biomedica Gruppe, Wien, Avusturya) Biomedica kitleri ile Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya laboratuvarında çalışılmıştır (Tablo 3).

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 11.0 istatistik programı kullanılarak ortalamalar ve standart sapma değerleri hesaplandı, paired sample t testi, Pearson korelasyon testi, ki kare testi, Wilcoxon uygulandı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olması durumu olarak kabul edildi.

Tablo 3. Laboratuvar değerlerinin referans aralıkları

Na:	135 – 145 mEq/L
K:	3.5 – 5.1 mEq/L
Ca:	8.6 – 10.0 mg/dl
Mg:	1.8 – 2.5 mg/dl
İ Ca:	1.12 – 1.32 mmol/L (Ca için 1 mmol/L : 4 mg/dl)
ALP:	32 – 91 U/L
BALP:	
Erkek:	15.0 – 41.3 U/L
Kadın (25-44 yaş):	11.6 – 29.6 U/L
Kadın (44 yaş üzeri):	14.2 – 42.7
OPG:	1.8 pmol/L (0-30 pmol/L)
RANKL:	
Erkek:	0.49 pmol/L
Kadın:	0.37 pmol/L
CRP:	0 – 0.5 mg/dl
PTH:	4.7 – 114 pg/ml

4- BULGULAR

Çalışmaya alınan 41 erkek, 1 kadın olmak üzere toplam 42 donörden 5'i, işlem sırasında fenalık hissi, baş dönmesi, bulantı gibi yan etkilerin görülmesi veya işlemi tamamlamaktan vazgeçmesi nedeniyle işlem sonlandırıldığı için ve 1 donör, testlerle ilişkili teknik sorun nedeniyle çalışma dışı bırakılmıştır. Kalan 36 donöre ait veriler değerlendirilmeye alınmıştır.

4.1. Donörlere Ait Özellikler:

Çalışmada değerlendirilen donörlerin 35'i erkek, 1'i kadın olup, 16 (% 44.4) donör 30-39 yaş arası idi..

Tablo 4. Araştırmaya katılanların tanıtıcı bulguları

	Sayı	Yüzde
Cinsiyet		
Kadın	1	2.8
Erkek	35	97.2
Toplam	36	100
Yaş		
20-29	9	25
30-39	16	44.4
40-49	9	25
>49	2	5.6
Toplam	36	100
Sigara		
Evet	19	52.8
Hayır	6	16.7
Bırakmış	11	30.6
Toplam	36	100
Hipertansiyon		
Var	0	0
Yok	36	100
Toplam	100	100
İlaç kullanımı		
Var	0	0
Yok	36	100
Toplam	36	100

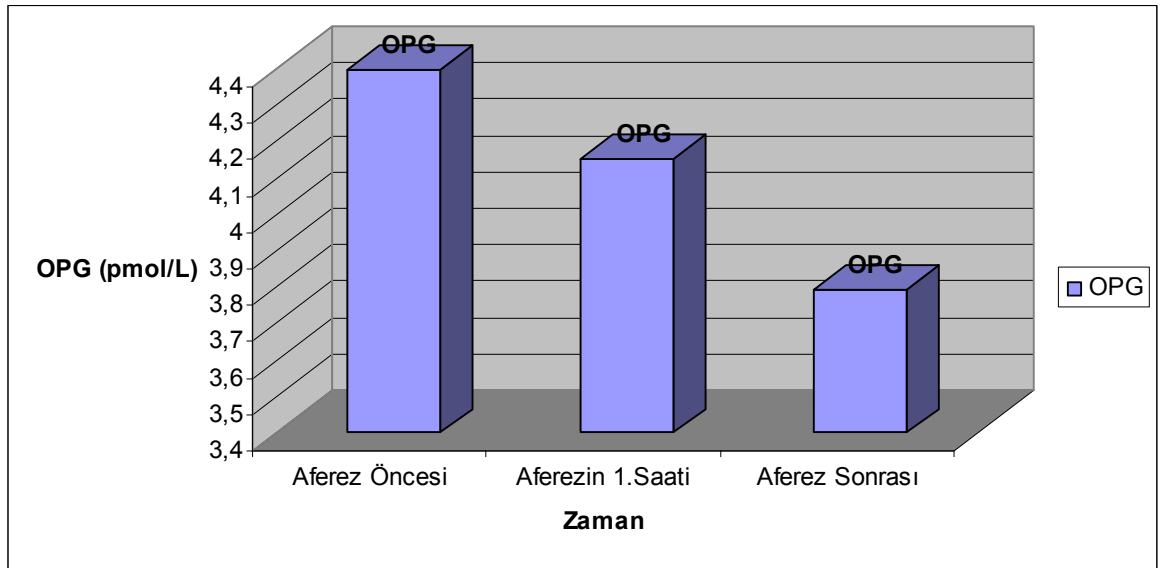
Donörlerin yaş ortalaması 34.86 ± 8.51 olup, en genç donör 22 yaşında, en yaşlı donör ise 54 yaşındaydı. 36 donörün 11 (%30.6)'i hiç sigara içmemiş olup, 19 (%52.8) tanesi içen, 6 (%16.7) tanesi de bırakmış donörlerden oluşmaktaydı. Donörlerin hiç birinde hipertansiyon ya da ilaç kullanma öyküsü mevcut değildi. Tablo 4'de araştırmaya katılan donörlere ait özellikler belirtilmiştir.

4.2. QTc Dispersiyonu ve Biyokimyasal Bulgular Bulguları:

Çalışma sırasında, aferez işlemi tamamlanan ve tüm verilerine ulaşılabilen 36 donör değerlendirmeye alınmıştır. Bununla birlikte, semptomları nedeniyle işlemi tamamlanamayan veya çalışmaya katılmaktan vazgeçen diğer donörlerin EKG ve elde edilebilen biyokimyasal parametreleri ayrıca incelenmiş ve yakınmaları ile ilişkili olabilecek anlamlı bir EKG değişikliği veya biyokimyasal anormallik bulunmadığı görülmüştür.

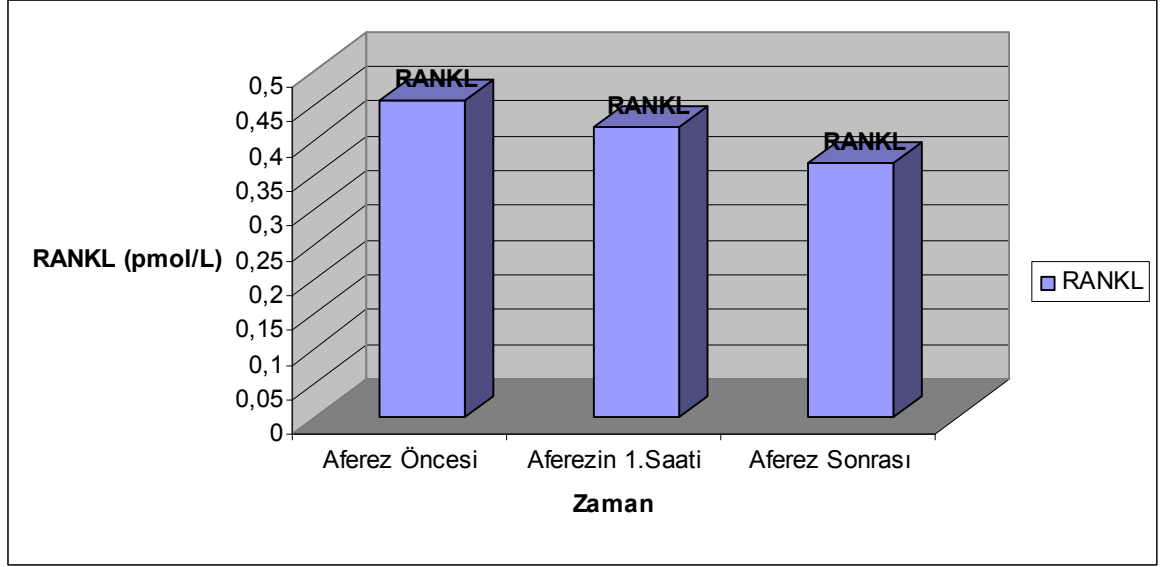
Aferezden önce, aferezin 1. saatinde ve aferez bitiminden 30 dakika sonra yapılan ölçümlerde, donörlerin sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve iyonize kalsiyum değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır.

Osteoprotegerin ölçümlerinde aferez öncesiyle karşılaştırıldığında hem aferezin 1. saatinde, hem de aferez bitiminde istatistiksel olarak anlamlı düşme görülmüştür (sırasıyla $p=0.027$ ve $p=0.013$)(Şekil 2).



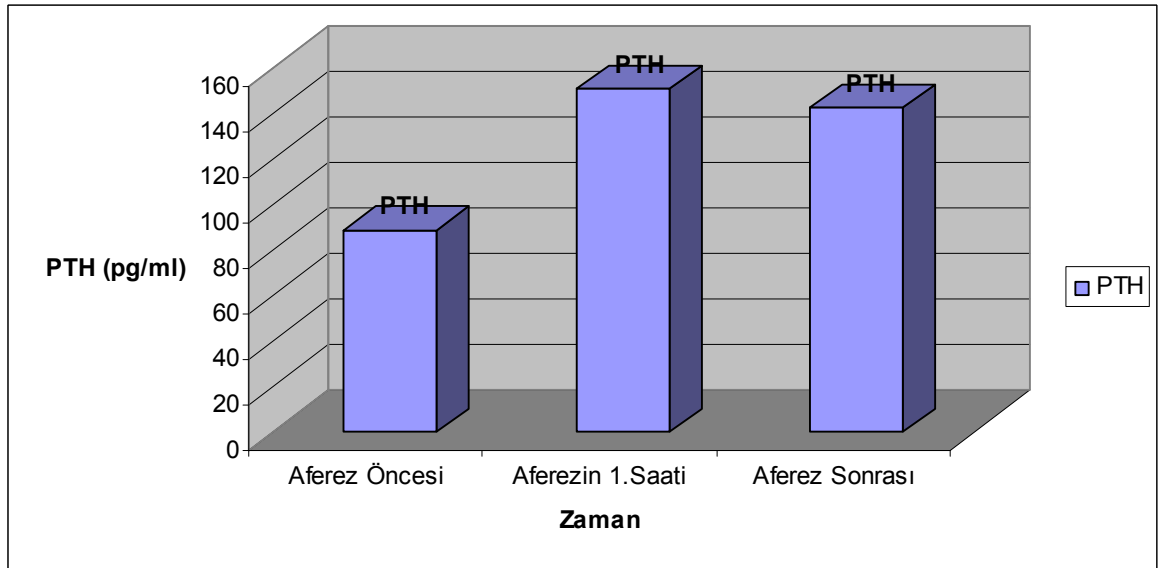
Şekil 2. OPG Düzeyleri ile Aferez İşlemi Arasındaki İlişki

RANKL ölçümlerinde aferez öncesine kıyasla hem aferez sırasında hem de işlem sonrasında düşme görülmüş olup bu düşme anlamlı bulunmamıştır (sırasıyla $p=0.152$ ve $p=0.126$)(Şekil 3).



Şekil 3. RANKL Düzeyleri ile Aferez İşlemi Arasındaki İlişki ($p>0,05$)

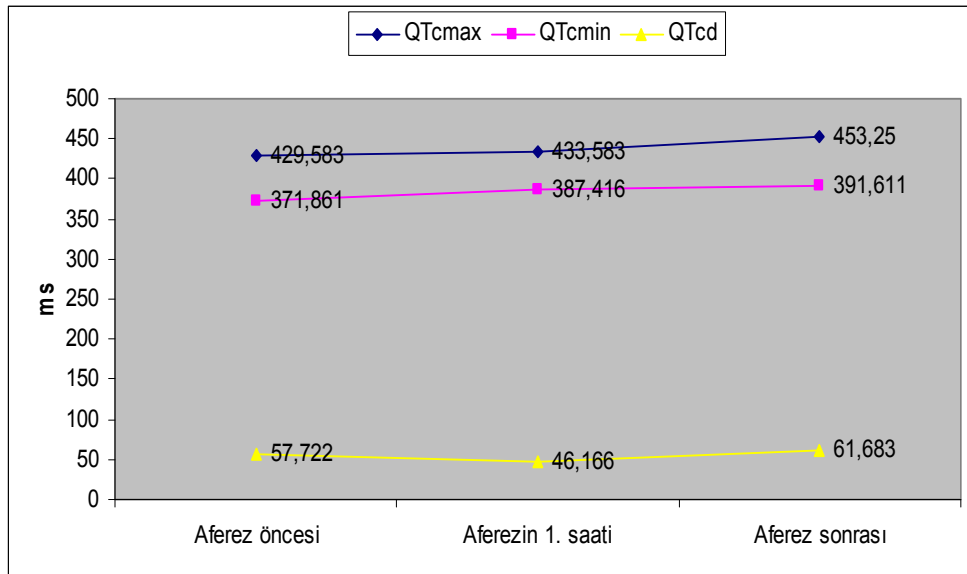
Yine, PTH düzeyinin aferezin 1. saatinde yükselme gösterdiği, aferez bitiminde de bu yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı şekilde devam ettiği görülmüştür(sırasıyla $p= 0.000$ ve $p=0.001$)(Şekil 4).



Şekil 4. PTH Düzeylerinin Aferez İşlemi ile İlişkisi

Alkalen fosfataz ölçümlerinde; hem serum total alkalen fosfatazın, hem de kemik alkalen fosfataz düzeyinin, aferez sırasında ve aferez sonrasında istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşme gösterdiği görülmüştür (ALP için sırasıyla $p=0.000$ ve $p=0.000$; BALP için sırasıyla $p=0.018$ ve $p=0.014$).

QTc dispersiyonu ölçümlerinde, aferez öncesi ortalama QTc dispersiyonu değeri 57.722 ± 24.742 iken; aferezin 1. saatindeki ölçümlerde ortalama 46.167 ± 25.892 bulunmuştur. Bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p=0.009$). Buna karşın aferez sonrası 30. dakikadaki EKG değerlerinde QTc dispersiyonu ortalaması 61.639 ± 24.643 bulunmuş olup, bu değer aferez öncesi ölçümlere benzer düzeydedir ($p=0.319$). Aferezin 1. saati ile aferez sonrası QTc dispersiyonu değeri arasındaki yükselme de anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$). Şekil 5'de QTcd değerlerinde aferez işlemi ile olan değişiklikler gösterilmiştir.



Şekil 5. 36 donörün QTcd, QTcmax ve QTcmin değerleri

QTcmax ve QTcmin ölçümlerinde; aferez öncesi QTcmax ortalaması 429.222 ± 27.186 iken aferez sırasında 432.861 ± 20.784 olarak bulunmuştur. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.284$). Aferez sonrası ise QTcmax değeri ortalamasının 453.416 ± 27.447 olduğu görülmüş, bu artışın hem aferez öncesine, hem de işlemin 1. saatine göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür (sırasıyla $p=0.000$ ve $p=0.000$). QTcmin

ölçümlerinde ise aferez öncesi ortalama değer 373.416±26.980 olarak bulunmuştur. Aferezin 1. saatinde bu değer 386.805±25.147 bulunmuş olup bu yükselme istatistiksel olarak anlamlıdır(p=0.002). Aferez sonrası QTcmin ölçümlerinde ortalama değer 391.027±22.544 bulunmuş olup bu yükselmenin işlem öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı, aferezin 1. saatine göre ise anlamsız olduğu görülmüştür (sırasıyla p=0.001 ve p=0.303) (Şekil 5).

Yapılan korelasyon testlerinde, aferezin 1. saatindeki total Ca düzeyi ile aferez sonrasındaki QTcd süresi arasında negatif bir ilişki olduğu görülmüştür (p= 0.007).

Donörlerin sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, iyonize kalsiyum, osteoprotegerin, parathormon, C-reaktif protein, RANKL, alkalen fosfataz, kemik alkalen fosfataz ve QTc dispersiyonu değerlerine ait sonuçlar Tablo 5 ve 6'da verilmiştir.

Tablo 5. Donörlerin aferez öncesi, aferez sırasında ve sonrasındaki biyokimyasal parametreleri ve QTcd sonuçları*

Değişkenler N=36	Aferez Öncesi (AÖ)	Aferez 1.saat (A1)	Aferez Sonrası (AS)	p-1 (AÖ- A1)	p-2 (AÖ- AS)	p-3 (A1- AS)
Na	141.917±5.432	142.028±6.138	141.000±4.910	0.929	0.270	0.407
K	3.731±0.313	3.781±0.423	3.744±0.411	0.471	0.833	0.626
Ca	8.425±1.318	8.172±1.289	8.261±1.219	0.289	0.328	0.715
Mg	2.050±0.163	2.041±0.151	2.057±0.177	0.630	0.626	0.463
İyon. Ca	0.978±0.171	0.940±0.177	0.952±0.104	0.178	0.414	0.720
OPG	4.524±1.957	4.094±1.644	3.796±1.462	0.027	0.013	0.205
PTH	92.061±76.882	153.197±74.563	142.344±66.933	0.000	0.001	0.266
CRP	0.799±3.182	0.251±0.422	0.248±0.414	0.309	0.307	0.475
RANKL	0.472±0.381	0.388±0.169	0.370±0.186	0.152	0.126	0.499
ALP	64.177±16.352	59.028±13.717	58.833±13.919	0.000	0.000	0.799
BALP	19.811±7.382	17.764±6.929	17.500±6.988	0.018	0.014	0.702
QTc disp.	57.722±24.742	46.167±25.892	61.639±24.643	0.009	0.319	0.001
QTcmax	429.222±27.186	432.861±20.784	453.416±27.447	0.284	0.000	0.000
QTcmin	373.416±26.980	386.805±25.147	391.027±22.544	0.002	0.001	0.303

* p < 0.05 anlamlı

Tablo 6. Donörlerin aferez öncesi, aferezin 1. saatinde ve aferez sonrası minimum ve maksimum değerleri

Değişkenler (n=36)	AÖ min.	AÖ max.	A1 min.	A1 max.	AS min.	AS max.
Na	136.0	158.0	135.0	161.0	136.0	158.0
K	3.00	4.40	2.80	4.90	2.90	5.10
Ca	4.90	9.60	5.00	9.40	5.00	9.80
Mg	1.56	2.39	1.74	2.31	1.58	2.41
İ.Ca	0.63	1.24	0.28	1.11	0.68	1.13
OPG	0.33	8.65	0.02	6.96	0.87	6.35
PTH	19.0	297.0	55.7	381.0	54.9	357.0
CRP	0.00	19.2	0.00	2.19	0.00	2.18
RANKL	0.09	2.14	0.18	0.85	0.14	0.89
ALP	36.0	94.0	35.0	88.0	32.0	87.0
BALP	7.78	36.48	7.92	33.99	5.45	38.81
QTc disp.	20.0	102.0	12.0	140.0	24.0	105.0
QTcmax	375.0	482.0	389.0	480.0	390.0	494.0
QTcmin	333.0	450.0	340.0	443.0	335.0	435.0

Yaş ile QTc dispersiyonu uzaması arasında ilişki olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılan istatistiksel değerlendirmelerde, aferez öncesi QTcd değerleri ile yaş arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. Aferezin 1. saatindeki QTcd uzamasının 40 yaş ve üzeri grupta, 40 yaş altı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmış olduğu görülmüştür ($p = 0.035$).

Aferezden 30 dk sonraki QTcd değerlerinde ise, QTcd uzaması ile yaş grubu arasında herhangi bir anlamlı ilişki saptanmamıştır. Tablo 7' de yaş ile QTcd uzaması arasındaki ilişki gösterilmiştir.

Tablo 7. Yaş ile QTcd değerlerindeki uzama arasındaki ilişki. **

Yaş	QTcd1-normal		QTcd1-uzamış		Test
	N	%	N	%	
< 40	17	68	8	32	X ² =0.065 df=1 p=0.798
≥ 40	7	63.6	4	36.4	
Toplam	24	66.7	12	33.3	

Yaş	QTcd2-normal		QTcd2-uzamış		Test
	N	%	N	%	
< 40	23	92	2	8	X ² =4.425 df=1 p=0.035
≥ 40	7	63.6	4	36.4	
Toplam	30	83.3	6	16.7	

Yaş	QTcd3-normal		QTcd3-uzamış		Test
	N	%	N	%	
< 40	16	64	9	36	X ² =2.363 df=1 p=0.124
≥ 40	4	36.4	7	63.6	
Toplam	20	55.6	16	44.4	

* QTcd uzaması 65 msn ve üzerindeki QTcd değerleri olarak alınmıştır.

** p < 0.05 anlamlı

Sigara içimi ile QTcd uzaması arasında istatistiksel ilişki olup olmadığını araştırmak amacıyla yapılan testlerde ise hem aferez öncesi, hem aferez sırasında, hem de aferez sonrasındaki QTcd uzaması ile sigara içimi arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Tablo 8’de sigara içimi ile QTcd uzaması arasındaki ilişki gösterilmiştir.

Tablo 8. Sigara içimi ile QTcd değerlerindeki uzama arasındaki ilişki. **

Sigara	QTcd1-normal		QTcd1-uzamış		Test
	N	%	N	%	
İçiyor	14	70	6	30	X ² =0.225
İçmiyor	10	62.5	6	37.5	df=1
Toplam	24	66.7	12	33.3	p=0.635

Yaş	QTcd2-normal		QTcd2-uzamış		Test
	N	%	N	%	
İçiyor	17	85	3	15	X ² =0.090
İçmiyor	13	81.3	3	18.8	df=1
Toplam	30	83.3	6	16.7	p=0.764

Yaş	QTcd3-normal		QTcd3-uzamış		Test
	N	%	N	%	
İçiyor	12	60	8	40	X ² =0.360
İçmiyor	8	40	8	50	df=1
Toplam	20	55.6	16	44.4	p=0.549

*QTcd uzaması 65 msn ve üzerindeki QTcd değerleri olarak alınmıştır.

** p < 0.05 anlamlı

Yaş grupları biyokimyasal parametreler ve QTcd açısından değerlendirildiğinde; 40 yaş altındaki 25 donörün sodyum, potasyum, kalsiyum, iyonize kalsiyum ve magnezyum düzeylerinde anlamlı bir değişiklik görülmemiştir.

Yine 40 yaş altı grupta; OPG değerlerinin aferez öncesine kıyasla aferez sonrası anlamlı biçimde düştüğü (p= 0.032), PTH düzeylerinde hem aferez sırasında hem de aferez bitiminde, işlem öncesine göre anlamlı artış olduğu görülmüştür (sırasıyla p=0.000 ve p=0.002). RANKL değerlerinde ise aferez ile ilişkili anlamlı değişiklik saptanmamıştır.

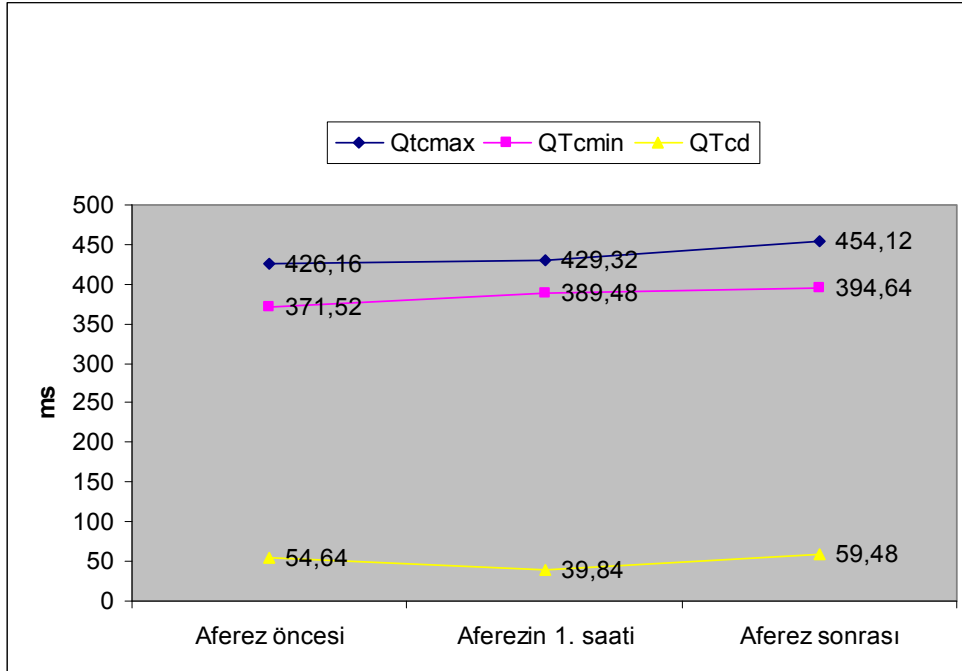
Bu grubun CRP ölçümlerinde, işlem sırasında ve sonrasında anlamlı düşüş saptanmıştır (sırasıyla p=0.014 ve 0.007).

ALP ve BALP düzeylerinde ise hem işlem sırasında, hem de işlem sonrasında anlamlı düşüş saptanmıştır (ALP için sırasıyla $p=0.017$ ve $p=0.004$; BALP için sırasıyla $p=0.009$ ve $p=0.015$)(Tablo 9).

QTcmax değerlerinde, işlem öncesi ile işlem sonrasında ve 1. saat ile işlem sonrası arasında anlamlı uzama olduğu görülmüştür (sırasıyla $p=0.000$ ve $p=0.000$).

QTcmin değerlerinde de işlem öncesine kıyasla işlem sırasında ve yine işlem öncesine göre işlem sonunda istatistiksel anlamlı uzama görülmüştür (sırasıyla $p=0.002$ ve $p=0.001$).

QTcd' de ise aferez sırasında anlamlı bir düşme ve aferez sonrasında ise tekrar aferez öncesi değerlere yükselecek şekilde anlamlı bir artış bulunmuştur (sırasıyla $p=0.003$ ve $p=0.000$). Şekil 6'da 40 yaş altı donörlerde aferez işlemi ile QTcmax, QTcmin ve QTcd değerlerindeki değişiklikler gösterilmiştir.



Şekil 6. 40 yaş altı olan 25 donörün QTcd, QTcmax, QTcmin değerleri

Tablo 9. 40 yaş altı donörlerin aferez öncesi, aferez sırasında ve sonrasındaki biyokimyasal parametreleri ve QTcd, QTcmax., QTcmin. sonuçları*

Değişken	AO (n=25)	A1 (n=25)	AS (n=25)	p-1 (AÖ- A1)	p-2 (AÖ- AS)	p-3 (A1- AS)
Na	142.800±6.191	141.360±5.049	141.200±5.033	0.174	0.141	0.538
K	3.700±0.315	3.732±0.377	3.644±0.324	0.737	0.440	0.250
Ca	8.448±1.397	8.488±1.033	8.384±1.099	0.259	0.048	0.184
Mg	2.048±0.176	2.035±0.147	2.050±0.192	0.269	0.782	0.530
İyon. Ca	0.970±0.163	0.986±0.126	0.959±0.101	0.882	0.468	0.065
OPG	4.498±1.934	4.035±1.555	3.736±1.249	0.053	0.032	0.196
PTH	80.264±63.349	150.780±69.737	140.420±61.282	0.000	0.002	0.326
CRP	1.030±3.818	0.252±0.499	0.246±0.489	0.014	0.007	0.330
RANKL	0.536±0.442	0.429±0.183	0.383±0.210	0.389	0.149	0.510
ALP	61.720±15.900	57.840±13.021	57.160±12.925	0.017	0.004	0.425
BALP	19.798±7.376	16.720±6.460	16.724±6.012	0.009	0.015	0.753
QTc disp.	54.640±24.209	39.840±19.074	59.480±22.543	0.003	0.360	0.000
QTc max.	426.160± 28.058	429.320± 20.748	454.120± 24.862	0.402	0.000	0.000
QTc min.	371.520± 27.506	389.480± 26.660	394.640± 22.776	0.002	0.001	0.203

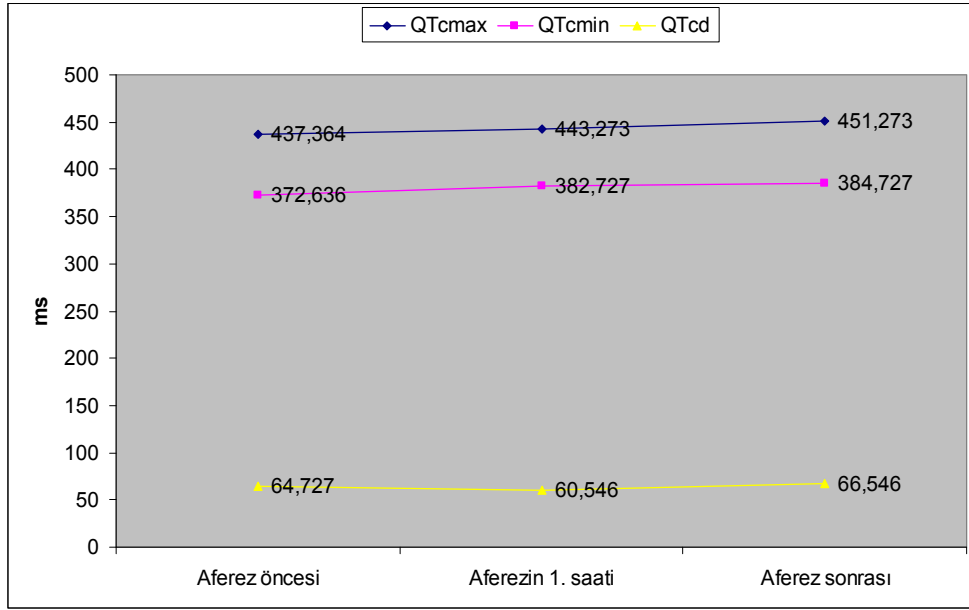
* p < 0.05 anlamlı

40 yaş ve üzeri donörlere ait veriler değerlendirildiğinde; K ve Mg değerlerinde anlamlı değişiklik olmadığı görülmüştür. Kalsiyum ve iyonize kalsiyum düzeylerinde, işlem sırasında anlamlı düşme olduğu, işlem bitiminde ise anlamlı değişiklik olmadığı görülmüştür (Ca için p=0.021; iyonize Ca için p=0.008).

Yine bu grupta, Na değerinde işlem sırası ile işlem bitimi arasında anlamlı düşüş olduğu görülmüştür (p=0.041). CRP değerlerinde ise aferez öncesine göre hem aferez esnasında hem de bitimin de anlamlı düşüş olduğu görülmüştür (sırasıyla p=0.028 ve p=0.042).

40 yaş ve üzeri grupta OPG, RANKL, PTH ve BALP düzeylerinde aferezle ilişkili olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. ALP değerlerinde ise hem işlem sırasında hem de işlem sonrasında, aferezin başlangıcına göre anlamlı düşme olduğu görülmüştür (sırasıyla p=0.010 ve 0.018)(Tablo 10).

Yine 40 yaş ve üzeri grupta QTcmax, QTcmin ve QTcd değerlerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Şekil 7'de 40 yaş ve üzeri donörlerde QTcmax, QTcmin ve QTcd değerlerinde aferez işlemi ile olan değişiklikler gösterilmiştir.



Şekil 7. 40 yaş ve üzeri olan 11 donörün QTcd, QTcmax, QTcmin değerleri

Tablo 10. 40 yaş üstü donörlerin aferez öncesi, aferez sırasında ve sonrasındaki biyokimyasal parametreleri ve QTcd, QTcmax., QTcmin. sonuçları*

Değişken	AO (n=11)	A1 (n=11)	AS (n=11)	p-1 (AÖ- A1)	p-2 (AÖ- AS)	p-3 (A1- AS)
Na	139.909±2.112	143.546±8.190	140.546±4.824	0.284	0.886	0.041
K	3.800±0.313	3.891±0.517	3.973±0.506	1.000	0.504	0.635
Ca	8.373±1.181	7.455±1.562	7.982±1.475	0.021	0.099	0.110
Mg	2.054±0.136	2.055±0.168	2.074±0.142	0.767	0.450	0.859
İyon. Ca	0.998±0.196	0.835±0.231	0.938±0.113	0.008	0.328	0.657
OPG	4.583±2.102	4.227±1.904	3.933±1.925	0.286	0.328	0.722
PTH	118.873±99.587	158.691±87.972	146.718±81.466	0.110	0.424	0.398
CRP	0.275±0.175	0.249±0.162	0.255±0.160	0.028	0.042	0.404
RANKL	0.325±	0.294±	0.341±0.121	0.213	0.721	0.182
ALP	69.727±16.740	61.727±15.493	62.636±15.945	0.010	0.018	0.575
BALP	19.838±7.754	20.137±7.678	19.265±8.902	0.929	0.424	0.721
QTc disp.	64.727±25.656	60.546±33.848	66.546±29.456	0.350	0.789	0.593
QTc max.	437.364± 24.480	443.273± 18.979	451.273± 33.482	0.386	0.286	0.424
QTc min.	372.636± 29.029	382.727± 23.294	384.727± 22.685	0.286	0.120	0.959

* p < 0.05 anlamlı

5.TARTIŞMA

Günümüzde giderek artarak kullanılan donör trombosit aferezi, donörler açısından genellikle güvenli bir işlem olarak kabul edilmekle birlikte, işlemin sağlıklı donörlere potansiyel yan etkileri uzun zamandır araştırmacıların ilgisini çekmektedir. İşlem sırasında antikoagülan olarak kullanılan sitrata bağlı olarak donörlerde hipokalsemi gelişebildiğini ve aferez işleminin QT mesafesinde uzamaya yol açtığını gösteren çalışmalar mevcuttur (3, 63). Özellikle QTc uzamasının kardiyak aritmilere yol açtığı, son dönem böbrek yetmezliği, hipertansiyon, diabetes mellitus, iskemik kalp hastalığı gibi hastalıklarda mortalite oranlarıyla belirgin ilişkili olduğu ifade edilmektedir (4, 5). Laspina ve ark. 76 trombosit aferez donörü ile yaptıkları çalışmada, ciddi semptom gelişmemesine karşın, kadınlarda daha fazla olmak üzere, tüm donörlerde QTc uzaması gözlemlenmiş ve bu nedenle donörlerin olası uzun QT sendromu açısından sorgulanmasını önermiştir (63).Yine Boğa ve ark. orak hücre anemili hastalarda eritrosit aferezi esnasında, QT mesafesinde uzama eğilimi olduğunu göstermiştir (25).

Kardiyak risk açısından QT ve QTc mesafelerindeki uzamadan çok, QT ve QTc dispersiyonlarının daha belirleyici olduğu konusunda veriler bulunmaktadır (64, 65). Buna karşın literatürde, donör trombosit aferez işleminin QTc dispersiyonuna etkisi konusunda yayına rastlanmamıştır.

Çalışmamızda, donörlerde aferez işlemine bağlı belirgin bir elektrolit değişikliği olmaksızın, QTc ve QTcd değişiklikleri saptandı. Afereze birlikte QTcmax ve QTcmin sürelerinde uzama görülmesine karşın, QTc dispersiyonundaki değişiklik, aferezin 1. saati sonunda başlangıç değerlere göre istatistiksel anlamlı biçimde kısalma ve aferez sonrasında tekrar bazal

değerlerle uyumlu hale gelme şeklinde idi. Son zamanlarda kardiyak aritmi açısından QTcd'nin önemine işaret eden araştırmalar dikkate alındığında, çalışmamızda donörlerde QTc uzaması görülmesine karşın, QTcd'nin değişmemesi, aferezin genel popülasyon için aslında sanıldığı kadar aritmi riski oluşturmayabileceğini akla getirmektedir. Aferezle ilişkili çalışmalarda QT uzaması bildirilmesine karşın, olumsuz kardiyak sonuçların çok nadir görülmesi, aslında QTcd'de uzama olmamasından kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızda, ek olarak, aferezin 1. saatindeki total Ca düzeyi ile aferez sonrasındaki QTcd değeri arasında negatif bir ilişki olduğu görüldü ($p=0.007$). Ayrıca 40 yaşın üzerindeki donörler arasında, aferezin 1. saati sonunda, 40 yaş altında olanlara göre daha fazla uzamış QTcd saptandı ($p=0.035$). Bu sonuçlar, çalışmadaki donör sayısı fazla olmamakla birlikte, çoğunluğun (<40 y, % 68) genç olması ile ilişkili olabilir. Ancak, 40 yaş üzerindeki bireylerin aferez sırasında daha yakından monitörize edilmesi gerekebileceği düşünülmüştür. Çalışmada, bir kardiyovasküler risk faktörü olan sigara içme öyküsü ile aferez ile ilişkili QTcd değişikliği arasında ise bir ilişki bulunmamıştır.

Aferez işlemi sırasında kullanılan sitratın oluşturacağı erken iyonize kalsiyum düşüklüğünün, PTH salımına yol açması beklenebilir. Ancak çalışmamızda, serum total magnezyum, total kalsiyum ve iyonize kalsiyum değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmemesine karşın, PTH düzeyinin aferezin 1. saatinde istatistiksel anlamlı biçimde yükseldiği ve bu yüksekliğin aferez bitiminde de devam ettiği gözlenmiştir (sırasıyla $p=0.000$ ve $p=0.001$). Bu durum, PTH'un, Ca, Mg düzeylerindeki belki minör değişikliklerden dahi hemen etkilenebildiğini düşündürülebilir. Aferez sırasında daha sık örnekleme yapılması belki bu değişikliklerin ortaya konmasını sağlayabilecektir. Buna ek olarak, aferez sırasında ve sonrasında ALP ve kemik alkalin fosfataz düzeylerinde azalma olması, aferezin kemik metabolizması üzerine oldukça erken etki gösterdiğini düşündürmektedir. Çalışmamızda, bunu destekler biçimde, donörlerin hem aferezin 1. saatinde, hem de aferez sonrasında, kemik yıkımını inhibe eden bir molekül olan

serum OPG düzeylerinin azalmış olması, PTH'un OPG'yi baskıladığı yolundaki literatürle uyumlu olarak değerlendirilmiştir (66).

PTH'nin, osteoklastların differansiyasyonunu ve aktivasyonunu arttıran ve kemik yıkımında anahtar rol oynayan RANKL'ı stimüle edici etkisi olduğuna dair yayınlar olduğu gibi, aksine bulgular da bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda RANKL düzeyinde anlamlı değişiklik görülmemiştir. Ancak RANKL serum düzeyleri ile doku ekspresyonları arasında farklılıklar olabileceği ve yine düzeylerin PTH salımının devamlı veya aralıklı oluşundan etkilenebileceklerine ilişkin yayınlar mevcuttur (54).

OPG/ RANKL sisteminin asıl görevi kemik yapım-yıkımıyla ilgili olmasına karşın, son yıllarda bu moleküllerin kalp, endotel hücresi gibi başka doku ve hücrelerde de bulunduğu gösterilmesi, araştırmaların bu moleküllerle kardiyovasküler hastalık ve arteriyel kalsifikasyon arasındaki ilişkilere yönelmesine yol açmıştır. Plak kalsifikasyonu ile kemik oluşumu ve yıkımı olaylarının bir çok açıdan benzerlik gösterdiğini ileri süren yayınlar vardır. OPG düzeyleri ile mikroi inflamasyon arasında ilişki olduğunu gösteren ve arteriyel kalsifikasyonun OPG ile önlendiğine dair çalışmalar mevcuttur (6, 7). Bu yayınların yanı sıra, OPG düzeyindeki yüksekliğin endotel disfonksiyonu, koroner ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklarla belirgin ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Özellikle yaşlı kadınlarda, serum OPG seviyesi ile kardiyovasküler mortalite arasında önemli bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (53). Çalışmamızda, tüm donörlerin verileri değerlendirildiğinde, CRP düzeylerinde aferez işlemi ve OPG ile ilişkili bir değişiklik görülmemiştir. Buna karşın, 40 yaş altındaki donörlerde, hem CRP hem OPG'de kısa vadede anlamlı azalma görülmesinin, olumlu bir etki olarak kabul edilip edilemeyeceği açık değildir. Ancak, PTH/ OPG/RANKL sisteminin donör trombosit aferezinden etkilendiğinin gösterilmiş olması; bu işlemin donörlerde başka etkilerinin olup olmayacağı ve bir bireyin özellikle tekrar tekrar trombosit donörü olmasının hangi sonuçlara yol açabileceği sorularının önemli bir araştırma konusu olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak; trombosit donör aferezi işlemi ile donörlerin QTcd değerlerinde uzama saptanmamakla birlikte, olası sitratla ilişkili kalsiyum

düzeıı değişikliğine bağlı olarak QTcd etkilenebilmekte ve 40 yaşın üzerindeki donörlerde, 40 yaş altındakilere göre daha fazla uzamış QTcd görölmektedir. Aynı zamanda, aferez işlemi OPG/RANKL/PTH sistemini de etkilemekte ve PTH'da artış ve OPG'de düşmeye yol açmaktadır. Bu değişikliklerin sağlıklı donörleri, kemik metabolizması ve kardiyovasküler sistem açısından orta ve uzun vadede nasıl etkileyeceği, ilginç bir araştırma konusu gibi görünmektedir.

6- SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sağlıklı donörlerde trombosit aferez işleminin QTc dispersiyonuna ve serum PTH/OPG/RANKL sistemi üzerine etkisine ilişkin, literatürde başka bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, trombosit aferez işleminin, donörlerde QTc dispersiyonunda ve PTH/OPG/RANKL sisteminde bazı değişikliklere yol açtığı görülmüştür.

1- Çalışmamızda, aferez işlemi sırasında QTcd'nin kısaldığı, sonra tekrar başlangıç değerlere döndüğü görülmüştür. Bu durumun, genel olarak aferezle ilişkili önemli olumsuz kardiyak sonuçlar görülmemesini açıklayabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte, aferez sırasında, 40 yaş ve üzeri donörlerde 40 yaş altına göre anlamlı olarak daha fazla uzamış QTcd görülmüştür. Bu sonuç, donör olarak kabul edilen ileri yaş grubundaki bireylerin aferez işlemi sırasında daha yakından takip edilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

2- Trombosit aferez işleminin OPG/RANKL/PTH sistemini etkilediği bu çalışma ile ortaya konmuştur. Serum PTH'da artış, serum ALP, kemik ALP ve OPG'de düşme olmakta, ancak bu değişikliklere RANKL'da değişiklik eşlik etmemektedir. Kemik metabolizması ile ilişkili bu parametrelerdeki değişikliklerin aferez işlemi sırasında ve oldukça erken ortaya çıkması ilginç bir bulgudur.

3- Mevcut literatürde OPG'nin kardiyovasküler bir risk faktörü olduğuna ilişkin çalışmalar bulunmakla birlikte, bu konuda çelişkili veriler de vardır. Bu nedenle, sağlıklı donörlerin, aferezle oluşan bu değişikliklerden, kemik metabolizması ve kardiyovasküler sistem açısından nasıl etkileneceği, tekrarlayan aferez donörü olmanın sonuçlarının neler olacağı, daha kapsamlı çalışmalarla araştırılması gerekli konular gibi görünmektedir.

SAĞLIKLI DONÖRLERDE TROMBOSİT AFEREZİNİN BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER VE QT_c DİSPERSİYONU ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Aferez işleminin donörlerde, işlemde verilen sitrata bağlı olarak hipokalsemiye ve QT uzamasına yol açtığı bilinmektedir. QT ve düzeltilmiş QT (QT_c) uzamasının ciddi aritmilerle ve mortaliteyle ilişkili olduğu bilinmekte olup QT_c dispersiyonunun (QT_{cd}) ise homojen olmayan ventriküler repolarizasyonun daha iyi bir göstergesi olduğu ve ventriküler aritmiler için bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceği ileri sürülmektedir. Aferез işleminin sağlıklı donörlerde iyonize Ca ve Mg düzeyinde düşüşe ve parathormon (PTH) düzeylerinde artışa da neden olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda, PTH düzeyinin kemik yapım-yıkım parametreleri olan osteoprotegerin/RANKL sistemi ile ilişkisini gösteren yayınlar mevcuttur. Ayrıca, son zamanlarda osteoprotegerinin (OPG) kardiyovasküler ve aterosklerotik olaylarla ilişkisini ortaya koyan çalışmalar da dikkati çekmektedir. Bu bilgilerin ışığında, bu çalışmamızda, sağlıklı donör trombosit aferezinin QT_c dispersiyonu ve serum PTH, magnezyum, kalsiyum, OPG/RANKL sistemi üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık.

Çalışmada, yaşları 22-54 arasında değişen 36 sağlıklı trombosit aferez donörünün aferez öncesi, aferezin 1. saatinde ve aferez bitiminden 30 dakika sonra EKG kayıtları alınarak QT_c dispersiyonu ölçüldü. Yine aynı zamanlarda donörlerin serum Na, K, Ca, iyonize Ca, Mg, alkalen fosfataz (ALP), kemik alkalen fosfataz (BALP), OPG, RANKL, C-reaktif protein (CRP) ve PTH ölçümleri için kan örnekleri alındı.

QTc dispersiyonu ölçümlerinde, aferez öncesi ortalama QTc dispersiyonu değeri 57.722 ± 24.742 iken; aferezin 1. saatindeki ölçümlerde ortalama 46.167 ± 25.892 bulunmuştur. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.009$). Buna karşın aferez sonrası 30. dakikadaki QTc dispersiyonu ortalaması 61.639 ± 24.643 olup, bu değer aferez öncesi ölçümlere benzer olduğu görülmüştür ($p=0.319$). Aferezin 1. saatinde 40 yaş ve üzeri gruptaki donörler arasında, 40 yaş altı gruba göre daha fazla oranda uzamış QTcd saptanmıştır ($p=0.035$).

Aferezden önce, aferezin 1. saatinde ve aferez bitiminden 30 dakika sonra yapılan ölçümlerde, donörlerin Na, K, Ca, Mg ve iyonize Ca değerlerinde ve CRP ve RANKL değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. OPG de ise, aferez öncesi ile karşılaştırıldığında hem aferezin 1. saatinde, hem de aferez bitiminde istatistiksel olarak anlamlı düşme görülmüştür (sırasıyla $p=0.027$ ve $p=0.013$). PTH düzeyinin de aferezin 1. saatinde yükseldiği, aferez bitiminde de bu yüksekliğin devam ettiği görülmüştür (sırasıyla $p=0.0001$ ve $p=0.001$). Yine, ALP ve BALP düzeylerinin de aferez sırasında ve aferez sonrasında istatistiksel olarak anlamlı düşme gösterdiği görülmüştür (ALP için sırasıyla $p=0.0001$ ve $p=0.0001$; BALP için sırasıyla $p=0.018$ ve $p=0.014$).

Literatürde, donör trombosit aferez işleminin QTc dispersiyonuna etkisi konusunda yayına rastlanmadığı gibi, aferezin OPG/RANKL sistemi üzerine etkisini gösteren bir çalışma da bulunmamaktadır. Çalışmamızda, donör trombosit aferezi ile ilişkili klinik açıdan önemli bir EKG değişikliği gözlenmemiştir. Aferez işlemi sırasında QTc uzaması saptanmasına karşın, QTcd'de işlem sırasında kısalma olmakta ve ardından tekrar başlangıç düzeylere dönmektedir. Bu durumun, genel olarak aferezle ilişkili önemli olumsuz kardiyak sonuçlar görülmemesini açıklayabileceği düşünülmüştür. Her ne kadar donör grubumuzun yaş ortalaması genç ise de, çalışmamızda 40 yaş üstündeki bireylerde aferez sırasında daha fazla uzamış QTcd görülmesi, bu bireylerin işlem sırasında daha yakından izlenmesi gerekebileceğini düşündürmüştür. Yine bu çalışmada, PTH/ OPG/RANKL sisteminin donör trombosit aferezinden etkilendiğinin gösterilmiş olması, bu

işlemin donörlerde uzun vadedeki etkilerinin araştırılmasının ve özellikle tekrarlayan aferez işlemlerinin kemik metabolizması ve kardiyovasküler sistemde yapabileceği değişikliklerin incelenmesinin yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Trombosit aferezi, donör, QTc dispersiyonu, parathormon, osteoprotegerin, RANKL

THE EFFECTS OF HEALTHY DONOR PLATELET APHERESIS ON THE SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS AND QTc DISPERSION

SUMMARY

It's known that apheresis process causes hypocalcemia and the prolongation of the QT related to the citrate that is given in process in donors. The prolongation of the QT and corrected QT (QTc) is related to important arrhythmia and mortality also QTc dispersion (QTcd) is a better indicator of non-uniform ventricular repolarization and it is suggested that it can be evaluated as an independent risk factor for ventricular arrhythmia. It is known that apheresis process causes decreasing of the ionized calcium and magnesium level and increasing of the parathormon (PTH) level in healthy donors. At the same time there are publications that shows the relation between PTH level and osteoprotegerin (OPG)/RANKL system that are the parameters of bone formation and resorption. Recently studies are reported that shows the relation between OPG and cardiovascular and atherosclerotic events. In this study we purposed to search the effects of the healthy donor platelet apheresis on the QTc dispersion, serum PTH, magnesium (Mg), calcium (Ca) and OPG/RANKL system.

In our study we measured QTc dispersion of 36 healthy platelet apheresis donor before apheresis process, at the first hour of the process and thirty minutes after the process according to the electrocardiography (ECG) results. At the same time we took blood samples to measure serum sodium (Na), potassium (K), calcium, ionized calcium, magnesium, alkaline phosphatase (ALP), bone ALP (BALP), OPG, RANKL, C-reactive protein (CRP) and parathormon levels.

In QTc dispersion measurements, while mean QTc dispersion value was 57.722 ± 24.742 before apheresis process, at the first hour of the apheresis process it is measured as 46.167 ± 25.892 . This decrease is statistical significant ($p=0.009$). But the mean value of QTc dispersion thirty minutes after the apheresis process was 61.639 ± 24.643 that was same as the values before apheresis process. At the first hour of the apheresis, statistical significant more prolonged QTcd was observed in 40 years old and older group in comparison with 40 years old group ($p=0.035$).

In measurements before apheresis, at the first hour of the apheresis and thirty minutes after the apheresis process we could't determine statistical significant variation in sodium, potassium, calcium, magnesium, ionized calcium, CRP and RANKL levels of the donors. For OPG when we compare the levels before apheresis with the levels at first hour and after the apheresis we found a significant decrease (respectively, $p=0.027$ and $p=0.013$). It was observed that PTH level at the first hour of the apheresis increases, after the apheresis this increasing continued (respectively, $p=0.000$ and $p=0.001$). In alkaline phosphatase measurements, both serum total ALP and bone alkaline phosphatase levels showed statistical significant decreasing during apheresis and after the apheresis process (respectively, for ALP $p=0.0001$ and $p=0.0001$; for BALP $p=0.018$ and $p=0.014$).

In literature, as we could't find any publication about the effects of the donor platelet apheresis process to the QTc dispersion, also we could't find any publication about the effects of the donor platelet apheresis process to the OPG/RANKL system. In our study, there was no clinically important ECG changes associated with apheresis. Although mean age of the our donor population is low, in our study observing significant more prolonged QTcd during the apheresis process in 40 years old and older group makes think we need to follow these individuals closely during the process. Also in this study, showing PTH/ OPG/RANKL system was effected by donor platelet apheresis makes think it can be useful to research in the long term effects of this process in donors and repetitive apheresis process results.

Key words: Platelet apheresis, donor, QTc dispersion, parathormon, osteoprotegerin, RANKL

KAYNAKLAR

1. Jiann-Horng Yeh and Hou-Chang Chiu. Plasmapheresis-Related Hypotension. *Artif Organs* 2000; 24:705-709.
2. Eser B. Aferez uygulamalarında sitrat etkisi ve kalsiyum replasmanı. I. Ulusal Hemaferes Kongresi Kongre Kitabı, İstanbul Ekim 2003: 10-16.
3. S. S. Das, R. Chaudhary, D. Khetan, J. S. Shukla, P. Agarwal and R. B. Mishra. Calcium and magnesium levels during automated plateletpheresis in normal donors. *Transfus Med* 2005; 15: 233.
4. Eliot R. Beaubien, George B. Pylypchuk, Jawad Akhtar, H. Jay Biem: Value of Corrected QT Interval Dispersion in Identifying Patients Initiating Dialysis at Increased Risk of Total and Cardiovascular Mortality. *Am J Kidney Dis.* 2002; 39:834-842.
5. Martin K.R, Viswanath S. et al. QT prolongation in patients with Type 2 diabetes and microalbuminuria. *Clin Auton Res* 2002; 12:366-372.
6. Fabrizio Montecucco, Sabine Steffens, Francois Mach : The Immune Response Is Involved in Atherosclerotic Plaque Calcification : Could the RANKL/RANK/OPG System Be a Marker of Plaque Instability?. Hindawi Publishing Corporation *Clin. Dev. Immunol.* Volume 2007, Article ID 75805, 8 pages doi 10.1155 / 2007 / 75805
7. P.A.Price, H.H.June, J.R.Buckley and M.K.Williamson: Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:1610-1616.
8. Arat M. Ortaçağda aferez, günümüzde aferez. XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi, IV. Hematoloji İlk Basamak Kursu: 1-9. http://www.thd.org.tr/sub/turk/kurs_pdf/Ortacagdaaferez.pdf.

9. Çetin T. Terapötik aferez endikasyonları. I. Ulusal Hemaferaz Kongresi Kongre Kitabı, İstanbul Ekim 2003: 17-24.
10. Grima KM. Therapeutic apheresis in hematological and oncological diseases. *J Clin Apher* 2000; 15: 28–52.
11. McLeod BC. *Apheresis, Principles and Practice*, 2nd Edition, AABB Press, Bethesda, Maryland, 2003.
12. Lim HV, Edelson RL. Photopheresis for the treatment of cutaneous T-cell lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995;30:1117-1126.
13. Mayes MD. Photopheresis and autoimmune diseases. *Rheum Dis Clin North Am* 2000; 26:75-81.
14. 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.
15. Burgstaler E.A. Blood component collection by apheresis. *J Clin Apher* 2005; 1-10.
16. Giraud CG, Korach JM, Andreu G, Lacaze C, et al. Principles of seperating blood elements. *Transfus Clin Biol* 2002; 9: 79-185.
17. Omay SB. Donör aferezi komplikasyonları. I. Ulusal Hemaferaz Kongresi Kongre Kitabı, İstanbul Ekim 2003: 116-121.
18. Winters J.L. Complications of donor apheresis. *J Clin Apher* 2005: 1-10.
19. Pallav L, Pathak V, et al. Issues in QT interval Measurement. *Indian Pacing Electrophysiol J* 2004;4 (4):156-161.
20. Beyazit Y, Güven GS, İskit AB: Uzun QT sendromları. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2005; 36:43-48.
21. Luo S, Michler K, Johnston P, Macfarlane PW: A comparison of commonly used QT correction formulae: the effect of heart rate on the QTc of normal ECGs. *J Electrocardiol* 2004; 37:81-90.
22. Franz MR, Zabel M: Electrophysiological basis of QT dispersion measurements. *Prog.Cardiovasc Dis* 2000; 42: 311-324.
23. Day CP, McComb JM, Campbell RW: QT dispersion: An indication of arrhythmia risk in patients with long QT intervals. *Br Heart J* 1990;63:342-344.

24. Pye MP, Cobbe SM: Mechanisms of ventricular arrhythmias in cardiac failure and hypertrophy. *Cardiovasc Res.* 1992;26:740-750.
25. C. Boğa, I. Kozanoglu, M. Yeral, C. Bakar. Assessment of corrected QT interval in sickle cell disease patients who undergo erythroapheresis *Transfus Med* 2007; 17:466–472
26. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davey E, Bucay N, Renshaw- Gregg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Boyle WJ. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89:309–319.
27. Tsuda E, Goto M, Mochizuki SI, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, Higashio K. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 234:137–42.
28. Kostenuik PJ, Shalhoub V. Osteoprotegerin: A Physiological and Pharmacological Inhibitor of Bone Resorption. *Curr Pharm Des* 2001; 7:613-35.
29. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology.* 2001; 142:5050-5.
30. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther* 2007; 9:1.
31. Hofbauer LC, Neubauer A, Heufelder AE. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin: potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. *Cancer.* 2001; 92:460-70.
32. Hofbauer LC. Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism. *Eur J Endocrinol* 1999; 141:195–210.
33. Szalay F, Hegedus D, Lakatos PL, Tornai I, Bajnok E, Dunkel K, Lakatos P. High serum osteoprotegerin and low RANKLin primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2003; 38:395-400.

34. Malyankar UM, Scatena M, Suchland KL, Yun TJ, Clark EA, Giachelli CM. Osteoprotegerin is an alpha v β 3-induced, NF- κ B-dependent survival factor for endothelial cells. *J Biol Chem*. 2000; 275:20959–62.
35. Mizuno A, Amizuka N, Irie K, Murakami A, Fujise N, Kano T, Sato Y, Nakagawa N, Yasuda H, Mochizuki S, Gomibuchi T, Yano K, Shima N, Washida N, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Ozawa H. Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 247:610–5.
36. Hak AE, Pols HA, van Hemert AM, Hofman A, Witteman JC. Progression of aortic calcification is associated with metacarpal bone loss during menopause: a population-based longitudinal study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1926–31.
37. Kado DM, Browner WS, Blackwell T, Gore R, Cummings SR. Rate of bone loss is associated with mortality in older women: a prospective study. *J Bone Miner Res* 2000; 15:1974-80.
38. Browner WS, Lui LY, Cummings SR. Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:631–7.
39. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki SI, Yano K, Fujise N, Sato Y, Goto M, Yamaguchi K, Kuriyama M, Kanno T, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 1998; 39:1329-1337
40. Lacey DL, Timms E, Tan H-L, Kelly MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy F, Capparelli C, Eli A, Quian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ. Osteoprotegerin (OPG) ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93:165-176
41. Kong Y-Y, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, Morony S, Oliveirados- Santos AJ, Van G, Itie A, Khoo W, Wakeham A, Dunstan CR, Lacey DL, Mak TW, Boyle WJ, Penninger JM. OPGL is a key regulator of

- osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999;397:315-323
42. Goodman WG and Quarles LD. Mineral Homeostasis and Bone Physiology. Olgaard K. Bone and Mineral Metabolism in CKD. 1th Ed 2002: 3-10.
43. Popovtzer M. Kalsiyum, Fosfor, D Vitamini ve Paratiroid Hormon Aktivitesi Bozuklukları. Süleymanlar G., editör. Böbrek ve Elektrolit Hastalıkları. 6. baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 2005; 216-222.
44. Wills MR. İntestinal Absorption of Calcium. *Lancet*, 1973; 1: 820-822.
45. Wills MR, Zisman E, Worstman J, Evens R, Pak CY, Bartter FC. The Measurement of İntestinal Calcium Absorption by External Radioisotope Counting: Application to Study of Nephrolithiasis. *Clin sci*, 1970; 39: 95-106.
46. Drüeke TB, Lacour B. Disorders of Calcium, Phosphate, and Magnesium Metabolism. Johnson R, Feehally J. *Comprehensive Clinical Nephrology*. 2nd ,Spain: Mosby, 2003: 123-126.
47. Uysal AR. Kemik ve Mineral Metabolizması. Biberoğlu İ, Ünal S. İç Hastalıkları. 2. baskı, Ankara: Güneş kitabevi, 2005: 2449-2453.
48. Moore EW. Ionized Calcium Normal Serum, Ultrafiltrates and Whole Blood Determined by İon-Exchange Electrode. *J Clin Invest*, 1970; 49: 318-334.
49. Chen PS Jr, Neuman WF. Renal Excretion of Calcium by The Dog. *Am J Physio* 1955; 180:623-631.
50. Altunbaş H. Serum Kalsiyum ve Fosfat Anormalliği Olan Hasta. Süleyman G.5. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 2000: 63-79.
51. Uysal A R Kemik ve Mineral Metabolizması. Biberoğlu K., Ünal S. İç Hastalıkları. 2. baskı, Ankara: Güneş kitabevi, 2005: 2456-2457.
52. Popovtzer M. Kalsiyum, Fosfor, D Vitamini ve Paratiroid Hormon Aktivitesi Bozuklukları. Süleymanlar G., editör. Böbrek ve Elektrolit Hastalıkları. 6. baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 232- 233
53. Thomas S., Ingo D., Hanadi B., Reinhard Z. and Johannes P. Serum parathyroid hormone, but not menopausal status, is associated with the

- expression of osteoprotegerin and RANKL mRNA in human bone samples. Eur. J. Endocrinol. 2001;145: 199-205
54. Hofbauer LC, Kühn CA, Viereck V. The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone disease. J Musculoskel Nuron Interact 2004; 4:268-275.
55. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. N Engl J Med 1999; 340(6): 448-54.
56. Baumann H. The acute phase response. Immunol Today 1994; 15(2): 74-80.
57. Kushner I. The phenomenon of the acute phase response. Ann NY Acad Sci 1982; 389:39.
58. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated highsensitivity C-reactive protein assay. Clin Chem 1999; 45(12): 2136-41.
59. Buğdaycı G, Polat Düzgün A, Koca Y, Sezer S, Turhan T. Metabolik sendromu olan ve olmayan yaşlı bireylerde hs-CRP'nin önemi. Türk Geriatri Dergisi 2005; 8(2):57-60.
60. Ockene IS, Matthews CE, Rifai N, Ridker PM, Reed G, Stanek E. Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity C-reactive protein measurements in healthy adults. Clin Chem 2003; 47(3):444-50.
61. Rohde LE, Hennekens CH, Ridker PM. Survey of C-reactive protein and cardiovascular risk factors in apparently healthy men. Am J Cardiol 1999; 84(9):1018-22.
62. İmmünoloji. Kılıçturgay K (editör). 3. baskı. Bursa Nobel ve Güneş Yayınevleri; 2003: 226-227.
63. Laspina, S.J., Browne, M.A., McSweeney, E.N., Lawlor, J., Whelan, D.M., Kinsella, A.L. & Murphy, W.G. QTc prolongation in apheresis platelet donors. Transfusion 2002; 42:899–903.
64. Erinç K., Uzun M., Baysan O., Barçın C., Karaeren H., Genç C., Demirtaş E. Düzeltmiş QT Dispersiyonunun Kritik Koroner Arter Darlığını Saptamada Dobutamin Stres Ekokardiyografiye Katkısı. Türk Kardiyol Dern Arş 2000; 28:740-746

65. Ülgen MS, Karadede A, Altinel S, ve ark: Koroner arter hastalığını belirlemede zirve egzersiz QT dispersiyonunun egzersiz testinin doğruluğuna katkısı. MN Kardiyoloji 1998; 5: 352-6
66. Seck T., Diel I., Bismar H., Ziegler R. and Pfeilschifter J. Serum parathyroid hormone, but not menopausal status, is associated with the expression of osteoprotegerin and RANKL mRNA in human bone samples. Eur. J. Endocrinol 2001; 145:199-205.