

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TROMBOSİT AFEREZİNE BAŞVURAN DONÖRLERDE,  
AFEREZ ÖNCESİ ve SONRASI OKSİDAN-ANTİOKSİDAN  
DURUMUNUN ARAŞTIRILMASI**

**Bülent ESEN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. Nurten AKSOY**

**ŞANLIURFA**

**2013**

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TROMBOSİT AFEREZİNE BAŞVURAN DONÖRLERDE,  
AFEREZ ÖNCESİ ve SONRASI OKSİDAN-ANTİOKSİDAN  
DURUMUNUN ARAŞTIRILMASI**

**Bülent ESEN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Nurten AKSOY**

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fonu Saymanlığı tarafından 12190 nolu proje numarası ile desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA**

**2013**

**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

Bülent ESEN'in hazırladığı Trombosit "Aferezine Başvuran Donörlerde, Aferez Öncesi ve Sonrası Oksidan-Antioksidan Durumunun Araştırılması" konulu çalışma 21.08.2013 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Biyokimya Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

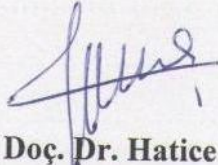
  
**Prof. Dr. Nürten AKSOY (Danışman)**

**Harran Üniversitesi**

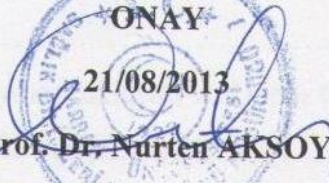
**BAŞKAN**

**Doç. Dr. Şahbettin SELEK**  
**Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi**

**ÜYE**

  
**Yrd. Doç. Dr. Hatice SEZEN**  
**Harran Üniversitesi**

**ÜYE**

**ONAY**  
**21/08/2013**  
  
**Prof. Dr. Nürten AKSOY**  
**ENSTİTÜ MÜDÜRÜ**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	III
TEŞEKKÜR .....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	V
ÇİZELGELER ve TABLOLAR .....	VI
KISALTMALAR.....	VII
1.GİRİŞ .....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Aferez.....	2
2.1.1. Aferez Tarihçesi.....	2
2.1.2. Aferez Teknikleri.....	3
2.1.3. Sınıflandırma ve Tanımlar .....	4
2.1.4. Bağış Aferez Komplikasyonları.....	6
2.1.4.1. Vazovagal Etkiler ve Hipovolemi.....	7
2.1.4.2. Venöz Giriş Yeri ile ilişkili Komplikasyonlar.....	8
2.1.4.3. Sitrat Toksisitesi.....	9
2.1.4.4. Allerjik Reaksiyonlar.....	10
2.1.4.5. Mekanik Hemoliz.....	10
2.1.4.6. Hava Embolisi.....	11
2.1.4.7. Trombosit Sayısında Azalma.....	11
2.1.4.8. Eritrosit Kaybı.....	12
2.1.4.9. Kan Hacim Değişiklikleri.....	12
2.1.4.10. Lenfosit Sayısında Azalma.....	12
2.1.5. Komponent Değişimi.....	13
2.1.5.1. Immunoterapi/Plazmamodulatuvar Tedavi.....	13
2.1.6. Aferez Öncesi Hesaplamalar ve Damar Yolu.....	14
2.1.6.1. Damar İçi Erişim.....	14
2.1.6.2. Donör Aferez Adayına Yaklaşım ve Donör Olma Kriterleri.....	14
2.1.6.3. Aferez Donörü İşlem Akışı.....	15
2.1.7.Terapötik Aferez Adayına Yaklaşım.....	15

2.1.8. Problemlili Hastalar, İşlem Takibi, Komplikasyonlar.....	16
2.1.8.1. Hastaya (donöre) Ait Semptom ve Bulgular.....	17
2.1.8.2. Venöz Erişime Ait Komplikasyonlar.....	17
2.1.8.3. Teknik komplikasyonlar.....	18
2.1.9. Türkiye’de Aferez.....	19
2.2. Oksidatif-Antioksidatif Denge ve Serbest Oksijen Radikalleri .....	19
2.2.1. Süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ).....	20
2.2.2. Singlet Oksijen ( $O_2$ ) ** .....	21
2.2.3. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ) .....	22
2.2.4. Hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ) .....	22
2.2.5. Hipokloröz Asit ( $HOCl$ ) .....	23
2.2.6. Peroksil ( $ROO^{\cdot}$ ) .....	24
2.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Makromoleküllere Etkileri.....	24
2.3.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkisi.....	24
2.3.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi.....	26
2.3.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere Etkisi.....	27
2.3.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi.....	29
2.4. Serbest Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları.....	29
2.4.1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	31
2.4.2. Enzimatik Antioksidanlar.....	31
2.4.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD) .....	31
2.4.2.2. Katalaz (CAT).....	32
2.5. Oksidatif Stres.....	33
2.5.1. Toksikolojide Oksidatif Stres .....	33
2.5.2. İnsan Vucudunda Oksidatif/Antioksidatif Durum.....	33
2.5.3. Oksidatif Stres, Ölçüm ve Değerlendirme.....	35
2.5.4. Diyet ve Destek Besinlerle Serbest Radikalleri Azaltıp, Antioksidanları Arttırmak.....	37
3.MATERYAL ve METOD.....	39
3.1. Hasta seçimi.....	39
3.2. Örneklerin Hazırlanması ve Çalışılması.....	39
3.3.Kullanılan Cihaz ve Aletler.....	40

3.4.Total Antioksidan Seviye (TAS) .....	40
3.5.Total Oksidant Seviye (TOS) .....	41
3.6.Oksidatif Stres İndeksi (OSİ).....	41
3.7.İstatistiksel Analiz.....	41
4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....	42
4.1. Araştırma Bulguları.....	42
5. TARTIŞMA .....	45
6.ŞONUÇ.....	48
7.KAYNAKLAR.....	49

## ÖZET

**Bülent ESEN**

**Yüksek Lisans Tezi**

### **TROMBOSİT AFEREZİNE BAŞVURAN DONÖRLERDE, AFEREZ ÖNCESİ ve SONRASI OKSİDAN-ANTIOKSİDAN DURUMUNUN ARAŞTIRILMASI**

Random trombosit kullanımı, aferez cihazları geliştikçe yerini aferez trombositlere bırakmakta ve aferez donör sayısı her geçen gün daha da artmaktadır. Trombosit donör aferezi ile ilgili fazla bir çalışma olmamasından dolayı, trombosit aferezinin donörlere bir yararın ya da zararı olup olmadığı pek bilinmemektedir. Santrifugasyon tekniği aferez cihazlarında en çok kullanılanıdır. Kan, bir kateter yardımıyla vücut dışına alınır. Aferez cihazında santrifüj edilir. Santrifüj sırasında trombositler ve beyaz küreler ara kısımda birikerek istenen bileşenler alınarak ayrılır ve toplama torbasında toplanır. Santrifugasyon tekniği kullanılarak alınan trombosit aferezinin de diğer kan bağışlarında olduğu gibi; Kan yapımını canlı tuttuğu, kemik iliği yağlanmasını önlediği, verilen kanın yerine, vücutta genç hücrelerin dolaşıma katıldığı için, bağışçının kendini daha dinç ve canlı hissettiği, kandaki kolesterol ve trigliserid gibi yağları düşürdüğü, kalp krizi ihtimalini azalttığı bilinmektedir. Ayrıca baş ağrısı, stres, yüksek tansiyon, yorgunluk gibi rahatsızlıkların giderilmesinde de çok büyük katkısı vardır. Bu çalışmada santrifugasyon tekniği aferez cihazına maruz kalan donörde oksidatif stres oluşturup oluşturmadığını araştırmayı amaçladık.

Aferez işlemi öncesi ve sonrası alınan kanlarda toplam oksidan ve antioksidan kapasiteleri kalorimetrik yöntemle biyokimya otoanalizöründe belirlenerek oksidatif stres indeksi tayin edildi. Toplam oksidant ve antioksidant kapasitelerin her ikisinde trombosit aferez işlemi sonrası donörlerde anlamlı olarak düşük bulundu ( $p=0.016$ ,  $p=0.018$ , sırasıyla). Fakat oksidatif stres indeksi değişmedi.

Bulgularımız ışığında, trombosit aferezinin donörlerde minimal bir oksidatif stres oluşturduğunu ve bununla antioksidantları tüketerek azalttığını, bunu yaparken de vücudun antioksidant koruyucu sistemini uyarabileceği sonucunu çıkarabiliriz.

**Anahtar kelimeler:** Toplam antioksidant kapasite, toplam oksidant kapasite, oksidatif stres indeksi, trombosit aferezi



## **ABSTRACT**

**Bülent ESEN**

**Master Thesis**

### **INVESTIGATION OF OXIDANT AND ANTIOXIDANT STATUS OF DONORS BEFORE AND AFTER PLATELET APHERESIS**

Random platelets use is decreasing while , apheresis platelets use is increasing due to apheresis devices evolves and the number of apheresis donors is increasing day to day . Since there is not many scientific study about platelet donor apheresis it is unknown whether platelet apheresis has harm or benefit on trombosit apheresis donor. Apheresis centrifugation technique is most commonly used of these devices. The blood is taken out of the body through a catheter. And it has been centrifuged in apheresis device. During the centrifugation, platelets and white cells accumulates in the buffer zone and the desired components extracts have been collected in a collecting bag. Platelet apheresis's benefits are to produce blood, decrease of cholesterol and triglyceride levels in blood, prevent to heart attack. Furthermore it eliminates head ache, high blood pressure and fatigue. We aimed in this study to investigate whether platelete apheresis cause oxidative stres in donors or not.

In the blood taken from the donors before and after platelet apheresis process by measuring total oxidant and antioxidant levels with a colorimetric method in a biochemistry autoanalyser we determined oxidative stres index. Both total oxidant and antioxidant capacity after apheresis significantly decreased ( $p=0.016$ ,  $p=0.018$ , respectively). But oxidative stres index did not changed.

In the light of these findings, it is possible to conclude that platelet apheresis cause minimal oxidative stres which uses antioxidants and by which stimulates antioxidant protective system of the body.

**Key words:** Total antioxidant capacity, total oxidant capacity, oxidative stres index, platelet apheresis

## TEŞEKKÜR

Tezimin gerçekleŐmesinde ve yüksek lisans eğitimimde her konuda yardımını gördüğüm, bana her zaman desteğini, sabır, içtenlik ve titizlikle sürdüren, danışman hocam Prof. Dr. Nurten AKSOY' a teŐekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her türlü desteği ve yardımı esirgemeyen Biyokimya Anabilim dalı Öğretim üyesi Doç. Dr. Şahbettin SELEK'e, Öğretim Görevlisi Hakim ÇELİK'e ve Öğretim Görevlisi Abdullah TAŐKIN'a, örneklerin toplanmasında bana yardımlarını esirgemeyen Kan Merkezi alıŐan arkadaşlarıma, eğitim hayatım boyunca hep beni maddi ve manevi olarak destekleyen aileme, bu çalıŐmayı ( HÜBAK) destekleyen Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna ayrıca teşekkür ederim.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 1. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları sonucunda hidroksil radikali (OH <sup>*</sup> ) oluşumu.	23
Şekil 2 Lipit peroksidasyonun zincirleme reaksiyonu.	25
Şekil 3 Protein karbonil oluşum reaksiyonları.	27
Şekil 4 Serbest radikal aracılı oksidatif DNA hasarı.	28
Şekil 5. Serbest radikallerin neden olduğu bazı hastalıklar.	37
Şekil 6. Platelet aferez öncesi ve platelet aferez sonrası donörlerin serum örneklerinin Toplam Antioksidan Durumu (TAS) arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları.	43
Şekil 7. Platelet aferez öncesi ve platelet aferez sonrası donörlerin serum örneklerinin toplam Oksidan Durum (TOS) arasındaki fark, dağılım ve Standart sapmaları	44
Şekil 8. Platelet aferez öncesi ve platelet aferez sonrası donörlerin serum örneklerinin Oksidatif stres indeksi (OSİ) değerleri arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	44
Şekil 9. Platelet aferez öncesi ve platelet aferez sonrası donörlerin serum örneklerinin paraoksanaz değerleri arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	45
Şekil 10. Platelet aferez öncesi ve platelet aferez sonrası donörlerin serum örneklerinin Arilesteraz değerleri arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	46

## ÇİZELGE ve TABLOLAR

	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 2.2 Hücrede bulunan bazı endojen antioksidanlar.	29
Tablo 1. Aferez öncesi ve aferez sonrası alınan kanların oksidatif ve antioksidatif Parametreleri	41

## KISALTMALAR

<b>HLA</b>	Human leukocyte antigen
<b>LDL</b>	Düşük yoğunluklu lipoprotein
<b>HDL</b>	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
<b>HES</b>	Hidroksietil sitrat
<b>ACE</b>	Antijen dönüştürücü enzim
<b>PKH</b>	Periferik kök hücre
<b>AÜTF</b>	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
<b>MDA</b>	Malondialdehit
<b>SOD</b>	Süperoksid dismutas
<b>ROT</b>	Reaktif oksijen türleri
<b>GSH</b>	Glutasyon
<b>Ca</b>	Kalsiyum
<b>CAT</b>	Katalaz enzimi
<b>NO</b>	Nitrik oksit
<b>NO<sub>2</sub></b>	Azot dioksit
<b>OH</b>	Hidroksil radikali
<b>SO<sub>2</sub></b>	Kükürt dioksit

## 1.GİRİŞ

Aferez Yunanca uzaklaştırma, ayırma, geri alma anlamına gelmektedir. Kanın bir komponentinin alınıp, geri kalanının hastaya veya donöre geri verilmesi işlemi olarak tanımlanmaktadır. Hemaferesis, aferezis ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır. Sitaferesis ise aferezin bir cinsi olup, kanın hücresel elemanlarının ayrılıp, geri kalanının hastaya veya donöre geri verilmesi işlemidir (6). Kan komponentlerini birbirlerinden ayırmak amacıyla çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bunlardan santrifugasyon tekniği aferez cihazlarında en çok kullanılanıdır. Bazı aferez cihazlarında ise bu tekniklerin kombinasyonları kullanılmaktadır (6). Kan , bir kateter yardımıyla vücut dışına alınır. Aferez cihazında santrifüj edilir. En ağır olan kırmızı küreler en altta birikir. Hafif olan plazma üstte birikir. Santrifüj sırasında Trombositler ve beyaz küreler ara kısımda birikerek istenen bileşenler alınarak ayrılır ve toplama torbasında toplanır (10). Aferez teknolojisinde pıhtılaşmayı engellemek gerekir. Aksi halde kan vücuttan alındıktan sonra pıhtılaşır ve işlem gerçekleştirilemez. Bu amaçla alınan kan cihaz içinde pıhtılaşmayı engellemek için antikoagülanlar kullanılır. Bu işlemlerde hastanın boyu, kilosunu, kullanılan replasman sıvısı, karaciğer fonksiyonları, trombosit sayısı ve fonksiyonları değerlendirilir (14).

Trombosit aferez işlemi kan ve kan ürünleri transferi hususunda bilime büyük katkı sağlamıştır. İşlem uygulanması açısından kolay, efektif, fakat işlemin uzun sürmesi bakımından donör için yatağa bağlayan stresli ve vakit alan bir işlemdir. Bu açıdan yola çıkarak çalışmamızda, santrifüj sistemi tabanlı trombosit aferez cihazına maruz kalan donörlerin trombosit aferez işlemi öncesi ve sonrası kanlarında oksidan-antioksidan denge parametreleri tespit ederek trombosit aferez işleminin donörlerde bu sistemi etkileyip etkilemediği ortaya koymayı amaçladık.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Aferez Nedir**

Aferez Yunanca uzaklaştırma, ayırma, geri alma anlamına gelmektedir. Kanın bir komponentinin alınıp, geri kalanının hastaya veya donöre geri verilmesi işlemi olarak tanımlanmaktadır. Hemaferезis, aferezis ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır. Sitaferезis ise aferezin bir cinsi olup, kanın hücresel elemanlarının ayrılıp, geri kalanının hastaya veya donöre geri verilmesi işlemidir (6).

#### **2.1.1.Tarihçe**

İlk kez 1666'da Dr. Richard Lower köpeklerde aferez uygulamasından bahsetmektedir. 1902'de Fransa ve 1914'de Rusya'da plazmaferezden bahsedilmiştir. İlk terapötik plazmaferez ise 1960 yılında Dr. Soloman tarafından gerçekleştirilmiştir. Otomatik trombositaferez ilk olarak 1971'de Dr. Cohn ve ekibi tarafından yapılmıştır. İlk lökoferez uygulaması ise hemen onu takip eden yılda IBM adına çalışmakta olan Mr. Judson tarafından gerçekleştirilmiştir. Yine aynı yıl (1972) Haemonetics (intermitant akım) Cobe ve Fenwall (devamlı akım) tarafından aferez cihazları piyasaya çıkarılmıştır. 1979'da ise bu üreticilerin daha gelişmiş modelleri olan ve bilgisayar programları desteğinde çalışan aferez cihazları kullanıma sunulmuştur ( Fenwal CS3000, COBE Spectra, Haemonetics V50). 1980'lerde ise teknoloji daha ileri giderek pozitif seleksiyon cihazları (CellPro, Clinimacs, Isolex) devreye girmiştir. 1985 yılından sonra ise ekstrakorporeal fotoimmunoterapi cihazı Therakos UVAR, Immunadsorpsiyon uygulamaları için; Excorim, ProSORba, Immunosorba cihazları ile lipid aferezi işlemleri için kullanılan aferez cihazları geliştirilmiştir (1).

### 2.1.2. Aferez Teknikleri

Kan komponentlerini birbirlerinden ayırmak amacıyla çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Kullanılan bu ayırma teknikleri aşağıda belirtilmiştir. Bunlardan santrifugasyon tekniği aferez cihazlarında en çok kullanılanıdır. Bazı aferez cihazlarında ise bu tekniklerin kombinasyonları kullanılmaktadır.

**Santrifüj Tekniği:** Bu teknikte kan komponentleri özgül ağırlıklarına göre birbirlerinden ayrılırlar. Bu işlem manuel olarak yapılabildiği gibi, aferez cihazlarında olduğu üzere otomatik olarak da yapılabilmektedir. Santrifugasyon sonrası hücresel elemanlar özgül ağırlıklarına göre şu şekilde sıralanırlar: En içte plazma ve daha sonra sırasıyla, trombositler, mononükleer hücreler, granülositler (nötrofil, eozinofil ve bazofiller) neositler ve eritrositler (1).

**Filtrasyon Tekniği:** Bu teknikte ise kan komponentleri birbirlerinden büyüklüklerine göre ayrılabilirler. Delikli bir membrandan geçirilen hücreler ve plazma membrandaki porların çaplarına göre hücreler birbirlerinden ayrılabilirler (1).

**Adsorpsiyon Tekniği:** Daha çok immunoadsorpsiyon işlemleri için kullanılan bir uygulamadır. Biyoaktif membranlar kullanılarak istenilen elemanlar plazmadan ayrılabilirler (1).

Aferez için kullanılan cihazlarda işlemler cihazın özelliklerine göre devamlı ve aralıklı akım yöntemine göre yapılmaktadır. Devamlı akım yöntemi kullanan cihazlarda donörden ve hastadan alınan kan alma işlemi süreklilik göstermektedir. Aralıklı akım yöntemi ile çalışan cihazlarda ise yüksek hacimlerde ve fasılalarla alınan kan santrifüj edilerek komponentlerine ayrılmaktadır.

Aralıklı (intermittant) akım ile çalışan aferez cihazlarının özellikleri; kolay taşınabilirler, tek damar giriş / çıkış, fazla ekstrakorporal volüm ve uzun işlem süresidir. Devamlı akım santrifüj tekniği ile çalışan aferez cihazlarının özellikleri ise; taşınmalarının zor



olması, çoğu zaman çift damar yolu gereksinimi (bir alış, bir dönüş), düşük ekstrakorporal volüm ve kısa işlem süresidir (2).

### 2.1.3 Sınıflandırma ve Tanımlar

Aferez tekniği hastalara ve sağlıklı donörlere yapılabilmektedir. Uygulanan kişiye göre:

**Terapötik Aferez (hastaya tedavi amaçlı işlem yapılması):** Sitaferaz, komponent değişimi, plazma immunomodulator tedavi

**Donör Aferezi (sağlıklı vericiden kan komponenti toplanması):** Plazmaferez, trombositaferez, granüloferez gibi. Yapılan işleme göre sınıflandırma 3 ana bölümde toplanabilir.

**a) Sitaferaz:** Kanda hücresel bileşenlerin süzülüp geri kalan sıvının geri verilmesi işlemidir. Hücrelerin bozuk olduğu durumlarda (örn: orak hücreli anemi, trombositoz vs.) yapılır.

**b) Lökoferez:** Kandaki Lökositleri vücuttan uzaklaştırma ve bir torbada toplama işlemidir.

- **Periferik kök hücre:** Otolog ve allojeneik amaçlı hematopoietik hücre nakilleri için.
- **Granülosit:** Uzayan nötrofenilerde fatal infeksiyonların azaltılması.
- **Lenfosit:** Allojeneik hematopoietik hücre nakli sonrası donör lenfosit infüzyonu amaçlı.

**c) Trombositaferez:** En sık yapılan bağış aferezi işlemidir. Tek bir bağışçıdan  $3 \times 10^{11}$  trombositin 200-300 ml plazma içinde süspansiyonunu ifade eder. Aferez trombosit toplumdaki genel vericilerden, aile bireylerinden ya da gerektiğinde HLA (human leukocyte antigen) uygun vericilerden sağlanır (3).

Aferez trombosit kullanımı 1980'li yılların sonundan 1990 lara kadar kullanımı teşvik edilmiştir. Tam kan kökenli trombosit ürünleri ile karşılaştırıldığında (terapötik doz için 5 veya 6 trombosit konsantrisi gereklidir) alloimmunizasyon ve transfüzyon reaksiyonlarını azaltır. Çoklu trombosit süspansiyonu toplamak için gerekli aferez teknolojisi 1990 yılından beri bulunmaktadır. Trombosit dozunun  $3 \times 10^{11}$  olarak tanımlanması, hastanın ihtiyacının olduğu minimum terapötik dozdan çok teknolojik kapasiteye bağlıdır. Kan toplayıcılarının bu cihazları kullanmaya başlamalarından hemen sonra topladıkları ürünü iki transfüzyon dozuna bölünmesi giderek yaygınlaşmıştır (4).

Hazırlama yöntemine ve kullanılan cihaza bağlı olarak her bir işlemin trombosit verimi  $2-8 \times 10^{11}$  arasında değişmektedir. Benzer olarak ürünün lökosit ve eritrosit kontaminasyonu işlem ve kullanılan cihazın tipine göre değişebilir. Yöntem, alloimmünize hastaların etkin tedavisi ve HLA alloimmünizasyon riskini azaltmak için seçilmiş bağışçılardan trombositlerin toplanmasını sağlar. Hastanın maruz kaldığı bağışçı sayısının azalmasıyla viral bulaş riski de azalabilir. Bağışçıdan alınan tam kan, sitratlı bir solüsyonla antikoagüle edilir ve aferez cihazı kullanılarak trombositler toplanır. Kalan bileşenler bağışçıya geri verilir. Kontamine lökosit sayısını azaltmak için işleme ek bir santrifüjasyon veya filtrasyon basamağı eklenebilir. Aferezle, 3 ile 13 ünite tam kandan elde edilen trombosit eşdeğer trombosit tek bir işlemle elde edilir ve transfüzyon için birden fazla standart üniteye bölünebilir (11).

Aferez trombositleri plazma veya uygun bir besleme (koruyucu) solüsyonu ile zenginleştirilmiş plazma içerisinde toplanıp saklanabilir. Yalnız aşağıdaki bilgiler etiketin üzerinde bulunmalıdır;

Hazırlayan hizmet birimi, ünite numarası; Bir seansta bağışçıdan iki veya daha fazla ünite alındıysa, aferez ünitesi 1, aferez ünitesi 2 şeklinde ayrıca numaralanmalıdır. ABO ve Rh (D) grubu, bağış tarihi, antikoagülan solüsyonun adı veya ek solüsyonun adı kan bileşeninin adı, ek bileşen bilgileri: lökosit azaltılmış, ışınlanmış, viral inaktivasyon yapılmış vs (gerekli ise); son kullanma tarihi, saklama sıcaklığı (5).

Trombositler canlılıklarını ve hemostatik aktivitelerini optimal olarak garantileyen koşullar altında saklanmalıdır. Trombositler, plazma veya bir “plazma + besleyici solüsyon” kombinasyonu içinde saklanabilir. Trombosit saklanması için kullanılan plastik torbalar, trombositlere gereken oksijeni sağlayabilecek gaz geçirgenliğine sahip olmalıdır. Gerekli oksijen miktarı üründeki trombosit sayısına bağlıdır. Genellikle en uygun saklama; trombosit yoğunluğu  $1,5 \times 10^{11}$  ml’den az olduğunda ve ürünün pH’sı kullanılan saklama periyodu sırasında sürekli olarak 6,4’ün üzerinde olduğunda mümkündür. Saklama sırasında trombositlerin ajitasyonu yeterli oksijen geçişini garanti edecek kadar etkin fakat olabildiğince yumuşak olmalıdır. Saklama sıcaklığı +20 °C ile +24 °C arasında olmalıdır. Hazırlanan trombositler için maksimum saklama süresi 5 gündür, ancak bakteriyel kontaminasyonun saptanması veya azaltılmasına yönelik ek bir yöntemin kullanılması durumunda 7 gün saklanabilir. Kalite kontrol çalışmaları belirlenen en az ünite sayılarında mutlaka yapılmalıdır. (6).

#### **2.1.4 Bağış Aferez Komplikasyonları**

Tam kan bağışı ile temelde aynı komplikasyonları içerse de aferez ile kan bileşeni bağışının kendine özgü komplikasyonları görülmektedir. Aferez ile kan bağışçılarında işlemler nedeniyle görülen komplikasyon sıklığı McLeod ve arkadaşları tarafından çok merkezli çalışmada % 2.18 olarak saptanmıştır. Bu sıklık tam kan bağışçılarında görülenlerden oldukça azdır. Reaksiyon oranları trombosit vericilerinde (% 12) plazma (% 5.9) ve granülosit (% 9.4) vericilerinden daha fazla bulunmuştur. Tüm bağışçılarda ilk kez bağışçı olanlarda bu sıklık daha fazladır. Bağışçının yakın takibi gelişen reaksiyonların erken fark edilmesini kolaylaştırır. Açık klinik belirtiler olmasa bile donörün durumunun değiştiğinin sezilmesi göz ardı edilmemelidir (2,8).

Aferezin gerçekleştirildiği çevre şartları bağışçı reaksiyonlarının görülmesinde etkili olmaktadır. Aferez bağışçısı her bir aferez işlemi için bir yatağa saatlerce bağlı kalmaktadır. Aferez yapılan bölge ısı, ses, nem ve ışık bakımından uygun koşullarda olmalıdır. Havalandırma bağışçı için yeterli düzeyde olmalıdır, bağışçının vakit geçirebileceği multimedya sistemler yararlıdır. İşlemi uygulayan operatörde anksiyete, güvensizlik ve stres anlatan bir vücut dili bağışçı tarafından algılanabilir ve bu da reaksiyonu arttırabilir (7,8).

Her ne kadar sağlıklı bağışçılarda yapılan aferez işlemlerinin çok büyük bir kısmı trombositaferez olsa da, bu bölümde anlatılacak olan komplikasyonlar tüm sitaferez işlemleri (lökaferaz, trombositaferez) ve plazmaferez için ortaktır. Yan etkilerin hemen tamamı sitrat toksisitesidir ve kan dönüş hızı ile sitrat infüzyonunun azaltılması ile düzeltilebilmektedir (12).

#### **2.1.4.1 Vazovagal Etkiler ve Hipovolemi**

Hipovolemi ve vazovagal reaksiyonun ana sonucu hipotansiyondur. Her iki durumda da hastayı Trendelenburg pozisyonuna getirmek, kan basıncını yükseltmeye yeterli olabilir. Bradikardi genellikle vazovagal reaksiyonun bir işaretidir. Kardiyovasküler şok ve hipovolemide daha sıklıkla kan basıncı düşerken kalp hızının artması vazovagal etkiler ile hipovoleminin ayrımında bradikardinin önemli bir yer tutmasını sağlar. Azalmış intravasküler hacime kompanse olarak cevap olarak, kardiyak debiyi arttırmak ve doku perfüzyonunun devam etmesini sağlamak için otonomik sempatik aktivite ile kalp hızı artırılır (9).

Hipovolemi aktif kan kaybına bağlı gelişebilir. Bu durum cihaza kan sızıntısı, hemotoraks, santral kateter takılırken oluşabilecek arteriyel laserasyonda veya aşırı ekstrakorporeal hacimde gözlenebilir (total kan hacminin % 15'inden fazla). Dolaşan kan hacminin azalması intravasküler kompartmandan çevre dokuya sıvı geçişi nedeniyle de gelişebilir. Replasman sıvıları kristalloid veya hipotonik ise sıvı geçişi gözlenebilir. Hipovolemi nedeniyle gelişen hipotansiyon normal serum fizyolojik gibi kristalloid solüsyonlar veya % 0,9 NaCl içinde % 5 albumin gibi kolloid sıvı infüzyonu ile giderilebilir. Aferez cihazındaki ekstrakorporeal hacimin geri infüze edilmesi de dolaşan kan hacminin yerine konmasına yardımcı olur. Vazovagal reaksiyon emosyonel stres, iğne veya kan korkusu, idrar yapamama, mesane doluluğu sonucu gözlenebilir. Bunlar parasempatik cevabı tetikleyerek kalp hızını ve kan basıncını azaltır.

Aferez işlemi sırasında gelişen reaksiyonlara ait en sık görülen belirtiler halsizlik, ciltte soğukluk, diaforez ve solukluktur. Yorgunluk hikâyesi vazovagal reaksiyon için hazırlayıcı bir faktördür. Bu belirtilerden daha ciddi olan ancak yine de hafif sayılabilecek yan etkiler arasında baş dönmesi, hipertansiyon, hipotansiyon ve/veya bradikardi bulunmaktadır. Vazovagal sendromun daha ciddi formlarında şuur kaybı, konvulziyonlar, istemsiz

defekasyon ve diürez görülebilmektedir. Geçmiş zamanlarda reaksiyon geliştiği zaman genellikle yapılan bağışçının kese kâğıdına solutulması artık terkedilmesi gereken bir girişimdir. Bu işlem ancak bağışçıda hiperventilasyon ve azalmış bikarbonat düzeyleri nedeniyle gelişmiş olan tabloda etkilidir. Birçok reaksiyon bu mekanizma ile gelişmediği için gereksiz yere kese kâğıdına solutulmaları bağışçıların strese girmesine ve tablonun daha da kötüleşmesine sebep olabilir. Vazovagal etkiler ve hipovolemi sonucu bulantı-kusma, el ve ayakuçlarında karıncalanma, kas krampları, konvülzyon ve kardiyak aritmilere sebep olabilecek hiperventilasyon görülebilsede bu tarz ciddi komplikasyonlarla nadir olarak karşılaşılır. Vazovagal reaksiyonun önlenmesi ve tedavisi bu bölümün başında anlatılan yaklaşımların uygulanması ile mümkündür. Hastanın kan basıncı kalp hızı ile birlikte düşerse prosedür durdurulmalı ve 250-500 ml kristalloid veya kolloid volüm infüze edilmelidir. Kalp hızı 60'ın altında ve hasta semptomatik ise 0,5-1 mg (IV puşe) atropin verilebilir (9,13).

#### **2.1.4.2 Venöz Giriş Yeri ile İlişkili Komplikasyonlar**

Hematom, aferez için kullanılan iğneler yerinden çıkarsa gelişebilen bir komplikasyondur. Kan bağışçıya aktif pompalama ile geri döndüğü için iğne eğer yerinden oynar ve aferez işlemi devam ederse, kan basıncı ile antekubital fossa'ya dolmaya devam eder ve çok hızlı bir şekilde hematom gelişebilir. Hematom gelişimi sırasında gözlemlenebilecek belirti ve bulgular arasında; ağrı, gerginlik hissi ve renk değişikliği sayılabilir. Eğer hematom geliştiği gözlenirse, aferez işlemi sonlandırılmalı, hematoma gelişen yerin üzerine basınç uygulanmalı, eğer bu şekilde hematoma gelişimi önlenemez ve antekubital fossa'da damar ve sinirlere baskı olduğu tespit edilirse kalıcı ve ciddi hasarlar oluşmaması için drenaj uygulanması gerekmektedir. Sinir hasarı, damar yoluna girilirken kaza ile iğnenin ucunun sinire batması sonucu gelişebilir. Yaklaşık 21000 aferez işleminde bir sıklıkta görülmektedir. Eğer böyle bir olay gelişirse, his kaybı, karıncalanma, ağrı ve/veya kol ya da elde güç kaybı görülebilir. Gelişen sinir hasarlarının üçte biri 3 günden az bir sürede iyileşirken, % 2'sinin iyileşmesi 6 aydan daha uzun bir süre alır. Sinir hasarı gelişen donörlerin %6'sında ise hafif duyu kusuru ömür boyu kalabilmektedir. Lokal enfeksiyon ve tromboflebit sterilizasyona önem verilmeyen durumlarda görülebilir. Bu komplikasyonu ortadan kaldırmak için aferez iğnesinin batırılacağı bölgeyi en az 30 saniye dairesel hareketler ile vene girilecek bölgeden başlayarak iyot bileşiği ile silmek, iyot bileşiğinin fazlasını steril bir ped yardımı ile silerek

uzaklaştırmak ve tamamen kuruması için beklemek gerekmektedir. Bu işlemden sonra iğne giriş yerine tekrar dokunulmaması çok önemlidir ve iğne ile vene girildikten sonra giriş yolunu steril ped ile kapatmak enfeksiyon riskini önemli ölçüde azaltmaktadır (9).

### 2.1.4.3 Sitrat Toksisitesi

Plazmasitaferez işlemi sırasında kullanılan antikoagülan sitrattır. Hipokalsemik reaksiyon (sitrata toksisitesi) aferez işleminin en sık rastlanan yan etkisidir. Sitrata dağılımı ve infüzyon hızının hesaplanması bize bağışçının ne kadar sitrata alacağını tahmin ettirir fakat bağışçının sitrata nasıl tolere edeceğini göstermez. Asidoz iyonize kalsiyum seviyesini artırırken alkaloz azaltır. Sitrata infüzyonu kan pH'sını arttırarak metabolik alkalozu neden olabilir. Sitrata karaciğer, böbrek ve kaslarda metabolize olur ve bunun sonucunda bikarbonat oluşur. Hiperventilasyonu olan donörlerde respiratuvar alkaloz gelişebilir ki, bu da sitrata toksisitesi olasılığını arttırır. Kese kâğıdına solumak kan karbondioksit miktarını arttırarak respiratuvar alkalozu düzeltebilir. Hiperventilasyon, hipertermi, hipomagnezemi ve hipoalbuminemi sitrata toksisitesini arttıran durumlardır. Sitrata kalsiyumu bağlaması ve bunun sonucu oluşabilecek kardiyak toksisite ciddi bir problem olabilmektedir. Kanda bulunan sitrata miktarındaki artışlar parestezi, kas krampları, tetani ve kardiyak aritmi oluşturabilir. Nöromusküler iritabilitenin ve latent tetaninin belirtileri olarak Chvostek ve Trousseau belirtileri gözlemlenebilir. Plazmasitaferez sırasında bağışçının 4-6 litre kanı, 1-3 saat süren bir işlem boyunca aferez cihazının içerisinden geçirilir, sitrata maruz bırakılır ve bağışçıya geri verilir. Bu işlem sırasında kullanılacak uygun sitrata dozunun tespiti açısından yapılmış bir çalışmada, 65 mg/kg/saat'ten daha yavaş yapılan sitrata infüzyonunun bağışçılarda herhangi bir yan etki ve elektrokardiyografik değişiklikler oluşturmadığı gösterilmiştir. Ayrıca aynı seviyede hipokalsemisi bulunan bağışçıların çok çeşitli ve birbirinden farklı belirtiler gösterdiği bilinmektedir. Bir başka çalışmada lökoferez ve trombositaferez bağışçılarında bradikardi, supraventriküler ve ventriküler erken atılar, sağ dal bloğu, ST segment elevasyonu veya depresyonu, uzamış QT intervali ve sivri, düzleşmiş ya da tersleşmiş T dalgalarını içeren çok çeşitli elektrokardiyografik değişikliklerin bulunduğu belirtilmiştir. Bazı bağışçılarda bulantı kusma, hipotansiyon, bayılma ve konvülsiyonlar gözlemlenmiştir.

Hipokalsemik sitrat reaksiyonundan korunmak ve tedavi için sitrat infüzyon hızının monitörize edilmesi, kalsiyum seviyelerinin ölçülmesi, işlem boyunca bağışçının yakın takibi ve yine işlem boyunca bağışçıya oral/parenteral kalsiyum desteği verilmesi önemlidir. Titremenin azaltılması için battaniye ve kan ısıtıcılarından faydalanılabilir. Sitratlı soğuk kanın santral venöz yolla kalbe dönüşü kardiyak aritmi görülmesine neden olabilir. Bağışçının sitrat toksisitesi ile ilişkili yakınması olursa sıklıkla kalsiyum içeren anti-asit tabletler veya diğer oral kalsiyum preparatları kullanılmaktadır. IV Ca glukonat (1 gramında 94 mg iyonize kalsiyum içerir) 10 dakikada 1 gr gidecek şekilde IV olarak infüze edilebilir. Ca glukonat serum fizyolojik ile dilüe edilip pompa veya manuel titrasyon ile verilebileceği gibi % 5 albumin veya kristaloid replasman sıvıları ile beraber de verilebilir. Sitrat reaksiyonundan korunmak için Ca glukonatu replasman sıvısında litrede 1 gr olacak şekilde verilmesi önerilmektedir. Eğer hipokalsemik semptomlar ortadan kaldırılamaz ise işlem sonlandırılmalı ve işleme tekrar başlanmadan önce bağışçı bir doktor tarafından muayene edilmelidir. Trombosit kaybı ve kümelenmesi görülebilse de sitrat toksisitesinden korunmak için antikoagülasyon amaçlı heparin veya sitrat ile heparin kombinasyonu kullanılmalıdır.

#### **2.1.4.4 Allerjik Reaksiyonlar**

Allerjik reaksiyonlar vasoaktif maddelerin mast hücreleri ve bazofillerden IgE antikorları ile antijenin bağlanmasıyla salınımı sonucu oluşur. Bu reaksiyonlar ürtikerden anafilâksiye kadar değişen derecelerde görülebilir. Genellikle aferez setlerinin sterilizasyonunda kullanılan etilen okside karşı gelişen allerji ile oluşur. Daha fazla aferez işlemine maruz kalan kişilerde olabilir. Etilen oksit hapten rolü görmektedir. Granülosit vericilerinde ise genellikle HES solüsyonuna karşı allerji olabilmektedir. Her türlü allerjik reaksiyonda işlem durdurulur derecesine göre antihistaminik veya epinefrin verilebilir. Bu tip reaksiyon görülen vericiler kalıcı red olarak kaydedilir (10).

#### **2.1.4.5 Mekanik Hemoliz**

Aferez işlemi sırasında kanın çeşitli mekanizmalar içinden akması ve santrifüj edilmesi eritrositlerin travmaya uğramasını ve hemolizi teorik bir komplikasyon olarak akla getirmektedir. Eğer dönüş iğnesi 18 G'den daha ince ise yüksek dönüş hızı eritrositler

üzerindeki stresi artırır ve hemolize neden olur. Hemoliz aynı zamanda tüplerdeki bükülme, yıkama için normal serum fizyolojik dışında bir solüsyon kullanılması nedeniyle de oluşabilir. Plazma toplama torbasındaki plazmanın pembe renkli olması hemolizin göstergesidir. Seyrek bir komplikasyon olmakla beraber mekanik hemoliz bir çalışmada % 0.07 sıklıkta, yani yaklaşık 1.500 aferez işleminde bir görülmüştür (10).

#### **2.1.4.6 Hava Embolisi**

Bağışçının venlerine kan aktif olarak pompalandığı için eğer aferez sistemine hava kaçarsa, bağışçıya hava verilme olasılığı bulunmaktadır. Modern otomatik hücre ayırıcılarında güvenlik mekanizması olarak hava algılayıcıları bulunmaktadır ve nadir görülen bir komplikasyon olan hava embolisinin görülme sıklığını azaltmaktadır. Hava embolisi belirtileri akut solunum yetmezliği, göğüs ağrısı, diaforez, konfüzyon, şok veya senkop'tur. Hava embolisinden korunmak için bağışçıya bağlanmadan önce tüp sistemlerinin kontrol edilmesi ve işlem boyunca sıvı seviyeleri ile tüplerdeki hava kabarcıklarının varlığının izlenmesi son derece önemlidir. İşlem sırasında güvenlik mekanizmalarının devre dışı bırakılmaması da hava embolisini önlemek için yapılması gereken bir girişimdir. Eğer santral venöz kateter takılıysa, kateter kullanımında değil iken klemler kapalı tutulmalıdır. Hava embolisi şüphesinde işlem durdurulur ve klemler kapatılır. Bağışçı sol tarafına ve baş aşağı yatırılır. Bu pozisyon havayı pulmoner kapaktan uzak tutup sağ atriyuma yönlendirir. Bağışçıya oksijen verilir ve damar yolu açık tutulur.

#### **2.1.4.7 Trombosit Sayısında Azalma**

Trombositaferaz bağışçının vücudunda kalan trombositlerinde herhangi bir zarara sebep olmaz ve işlem sonrasında bağışçının trombositleri fonksiyon açısından tamamen normaldir. Aferez işleminin hemen sonrasında trombosit sayıları yaklaşık % 30 oranında azalmakta ve 4-6 gün sonra normal seviyesine gelmektedir. Aferez işleminden 8-11 gün sonra başlangıç trombosit değerinin hafifçe üstünde değerlerle de karşılaşılabilir. Her ne kadar uygulanan işlemler arasında farklılık gösterse de, genellikle trombosit sayılarında % 20-35 oranında bir azalma görülür ve bu değerler yaklaşık 4 gün içinde normal değerlerine ulaşır.



Bu yüzden başka bir kontrendikasyonu yok ise, bir bağışçı 2-4 günde bir trombositaferez işlemi için bağışta bulunabilir.

#### **2.1.4.8 Eritrosit Kaybı**

Sitaferez yöntemi ile trombosit, granülosit, lenfosit veya kök hücre toplanması sırasında çok az miktarda eritrosit kaybı olmaktadır. Bu yüzden eritrosit toplanması normal gelişen bir aferez işleminin olası bir komplikasyonu değildir. Aferez işlemi sırasında her an bağışçının kanının yaklaşık % 15'i ekstrakorporeal olduğu için eritrosit kaybı, işlem sırasında kullanılan malzemeler ile ilgili bir sorun olur ve donörün kanı aferez cihazında kalır ise yaşanabilir.

#### **2.1.4.9 Kan Hacim Değişiklikleri**

Aferez işlemi süresince donörün kanının yaklaşık % 15'i aferez cihazı içinde bulunduğundan çok ciddi bir hacim kaybı oluşmamaktadır. Buna ek olarak aferez boyunca, uygulanan sitrat ve % 0,9 NaCl infüzyonu bu hacim kaybının bir miktar da olsa yerine koyulmasına yardımcı olur. Sonuçta hacim kaybına bağlı hipotansiyon gelişmesi çok sık görülen bir komplikasyon değildir. Lökaferaz sırasında kullanılan *Hydroxyethyl Starch* (HES) aynı zamanda hacim tamamlayıcı olarak da kullanılır. Bu nedenle aferez sırasında HES uygulanması kan hacminde bir artışa bu da bazı donörlerde hipertansiyona ve akut kalp yetersizliği bulgularının gelişmesine neden olabilmektedir. Lökaferaz sırasında uygulanan HES miktarı 200-400 ml arası nda değişmekte olup, bağışçılardan aferez işlemi sonunda 50-200 ml granülosit konsantrisi toplandığından sonuç olarak bağışçı kan hacminde bir artış genellikle gözlenmez.

#### **2.1.4.10 Lenfosit Sayısında Azalma**

İlk aferez cihazlarının kullanıldığı dönemlerde bu cihazların trombositaferez sırasında bağışçıdan topladıkları lenfosit sayısının günümüzdeki cihazlara göre çok fazla olması nedeniyle, sık trombositaferez bağışçısı olan kişilerde lenfosit sayılarında düşme ve immün yanıtta azalma olabileceği düşünülmüştür. Bir çalışmada 1 yıllık sürede 9 kez trombositaferez

donörü olan kişilerin, aynı süre boyunca 1-4 kez tam kan bağışlayan kişilerle kıyaslandıklarında toplam lenfosit sayılarında % 23, T hücrelerinde % 25 ve B hücrelerinde % 47 düşme olduğu gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada ise sık trombositaferez bağışçısı olanların toplam lenfosit sayılarında % 20 azalma görüldüğü belirtilmiştir. Bir kişide klinik immun yetersizlik tablosunun oluşabilmesi için kişiden kısa bir süre içerisinde en az 1011 lenfosit alınması ve/veya kişinin mutlak lenfosit sayısının  $500/\text{mm}^3$ 'ten daha düşük olması gerektiği öngörülmektedir. Tekrarlayan lenfositaferezler sonucunda lenfosit sayısında bir düşme görülebilse de, kısa sürede birden fazla trombositaferez işlemi uygulansa dahi, sağlıklı bağışçılarda lenfosit sayısında azalma klinik bir risk oluşturmamaktadır. Günümüzde uygulanan her trombositaferez işlemi sonucunda  $1 \times 10^6$  ile  $5 \times 10^7$  arasında değişen sayılarda lökosit bağışçıdan toplanmakta olup, bu kaybın bağışçının bağışıklık sistemi üzerine klinik etkilerinin olması pek mümkün görülmemektedir (15).

### **2.1.5 Komponent Değişimi**

#### **a. Terapötik Plazma Değişimi**

Replasman sıvısı ile hasta plazmasının değiştirilme işlemi

#### **b. Terapötik Eritrosit Değişimi:**

Hastaya ait etkilenmiş eritrositlerin uzaklaştırılması ve yerine sağlıklı vericilerden elde edilen eritrositlerin verilmesi işlemidir. Geçmişte sıklıkla elle uygulanan bu yöntem; zaman alıcı olması, damar içi hacimde değişikliğe yol açması ve hedeflenen sağlıklı eritrosit düzeyine ulaşmak için birden çok işleme gereksinim duyulması gibi nedenlerle günümüzde yerini gelişmiş cihazlarla gerçekleştirilen otomatize tekniklere bırakmıştır(14,15,45)

#### **2.1.5.1 Immunoterapi/Plazmamodulatuvar Tedavi**

Burada selektif olarak toplama/temizleme işlemi gerçekleştirilir.

**a. Immunadsorbsiyon:** Özel kolonlar kullanılarak plazma arındırılması

**b. LDL aferezi:** Lipid aferezi

**c. Kaskad filtrasyon:** Çift filtre kullanılarak, yapılan plazma filtrasyonu

**d. Fotoferez:** Fotoaktif ajan i.v. psöralen ile toplanan mononükleer hücrelerin UV-A ışılanması ve hastaya geri verilmesi işlemidir (16).

### **2.1.6 Aferez Öncesi Hesaplamalar ve Damar Yolu**

Aferez işlemi öncesi bazı hesaplamaların yapılması gereklidir. Bu hesaplamaları çoğu hücre ayırım cihazı otomatik olarak yapmakla birlikte teorik olarak bilinmesi gereklidir. Bunlardan ilki total kan hacminin hesaplanmasıdır(17).

#### **2.1.6.1 Damar İçi Erişim**

Hastaların antekubital venleri değerlendirilir ve sıklıkla bu venler terapötik hemaferez işlemi için kullanılır. Venler uygunsa işaretlenir ve doktor ve hastaya bu venlerin kullanılmaması öğütlenir. Venleri uygun olmayan hastalarda kateter taktırılması önerilir.

#### **2.1.6.2 Donör Aferez Adayına Yaklaşım ve Donör Olma Kriterleri**

Kan komponentlerinden herhangi bir komponentini hazırlayabilen aferez teknikleri son birkaç yılda gelişme göstermiştir. Donörler trombosit, plasma, eritrosit kadar artan oranda lökosit, granülosit, periferik kan kök hücreleri içinde kullanılmaya başlanmıştır. Bütün gönüllü aferez donörlerinin tam kan vericilerin taşınması gereken tüm kriterlere sahip olmak zorundadırlar. Bağış işlemi bir doktor ya da özel eğitilmiş bir grup tarafından değerlendirilmelidir(6,15).

Donörün venleri kullanıldığından bu işlem için uygun olması gerekir. Ayrıca bu prosedür kan bağışından daha çok zaman alır. Dolayısıyla verici işlem sırasında hareket sınırlaması yaşayacağına farkında olmalıdır. Trombositaferez vericisi haftada ikiden fazla bağış yapamazlar. İki bağış arasında en az 48 saat geçmelidir ve yılda da bağış sayısı 24'ten fazla olmamalıdır. Trombosit sayımının trombositaferez işlemi öncesi yapılması zorunlu değildir. Eğer her 4 haftadan daha kısa aralarla bağış birden fazlaysa trombosit sayımının işlemden önce yapılması gerekmektedir. Bağış sonrası trombosit sayımı trombosit sayısının uygun olup olmadığını anlamak için yapılır. Donör başka bir donasyon işlemine girmeden

önce trombosit sayımı  $>150 \times 10^9/L$  olmalıdır. Donörler, vücut ağırlıklarına bağlı olarak haftada 2 kez 800 ml bağışta bulunabilir ve vericinin plazmasından taze donmuş plazma, albumin, faktör VIII, faktör IX ve immunglobulin elde edilebilir. Seri plazmaferez donörü (her 4 haftada bir) sürekli bağış yapacaksa total protein, IgG, IgM açısından test edilmeli ve sonuçların doktor tarafından normal sınırlar içinde olduğu görülmelidir. Potansiyel lökosit donörü, lökaferez işlemi sırasında ürünü arttırmak için sitokin kullanılmışsa bu durumdan etkilenebilecek önceden mevcut bir hastalığı varsa işlem öncesi değerlendirilmelidir. Değerlendirme özellikle hipertansiyon, diyabet ve peptik ülser hastalığını da içermelidir. Bilgilendirme, steroid kullanım izni, büyüme faktörleri, hidroksietil strat (HES), ilaç ve ürünlerin kullanılmasını kapsamalıdır(6,15).

### **2.1.6.3 Aferez Donörü İşlem Akışı**

- Vericinin kan bankasında değerlendirilmesi ve donör onay işlemi için gerekli olan işlemlerinin yapılması (anamnez, son donör aferezi ve flebotomi tarihi, kullandığı ilaçlar, fizik inceleme, tam kan sayımı, viral profil, istem formu, resmi onay) (17).
- Hemaferaz ünitesinde işlemin anlatılması ve yazılı onay alınması (Bkz Ek-2, AÜTF Donör Aferezi Onay Formu)
- Damar yolunun değerlendirilmesi (aferez hemşiresi)
- Hücre ayırım cihazına bağlanması: işlemin hastanın (ve de cihazın) özelliklerine göre (tek kol veya çift kol) tamamlanması (14).

### **2.1.7 Terapötik Aferez Adayına Yaklaşım**

Terapötik aferez uygulanacak hasatlarda şu işlem basamaklarından geçilmesi uygun olur.

- Hasta için hemaferaz konsültasyonu istenmesi
- Hastanın hemaferaz konsültanı tarafından yatağında değerlendirilmesi ve formunun doldurulması işlemin anlatılması.
- Hastadan yazılı onay alınması
- Hastalığın endikasyon açısından değerlendirilmesi

- Eşlik eden hastalık (özellikle kardiyovasküler) durumunun değerlendirilmesi
- İlaç Kullanımının özellikle ACE inh ve antihipertansifler
- Laboratuvar değerler (TKS, Biyokimya, Koag., viral tarama)
- Damar yolunun değerlendirilmesi (HH) gereksinim varsa santral venöz kateter takılması
- Hesaplamaların yapılması (Total Kan Hacmi, Total Plazma H, Total Eritrosit H, Ekstrakorporeal Kan Hacmi)
- Replasman sıvısının seçimi
- “Aferez Dozu” nun belirlenmesi,
- Randevu verilmesi ve programın belirlenmesi
- Hastanın hemaferaz ekibi takibine girmesi

### **2.1.8 Problemlı Hastalar, İşlem Takibi, Komplıkasyonlar**

Problemlı hasta grubu

- Anemik hastalar
- Kalp hastalığı ve/veya hemodinamik düzensizliği olanlar
- Sıvı dengesizliği olanlar
- Renal veya kalp yetmezliğinden dolayı sitrat metabolizması bozulmuş olanlar
- Gebeler İşlem Sırasında Takip
- Hasta özellikle kullanılan antikoagülan, sitrat toksisitesi ve
- Replasman sıvısına ait yan etkiler, TDP veya HES açısından gözlem altında tutulurlar
- İşlem sırasında 15-30dk. da bir vital bulguları kaydedilir
- Hastalar monitörize edilir
- Hastaların replasman mayi ve Ca infüzyonları yakın olarak takip edilip dosyasına tüm ayrıntılar ve komplıkasyonlar kaydedilir.

Aşağıdaki ilaçları kullananlarda işlem sırasında komplıkasyon çıkma riski daha yüksektir.

- Beta blokerler
- Nitrit türevleri

- ACE inhibitörleri (albumin kullanılırsa)
- Plazma proteinlerine bağlanan ilaçlar
- Bronkodilatörler
- Antiepileptikler
- Antibiyotik ve immunglobulin kullanılan septik hastalar

İşlem sırasında ortaya çıkan komplikasyonlar 3 ana grupta incelenir. Hastaya (veya donöre) ait yan etkiler, venöz erişim komplikasyonları ve teknik problemler.

### **2.1.8.1 Hastaya (donöre) Ait Semptom ve Bulgular**

Parestezi, Hipotansiyon, Ürtiker, Bulantı ve kusma, Üşüme-titreme, Dispne, Çarpıntı, Vertigo, Flushing, Karın Ağrısı, Anafilaksi

### **2.1.8.2 Venöz Erişime Ait Komplikasyonlar**

**Periferik venlerden işlem yapıldığında;** Anjiospazm, tıkanıklık, işlem sonrası kanama, hematom oluşumu, ponksiyon yerinde enfeksiyon

**Santral venöz kateterler Tıkanıklık, düşük basınç uyarısı:** Kateter giriş yeri ve tünelin incelenmesi

Boyun venleri ve ekstremitelerin değerlendirilmesi (“pinch off” ekarte edilmesi) kateter etrafı dikiş, cuff’ın yerinden oynaması, kateter çıkışında sıvı varlığı (test) palpasyonla trasenin takibi (dirsek, kırılma), akımın kontrolü Pozisyon ve solunum ile ilgisi, Yerçekimine karşı venöz dönüşün test edilmesi PA Ac grafisi veya kontrast madde ile kontrol yıkanma prosedürü (önce heparinli SF gerekirse trombolitik ajanlar) gidiş var geliş yok, yolların değiştirilmesi, kateterin kendi ekseninde döndürülmesi.

**Katetere Bağlı Tromboz:** Parsiyel ya da kalıcı olabilir, semptomatik trombusu olmayanlarda 2ml ürokinaz (4000U/ml) denenmelidir, 2-3 saat kadar klempe edilip bekletildikten sonra geri aspirasyon yapılmalıdır, cevap alınmazsa uzun süreli infüzyon planlanabilir.

### **Kateter İnfeksiyonları:**

**a) Giriş Yeri İnfeksiyonu:** Kateterin cildi deldiği giriş yerinde kızarıklık, ödem ve pürülan akıntı olması.

**b) Tünel İnfeksiyonu:** Kateterin tüneline, giriş yerinden en az 1 cm. uzaklıkta kızarıklık, ağrı ve ısı artışı olması ve kateter giriş yerinden pürülan akıntı gelmesi

**c) Kateter İlişkili Bakteriyemi:** Ateş ve sepsis kliniği olan ve ama uygun antibiyotik tedavisine yanıt alınmayan veya belirgin başka infeksiyon odağı bulunmayan hastalar.

### **2.1.8.3 Teknik Komplikasyonlar**

Takılacak olan disposable sette ortaya çıkan hatalar (zamanı geçmiş, yırtık ambalajlı, lot no. olmayan setler) Cihazın işlem sırasında verdiği hata mesajları, mekanik ve elektronik problemler (cihazların bir kesintisiz güç kaynağına bağlı olması önerilir) kullanıcı kökenli hatalara bağlı ortaya çıkan problemler; Setin hatalı takılması İşlemin hatalı girilmesi Hata mesajlarına zamanında ve doğru müdahale yapılmaması İşlemin ve hastanın iyi monitörize edilmemesi Geç yan etkiler (işlemden >6 saat)

- B ve C Hepatiti (genellikle işlemlerden 4 ay sonra ortaya çıkar, ayrıntılı işlem ve kullanıcı analizi, kan bankasına geri bildirim yapılması)
- HIV enfeksiyonu
- İnfeksiyon, ağır sepsis (kontamineset, kateter veya replasman sıvısı kullanımına bağlı)
- Hipogamaglobulinemi (özellikle TDP kullanılmayan tekrarlayan TPD işlemleri sonrası, IVIG önerilebilir)
- Elektrolit imbalansı (tekrarlayan TPD işlemleri sonrası, kullanılan replasman sıvısı özelliğine göre, yakın elektrolit takibi)
- Koagülopati (özellikle HES kullanılan tekrarlayan TPD işlemleri sonrası ,reversible)

### **2.1.9. Türkiye’de Aferez**

Türkiye’de 1980 yıllarının sonunda yüksek doz tedavi ve kök hücre nakli işlemlerinin uygulanmaya başlaması ile özellikle trombosit süspansiyonu gereksinimini ortaya çıkarmıştır. Ülkemizde ilk otolog periferik kök hücre (PKH) toplanması 1992 yılında ve ilk allojeneik PKH toplanması da 1993 yılında gerçekleştirilmiştir. 1996 yılında Türkiye’de ki ilk resmi aferez ünitesi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbni Sina Hastanesi bünyesinde kurulmuştur. 1998 yılında Türk Hematoloji Derneği altında Hemaferaz Alt Komitesi faaliyete geçmiş ve 2000 yılında Hemaferaz Derneği kurulmuştur. Aferez ve Fotoferez Komisyonu 2000 yılından beri Sağlık Bakanlığı Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü bünyesinde çalışmalarına devam etmektedir. Hemaferaz Master Programı ülkemizde ilk defa AÜTF bünyesinde kurulmuştur ve doktor, biyolog ve yüksek hemşirelere program dahilinde yüksek lisans vermektedir. 2000’li yıllarda ülkemize lipid aferezi, fotoferez ve immunoadsorbsiyon gibi ileri aferez teknolojileri de girmiştir. Aynı zamanda pozitif ve negatif hücre ayıklaması da bazı merkezlerde uygulamaya konmuştur.

### **2.2. Oksidatif-Antioksidatif Denge ve Serbest Oksijen Radikalleri**

Serbest radikaller, hem vücutta metabolik aktiviteler neticesinde hem de dışarıdan gelen tesirlerle (sigara, alkol, radyasyon, su ve hava kirliliği, ağır metaller, tütülenmiş et, kullanılmış yağ) oluşabilir (18). Pek çok hastalıkta miktarları değişimlere uğramaktadır. Örneğin Behçet hastalığında artmış serbest oksijen radikali üretimi ve oksidatif stres sonucunda antioksidanların azaldığı bildirilmiştir (19-22). Oksidan/antioksidan dengesinin bozulması Behçet hastalığındaki doku hasarından sorumlu tutulmuştur (23).

Oksidatif stresin etkilediği en önemli hastalıklardan biri kalp yetersizliğidir. Kalp yetersizliği gelişen hastalarda SOD, CAT, GSH-Px ve E vitamini gibi miyokardiyal antioksidanlar azalırken, serbest oksijen radikallerinin ve oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (25).

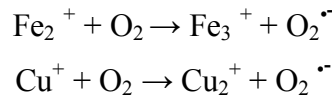


Singh ve ark. diabet süresi ve metabolik kontrol ile oksidatif stres arasında güçlü bir ilişki tespit etmişlerdir (26). Başka bir araştırmada da tip I ve tip II diabetik hastalarda metabolik kontrolün düzeltilmesi ile oksidatif stresin azaldığı tespit edilmiştir (27).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, moleküler ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir ve aerobik organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak meydana gelmektedir. Oldukça reaktif olan bu bileşikler reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılır. Başta mitokondriyal elektron transportu olmak üzere ksenobiyotik metabolizması, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez ve degradasyon reaksiyonlarında ROT oluşmaktadır (30). Oksijenden oluşan başlıca reaktif türler şunlardır.

### 2.2.1. Süperoksit ( $O_2^{\bullet -}$ )

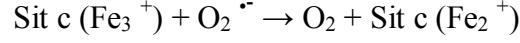
Süperoksit radikali ( $O_2^{\bullet -}$ ) hemen hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin ( $O_2$ ) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksit radikali meydana getirebilir.



Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir. Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda  $O_2$  ve  $H_2O_2$  meydana gelir.



Süperoksit radikalli hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin; ferrisitokrom c ya da nitroblue tetrazolium ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur.



Ayrıca süperoksit radikali epinefrinin oksidasyonunda oksidan olarak davranarak bir elektron alır ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indirgenir (31).

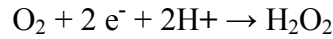
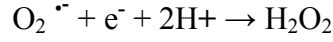
Süperoksit, nötrofillerin bakterisidal aktivitesi, apoptozis, inflamasyon ve vasküler fonksiyonların regülasyonu gibi yararlı etkilere sahiptir. Azalmış süperoksit düzeyleri bakteriyal enfeksiyonlara artmış bir yatkınlığa yol açabilir. Artmış süperoksit düzeyleri ise süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve oksijene dönüştürülerek azaltılır. Böylece hücrel süper oksit düzeyleri sıkı bir şekilde kontrol altında tutulur (32, 33).

### 2.2.2. Singlet Oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)

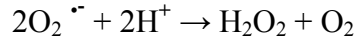
Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde ROT'leri arasında yer alan singlet oksijen, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. Delta ve sigma olmak üzere iki tipi mevcuttur. Sigma tipi daha reaktif olduğu için hızla delta tipine dönüşür. Singlet oksijen, oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi süper oksit radikallerinin dismutasyonu ve hidrojen peroksidin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça olduğu tespit edilmiştir. Singlet oksijen, nötrofillerin aktivitesi sırasında ve O<sub>2</sub><sup>•-</sup>'in dismutasyonu sırasında da meydana getirilmektedir (34).

### 2.2.3. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H<sup>+</sup>) ile birleşmesi sonucu meydana gelir.



Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub> oluştururlar.

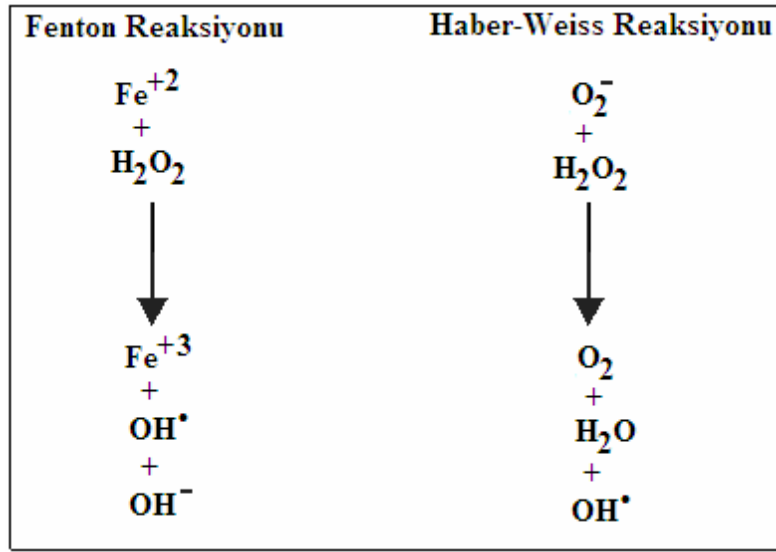


Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir, ya spontan gerçekleşir ya da SOD enzimi tarafından katalizlenir. Spontan dismutasyon pH 4,8'de en hızlıdır, enzimatik dismutasyon ise spontan dismutasyonun nispeten yavaş olduğu nötral ya da alkali pH'ta daha belirgindir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROT) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe<sup>2+</sup> veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalinin (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini (OH<sup>•</sup>) oluşturur. Süperoksit radikalinin lipit çözünürlüğü sınırlı olduğu halde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lipitte çözünürdür. Bu nedenle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kendisinin olduğu yerden uzakta olan Fe<sup>2+</sup> içeren membranlarda hasar oluşturabilir (34). Bu reaktif oksijen türü de bakterilere karşı lökositler savunmasının diğer önemli bir unsurudur (33).

### 2.2.4. Hidroksil (OH<sup>•</sup>)

Hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz

kalması sonucunda da oluşur. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipitler ve şekerler gibi biyomoleküllerin birçoğuyla reaksiyona girebilir. Hidroksil radikali ROT'nin en güçlüsüdür. Oluştugu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri (RS<sup>•</sup>), karbon merkezli organik radikaller (R<sup>•</sup>), organik peroksitler (RCOO<sup>•</sup>) gibi yeni radikallerin oluşmasına neden olarak büyük hasarların meydana gelmesine neden olurlar (34).



Şekil 1. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları sonucunda hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>) oluşumu(23).

### 2.2.5. Hipokloröz Asit (HOCl)

Hipokloröz asit de radikal olmadığı halde ROT arasında yer almaktadır. Fagositik hücrelerce bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktive olan nötrofiller, monositler ve makrofajlar, eozinofiller O<sub>2</sub><sup>•-</sup> üretirler. Özellikle nötrofiller içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla O<sub>2</sub><sup>•-</sup>'in dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksidi klorür iyonuyla birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl dönüştürür (34).

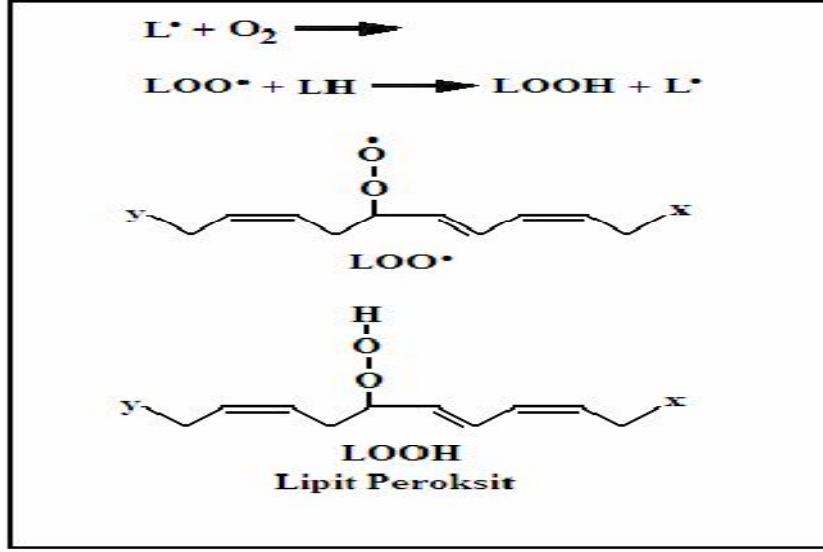
### **2.2.6. Peroksil (ROO<sup>-</sup>)**

Karbon merkezli radikaller hızlı bir şekilde oksijenle reaksiyona girerek peroksil radikallerini oluştururlar. Bu peroksil radikali lipit peroksidasyonunu başlatan radikal olup uzun ömürlüdür (34).

## **2.3.Serbest Oksijen Radikallerinin Makromoleküllere Etkileri**

### **2.3.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkisi**

Lipit peroksidasyonu, membranda bulunan doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipit hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehitler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler ya da başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Lipit peroksidasyonu, biyolojik zararın özelliklerinde ciddi hücre hasarlarına yol açan değişiklikler yaparlar (35,36). Lipit peroksidasyonu çok iyi tanımlanmış bir hücre hasar mekanizması olup doku ve hücrelerde oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılır (31). Lipit peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipit serbest radikalleri (L<sup>•</sup>) ve lipit peroksit radikallerinin (LOO<sup>•</sup>) oluşması, reaktif oksijen türlerinin (ROT) neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna "nonenzimatik lipit peroksidasyonu" denir (37).



*Şekil 2 Lipit peroksidasyonun zincirleme reaksiyonu(26).*

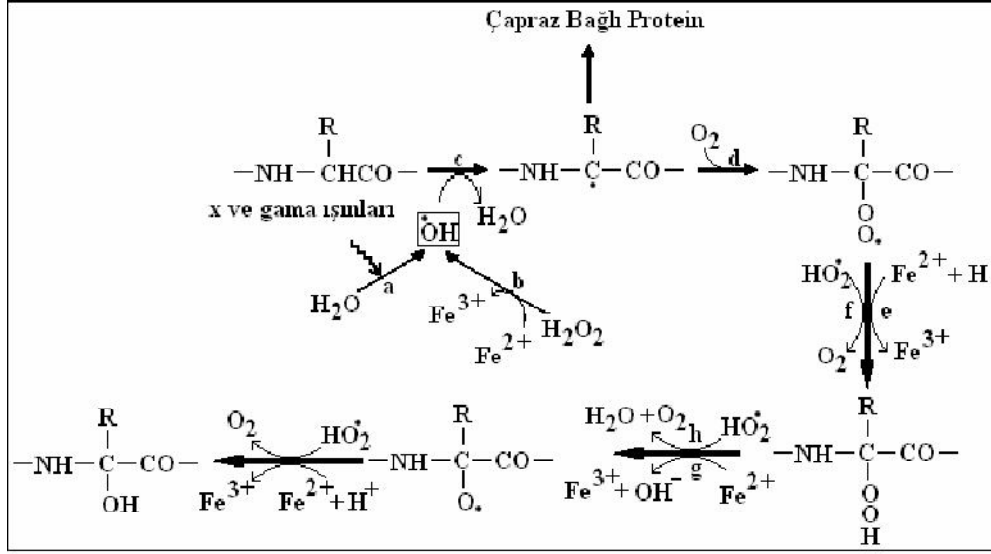
Biyolojik sistemlerde; lipitlerin peroksidasyonu; başlama, yayılma ve sonlanma olmak üzere üç evreden meydana gelmektedir (35). Lipit peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipit radikali niteliği kazanmasıyla başlar. Lipit radikali ( $L^{\bullet}$ ) dayanıksız bir bileşiktir bir dizi değişikliğe uğrar.  $L^{\bullet}$ 'nin moleküler oksijenle ( $O_2$ ) etkileşmesi sonucu lipit peroksit radikalleri ( $LOO^{\bullet}$ ) oluşur.  $LOO^{\bullet}$ , membran yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileride açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit peroksitlerine ( $LOOH$ ) dönüşürler. Böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder. Lipit peroksidasyonu; plazma membranı ve subsellüler organellerin membranlarında serbest radikallerle uyarılabilir ve geçiş metallerinin varlığında artar (36).

Aerobik organizmalarda lipit peroksidasyon ürünleri DNA hasarına ve glutamat taşıyıcıları gibi proteinlerin inhibisyonuna neden olurlar (38). Artan lipit peroksidasyonu ve azalan antioksidan korumalar sonucu epoksitler oluşur. Bunlar hücre içinde nükleofilik merkezler ile spontan olarak reaksiyona girerek DNA, RNA ve proteinlere kovalent olarak bağlanırlar (39). Böylece bu reaksiyonlar sitotoksositeye, alerjiye, mutajeniteye ve karsinogenezise neden olurlar (40).

### 2.3.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağlar ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip olan proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur (37).

Proteinlerin reaktif oksijen türleri veya oksidatif stres ürünleriyle kovalent modifikasyonu sonucu protein oksidasyonu meydana gelir (41). Protein oksidasyonu esas olarak hidroksil radikali ile başlar. Diğer taraftan oksidasyon sürecinde moleküler oksijenle birlikte süperoksit anyon radikali ve süperoksitin protonlanmış formu olan hidroperoksil ( $\text{HO}_2^{\cdot}$ )'in varlığı da gereklidir. Adı geçen bu reaktif oksijen türleri aminoasitlerin yan zincirlerinin oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve protein omurgasının oksidasyonu yolu ile protein fragmentasyonuna neden olurlar (42, 43). Protein moleküllerinde, tiyolasyon, metilasyon ve karbonilasyonu içeren çok farklı şekillerde oksidatif hasar meydana gelebilir. Bunlardan tiyolasyon ile metilasyon dönüşümlüdür ve bu moleküller bazı antioksidan fonksiyonlarda rol oynar (44). Diğer taraftan protein karbonilasyonu oluşumu dönüşümsüzdür ve proteinlerin enzimatik parçalanmasına yol açar. Ayrıca protein karbonillerin oluşumu, serbest radikallerin yağlar, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi diğer hücresel bileşenlerle etkileşmesi sonucunda oluşan ikincil tepkimelerle de gerçekleşir (45).



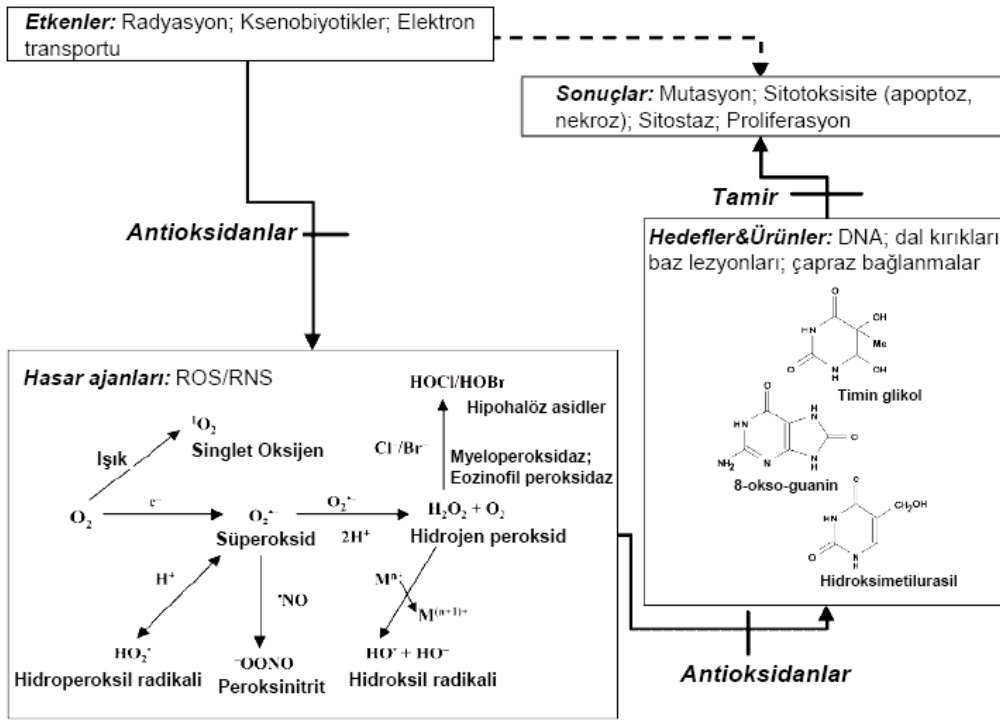
Şekil 3 Protein karbonil oluşum reaksiyonları(31).

Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları; enzim aktivitesinde azalma, protein fonksiyonlarının kaybı, proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir (46, 47).

### 2.3.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere Etkisi

ROT oluşumundaki artma, antioksidan enzim düzeylerindeki azalma ve DNA onarım enzimlerinde defekt olması oksidatif DNA hasarının artmasına yol açmaktadır. Oksidatif hasara bağlı olarak DNA'da tek ve çift zincir kırıkları, abazik alanlar, baz modifikasyonları (baz katılımı, bazlarda yeniden düzenlenme), şeker hasarı meydana gelebilir veya DNA ile proteinler arasında çapraz bağlanma olabilir (48, 49).





Şekil 4 Serbest radikal aracılı oksidatif DNA hasarı(37).

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>) deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) membranlardan kolayca geçer, hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Oksidatif modifikasyon sonucunda DNA antijenik karakter kazanmakta ve antiDNA antikorları oluşmaktadır. Süperoksida (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterirler ki bu oldukça önemli bir etkidir (37).

Mitokondriyal DNA (mtDNA) da oksidatif hasar ve bu hasara bağlı mutasyonların gerçekleşmesi yaşlanma sürecinde önemli rol oynar. ROT'lerin artmasına bağlı olarak mitokondride membran potansiyeli azalır, ATP sentezinde azalma olur, potansiyel toksisitesi olan Ca<sup>+2</sup> iyonlarının tutulumu azalır. Oksidatif strese bağlı olarak, mutasyonel yük artarken koruyucu ve onarıcı proteinlerin azalması veya zarar görmesi mitokondrilerin hasar ve mutasyonunu artırır. Bunun sonucunda da hücre yaşlanma hızlanır (40).

#### **2.3.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi**

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerinde de önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda hidrojen peroksit, peroksitler ve oksoaldehitler meydana gelir, bunlar çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Diyabet ya da diyabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psöriyazis, romatit artrit, Behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir (37).

#### **2.4. Serbest Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları**

Canlılarda ROT oluşumunu ve ROT'nin meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizması vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler.

Endojen antioksidanlar, enzimatik olmayan ve enzimatik antioksidanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar (37). Endojen enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar hem ROT'nin zararsız metabolitlere dönüştürülmesi hem de normal hücrel metabolizmanın ve fonksiyonların korunması ve devamlılığında önemlidirler (51).

Endojen Antioksidanlar		
Enzimatik antioksidanlar	Enzimatik olmayan antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz	Melatonin	
Glutasyon peroksidaz	Seruloplazmin	
Glutasyon S-Transferazlar	Transferin	Miyoglobin
Katalaz	Hemoglobin	Ferritin
Mitokondriyal sitokromoksidazlar	Bilirubin	Glutasyon
Hidroperoksidazlar	Sistein	Metiyonin
	Ürat	Laktoferrin
	Albümin	Vitaminler

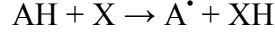
**Çizelge2.2** Hücrede bulunan bazı endojen antioksidanlar.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler;

1. Toplayıcı Etki; Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirmez. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
2. Bastırıcı Etki; Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürmez. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
3. Zincir Kırıcı Etki; Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
4. Onarıcı Etki; Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılmasıdır.

### 2.4.1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanların etkisi aşağıdaki reaksiyonda olduğu gibi antioksidan (X) moleküle bir elektron veya hidrojen transferi şeklinde özetlenebilir.



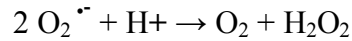
Oluşan antioksidan türevli radikal, bir redüksiyon potansiyeline sahip olmakla beraber kimyasal reaktivitesi çok düşüktür. Böylece yüksek reaktiviteye sahip oksidanın zararlı etkisi azaltılmış olur (37). Enzimatik olmayan antioksidantlardan en önemlileri; E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol), C vitamini (askorbik asit), glutatyon (GSH), melatonin, seruloplazmin, transferin, miyogloblin, hemogloblin, ferritin, bilirubin, sistein, metiyonin, laktoferrin, albümindir (52).

### 2.4.2. Enzimatik Antioksidanlar

Bir diğer antioksidan savunma sistemi, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S transferaz (GST) gibi antioksidan enzimlerle olan savunmadır. Bu enzimler dioksijen redüksiyonu ara bileşiklerini veya oksidan zararına uğramış bileşikleri doğrudan uzaklaştırabilirler.

#### 2.4.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD (EC 1.15.1.1)  $O_2^{\bullet -}$  radikalinin  $O_2$  ve  $H_2O_2$  dismutasyonunu katalizleyerek oksidatif zarara karşı koruma sağlar(42).



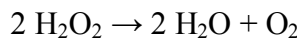
Bu dismutasyon reaksiyonu süperoksit radikalinin anyon ve katyon formlarının eşit oranlarda bulunduğu pH 4,8'de kendiliğinden meydana gelir. Ancak fizyolojik şartlarda yani pH 7,35–7,45 arasında bu reaksiyon çok daha yavaş olur. SOD enzimi varlığında ve pH'ın 7,4 olduğu koşullarda bu reaksiyon dört kat daha hızlı gerçekleşir (54).

SOD enzimi, aktif merkezinde bulunan metale göre bakır-çinko (CuZnSOD), mangan (MnSOD) ve demir (FeSOD) olmak üzere üç çeşittir. MnSOD ve CuZnSOD hayvanlarda baskın olan formlardır. FeSOD ise bazı alg ve yüksek yapılı bitkilerde bulunmasına karşın genellikle prokaryotlarda bulunan formdur. SOD aktivitesi omurgasızlarda büyük ölçüde değişkenlik gösterir, fakat omurgalılara göre aktivitesi genellikle daha düşüktür. Omurgasız CuZnSOD formu memelilerdekine benzer özellik gösterir, amfibilerdeki SOD beyinde en yüksek aktivite ve akciğerde en düşük aktiviteyi gösterirken yüksek omurgalılarda karaciğerde aktivite genellikle en yüksektir. CuZnSOD 32 kDa ortalama ağırlığa sahip dimerik bir proteindir. Birçok izoenzimi olduğu rapor edilmiştir. MnSOD 86 kDa ortalama moleküler ağırlığa sahip tetramerik bir proteindir. FeSOD 41 kDa moleküler ağırlıklı dimer bir proteindir. Metal kofaktörleri olmaksızın bütün SOD formları  $O_2^{\bullet -}$  dismutasyonunda benzer mekanizma ve hızı paylaşırlar (52).

SOD'ın fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanımını olan dokularda fazladır ve doku parsiyel oksijen basıncı ( $pO_2$ ) artışıyla artar. SOD'ın ekstrasellüler aktivitesi yoktur (37).

#### **2.4.2.2. Katalaz (CAT)**

CAT (EC 1.11.1.6) hücrel metabolizma sonucu oluşan  $H_2O_2$ 'in moleküler oksijene ve suya dönüşmesini katalizler (37).



Enzim genellikle bir birinin aynısı olan dört alt ünitelerden oluşan yaklaşık 240 kDa ağırlığında tetramerik bir moleküldür. Aerobik hücrelerin çoğunda bulunur. CAT genellikle  $H_2O_2$  üreten enzimlerin lokalize olduğu peroksizomlarda bulunmaktadır. Balıklarda, amfibilerde ve memelilerde karaciğer, böbrek, kalp ve beyinde yüksekten en düşüğe doğru aktivite dağılımını göstermektedir. CAT kan plazması, dokular arası sıvı, sinoviyal sıvı gibi hemen hiçbir ekstrasellüler sıvıda bulunmaz (52).

CAT hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan  $H_2O_2$ 'i hidroksil ( $OH^*$ ) serbest radikali oluşumunu önlemek için ortamdan kaldırır (37).

## **2.5. Oksidatif Stres**

Hücrede oluşan ROT'ü antioksidan savunma sistemleri olarak bilinen mekanizmalarla ortadan kaldırılmaktadır. Normal fizyolojik koşullarda vücutta oluşabilen ROT (süperoksit, hidroksil, hidrojen peroksit vb.) ve antioksidan özellikteki enzimler denge halinde çalışmakta ve herhangi bir sağlık sorunu ortaya çıkmamaktadır. Yaşamın devamı için her iki sisteme de ihtiyaç vardır. Ancak endojen ya da eksojen nedenlerle bu dengenin oksidanlar lehine bozulması oksidatif stresin oluşumuna yol açmaktadır (34). Oksidatif strese neden olan tehlikeli reaktif oksijen türleri çeşitli biyolojik moleküllerle kolaylıkla etkileşebilmektedir. Bu etkileşimin şiddetli olması, hücre ya da dokularda hasara neden olmaktadır (49,50).

### **2.5.1. Toksikolojide Oksidatif Stres**

Birçok kirlenici hücre içi ROT miktarını arttırarak, DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve enzim inhibisyonu gibi toksisitede önemli rol oynayan oksidatif stres biyomarkerlerinin oluşmasına neden olur. Deney hayvanlarında serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif stresi ölçmek için çeşitli biyomarkerler kullanılır. Kullanılan biyomarkerler, radikaller tarafından oluşturulan birincil ya da ikincil ürünler olabildiği gibi, radikallere karşı koyan antioksidan savunma sistemi elemanları olabilir(5). Pek çok çevresel kirlenicinin toksisite mekanizmasında serbest radikallerin rol oynadığı tespit edilmiş, bu nedenle oksidatif stres ekotoksikolojik çalışmalarda yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır (55).

### **2.5.2. İnsan Vucudunda Oksidatif/Antioksidatif Durum**

Oksidatif stres; prooksidan/antioksidan balansın oksidanların lehine artması olarak tanımlanmaktadır. Reaktif oksijen türleri oldukça güçlü prooksidanlardır. Malarya enfeksiyonunda reaktif oksijen türleri iki ayrı mekanizma ile oluşur. Bunlardan birincisi intrasellüler parazit ile hemoglobinin yıkımı sonucu reaktif oksijen türü oluşumudur. Burada

demir globinden ayrıldıktan sonra Fe<sup>2+</sup> formundan Fe<sup>3+</sup> formuna okside olarak elektron açığa çıkarırlar. Açığa çıkan bu elektronlar oksijen molekülleri ile reaksiyona girerek reaktif oksijen türlerini oluştururlar. İkinci mekanizma ise immün cevabın aktivasyonu sonucunda fagositler üzerinde respiratory burst ( büyük patlama) ve reaktif oksijen türlerini artıran TNF- $\alpha$  ve İNF- $\gamma$  sitokinleri oluşturmasıdır (57).

Malarya parazitinin geliştiği eritrositlerde bazı metabolik değişiklikler meydana geldiğinden başta hidrojen peroksit ve süperoksit anyonları olmak üzere oldukça yüksek oranlarda serbest radikal oluşturma potansiyeline sahiptir (58). İntrasellüler ve ekstrasellüler parazitler fagositozla öldürülürler (59). Kan monositleri, doku makrofajları (kupfer hücreleri, alveolar makrofajlar) gibi fagositik hücreler ve nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granülositler immunojenik veya özel bir uyarı ile uyarıldıktan sonra lizozomlarını dışarı vermeye başlarlar. Reaktif oksijen oluşumunun yanısıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama (respiratory burst) olur. Fagosite edilmiş, sıtma parazitleri oksidan ajanlar tarafından öldürülür. Solunum yolu ile patlamanın (respiratory burst ) amacı oksidan ajanlar sağlamaktır. Oluşan oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanısıra myeloperoksidaz sistemine de etki eder. Hidrojen peroksit ve hipoklorit kombinasyonu myeloperoksidaz sistemine etkiyerek de güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterir. Bu radikaller memeli bakteri ve parazitlerine karşı sitotoksik etkiye sahip oksidan ajanlardır.

Oksidatif hasarı önlemek için dokular glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi çok sayıda antioksidan enzim içerirler (60). Bunun yanı sıra meydana gelebilecek muhtemel peroksidasyonun önlenmesi için oto katalitik zincir reaksiyonlarında yer alan lipit serbest radikallerini tutan maddelerde bulunmaktadır. Transferrin ve seruloplazmin majör koruyucu antioksidanlar olarak işlev görürken, askorbat, urat, protein sülfhidril,  $\alpha$ -tokoferol ve karotenler oksidanların zincirlerini kıran antioksidanlar şeklinde işlev görürler (61).

Reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonu Plazmodyum paraziti ile enfekte eritrositler için bir tehdittir. Parazitin hızla büyümesi ve çoğalması sonucunda büyük miktarlarda oksidan maddeler meydana gelmektedir. Oksidatif stresin meydana gelmesinin temelinde hemoglobinin parazit tarafından dejenerasyonu yatmaktadır.

Hemoglobin plazmodyum paraziti için en önemli amino asit kaynağıdır. Bu amino asitlerin yıkılması ile ortamın asitliği artmakta, toksik serbest demir (feri/ferroprotoporfirin IX: Fp) ve reaktif oksijen türleri meydana gelmektedir (62). Fp'nin büyük çoğunluğu haemozin veya malaraya pigmenti olarak bilinen kristal bir forma dönüşür (63). Alternatif detoksifikasyon yolları Fp dejenerasyonu, glutatyon ile reaksiyon ve Fp-bağlı proteinleri ile Fp detoksifikasyonuna neden olabilmektedir (64). Çok az miktarlardaki Fp bile nötralize duruma geçerken protein ve membranlarda redoks hasarlar, hücrelerde enzim inhibisyonu ve eritrositlerin parçalanmalarına neden olmaktadır (65). Bu metabolik oksidatif stres ürünlerinin haricinde bağışıklık sistemi tarafından da bu parazitlere karşı oksidatif stres ürünleri oluşturulmaktadır.

### **2.5.3. Oksidatif Stres, Ölçüm ve Değerlendirme**

Serbest radikaller vücudumuzda besinlerin oksijen kullanarak enerjiye çevrilmesi sırasında oluşan metabolik yan ürünlerdir. Serbest radikaller (reaktif oksijen türleri) kararsız bir yapıdadırlar ve kararlı hale gelmek için hücrelere saldırarak hasar oluştururlar. Antioksidanlar ise serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücreleri bu hasarlardan korurlar. Serbest radikaller ve antioksidanlar vücutta dengede olmalıdır ki, antioksidanlar serbest radikalleri etkisiz hale getirebilsin. Eğer serbest radikal seviyesi, antioksidan seviyesine göre artar ise serbest radikaller hücrelerde oksidatif hasarlara yol açar ve bu duruma oksidatif stres denir (66).

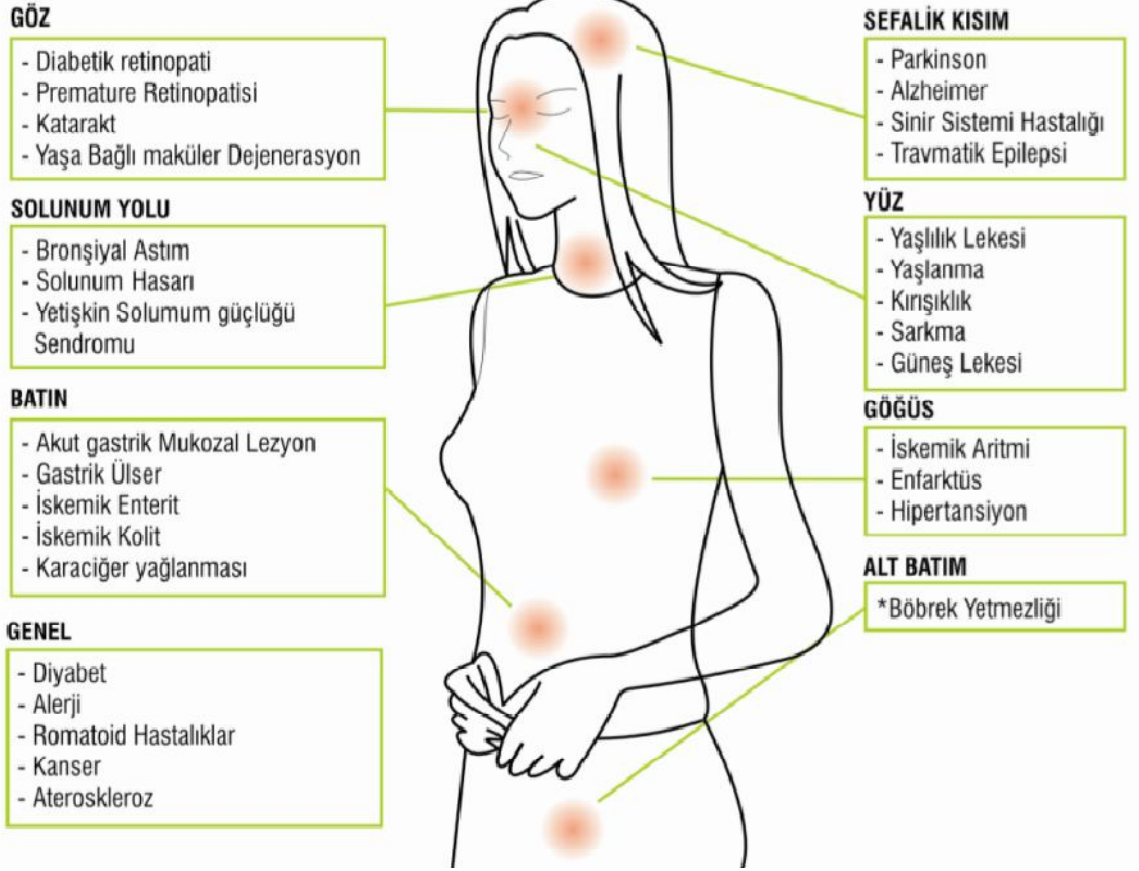
Oksidatif stres bir hastalık değildir, ancak hastalığa yol açabilecek ya da hızlandıracak bir etkidir. Genellikle koruyucu sağlık önlemleri için önemli bir uyarandır. Fakat tehlikeli olan oksidatif stresin herhangi bir semptomunun olmamasıdır. Bu durum tespit edilmez ve düzeltilmezse ciddi sağlık sorunlarına ve hastalıklara neden olabilir. Toksin ya da patojenlere maruz kalmak, zayıf antioksidan savunma sistemi, düzensiz yaşam şekli, aşırı yoğun egzersiz ve günlük metabolik ürünler, oksidatif strese neden olur. Bazı durumlarda oksidatif stres seviyesini normale göre daha fazla artırır (66).



Örneğin;

- ✓ Gebelik
- ✓ Hormon replasman tedavisi
- ✓ Doğum kontrol hapları
- ✓ Ağır egzersizler sonrasında
- ✓ Güneş ışınlarına fazla maruz kalınması
- ✓ Aşırı alkol tüketiminde
- ✓ Elektromanyetik radyasyon
- ✓ Sigara kullanımı
- ✓ Hava Kirliliği
- ✓ Kötü Beslenme
- ✓ Kronik inflamasyonlar

## SERBEST RADİKALLERİN NEDEN OLDUĞU HASTALIKLARIN BAZILARI



Şekil 4. Serbest radikallerin neden olduğu bazı hastalıklar.

### 2.5.4. Diyet ve Destek Besinlerle Serbest Radikalleri Azaltıp, Antioksidanları Arttırmak

Vücutta antioksidan defans sistemini etkileyen birçok faktör vardır. Bireysel genetik yapı ve vücudun maruz kaldığı çevresel etmenler. Maalesef modern yaşam şekli, çevre kirliliği, stres, düşük kaliteli besinler, dengesiz beslenme, daha çok serbest radikale maruz kalmamıza neden oluyor. Fizyolojik olarak üretilen antioksidanlar bu kadar serbest radikali nötralize etmek için yeterli olmayabiliyor. Antioksidanlardan zengin besin seçimleriyle beslenme düzenlenerek vücudun serbest radikallere karşı savunması artırılabilir. Meyve,

sebze ve yağlı tohumları içeren bir beslenme düzeni; vitamin, antioksidan ve diğer antioksidan karakterindeki mikro besin öğeleri için iyi bir egzojen kaynak oluşturur ve oksidatif strese karşı hücrel cevabı artırır. Örneğin C vitamini gibi esansiyel vitaminler birçok farklı reaktif oksijen türleri üzerinde azaltıcı ve baskılayıcı etkisi vardır ve insan vücudunda sentezlenemez. Epidemiyolojik çalışmalar, antioksidanlardan zengin beslenen insanların, sağlıklarının daha iyi olduğunu desteklemektedir. Dünya sağlık örgütü (WHO) epidemiyolojik çalışmaların sonucu, günlük en az 400gr meyve ve sebze tüketimini önermektedir (66).

Hücrenin her parçası farklı bir antioksidan tarafından korunur. Bu nedenle çeşitli beslenmek önemlidir. Örneğin; serbest radikallere karşı, bazı besin öğeleri hücrenin içinde, bazıları hücre duvarının dışında, bazıları hücreyi çevreleyen kanda ve bazıları da hücre membranlarında savunma yapar. Bu nedenle hem egzojen hem de endojen antioksidanlara ihtiyacımız vardır.

### **3.MATERYAL ve METOD**

#### **3.1. Hasta seçimi**

Çalışmamız Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Merkezine, hastaları için trombosit aferezi vermeye gelen, herhangi bir sağlık problemi bulunmayan gönüllü 41 donör üzerinde yapıldı.

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Merkezine gönüllü olarak başvuran sağlıklı donörler, donör sorgulama ve bilgilendirme formu okutularak dolduruldu. Donör sorgulama formunda bir sorun görünmeyen donörler den hemogram ve jelli biyokimya tüplerine kanları alındı. Tam kan sayımı yapılan donörlerin serolojik testleri çalışılarak Hepatit B, Hepatit C, HIV ve VDRL testlerine bakıldı. Sonuçları uygun ve negatif olan 41 donörlerden çalışma kanları temin edildi. Aferez işlemi öncesi ve sonrası venöz kanları alınarak serumları daha sonra çalışılmak üzere ependorflara alınarak -80 °C de derin dondurucuda saklandı (66-67). Çalışma Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı. Çalışmaya katılan tüm olgulardan bilgilendirilmiş rıza formu alındı.

#### **3.2. Örneklerin Hazırlanması ve Çalışılması**

Kan merkezine hastaları için trombosit aferezine başvuran donörler den, tam kan sayımı uygun olan ve serolojik testleri (Hepatit B, Hepatit C, HIV ve VDRL) negatif olan 41 dönör çalışmaya dahil edildi.

Trombosit aferez işlemi başlamadan önce donörlerden 5 cc jelli biyokimya tüpüne antekubital venöz kanları alındı. Trombosit aferez işlemine tabi tutulan donörlerden, işlem sonrası diğer kollarından 5 cc jelli biyokimya tüpüne antekubital venöz kanları alındı. Alınan örnekler 10 dk dinlendikten sonra 4000 rpm de santrifüj edildi. Serumları ayrılan kanların

serumları ependorflara alınarak daha sonra oksidan-antioksidan değerleri çalışılmak üzere -80 °C de derin dondurucuda saklandı.

### **3.3.Kullanılan Cihaz ve Aletler:**

Trombosit aferez cihazı

Kan Sayım Cihazı

Serolojik testler Otoanalizörü

Aferez Seti

Otoanalizör (Abbott Aeroset)

Cobas İntegra 800 Otoanalizör (Roche)

Santrifüj (Universal 30 RF)

Vorteks (DCA-VF-2)

Otomatik pipetler (Gilson)

Visible spektrofotometre (Jenway 6800 UV/VİS)

Hassas terazi (Sartorius)

Su banyosu (Nüve BM 402)

Derin dondurucu (-80 °C ) (Uğur)

pH metre (Hanna)

### **3.4.Total Antioksidan Seviye (TAS)**

Örneklerin total antioksidan seviye (TAS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS\* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi (69). Dokulardaki TAS sonuçları Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi.

### 3.5.Total Oksidant Seviye (TOS)

Örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitleler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyona kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equivalent/ L olarak ifade edildi (70).

### 3.6.Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Oksidatif Stresin bir göstergesi olarak gösterilen Oksidatif Stres İndeksi (OSİ), Toplam Oksidan Status/Seviye (TOS) düzeylerinin Toplam Antioksidan Status/Seviye (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanırken TAS düzeyleri 10 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir (67). Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$\text{OSİ} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.}}{\text{TAS, mmol trolox Equiv. / L. X 10}}$$

### 3.7.İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel hesaplamalar Windows SPSS 11.0 software programı kullanılarak yapıldı. İki grup arasında farklılıklar independent t test ve parametreler arası ilişki pearson korelasyon analizi kullanılarak karşılaştırıldı. Kantitatif değerler ortalama  $\pm$  standart sapma ( $X \pm SS$ ) olarak belirtildi.

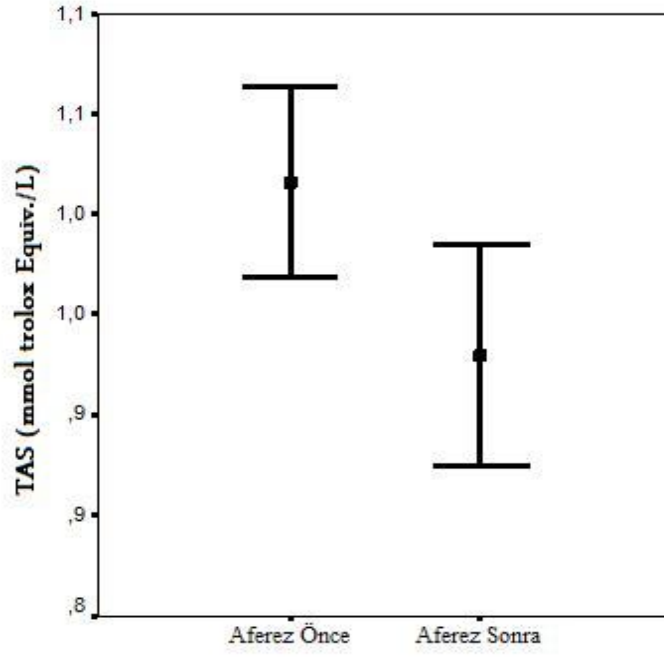
## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Araştırma Bulguları

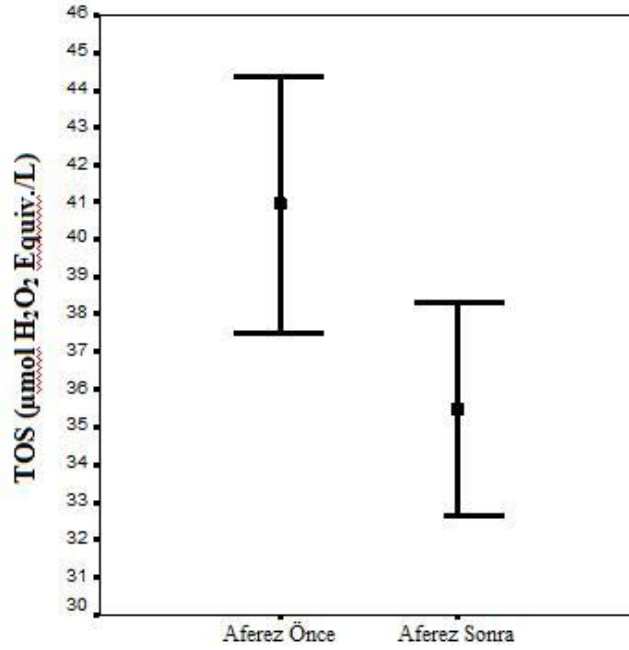
Çalışmamıza dahil edilen hastaların boy, kilo, cinsiyet, bmi gibi demografik verilerinde herhangi bir istatistik fark bulunamadı. Tablo 1’de görüldüğü gibi aferez öncesi serum örneklerinde Total Antioksidan Status (TAS) düzeyi ve Toplam Oksidan Status (TOS) düzeyi aferez sonrası serum örnekleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşmüştür (sırasıyla  $p=0,018$ ,  $p=0,016$ , Şekil 6,7), Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) değerlerinde ise aferez işlemi öncesi ve sonrası arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ( $p>0,05$ , Şekil 8).

**Tablo 1.** Aferez öncesi ve aferez sonrası alınan kanların oksidatif ve antioksidatif Parametreleri

Parametreler	Aferez Öncesi (n=41)	Aferez Sonrası (n=41)	<i>p</i>
TAS, mmol trolox Equiv./L	1,01 ± 0,14	0,92 ± 0,17	0,018
TOS, µmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Equiv./L	40,93 ± 10,73	35,49 ± 8,73	0,016
OSİ, Arbitrary Units	4,11 ± 1,28	4,04 ± 1,34	0,814

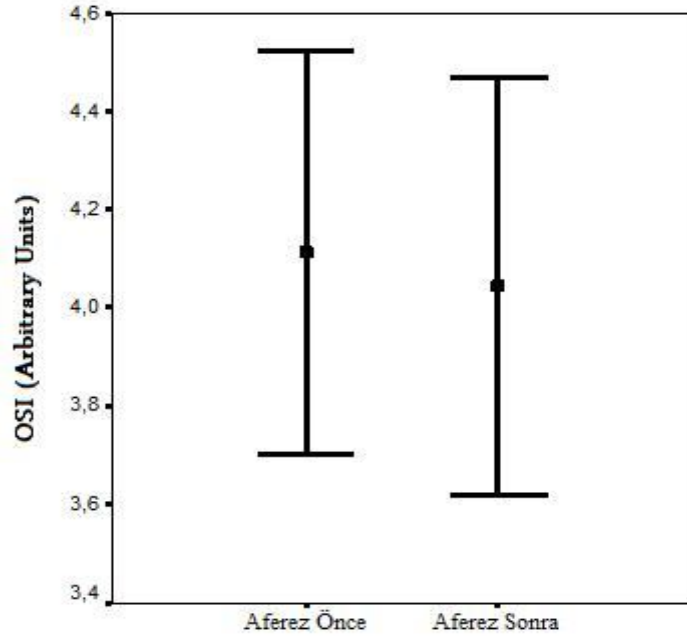


**Şekil 6.** Trombosit aferez öncesi ve sonrası donörlerin serum örneklerinin Toplam Antioksidan Durumu (TAS) arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları.



**Şekil 7.** Trombosit aferez öncesi ve sonrası donörlerin serum örneklerinin toplam Oksidan Durum (TOS) arasındaki fark, dağılım ve Standart sapmaları





**Şekil 8.** Trombosit aferez öncesi ve sonrası donörlerin serum örneklerinin Oksidatif stres indeksi (OSİ) değerleri arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları

## 5. TARTIŞMA

Kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu günümüzde özellikle halen hemovijilans bakımından son derece dikkatli bir hassasiyet gerektiren bir husustur. Trombosit aferez sistemi trombositlerin transfüzyonunda bu hassasiyetin sağlanması bakımından atılmış önemli bir adımdır. Trombosit aferez işlemi uygulanması açısından kolay, efektif ve güvenli bir sistem olup random trombosit transferine göre elde edilen sonuç itibarıyla de çok daha kazançlı bir kan ürünü transfüzyonu yoludur. Fakat işlemin uzun sürmesi bakımından donör için yatağa bağlayan stresli ve vakit alan bir işlemdir. Bu açıdan yola çıkarak çalışmamızda trombosit aferezine müdahil olan sağlıklı donörlerde oksidatif stres varlığını araştırdık. Bilindiği üzere oksidatif stres sağlıklı insan vücudunda var olan oksidan-antioksidan dengenin oksidanlar lehine bozulması neticesi ortaya çıkan ve eğer baş edilemezse çeşitli hastalık durumlarına neden olabilen sakıncalı bir durumdur. Bu çalışmamızda donörlerimizde total antioksidan kapasiteninde oksidan kapasiteninde anlamlı düzeyde azaldığını oksidatif stres indeksinde ise anlamlı bir farklılık olmadığını tespit ettik. Bu durumda trombosit aferez işleminin insan vücudunda oksidatif stres oluşturmadığını söyleyebiliriz. Fakat antioksidanların da azalmış olması ortamda oksidatif stresin var olduğunu ve vücudun antioksidan sistemi tarafından kontrol altına alındığını göstermektedir. Nitekim Joswiak ve Jasnowska yaptıkları bir çalışmada lipid peroksidasyonun kan veren yaşlılarda arttığını, antioksidan enzimlerden katalaz enzim seviyesinin ise azaldığını bildirmişlerdir. (71).

Yapılan başka bir araştırmada ise uygun koşullarda depolanan kanlarında lipid peroksidasyonunun arttığı, glutatyon miktarının düştüğü belirlenmiştir (72).

Bunun yanı sıra Öğüt ve arkadaşlarının çift doz eritrosit bağışçılığı üzerinde yaptığı bir çalışmada işlem öncesi ve işlem sonrası MDA ve GSH seviyeleri karşılaştırılmış ancak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bilindiği gibi MDA lipidlerin oksidasyonunu gösteren önemli bir parametredir ve lipitlerde oksidatif stresten ilk etapta etkilenen moleküllerimizdir.

Eritrosit bağışçılarında değişmemiş olması bu işlemin oluşturduğu oksidatif stresin en azından şiddetli bir oksidatif hasar oluşturacak boyutta olmadığını göstermektedir.

McLeod ve arkadaşları 19611 terapötük aferez işlemin 482'sinde 600 (% 2.18) yan etki saptamışlardır. Bu çalışmada en sık karşılaşılan komplikasyon venöz giriş yerindeki ağrı ve hematoma olurken (% 1.15), bunu sitrata bağlı bulantı ve kusma (% 0.87), vazovagal bulantı ve kusma (% 0.87), senkop ve/veya nöbet (%0.39), titreme (% 0.31), tetani (% 0.09) izlemiştir (9).

Hayati tehlike yaratan bir yan etki ise gözlenmemiştir. McLeod ve arkadaşları bir diğer çalışmada, terapötük aferez işlemi yapılan 3429 işlemin 163'ünde 242 (% 4.75) yan etki saptamışlardır. Yan etkiler arasında ilk sırayı transfüzyon reaksiyonları (% 1.6), bunu sırası ile sitrata bağlı yan etkiler (% 1.2), hipotansiyon (% 1) ve vazovagal semptomlar (% 0.5) izlemiştir. İşlemler sırasında 3 ölüm bildirilmiştir (8).

Amicus versiyon 2.13 ile yapılan bir başka çalışmada trombosit toplama etkinliği çift iğneli işlem için %70, tek iğneli işlem için %67 bulunmuştur (73). Bu veriler çalışma hedefi olarak belirlediğimiz trombosit aferez işlemimizin etkinliğini göstermek açısından önem arz etmektedir.

Amicus versiyon 2.13 cihazı (çift iğneli) ile Spectra LRS versiyon 5 (çift iğneli) cihazının işlem süreleri karşılaştırıldığında Amicus cihazının işlem süresinin ortalama 70 dakika, Spectra LRS cihazının işlem süresinin ortalama 93 dakika olduğu görülmektedir. Amicus cihazı, Spectra LRS cihazına göre 20 ile 23 dakika daha hızlı işlem gerçekleştirmektedir (73).

Trima V4 (tek iğneli) ve Cobe Spectra (tek iğneli) ile yapılan bir başka çalışmada da Trima V4'ün işlem süresinin ortalama 75 dakika Cobe Spectra'nın ortalama 108 dakika olduğu saptanmıştır (74).

Avrupa kalite kontrol standartlarına göre lökosit deplesyonu önemli bir kriter olup elde edilen ürünlerin % 90'unda her  $2 \times 10^{11}$  trombosit miktarı için  $< 1 \times 10^6$  olmalıdır ve bu kalite kontrolü ayda en az 10 ünite veya tüm ürünlerin %1'inde uygulanmalıdır.

Spectra LRS version 5.1 ve LRS Turbo versiyon 7.0 ile yapılan bir başka çalışmada WBC sayısı incelenmiştir. Versiyon 5.1 ile gerçekleştirilen 163 aferez işleminin (%99.4) 162'sinin lökosit sayımıyla, version 7.0 ile gerçekleştirilen 69 aferez işleminin (%97.2) 67'sinin lökosit sayımı  $1 \times 10^6$  'nın altında çıkmıştır (76).

Spectra LRS versiyon 5.1 ile gerçekleştirilen 163 işlemin (%9.2) 15'inde  $> 6.5 \times 10^{11}$  trombosit ürünü elde edilirken LRS Turbo versiyon 7.0 ile gerçekleştirilen 69 işlemin (%28.9) 20'sinde aynı şekilde ürün elde edilmiştir (76).

İşlem öncesine göre, işlem sonrası tam kan bağışçılarında HB, HCT ve PLT değerleri anlamlı azalmıştır ( $p < 0.05$ ). Bu kan ve kan ürünlerinin bağışı sonrası beklenen bir tablodur. Yapılan işlemin hafif bir oksidatif stres oluşturarak antioksidanları stümüle etmesi de belki kan tablosundaki geçici değişiklik gibi beklenen bir klinik neticedir.

## 6. SONUÇ

Sonuç olarak; kan ve kan ürünlerinin klinik olarak hayati önemini her zaman korumaktadır. Kan ve kan ürünlerinin transfüzyonuna, tedavi edici başka seçeneğin olmadığı kazalar, savaş ve afetler, cerrahi müdahaleler, hemofili, lösemi, aplastik anemi, talasemi gibi birçok ciddi kronik hastalıklarda ihtiyaç duyulmaktadır. Vücutta kan tablosunda geçici olarak oluşturduğu olumsuz tablo kısa sürede vücudun kendi yerine koyma sistemleri tarafından düzeltilmektedir. Hatta bu yerine koyma sistemlerinin (retiküloendotelyal sistem) uyarılarak aktivitelerinin artmasına neden olduğu içinde ayrıca yararlı bir işlemdir. Aynen kan tablosunda olduğu gibi bazı antioksidanlarıda tüketerek bu sistemlerimizde aktif hale gelmesine neden olmaktadır. Dolayısıyla bulgularımız ışığında kan ve kan ürünleri bağışının vücudumuzun koruyucu sistemlerinden olan antioksidan sistemleri uyararak aktif hale gelmelerine vesile olduğunu söyleyebiliriz.

Her yıl düzenli olarak yapılan kan bağışının kişiye kemik iliğinin yağlanmasını önleme, kan yapımını canlı tutma, kandaki yağ oranını düşürme, kişinin kendisini daha canlı ve dinç hissetmesini sağlama gibi sayısız faydaları yanında, yapay olarak üretilemeyen kanın bağışı ile de birçok durumda hayat kurtarma gibi paha biçilemez bir yararı vardır. Bu veriler ışığında kan bağışının olumsuz bir etkisinin olmadığını aksine kan yapıcı ve koruyucu sistemlerimizi aktif hale getirme gibi faydaları olduğunun bir kez daha vurgulandığı kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Jeffrey McCullough. Transfusion Medicine. Second Edition. Elsevier Churchill Livingstone, 2005
2. McLeod BC, Price TH, Weinstein R. Apheresis: Principles and Practice, 2nd Edition Bethesda, MD:AABB Press,2003
3. Hoffman R, Benz JE, Shattil JS, Furie B, Cohen JH, Silberstein EL, McGlave P. Hematology Basic Principles and Practice. Fourth Edition, Elsevier Churchill Livingstone, 2005
4. Gilcher RO. Apheresis: principles and technology of hemapheresis.In: Simon TL, Snyder EL, Stowell CP, StraussRG,editors. Rossi's principles of transfusion medicine. 3rd ed.Philadelphia (PA): Lippincott, Williams &Wilkins; 2002.p.648-658.
5. Popovsky MA. Multicomponent apheresis blood collection in the United States: current status and future directions. Transfus Apher Sci 2005; 32: 299-304.
6. 4. Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbi Kursu (II), Kurs Kitabı, 15-20 Mart 1998
7. Norda R, Berseus O, Stegmayr B. Adverse events and problems in therapeutic hemapheresis. A report from the Swedish registry. Transfus Apheresis Sci 2001;25:33-41.
8. McLeod BC, Sniecinski I, Ciavarella D, Owen H, Price TH, Randels MJ, Smith JW. Frequency of immediate adverse effects associated with therapeutic apheresis. Transfusion 1999; 39:282-8.
9. McLeod BC, Price TH, Owen H, Ciavarella D, Sniecinski I, Randels MJ, et al. Frequency of immediate adverse effects associated with apheresis donation. Transfusion 1998;38:938-43.
10. Arat M. Hemaferéz komplikasyonları. 1. Hemaferéz Atölye Çalışması, Osmangazi Üniversitesi, 3-4 Mayıs 2002, Eskişehir

11. Szczepiorkowski ZM, Shaz BH, Bandarenko N, Winters JL. The new approach to assignment of AFSA Categories- introduction to the fourth special issue: Clinical applications of therapeutic apheresis. *J of Clin Apher* ,2007;22(3):96-105
12. *Apheresis, Principles and Practice*. Ed: Bruce C. McLeod, 2nd Edition, AABB Press, Bethesda, Maryland, 2003.
13. Winters JL. Complications of donor apheresis. *J Clin Apher* 2006; 21:1 32-41.
14. I. Hemaferezis Atölye Çalışılması, Eğitim Kitabı, Eskişehir, 3-4 Mayıs 2002.
15. 15. Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbi Kursu (II), Kurs Kitabı, 15-20 Mart 1998
16. Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, et al: Comparison of plasma exchange with plasma Infusion In the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med* 1991; 325:393 -397.
17. *Apheresis: Principles and Practice*. 1sted. Maryland: AABB ;*Turk J Haematol* 2003;20(1)
18. Pham-huy LA, He H, Pham-huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*. 2008;4(2):89-96.
19. Kose K, Yazici C, Cambay N, et al: Lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzymes in patients with Behcet's disease. *Tohoku J Exp Med* 2002;197:9-16
20. Orem A, Efe H, Deger O, et al: Relationship between lipid peroxidation and disease activity in patients with Behcet's disease. *J Dermatol Sci* 1997;16:11-16.
21. Orem A, Yandi YE, Vanizor B, et al: The evaluation of autoantibodies against oxidatively modified low-density lipoprotein (LDL), susceptibility of LDL to oxidation, serum lipids and lipid hydroperoxide levels, total antioxidant status, antioxidant enzyme activities, and endothelial dysfunction in patients with Behcet's disease. *Clin Biochem* 2002;35:217-224.
22. Saglam K, Serce AF, Yilmaz MI, et al: Trace elements and antioxidant enzymes in Behcet's disease. *Rheumatol Int* 2002;22:93-96.
23. Dogan P, Tanrikulu G, Soyuer U, et al: Oxidative enzymes of polymorphonuclear leucocytes and plasma fibrinogen, ceruloplasmin, and copper levels in Behcet's disease. *Clin Biochem* 1994;27:413-418.
24. Petruzelli S, Hietanen E, Bartsch H. Pulmonary lipid in cigarette smokers and lung cancer pateinets. *Chest* 1990; 98: 930-935.

25. Hill MF, Singal PK. Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure subsequent to myocardial infarction in rats. *Am J Pathol* 1996;148:291-300.
26. Wierusz-Wysocka B, Wysocki H, Byks H, et al. Metabolic control quality and free radical activity in diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 1995; 27: 193-197.
27. Ceriello A, Bortolotti N, Crescentini A, et al. Antioxidant defences are reduced during the oral glucose tolerance test in normal and non-insulin-dependent diabetic subjects. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 329-333.
28. Caramori G, Papi A. Oxidants and asthma. *Thorax* 2004;59:170-3.
29. Smith LS, Houston M, Anderson J. Increased levels of glutathione in bronchoalveolar lavage fluid from patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1461-4.
30. Halliwell, B. "Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease", *Am. J. Med.*, 1991; 91: 14-21.
31. Akkuş, İ. "Serbest radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri", Mimoza Yayınları. Konya, 1995
32. Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C. "Potential markers of oxidative stress in stroke", *Free Radical Biology&Medicine*, 2005; 39: 841-852.
33. Sözmen, E.Y. "Yaşlanma biyokimyası", In Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y.(Eds) *İnsan biyokimyası*, Palme Yayıncılık, Ankara,2002; pp:665-674.
34. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. " Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease", An overview (Packer, L., Glazer, A.N., Eds.). *Oxygen Radicals in Biological Systems. Methods in Enzymology*, 186, Academic Pres Inc., New York,1990; 1-19.
35. Aleynik, I.S., Leo, A.M., Ma, Y., Aleynik, K.M., Lieber, S.C. "Polyenylphosphatidylcholine Prevents Carbon Tetrachloride-Induced Lipit Peroxidation while it Attenuates Liver Fibrosis", *J. Heptol.*1997; 27: 554-561.
36. Bruce, A.F., Crapo, J.D. "Biology of Disease", *Free Radicals and Tissue Injury Lab. Invest.*1982; 47(5): 412-426,
37. Burtis, C.A., Ashwood, E.R. "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", W.B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania,1999.



38. Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jurgens, G. "The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL", *Free Radic. Biol. Med.*, 1992;13: 341-90, 69
39. Rikans, L.E., Hornbrook, K.R. "Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging", *Biochem Biophys. Acta.*,1997; 1362: 116-2740.
40. Oesch, F. "Metabolism of carcinogens, possibilities for modulation", *Acta. Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 55Suppl, 1984; 2: 15-33.
41. Shacter, E. "Protein oxidative damage", *Methods Enzymol.*, 2000;319: 428-436.
42. Stadtman, E.R., Levine, R.L. "Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins", *Amino Acids*, 2003;25: 207-218.
43. Berlett, B.S., Stadtman, E.R. "Recent advances in the analysis of oxidized proteins", *Amino Acids*, 2003; 25: 221-226.
44. Stadtman, E.R., Levine, R.L. "Protein oxidation", *Ann. NY Acad. Sci.*,2000; 899: 191-208.
45. Grune, T. "Oxidative stress, aging and the proteasomal system", *Biogerontology*, 2000; 1: 31-40.
46. Shacter, E. "Quantification and significance of protein oxidation in biological samples", *Drug Metab. Rev.*,2000; 32: 307-326.
47. Davies, M.J., Fu, S., Wang, H., Dean, R.T. "Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease", *Free Radic. Biol. Med.*,1999; 27: 1151-1163.
48. Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroğlu, M., Lunec, J. "Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation and disease", *FASEBJ*, 2003; 17: 1195-1214.
49. Evans, M.D., Cooke, M.S. "Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids", *BioEssays*, 2004;26: 533-542.
50. Luft, R. "The development of mitochondrial medicine", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1994;91: 3731-3738.
51. Bebe, F.N., Panemangalore, M. "Exposure to low doses of endosulfon and chlorpyrifos modifies endogenous antioxidants in tissue of rats", *J. Environ. Sci. Health B*, 2003; 38: 349-363.
52. Ahmad, S., "Oxidative stress and antioxidant defenses in biology" Chapman and Hall Inc, London,1995; 70- 447

53. Fridovich, I. "Oxygen radicals from acetaldehyde", *Free Radical Biology and Medicine*, 1989; 7(5): 557-558.
54. Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C. "Potential markers of oxidative stress in stroke", *Free Radical Biology & Medicine*, 2005; 39: 841-852.
55. Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullas, M. "Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006; 64: 178-189.
56. Lawson SE, Oakley S, Smith NA, Barefford D. Red cell Exchange in sickle cell disease. *Clin Lab Haematol*, 1999; 21(2): 99-102
57. Pabón A, Carmona J, Burgos LC, Blair S. Oxidative stress in patients with non-complicated malaria. *J. Clinical Biochemistry* 2003; 36(5): 71-78.
58. Maguire PA, Sherman IW. Phospholipid composition, cholesterol content and cholesterol exchange in *Plasmodium falciparum* infected red cells. *J. Mol Biochem Parasitol* 1990; 38(8): 105-112.
59. Kharazmi A, Jepsen S, Andersen BJ. Generation of reactive oxygen radicals by human phagocytic cells activated by *Plasmodium Falciparum*. *J. Immunol* 1987; 25(5): 335-41
60. Sies H. Antioxidant activity in cells and organs. *J. Am Rev Respir Dis* 1987; 136(9): 478-80.
61. Gutteridge JMC. Antioxidant properties of the proteins ceruloplasmin, albumin and transferrin: a study of their activity in serum and synovial fluid from patient with rheumatoid arthritis. *J. Biochim Biophys Acta* 1986; 869(36): 119-27.
62. Tilley L, Loria P, Foley M, Totowa RJ. Chloroquine and other quinoline antimalarials. *Antimalarial Chemotherapy*, Humana Pres. 2001; 87-122 .
63. Egan TJ, Combrinck JM, Egan J, Hearne GR, Marques HM, Ntenti S, Sewell BT, Smith PJ, Taylor D, Schalkwyk DA, Walden JC. Fate of haem iron in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *J. Biochem.* 2002; 365(5): 343-347.
64. Harwaldt P, Rahlfs S, Becker K. Glutathione S-transferase of the malarial parasite *Plasmodium falciparum*: characterization of a potential drug target. *J. Biol. Chem.* 2002; 383(14): 821-830.
65. Greenwood B, Marsh K, Snow R. Why do some African children develop severe malaria. *J. Parasitol.* 1991; 7: 277-82.

66. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Third ed. Oxford: Oxford Science Publications; 2000. p. 617–24.
67. Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatiform mole. *Swiss Med Wkly* 2003;133(41–42):563–6.
68. Yeni E, Gulum M, Selek S, et al. Comparison of oxidative/antioxidative status of penil corpus cavernosum blood and peripheral venous blood. *Int J Impot Res* 2005;17(1):19–22.
69. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*. 37 (2004) 277–285
70. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 38(12):1103-11, (2005).
71. Joswiak Z, Jasnowska B. Changes in oxygen- metabolizing enzymes and lipid peroxidation in human erythrocytes as a function of age of donor. ):77-83.
72. Aslan R, pekerođlu MR, Tarakçýođlu M, Köylü H. Investigation of malondialdehyde formation and antioxidant enzyme activity and stored blood. *Haematologia* 1997;28: 237-249.
73. Yockey C, Murphy S, Eggers L, Garratty G, Dingle A, Helms C, Moroff G. Evaluation of the Amicus separator in the collection of apheresis platelets. *Transfusion*, 1998; 38:848–854.
74. Strasser EF, Schuster M, Egler K, Bauer J, Weisbach V, Ringwald J, Zimmermann J, Zingsem J, Eckstein R. Frequently used plateletpheresis techniques result in variable target yields and platelet recruitment of donors. *Transfusion*,2005; 45:788–797.
75. Avrupa Konseyi Kriterleri,2004.
76. Perseghin P, Mascaretti L, Riva M, Sciorelli G: Comparison of plateletpheresis concentrates produced with Spectra LRS version 5.1 and LRS Turbo version 7.0 cell separators. *Transfusion*,2000; 40:789-793.