

44107

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Necla ÇEVİK

**YENİDOĞANLARDA KAN TRANSFÜZYONU
UYGULANMASI ESNASINDA LÖKOSİT FİLTRESİ
KULLANIMININ ANTİ-HLA ANTİKORLARININ
OLUŞUMUNA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Ayşe Semra KURUL

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. Hasan ÖZKAN

İZMİR -1995

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince tecrübe ve bilgilerini aktararak yetişmemde büyük emeği olan, hiç bir konuda yardım ve desteğini esirgemeyen Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Necla ÇEVİK ve tüm öğretim üyelerine, tez konumun seçimi ve çalışmalarımın yürütülmesinde değerli katkı ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Hasan ÖZKAN'a, çalışmalarımın bulunduğu değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Gülersu İRKEN'e, özellikle laboratuvar aşamasındaki katkı ve özverili yardımlarından ötürü Doç. Dr. Özden ANAL ve Doç. Dr. Nurullah AKKOÇ'a ve tez çalışmamın gerçekleştirilmesindeki katkıları nedeni ile Çocuk Sağlığını Koruma Vakfı üyelerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ayşe Semra KURUL

KISALTMALAR

CD	:	Cluster of differentiation
CMV	:	Cytomegalovirus
CPD	:	Sitrat - fosfat - dekstroz
DIC	:	Disemine intravasküler koagulasyon
FNHTR	:	Febril nonhemolitik transfüzyon reaksiyonları
GVHD	:	Graft - versus - host disease
HIV - 1	:	Human immunodeficiency virus-1
HIV - 2	:	Human immunodeficiency virus-2
HLA	:	Human leukocyte antigen
HTLV - 1	:	Human T-cell lymphotropic virus - 1
HTLV - 2	:	Human T-cell lymphotropic virus - 2
IL	:	Interleukin
MHC	:	Major histokompatibilite kompleksi
NEC	:	Nekrotizan enterokolit
PBS	:	Fosfat tampon solüsyonu
PDA	:	Patent duktus arteriosus
RDS	:	Respiratuar distres sendromu

İÇİNDEKİLER

1-	GİRİŞ VE AMAÇ	1
2-	GENEL BİLGİLER	2
3-	GEREÇ VE YÖNTEM	24
4-	BULGULAR	31
5-	TARTIŞMA	37
6-	SONUÇLAR	41
7-	ÖZET	42
8-	KAYNAKLAR	43

GİRİŞ VE AMAÇ

Herhangi bir kan ürünü ile yapılan her transfüzyon kan hücresi antijenlerine karşı immunizasyona yol açabilmektedir. Eritrositlere göre büyük değişkenlik gösteren ve fiziksel olarak heterojen bir popülasyon teşkil eden lökositlere karşı alloimmunizasyon önemli bazı sorunlar doğurmaktadır (1,2). Lökositler basit separasyon teknikleriyle hazırlanan eritrosit suspansiyonu, trombosit suspansiyonu ve plazma gibi tüm ürünlerde bulunmaktadır. Lökositlere karşı immunizasyon HLA kompleksi ve granülosit spesifik antijenlere karşı olur (3). Bu immunizasyon, alıcıda nonhemolitik febril transfüzyon reaksiyonları (FNHTR), trombosit transfüzyonuna dirençlilik veya transplantasyondan sonra graft rejeksiyonu gibi klinik sonuçlara yol açabilir (4). Yenidoğan döneminde de transfüzyonlar ile HLA alloimmunizasyonu bildirilmekte ve kan transfüzyonuna bağlı gelişebilecek immunizasyonun önlenmesi önerilmektedir (5,6). Bunun için kan ürünlerinden lökositleri uzaklaştırmaya yönelik çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Kan ürünlerinin lökosit filtresinden geçirilmek suretiyle transfüze edilmesinin anti-HLA antikoru oluşumunda anlamlı olarak azalma meydana getirdiği bildirilmektedir (7).

Bu çalışmada, yenidoğan döneminde eritrosit transfüzyonu veya exchange transfüzyon uygulanması esnasında lökosit filtresi kullanılmasının anti-HLA antikorlarının oluşumuna etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

İnsan kanı uygun endikasyonda kullanıldığında hayat kurtarıcı olan değerli bir kaynaktır. Ancak kan transfüzyonu genel anlamda bir doku nakli olduğundan beraberinde immunolojik ve nonimmunolojik bazı sorunlar taşımaktadır.

Tedavide kan transfüzyonu denemeleri ilk olarak 17. yüzyıl ortalarında hayvandan insana, insandan insana şeklinde başlamış, alınan başarısız sonuçlarla kesintiye uğrayan bu denemeler immunoematoloji biliminin ilk yapıtaşlarını teşkil eden Landsteiner'in ABO kan grupları üzerindeki çalışmaları ile 1901'de tekrar hız kazanmıştır. 1920'de sodyum sitrat antikoagülan solüsyonunun bulunması, kanı saklama ve sonradan tekrar kullanabilme olanağı sağlamış, 1958'de kanın saklanması ve aseptik koşullarda komponentlerine ayrılması amacı ile plastik disposibl sistemlerin geliştirilmesi modern transfüzyon uygulamalarının yolunu açmıştır (1).

Günümüzde immunoematoloji biliminin katkıları ve kan saklama yöntemlerinin geliştirilmesi ile modern kan bankacılığı tıbbın hizmetine girmiştir. Bu, özellikle son 10 yılda büyük gelişme göstermiş olan neonatoloji, pediatrik hematoloji-onkoloji, pediatrik cerrahi ve transplantasyon alanında hissedilmektedir.

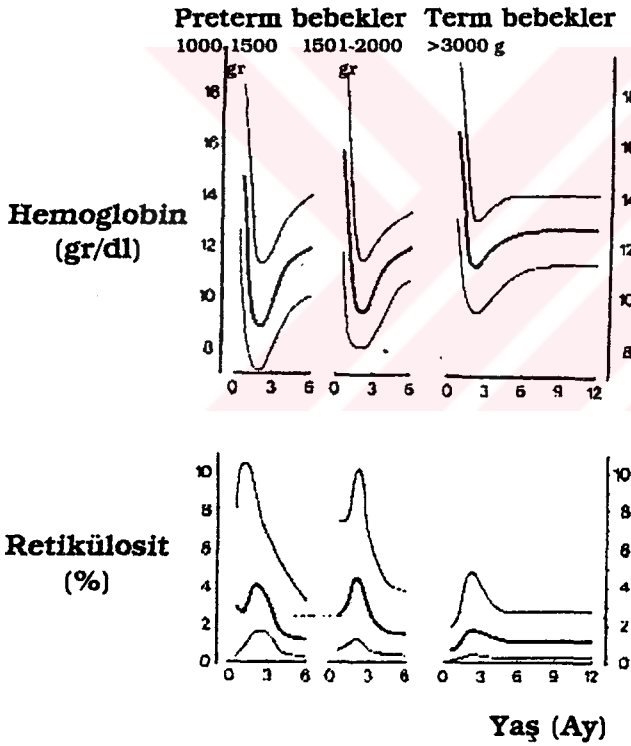
Hekimler tarafından çoğu kez gerçekte sadece eritrosit transfüzyonu kastedilerek "kan transfüzyonu" terimi kullanılmaktadır (8). Oysa tam kan transfüzyonu yeni doğanın exchange transfüzyonu hariç çok nadiren gereklidir. Fizyolojik ve ekonomik yönden, ayrıca istenmeyen yan etkileri azaltmak amacıyla her bir ünite taze kan, eritrositler, trombositler, granülositler, plazma ve içerdiği albumin, pıhtılaşma faktörleri ve gamaglobulin gibi fraksiyonlarına ayrılmalı ve endikasyona uygun kan ürünü kullanılmalıdır (2).

ERİTROSİT TRANSFÜZYONU ENDİKASYONLARI

Erişkin hastalar için transfüzyon tedavisinin prensipleri oldukça net bir şekilde ortaya konmuşken, çocuklar özellikle yenidoğanlar için çok çeşitli görüşler ve uygulamalar mevcuttur (2).

Bir yenidoğanda anemiyi değerlendirirken yenidoğan döneminin bazı fizyolojik özelliklerinin gözönünde bulundurulması gereklidir. Fetusun hematopoetik sistemi düşük intrauterin oksijen basıncına adapte olmuştur. Vajinal yolla doğan term

yenidoğanların hemoglobin (Hb) konsantrasyonları yaklaşık $19 \pm 2,2$ gr/dl, sezaryan ile doğan term yenidoğanların Hb konsantrasyonları yaklaşık $16 \pm 3,1$ gr/dl'dir (1,9). Preterm yenidoğanların Hb konsantrasyonları ise ortalama $17,5 \pm 1,6$ gr/dl olarak bildirilmektedir (10). Yenidoğan Hb'i oksijene afinitesi daha fazla olan HbF ağırlıklıdır. Doğumu takiben yaşamın ilk 1-2 gününde term ve preterm yenidoğanların Hb konsantrasyonunda geçici bir artış olur. Bunun nedeni genellikle oral alım azlığı ile birlikte doğum esnasında oluşan az miktardaki plasental transfüzyona bağlı hemokonsantrasyondur (9,10). Bundan sonra Hb konsantrasyonu giderek azalmaya başlar. Term yenidoğanlarda 8-12. haftalarda yaklaşık $11,4 \pm 0,9$ gr/dl, preterm yenidoğanlarda ise 6. hafta civarında yaklaşık 7-10 gr/dl seviyesine dek iner. Buna yenidoğanın fizyolojik anemisi denmektedir (Şekil 1).



Şekil 1 : Term ve preterm bebeklerde hemoglobin konsantrasyonu ve retikülosit sayısındaki yaşa bağlı değişiklikler.

Yenidoğanın fizyolojik anemisi şu şekilde açıklanmaktadır : Hipoksik intrauterin ortamda yaşamakta iken relatif olarak oksijenden daha zengin bir ortama doğan bebekte eritropoetin seviyesi giderek düşer ve kemik iliğinde eritroid aktivite azalır. Term bebeklerde ortalama 80-100 gün, preterm bebeklerde ortalama 60-80 güne kadar kısalmış olan eritrosit yaşam süresi ile beraber Hb konsantrasyonunda hayatın 1-3. ayına dek ilerleyici bir düşüş gözlenir. Hb düzeyi doku oksijenizasyonunu

sınırlayacak kadar düşük konsantrasyona indiğinde ise eritropoetin sentezi stimüle olur ve Hb kitlesi tekrar artmaya başlar (9).

Aneminin varlığını değerlendirirken yenidoğanın fizyolojik anemisi dışındaki bazı faktörleri de gözönünde tutmak gerekmektedir. Bunlardan biri kan örneğinin alındığı yerdir. Kapiller kan örneğinden bakılan Hb düzeylerinin aynı anda alınan venöz kan örneğindeki Hb düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmektedir. Ayrıca sağlıklı preterm yenidoğanlarda hızlı büyüme evrelerinde vücut ağırlığındaki artışla beraber dolaşan kan volümü de artar, hemodilusyona bağlı olarak Hb konsantrasyonunda düşme gözlenir. Anemiyi değerlendirirken bu özelliklere dikkat etmek gereklidir (11).

Günümüzde her ne kadar mikroanalitik sistemler geliştirilmiş olsa da küçük bebeklerden laboratuvar tetkikleri için alınan kan örnekleri beklenmedik şekilde kümülatif kan kayıplarına yol açmaktadır. Pratik olarak 1 kg ağırlığındaki bir bebekten 1 ml kan alınması ortalama ağırlıktaki bir erişkinden 70 ml kan alınması ile eşdeğerdır (9). Mikroanalitik sistemlerin kullanıldığı merkezlerde dahi tetkik amacıyla günlük alınan kan miktarı 2 ml'nin üzerine çıkabilmektedir. 1 kg'lık bebekte bu tip günlük girişimlerle 5 günde yaklaşık %10'luk kan volümü kaybı olur (10). Bu sebeple kapiller metodlar da kullanılsa tekrarlanan kan alımları özellikle küçük preterm yenidoğanlarda iyatrojenik olarak Hb konsantrasyonunu önemli ölçüde düşürmektedir. Anemiyi değerlendirirken bebekten tetkik amaçlı fazla kan alınıp alınmadığı gözönünde bulundurulmalıdır. Böyle durumlarda bebeğin bu kayıpları fizyolojik olarak kompanse etmesi kararına yönelmektense kayıpları hemen yerine koymak genel kanıdır. Aneminin spesifik belirtilerini saptamanın güçlüğü ve ciddi problemleri bulunan bir yenidoğan söz konusu olduğunda bu replasmanın erken dönemde yapılması haklı görülmelidir. Preterm bir yenidoğanın kısa süre içinde kan volümünün %5-10'unu kaybetmesi kan replasmanını gerekli kılar (9). Bunun için 25-35 ml/kg eritrosit suspansiyonu transfüze edilmesi önerilmektedir (12).

Yenidoğanlarda kan Hb konsantrasyonunu etkileyen bu gibi faktörler nedeniyle anemisi olduğu iddia edilen bir bebeği değerlendirirken yaş, matürite, kan örneğinin alınma yeri, hızlı büyümenin etkisi ve bebeğin genel durumu gözönüne alınmalıdır. Aksi halde tanıda hata yapılabilir ve gereksiz tetkik ve tedavi girişimlerinde bulunulabilir (2).

Bu gibi faktörlerle açıklanamayan bir anemi tesbit edildiğinde ise tanıda kullanışlı bir yol olan azalmış eritrosit yapımı, artmış eritrosit yıkımı ve kan kaybı şeklindeki fizyopatolojik sınıflandırmadan yararlanarak gerekli tetkikler ile aneminin nedeni ortaya konmalı ve uygun tedavi planlanmalıdır (9).

Yenidoğan döneminin fizyolojik özellikleri gözönüne alınarak transfüzyon kararı sadece Hb seviyesine bakılarak verilmemeli, taşikardi, takipne, dispne, beslenme güçlükleri, solukluk, aktivitede azalma gibi aneminin klinik belirti ve bulguları dikkate alınmalıdır (10). Aslında birçok yenidoğan belirgin klinik bulgu göstermeksizin oldukça düşük Hb konsantrasyonlarını tolere edebilir. Ancak bu kompanzasyonu idame ettirecek Hb seviyesi tam bilinmemektedir (1). Yenidoğan döneminde transfüzyon kararının verilmesi hayatın hiçbir döneminde olmadığı kadar güçlük arzeder (10). Bu dönemde transfüzyon için mutlak endikasyonlar ortaya konamamakla beraber bazı kriterler transfüzyon kararı vermede yardımcı olabilir :

1) Yoğun bakım ünitelerine alınan tüm yenidoğanlardan sık aralarla kan örneği alınmasından sakınılmalıdır. Eğer bebek kan volümünün %5-10'unu akut olarak kaybetti ise, bu kayıp eritrosit suspansiyonu ile hemen replase edilmelidir.

2) Yaşamın birinci haftasındaki 1500 gr'dan küçük bebeklerin Hb seviyeleri 13 gr/dl'nin üzerinde tutulmalıdır (9). Respiratuvar distres sendromu (RDS) olan bebeklerde erişkin kanı transfüzyonu oksijen salınımını düzeltmektedir. Ayrıca büyük ventriküler septal defekt gibi kalp hastalığı bulunan bebekler genellikle yaşamın ilk birkaç haftasında klinik belirti göstermezler. Bu yaş genellikle yenidoğanların fizyolojik anemilerinin en derin olduğu döneme rastlar. Düşük hematokritin (Hct) akciğerlerden geçen kanın viskozitesini azalttığı ve pulmoner vasküler dirençte azalmaya yol açtığı, böylece sol-sağ şantlaşmaya ve kardiyak dekompanzasyona neden olduğu bildirilmektedir (10). Bu sebeple arteriyel oksijen saturasyonunu azaltan konjenital kalp hastalığı veya RDS gibi pulmoner bir hastalık mevcutsa Hb düzeyinin 16-17 gr/dl arasında tutulması önerilmektedir.

3) Fizyolojik aneminin en derin olduğu dönemdeki preterm bebeklerde Hb düzeyi 7-8 gr/dl kadar düşük seviyede de olsa taşikardi, takipne, beslenme güçlüğü veya kanda artmış laktik ve piruvik asit gibi doku hipoksisinin belirtileri olmadıkça eritrosit transfüzyonu yapılmamalıdır (9).

EXCHANGE TRANSFÜZYON VE ENDİKASYONLARI

Kan transfüzyonunun özel bir türü olan exchange transfüzyon mekanik olarak bilirubini uzaklaştırarak hiperbilirubinemiye tedavi etmekte, ayrıca bazen sepsis, dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) ve hiperkalemi gibi elektrolit düzensizliklerinin tedavisinde kullanılmaktadır (2,13).

Günümüzde yenidoğan sarılığı ve bilirubin nörotoksisitesinin, nisbeten eski ve iyi bilinen çalışma sahaları teşkil etmelerine rağmen özellikle tedaviye yönelik birçok tartışmalı yönleri vardır. Bilirubin dokuyu perinatal iskemi-reperfüzyon hasarından koruyucu fizyolojik antioksidan olabileceği ihtimali, geleneksel toksin olan bilirubin şimdi de koruyucu bir ajan olarak araştırılması gereksinimini ortaya koymaktadır (14).

Sarılık yenidoğanların %60'ında görülür. Sarılıklı bir bebekle karşılaşıldığında sarılığı değerlendirirken Tablo 1'deki faktörlerin gözönünde bulundurulması gereklidir (15).

<p>Hemolitik Hastalık Düşündüren Faktörler</p> <ul style="list-style-type: none">- Ailede hemolitik hastalık öyküsü- Sarılığın ilk 24 saatte başlaması- Serum bilirubin seviyesinin saatte 0.5 mg/dl'den fazla yükselmesi- Solukluk, hepatosplenomegali bulunması- 24-48. saatten sonra serum bilirubin seviyesinde hızlı yükselme olması (G-6-PD eksikliği gözönünde bulundurulmalı)- Kalıtsal hastalıklar yönünden etnik yatkınlık olması- Serum bilirubin seviyesini düşürmede fototerapinin yetersiz kalması <p>Sepsis veya Galaktozemi gibi Sarılıkla Gidebilen bir Hastalığı Düşündüren Klinik Belirti ve Bulgular</p> <ul style="list-style-type: none">- Kusma- Letarji- Beslenme bozukluğu- Hepatosplenomegali- Kilo kaybı- Apne- Vücut ısısı düzensizlikleri- Takipne <p>Biliyer Atrezi veya Diğer Kolestatik Sebeplerinin Ekarte Edilmesi Gereken Kolestatik Sarılık Belirtileri</p> <ul style="list-style-type: none">- Koyu renkli idrar veya idrarda bilirubin bulunması- Açık renkli gaita- Üç haftadan uzun süreli persistan sarılık
--

Tablo 1 : Sarılıklı bebeğin değerlendirilmesinde göz önünde bulundurulacak faktörler

Sarılıklı bebekte olası tanıya yönelik kan grubu, Coombs testi, Hct, eritrosit morfolojisi, retikülosit gibi gerekli tetkikler ile kesin tanı konmaya çalışılmalı, bu arada bilirubinin potansiyel toksik etkisi nedeniyle tedavi planlanmalıdır (13). Neonatolojinin pek az sahasında yenidoğan sarılığının zararları ve tedaviye başlama zamanı gibi uzun süreli tartışmalara yol açan konular olmuştur. Özellikle başka risk faktörü taşımayan sağlıklı term yenidoğanlarda artmış serum bilirubin seviyelerinin potansiyel zararlı etkileri süregelen ilgi ve tartışma konusunu teşkil etmiştir. Yenidoğanlarda beyin hücrelerine bilirubin toksisitesini etkileyen faktörler karmaşıktır ve halen tam anlaşılammıştır. Bunlar albumin konsantrasyonunu, bilirubinin albumine bağlanmasını, beyine penetrasyonunu etkileyen ve beyin hücrelerinin bilirubinin toksik etkisine ne kadar hassas olduğu gibi faktörleri içerir. Hangi bilirubin seviyesinde veya hangi özel koşullar altında beyin hasarına ait ciddi risklerin doğacağı ya da hasarın riskinin tedavinin riskini ne zaman aşacağı tam bilinmemektedir (15). Hangi total serum bilirubin seviyesinde exchange transfüzyon gerektiği konusunda da belirsizlik mevcuttur ve değişik görüş ve uygulamalar bulunmaktadır. Eskiden beri en fazla kabul gören doğumdaki vücut ağırlığının kriter olarak alındığı total bilirubin seviyeleridir (Tablo 2) (13).

Doğum Ağırlığı (gr)	Komplike olmayan	Komplike*
< 1250	13	10
1250-1499	15	13
1500-1999	17	15
2000-2499	18	17
≥ 2500	20	18

Tablo 2 : İzin verilen maksimum total serum bilirubin konsantrasyonları (mg/dl)

* Komplikasyonlar perinatal asfiksi ve asidoz, postnatal hipoksi ve asidoz, belirgin ve persistan hipotermi, hipoalbuminemi, menenjit ve diğer enfeksiyonlar, hemoliz, hipoglisemi ve santral sinir sistemi hastalığı belirtileridir.

Ancak son yıllarda Amerikan Pediatri Akademisi tarafından sağlıklı term yenidoğanların nonhemolitik hiperbilirubinemisinde fototerapi ve exchange transfüzyon sınırları tablo 3'de gösterildiği şekilde önerilmektedir (15).

Total Serum Bilirubini (mg/dl)				
Yaş	Fototerapi uygulanabilir	Fototerapi uygulanmalı	Yoğun fototerapi etkisiz kalmışsa exchange transfüzyon uygulanmalı	Exchange transfüzyon ve yoğun fototerapi uygulanmalı
≤ 24 saat*	—	—	—	—
25-48 saat	≥ 12	≥ 15	≥ 20	≥ 25
49-72	≥ 15	≥ 18	≥ 25	≥ 30
> 72	≥ 17	≥ 20	≥ 25	≥ 30

Tablo 3 : Sağlıklı term yenidoğanlarda hiperbilirubineminin izlemi

* İlk 24 saat içinde sarılığı ortaya çıkan bebekler sağlıklı kabul edilemezler ve ileri tetkik gerektirirler.

Exchange transfüzyonda kullanılacak kan 5 günden taze olmalı ve antikoagülan olarak sitrat- fosfat-dekstroz (CPD) solüsyonu içermelidir. Ayrıca irradiye edilmiş olmalı ve mikroagregat filtresinden geçirilmelidir (2).

Exchange Transfüzyonun Komplikasyonları

- Metabolik komplikasyonlar : Hipoglisemi, hiperkalemi, hipokalsemi (2,13).
- Kardiyak komplikasyonlar : Hipervolemi
- Vasküler komplikasyonlar : Umbilikal venin kateterle delinmesi, portal ven trombozu, umbilikal arter spazmına bağlı lomber spinal kord iskemisi ve alt ekstremitte paralizisi.
- Hipotermi : Kanın ısıtılmadan kullanılmasına bağlı ortaya çıkar, fatal kardiyak aritmilere neden olabilir.
- Hava embolisi
- Hemoliz : Kanın fazla ısıtılması veya kanın ince iğne ve kateterlerden geçişe zorlanması ile ortaya çıkar (2).
- Nekrotizan enterokolit (NEC) : Nedeni tam bilinmemekle beraber mezenterik venlerle yakın ilişkideki portal sistemde bulunan umbilikal venöz kateterin malpozisyonunun hemoraji ve tromboz ile damarlarda retrograd obstrüktif hemodinamik değişiklikler meydana getirebileceğine bağlanmaktadır (13).
- Alloimmunizasyon : Kan hücreleri yüzeyindeki antijenik yapılara karşı bebeğin sensitize olmasıdır.

- Hemostatik komplikasyonlar : Depolanmış kanda canlı trombosit ve faktör V ve VIII bulunmadığından trombositopeni ve pıhtılaşma faktörü eksikliği görülebilir (16).
- Graft-versus-host hastalığı (GVHD) : Makülopapüler raş, hepatit, eosinofili, trombositopeni ve hafif şiddetli lenfopeni ile gider. Ender görülmekle beraber exchange transfüzyon sonrası önemli bir ölüm nedeni olabileceği ve transfüze edilecek kandaki lökositleri uzaklaştırma amacı ile kanı irradiye etmekle önlenebileceği bildirilmektedir (13,16).
- Enfeksiyon : Exchange transfüzyon hepatit, AIDS, CMV gibi enfeksiyon hastalıklarının geçişi yönünden herhangi bir kan ürünü transfüzyonunun riskini taşır (13).

TRANSFÜZYONDA KULLANILAN ERİTROSİT ÜRÜNÜNÜN SEÇİMİ

Tam kan eritrosit dışı komponentlerin değişik oranlarda uzaklaştırılması ile modifiye edilebilir. Tablo 4’de işlem sonrası eritrosit dışı komponentlerin yüzdesi ve en sık görülen transfüzyona bağlı yan etkiler ile birlikte halen kullanılmakta olan eritrosit ürünleri görülmektedir.

Eritrosit Suspansiyonu

Tam kanın santrfüje edilerek, plazma ve diğer komponentlerin büyük bölümünün uzaklaştırılması ile elde edilir. Hct düzeyi besleyici solüsyon kullanılmadıkça %75 civarındadır, aksi halde %50-60’a iner. Eritrosit suspansiyonu kronik anemiler, akut kanamalar ve cerrahi kan kayıpları gibi sporadik transfüzyon tedavisinde seçilecek üründür. Tekrarlayan transfüzyonlar ile özellikle lökositlere bağlı bazı reaksiyonlar ortaya çıktığından eritrosit suspansiyonlarının lökositlerden arındırılmış değişik tipleri geliştirilmiştir (1,4).

Tam Kan

Açık kalp ameliyatına gidecek hastalar ve exchange transfüzyon hariç tam kan transfüzyonu endikasyonu sınırlıdır. Akut kan kaybı olan vakalarda eğer daha uygun ürünler acil olarak temin edilemiyorsa kullanılabilir. Üç günlüğe kadar olan kanların daha eski olan kanlara göre koagülasyon faktörleri ve 2-3, difosfogliserat düzeyleri daha yüksek, potasyum ve amonyum düzeyleri ise daha düşüktür. Bu sebeple yenidoğanlarda exchange transfüzyon ve akut hemorajilerde kan replasmanı için daha uygundur (1,16).

ÜRÜN	Plazma (%)	PNL (%)	Lenfosit (%)	Pıhtılaşma faktörleri (%)	Trombosit (%)	Sitrat toksisitesi	Viral enfeksiyon	Febril reaksiyon	GVHD
Tam Kan									
<21 gün	100	100	100	V, VIII, II, VII, IX, X azalmıştır	<1	4+	4+	4+	4+
<48 saat	100	100	100	V ve VIII azalmıştır	<1	4+	4+	4+	4+
<4 saat	100	100	100	100	>90	4+	4+	4+	4+
Eritrosit suspansiyonu	20-50	100	100	10	<1	1+	4+	4+	4+
Lökosit filtresinden süzölmüş eritrositler	5	0.05	0.05	10	<1	1+	± 1+	±	2+
Yıkamış eritrositler	<1	10	10	<1	<1	0	1+	1+	3+
Dondurulmuş defiserolize eritrosit suspansiyonu	<1	<5	<5	<1	<1	0	± 1+	±	2+

Tablo 4 : Halen kullanılmakta olan eritrosit ürünleri

TRANSFÜZYON KOMPLİKASYONLARI

Yenidoğan döneminde kan ürünlerinin transfüzyonu bir çok klinik durumda esas teşkil etse de hastadan sorumlu hekim her vakada bebeğin durumunu göz önüne almalı ve transfüzyon kararı dikkatle yarar - zarar hesabı yapılarak verilmelidir (11). Çünkü dikkatli donör seçimi ve yoğun testlere rağmen kan transfüzyonu genellikle %0,5 -3 oranında bazı istenmeyen etkiler ve komplikasyonlara yol açar (3,17,18). Bunlar immunolojik ve nonimmunolojik komplikasyonlar olarak ayrılabilir. İmmunolojik komplikasyonlar ürtikeryel ve anafilaktik reaksiyonlar, febril nonhemolitik transfüzyon reaksiyonları, hemolitik transfüzyon reaksiyonları, gecikmiş transfüzyon reaksiyonları, alloimmunizasyon, posttransfüzyon purpura ve GVHD olarak sayılabilir (Tablo 5) (1,4).

Eritrositler	Hemolitik reaksiyonlar	Görülme sıklığı (%)
	Akut	0,02
	Gecikmiş	0,2
Lökositler	Febril reaksiyonlar	5-10
	Pulmoner infiltratlar	<0,01
Trombositler	Posttransfüzyon purpura	<0,01
Plazma proteinleri	Anafilaksi	<0,01
	Ürtiker	1-3

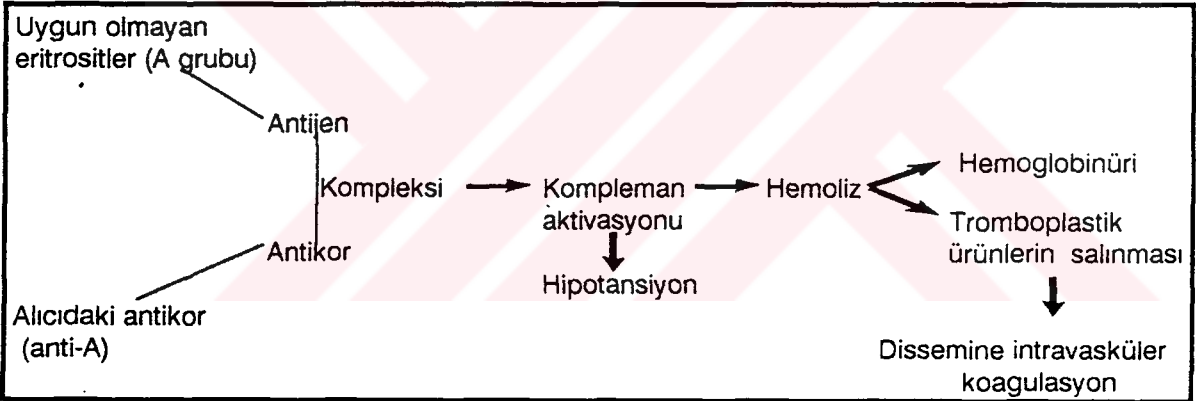
Tablo 5 : Kan transfüzyonunun immunolojik komplikasyonları

Nonimmunolojik komplikasyonların başında transfüzyonla taşınan hastalık etkenleri gelir. Bunlar; cytomegalovirus (CMV), human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) ve human immunodeficiency virus-2 (HIV-2) , human T-cell lymphotropic virus tip -1 (HTLV - 1) ve human T-cell lymphotropic virus tip -2 (HTLV - 2), hepatit virusları, Epstein-Barr virus, treponema pallidum ve plazmodium türleri gibi enfeksiyöz ajanlardır (1,9,19,20). Kan transfüzyonunun diğer nonimmunolojik komplikasyonları

arasında hiperkalemi ve hipokalsemi gibi elektrolit düzensizlikleri, mekanik hemoliz, hava embolisi, antikoagulan yan tesirleri, bakteriyel kontaminasyon ve sık transfüzyonlarla vücutta demir birikmesi sayılabilir (1,10).

Transfüzyonun İmmunolojik Komplikeşyonları :

Her kan hücresi yüzeyinde birçok antijen taşır. Vericinin hücreleri üzerindeki antijenler alıcınıninkilerden çok farklı olabilir. Ayrıca vericinin plazması alıcı için yabancı olan proteinleri içerebilir. Yabancı antijen içeren kan hücresi veya plazma transfüzyonu ancak eğer alıcı serumunda buna karşı oluşmuş antikor mevcutsa ani bir reaksiyona yol açar. Bazı antikorlar yabancı kan hücrelerine maruz kalınmasa da doğal olarak kanda bulunurlar, bunlara doğal antikorlar denir. En önemlileri anti-A ve anti-B antikorlarıdır (4). Verici ve alıcı arasındaki ABO uygunsuzluğuna bağlı hemolitik transfüzyon reaksiyonları bu mekanizma ile oluşmaktadır (Tablo 6) (1).



Tablo 6 : Uygun olmayan eritrositlere karşı reaksiyonlar

İmmun antikorlar olarak adlandırılan bazı antikorlar transfüzyonla veya gebelikte fetustan anneye geçen kan hücrelerinin yüzeyindeki antijenik yapılara karşı sonradan oluşan antikorlardır. Rh sisteminin anti-D antikoru en sık görülen immün kan grubu antikorudur (4). Ürtikeryel reaksiyonların verici plazmasındaki solübl bir antijene karşı alıcının immunolojik yanıtına bağlı olarak geliştiği sanılmaktadır (1).

Kan transfüzyonuna bağlı immunomodülasyon pretransplant dönemde birçok kez transfüzyon almış hastalarda renal allograftların yaşam sürelerinin artmış olduğunun gözlemlenmesi ile dikkat çekmiştir. Ayrıca rejyonel enterit veya ülseratif kolit gibi

inflamatuvar barsak hastalığı olanlarda kan transfüzyonu alanların almayanlara göre remisyon sürelerinin daha uzun olduğu görülmüştür. İmmunomodülasyonun mekanizması tam olarak anlaşılammakla beraber lökosit içeren tam kan ve eritrosit ürünlerinin immunosupresyon etkisine bağlı olduğu sanılmaktadır (17,21,22).

Febril nonhemolitik transfüzyon reaksiyonları (FNHTR), HLA alloimmunizasyonu, trombosit transfüzyonlarına dirençlilik, GVHD ve bazı enfeksiyon ajanlarının taşınması gibi birtakım komplikasyonlardan da verici kanındaki lökositlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Tablo 7) (17,23).

- | |
|---|
| 1 - Febril nonhemolitik transfüzyon reaksiyonları |
| 2 - HLA alloimmunizasyonu |
| 3 - Trombosit transfüzyonlarına dirençlilik |
| 4 - Graft - versus-host hastalığı (GVHD) |
| 5 - İmmunomodülasyon |
| 6 - Bazı enfeksiyon ajanlarının taşınması |

Tablo 7 : Kan ürünlerindeki lökositlere bağlı etkiler

Lökositlerin Normal Fizyolojik Özellikleri

Transfüze edilen kan ürünlerindeki lökositlerin biyolojik etkilerini daha iyi anlamak üzere periferik kan lökositleri, fagositler ve immunositler olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Granülositler (nötrofil, eozinofil, bazofil) ve monositler fagositler grubu içinde değerlendirilirken, çeşitli tipteki lenfositler ve plazma hücreleri immunositler grubunda değerlendirilir. Her iki tip lökosit de ortak pluripotent hematopoetik öncül hücreden köken alır ve sitokinler olarak bilinen çeşitli büyüme faktörlerinin etkisi altında spesifik hücre tiplerine farklılaşırlar. Sitokinler intersellüler komünikasyonda rol alırlar. Bu hormon benzeri glikoproteinler düşük konsantrasyonlarda hiyerarşik ve sinerjik olarak lökositlerin proliferasyon, diferansiyasyon, matürasyon ve spesifik fonksiyonlarını indükleyici görev görürler (17).

MHC (Major Histokompatibilite Kompleks) Sistemi

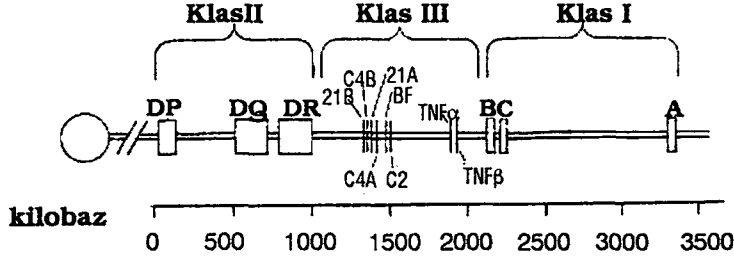
İmmun sistemin görevi organizmayı çevresinde bulunan virus, bakteri, parazit, fungus gibi çeşitli etkenlerden korumaktır. Bunu etkin bir şekilde yapabilmesi için immün cevap oluşturacağı antijenleri kendi antijenlerinden ayırt etmesi gerekir. Bu ayırım major doku tipi antijenleri vasıtasıyla yapılır (24,25).

İnsan lökosit antijenleri ile ilgili ilk gelişmeler 1954'de Dausset'nin, serumlarında lökoaglutininler bulunan hastaların diğer hastalara göre daha fazla sayıda kan transfüzyonu almış olduğunu gözlemlemesi ile başlamıştır. Dausset bu antikörlerin otoantikör değil alıcıda olmayan alloantijenleri içeren kan hücrelerinin transfüzyonu ile oluşmuş alloantikörler olduğunu belirtmiştir. Hemen hemen aynı yıllarda Payne FNHTR gösteren hastaların serumlarının lökoaglutininler içerdiğini göstermiştir. İlk olarak Terasaki ve McClelland tarafından mikrolenfositotoksisite testinin kullanılması ve sonradan diğer HLA tiplendirme tekniklerinin gelişmesiyle lökosit antijenleri keşfedilmeye başlanmış, tanımlanan serolojik spesifitelerin sayısı hızla artmıştır. 1967'de bunların hepsinin aynı genetik sisteme ait oldukları gösterilerek Dünya Sağlık Örgütü Nomenklatür Komitesi tarafından Human Leukocyte Antigen (HLA) terimi kabul edilmiştir (26). Tablo 8'de "10th International Histocompatibility Workshop"da tanımlanan HLA spesifiteleri görülmektedir (24).

A	B	C	D	DR	DQ	DP
A1	B5 B51(5)	Cw1	Dw1	DR1	DQw1	DPw1
A2	B7 Bw52(5)	Cw2	Dw2	DR2	DQw2	DPw2
A3	B8 Bw53	Cw3	Dw3	DR3	DQw3	DPw3
A9	B12 Bw54(w22)	Cw4	Dw4	DR4	DQw4	DPw4
A10	B13 Bw55(w22)	Cw5	Dw5	DR5	DQw5(w1)	DPw5
A11	B14 Bw56(w22)	Cw6	Dw6	DRw6	DQw6(w1)	DPw6
Aw19	B15 Bw57(17)	Cw7	Dw7	DR7	DQw7(w3)	
A23(9)	B16 Bw58(w17)	Cw8	Dw8	DRw8	DQw8(w3)	
A24(9)	B17 Bw59	Cw9(w3)	Dw9	DR9	DQw9(w3)	
A25(10)	B18 Bw60(40)	Cw10 (w3)	Dw10	DRw10		
A26(10)	B21 Bw61(40)	Cw11	Dw11(w7)	DRw11(5)		
A28	Bw22 Bw62(15)		Dw12	DRw12(5)		
A29(w19)	B27 Bw63(15)		Dw13	DRw13(w6)		
A30(w19)	B35 Bw64(14)		Dw14	DRw14(w6)		
A31(w19)	B37 Bw65(14)		Dw15	DRw15(2)		
A32(w19)	B38(16) Bw67		Dw16	DRw16(2)		
Aw33(w19)	B39(16) Bw71(w70)		Dw17(w7)	DRw17(3)		
Aw34(10)	B40 Bw70		Dw18(w16)	DRw18(3)		
A36	Bw41 Bw72(w70)		Dw19(w6)			
Aw43	Bw42 Bw73		Dw20	DRw52		
Aw66(10)	B44(12) Bw75(15)		Dw21	DRw53		
Aw68(28)	B45(12) Bw76(15)		Dw22			
Aw69(28)	Bw46 Bw77(15)		Dw23			
Aw74(w19)	Bw47		Dw24			
	Bw48 Bw4		Dw25			
	B49(21) Bw6		Dw26			
	Bw50 (21)					

Tablo 8 : Tanımlanmış HLA spesifiteleri

HLA molekülleri ve bunları kodlayan genler klas I, II ve III olmak üzere 3 kategoriye ayrılır ve insan major histokompatibilite kompleks (MHC) sistemi adı altında toplanır (Şekil 2).



Şekil 2 : HLA kompleksi (21A : 21-hidroksilaz A, 21B : 21- hidoksilaz B, BF : Properdin faktör, C2,C4a, C4b : kompleman komponentleri, TNFα; Tümör nekrozis faktör α, TNFβ : Tümör nekrozis faktör β)

Klas I ve II molekülleri hücre yüzeyinde bulunan glikoproteinlerdir. Bunlar immunglobulin süpergen ailesine aittir. Bu aileye ayrıca immunglobulinler, T hücre reseptörleri, CD4 ve CD8 molekülü gibi çeşitli hücre yüzey molekülleri dahildir. Klas I ve II molekülleri yapı, doku dağılımları ve fonksiyon bakımından birbirinden farklıdır. Klas I molekülleri veya diğer adıyla klasik histokompatibilite molekülleri HLA-A, HLA-B ve HLA-C moleküllerini, klas II molekülleri ise HLA-DR, HLA-DQ ve HLA-DP moleküllerini içerir. Klas III molekülleri kompleman sisteminin klasik yolunda rol oynayan C2 ve C4 molekülleri ile, kompleman sisteminin alterne yolunda rol oynayan properdin faktör B'den oluşmuştur. Klas III HLA molekülleri solüblüdürler ve transplantasyon antijeni olarak görev görmezler (24).

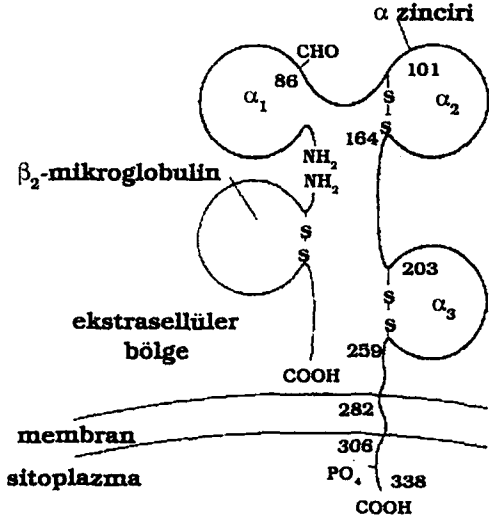
1- Klas I HLA molekülleri :

Yapı :

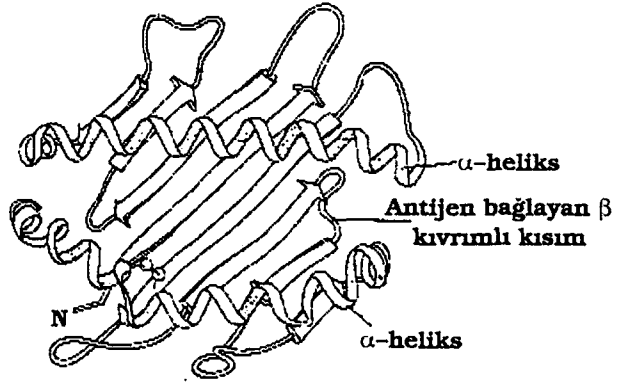
HLA-A, B ve C moleküllerinin her biri α ve β olmak üzere 2 zincirden meydana gelmiştir. α zinciri denem ağır zincir 6. kromozomun kısa kolu üzerinde bulunan gen tarafından sentezlenir (27). $\beta 2$ mikroglobulin ise 15. kromozomun üzerinde bulunan bir gen tarafından sentezlenir.

HLA klas I molekülü α ağır zinciriyle membrana bağlıdır. α ağır zincir 338 aminoasitten ibarettir. N terminalinden başlamak üzere 1-281 aminoasitlik bölüm ekstrasellüler hidrofilik kısmı, 282-306 aminoasitlik bölüm transmembran hidrofilik kısmı, 307-338 aminoasitlik bölüm ise intrasellüler hidrofilik kısmı meydana getirir. Molekülün ekstrasellüler bölümü 3 alandan meydana gelmiştir. Bu alanlara α_1 , α_2 ,

α_3 denir. α_1 kısmı 1-90., α_2 kısmı 91-180. ve α_3 kısmı 181- 271. aminoasitten oluşmuştur (Şekil 3, 4) (24,26).



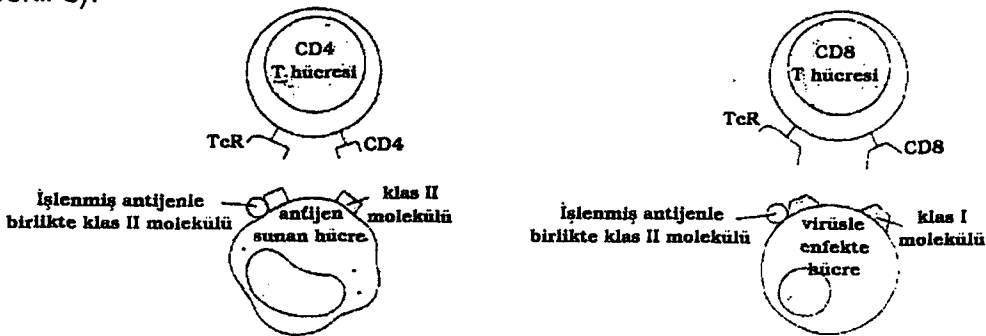
Şekil 3 : Klas I HLA molekülünün şematik görünümü



Şekil 4 : Klas I HLA molekülünün şematik kristalografik yapısı

Dağılım ve Fonksiyon :

HLA klas I molekülleri tüm çekirdekli hücrelerin yüzeylerinde bulunur. CD8 T lenfositin antijeni tanıyabilmesi için bu antijenin hücre yüzeyinde bulunan klas I molekülü ile beraber olması gerekir. Diğer bir deyimle T8 hücresinin reseptörü antijeni ancak klas I molekülü ile beraber olduğu zaman tanır. Antijen tanıdıktan sonra aktive olan sitotoksik T8 hücresi hedef hücreyi öldürür. Rejeksiyon esnasında T8 hücresi nonfizyolojik olarak yabancı klas I molekülünü de tanımaktadır (24,28) (Şekil 5).

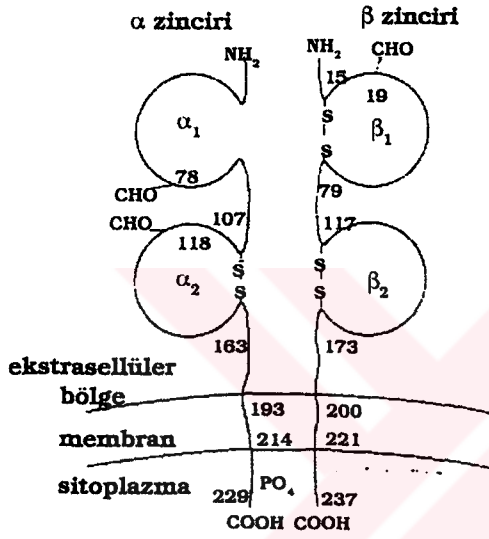


Şekil 5 : CD4 T hücresi (solda) işlenmiş antijene T hücre reseptörü (TcR) vasıtasıyla klas II molekülü ile birlikteyken ve klas II molekülünün non polimorfik bölgesindeki bir epitop yolu ile tanır. Aksine CD8 T hücresi (sağda) işlenmiş antijeni T hücre reseptörü (TcR) vasıtasıyla klas I molekülü ile birlikte iken ve klas I molekülünün nonpolimorfik bölgesindeki bir epitop yolu ile tanır.

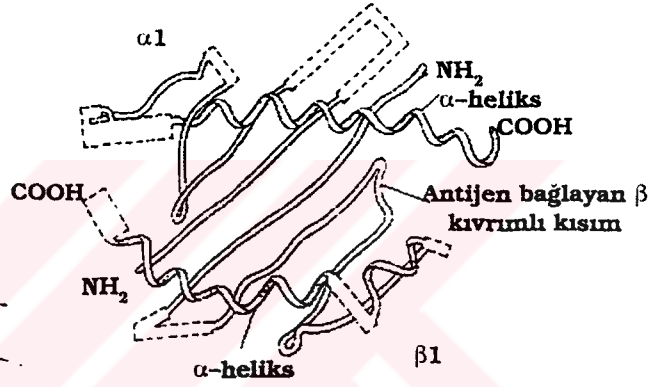
2- Klas II HLA molekülleri :

Yapı :

HLA-DR, DP ve DQ klas II molekülleri 2 zincirden meydana gelmiştir. Klas I molekülünün aksine her iki zincir de HLA kompleksinde yer almış genler tarafından sentezlenir (Şekil 2) (29) . Klas II molekülü α ve β zincirinden meydana gelmiştir. HLA-DR molekülündeki α zinciri 229 aminoasitten, β zinciri ise 237 aminoasitten oluşur. α ve β zincirleri 3 kısımdan meydana gelmiştir. Bunlar ekstrasellüler hidrofilik bölge, transmembran hidrofobik bölge ve intrasellüler hidrofilik bölgedir (Şekil 6,7).



Şekil 6 : HLA-DR molekülünün şematik görünümü



Şekil 7 : Klas II HLA molekülünün şematik kristalografik yapısı

Ekstrasellüler α zincirinin 2 bölgesi vardır. Bunlara α_1 ve α_2 bölgeleri denir. α_1 bölgesinde 1-84. aminoasitler, α_2 bölgesinde ise 85-178. aminoasitler bulunur. β zincirinin ekstrasellüler bölgesinde de β_1 ve β_2 olmak üzere 2 bölge mevcuttur. β_1 bölgesi 1-91. aminoasitten, β_2 bölgesi ise 92-192. aminoasitten oluşur. HLA -DQ molekülünün α zincirinde 234, β zincirinde 229 aminoasit, HLA-DP molekülünün α ve β zincirlerinde 229 aminoasit mevcuttur (24,26).

Dağılım ve Fonksiyon :

Klas II HLA moleküllerinin dağılımı daha sınırlıdır ve belirli hücrelerin yüzeylerinde bulunurlar. Bunlar B lenfositler, monositler, makrofajlar, dendritik hücreler ve epidermal Langerhans hücreleridir (28).

Klas II HLA moleküllerinin görevi immun cevabın başlangıcında T yardımcı hücrelerinin antijeni tanımasını sağlamaktır (Şekil 5) (24).

Anti - HLA antikoru

Kan transfüzyonları veya gebelik sonrasında periferik kan hücreleri üzerindeki antijenik yapılara karşı gelişen alloimmunizasyonunun değişik transfüzyon reaksiyonlarına yol açtığı uzun süredir bilinmektedir (7,30,32). Bu reaksiyonlardan FNHTR'nin anti-HLA antikoruyla ilgili olarak ortaya çıktığı ileri sürülmektedir (30,33-35). Ayrıca ender olmakla birlikte anti-HLA antikoruyla ilgili hemolitik transfüzyon reaksiyonları bildirilmiştir (36). Anti-HLA antikoru bu tip transfüzyon reaksiyonları dışında posttransfüzyon purpura ve allograft rejeksiyonuna bağlı transplant başarısızlığı gibi olaylardan sorumlu tutulmaktadır (37,38).

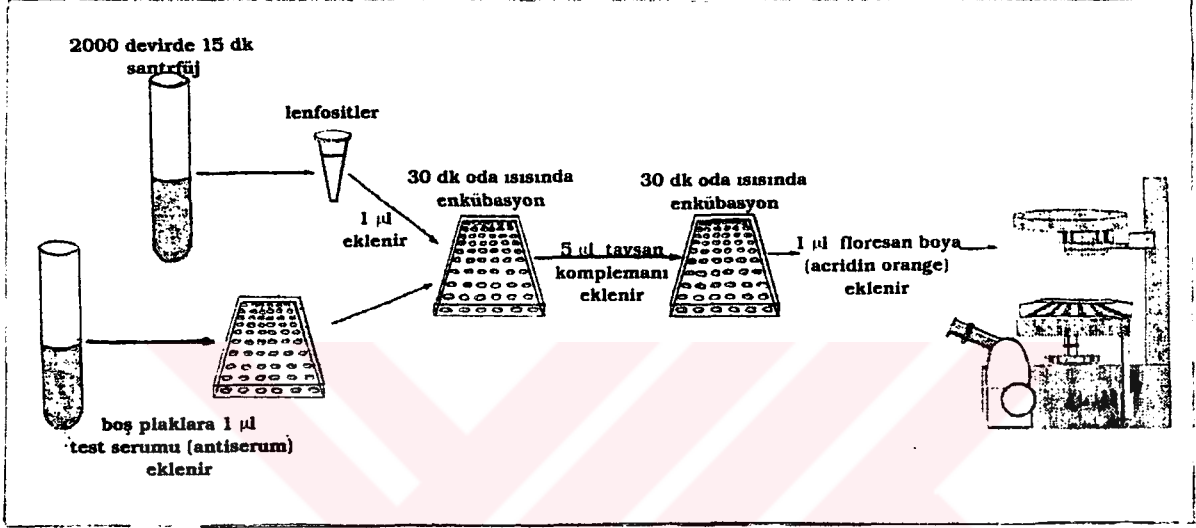
Intrakranial kanama açısından potansiyel risk taşıyan fetomaternal alloimmun trombositopeniden fetal trombositlerin maternal dolaşıma geçerek anneyi sensitize etmesi sonucu oluşan antikoruyla ilgili bildirilmektedir. Bu antikoruyla ilgili çoğu anti-PI^{A1} ve anti-PI^{A2} gibi trombosit spesifik antikoruyla olsa da anti - HLA antikoru saptanan vakalar da bildirilmiştir (11,39-42).

Hematolojik malignite veya trombositopenik hastaların tedavisinde transfüzyonlara bağlı olarak %40-50, bazı yayınlarda ise %30-70'lere varan oranlarda HLA alloimmunizasyonunun oluşumu ve bunun trombosit transfüzyonlarına karşı dirençlilik yaratması anti-HLA antikoruyla ilgili diğer önemli bir klinik yansımasıdır. Hastada trombosit transfüzyonunu takiben trombosit sayısında beklenen artış izlenemiyorsa trombosit transfüzyonuna dirençlilikten söz edilmektedir (43-48). Trombositler üzerinde PI^{A1} gibi trombosit spesifik antijenler yanında klas I HLA antijenleri de bulunur (49-51). Trombosit transfüzyonlarına dirençliliğin her iki cins antijene karşı gelişen antikoruyla ilgili olabileceği bildirilmektedir (50,52). Bu antikoruyla çeşitli absorpsiyon teknikleri ile ayırt edilebilir (53,54). Hastaların yaklaşık %50'sinde trombosit transfüzyonları devam etse de önceden oluşmuş anti-HLA antikoruyla ilgili giderek azaldığı, bunun anti-HLA antikoruyla karşı gelişen antiidiotipik antikoruyla ilgili olabileceği bildirilmektedir (55,56).

Anti - HLA antikorlarının çoğu IgG yapısındadır. Bu alloantikorlar 2 gruba ayrılırlar :

- 1) Tek bir HLA gen ürününü tanıyan antikorlar : Özgül antikorlar
- 2) Birden fazla HLA gen ürününü tanıyan antikorlar : Genel antikorlar (krosreaktif antikorlar)

Anti-HLA antikorları kompleman bağımlı mikrolenfositotoksisite tekniği ile saptanabilmektedir (29,57). Mikrolenfositotoksisite tekniğinin aşamaları şekil 8'de gösterilmiştir.



Şekil 8 : Modifiye Amos prosedürünün standart mikrolenfositotoksisite testi ile uygulanma evreleri.

Amos, standart mikrolenfositotoksisite yöntemini antijen-antikor enkübasyonundan sonra bir yıkama basamağı daha ilave ederek modifiye etmiştir. Buna modifiye Amos yöntemi denmektedir (38). Ek yıkama basamağı serumdaki komplemanı aktive eden immunglobulinlerin hücre membranlarına bağlanmasını önlemek suretiyle antikomplementer aktiviteyi ortadan kaldırmaktadır (26).

Febril Nonhemolitik Transfüzyon Reaksiyonları

FNHTR'nın henüz herkesce kabul edilmiş bir tanımı yoktur. Amerikan Kan Bankaları Birliği tarafından kan transfüzyonu esnasında başka bir nedenle açıklanamayan 1°C veya üzerindeki ısı artımı olarak tanımlanmıştır (17,33). Transfüze edilen lenfositler, granüositler veya trombositlerin hücre membranları üzerinde bulunan antijenlere karşı oluşmuş antikorlarca meydana getirilmektedir. FNHTR'da HLA antikorları yanında granüosit antikorları da saptanabilir. Ancak HLA antijenlerine

karşı alloimmunizasyon granülosit spesifik antijenlere karşı gelişen alloimmunizasyondan daha siktir. Örneğin gebelikte granülosit spesifik antijenlere karşı immunizasyon sadece %3 iken HLA antijenlerine karşı immunizasyon %25'den fazladır. HLA alloimmunizasyonu granülosit spesifik antijenlere karşı alloimmunizasyondan daha sık gerçekleşmekle beraber, anti-HLA antikoru granülosit antikoru göre FNHTR'nin daha az bir bölümünden sorumludur (3).

FNHTR eritrosit transfüzyonlarının yaklaşık %1'inde, trombosit transfüzyonlarının yaklaşık %30'unda görülür. Ateş, FNHTR'nin belli başlı bulgusudur. Ateşin transfüze edilen kandaki lökositlerden IL-1 ve IL-6 salınmasına bağlı olduğu sanılmaktadır. Çeşitli hücrelerin membranlarında her sitokin için spesifik sellüler reseptörler bulunur. Sitokin - sellüler reseptör etkileşimi spesifik biyolojik bir yanıtın tetiğini çeker. IL-1 ve IL-6 salınması ile oluşan febril yanıtın hipotalamustaki ateş merkezinde bulunan hücrelerce PGE₂ üretimine bağlı olduğu düşünülmektedir (17).

Yenidoğanların antikor üretme kapasiteleri sınırlıdır. Bununla beraber, yenidoğan döneminde FNHTR tanımlanmamış olsa da birden fazla transfüzyon yapılan yenidoğanların anti-HLA antikoru oluşturabileceği bildirilmektedir (6).

Eritrosit suspansiyonlarından lökositlerin %75-90 oranında uzaklaştırılmasının FNHTR'nin ortaya çıkışında önemli bir azalma meydana getirdiği gösterilmiştir (58). Bu gözlemler özellikle multipl veya masif kan transfüzyonu alan hastalara lökositten fakir kan ürünlerinin transfüze edilmesi gerekliliğini ortaya koymuştur (17).

Lökositten Fakir Eritrosit Ürünlerinin Hazırlanması

Bu amaçla geliştirilmiş birçok teknik vardır:

Sentrifugasyon : Plazmadan hücreleri, ayrıca bir hücre tipinden diğerini ayırmada en sık kullanılan tekniktir. Lökositleri %70-80 oranında uzaklaştırır. Dezavantajı %20'lere varan eritrosit kaybı olmasıdır. Kapalı sistem kullanıldığından bakteriyel kontaminasyon riski yoktur (59).

Sedimentasyon: Eritrositler fizyolojik dilusyonlarda uzun süre suspansiyon halinde kalırlar. Bu suspansiyona makromoleküler "dextran polyvinyl pyrrolidone" veya "hidroxyetyl starch" eklenmesi ile rulo formasyonu ve sedimentasyon oluşur. Dansitelerine göre eritrosit, lökosit ve plazma ayrı katmanlara ayrılır. Tek sedimentasyon ile lökosit içeriğinde %80, çift sedimentasyon ile %95 azalma sağlanır. İşlem

sırasında sadece %5 eritrosit kaybı olur. Yöntemin zaman alması ve açık sistemle uygulanması kullanımını kısıtlamaktadır (21).

Eritrosit Yıkama Tekniği : Eritrositlerin serum fizyolojik içinde dilue edildikten sonra santrifüje edilmesi ile kan komponentlerinin spesifik dansitelerine göre ayrılması işlemidir. Yöntemin en önemli avantajı plazmayı %95 oranında ayırmasıdır. Lökositleri %70-95 azaltır. Eritrosit kaybı yaklaşık %15'tir (59-62).

Dondurulmuş-Eritilmiş-Yıkanmış Eritrositler : Eritrositler önce kriyoprotektif bir ajan olan ve hücre lizisini önleyen gliserol eklenerek dondurulur. Gliserol lökosit ve trombositlerle birleşmediğinden bu hücrelerin membranları rüptüre olur ve bu fragmanlar yıkama işlemi sırasında uzaklaştırılır. Bu yöntemle lökosit içeriğinde %95-100 azalma olur. Dezavantajı pahalı bir yöntem olması ve eritme esnasında eritrositlerin hemolize olmamaları için büyük çaba ve dikkat gerektirmesidir (21,59).

Lökosit Filtresinden Geçirilmiş Eritrositler : Lökositten fakir eritrosit suspansiyonu temin etmenin en kolay ve etkili yolu lökositlere spesifik filtrelerin kullanılmasıdır (34,62). 1980'de Wenz ve arkadaşları FNHTR'nı önlemek üzere granülositleri uzaklaştırmak için transfüzyon esnasında mikroagregat kan filtresini kullanmışlardır. Bu pasif filtrasyon tekniği ile gerçekten kandaki granülositlerin uzaklaştırıldığı görülmüştür. Ancak bu ilk filtreler ile spesifik olarak lökositlerin azaltılmasından ziyade mikroagregatlar uzaklaştırılmıştır. 1983'de mikroagregat filtrasyon yöntemine bir prefiltrasyon sentrifugasyon aşaması eklenerek lökosit uzaklaştırılmasının etkinliği artırılmıştır. "Spin and filter" (SF) olarak adlandırılan bu teknik ile sadece filtrasyon tekniğine kıyasla %20 oranda daha fazla etkinlik temin edilmiştir. Ancak SF tekniğinin etkinliği kanın depolanma süresine de bağlıdır (3). Bu sorunun çözümü için Parravicini ve arkadaşları 1984'de taze kanın mikroagregat filtresinden geçirilmesini önermişlerdir. Daha sonra aynı araştırmacılar SF tekniğini santrifüje edilen kanın filtrasyon aşamasından önce en az 4 saat + 4 °C'de bekletme basamağını eklemek suretiyle modifiye etmişlerdir. Bu önceden oluşmuş agregatların biraraya gelmesini sağlayarak lökositlerin uzaklaştırılmasını artırmıştır. Bu tekniğe de "Spin, cool, filter" (SCF) denmektedir. SCF sonucu bir ünite kanda kalan lökosit sayısı 0.5×10^9 'dur Bu yöntemle lökositlerin %95'i uzaklaştırılabilmektedir (3,58,63).

Lökositlerin kütleli çaplarının değişkenlik göstermesi sebebiyle sadece mekanik süzme yöntemi ile istenen sonuçların temin edilemediğinin görülmesi üzerine selektif adsorbsiyon temeline dayanan yeni filtreler imal edilmiştir (34,59). Bu amaçla ilk imal edilen filtreler naylon lifler içermekte ve ağırlıklı olarak heparinize kandaki granülositleri tutmaktaydı. Sonradan geliştirilen cottonwool, cellulose veya cellulose acetate orjinli sentetik mikrofiber materyal içeren lökosit filtreleri ile lökositlerin %95-99.5 oranında uzaklaştırılması sağlanmıştır (34). Modern lökosit filtrelerinin sentetik mikrofiber filtre materyali yüzey gerilimini ve elektriksel yükü değiştirebilir. Filtrenin küçük porlardan oluşan mikrofiber ağı bariyer fenomeni oluşturarak ve total adsorbsiyon yüzeyini artırarak lökositlerin tutulmasını sağlar. Kan hücreleri, plazma ve filtre lifleri arasındaki optimum yüzey gerilimi kanın küçük porlardan efektif olarak akışını sağlarken hücreler ile materyalin temasını kolaylaştırır. Bariyer retansiyonu tüm modern lökosit filtrelerinin esas mekanizmasını oluşturmaktadır (64,65). Bu mekanizma adezyon ile desteklenmektedir. Eritrosit, lenfosit, monosit, granülosit ve trombositlerin filtre liflerine adezyonu farklılık gösterir. Lenfosit, monosit ve granülositler filtre liflerinde direkt olarak tutulmaktadır. Bu olay hücre yüzeylerinde adezyon moleküllerinin bulunması ile açıklanmıştır. Lökosit ve trombosit etkileşimi sonucu lökosit filtreleriyle lökositlerin yanında bir miktar trombosit de tutulmaktadır.

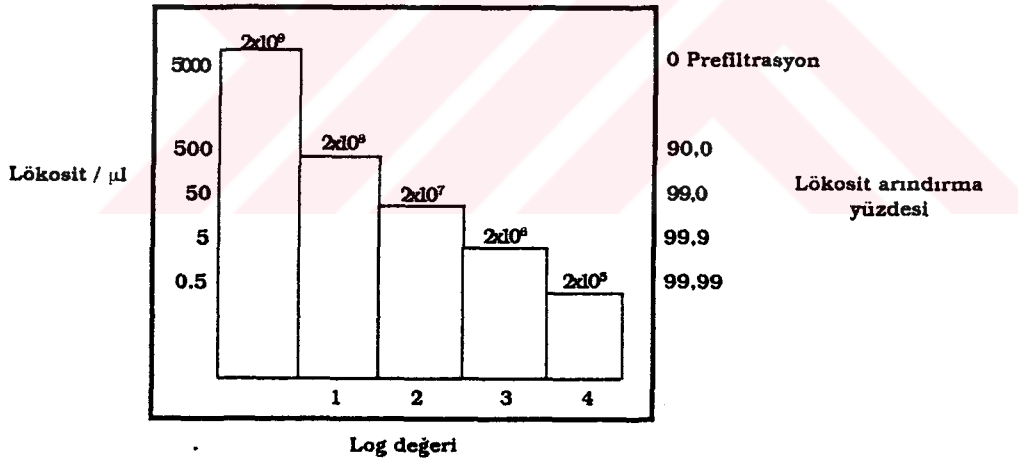
Üçüncü jenerasyon olarak bilinen polyester lif içeren lökosit filtreleri ile lökosit içeriğinde %99.9 azalma sağlanmaktadır (52,66). Kan ürünlerindeki lökositleri daha da azaltmaya yönelik çalışmalar sonucu üretilen dördüncü jenerasyon lökosit filtrelerinin lökosit arındırma etkinliği %99.99'a ulaşmıştır.

Lökosit filtrelerinin hassasiyetlerini ifade etmede lökosit arındırma kapasitesi, log değeri ve rezidüel lökosit sayısı kullanılmaktadır. Lökosit arındırma kapasitesi, 1 µl kandaki filtrasyon öncesi lökosit sayısının filtrasyon sonrası lökosit sayısına oranının 1'den çıkarılıp 100 ile çarpılması sonucu elde edilir. Log değeri, lökosit arındırma kapasitesinin logaritmik olarak gösterilmesidir. Rezidüel lökosit sayısı ise filtre edilen bir ünite kandaki total lökosit miktarını belirtmektedir. Tablo 9'da lökosit arındırma kapasitesi, log değeri ve rezidüel lökosit sayıları arasındaki ilişki gösterilmiştir.

Lökosit arındırma kapasitesi	Log değeri	Rezidüel lökosit sayıları		
		μl	ml	1U = 400 ml
Pre filtrasyon		5000	5×10^6	2×10^9
%90	1	500	5×10^5	2×10^8
%99	2	50	5×10^4	2×10^7
%99.9	3	5	5×10^3	2×10^6
%99.99	4	0,5	5×10^2	2×10^5

Tablo 9 : Lökosit arındırma kapasitesi, log değeri ve rezidüel lökosit sayıları

Filtrasyon öncesi 5000 lökosit/ μl olan lökosit sayısı filtrasyon sonrası 500/ μl 'ye azaltılırsa %90 (1 log) lökosit arındırma etkinliği elde edilmiş olur. Filtrasyon ile 50 lökosit / μl lökosit sayısı %99 (2 log), 5 lökosit/ μl ile %99.9 (3 log), 0,5 lökosit/ μl ile %99.99 (4 log) oranında lökositlerin uzaklaştırılması sağlanmış olur. Şekil 9'da lökosit/ μl , lökosit arındırma kapasitesi ve log değeri arasındaki ilişki sütun halinde gösterilmiştir (67).



Şekil 9 : Rezidüel lökosit sayıları ve log derecelendirmesi

Kan ürünlerinin lökosit filtresinden süzülerek transfüze edilmesinin alıcıya geçen lökosit sayısını azaltmak suretiyle anti-HLA antikor oluşumunda anlamlı azalma meydana getirdiği bilinmektedir (7). Ancak yenidoğan döneminde bu konu ile ilgili bilgiler çok yetersizdir. Bu çalışmada yenidoğan döneminde eritrosit transfüzyonu veya exchange transfüzyon uygulanması esnasında lökosit filtresi kullanımının anti-HLA antikor oluşumuna etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastalar

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Neonatoloji Ünitesi'nde yatırılarak eritrosit transfüzyonu veya exchange transfüzyon uygulanan term ve preterm yenidoğanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Exchange transfüzyon veya eritrosit transfüzyonu, çalışma grubunu oluşturan 12 yenidoğanda lökosit filtresi kullanılarak uygulanmış, kontrol grubunu oluşturan 12 yenidoğanda filtre kullanılmamıştır.

Çalışma grubundaki eritrosit transfüzyonu yapılan bebeklerin tümü pretermdir ve bütün bebekler en az 2 kez eritrosit transfüzyonu almıştır (Tablo 10).

Beş numaralı bebek prematürite ve RDS tanıları ile izlenmekte iken 4. günde kapiller Hct değerinin %37 bulunması nedeniyle eritrosit transfüzyonu almış, sonraki izleminde PDA ve sepsis saptanan bebeğe 11 günlükken bakılan kapiller Hct değerinin %33 bulunması üzerine bir kez daha eritrosit transfüzyonu uygulanmıştır.

Altı numaralı bebek prematürite ve PDA tanıları ile izlenirken 4. günde apnelerinin ortaya çıkması ve kapiller Hct değerinin %35'e düşmesi sebebi ile eritrosit transfüzyonu almıştır. Daha sonra sepsis geliştiren bu bebeğe 16 günlükken Hct değerinin %39'a düşmesi üzerine tekrar eritrosit suspansiyonu transfüze edilmiştir. Bundan sonraki izleminde prematürite anemisi geliştiren bebeğin Hct düzeyinin 42 günlükken %25'e dek düşmesi nedeniyle bir kez daha eritrosit transfüzyonu uygulanmıştır.

Yedi numaralı bebek prematürite, RDS ve sepsis tanılarıyla izlenirken 20. gününde Hct düzeyinin %30'a dek inmesi üzerine bir kez, 25. gününde de Hct'in %29 bulunması nedeni ile ikinci kez eritrosit transfüzyonu almıştır.

Kontrol grubundaki eritrosit transfüzyonu yapılan bebeklerden 3'ü preterm, 1'i termdir (Tablo 11).

Üç numaralı bebekte prematürite, RDS, sepsis ve PDA saptanmıştır. İzleminde 28 günlükken Hct düzeyinin %35 olması üzerine eritrosit transfüzyonu yapılmıştır. 38 günlükken apneleri gözlenen bebekte akciğer ödemi tespit edilmiş, Hct %32 bulunmasından ötürü tekrar eritrosit transfüzyonu uygulanmıştır.

Dört numaralı bebekte prematürite ve PDA saptanmış, 11. günde apneleri gözlenen bebekte Hct değerinin %35 bulunması üzerine eritrosit suspansiyonu

Hasta No	Cinsiyet	Gestasyonel yaş (hafta)	Vücut ağırlığı (gr)	Tanı	Transfüzyonun Türü	Transfüzyon sayısı	1. değerlendirme yaşı (gün)	2. değerlendirme yaşı (gün)
1	E	40	3200	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 23.5 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	6	36
2	E	33	1700	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 18.1 mg/dl) prematürite, hipoglisemi	Exchange transfüzyon	1	14	44
3	E	41	3200	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 21.4 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	5	28
4	K	40	3000	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 20.5 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	6	53
5	E	28	1100	Prematürite, sepsis RDS , NEC, PDA	Eritrosit transfüzyonu	2	4	45
6	E	28	1040	Prematürite, intrakranial kanama, PDA	Eritrosit transfüzyonu	3	4	72
7	E	30	1900	Prematürite	Eritrosit transfüzyonu	2	20	70
8	K	40	3300	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 21.5 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	8	38
9	K	38	2300	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 20.1 mg/dl), SGA, hipoglisemi	Exchange transfüzyon	1	5	35
10	K	39	2800	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 21.6 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	4	64
11	E	40	3500	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 20.5 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	6	36
12	K	40	3350	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 21 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	5	35

Tablo 10 : Çalışma grubundaki bebeklerin özellikleri

Hasta No	Cinsiyet	Gestasyonel yaş (hafta)	Vücut ağırlığı (gr)	Tanı	Transfüzyonun Türü	Transfüzyon sayısı	1. değerlendirme yaşı (gün)	2. değerlendirme yaşı (gün)
1	E	40	3500	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 21 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	4	39
2	E	41	3100	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 24.4 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	12	49
3	E	30	1470	Prematürite, RDS	Eritrosit transfüzyonu	2	28	68
4	K	28	1190	Prematürite, PDA, Rh uygunsuzluğu, sepsis	Eritrosit transfüzyonu	3	11	66
5	K	40	3500	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 20.1 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	2	52
6	K	39	3700	Meningomyelose	Eritrosit transfüzyonu	1	25	60
7	K	28	1200	Prematürite, sepsis	Eritrosit transfüzyonu	2	19	56
8	E	40	3400	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 22.7 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	6	52
9	E	32	1580	Prematürite, indirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 17.2 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	3	40
10	E	42	3200	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 22.5 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	6	47
11	E	40	3400	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 21.2 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	9	40
12	E	39	2800	İndirekt hiperbilirubinemi (total bilirubin 21 mg/dl)	Exchange transfüzyon	1	6	39

Tablo 11 : Kontrol grubundaki bebeklerin özellikleri

verilmiştir. 15 günlükken sepsis geliştiren bebeğin 20. günde Hct 'inin %30 saptanması üzerine ikinci kez ve 36. günde Htc'inin %32 saptanması üzerine üçüncü kez eritrosit transfüzyonu uygulanmıştır.

Altı numaralı bebek enfekte meningomyelosele tanısı ile 3 günlükken başvurup ventriküloperitoneal şant operasyonu planlanan term bebektir. 25 günlükken preoperatif venöz Hct değeri %25 bulunan bebekte aneminin etiyolojisine yönelik yapılan tetkikler normal bulunmuş ve anemi iyatrojenik olarak tetkik amaçlı fazla kan alınması ve enfeksiyonuna bağlanmıştır. Operasyona girmeden önce hastaya eritrosit suspansiyonu verilmiştir.

Yedi numaralı bebekte, prematürite sebebi ile izlenirken, 19. günde apne ve sepsis gelişmiş, Hct'in %30 saptanması üzerine bir kez, 29 günlükken %27 saptanması üzerine de ikinci kez eritrosit suspansiyonu transfüze edilmiştir.

Çalışma grubundaki exchange transfüzyon yapılan 9 bebekten 1'i dışında tümü termdir. Preterm bebekte ABO uygunsuzluğu saptanmıştır. Term bebeklerden de birinde ABO uygunsuzluğu saptanmış, diğer bebeklerde indirekt hiperbilirubineminin nedeni mevcut laboratuvar tetkikleri ile ortaya konamamıştır.

Kontrol grubundaki exchange transfüzyon yapılan 8 bebekten 1'i dışında tümü termdir. ABO uygunsuzluğu saptanan 2 bebek dışındaki bebeklerde indirekt hiperbilirubineminin nedenleri mevcut laboratuvar tetkikleri ile ortaya konamamıştır.

Lökosit Filtresinin özellikleri

Çalışmada Leucostop-4LT (Miramed, Italy) yatak başı lökosit filtreleri kullanılmıştır. Bunlar 3. jenerasyon lökosit filtreleridir ve tam kan ve eritrosit suspansiyonu transfüzyonunda kullanılmaktadır. Bariyer fenomeni ve selektif adsorbsiyon mekanizması yolu ile lökosit ve önemli bir miktar trombositleri uzaklaştırmaktadır. Kan woven-nonwoven polyesterden ibaret filtreden geçerken lökosit ve trombositler filtre materyelinin liflerine yapışmakta ve burada hapsolmaktadırlar. Diğer 3. jenerasyon filtreler gibi lökosit arındırma kapasitesi > %99.9 (>3log), trombosit arındırma kapasitesi >%95 ve rezidüel eritrosit sayısı >%90 olarak bildirilmektedir (65).

Anti-HLA Antikorlarının Aranması

Olgulardan ilk kan örneği exchange transfüzyon veya eritrosit transfüzyonu yapılmadan hemen önce alınmıştır. Bundan amaç exchange transfüzyon veya eritrosit transfüzyonundan önce serumda anti-HLA antikorları var olup olmadığının gösterilmesidir.

İkinci kan örneği anneden pasif olarak transfer edilmiş anti-HLA antikorlarının negatifleşebilmesi ve yeni anti-HLA antikorlarının oluşabilmesi için yeterli sürenin geçmesi amacı ile exchange transfüzyon veya sonuncu eritrosit transfüzyonundan en az 3-4 hafta sonra olacak şekilde alınmıştır. Kan örnekleri 1ml miktarda, düz tüplere alınmış, santrfüje edilerek serumları ayrılmış, çalışmanın yapılacağı zamana dek -20°C'de saklanmıştır. Serumlardaki anti-HLA antikorları modifiye Amos tekniği kullanılarak aranmıştır (26).

Lenfosit İzolasyonu

Serumlarda anti-HLA antikorlarının aranması için şimdiye dek tanımlanmış HLA spesifitelerinin çoğunu içeren ve mümkün olduğunca geniş kapsamlı bir donör paneli oluşturmak üzere rastgele seçilmiş sağlıklı 30 kişinin kan örneklerinden izole edilen lenfositlerden yararlanılmıştır. Bu amaçla, seçilen her kişiden edilen diamin tetraasetik asit (EDTA) içeren tüplere en az 3-4 ml kan alınmıştır. Her bir kan örneği düz tüpte eşit miktarda fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkanmış, daha sonra bu karışım 1 hacim ficoll hipaque (Histopaque 1077, Sigma Diagnostica) üzerine 3 hacim karışım olacak şekilde pastör pipeti kullanılarak tabakalandırıldıktan sonra 2000 devirde 15 dakika santrfüje edilmiştir. Santrfüj sonrası interfazda plazma ile ficoll hipaque arasında tabakalanan mononükleer hücreler pastör pipeti kullanılarak aspire edilmiş ve 0,5 ml RPMI 1640 ile dilue edilmiştir. Lenfositler coulter counter (Coulter Electronics Ltd, Luton, UK) ile sayılmış, lenfosit sayısı, üzerine PBS ilave edilerek ortalama 2.000.000 - 3.000.000/ml arasında olacak şekilde ayarlanmıştır.

Modifiye Amos Tekniği

Çalışmada 72 kuyucuk içeren boş terasaki plakları kullanılmıştır (One Lambda Inc, Los Angeles, CA). Lenfositleri izole edilen her kişi için bir plak olmak üzere toplam 30 tane boş terasaki plağı işleme alınmıştır. Her plağın birinci kuyucuğuna pozitif kontrol (Anti lymphocyte serum, One Lambda Inc, Los Angeles, CA), ikinci

kuyucuğuna negatif kontrol (Normal Serum, One Lambda Inc, Los Angeles, CA) konulmuş, daha sonra sıra ile her kuyucuğun içine ayrı bebeğe ait olan serum konmuştur. Çalışma grubu ve kontrol grubundaki toplam 24 bebeğin exchange transfüzyon veya eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrasına ait ikişer serum örneği her plağa eklenen ayrı lenfositlerle teker teker karşılaştırılmıştır (24 bebek x 2 serum örneği x 30 ayrı kişiye ait lenfosit ekilen plak = 1440 kuyucuk). Bu amaçla terasaki plaklarındaki boş kuyucuklara önce her bebeğe ait birinci ve ikinci serum örneklerinden hamilton şırıngası ile 1 µl konmuştur. Bunların üzerine, lenfositlerin çökmesini kolaylaştırmak için 15-20 µl mineral oil eklenmiştir. Ardından her kuyucuğa 1 µl lenfosit suspansiyonu ilave edilerek oda sıcaklığında 30 dakika enkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda plaklar PBS ilave edilerek yıkanmış, daha sonra her bir kuyucuğa 5 µl Class I tavşan komplemanı (One Lambda Inc, Los Angeles, CA) eklenerek 1 saat daha oda sıcaklığında beklenmiştir. Bunun sonunda plaklar tekrar PBS ile yıkanmıştır. Mikrolenfositotoksisitenin gösterilmesi amacı ile son olarak tüm kuyucuklara 1 µl acridin orange çalışma solüsyonu eklenmiş ve 8-10 dakika beklendikten sonra plaklar ölü ve canlı hücreleri görmek üzere 10 x fluoro objektif ve 10 x eyepiece ile floresan ataçmanlı inverted mikroskop ile incelenmiştir (Nikon FX - 35 DX).

Mikrolenfositotoksisitenin Değerlendirilmesi

Anti-HLA antikoru ile karşılaşma sonucu ölen hücreler boyayı almışlar ve mikroskop altında kırmızı renkte floresans vermişlerdir. Canlı hücreler ise boyayı almamışlar ve yeşil floresans vermişlerdir. Negatif kontrole göre hücrelerin yüzdesi dikkate alınarak skorlama yapılmıştır (Tablo 12).

Skor	Yorum	Ölü Hücre (%)
1	Negatif	0-10
2	Şüpheli negatif	11-20
4	Zayıf pozitif	21-50
6	Pozitif	51-80
8	Kuvvetli pozitif	81-100
0	Değerlendirme yapılamadı	Hücre yok

Tablo 12 : Mikrolenfositotoksisitenin değerlendirilmesi

Mikrolenfositotoksisite reaksiyonunun değerlendirilmesinde 4 ve üzeri olarak skorlanan kuyucuklarda anti-HLA antikor varlığı pozitif olarak kabul edilmiştir .

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma ve kontrol gruplarının HLA alloimmunizasyonu yönünden istatistiksel olarak değerlendirilmesi Stat View II hazır istatistik programında Yates düzeltmeli Ki-kare testi ile yapılmıştır. 0.05'ten küçük "p" değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



BULGULAR

Yenidoğan döneminde eritrosit transfüzyonu veya exchange transfüzyon uygulanması esnasında lökosit filtresi kullanılmasının anti-HLA antikorlarının oluşumuna etkisini araştırmak amacı ile yapılan bu çalışmada lökosit filtresi kullanılan 12 yenidoğan çalışma grubunu, lökosit filtresi kullanılmayan 12 yenidoğan kontrol grubunu oluşturmuştur. Çalışma grubunu oluşturan yenidoğanların 8'i term, 4'ü pretermdir. Preterm bebeklerin gestasyonel yaşları $29,75 \pm 2,36$ (28-33) haftadır. Çalışma grubundaki term bebeklerin tümüne exchange transfüzyon, preterm bebeklerden 1 tanesine exchange transfüzyon, 3 tanesine eritrosit transfüzyonu uygulanmıştır (Tablo 13).

	Term	Preterm	Toplam
Exchange transfüzyon	8	1	9
Eritrosit transfüzyonu	-	3	3
Toplam	8	4	12

Tablo 13 : Çalışma grubunu oluşturan yenidoğanların matürite ve transfüzyonun türüne göre dağılımı

Kontrol grubunu oluşturan yenidoğanların 8'i term, 4'ü pretermdir. Preterm bebeklerin gestasyonel yaşları $29,50 \pm 1,91$ (28-32) haftadır. Term bebeklerden 7 tanesine exchange transfüzyon, 1 tanesine eritrosit transfüzyonu, preterm bebeklerden 1 tanesine exchange transfüzyon, 3 tanesine eritrosit transfüzyonu uygulanmıştır (Tablo 14).

	Term	Preterm	Toplam
Exchange transfüzyon	7	1	8
Eritrosit transfüzyonu	1	3	4
Toplam	8	4	12

Tablo 14 : Kontrol grubunu oluşturan yenidoğanların matürite ve transfüzyonun türüne göre dağılımı

Olgulardan exchange transfüzyon veya eritrosit transfüzyonu yapılmadan önceki ilk kan örneği çalışma grubunda $7,25 \pm 4,86$ (4-20.) günde, kontrol grubunda $10,91 \pm 8,64$ (2-28.) günde alınmıştır. İkinci kan örneği exchange transfüzyon veya sonuncu eritrosit transfüzyonundan en az 3-4 hafta sonra olacak şekilde, çalışma grubunda ortalama $34,58 \pm 10,42$ (23-60) gün, kontrol grubunda $36,00 \pm 6,82$ (27-50) gün sonra alınmıştır.

Çalışma ve kontrol gruplarını oluşturan yenidoğanların tanıları, cinsiyet, vücut ağırlığı, gestasyonel yaş, transfüzyonun türü, exchange transfüzyon yapılanlarda total bilirubin değeri, 1. ve 2. değerlendirme esnasındaki yaşları ve transfüzyon sayıları tablo 10 ve tablo 11'de görülmektedir.

Anti-HLA antikörlerinin varlığını saptamada kullanılan 30 lenfosit plağında 4'ü teknik nedenlerle iptal edilmiştir. Kalan 26 plaktaki toplam 1248 kuyucuk anti-HLA antikör pozitifliği yönünden değerlendirilmiştir. Çalışma ve kontrol gruplarındaki olguların tek tek değerlendirme sonuçları tablo 15 ve 16'da görülmektedir.

Hasta No	Anti-HLA antikörleri							
	-				+			
	T.Ö.	T.S.	T.Ö.	T.S.	T.Ö.	T.S.	T.Ö.	T.S.
	+ → -	- → -	- → -	- → -	+ → +	+ → +	- → +	- → +
1	●							
2			●					
3			●					
4	●							
5	●							
6			●					
7	●							
8					●			
9					●			
10					●			
11	●							
12	●							

Tablo 15 : Çalışma grubundaki bebeklerin transfüzyon öncesi ve sonrasında anti-HLA antikör pozitifliği yönünden değerlendirilmesi

T.Ö. : Transfüzyon öncesi
T.S. : Transfüzyon sonrası

Hasta No	Anti-HLA antikörleri							
	-				+			
	T.Ö.	T.S.	T.Ö.	T.S.	T.Ö.	T.S.	T.Ö.	T.S.
	+ → -	- → -	- → -	- → -	+ → +	+ → +	- → +	- → +
1							●	
2					●			
3							●	
4	●							
5							●	
6			●					
7					●			
8					●			
9					●			
10					●			
11					●			
12					●			

Tablo 16 : Kontrol grubundaki bebeklerin transfüzyon öncesi ve sonrasında anti-HLA antikör pozitifliği yönünden değerlendirilmesi

T.Ö. : Transfüzyon öncesi
T.S. : Transfüzyon sonrası

Çalışma grubunun değerlendirilmesi (Tablo 17) sonucunda, 4'ü exchange transfüzyon, 2'si eritrosit transfüzyonu almış toplam 6 bebekte transfüzyon öncesinde anti-HLA antikorları saptanırken bunların transfüzyondan sonra kaybolduğu görülmüştür.

Anti - HLA antikorları		Exchange transfüzyon	Eritrosit transfüzyonu	Toplam
Transfüzyon öncesi	Transfüzyon sonrası			
+	→ -	4	2	6
-	→ -	2	1	3
+	→ +*	3	-	3
-	→ +	-	-	-
Toplam		9	3	12

Tablo 17 : Çalışma grubundaki bebeklerin transfüzyonun türü ve transfüzyon öncesi ve sonrasında anti-HLA antikor pozitifliğine göre dağılımı

* Transfüzyon öncesinde ve sonrasında saptanan anti-HLA antikorları farklı HLA spesifitelerine karşı gelişmiş antikorlardır.

İkisi exchange transfüzyon, biri eritrosit transfüzyonu almış toplam 3 bebekte transfüzyon öncesinde ve sonrasında anti-HLA antikorları saptanmamıştır. Buna karşın exchange transfüzyon yapılan 3 bebekte transfüzyondan sonra anti-HLA antikorları saptanmıştır. Bu 3 hastada exchange transfüzyon öncesinde de anti-HLA antikorları saptanmış olmakla beraber bu antikorlar transfüzyon sonrası antikorlardan farklıdır. Bu farklılık bebeğin transfüzyon öncesi serumunun aynı plakta yani aynı kişinin lenfositleri ile reaksiyon vermezken, transfüzyon sonrası serumunun reaksiyon vermesi ile, diğer bir deyişle yeni anti-HLA antikorları yapmış olması ile ortaya konmuştur. Transfüzyon öncesinde anti-HLA antikorları saptanan bu 3 bebekten 2'sinde antikorların 2. kan örneği alındığı zamanda da sebat ettiği görülmüştür. İkinci kan örneği ilk bebekte exchange transfüzyondan 30 gün sonra, 2. bebekte 60 gün sonra elde olunmuştur. 3. bebekte ise 30. günde elde edilen kan örneğinde, önceden varolan anti-HLA antikorlarının kaybolduğu izlenmiştir.

Sonuç olarak çalışma grubundaki 12 bebekten 3 tanesinde (%25) anti - HLA antikorları geliştiği saptanmıştır.

Kontrol grubunun değerlendirilmesi (Tablo 18) sonucunda eritrosit transfüzyonu alan 1 bebekte transfüzyon öncesinde anti-HLA antikorları saptanırken bunların transfüzyondan sonra kaybolduğu görülmüştür.

Anti - HLA antikorları		Exchange transfüzyon	Eritrosit transfüzyonu	Toplam
Transfüzyon öncesi	Transfüzyon sonrası			
+	→ -	-	1	1
-	→ -	-	1	1
+	→ +*	6	1	7
-	→ +	2	1	3
Toplam		8	4	12

Tablo 17 : Kontrol grubundaki bebeklerin transfüzyonun türü ve transfüzyon öncesi ve sonrasında anti-HLA antikor pozitifliğine göre dağılımı

* Transfüzyon öncesinde ve sonrasında saptanan anti-HLA antikorları farklı HLA spesifitelerine karşı gelişmiş antikorlardır.

Eritrosit transfüzyonu alan 1 bebekte transfüzyon öncesinde ve sonrasında anti-HLA antikor saptanmamıştır. Buna karşın exchange transfüzyon yapılan 6 ve eritrosit transfüzyonu yapılan 1 bebek olmak üzere toplam 7 bebekte transfüzyon öncesinde anti-HLA antikorları saptanmış olmakla beraber transfüzyon sonrasında bunlardan farklı anti-HLA antikorları saptanmıştır. Bu 7 bebekten hepsi de exchange transfüzyon almış olan 5 bebekte transfüzyon öncesinde var olan anti-HLA antikorlarının 46., 37., 41., 31., ve 33. günlerde olmak üzere alınan 2. kan örneklerinde de sebat ettiği gözlenmiştir. Diğer 2 bebekten eritrosit transfüzyonu yapılan bebekte önceden saptanan anti-HLA antikorunun 27. günde alınan 2. kan örneğinde, exchange transfüzyon yapılan bebekte 37. günde alınan 2. kan örneğinde kaybolmuş olduğu saptanmıştır.

İki tanesi exchange transfüzyon, 1 tanesi eritrosit transfüzyonu olmak üzere toplam 3 bebekte transfüzyon öncesinde anti-HLA antikorları saptanmazken transfüzyon sonrasında antikor geliştiği gözlenmiştir.

Sonuç olarak kontrol grubundaki 12 bebekten 10 tanesinde (%83.33) anti-HLA antikorları geliştiği saptanmıştır.

Çalışma grubundaki bebeklerden 9'unun (%75), kontrol grubundaki bebeklerden ise 8'inin (%66,66), sonuç olarak toplam 24 bebekten 17'sinin (%70,83) serumlarında transfüzyondan önce muhtemelen transplasental yolla pasif olarak anneden kazanılmış olduğu düşünülen anti-HLA antikoru saptanmıştır. Bu antikoru 17 bebekten 10'unda (%58,82) $33,60 \pm 7,01$ (27-47) gün sonra alınan ikinci kan örneğinde kaybolmuş veya saptanamayacak düzeylere inmiş oldukları görülmüştür. (Çalışma grubundaki 9 bebekten 7'sinde (%77,77) $34,57 \pm 7,82$ (30-47) gün, kontrol grubundaki 8 bebekten 3'ünde (%37,50) $31,33 \pm 5,13$ (27-37) gün sonra)

Transfüzyona bağlı alloimmunizasyon sonucu gelişen anti-HLA antikoru çalışma grubunda transfüzyondan $40,00 \pm 17,32$ (30-60) gün sonra, kontrol grubunda $36,70 \pm 7,22$ (27-50) gün sonra saptanmıştır.

Plaklar üzerindeki lenfositotoksiste reaksiyonu veren kuyucukların değerlendirilmesi sonucunda çalışma grubundaki bebeklere ait toplam 290 kuyucuktan sadece 4 tanesinde (%1,38) anti-HLA antikoru saptanırken, kontrol grubundaki bebeklere ait toplam 287 kuyucuktan 34 tanesinde (%11,85) anti-HLA antikoru saptanmıştır.

Lökosit filtresi kullanımının anti-HLA antikoru oluşumuna etkisini araştırmak amacı ile lökosit filtresi kullanılan ve kullanılmayan gruplarda anti-HLA antikoru varlığının araştırıldığı bu çalışmada lökosit filtresi kullanılmasının anti-HLA antikoru oluşumunu anlamlı olarak azalttığı görülmüştür ($p < 0,05$) (Tablo 19,20).

	Anti- HLA antikoru		Toplam
	+	-	
Çalışma grubu	3 (%25)	9 (%75)	12 (%100)
Kontrol grubu	10 (%83,33)	2 (%16,67)	12 (%100)
Toplam	13 (%54,16)	11 (%45,84)	24 (%100)

$$x^2 = 6,042 \text{ (Yates)}$$

$$p=0,014$$

Tablo 19 : Bebek sayısına göre anti-HLA antikoru pozitifliğinin istatistiksel değerlendirmesi

	Anti- HLA antikor		Toplam
	+	-	
Çalışma grubu	4 (%1,38)	286 (%98,62)	290 (%100)
Kontrol grubu	34 (%11,85)	253 (%88,15)	287 (%100)
Toplam	38 (%6,59)	539 (%93,41)	577 (%100)

$$\chi^2 = 24,02 \text{ (Yates)}$$

$$p=0,0000010$$

Tablo 20 : Kuyucuk sayısına göre anti-HLA antikor pozitifliğinin istatistiksel değerlendirmesi

TARTIŞMA

Erişkinler ve büyük çocuklarda transfüzyonlardan sonra gelişen anti-HLA antikörlerine bağlı klinik sonuçlar üzerinde yapılan birçok araştırma bu antikörlerin, serumda geçici olarak bulunsalar da, FNHTR, trombosit transfüzyonlarına dirençlilik, GVHD, allograft reddi ve nadiren hemolitik transfüzyon reaksiyonlarından sorumlu olduklarını ortaya koymaktadır (27,30,33,36). Ayrıca fetomaternal alloimmun trombositopeni ve posttransfüzyon purpurada trombositlere spesifik antikörlerin yanısıra anti-HLA antikörleri de suçlanmaktadır (37-39). Verici plazmasında bulunan anti-HLA antikörlerine bağlı fatal pulmoner transfüzyon reaksiyonları da bildirilmiştir (68).

Anti-HLA antikörleri sıklıkla farklı donörlerden ve birden fazla sayıda kan transfüzyonu almış lösemi gibi hematolojik malignansi, pediatrik solid tümörler, talassemi, aplastik anemi, kronik böbrek yetmezliği ve hemodiyaliz hastaları gibi sık transfüzyon ihtiyacı olan hastalarda gelişir (35,43-46,49). Ancak tek bir transfüzyonla bile bu antikörlerin gelişebileceği bildirilmektedir. Özellikle transfüzyon açık kalp ameliyatında olduğu gibi masif bir transfüzyon ise bu antikörlerin gelişme riski artmaktadır.

Yenidoğanların immun yanıt ve antikor üretme kapasitelerinin sınırlı olduğu bilinmektedir. Bununla beraber yapılan çalışmalar yenidoğanların, özellikle multipl transfüzyon alanların anti-HLA antikorunu üretebileceğini göstermiştir (6). Exchange transfüzyonun anti-HLA antikorunu oluşumu üzerine etkisi tam bilinmemektedir. Exchange transfüzyon kan transfüzyonunun bir türü olarak kabul edilirse ve bunun da diğer transfüzyonlarda olduğu gibi alıcı ve verici arasında HLA uygunluğu aranmadan yapıldığı düşünülecek olursa, bebekte exchange transfüzyondan sonra anti-HLA antikörlerinin gelişmesi beklenebilir. Bu düşünceden hareketle gerçekleştirilen bu çalışmada exchange transfüzyon yapılan çalışma grubundaki 9 yenidoğandan 3'ünde, kontrol grubundaki 8 yenidoğanın ise tümünde anti-HLA antikorunu geliştiği gözlenmiştir.

Çalışmadan elde edilen önemli bir sonuç transfüzyon esnasında lökosit filtresi kullanılmasının anti-HLA antikorunu oluşumunda anlamlı olarak azalmaya yol açmış olmasıdır. Bu sonuç literatürde yer alan birçok çalışmanın sonuçları ile paralellik

göstermektedir. Kan transfüzyonlarına bağlı anti-HLA antikorlarının gelişmesi, bunların klinik sonuçları ve lökositten fakir kan ürünleri kullanılması ile bu alloantikorların ortaya çıkışlarının engellenmesi konusunda erişkinler ve büyük çocuklarda birçok çalışma olmasına karşın yenidoğanlarda bu konuyla ilgili çok az sayıda çalışma vardır. Bunun gibi eritrosit transfüzyonu veya exchange transfüzyonun HLA antijenlerine karşı alloimmunizasyonu önlemek üzere modern lökosit filtreleri kullanılarak yapılması konusunda da kısıtlı sayıda araştırma mevcuttur. Yenidoğanlarda bu girişimler esnasında kullanılacak kanların, GVHD riskini azaltmak için irradiye edilmesi ve depolanmış kanlarda oluşabilecek mikroagregatlara bağlı embolizasyon riskini azaltmak için mikroagregat filtreleri kullanılması önerilmektedir (2,69).

Eritrosit transfüzyonu esnasında lökosit filtresi kullanımının esasları bilinmektedir. Exchange transfüzyon esnasında bu filtrelerin usulüne uygun olarak kullanım esaslarının da ortaya konması gerekmektedir. Üretici firmalar tarafından son geliştirilen 3. ve 4. jenerasyon lökosit filtrelerinin 3 log ve 4 log kadar yüksek filtrasyon hassasiyeti gösterdiği iddia edilmektedir. Pratik uygulamada bu hassasiyet düzeyleri bildirilenden düşük çıkabilir. Bu, filtrasyon süresinin uzaması, kan torbasına dışarıdan yapılan manipulasyonlar gibi nedenlerden kaynaklanabilir (52,70). Bu faktörler, yenidoğanlar açısından gözönüne alındığında exchange transfüzyon için geçerli olabilir. Ancak eritrosit transfüzyonu söz konusu olduğunda, transfüze edilen kan volümünün azlığı ve kanların sabit perfüzör sistemi ile transfüze edilmesinin filtrenin etkinliğini artıracağı sonucu beklenebilir.

Lökosit filtrelerinin hassasiyetleri filtrasyon sonu lökosit sayımları ile değerlendirilir. Tam kan ve eritrosit suspansiyonlarındaki lökosit sayımları için rutin olarak otomatik sayıcılar kullanılmaktadır. Bu ürünlerdeki lökosit sayısı 1000/ μ l'nin üzerindedir. Oysa lökosit sayısı 100 - 500 / μ l'nin altına indiği zaman otomatik sayıcılar güvenilir değildir ve gerçek değerleri yansıtmayabilir. Bu nedenle doğru sayım için hemositometre yöntemine başvurulması önerilmektedir (70). Hemositometre direkt mikroskopik sayım metodudur. Bu yöntem için Neubauer, Hausser veya Nageotte denen özel camlar kullanılır. Bunlar arasında en hassası Nageotte'dur ve 0,1 lökosit/ μ l'nin sayılabileceği hassasiyettedir. Çok düşük lökosit sayılarını saymak üzere ficoll santrifugasyon veya flow cytometry metodları da kullanılabilir. Ancak bunların ikisi de zaman alıcı, pahalı ve zahmetli yöntemlerdir (71-74). Direkt mikroskop altında

lökositlerin gözle görülerek sayılması daha pratik ve güvenilirdir. Çalışmada kullanılan Leucostop-4LT lökosit filtresinin başka bir çalışmada Nageotte lökosit sayısı $134,60 \pm 175,50/\mu\text{l}$, lökosit arındırma kapasitesi $\%97,85 \pm 2,72$, rezidüel lökosit sayısı $5,30 \times 10^7 \pm 7,00 \times 10^7/\text{U}$ olarak bildirilmektedir (67). Yenidoğanlarda transfüzyon esnasında lökosit filtresi kullanımının alloimmunizasyonu önleyip önlenemediğinin araştırıldığı bu çalışma esnasında Nageotte camı temin edilemediğinden kullanılan lökosit filtrelerinin filtrasyon hassasiyetleri belirlenememiş ancak filtreler anti-HLA antikoru oluşumuna etkisi yönünden değerlendirilerek filtre kullanımının antikor oluşumunu anlamlı olarak engellediği gözlenmiştir.

Lökosit filtrelerinin bir faydası da lökositlerin alıcıya geçmesini önlemek suretiyle lökositlerle taşınan bazı enfeksiyöz ajanların nakline engel olmaktır. Bunlardan özellikle CMV, HIV-1, HIV-2, HTLV-1 ve HTLV-2 önem kazanmaktadır. Yeni doğanlarda lökosit filtresi kullanılmasının CMV enfeksiyonu taşınmasını önlemede etkili, basit ve ucuz bir yöntem olduğu bildirilmektedir (75). Kontrollerde, çalışmada lökosit filtresi kullanılarak transfüzyon uygulanan bebeklerden hiç birinde enfeksiyona ait belirti ve bulgu saptanmamıştır.

Yenidoğanlarda eritrosit transfüzyonu veya exchange transfüzyon esnasında lökosit filtresi kullanımının faydalı sonuçları yanında maliyetinin de gözönünde bulundurulması gerekir.

Çalışmanın sonucunda ortaya konan ilginç bir sonuç yenidoğanların serumlarında çalışma grubunda $\%75$, kontrol grubunda $\%66,66$ gibi yüksek oranda transfüzyon öncesinde anti-HLA antikorlarının saptanmış olmasıdır. Bu antikorların bebeğe anneden transplasental yolla pasif olarak geçtiği düşünülmektedir. Konu ile ilgili literatürler bu düşüncüyü desteklemektedir (6,49). Gebelikte klas I ve klas II antijenlerine karşı anti-HLA antikorlarının oluşabileceği uzun zamandır bilinmektedir. Bu gerçek yaklaşık 40 yıl önce ortaya konmuş ve gebe kadınların serumları klinik transplantasyonda doku tiplendirmesi için anti-HLA antikor kaynağı olarak kullanılagelmiştir. Standart kompleman bağımlı mikrolenfositotoksiste testi ile primipar kadınların $\%10-15$ 'inde, multipar kadınların da $\%60$ kadarında anti-HLA antikoru saptanmıştır (76). Bunun mekanizması, gebelikte fetomaternal kanamalar ile anneye geçen fetal lökositlerdeki paternal haplotip taşıyan HLA moleküllerinin anneyi sensitize etmesidir (77). Bu mekanizma fetomaternal alloimmun trombositopeniden

de sorumlu tutulmaktadır (39). Anti - fetal - HLA antikollarının biyolojik bir fonksiyonunun olup olmadığı ya da bunların annenin dolaşımına fetal lökosit sızıntısının basit bir sonucu mu olduğu halen tartışmalıdır. Hemen hemen her gebelikte HLA uygunsuzluğu bulunduğundan annede anti-HLA antikoru oluşumu beklenmekle beraber her gebede bu antikolların saptanmaması bunların önemsiz olduğunu düşündürmüştür. Ancak anti-HLA antikoru saptamada kullanılan yöntemler yeterince hassas olmayabilir ve mevcut antikolları göstermede yetersiz kalabilir. Başka bir görüş de maternal alloantikör üretiminin normal bir gebeliğin sürdürülebilmesi için şart olduğudur. Gebe serumlarının in vitro olarak lenfosit aktivitesini bloke ettiği gösterilmiştir. Rekürren spontan abortusları olan kadınlarda bu abortusların blokan antikolların bulunmayışı nedeniyle olan immun rejeksiyona bağlı olduğu ileri sürülmektedir (76,78,79). Çalışmada transfüzyon öncesinde anti-HLA antikoru saptanan çalışma grubundaki 9 bebekten 7'sinin annesinde önceden gebelik, abortus veya küretaj, kontrol grubundaki 8 bebekten 5'inin annesinde de önceden gebelik, abortus veya küretaj öyküsü olduğu, nullipar bir anneye de gebelik esnasında anemi nedeniyle kan transfüzyonu yapıldığı öğrenilmiştir.

Transfüzyon öncesinde bebeklerde saptanan anti-HLA antikollarının muhtemelen transplasental geçişle anneden kazanıldığı düşünülmüştür. Ancak çalışmada her annenin bebeğinin yanında bulunmaması gibi nedenlerle bazı annelere ulaşılamadığından annelerde anti-HLA antikoru bakılamamıştır.

Çalışmada çalışma ve kontrol grubundaki, transfüzyon öncesinde ve sonrasında anti-HLA antikoru saptanan bebeklerden bazılarında bu antikolların farklı kuyucuklarda saptandığı dikkati çekmiştir. Bu şekilde bebeklerin serumlarının aynı lenfositlerle transfüzyondan önce reaksiyon vermezken, transfüzyondan sonra reaksiyon vermesi yeni anti-HLA antikoru üretilmiş olması ile açıklanmıştır. Literatürde yer alan benzer çalışmaların sonuçları bu görüşü desteklemektedir (80).

Sonuç olarak bu çalışma term ve preterm yenidoğanların exchange transfüzyon ve eritrosit transfüzyonundan sonra anti-HLA antikoru üretebildiklerini ve lökosit filtresi kullanılmasının bunu önlediğini ortaya koymuştur. Ayrıca birçok yenidoğan bebekte transplasental yolla geçtiği düşünülen anti-HLA antikollarının mevcut olduğu görülmüştür.

SONUÇLAR

Yenidoğan döneminde eritrosit transfüzyonu veya exchange transfüzyon uygulanması esnasında lökosit filtresi kullanılmasının anti-HLA antikorlarının oluşumuna etkisinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen sonuçlar şu şekilde sıralanabilir :

- 1) Term ve preterm yenidoğanlar da, büyük çocuklar ve erişkinler gibi eritrosit transfüzyonu ve exchange transfüzyondan sonra anti-HLA antikoru üretebilmektedir.
- 2) Yenidoğanların eritrosit transfüzyonu veya exchange transfüzyondan önce %70,83'ünün serumunda muhtemelen transplasental yolla pasif olarak anneden geçmiş olan anti-HLA antikorları saptanmıştır.
- 3) Transfüzyondan önce anti-HLA antikorları saptanan yenidoğanların %58,82'sinde bu antikorların $33,60 \pm 7,01$ (27-47) gün sonra alınan ikinci kan örneğinde kaybolmuş veya saptanamayacak düzeylere inmiş olduğu görülmüştür.
- 4) Çalışma grubunda transfüzyondan $40,00 \pm 17,32$ (30-60) gün, kontrol grubunda $36,70 \pm 7,22$ (27-50) gün sonra alınan kan örneklerinde alloimmunizasyon sonucu anti-HLA antikorlarının geliştiği saptanmıştır.
- 5) Lökosit filtresi kullanımı transfüzyon sonrasında anti-HLA antikoru oluşumunda anlamlı olarak azalmaya neden olmuştur ($p < 0,05$).

ÖZET

Kan transfüzyonlarını takiben kan ürünlerindeki lökositlerin yüzey antijenlerine karşı alıcıda anti-HLA antikoru gelişebilmektedir. Anti-HLA antikoru febril nonhemolitik transfüzyon reaksiyonları, trombosit transfüzyonlarına dirençlilik, transplantasyondan sonra graft rejeksiyonu gibi istenmeyen klinik sonuçlara yol açabilir. Bu antikoru özellikle birden fazla sayıda veya masif transfüzyonlardan sonra gelişmektedir. HLA alloimmunizasyonunun, transfüze edilen kanın lökositlerden arındırılması yolu ile azaltılabileceği, bunun için en etkili ve pratik yöntemin yatak başı lökosit filtresi kullanımını olduğu bildirilmektedir.

Yenidoğanlar bilirubin potansiyel toksik etkisi nedeni ile exchange transfüzyona ve aneminin doğurabileceği zararlı etkiler nedeni ile eritrosit transfüzyonuna maruz kalabilmektedirler. Term ve preterm yenidoğanlarda eritrosit transfüzyonu ve exchange transfüzyondan sonra anti-HLA antikoru gelişip gelişmeyeceği ve transfüzyon esnasında lökosit filtresi kullanımının anti-HLA antikoru oluşumuna etkisinin araştırıldığı bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Neonatoloji Ünitesinde yatırılan ve lökosit filtresi kullanılarak transfüzyon uygulanan 12 yenidoğan çalışma grubunu, lökosit filtresi kullanılmayan 12 yenidoğan kontrol grubunu oluşturmuştur. Anti-HLA antikoru varlığı transfüzyondan önce ve ortalama 4 hafta sonra olmak üzere alınan 2 serum örneğinde modifiye Amos tekniği kullanılarak araştırılmıştır. Çalışma grubundaki 12 bebekten 3'ünde (%25) anti-HLA antikoru geliştiği, buna karşın kontrol grubundaki 12 bebekten 10'unda (%83,33) anti-HLA antikoru geliştiği saptanmıştır. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür ($p < 0,05$).

Sonuç olarak bu çalışmada term ve preterm yenidoğanların eritrosit transfüzyonu ve exchange transfüzyondan sonra anti-HLA antikoru üretebildikleri ve transfüzyonun lökosit filtresi kullanılarak yapılmasının anti-HLA antikoru oluşumunda anlamlı olarak azalma meydana getirdiği gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

- 1- Kevy SV. Red cell transfusion. In: Nathan DG, Oski FA, eds. Hematology of infancy and childhood, fourth edition. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 1993; 1769-95.
- 2- Cordle DG, Strauss RG. Guidelines for neonatal transfusion therapy. In: Bell EF, Segar JL, eds. Neonatology Handbook, 1995; 203-21.
- 3) Parravicini A, Rebulli P, Apuzzo J, Wenz B, Sirchia G. The preparation of leukocyte-poor red cells for transfusion by a simple cost-effective technique. Transfusion 1984; 24: 508-9.
- 4) Contreras M, Mollison PL. Immunological complications of transfusion. In: Contreras M, ed. ABC of transfusion. London: Jolly and Barber Ltd, 1990; 41-4.
- 5) Kooy M.M., Prooijen HC, Moer Marcel, Stants IB, Akkerman JWN. Use of leukocyte-depleted platelet concentrates for the prevention of refractoriness and primary HLA alloimmunization : A prospective, randomized trial. Blood 1991; 77: 201-5.
- 6) Russell ARB, Rivers RPA, Davey N. The development of anti-HLA antibodies in multiply transfused preterm infants. Arch Dis Child 1993; 68: 49-51.
- 7) Andreu G, Dewailly J, Leberre C, Quarre MC, Bidet ML, Tardivel R, et al. Prevention of HLA immunization with leukocyte-poor packed red cells and platelet concentrates obtained by filtration. Blood 1988; 72: 964-9.
- 8) Davies SC, Brozovic M. Transfusion of red cells. In: Contreras M, ed. ABC of transfusion. London: Jolly and Barber Ltd, 1990; 9-13.
- 9) Blanchette V, Zipursky A. Assessment of anemia in newborn infants. Clin Perinatol 1984; 11: 489-507.
- 10) Stockman JA. Anemia of prematurity-Current concepts in the issue of when to transfuse. Ped Clin North Am 1986; 33 : 111-27.
- 11) Blanchette V, Doyle J, Schmidt B, Zipursky A. Hematology. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG, eds. Neonatology: Pathophysiology and management of the newborn, fourth edition. Philadelphia: J.B. Lippincott Co, 1994; 952-99.

- 12) Robertson NRC. Top up transfusions in neonates. *Arch Dis Child* 1987; 62: 984-6.
- 13) Maisels MJ.: Jaundice. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG, eds. *Neonatology: Pathophysiology and management of the newborn*, fourth edition. Philadelphia: J. B. Lippincot Co, 1994; 630 - 725.
- 14) Gartner LM, Catz CS, Yaffe SJ. Neonatal bilirubin workshop. *Pediatrics* 1994; 94: 537-40.
- 15) American Academy of Pediatrics. Provisional Committee for Quality Improvement and Subcommittee on Hyperbilirubinemia Practice Parameter: Management of hyperbilirubinemia in the healthy term newborn. *Pediatrics* 1994; 94: 558-65.
- 16) Letsky EA. Fetal and neonatal transfusion. In: Contreras M, ed. *ABC of transfusion*. London: Jolly and Barber Ltd, 1990; 26-30.
- 17) Bordin JO, Heddle NM, Blajchman MA. Biologic effects of leukocytes present in transfused cellular blood products. *Blood* 1994; 84: 1703-21.
- 18) Gascon P, Zoumbos NC, Young NS. Immunologic abnormalities in patients receiving multiple blood transfusion. *Ann Intern Med* 1984; 100: 173-7.
- 19) Barbara JAJ, Contreras M. Infectious complications of blood transfusion: Bacteria and parasites. In: Contreras M, ed. *ABC of transfusion*. London: Jolly and Barber Ltd, 1990; 45-8.
- 20) Barbara JAJ, Contreras M. Infectious complications of blood transfusion: Viruses. In: Contreras M, ed. *ABC of transfusion*. London: Jolly and Barber Ltd, 1990; 49-52.
- 21) Wenz B. Clinical and laboratory precautions that reduce the adverse reactions, alloimmunization, infectivity and possibly immunomodulation associated with homologous transfusions. *Transfus Med Rev* 1990; 4 Suppl 1: 3-7.
- 22) Blumberg N, Triulzi DJ, Heal JM. Transfusion-induced immunodulation and its clinical consequences. *Transfus Med Rev* 1990; 4 Suppl 1 : 24-35.
- 23) Klein HG. Immunologic aspects of blood transfusion. *Seminars in Oncology* 1994; 21 Suppl 3: 16-20.

- 24) Schwartz BD. The human major histocompatibility human leukocyte antigen (HLA) complex. In: Stites DP, Terr AI, eds. Basic and clinical immunology, seventh edition. California : Appleton Lange, 1991; 45-60.
- 25) King DW, Reed E, Suciu-Foca N. Complexes of soluble HLA antigens and anti-HLA autoantibodies in human sera: Possible role in maintenance of self-tolerance . Immunol Res 1989; 8: 249-62.
- 26) Phelan DL. The HLA System. In : Harmening D, ed. Modern blood banking and transfusion, second edition. Philadelphia: F. A. Davis Co, 1989; 366-78.
- 27) Young SM, Jordan SC. Transplantation immunobiology. In: Danovitch GM, ed . Handbook of kidney transplantation. Boston: Little, Brown and Co, 1992; 19-42.
- 28) Yunis EJ, Dupont B. The HLA System. In: Nathan DG, Oski FA, eds. Hematology of infancy and childhood, fourth edition. Philadelphia: W. B. Saunders Co, 1993; 1692-1727.
- 29) Terasaki PI, Park MS, Danovitch GM. Histocompatibility testing, crossmatching and allocation of cadaveric kidney transplants. In: Danovitch GM, ed. Handbook of kidney transplantation. Boston : Little, Brown and Co, 1992; 43-66.
- 30) De Rie MA, van der Plas-van Dalen CM, Engelfriet CP, von dem Borne AEG. The serology of febrile transfusion reactions. Vox Sang 1985; 49: 126-34.
- 31) Rawal BD, Davis RE, Busch MP, Vyas GN. Dual reduction in the immunologic and infectious complications of transfusion by filtration/removal of leukocytes from donor blood soon after collection. Transfus Med Rev 1990; 4 Suppl 1 : 34-41.
- 32) Rebulli P, Bertolini F, Parravicini A, Sirchia G. Leukocyte-poor blood components: A purer and safer transfusion product for recipients ? Transfus Med Rev 1990; 4 : 19-23.
- 33) Brubaker DB. Clinical significance of white cell antibodies in febrile nonhemolytic transfusion reactions. Transfusion 1990; 30 : 733-7.
- 34) Steneker I, Biewenga J. Histologic and immunohistochemical studies on the preparation of white cell-poor red cell concentrates: the filtration process using three different polyester filters. Transfusion 1991; 31: 40-6.

- 35) Williamson LM, Wimperis JZ, Williamson P, Copplestone JA, Gool HC, Morgenstern GR, et al. Bedside filtration of blood products in the prevention of HLA alloimmunization-A prospective randomized study. *Blood* 1994; 83: 3028-35.
- 36) Panzer S, Mayr WR, Graninger W, Püchler K, Höcker P, Lechner K. Haemolytic transfusion reactions due to HLA antibodies. *Lancet* 1987; i: 474-8.
- 37) Puig N, Sayas MJ, Montoro JA, Villalba JV, Pla A. Post-transfusion purpura as the main manifestation of a trilineal transfusion reaction, responsive to steroids: flow - cytometric investigation of granulocyte and platelet antibodies. *Ann Hematol* 1991; 62: 232-4.
- 38) Akkoç N, Scornik JC. Intramolecular specificity of anti-HLA alloantibodies. *Hum Immunol* 1991; 30: 91-8.
- 39) Marshall LR, Brogden FE, Roper TS, Barr AL. Antenatal platelet antibody testing by flow cytometry-Results of a pilot study. *Transfusion* 1994; 34 : 961-5.
- 40) Murphy MF, Metcalfe P, Waters AH, Ord J, Hambley H, Nicolaidis K. Antenatal management of severe fetomaternal alloimmune thrombocytopenia: HLA incompatibility may affect responses to fetal platelet transfusions. *Blood* 1993; 81: 2174-9
- 41) Mueller-Eckhardt C, Kiefel V, Grubert A, Kroll H, Weisheit M, Schmidt S, et al. 348 cases of suspected neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Lancet* 1989; i: 363-6.
- 42) Eisen M, Motum P, Gibson J, Uhr E, Gett M, Kronenberg H, et al. Neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by an antibody to the Bak^a antigen. *Pathology* 1990; 22: 203-5.
- 43) Oksanen K, Elonen E. Impact of leukocyte depleted blood components on the haematological recovery and prognosis of patients with acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 1993; 84: 636-47.
- 44) Saarinen UM, Kekomaki R, Siimes MA, Myllyla G. Effective prophylaxis against platelet refractoriness in multitransfused patients by use of leukocyte-free blood components. *Blood* 1990; 75 : 512-7.

- 45) Saarinen UM, Koskimies S, Myllyla G. Systematic use of leukocyte-free blood components to prevent alloimmunization and platelet refractoriness in multitransfused children with cancer. *Vox Sang* 1993; 65: 286-92.
- 46) Van Marwijk Kooy M, van Prooijen HC, Moes M, Bosma-Stants I, Akkerman JWN. Use of leucocyte-depleted platelet concentrates for the prevention of refractoriness and primary HLA alloimmunization: A prospective, randomized trial. *Blood* 1991; 77: 201-5.
- 47) Blajchman MA, Bardossy L, Carmen RA, Goldman M, Heddle NM, Singal DP. An animal model of allogeneic donor platelet refractoriness: The effect of the time of leukodepletion. *Blood* 1992; 79 : 1371-5.
- 48) Millard FE, Tani P, McMillan R. A specific assay for anti-HLA antibodies: Application to platelet donor selection. *Blood* 1987; 70: 1495-9.
- 49) Ten Haaft MA, van den Berg-Loonen PM, van Rhenen DJ. Prevention of primary HLA class I allo-immunization with leukocyte-poor blood components produced without the use of platelet filters. *Vox Sang* 1992; 63: 257-61.
- 50) Carr R, Hutton JL, Jenkins JA, Lucas GF, Amphlett NW. Transfusion of ABO-mismatched platelets leads to early platelet refractoriness. *Br J Haematol* 1990; 75: 408-13.
- 51) Saji H, Maruya E, Fujii H, Maekawa T, Akiyama Y, Matsuura T, et al. New platelet antigen Sib^a, involved in platelet transfusion refractoriness in a Japanese man. *Vox Sang* 1989; 56: 283-7.
- 52) Sivakumaran M, Norfolk DR, Major KE, Revill JA, Hutchinson RM, Wood JK. A new method to study the efficiency of third generation blood filters. *Br J Haematol* 1993; 84: 175-7.
- 53) Kurata Y, Oshida M, Take H, Furubayashi T, Mizutani H, Tomiyama Y, et al. Acid treatment of platelets as a simple procedure for distinguishing platelet-specific antibodies from anti-HLA antibodies: Comparison with chloroquin treatment. *Vox Sang* 1990; 59: 106-11.
- 54) Muylle L, van Bockstaele D, De Smet D, Peetermans ME. Assessment of anti-HLA antibodies in sera being tested for platelet reactivity by a platelet lymphocyte immunofluorescence test (PLIFT). *J Immunol Methods* 1988; 114: 187-90.

- 55) Atlas E, Freedman J, Blanchette V, Kazatchkine MD, Semple JW. Downregulation of the anti-HLA alloimmune response by variable region-reactive (anti-idiotypic) antibodies in leukemic patients transfused with platelet concentrates. *Blood* 1993; 81: 538-42.
- 56) Urlacher A, Tongio MM, Pasquali JL. IgM anti-idiotypes that block anti-HLA antibodies: Naturally occurring or immune antibodies? *Clin Exp Immunol* 1991; 83: 116-20.
- 57) Freedman J, Hornstein A. Simple method for differentiating between HLA and platelet specific antibodies by flow cytometry. *Am J Hematol* 1991; 38: 314-20.
- 58) Masse M, Andreu G, Angue M, Babault C, Beaujean F, Bidet ML, et al. A multicenter study on the efficiency of white cell reduction by filtration of red cells. *Transfusion* 1991; 31: 792-7.
- 59) Sirchia G, Parravicini A, Rebullà P, Greppi N, Scalomogna M, Morelati F. Effectiveness of red blood cells filtered through cotton wool to prevent antileucocyte antibody production in multitransfused patients. *Vox Sang* 1982; 42: 190-5.
- 60) Uda M, Naito S, Yamamoto K, Ishii A, Nishizaki T et al. Optimal protocol for preparation of leukocyte-poor red cells with a blood cell processor. *Transfusion* 1984; 24: 120-3.
- 61) Bijou H, Brady MT, Fortes P, Hawkins EP. Inconsistent leucocyte removal by IBM 2991 blood cell processor. *Transfusion* 1983; 23: 260-2.
- 62) Meryman HT, Hornblower M. The preparation of red cells depleted of leukocytes: Review and evaluation. *Transfusion* 1986; 26: 101-6.
- 63) Sirchia G, Rebullà P, Mascrarètti L, Greppi N, Andreis C, Rivolta S, et al. The clinical importance of leukocyte depletion in regular erythrocyte transfusions. *Vox Sang* 1986; 51 Suppl 1: 2-8.
- 64) Dizik S. Leukodepletion blood filters, filters design and mechanisms of leukocyte removal. *Transfus Med Rev* 1993; 7: 65-77.
- 65) Koerner K, Zimmermann B, Kubanek B. Preparation of leukocyte-poor red cell concentrates: Comparison of five different filters. *Vox Sang* 1991; 60: 61-2.

- 66) Sirchia G, Wenz B, Rebullia P, Parravicini A, Carnelli V, Bertolini F. Removal of white cells from red cells by transfusion through a new filter. *Transfusion* 1990; 30: 30-3.
- 67) Yercen N. Lökosit filtrelerinin filtrasyon hassasiyetleri. Uzmanlık tezi, İzmir: 1995.
- 68) Eastlund T, McGrath PC, Britten A, Propp R. Fatal pulmonary transfusion reaction to plasma containing donor HLA antibody. *Vox Sang* 1989; 57: 63-6.
- 69) Plotz RD. Neonatal pulmonary microaggregates and thrombi. *Am J Clin Pathol* 1987; 87: 380-3.
- 70) Sirchia G, Rebullia P, Parravicini A, Marangoni F, Cortelezzi A, Stefania A. Quality control of red cell filtration at the patient's bedside. *Transfusion* 1994; 34: 26-30.
- 71) Vakkila J, Myllyla G. Amount and type of leukocytes in "leukocyte-free" red cell and platelet concentrates. *Vox Sang* 1987; 53: 76-82.
- 72) Bodensteiner DC. A flow cytometric technique to accurately measure post-filtration white blood cell counts. *Transfusion* 1989; 29: 651-3.
- 73) Rebullia P, Porretti L, Bertolini F, Marangoni F, Prati D, Smacchia C, et al. White cell reduced red cells prepared by filtration : A critical evaluation of current filters and methods for counting residual white cells. *Transfusion* 1993; 33: 128-33.
- 74) Wenz B, Burns ER, Lee V, Miller K. A rare event analysis model for quantifying white cells in white cell-depletion blood. *Transfusion* 1991; 31: 156-9.
- 75) Gilbert GL, Hayes K, Hudson IL, James J. Prevention of transfusion-acquired cytomegalovirus infection in infants by blood filtration to remove leukocytes. *Lancet* 1989; i; 1228-31.
- 76) Billington WD. The normal fetomaternal immune relationship. *Bailliere'S Clin Obstet Gynaecol* 1992; 6: 417-38.
- 77) Cauchi MN, Koh SH, Tait B, Mraz G, Kloss M, Pepperell RJ. Immunogenetic studies in habitual abortion. *Aust NZ J Obstet Gynaecol* 1987; 27: 52-4.
- 78) Behar E, Carp H, Livneh A, Gazit E. Anti-idiotypic IgM antibodies to anti-HLA class I antibodies in habitual abortion. *Am J Reprod Immunol* 1991; 26: 143-6.

- 79) Power DA, Catto GRD, Mason RJ, MacLeod AM, Stewart KN, Shewan WG. The fetus as an allograft: Evidence for protective antibodies to HLA- linked paternal antigens. *Lancet* 1983; ii: 701-4.
- 80) Colombe BW. Histocompatibility testing. In: Stites DP, Terr AI, eds. *Basic and clinical immunology*, seventh edition. California: Appleton Lange, 1991; 295-311.

