

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**HIZLI İNFÜZYON SİSTEMİ İLE FARKLI
BASINÇLAR ALTINDA UYGULANAN KAN
TRANSFÜZYONUNUN ERİTROSİTLER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

DR. REFİKA OKUYUCU

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2009

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**HIZLI İNFÜZYON SİSTEMİ İLE FARKLI
BASINÇLAR ALTINDA UYGULANAN KAN
TRANSFÜZYONUNUN ERİTROSİTLER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. REFİKA OKUYUCU

Tez Danışmanı:

YRD.DOÇ. DR. AYDIN TAŞDÖĞEN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
TABLO LİSTESİ	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iii
RESİM LİSTESİ	iv
KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
SUMMARY	viii
GİRİŞ	1
AMAÇ	2
GENEL BİLGİLER	3
I-KAN ÜRÜNLERİ	3
II-KANIN SAKLANMASI	4
III-KAN TRANSFÜZYONU	5
IV-KAN TRANSFÜZYONUNUN KOMPLİKASYONLARI	5
V-KAN VE SIVI ISITICILARI	6
VI-HIZLI İNFÜZYON SİSTEMLERİ	6
A-Level 1 1000 Hızlı infüzyon Sistemi	7
B-Hızlı İnfüzyon Sistemlerinin Komplikasyonları	8
VII-ERİTROSİT HASARININ SAPTANMASI	11
VIII-ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ	12
IX-IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBU	15

GEREÇ ve YÖNTEM	16
PLAZMA SERBEST HEMOGLOBİN DÜZEYİNİN SAPTANMASI	18
IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBU İLE GÖRÜNTÜLEME	18
LORCA CİHAZI İLE ERİTROSİT DEFORMABİLİTE ÖLÇÜMÜ	19
KAN GAZI CİHAZI İLE POTASYUM ÖLÇÜMÜ	19
İSTATİSTİK YÖNTEMİ	19
BULGULAR	20
ISI	20
SERBEST HEMOGLOBİN	21
POTASYUM	21
ELONGASYON İNDEKSİ	22
IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBU GÖRÜNTÜLERİ	23
TARTIŞMA	29
SONUÇ VE ÖNERİLER	34
KAYNAKLAR	35
EKLER	
Ek 1	ÇALIŞMA PROTOKOLÜ
Ek 2	ETİK KURUL İZİN BELGESİ

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, Hekimlik sanatının ve Anesteziyolojinin temel ilkelerini öğrendiğim hocalarım; Sayın Prof. Dr. Zahide Elar'a, Sayın Prof. Dr. Emel Sağıroğlu'na, Sayın Prof. Dr. Ali Günerli'ye, Sayın Prof. Dr. Atalay Arkan'a, Sayın Prof. Dr. Erol Gökel'e, eğitimime katkıda bulunan bölümümüzün tüm öğretim üyeleri ve uzmanlarına,

Uzmanlık tezimde; gece-gündüz demeden, gösterdiği yoğun çaba; harcadığı değerli vaktiyle, bana bir araştırmamın projesinden son cümlesinin yazımına kadar tüm noktalarını titizlikle ve sabırla öğreten, danışman hocam Yard. Doç. Dr. Aydın Taşdöğen'e ve bu dönemde gösterdikleri hoşgörülerinden dolayı değerli ailesine,

Tez araştırmamın yapımı ve yazımı sırasında katkı ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Ayşe Karcı'ya, Yard. Doç. Dr. Yüksel Erkin'e

Tezimin her aşamasında; bilgi ve deneyimlerini büyük bir özveriyle paylaştan Prof. Dr. Candan Özoğul'a, Prof. Dr. Fatih Demirkan'a, Prof. Dr. Cem Şeref Bediz'e, Doç. Dr. Halil Resmi'ye, Yard. Doç. Dr. Güven Erbil'e, Tıbbi Biyolog Faize Yüksel'e, Tekniker Veli Günal'a,

Tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Sibel Akgül'e, Arş. Gör. Dr. Burak Küçükebe'ye

Araştırmamın başından sonuna kadar desteklerini esirgemeyen, kan bağışlarıyla çalışmama katılan; Harun Okuyucu'ya, Abdullah İren'e, Asistan arkadaşlarım Dr. Adil Ustaoglu, Dr. Özerk Öztekin, Dr. Ali İhsan Uysal, Dr. Volkan Yarar, Dr. Mahir Kuyumcu, Dr. Volkan Onay, Dr. Armağan Döner, Dr. Duyguhan İşgüven ve Dr. Hakan Aygün'e,

Asistanlık döneminin heyecanını, stresini ve güzelliklerini birlikte yaşadığımız tüm asistan arkadaşlarıma,

Anestezi teknikerlerine, ameliyathane, yoğun bakım, derlenme ünitesi, ağrı ünitesi, gündüz hastanesi hemşire ve personeli ile bölüm sekreterlerine, kan bankası ve ARLAB çalışanlarına, tanıma fırsatı bulduğum tüm hastane çalışanlarına,

Hayatım boyunca desteğini, sevgisini, ve sabrını esirgemeyen aileme,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr.Refika OKUYUCU

TABLO LİSTESİ

Sayfa no

Tablo 1	Damar tipine göre kayma stresleri (Pa)	13
Tablo 2	Donörlerin hemogram değerleri	20
Tablo 3	LORCA cihazından elde edilen "EI" değerleri	22

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa no

Şekil 1	Eritrosit süspansiyonlarının bazal ve infüzyon sonrası ısı değerleri	20
Şekil 2	Bazal ve infüzyon sonrası elde edilen HbF değerleri	21
Şekil 3	Kan gazı örneklerindeki K ⁺ değerleri	22
Şekil 4	“EI” değerleri	23

RESİM LİSTESİ

Sayfa no

Resim 1	<i>Level 1 1000 hızlı infüzyon sistemi</i>	7
Resim 2	<i>Level 1 1000 hızlı infüzyon sistemi seti</i>	8
Resim 3	<i>LORCA cihazı</i>	14
Resim 4	Işık mikroskobu ile bazal örneklerdeki eritrositlerin görünümü (x40)	23
Resim 5	Elektron mikroskobu ile bazal örneklerdeki eritrositlerin görünümü (10000 nm)	24
Resim 6	Elektron mikroskobu ile bazal örneklerdeki eritrositlerin görünümü (5000 nm)	24
Resim 7	Işık mikroskobu ile Grup150'deki eritrositlerin görünümü (x40)	25
Resim 8	Elektron mikroskobu ile Grup150'deki eritrositlerin görünümü (10000 nm)	25
Resim 9	Elektron mikroskobu ile Grup150'deki eritrositlerin görünümü (20000 nm)	26
Resim 10	Elektron mikroskobu ile Grup150'deki eritrositlerin görünümü (5000 nm)	26
Resim 11	Işık mikroskobu ile Grup300'deki eritrositlerin Görünümü (x40)	27
Resim 12	Elektron mikroskobu ile Grup300'deki eritrositlerin görünümü (20000 nm)	27
Resim 13	Elektron mikroskobu ile Grup300'deki eritrositlerin görünümü (10000 nm)	28
Resim 14	Elektron mikroskobu ile Grup-300'deki eritrositlerin görünümü (5000 nm)	28

KISALTMALAR

HİS	Hızlı infüzyon sistemleri
Hb	Hemoglobin
HbF	Plazma serbest hemoglobin
LDH	Laktik dehidrogenaz
K ⁺	Potasyum
Hct	Hematokrit
LORCA	<i>Laser Optical Rotational Cell Analyser</i>
°C	Derece santigrat
mmHg	Milimetre civa
İV	İntravenöz
g	Gram
dL	Desilitre
CPD	<i>Citrate-Phosphate-Dextrose</i>
SAG-M	<i>Saline(NaCl)-Adenine-Glucose-Mannitol</i>
mL	Mililitre
CPDA-1	<i>Citrate-Phosphate-Dextrose-Adenine-1</i>
DIC	<i>Disseminated intravascular coagulation</i> (Yaygın damar içi koagülasyon)
ACD	<i>Acid-Citrate-Dextrose</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> (Gıda ve ilaç kurumu)
TDP	Taze Donmuş Plazma
EI	<i>Elongation index</i> (Elongasyon indeksi)
nm	Nanometre
WBC	<i>White blood cell</i> (Beyaz kan hücresi=Akyuvarlar)
Plt	<i>Platelet</i> (Trombosit)
ELISA	<i>Enzyme – Linked – Immunosorbent - Assay</i>
M	<i>Mol</i>
Rpm	<i>Revolutions per minute</i> (Dakikadaki devir sayısı)
PVP	<i>Poly-vinylpyrrolidon</i>
mM	Milimol
Pa	<i>Pascal</i>
µL	Mikrolitre

ÖZET

Hızlı infüzyon sistemi ile farklı basınçlar altında uygulanan kan transfüzyonunun eritrositler üzerine etkileri

Dr. Refika Okuyucu DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, İZMİR

Acil durumlarda hastalara hızlı ve ısıtılmış kan sağlayan “Hızlı İnfüzyon Sistemleri”nin eritrositler üzerinde hasara neden olabileceği yönünde kanıtlar vardır.

Amaç: *Level 1 1000* hızlı infüzyon sisteminin farklı basınçlar altında eritrositler üzerinde oluşturabileceği hasarları saptamayı ve gelişen değişiklikleri görüntülemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: DEÜTF “Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları Yerel Etik Kurulu” onayı alınan genç, sağlıklı 10 (on) gönüllüden ikişer adet eritrosit süspansiyonu (150 mL) hazırlanarak kan bankasında stoklandı. Bir günlük eritrosit süspansiyonlarından, HbF, K⁺, ışık ve elektron mikroskopisi, “EI” bazal değerlerini (Bazal)(n=10) saptamak için kan örnekleri alındı. Randomize olarak iki gruba ayrılan eritrosit süspansiyonlarının 150 veya 300 mmHg basınç altında *Level 1 1000* hızlı infüzyon sisteminden geçirilmesinden sonraki değerlerin (Grup150, Grup300) saptanması için benzer kan örnekleri (n=10) alındı. Eritrosit süspansiyonlarının bazal ve işlem sonrası ısıları kaydedildi. Tüm laboratuvar analizleri “çalışmaya kör” doktorlar tarafından gerçekleştirildi.

Bulgular: Çalışmada, 29-39 yaşlarında 10 sağlıklı donörden hazırlanan 20 ünite eritrosit süspansiyonu kullanıldı. Eritrosit süspansiyonlarının bazal ısılarının (5.53±0.29; 5.39±0.24 °C), hızlı infüzyon sisteminden geçirilmesinden sonra (30.76±0.78; 30.00±1.12 °C) anlamlı düzeyde arttığı gözlemlendi ($p<0.05$).

HbF değerlerinin; Bazal<Grup150<Grup300 olduğu ve uygulanan basınçla orantılı olarak arttığı görüldü ($p=0.015$). HbF düzeyinin infüzyon öncesi değere (45.32±6.93 ng/dL) göre Grup300 de (53.15±3.26 ng/dL) belirgin düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p=0.007$).

Donörlerde 4.41 ± 0.6 mmol/L olan K^+ değerinin eritrosit süspansiyonlarında 5.68 ± 1.31 mmol/L'e, Grup300'de 6.19 ± 1.19 mmol/L'e yükseldiği saptandı. ($p < 0.05$).

"EI"nin Bazal'e göre basınçla doğru orantılı olarak artmasına rağmen gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı görüldü.

Işık ve elektron mikroskopik incelemede, eritrositlerin Bazal'de normal olduğu, Grup150 ve Grup300'de basınçla ilişkili olarak deforme görünümde artma saptandı.

Sonuç ve Öneriler

Level 1 1000 hızlı infüzyon sisteminin yüksek basınçlarda kanı vücut ısısına ulaştıramadığı, eritrositler üzerinde akut ve kalıcı hasara neden olduğu görüldü.

HİS'nin deneysel ortamda eritrositlerde oluşturduğu hasarların klinik sonuçlarını HİS üreticilerinin ve kullanıcılarının göz önüne alması gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *Level-1 1000* hızlı infüzyon sistemi, yüksek basınç, kan transfüzyonu, eritrosit hasarı

Summary

The Effects of Blood Transfusion under different pressures using Rapid Infusion System on Erythrocytes

Dr. Refika Okuyucu, Dokuz Eylul University Medical Faculty, Department of Anesthesiology and Reanimation, IZMIR

There is evidence that “Rapid Infusion Systems” which provide rapid and warmed blood in emergency situations, may cause injury to erythrocytes.

Objective: We aimed to determine the injury; Level 1 1000 rapid infusion system may cause on erythrocytes under different pressures and observe the developing alterations.

Material and Method: After approval of Dokuz Eylul University Medical Faculty “Clinical and Laboratory Research Local Ethics Committee”, 10 young and healthy volunteers were included in the study and two packed erythrocyte suspensions (150 mL) were collected from each volunteer and stored at the blood bank. Blood samples (n=10) were collected from one day old erythrocyte suspensions for light and electron microscopic examination and determination of K⁺, HbF, and basal “EI” (Basal) levels. Erythrocyte suspensions were randomized into two groups and following application of 150 and 300 mmHg pressures by *Level 1 1000* rapid infusion system (Group 150 and Group 300), similar blood samples (n=10) were collected to determine the effects of the process. The temperatures of erythrocyte suspensions were recorded before and after the process. All laboratory analyses were carried out by “blinded” practitioners.

Results: Twenty units of erythrocyte suspensions, which were prepared from 10 healthy volunteers aged 29-39 years, were used in this study.

It was observed that the basal temperatures of erythrocyte suspensions in Group 150 and Group 300 (5.53 ± 0.29 ; 5.39 ± 0.24 °C, respectively) were significantly increased after passing through the rapid infusion system (30.76 ± 0.78 ; 30.00 ± 1.12 °C) ($p < 0.05$).

The HbF levels increased proportional to applied pressures and was in the order of basal values $< \text{Group 150} < \text{Group 300}$ ($p = 0.015$). HbF levels in Group 300 was markedly higher (53.15 ± 3.26 ng/dL) than the pre-infusion levels (45.32 ± 6.93 ng/dL) ($p = 0.007$).

The K⁺ level (4.41 ± 0.6 mmol/L) in donor bloods increased to 5.68 ± 1.31 mmol/L in packed erythrocyte suspensions and to 6.19 ± 1.19 mmol/L in Group 300 ($p < 0.05$).

Eventhough there was an increase in "EI" levels proportional to pressure, the difference was not significant among groups.

In light and electron microscopic evaluation, the erythrocytes appeared natural before application of pressure. In Group 150 and Group 300 an increase in deformed erythrocytes was observed related to pressure.

Conclusion

This study has showed that, Level 1 1000 rapid infusion system can not warm blood up to body temperature under high pressures, furthermore it causes an acute and permanent injury on erythrocytes.

It is concluded that, device manufacturers and users should consider clinical results of using RIS, which were shown to cause erythrocyte injury experimentally.

Keywords: Level 1 1000 rapid infusion system, high pressure, blood transfusion, erythrocyte injury.

GİRİŞ

Kan transfüzyonu; tam kan ve/veya kan ürünlerinin tedavi amacıyla intravenöz (İV) yoldan dolaşıma verilmesidir. Kan transfüzyonu ilk defa 1667'de hayvandan-insana, 1818'de insandan-insana uygulanmıştır(1).

Kan transfüzyonu hayat kurtarıcı bir girişim olmasına karşın, tüm diğer tedaviler gibi erken (hipotermi, hemoliz, alerji, akut akciğer hasarı, metabolik bozukluklar, febril reaksiyonlar vb) ve/veya geç reaksiyonlara (hemoliz, hemosiderosis, hava embolisi, enfeksiyon, immünmodülasyon vb) neden olabilir(1).

Hipotermi ve buna bağlı gelişen yan etkilerin önlenmesi için; hasta, kan ve uygulanan sıvıların ısıtılması gerekmektedir (2). Günümüzde ısıtılarak hızlı kan transfüzyonu yapılabilmesi amacıyla Hızlı İnfüzyon Sistemleri (HİS) geliştirilmiştir. Hızlı infüzyon sistemlerine yönelik çalışmalarda; farklı cihazların infüzyon hızları (3,4), ısıtma kapasiteleri (4-6) ve oluşturdukları komplikasyonlar(2-4,7-9) araştırılmıştır. HİS'nin komplikasyonları konusunda üzerinde en çok çalışma yapılan iki konu hava embolisi (7, 10) ve hemolizdir (2-4,8,9).

Kan verilirken, kan akım hızının neden olduğu makaslama stresi, kanda oluşan türbulans (*Reynolds stress*), tüplerdeki ve torbalardaki sert plastik yüzeylerle temas, kanın hızla ısıtılması ve kana uygulanan mekanik basıncın hemolize neden olabileceği ileri sürülmektedir (2,9,11-13). HİS'nin oluşturabileceği hemolizle ilgili çalışmalarda total hemoglobin (Hb) ve serbest hemoglobin(HbF), alfa-hidroksibütürat dehidrogenaz, laktik dehidrogenaz (LDH), potasyum (K⁺) ve hematokrit (Hct) düzeyleri araştırılmıştır.

Bu çalışmalarda, Hb ve HbF ölçümündeki yöntem farklılıkları nedeniyle çelişkili sonuçlar bildirilmektedir (8,12,14-16). Hemoliz en iyi kantitatif yöntemlerle saptanır. Kantitatif yöntemlerin içinde "Direkt Optik Spektrofotometrik Yöntem" güvenilir, kolay ve kimyasal metodlara göre daha kesin ve net sonuçlar vermektedir(11).

Hızlı infüzyon sistemlerinin eritrositler üzerinde oluşturacağı deformabilite değişikliklerini saptamaya yönelik en iyi araç LORCA cihazıdır(17). Eritrosit süspansiyonunun (ES) ısıtılarak hızla transfüzyonunu sağlayan HİS'nin eritrositler üzerinde oluşturabileceği deformabiliteyi LORCA cihazı ile araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Eritrositlerde ısı(13) ve deneysel olarak oluşturulan basınca (18) bağlı gelişen şekil değişiklikleri elektron mikroskopisi ile gösterilmiştir. Ancak HİS'nin eritrositler üzerinde oluşturabileceği şekil değişikliklerinin ışık ve elektron mikroskopu ile incelendiği bir çalışma bulunmamıştır.

AMAÇ

Biz multidisipliner bir yaklaşımla deneysel ortamda, “*Level I 1000* Hızlı İnfüzyon Sistemi” ile eritrosit süspansiyonlarını 150, 300 mmHg basınç ve 41⁰C ısı altında hızlı transfüzyon yaparak:

- 1-Sistemin eritrositler üzerinde oluşturabileceği akut hemolizi Direkt Optik Spektrofotometrik yöntemle saptamayı,
- 2-Eritrositlerde oluşabilecek deformabilite değişikliklerini LORCA cihazı ile araştırmayı,
- 3-Eritrositlerde gelişebilecek şekil bozukluklarını ışık ve elektron mikroskopu ile görüntülemeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Kan, tüm vücudu perfüze eden hareketli bir organ olarak kabul edilmektedir. Kan, şekilli elemanlarından eritrositler ile oksijenin taşınması, lökositler ile vücudun savunulması ve trombositler ile hemostatik denge işlevlerini yürütürken; sıvı kısmı ile gaz transportuna katkı, besleyici maddeler, hormonlar, pıhtılaşma faktörleri, antikorlar ve yıkım ürünlerinin dokulara veya eliminasyon yerlerine taşınmasını sağlar (1).

I-KAN ÜRÜNLERİ (19)

Kan ürünleri olarak, tam kan, eritrosit Süspansiyonu (ES), taze plazma, taze donmuş plazma(TDP), trombosit süspansiyonu, lökosit süspansiyonu vb. yaygın olarak kullanılmaktadır.

Tam kan

Normal sağlıklı donörlerden elde edilen, hiçbir işlem uygulanmadan 63 mL antikoagülan sıvı [*Citrate-Phosphate-Dextrose* (CPD)] içeren torbalarda hazırlanan kana “tam kan” adı verilir.

Bir ünite tam kanın (450 mL) yaklaşık olarak 200 mL’si eritrosit, 250 mL’si plazmadan oluşur.

Tam kan; eritrosit, plazma proteinleri ve pıhtılaşma faktörlerini içerir.

Kan; ısı değişikliklerine duyarlı, alarm sistemli özel kan saklama dolaplarında 2-6 °C arasında saklanır. Torbadaki kan 48 saatin üzerinde bekletildiğinde canlı trombosit kalmaz. Faktör VIII düzeyleri ve koagülasyon faktörleri terapötik düzeylerin altına iner (1,19-21).

Eritrosit süspansiyonu

Eritrosit süspansiyonu, tam kanın santrifüjü sonrası plazmasının $\frac{3}{4}$ ’ü alınmış kandır.

Eritrosit süspansiyonunun hazırlanması için santrifügasyondan sonra plazma ve 20-60 mL *buffy coat* katmanı eritrositlerden ayrılır. Eritrositler, 80-110 mL arasında *Saline(NaCl)-Adenine-Glucose-Mannitol* (SAG-M) ile

dikkatlice karıştırıldıktan sonra 250±50 mL'lik hacimdeki torbalarda 2-6°C arasında saklanır (19).

ES, pediatrik hastalarda kullanabilmek amacıyla 150 ml'lik torbalarda da hazırlanabilmektedir.

ES'nun Hb ve Hct değeri, içerdiği antikoagülan ve eklenen maddelere göre değişmektedir. Kan ürünleri hazırlama standartlarına göre hematokrit düzeyi; "Citrate-Phosphate-Dextrose-Adenine" (CPDA-1) içinde %60-90 arasındadır. SAG-M eklendiğinde Hb: >45 g/ünite, lökosit <3.10⁹/ünite olmalıdır. Ek solüsyonlu *buffy coat* uzaklaştırılmış eritrosit süspansiyonu olarak hazırlandığında Hct: %50-70, Hb: >43 g/ünite, lökosit: <1.2x10⁹ olmalıdır (8,19).

Anemi nedeniyle konjestif kalp yetmezliği, hemodinamik dekompanzasyonu ve serebral sorunları bulunan ya da ameliyat yapılabilmesi için gerekli Hb düzeyine ulaşılması istenen hastalara yalnızca eritrosit süspansiyonları verilmelidir. Genellikle erişkinde 1 ünite ES transfüzyonu ile hastanın hematokriti %3 ve hemoglobini 1g/dL yükselir.

Dört tip eritrosit süspansiyonu yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar eritrosit konsantresi, yıkanmış eritrosit, lökositten fakir eritrosit, dondurulmuş eritrositlerdir (1,19-21).

Lökositleri azaltılmış eritrosit süspansiyonu:

Lökosit sayısı <5x10⁶ olan ES' dur. Eritrosit transfüzyonu gereken olgularda; febril reaksiyonların önlenmesi, alloimmunizasyondan ve sitomegalovirus enfeksiyonundan korunma amacıyla kullanılır(21).

II-KANIN SAKLANMASI

Kanın alınması, saklanması ve hastaya verilebilmesi için, kan merkezleri ve kullanıcılar tarafından belirli standartların sağlanması gerekmektedir. Kan içeriğinin canlılığın, fonksiyonlarının korunması, enfeksiyon bulaşının en aza indirgenmesi, saklama sırasında oluşabilecek kimyasal ve fiziksel değişikliklerin engellenmesi veya geciktirilmesi bu konunun temel taşlarıdır(19).

Kanın pıhtılaşmasının önlenmesi ve canlılığının uzun süre korunabilmesi amacıyla kana antikoagülanlar ve çeşitli koruyucu maddeler eklenmektedir.

Koruyucu sıvıların özelliklerine göre kanın saklanabilme süreleri değişmektedir (1,11,20)

Kanın saklanma süreleri;

- *Acid-Citrate-Dextrose* (ACD) ve CPD ile 21 gün,
- CPDA-1 ile 35 gün,
- CPD'ye SAG-M ilave edildiğinde 42 gün'dür.

Food and Drug Administration (FDA)'e göre; içerisinde eritrosit bulunan kan komponentleri ısı monitörü olan özel kan saklama dolaplarında 2-6°C ısıda saklanmalı ve servislerdeki buzdolaplarında kesinlikle saklanmamalıdır (14).

III-KAN TRANSFÜZYONU

Kan transfüzyonu; kan ve/veya kan elemanlarının (plazma, eritrositler, trombositler, granülositler) tedavi amacıyla intravenöz (İV) yoldan dolaşıma verilmesidir. Kan transfüzyonu endikasyonu olarak genellikle 7.5 g/dL Hb değeri baz alınmaktadır. Bununla birlikte hastanın yaşı, altta yatan hastalığı, doku hipoksisine bağlı semptomları, kliniğinin değişme hızı vb. kan transfüzyonu endikasyonunu ve miktarını belirler(1).

IV-KAN TRANSFÜZYONUNUN KOMPLİKASYONLARI

Kan transfüzyonları sırasında erken ve geç komplikasyonlar gelişebilmektedir(20).

Ameliyathane ortamında hastalarda yaşanan sorunlardan birisi hipotermidir. Anestezi uygulaması sırasında hastalarda hipotermi gelişmesinde, düşük oda ısı, kullanılan soğuk sıvılar, masif kan transfüzyonları, anestezinin ısı üretimini baskılaması gibi etkenler rol oynamaktadır. Hastalarda gelişen hipotermi, kardiyak problemlere, kan viskozitesinde değişikliklere, trombositopeniye, kanama diyatezlerinde değişikliklere ve immün sorunlara neden olabilir.

Ameliyat sırasında gelişen hipotermi ve hipotermiye bağlı yan etkilerin önlenmesi için; hastaların, kullanılan sıvıların, kan ve kan ürünlerinin ısıtılması gerekmektedir.

Kan ve Kan Ürünlerinin Isıtılması Gereken Durumlar (1,20);

1-Masif kan transfüzyonları

a- Erişkinler: 50 mL/kg/saatten daha fazla verilmesi

b- Çocuklar: 15 mL/kg/saatten daha fazla verilmesi

2- Süt çocuklarında kan değişimi

3- Hastada klinik olarak önemli soğuk aglutinin varlığı

V-KAN VE SIVI ISITICILARI

Hastaya uygulanacak kan sadece özel ısıtıcılarda ısıtılmalıdır. Hayatı tehdit eden sonuçlara neden olabileceği için bir kap içindeki sıcak suda ısıtılmamalıdır(1). Kan ve sıvı ısıtıcıları, ısıtma tekniğine ve kanı gönderme hızına göre iki ana gruba ayrılır:

A-Isıtma tekniğine göre;

1-Isının monitörize edildiği su banyosuna yerleştirilmiş sarmal plastik tüpler

2-Düz plastik kan torbası veya kan setlerinin elektriksel ısıtılması

3-Mikrodalga ısıtıcılar

4-Manyetik ısıtıcılar

B-Sıvı uygulama hızına göre;

1-Yavaş infüzyon sistemleri

2-Hızlı infüzyon sistemleri (HİS)

VI-HIZLI İNFÜZYON SİSTEMLERİ

Acil ve hızlı sıvı resüsitasyonu gereken durumlarda kan torbasına düzensiz basınç uygulamak veya elle sıkmak gibi konvansiyonel yöntemlerle transfüzyon sağlanmaya çalışılmaktadır. Konvansiyonel metodlarla sıvıların yeterli ısı ve hızda verilememesi, morbiditede, mortalitede artışlara neden olmaktadır.

Günümüzde yaygın olarak kullanılan HİS'nin kanamalı travma hastalarındaki sıvı resüsitasyonu için iyi bir seçenek olduğu bildirilmektedir(2). HİS anesteziistlerin travmalı, vasküler veya diğer komplike operasyonlara

girecek hastalarda hipovolemi, hipotermi ve bunlara eşlik eden mortalite-morbidite riskini azaltmalarını sağlamıştır.

Hızlı infüzyon sistemleri, 1982'de karaciğer transplantasyonunda kullanılmak için geliştirilmiştir. İlk olarak *Hemonetics Corporation (Braintree, Mass)* tarafından üretilmiştir (2).

Su banyosu teknolojisi ile çalışan "*Hotline*", HİS teknolojisi ile çalışan ilk sıvı ısıtıcısıdır (5). Günümüzde HİS olarak; *Level 1 1000*, *Level 1 H 1200*, *FMS 2000*, *Hotline*, *Ranger* vb kullanılmaktadır (2-5,7,9,22)

A-Level 1 1000 Hızlı infüzyon sistemi

Hastanemizde, karaciğer transplantasyonu gibi kan kaybının fazla olduğu ameliyatlarda kullanılmakta olan "*Level 1 1000* hızlı infüzyon sistemi", iki odacıklı kompresyon ünitesi, ısı değiştirici, makroagregatlar ve hava kabarcıklarını tutan 170 µm'lik filtre ile donatılmış hızlı infüzyon sistemidir (Resim 1).



Resim 1. *Level 1 1000* hızlı infüzyon sistemi



Resim 2. *Level 1 1000* hızlı infüzyon sistemi seti

Level 1 1000, ticari resüsitasyon sıvıları, eritrositler ve trombositler dahil pek çok sıvı tipini vermeye uygundur. Bu sistem ile kompresyon ünitesine asılan kan ve sıvıların, 0-300 mmHg pnömotik basınç altında, vücut ısısında, 950 mL/dk'ya kadar transfüzyonu sağlanabilir (2) (Resim 1,2).

Level 1 1000 hızlı infüzyon sisteminde kullanılan setler sıvı kaçağı olmadan hava çıkışına izin veren gaz-permeabl bir membran içerirler. *Level 1 1000*'deki membran, ısıtma elemanının distalinde filtre/hava atıcı kombinasyonuna bağlıdır. Membran yüzey alanı 0.57 cm²'dir (4) (Resim 2).

B-Hızlı İnfüzyon Sistemlerinin Komplikasyonları:

Günümüze kadar hızlı infüzyon sistemlerinin kullanılmasıyla ilgili yapılan çalışmalarda; farklı cihazların infüzyon hızları (3,4), ısıtma kapasiteleri (4-6) ve oluşturdukları komplikasyonlar (2-4,7-9) araştırılmıştır.

Hızlı sıvı resüsitasyonu ile hastalara yaşamsal destek sağlanırken, hava embolisi, hemoliz, hipotermi, asidoz ve koagülopati gibi istenmeyen etkilere neden olunabileceği bildirilmektedir (2-4,7-9,11-15,18,22).

HİS ile etkin sıvı ısıtma teknolojisi morbiditeyi ve cerrahi hipotermi ile ilişkili maliyeti anlamlı şekilde düşürmüş olsa da kullanılan aletlerle ilgili güvenlik endişeleri halen devam etmektedir.

Bu nedenlerle HİS'nin komplikasyonları üzerine en çok çalışma yapılan iki konu hava embolisi (4,7,22) ve hemolizdir (2,8,9,11-15,18).

a-Hava Embolisi

HİS kullanımı sırasındaki en çok endişe edilen durumlardan birincisi intraoperatif hava embolisidir (7, 10, 22). Kanın basınç altında transfüzyonu sırasında fatal hava embolisi sıklığı 1:31300 olarak bildirilmiştir (7). İV sıvı torbaları 1000 mL kristalloid içinde 60 mL hava içerdiğinden havanın boşaltılması korunmada önem taşımaktadır (3). Günümüzde hava embolisinin önlenmesi için HİS'ne hava dedektörleri ve filtreleri eklenmiştir (7).

b-Hemoliz

Hemoliz, eritrositlerin mekanik hasara uğraması sonucu hücre zarının bozulması ve hücre içeriğinin kana karışmasıdır. Hemoliz, kanın nakli sırasında veya nakil sonrası meydana gelir. Hemoliz, kanın nakli sırasında veya nakil sonrası meydana gelir.

1-Ozmotik hemoliz: Kanın nakli sırasında veya nakil sonrası meydana gelir. Kanın nakli sırasında veya nakil sonrası meydana gelir.

2-Hemositoliz: Kanın nakli sırasında veya nakil sonrası meydana gelir. Kanın nakli sırasında veya nakil sonrası meydana gelir.

Kan ürünleri üzerinde yapılan araştırmalara göre hemoliz;

- 1-Kanın hazırlanması ve saklanması,
- 2-Kanın cihazlarla verilmesi,
- 3-Verilen kan ile alıcı arasındaki uyum gibi 3 ana noktadan kaynaklanmaktadır(8,11,18).

Kanın Hazırlanması ve Saklanması,

Kanın hazırlanması ve depolanması sırasında eritrositlerin hasar gördüğü bilinmektedir. Hematokriti tam kandan yüksek, viskozitesi düşük olan ES'da mekanik veya travmatik hemoliz oluşması daha sıktır(11). Eritrosit hasarı sıkı paketlenmiş eritrositlerin yeniden süspansiyon edilmesiyle de ortaya çıkabilir.

Filtrasyon öncesi kan torbasının çalkalanması eritrositleri daha frajil hale getirerek yaşlı eritrositleri lizise uğratar (11). Kanın depolama süresi uzadıkça eritrositlerde gelişen hemoliz artmaktadır (2,12). ES'nun 42 günlük depolama sonunda kabul edilebilir en yüksek hemoliz düzeyi Amerikada %1 olarak belirlenmişken, Avrupa Birliği % 0.8 olarak kabul etmiştir (8).

Depolama Sırasında Kanda Oluşan Değişiklikler(21):

1-Eritrositlerde:

-ATP, 2-3DPG ve osmotik direnç'de azalma

-Hücre içi Na düzeyinde artma

2-Plazmada:

-Serbest Hb, H⁺, K⁺, NH₃'de artma

-Labil koagülasyon faktörlerinde azalma,

-FV'de 5-6 günde, FVIII'de 1-2 günde% 80'in altına düşme

-FXI, FIX'da 7 günde %20' nin altına düşme

3-Trombosit ve granülositlerin canlılığında 24-48 saat sonra ciddi azalma

Kanın Cihazlarla Verilmesi,

Bir sıvının viskozitesini ölçmek için belli hacimdeki sıvıya bilinen ölçüde bir kuvvet uygulanması gerekir. Sıvıya uygulanan bu kuvvete kayma stresi (*shear stress*) denir. Suni kapaklar ve yapay cihazlar kan üzerinde doğal dolaşımdan daha fazla stres (supra-fizyolojik stres) yaratarak hemolize neden olmaktadır. Bununla birlikte eritrositler yüksek kayma stresine maruz kaldıklarında normalden daha az deforme olmaktadır(18).

Isı etkisiyle eritrositlerin filtre olmaları, paket oluşturmaları, membran elastisiteleri azalırken viskoziteleriyle beraber osmotik ve mekanik frajiliteleri artmaktadır (13).

HİS ile yapılan kan transfüzyonları sırasında eritrositler yüksek basınç altında hızla ilerlerken basınç, ani ısı artışı ve sert plastik zemine çarparak türbülansa uğraması nedeniyle yüksek kayma stresine maruz kalmaktadır.

“British committee for standards in heamatology & Blood transfusion task force” tarafından 1999”da “elektronik infüzyon pompalarının” kan hücrelerine zarar verebileceği ve üreticilerin bu amaçla kullanımı konusunda güvenilir olduğunu doğrulamadıkça kan hücrelerinin iletiminde kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir (8,24).

VII-ERİTROSİT HASARININ SAPTANMASI

HİS'nin oluşturduğu akut hemolizle ilgili çalışmalarda total ve serbest Hb, alfa-hidroksibüturat dehidrojenaz, LDH, K⁺ ve Hct düzeyleri araştırılmıştır (2,8,9,11-15,18).

Bu çalışmalarda, hemoglobin ölçümündeki teknik ve zamansal farklılıklar, kullanılan kanın depolama zamanındaki değişiklikler gibi metodolojik farklılıklar nedeniyle çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (2,8,12,14,15).

Jan Hirch ve ark (14) “*flow citometre*” yöntemini kullanarak tavuk eritrositleri ile yaptıkları deneysel bir çalışmada eritrositler üzerinde erken dönemde ısıtmaya bağlı hücresel değişiklik saptanmazken, ısıtılmadan 24 saat sonra belirgin derecede gecikmiş hemoliz saptamışlardır.

Hardeman ve ark (16) insan eritrositlerindeki erken değişiklikleri araştırdıkları çalışmalarında deformabilite değişikliklerinin hemoliz başlangıcından önce meydana geldiğini ve deformabilite değişikliklerinin eritrosit hasarlanmasının erken bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir (16).

Eritrosit deformabilitesi ve agregasyonunu ölçmede en iyi araç LORCA cihazıdır(19). LORCA cihazı ile eritrositlerin stres karşısında şekil değiştirmesi(elongasyon), elongasyon indeksleri(EI) ve kümeleşmesi (agregasyon) hesaplanabilmektedir (16,17,25).

Zhao R. ve ark'nın (18) eritrosit deformasyon dinamiklerini mikroskopik olarak araştırdıkları çalışmalarında eritrosit deformabilitesinin plazma serbest hemoglobin ölçümüyle değerlendirilemeyen kan hasarını ölçmede kullanılabilir bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

HİS'nin kan transfüzyonu sırasında eritrositlerde hemolize neden olabileceği konusunda çalışmalar olmakla birlikte, hemolizden önce eritrosit hasarını gösteren eritrositlerdeki deformabilite değişikliklerinin saptanması ve mikroskopik hasarın gösterilmesine yönelik çalışmalara rastlanmamıştır.

Plazma Hemoglobini Saptama Yöntemleri

Kan ve kan ürünlerinde hemolizin derecesini saptamada serbest hemoglobin değeri önem taşımaktadır. Çoğu kan bankası ve hastanede kolay ve hızlı bir metod olarak kan torbasına iliştilmiş tüp görsel olarak incelenir. Ancak, bu uygun bir yöntem değildir (11).

Hemolizi saptamada en iyi yöntemler kimyasal ve spektrofotometrik olarak ikiye ayrılan kantitatif yöntemlerdir. Kantitatif yöntemlerden birincisi, hemoglobin formlarının potasyum ferrisiyanid veya tetrametilbenzidin gibi kimyasallarla karıştırıldığında renkli bir ürün olan siyanmethemoglobin oluşturmasına dayalı kimyasal tekniklerdir. Uluslararası Hematolojik Standardizasyon Komite tam kan için siyanmethemoglobin yönteminin referans yöntemi olmasını önermiştir(11).

Kantitatif yöntemlerin ikincisi olan direkt optik spektrofotometrik yöntem, güvenilir, kolay ve kimyasal metotlara göre daha kesin ve net sonuçlar verir(11). Kantitatif metodların çoğu hemoglobinin karakteristik absorpsiyon spektrumuna dayanmaktadır. Bunlar; farklı dalga boylarında spektrofotometriyi, spektral dalga boyu tarama analizini ve ürün spektrofotometrisini içerir. Plazma hemoglobin deneyleri oksihemoglobinin 415, 541 veya 576 nm'deki *absorbans peak*'lerine dayanan direkt optik tekniklere ayrılabilir.

VIII-ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ

Eritrositler dışarıdan uygulanan kuvvetlerin etkisi altında önemli ölçüde şekil değiştirebilirler. Diğer hücrelere kıyasla eritrositlerin şekil değiştirme yetenekleri daha iyidir(16). Bu yetenekleri sayesinde eritrositler kendi çaplarından daha küçük boyutlara sahip kapiller damarlardan geçebildikleri gibi, büyük damarlardaki akım koşullarında, bu özellikleri nedeniyle laminar akım çizgilerine daha iyi uyum sağlayarak kanın akışkanlığının iyileşmesine de katkıda bulunurlar(16)(Tablo 1).

Tablo 1. Damar tipine göre kayma stresleri (Pa) (26)

DAMAR TİPİ	KAYMA STRESİ (Pa)
Aorta	2,5
Büyük arterler	2,4
Ana arter dalları	4,3
Küçük arterler	3,8
Arteriyoller	7,5
Kapillerler	11,1
Post kapiller venül	0,5
Küçük venler	0,6
Büyük venler	0,4
Vena cava	1,3

Eritrosit Deformabilitesini Belirleyen Faktörler:

1. Yüzey alanı - hacim ilişkisi: Eritrositlerin bikonkav-diskoid şekli, hacimlerine kıyasla fazladan yüzey alanına sahip olmalarını sağlar. Bu özellik şekil değiştirebilmelerine olanak tanır (25).

2. Eritrosit sitoplazmasının akışkanlığı: Eritrositler için sitoplazmanın akışkanlığı hemoglobin konsantrasyonu ile yakından ilişkilidir. Hücrenin bütün sitoplazmik kapsamının sıvı halde bulunması nedeniyle, sıvı akımı içinde adeta birer sıvı damlacığı gibi davranırlar. Hücrenin sıvı içeriğinin artıp azalması, hemoglobin konsantrasyonunu da değiştirir. Bu değişiklik eritrositlerin şekil değiştirme yeteneğini (deformabilitesini) etkiler(25).

3. Eritrosit membranının viskoelastik yapısı: Eritrositlerin şekil değiştirme yeteneğini etkileyen en önemli yapısı membranıdır. Dışarıdan etki eden kuvvetlerin neden olduğu şekil değiştirme ve bu kuvvetlerin ortadan kalkmasından sonra bikonkav-diskoid şeklin yeniden kazanılması (şekil değişikliğinin geri dönüşümlü olması) eritrosit membranına ait bir özellik olarak bilinmektedir.

Bu özellik, eritrosit membranının lipid unsurlarından çok, iki sıralı lipid tabakanın iç bölümünde yer alan eritrosit membran iskeletinin hücreye kazandırdığı bir özelliktir(25).

Deformabilitenin Ölçümünde Kullanılan Teknikler (27)

1)Yüksek makaslama viskometresi: Kanın viskozitesindeki değişiklikleri gözleyerek eritrositlerin deformabilitesini ölçme prensibine dayanmaktadır (18).

2) Eritrosit filtrasyonu: Yaygın kullanım alanına sahiptir. Belli bir basınçla mikroporlu bir membrandan belli miktarda eritrositin geçme zamanı eritrosit deformabilite ve agregasyonu için gösterge olabilir.

3) Reoskop: Belli kayma stresi altında eritrosit şeklinin doğrudan gözlenmesidir.

LORCA (Laser Optical Rotational Cell Analyser)

LORCA eritrosit deformabilitesini en iyi ölçen cihazdır(17).



Resim 3. LORCA Cihazı

LORCA Cihazı ile Deformabilite Ölçümünün Basamakları:

Bir cam kupa içine daldırılmış bir statik metal silindir, cam kupanın döndürülmesi sonucu silindir ile kupa arasındaki dar aralıktaki sıvılar için bilgisayar kontrollü olarak 0.3-30 Pa arasında kayma stresi yaratır. Eritrositlerin kırıktıkları ışınlar göre projeksiyon ekranında eritrositlere ait bir yansıma oluşur. Bu yansımaları kaydeden bir kamera verileri bilgisayara aktarır. Bilgisayar bu yansıma verilerine uyan en iyi elipsi çizdirir. Bu elipsin uzun ve kısa çapları ölçülerek her kayma stresi için eritrositlerin EI'leri hesaplanır.

Diyabet, hipertansiyon, orak hücreli anemi, kalp krizi, damar hastalıkları gibi durumlarda eritrosit deformabilitesinin azaldığı klinik olarak gözlenmiştir(27).

Eritrositlerin deformabilitesini hastalıklar dışında ısı ve basınç gibi fiziksel etmenler de etkileyebilir. Eritrosit deformabilitesine ısının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 2⁰C'deki kan ısıtıldığında 24-37⁰C arasında eritrosit deformabilitesinin yavaşça, 48-50 ⁰C arasında ise dramatik olarak arttığı saptanmıştır. Yüksek ısılarda eritrositlerin osmotik ve mekanik frajilitelerinin arttığı bildirilmiştir.(13)

IX-IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBU

Eritrosit deformabilitesine ısının etkisinin araştırıldığı deneysel bir çalışmaya göre, yüksek ısılarda eritrositlerin sferosit şeklini aldığı, tomurcuklandığı ve fragmente olduğu bildirilmiştir (13). Pediyatrik hastalarda kan transfüzyonu amacıyla geliştirilen iki infüzyon pompasıyla, 2-150 mL/sa hızda, 9,28,35 günlük kanların kullanıldığı çalışmada ışık mikroskobu ile eritrosit hasarı saptanamamıştır(8).

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmaya DEÜ Tıp Fakültesi Hastanesi “Klinik ve Laboratuar Araştırmaları Etik Kurulu” onayı alındıktan sonra başlandı.

Ailesinde ve kendisinde herediter sferositoz, orak hücreli anemi gibi konjenital kan hastalığı bulunanlar, aspirin, kumadin vb ilaç kullanımı olanlar çalışmaya alınmadı.

Çalışmanın amacı, metodu, hedefleri konusunda bilgilendirilip, yazılı onamları alındıktan sonra sistemik bakısı yapılan, 29-39 yaş arası 10 (on) sağlıklı gönüllüden “DEÜTF Kan Merkezi”nde rutin kan alma işlemi uygulandı.

Kan merkezinde, rutin kan alma işlemine benzer olarak gönüllülerden alınan kan örneklerinden Hb, Hct, WBC, Plt düzeyleri bakıldı ve kontrol için venöz kan gazı örneği alındı.

Hb değeri 12.5-17.5 g/dL olan sağlıklı 10 gönüllü donörden 450 mL kan 4'lü kan torbasına alındı. Kana antikoagülan olarak 63 mL CPD eklenerek tam kan elde edildi. Kan 1 saat dinlenme periyodundan sonra 22°C'da, 3250 devirde 15 dk santrifüj edildi. Tam kanın serumu ayrıldıktan sonra kalan eritrositler içine 100 mL SAG-M eklendi. Elde edilen eritrosit süspansiyonundan birbiriyle aynı özelliklere sahip iki adet 150 mL'lik pediatrik torba hazırlandı. Eritrosit süspansiyonları (150 mL) kan bankasında kan saklama standartlarına uygun olarak 24 saat stoklandı.

Her donöre ait 2'şer adet eritrosit süspansiyonu hazırlanış sırasına göre kan bankası ile ameliyathane arasında hızlı iletimi sağlayan “Tüp Transfer Sistemi” (*Swisslog*) yardımıyla kan saklama buzdolabına aktarıldı. Eritrosit süspansiyonları teker teker deneyin yapılacağı ameliyathane içindeki odaya getirildi. Kapalı zarf yöntemi ile randomize edilerek 150 ve 300 mmHg basınç uygulanacak 2 gruptan (Grup150, Grup300) birine dahil edildi.

Her bir eritrosit süspansiyonu deney düzeneğinden geçirmeden önce bazal değerleri saptamak için;

- 1-Kan gazı ölçümü için heparinle yıkanmış enjektöre 2 mL'lik kan örneği,
- 2-Hemoglobin tüpüne HbF için 2 mL kan örneği,
- 3-Işık ve elektron mikroskopisi kontrolü için 2 mL kan örneği,
- 4-LORCA cihazında EI ölçümü için 2 mL kan örneği alındı.
- 5-Kan torbası içine yerleştirilen ısı ölçerin (*Fluke 87 V True RMS Multimeter, USA*) elektrodu yardımı ile kan torbasının bazal ısı kaydedildi.

Araştırmada rutin klinik koşullarımızı “deneysel olarak” taklit edebilmek için; *Level 1 1000* hızlı infüzyon cihazı (Resim 1), 1 günlük 150 ml'lik eritrosit süspansiyonu, *Level 1 1000* seti (*Level 1 1000® Normothermic I.V. Fluid Administration Set, REF DI-50*) (Resim 2), 16 Gauge branül (*Mediflon IV Catheter, India*) ve kan toplama kabından oluşan deney düzeneği kullanıldı.

Level 1 1000 HİS düzeneğine takılan eritrosit süspansiyonu 41⁰C ısıya ve ayarlanan basınca (150 veya 300 mmHg) ulaştırılmasının ardından setin klempleri açıldıktan sonra ısınarak hızla sistemden geçmesi ve toplama kabına akması sağlandı.

Hızlı infüzyon sisteminden geçirilerek toplama kabında biriktirilen eritrosit süspansiyonlarının işlem sonrası değerlerini (Grup150, Grup300) saptamak için;

- 1- Kan gazı ölçümü için heparinle yıkanmış enjektöre 2 mL'lik kan örneği,
- 2-Hemoglobin tüpüne HbF için 2 mL kan örneği,
- 3-Işık ve elektron mikroskopisi kontrolü için 2 mL kan örneği,
- 4-LORCA cihazında EI ölçümü için 2 mL kan örneği alındı.
- 5-Toplama kabının içine yerleştirilen ısı ölçerin elektrodu yardımı ile ısı kaydedildi.

Alınan tüm kan örneklerinin laboratuvar analizleri çalışma gruplarını bilmeyen hekimler tarafından yapıldı.

PLAZMA SERBEST HEMOGLOBİN DÜZEYİNİN SAPTANMASI

Plazma serbest hemoglobin (HbF) düzeyi "Hematoloji Laboratuvarı"nda "Human Hemoglobin ELİSA Quantitation kit ve Accessory kit" (Bio-Rad Laboratories Main Office, 2000 Alfred Nobel Drive Hercules, California 94547) kullanılarak *Enzyme – Linked – Immunosorbent - Assay (ELİSA)* yöntemiyle belirlendi.

Plaklar (96 yuvalı) spesifik *sheep anti-human* hemoglobin antikoru ile kaplandı. Standart solusyondan seri dilüsyonlarda kalibrasyon tüpleri hazırlandı.

Plazma örnekleri dilüe edilmeden direk kullanıldı. Kuyucuklara çalışma örnekleri ve hemoglobin düzeyleri bilinen standartlar eklendikten sonra 1 saat inkübasyona bırakıldı. Yıkamayı takiben peroksidaz konjugatı eklendi. İnkübasyonun ardından yıkama tekrarlandı.

Renk oluşumu için tetrametilbenzidin substratı eklenen kuyucuklar 5-30 dk inkübe edildiler. Reaksiyonu durdurmak için 2 M sülfürik asit eklendi. Hemen 450 nm dalga boyunda ELİSA cihazında (*BioRad Novapath microplate reader*) okutularak optik dansite değerleri elde edildi.

Uygun grafik sisteminde oluşturulan eğriden karşılık gelen ng/mL değerleri ile plazma serbest hemoglobin düzeyleri belirlendi.

İŞIK ve ELEKTRON MİKROSKOBU İLE GÖRÜNTÜLEME

Eritrositlerde oluşabilecek şekil bozukluklarını ışık ve elektron mikroskobu ile saptamak için alınan 2 mL'lik kan örnekleri Hematoloji laboratuvarında 3 dakika 1000 Rpm de santrifüje edildikten sonra Fizyoloji laboratuvarında incelendi.

Santrifüj sonrası oluşan serum atılarak çökeltinin üzerine %2,5'lük gluteraldehid solüsyonu eklendi. Materyal iki gün fiksasyon için buzdolabında stoklandı. Stoklardan alınan pelletler *Agar-Agar* ile süspanse edildi. Elde edilen örnekler rutin elektron mikroskopik takip işlemlerinden geçirilerek *Araldit* bloklara gömüldü. Bloklardan alınan yarı-ince kesitler *Toluidine Blue* ile boyanarak ışık mikroskobunda (*Olympus BH-2, Tokyo, Japan*) incelendi. JVC (TK-890-E, Japan) kamera ile fotomikrograflar elde edildi.

İncelenen uygun alanlardan ultra-ince (70 nm' lik) kesitler elde edildi. Uranil Asetat–Kurşun Sitrat boyama ile kontrastlama yapılarak gridlere yerleştirildi. Kesitler *Libra 120 Carl Zeiss* elektron mikroskobu kullanılarak incelendi. Fotomikrograflar alındı. İnceleme ve değerlendirme çalışma gruplarını bilmeyen iki histolog tarafından yapıldı.

LORCA CİHAZI İLE ERİTROSİT DEFORMABİLİTE ÖLÇÜMÜ

Eritrositlerin EI'leri ARLAB laboratuvarında LORCA (*LORCA model LCST 002000 seri no:R&R012603, NETHERLAND*) cihazı ile reoskop yöntemiyle analiz edildi.

EDTA'lı kan örneği 1:200 oranında *Poly-vinylpolypyrrolidon* (PVP) solüsyonu ile karıştırıldı. Örneğin tamamı LORCA cihazına yüklendi cihaz 37°C'a geldiğinde çalıştırıldı. Eritrositler üzerinde 0.30-30.00 Pa kayma stresi yaratıldı. Eritrositlerin kırıdıkları ışınlara göre projeksiyon ekranında eritrositlere ait bir yansıma oluşturuldu. Bu yansımalar bilgisayara aktarılarak yansıma verilerine uyan en iyi elips çizdirildi. Seçilen her kayma stresi için ayrı ayrı "EI" değerleri hesaplandı.

KAN GAZI CİHAZI İLE POTASYUM ÖLÇÜMÜ

Kan örneklerinden kan gazları analizi, ameliyathanede kullanılmakta olan *Statt Profile M (Nova Biyomedikal, USA)* marka kan gazları analiz cihazıyla çalışmayı bilmeyen anestezi teknikerleri tarafından gerçekleştirildi.

İSTATİSTİK YÖNTEMİ

Çalışmadan elde edilen tüm veriler *SPSS 11.0 for Windows (Chicago, Illinois, USA)* bilgisayar programına kaydedilerek kontrolleri ve istatistiksel analizleri yapıldı.

İstatistiksel yöntem olarak bazal değerle gruplar arasındaki farkı anlamak için nonparametrik testlerden *Kruskall Wallis* ve *Mann Whitney-U* testleri uygulandı.

Ardışık ölçümlerin istatistiksel analizinde *Wilcoxon Signed Ranks* test ve *Post Hoc* testlerden *Bonferroni* düzeltmesi kullanıldı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama \pm standart deviasyon (ort \pm sd) olarak verildi.

BULGULAR

Dokuzu erkek, biri bayan, 29-39 yaş arasında ($32,5 \pm 3,30$) 10 sağlıklı donör çalışmaya alındı.

Donörlerin fizik bakılarında herhangi bir patoloji saptanmadı. Donörlerden (n=10) kan bankasında alınan hemogram sonuçlarının normal kan verme koşullarını sağladığı anlaşıldı (Tablo 2).

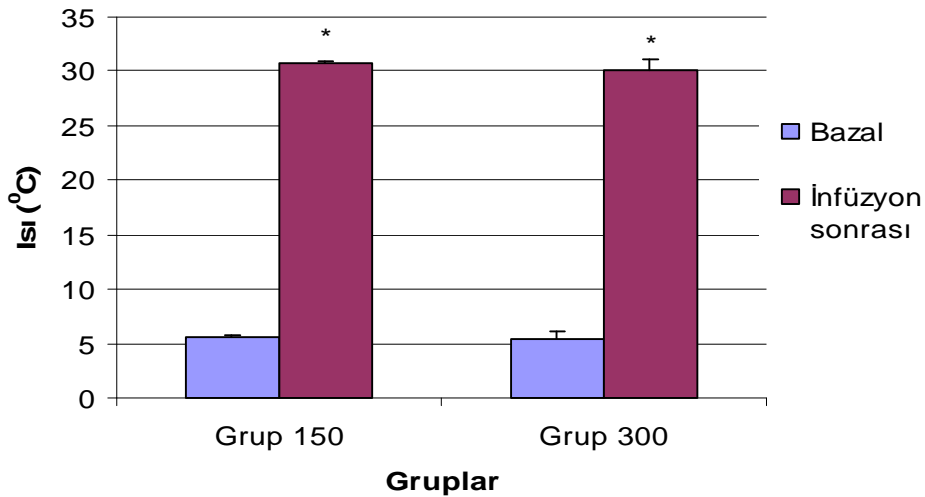
Tablo 2. Donörlerin hemogram değerleri

Hb (g/dL)	$14,35 \pm 0,62$
Hct (%)	$42,63 \pm 1,64$
Pit (μ L)	$251,30 \pm 41,32$
WBC (μ L)	$8,37 \pm 2,15$

Donörlerin kan grubu dağılımının 3 A Rh(+), 1 A Rh(-), 2 B Rh(+), 2 AB Rh(+), 2 O Rh(+) olduğu tespit edildi.

ISI

Grup150 ve Grup300'deki eritrosit süspansiyonlarından işlem öncesi elde edilen bazal ısılarının ($5,53 \pm 0,29$; $5,39 \pm 0,24$), hızlı infüzyon sisteminden geçirilmesinden sonra ($30,76 \pm 0,78$; $30,00 \pm 1,12$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış olduğu gözlemlendi ($p < 0,05$). Her iki grubun bazal ve son ısıları arasında istatistiksel olarak bir fark saptanmadı (Şekil 1).

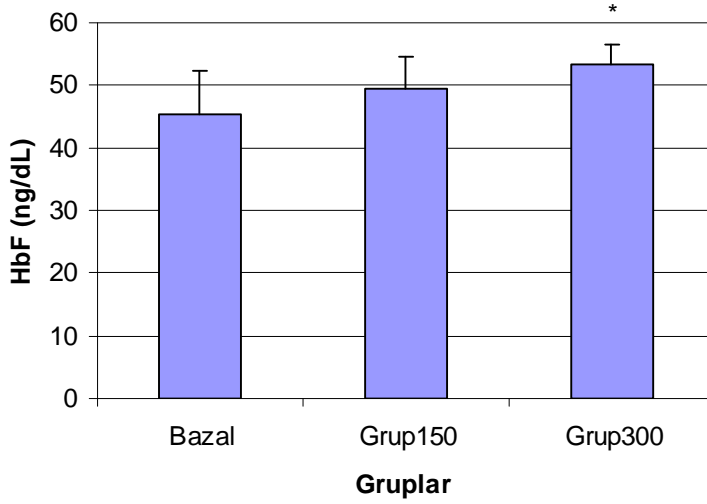


$p < 0,05$ bazal değerlere kıyasla

Şekil 1. Eritrosit süspansiyonlarının bazal ve infüzyon sonrası ısı değerleri

SERBEST HEMOGLOBİN

Serbest hemoglobin değerleri incelendiğinde Bazal<Grup150<Grup300 olduğu görüldü. Grup 300'deki HbF değerinin (53.15 ± 3.26 ng/dL) infüzyon ncesi (Bazal) Hb F değerine (45.32 ± 6.93 ng/dL) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ($p=0.007$)(Şekil 2).

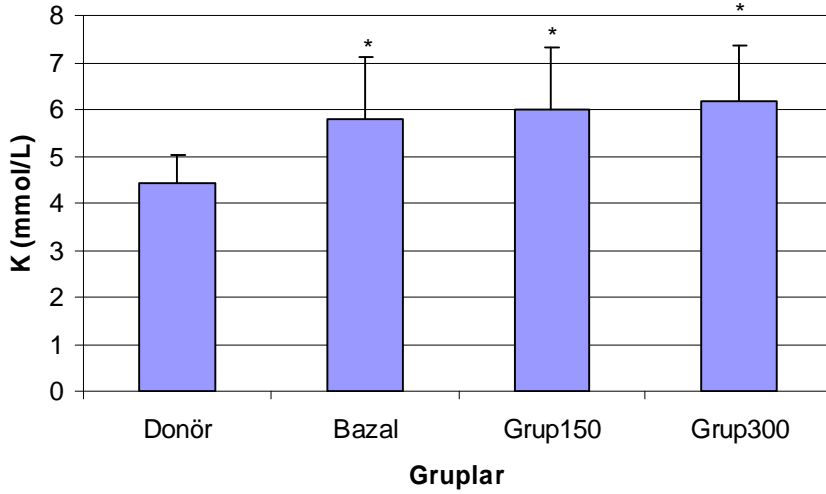


* $p=0.007$ Bazal değerlere kıyasla

Şekil 2. Bazal ve infüzyon sonrası elde edilen HbF değerleri

POTASYUM

Donrilerden kan gazları analizi için alınan kan örneklerindeki K^+ değerinin 4.41 ± 0.6 mmol/L olduğu, eritrosit sspansiyonlarındaki bazal K^+ değerlerinin (5.68 ± 1.31 mmol/L) yükseldiği ve en yüksek K^+ değerinin Grup300'de (6.19 ± 1.19 mmol/L) olduğu saptandı ($p<0.05$). Eritrosit süspansiyonlarında transfüzyon sonrası K^+ değerlerinin bazal değere göre daha yüksek olduğu ancak, her iki grubun infüzyon sonrası değerleri ile bazal değer arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu (Şekil 3).



*p<0.05 Donöre kıyasla

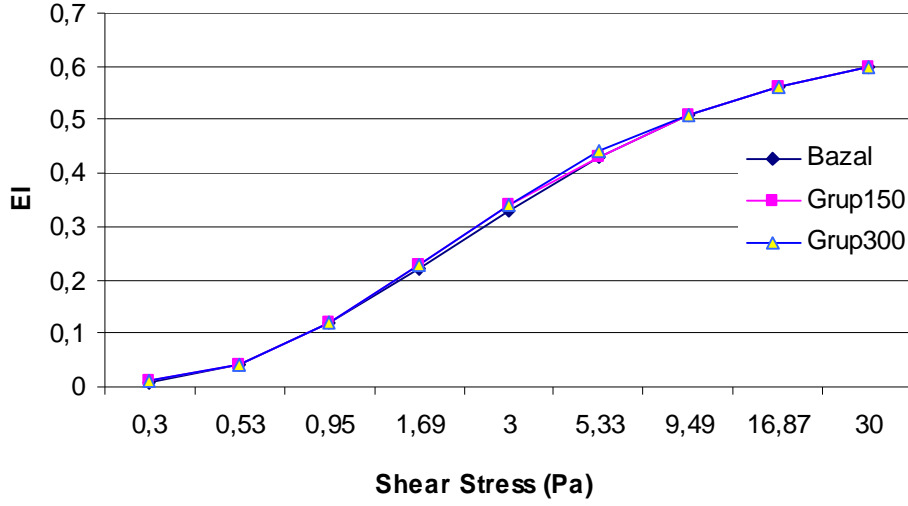
Şekil 3. Kan gazı örneklerindeki K⁺ değerleri

ELONGASYON İNDEKSİ

LORCA cihazından elde edilen bazal ve infüzyon sonrası “EI” değerlerinin birbirine çok yakın olduğu saptandı. Uygulanan basınçlara göre her üç ölçümün kendi içinde “EI” değerlerinin lineer bir artış gösterdiği ($p=0.0001$) görüldü (Tablo 3, Şekil 4).

Tablo 3. LORCA cihazından elde edilen “EI” değerleri

<i>Kayma stresi (Pa)</i>	Bazal (n=10)	Grup 150 (n=10)	Grup 300 (n=10)
0,30	0,008±0,03	0,011±0,02	0,011±0,01
0,53	0,048±0,04	0,048±0,03	0,049±0,03
0,95	0,127±0,05	0,127±0,05	0,128±0,04
1,69	0,229±0,05	0,232±0,05	0,233±0,04
3,00	0,338±0,04	0,341±0,05	0,343±0,04
5,33	0,437±0,03	0,439±0,04	0,442±0,03
9,49	0,511±0,02	0,513±0,03	0,514±0,02
16,87	0,565±0,02	0,568±0,02	0,568±0,01
30,00	0,606±0,01	0,609±0,01	0,609±0,01



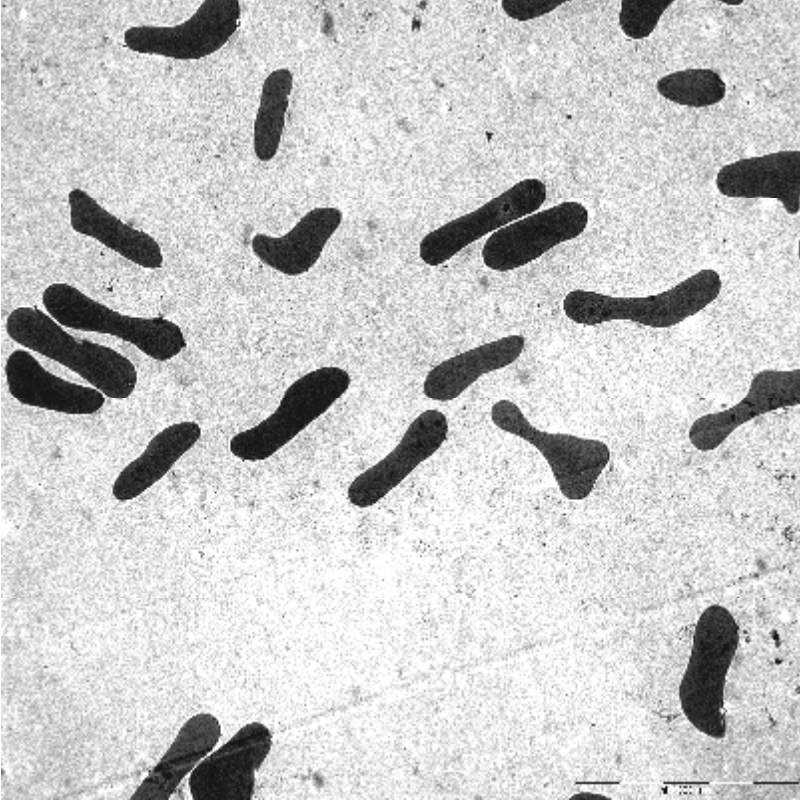
Şekil 4. "EI" değerleri

IŞIK ve ELEKTRON MİKROSKOBU GÖRÜNTÜLERİ

Işık ve elektron mikroskobu ile bazal örnek kesitlerinde eritrosit yapılarının normal olduğu gözlemlendi (Resim 4,5,6). İzlenen az sayıdaki anormal şekilli eritrositler normal sınırlar içerisinde değerlendirildi (Resim 5,6).



Resim 4. Işık mikroskobu ile bazal örneklerdeki eritrositlerin görünümü (x40)

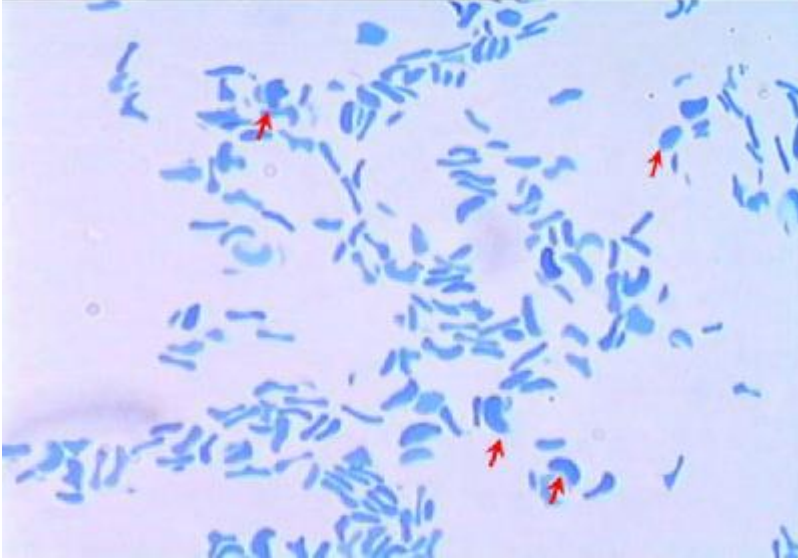


Resim 5. Elektron mikroskobu ile bazal örneklerdeki eritrositlerin görünümü (10000 nm)

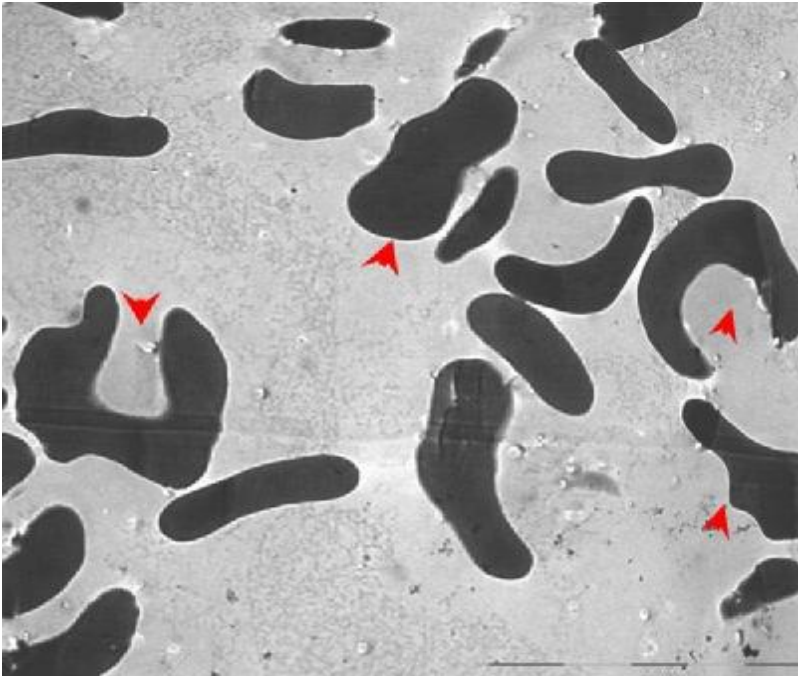


Resim 6. Elektron mikroskobu ile bazal örneklerdeki eritrositlerin görünümü (5000 nm)

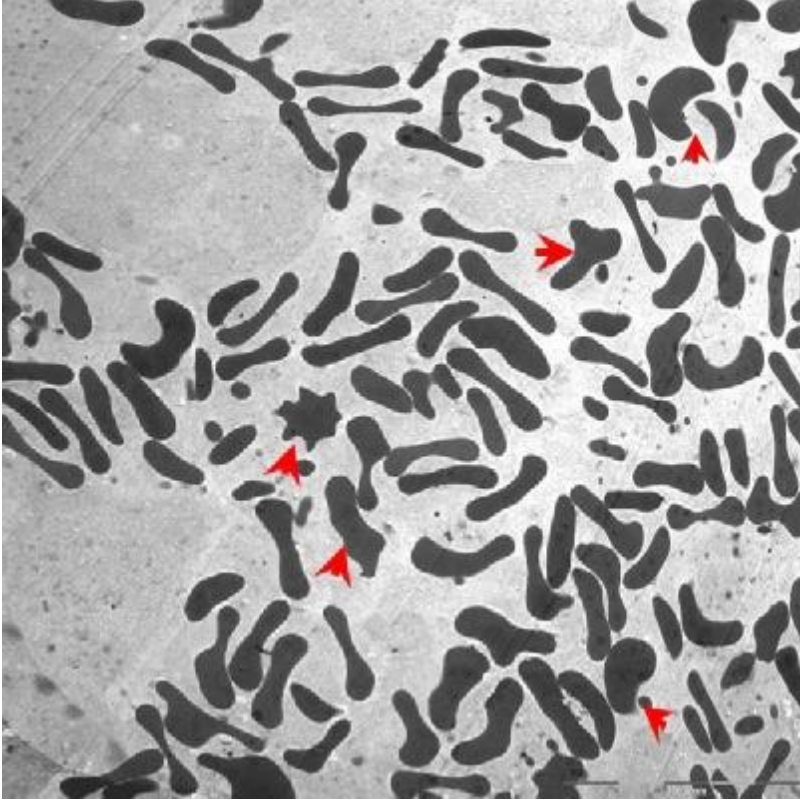
Grup 150: Işık mikroskopik bakıda eritrositlerde artan şekil bozukluğu gözlenmektedir (Resim 7). Elektron mikroskopik inceleme bozuk şekilli eritrositlerin sıklığını ve görünümünü desteklemektedir (Resim 8,9). Elektron mikroskopisi görüntülerinde morfolojik bozukluklar, hem genel eritrosit şeklinde hem de eritrosit membranında invaginasyonlar olarak izlenmektedir (Resim 10).



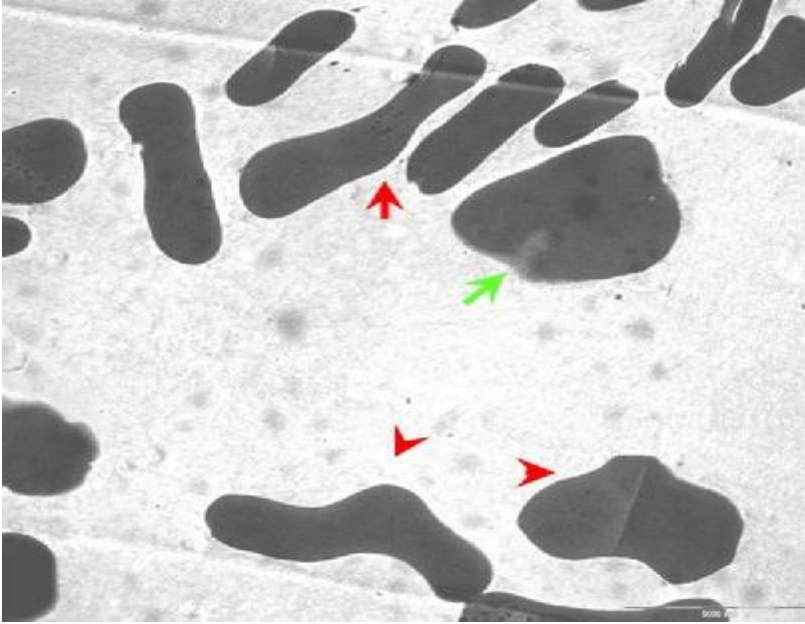
Resim 7. Işık mikroskobu ile Grup 150'deki eritrositlerin görünümünü (Kırmızı ok: deforme eritrositler) (x40)



Resim 8. Elektron mikroskobu ile Grup 150'deki eritrositlerin görünümünü (Kırmızı ok: deforme eritrositler) (10000 nm)

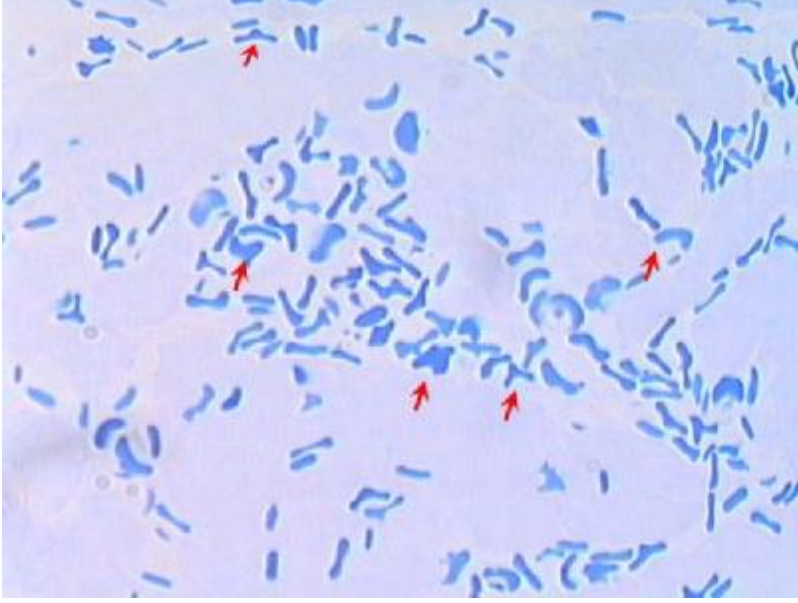


Resim 9. Elektron mikroskobu ile Grup 150'deki eritrositlerin görünümü (Kırmızı ok: deforme eritrositler) (20000 nm)

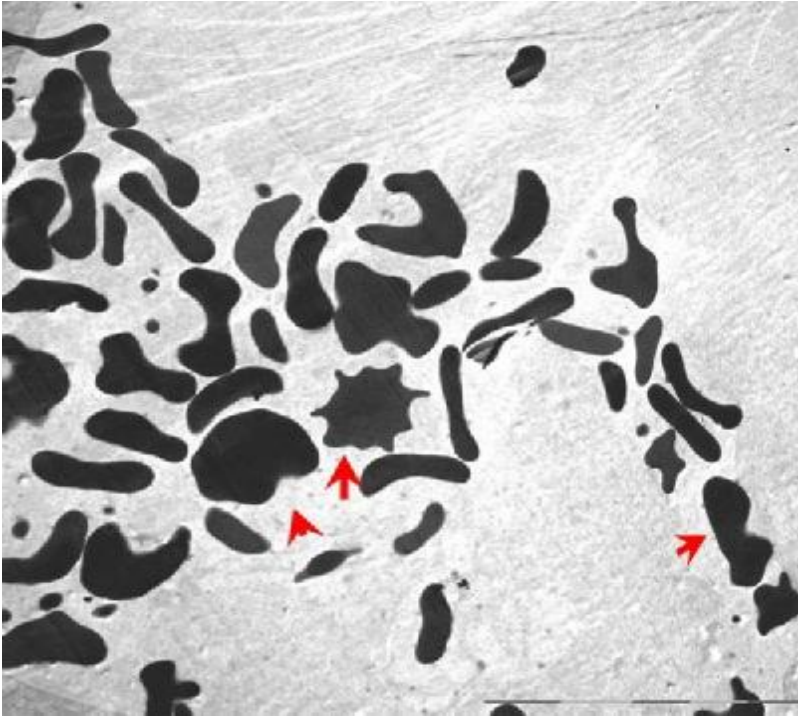


Resim 10. Elektron mikroskobu ile Grup 150'deki eritrositlerin görünümü (Kırmızı ok: deforme eritrositler, Yeşil ok: deforme eritrosit membranında invaginasyon) (5000 nm)

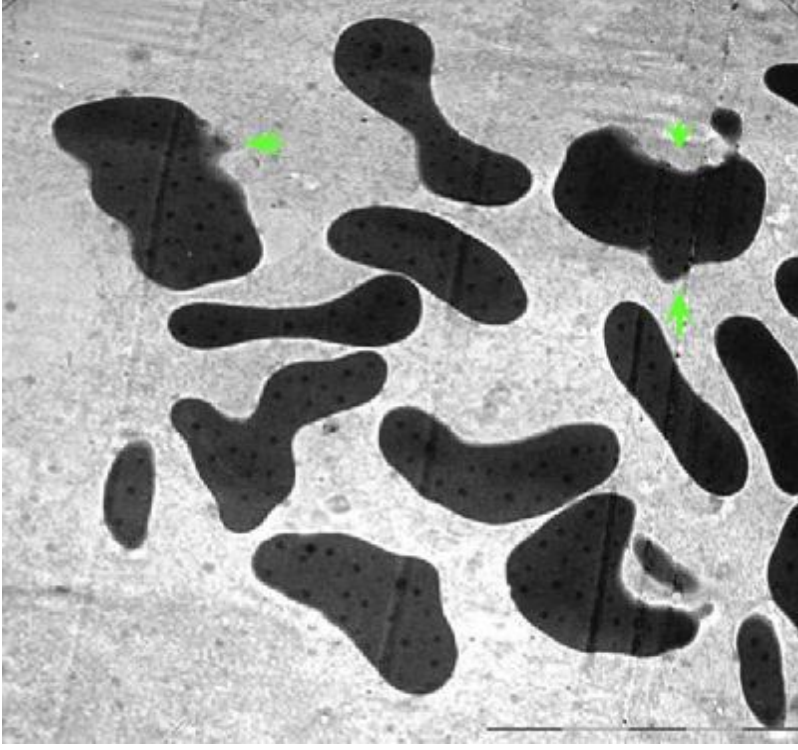
Grup 300; Işık ve elektron mikroskopik olarak Grup 150'e göre daha fazla sayıda deforme eritrositler (yıldız, küresel, orak ve şekli tanımlanamayan) görüldü. Deforme eritrositlerin membranında düzensiz invaginasyon ve tümseklikler izlendi.



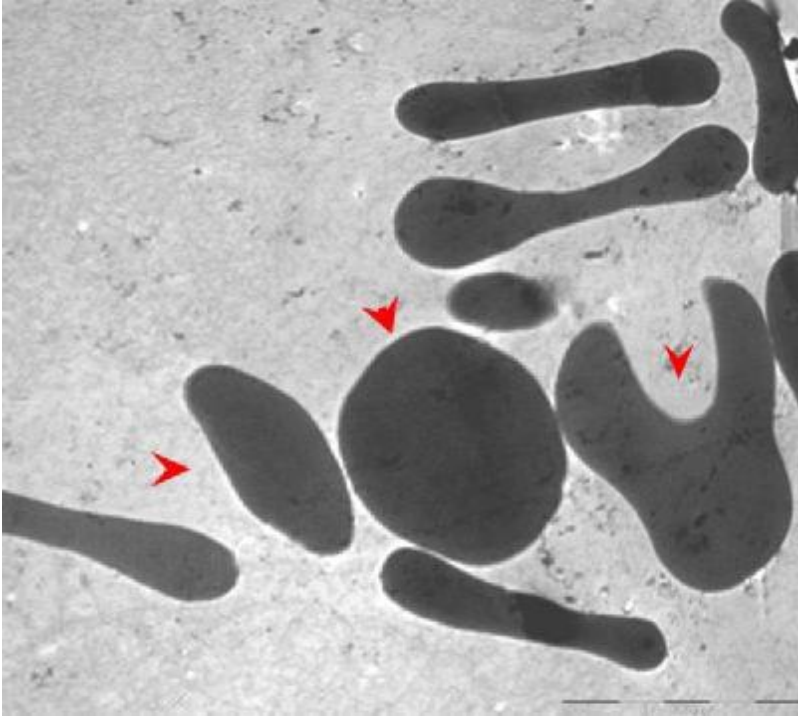
Resim 11. Işık mikroskobu ile Grup 300'deki eritrositlerin görünümü (Kırmızı ok: deforme eritrositler) (x40)



Resim 12. Elektron mikroskobu ile Grup 300'deki eritrositlerin görünümü (Kırmızı ok: değişik şekillerdeki aşırı deforme eritrositler) (20000 nm)



Resim 13. Elektron mikroskobu ile Grup 300'deki eritrositlerin görünümü (Yeşil ok: deforme eritrosit membranındaki düzensiz invaginasyon ve tümseklikler) (10000 nm)



Resim 14. Elektron mikroskobu ile Grup 300'deki eritrositlerin görünümü (Kırmızı ok: ileri derecede deforme eritrositler) (5000 nm)

TARTIŞMA

Hızlı infüzyon sistemleri, acil durumlarda kaybedilen kan ve kan elemanlarının yerine konmasını sağlarken, +4⁰C'deki banka kanını hızla ısıtarak hipoterminin oluşturabileceği komplikasyonları da büyük oranda engeller (2,4).

HİS hastalara önemli faydalar sağlamasına rağmen, sistemin “basınç, ani ısınma, sert plastik setler ve türbülans” gibi fiziksel etkilerinin eritrositler üzerinde hasara neden olabileceği bildirilmiştir (2,8,9,12,15). Çalışmalardaki yöntem, laboratuvar, teknik farklılıklar nedeniyle oluşan çelişkili sonuçlar bu konuyu tartışmalı hale getirmektedir. Kimi çalışmalar 150 ve 300 mmHg basınç ile kullanılan HİS'nin eritrositler üzerinde önemli bir hasara yol açmadığını ve güvenle kullanılabileceğini belirtirken (2,12,15), bazı çalışmalar tam tersi görüşü (8,9) savunmaktadır.

Basınç, ısı gibi fiziksel etmenlerin eritrosit membranlarına akut hasar verebileceği konusunda yapılan çalışmalar vardır(8,9,14,18). Prostetik aletlerin neden olduğu supra-fizyolojik stres koşullarının, hemoliz ve trombozdan kaynaklanan çok sayıda komplikasyona yol açabileceği bilinmektedir (18). Ancak, HİS'nin eritrositler üzerinde oluşturabileceği membranöz ve yapısal bozuklukların klinik ortamda oluşturabileceği uzun süreli etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Level 1 1000 HİS'de kullanılan “*Normothermic İ.V. Fluid Administration Setler 2* bölgede (ısıtma ve hava filtresi bölgeleri) 4 adet 90⁰ açı yapmaktadır(Resim 2). Eritrosit süspansiyonu ayarlanan basınçla doğru orantılı bir hızla sert plastikten yapılmış seti geçerken bu dik açılı bölgelerde türbülansa ve yüksek-strese uğramaktadır. *Level 1 (1000, H 1200)* sistemlerinde kullanılmak için geliştirilmiş setlerin hepsi aynı özellikleri taşımaktadır. Ancak diğer HİS'inde (*FMS 2000, Hotline, Ranger vb*) kullanılan setler yapısal olarak farklılıklar içermektedir. Bu nedenle; değişik sistemlerin eritrositler üzerinde farklı stresler yaratması doğaldır. Farklı cihazlar birbirleri ile karşılaştırılırken bu konuyu ele alan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Kan bankalarında 2-6°C arasında saklanan kanların HİS ile yüksek basınç altında saniyeler içinde ısıtılması eritrositler üzerinde ikinci bir stres faktörüdür. Çalışmalarda farklı akım hızlarında kullanılan cihazlarla kanın 24-39°C'a kadar ısıtıldığı bildirilmiştir (3, 5,15). *Level 1 1000* hızlı infüzyon sistemi kan ve sıvıları 37°C'lık fizyolojik ısıya ulaştırması için tasarlanmıştır. Ancak, 300 mmHg basınç altında, en yüksek akım hızında (575 mL/dk) kullanıldığında kanı 8°C'dan 32°C'a ısıtılabilmiştir(3). *Level 1 1000* hızlı infüzyon sistemi ile gerçekleştirdiğimiz çalışmada eritrosit süspansiyonlarının +5°C civarında saptanan bazal ısıları saniyeler içinde +30°C düzeyine ulaşmıştır. *Level 1 1000*'in sistem ısısı 41°C'a ayarlandıktan sonra, sisteme uygulanan basınç arttıkça akım hızı artmış, ancak oluşan son ısılar basınçla ters orantılı olarak azalmıştır. *Hotline* ve *Ranger* kan ısıtıcılarının akım hızları ve ısıtma etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada eritrosit süspansiyonu 90 ve 300 mmHg basınçlarda sistemden geçirildiğinde daha yüksek basınçta kanın daha az ısındığı saptanmıştır(5). HİS kullanımı ile hızlı-hacim infüzyonu sağlansa bile, yüksek basınç altında kan ısının yeterince yükseltilemeyeceği ve hipotermi riski taşıdığı dikkate alınmalıdır (3).

Yayınlanmış çalışmalarda, akut hemolizin göstergesi olarak; Hb, Hct, eritrosit sayısı, serbest Hb, potasyum ve LDH konsantrasyonu gibi birçok parametreye bakılmıştır. Bu parametreler içinde en spesifik değişikliğin "Serbest Hb" düzeyinde olduğu bildirilmiştir (8,12). Bu nedenle deneysel araştırmamızda akut hemoliz göstergesi olarak daha spesifik olduğu bildirilen HbF ve K⁺ düzeylerindeki değişimler temel alınmıştır.

ELISA yöntemiyle ölçtüğümüz serbest Hb düzeyinin bazal değere (45.32±6.93 ng/dL) kıyasla Grup150'de ve Grup300'de (53.15±3.26 ng/dL) arttığı saptandı ($p=0.007$). Çalışmamızın bu verileri, eritrosit süspansiyonlarının hazırlanması sırasında hemoliz oluştuğunu, HİS'nin ayarlanan basınçla orantılı olarak hemolizde artışa neden olduğunu desteklemektedir.

Günümüze kadar HbF düzeyi açısından çelişkili sonuçlar bildirilmiş olmasının temel nedeni çalışmalardaki metodolojik ve teknik farklılıklardır. Yayınlanmış araştırmaların bazılarında 9-38 gün arasında depolama süreleri olan kanların (2,8,12,15), bazılarında ise kullanım süresi dolmuş kanların kullanıldığı görülmektedir(2,7,15).

Doğal olarak akut hemolizle ilgili bu çalışmalarda eritrosit süspansiyonlarının standardizasyonu yetersizdir. Bizim çalışmamızda Grup150 ve Grup300'de kullanılan eritrosit süspansiyonları, 29-39 yaş arasındaki genç sağlıklı donörlerden elde edilmiştir. Karşılaştırılan her iki gruptaki eritrositler aynı donörden hazırlanan 300 mL'lik eritrosit süspansiyonunun 150 mL'lik 2 adet pediatrik torbaya bölündüğünden birebir aynıdır. Aynı zamanda donörlerden alınan tüm kanlar kan bankasında hazırlanmasının üzerinden 24 saat geçmeden araştırmada kullanılarak standardizasyon sağlanmıştır.

Kan verme işlemlerinde branül çaplarının hemolizi etkilediği bilinmektedir (12). Bu nedenle tüm gruplarda klinik kan verme koşullarımıza benzer olarak *Level 1 1000* setine 16 G Branül eklenerek standardizasyon sağlanmıştır.

Yayınlanan çalışmalarda HbF düzeylerinin ölçümü; görsel renk değişimi, kimyasal (2,14) ve spektrofotometrik (8,9,12,15) yöntemlerden biriyle yapılmıştır. Çalışmaların bir kısmında ise yöntemden hiç bahsedilmemektedir (13,18). 2002'de *Transfusion Medicine Reviews'de* yayınlanan makalede en güvenilir HbF ölçümünün spektrofotometrik yöntemlerle yapılması gerektiği bildirilmektedir(11). Bu nedenle araştırmamızda HbF düzeyinin ölçümü, kimyasal yöntemlere göre daha güvenilir olan spektrofotometrik yöntemle (*ELISA*) yapılmıştır.

Hemolizi araştıran çalışmalarda, HbF düzeyinin yanında K^+ düzeylerindeki değişim de incelenmiştir (2,8,15). Donörlerden alınan kan gazı örneklerindeki K^+ düzeyinin 4.41 ± 0.6 mmol/L olduğu, tam kandan eritrosit süspansiyonu elde edilmesi sırasında santrifüj, çalkalanma gibi işlemlemeye bağlı olarak 5.68 ± 1.31 mmol/L düzeyine yükseldiği görüldü. Eritrosit süspansiyonlarının *Level 1 1000* hızlı infüzyon sisteminden geçirilmesinden sonra gelişen akut hemolize bağlı olarak K^+ düzeyinin arttığı (Grup300; 6.19 ± 1.19 mmol/L) saptandı. Bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmaması kullandığımız kanların sağlıklı genç donörlerden alınan 1 günlük kanlar olmasından ve işlemden hemen sonra ölçüm yapılmasından kaynaklanabileceği düşünüldü. Mikrodalga ısıtıcıların eritrositler üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; ısıtmadan hemen sonraya göre 48 saat sonra hemolizde belirgin bir artış saptandığı bildirilmiştir.

Bu nedenle kanın ısıtılmasından sonraki hemoliz araştırılmasında ısıtma ile ölçüm arasındaki zamanın önemli bir faktör olduğu ileri sürülmüştür(14). Bizim çalışmamızda işlemden hemen sonra hemoliz araştırmasının yapılması bu sonucun nedeni olabilir. Eğer bir süre beklenseydi, K⁺ düzeyleri daha yüksek olarak saptanabilirdi. Diğer taraftan, kan bankalarında depolama süresi uzadıkça eritrosit membran permeabilitesinin artmasıyla birlikte plazma potasyumunun da arttığı bilinmektedir (8). İki infüzyon cihazının karşılaştırıldığı bir çalışmada farklı depolama sürelerine sahip kanlardaki eritrosit yaşı ile serbest Hb ve potasyum değerindeki artışın doğru orantılı olduğu bildirilmiştir(8). 35 günlük eritrosit süspansiyonunda potasyum yoğunluğu 78.5 mmol/L'ye ulaşabilmektedir. Klinik koşullarda hiperkalemik kardiyak arrest vakaları görülmesi nedeniyle bu durumun dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir(2). Çalışmamızda taze eritrosit süspansiyonu kullanmamızın K⁺ düzeylerindeki artışı sınırlayan bir etmen olduğu düşüncesindeyiz.

Eritrosit deformabilitesi plazma serbest hemoglobini ölçümüyle saptanamayan kan hasarını değerlendirmede kullanılabilir bir yöntem(18) ve LORCA cihazının eritrosit deformabilitesinin en güvenilir ölçüm cihazı olduğu bildirilmiştir(16,17). Ancak bizim EI bulgularımız bu verileri doğrulamamaktadır. LORCA cihazıyla araştırdığımız deformabilite (EI) değerleri bazale göre, Grup150 ve Grup300'de artış göstermesine rağmen istatistiksel olarak aralarındaki fark anlamlı değildi.

Isı membran deformabilitesini çok etkilediği için işleme sırasında membranın stabilitesini de etkilemektedir (11). Isının etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada işlemin hemen arkasından alınan kan örneklerinde değişiklik olmadığı, ancak beklenildiğinde bu değişikliğin geç olarak meydana geldiği bildirilmektedir (13). Bir çalışmada, 5⁰C'dan 37⁰C'a ısıtılan eritrositlerin LORCA ile incelenmesinde "EI" değerlerinde anlamlı bir artış saptanmıştır (23). Eritrositlerin ısıtılmasıyla ilgili yapılan başka bir çalışmada 2⁰C daki eritrositlerin 24-37⁰C arasına ısıtılmasının eritrosit deformabilitesini yavaşça, 48-50⁰C arasında ise dramatik olarak arttırdığını göstermiştir (13). Her iki çalışmada kullanılan kanların kaç günlük kan olduğu belirtilmemiştir.

Çalışmamızda, kanı 150 ve 300 mmHg basınç altında 30°C civarında ısıtılmamız hemen ardından LORCA ile analiz etmemiz ve sağlıklı genç gönüllülerden aldığımız 1 günlük taze eritrosit süspansiyonu kullanmamız aradaki farkın az olmasına neden olmuş olabilir.

Eritrositin şeklini oluşturan, özel membran yapısıdır. Eritrosit membranının iki lipid tabakasının içerisinde transmembran proteinleri (Glikoforin ve Band-3 Proteini) ve membranın iç yüzeyini döşeyen periferik proteinler (Spektrin tetramerleri) vardır. Bu tabakaları birbirine bağlayan Ankrin'in konfigürasyonudur. Bu proteinlerin genetik bozukluğu, yokluğu, çevresel etkenlerle bozulması eritrosit membranında dinamik değişikliklere ve şekilsel deformitelere yol açmaktadır (28).

İki yavaş infüzyon cihazının karşılaştırıldığı, 9-35 gün arasındaki kanlarla yapılan çalışmada hemolizde artma saptanmasına rağmen mikroskopide hasar kanıtı görülmemiştir (8). Eritrositler üzerine ısının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 24°C'a ısıtılan eritrositlerde dejeneratif değişiklikler saptanmazken, 49°C'a ısıtıldığında sferosit oluşumu, tomurcuklanma ve fragmantasyon görülmüştür (13). Bu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak çalışmamızda eritrositler üzerine 150 ve 300 mmHg basınç uygulanması ve yaklaşık 30°C'a ısıtılması sonucunda eritrositlerde basınçla artan deformasyon bulguları saptanmıştır. 300 mmHg basınç ve yaklaşık 25 °C ısı değişimi eritrositlerde aşırı şekil bozukluklarına, membranlarında invaginasyon ve tomurcuklanmaların görülmesine neden olmuştur.

Bu bulgular HİS'nin eritrositler üzerinde oluşturduğu ısı, basınç, türbülans gibi fiziksel değişikliklerle gelişen akut etkileri desteklemektedir. Bununla birlikte ileri düzeyde hasarlanmış olan eritrositlerin uzun süreli klinik etkilerinin araştırılması gerektiği kanaatindeyiz.

Cerrahi sırasında büyük hacimli kan kaybı hem anestezi ekibini, hem de cerrahı strese sokarak ekibin hata payını yükseltir. Bu hataları engellemek için firmaların klinisyenlere daha güvenli sıvı resüsitasyon ekipmanı sağlaması bir zorunluluktur(4).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Level 1 1000 hızlı infüzyon sisteminin eritrositler üzerinde oluşturduğu hasarı multidisipliner olarak araştırdığımız deneysel çalışmanın sonuçlarına göre:

Hızlı infüzyon sistemi yüksek basınçlarda;

1-Banka kanının ısısını 37°C düzeyine ulaştıramadığı için hipotermi riskini azaltsa da tam olarak ortadan kaldırmadığı,

2-Sistemin eritrositler üzerinde oluşturduğu yüksek basınç, ani ısınma ve türbülans nedeniyle akut hemolize ve eritrositlerde kalıcı hasarlara neden olduğu görüldü.

Klinisyenlerin eritrositler üzerinde oluşturduğu hasarları dikkate alarak HİS'ni yüksek basınçlarda kullanmaktan kaçınmaları, üretici firmaların da stres noktalarını azaltmak için sistemi ve setlerini tekrar gözden geçirmeleri gerektiği kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

1. Ar MC, Bilgen H, Utku T, Kanın Klinik Kullanımı, 2005, İstanbul (published by the World Health Organization in 2001 under the title The clinical use of blood: Handbook World Health Organization 2001)
2. Kim P, Chin-Yee I, Eckert K, Malthaner RA, et al. Hemolysis with rapid transfusion systems in the trauma setting. *Can J Surg.* 2004 Aug;47(4):295-7.
3. Comunale ME. A laboratory evaluation of the Level 1 rapid infuser (H1025) and the Belmont instrument fluid management system (FMS 2000) for rapid transfusion. *Anesth Analg.* 2003 Oct;97(4):1064-9.
4. Eaton MP, Dhillon AK. Relative performance of the Level 1 and ranger pressure infusion devices. *Anesth Analg.* 2003 Oct;97(4):1074-7.
5. Horowitz PE, Delagarza MA, Pulaski JJ, Smith RA.: Flow Rates and Warming Efficacy with Hotline and Ranger Blood/Fluid Warmers. *Anesth Analg.* 2004 Sep;99(3):788-92.
6. Bissonnette B, Paut O. Active warming of saline or blood is ineffective when standard infusion tubing is used: an experimental study. *Can J Anaesth.* 2002 Mar;49(3):270-5.
7. Avula RR, Kramer R, Smith CE. Air detection performance of the Level 1 1000 H-1200 fluid and blood warmer. *Anesth Analg.* 2005 Nov;101(5):1413-6.
8. Parfitt HS, Davies SV, Tighe P, Ewings P. Red cell damage after pumping by two infusion control devices (Arcomed VP 7000 and IVAC 572). *Transfus Med.* 2007 Aug;17(4):290-5.

9. Hansen TG, Sprogøe-Jakobsen NU, Pedersen CM, Olsen KS, et al. Haemolysis following rapid experimental red blood cell transfusion. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1998 Jan;42(1):57-62.
10. Aldridge J. Potential air embolus from a Level 1 Rapid Infuser. *Anaesthesia*. 2005 Dec;60(12):1250-1.
11. Sowemimo-Coker SO. Red blood cell hemolysis during processing. *Transfus Med Rev*. 2002 Jan;16(1):46-60. Review.
12. Frelich R, Ellis MH. The effect of external pressure, catheter gauge, and storage time on hemolysis in RBC transfusion. *Transfusion*. 2001 Jun;41(6):799-802.
13. Williamson JR, Shanahan MO, Hochmuth RM. The influence of temperature on red cell deformability. *Blood*. 1975 Oct;46(4):611-24.
14. Hirsch J, Menzebach A, Welters ID, Dietrich GV, et al. Indicators of erythrocyte damage after microwave warming of packed red blood cells. *Clin Chem*. 2003 May;49(5):792-9.
15. Mateer JR, Perry BW, Thompson BM, Tucker JF, et al. Effects of rapid infusion with high pressure and large-bore i.v. tubing on red blood cell lysis and warming. *Ann Emerg Med*. 1985 Oct;14(10):966-9.
16. Hardeman MR, Besselink GA, Ebbing I, de Korte D, et al. Laser-assisted optical rotational cell analyzer measurements reveal early changes in human RBC deformability induced by photodynamic treatment. *Transfusion*. 2003 Nov;43(11):1533-7.

17. Hardeman MR, Dobbe JG, Ince C. The Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer (LORCA) as red blood cell aggregometer. Clin Hemorheol Microcirc. 2001;25(1):1-11.
18. Zhao R, Antaki JF, Naik T, Bachman TN, et al: Microscopic investigation of erythrocyte deformation dynamics. Biorheology. 2006;43(6):747-65.
19. Kan merkezleri ve transfüzyon derneği Nisan 2004, İstanbul Türkiye, Avrupa konseyi yayınları F-67075 Strasbourg Cedex
20. (TARD) Anestezi Uygulama Kılavuzları, Kan ve Kan Ürünleri Transfüzyonu, Mart 2006 <http://www.tard.org.tr//kilavuz/6.pdf>
21. Triulzy JD, Blood transfusion therapy. American Association of Blood Banks, Maryland, USA,1999. Arslan Ö. Kan Transfüzyon Tedavisi 6. baskı, 2002
22. Woon S, Talke P. Amount of air infused to patient increases as fluid flow rates decrease when using the Hotline HL-90 fluid warmer. J Clin Monit Comput. 1999 May;15(3-4):149-52.
23. Guyton A. C,Hall J. E. Textbook of Medical Physiology ISBN:975-420-129-3 GUYTON&HALL
24. The administration of blood and blood components and the management of transfused patients. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Royal College of Nursing and the Royal College of Surgeons of England. Transfus Med. 1999 Sep;9(3):227-38.
25. Singh M, Stoltz JF. Influence of temperature variation from 5 degrees C to 37 degrees C on aggregation and deformability of erythrocytes Clin Hemorheol Microcirc. 2002;26(1):1-7.
26. Schmid-Schonbein H, Hemorheology. In Greger R and Windhorst U (Eds.),Comprehensive Human Physiology, Springer-Verlag, Berlin, 1996, pp. 1747-1793

27. Wang X, Zhao H, Zhuang FY, Stoltz JF, et al. Measurement of erythrocyte deformability by two laser diffraction methods Clin Hemorheol Microcirc 1999;21(3-4):291-5.
28. Ross M. H. Histology aText and ATLAS ISBN: 0-683-30242-6, Lippincott Williams&Wilkins