

## KAN BANKASINDA BEKLEME SÜRESİNİN ERİTROSİT SEDİMANASYON HIZI VE FİBRİNOJEN SEVİYESİNE ETKİLERİ

*EFFECTS OF STORAGE PERIOD ON ERYTHROCYTE SEDIMENTATION RATE AND FIBRINOGEN LEVEL OF STORED WHOLE BLOOD*

**Yılmaz DÜNDAR, Recep ASLAN**

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Afyon

**ÖZET:** Çalışma, transfüzyon için alınmış ve kan bankasında bekletilen kanların kullanılabilirlik düzeyinde bekleme süresince oluşabilecek azalmanın rutin ve basit laboratuvar testlerinden eritrositsedimentasyon hızı (ESR) ve fibrinojen tayini ile belirlenebilirliğinin incelenmesi amacıyla gerçekleştirildi. Dört adet sağlıklı genç erkek bireyden HbS Ag, HIV, VDRL taramalarından sonra alınan birer ünite kanda 22 gün boyunca gün aşırı sedimentasyon ve fibrinojen tayini yapıldı. Eritrosit sedimentasyonu Westergreen yöntemi ile ½ ve 1 saatlik veriler halinde, fibrinojen ise rutin yöntemlerle ölçüldü. Fibrinojen düzeylerinin kan alınımından sonraki 5. günde yaklaşık % 50'lik bir düşüş göstererek azaldığı, fibrinojen düzeyindeki azalmanın 7. güne kadar devam ettiği gözlemlendi. Yedinci günden sonra fibrinojen miktarında önemli bir değişiklik oluşmadığı ve bu azalmış formunda sabit bir çizgiye oturduğu izlendi (p=0.000). ESR'nin 5 ve 7. günde istatistiksel olarak arttığı (1/2 saat p=0.030, 1 saat p= 0.034) daha sonra eritrositlerin sedimentasyon yeteneğinin ortadan kaybolduğu görüldü. Transfüzyon amacıyla alınan kanların özellikle eritrosit hücrelerinin elektriksel yüklerinin ve koagülasyon proteinlerinin zamanla azaldığını gösteren ESR ve fibrinojen tayini kan torbalarındaki kanların reolojik açıdan amaca uygunluğunu tahmin etmek için kullanılabilir. Ayrıca transfüzyon işleminin kanın torbalanmasından sonra en çok 3-4 gün içinde gerçekleştirilmesinin özellikle ağır hastalarda beklenen sonuç açısından önemli olacağı düşünülmektedir. Diğer yandan kan torbalarında daha fazla beklemiş kanların hücresel makromoleküler kayıplar ile bu kayıpların oranları ve diğer parametrelerle ilişkileri dikkate alınarak yapılacak yeni çalışmalarla elde edilecek veriler transfüzyon uygulamalarının daha rantabl hale getirilmesine katkı sağlayabilir.

[Anahtar Kelimeler: Eritrosit sedimentasyon hızı, fibrinojen, transfüzyon, kan, kan bankası]

**ABSTRACT:** This study planned to investigate the quality determination ability of the fibrinogen level analyze and ESR test in the stored blood due to storage period. Blood was drawn from four healthy young male donors, after routine donor selection procedures (HbS Ag, HIV, VDRL) and stored for 22 days at 4 °C. Fibrinogen level analyzes and ½ and 1 hour ESR stages were determined twice daily from day to day 22 by using commercial kits and Westergreen tubes. Fibrinogen level decreased 50 % during the storage period after day 5 to day 22 (p=0.000). ESR activity significantly increased to day 9 of the storage (1/2 hr p=0.030 and 1hr p=0.034).. After the day 9, sedimentation ability of the blood was lost fibrinogen level analyze and ESR tests may use the determination of the rheological function of stored blood in blood banks. Because these testes are present significant remarks about the relationship between hemoglobin-oxygen and the negative charge of the red blood cells and coagulation proteins. The transfusion in the days 1 to 4 can be better than later implications. However, we don't know whether such alterations have clinical importance for the determine blood quality in blood bank.

[Key words: Erythrocyte sedimentation rate, fibrinogen, transfusion, blood, blood bank]

## GİRİŞ

Bir çok hastalığın prognozunu olumlu etkilediği kabul edilen ve bu nedenle tedavi amaçlı olarak uygulanabilen kan aktarımı bugün çok yaygın başvuru bir girişimdir (9). Güncel uygulamada transfüzyon amaçlı olarak alınan kanlar kan torbalarında 4 °C'lik saklama koşullarında yaklaşık bir ay boyunca kullanıma hazır olarak bekletilmektedir (16). Hatta son zamanlarda bazı araştırmacılar dörtlü saklama ve yeni antikoagulan maddelerin eklenmesi ile kullanıma uygun saklama süresinin iki aya kadar uzayabildiğini ileri sürmüşlerdir (2). Öte yandan kan bankasında bekletilen kanların kan hücrelerinde gelişen fiziksel, kimyasal ve fizyolojik mekanizmaların bu hücrelerin morfolojik tabiatını ve kan plazmasının normal durumunu olumsuz etkilediğine yönelik temel tartışmalar ve yeni arayışların varlığı da dikkat çekmektedir (1,9,11).

ESR, eritrositlerin birbirini iterek kümeleşmesini engelleyen zeta potansiyelinin en önemli kaynağı olan membran siyalik asitlerinin azalması ile artar (12). Fibrinojen ise eritrosit membranı üzerinde bipolar özelliği ile potansiyeli yalıtın bir tabaka oluştururken üç zincirli yapısı ile eritrositler arasında elektriksel bağlar yaparak eritrositleri kümeleştirir ve ESR'yi artırır (8).

## MATERYAL VE METOD

Çalışmada kullanılan kan örnekleri, sigara, alkol ve herhangi bir ilaç kullanmayan 20-25 yaşları arasındaki sağlıklı dört öğrenciden rutin donör eleme testleri olan HbS Ag, HIV ve VDRL uygulamalarından sonra sabah

kahvaltısından yaklaşık 2 saat sonra alındı. Kan torbaları CPDA-1 içerikli olarak tercih edildi. Kompozisyonun dağılımı 2.63 g sodyum sitrat, 0.3 g sitrik asit, 0.22 g monofazik sodyum fosfat monohidrat, 3.2 g dekstroz, 0.035 g adenin ve bunlarla birlikte 100 ml'ye tamamlanmış distile su şeklindedir. 450 ml kan içinde 63 ml antikoagulan madde bulunmaktadır. Numuneler kan torbaları uygun biçimde karıştırılıp içeriğin homojen hale gelmesi sağlandıktan sonra steril vakoteynirler ile alınmıştır. Her kan alımından sonra kan torbası hortumu delinen kısmının altından medikal pensle sıkıştırılıp üst kısım uzaklaştırılmış ve kan örnekleri hortumun periferinden torbaya doğru gün aşırı bu şekilde alınmıştır. Bu yolla olası kontaminasyonlar ve interferens faktörlerinin çalışma sonuçlarını etkilemesi engellenmeye çalışılmıştır.

Eritrosit sedimantasyonu klasik Westergreen yöntemi ile ½ ve 1 saatlik çökme düzeylerinin okunması şeklinde, fibrinojen miktarı ise rutin yöntemle ticari kiti kullanılarak (Diagnostica Stago, Lot No: 943234) fibrometre ile yapıldı. İstatistiksel hesaplamalar SPSS 10.0 paket programında One Way Annowa-Duncan testi uygulanarak yapılmıştır.

## BULGULAR

Deneklere ilişkin özellikler Tablo I'de, çalışma süresince elde edilen sedimantasyon testi ve fibrinojen düzeylerine ilişkin sonuçlar Tablo II'de., kan torbalarından elde edilen verilerin günlere göre grup ortalamaları ise, Tablo III'de sunulmuştur

Tablo I. Donörlerin temel nitelikleri

Cinsiyet ve sayı	Erkek, 4
Yaşlar	20, 21, 23, 24
Meslek	Öğrenci
Çalışma şekli	Oturarak
Yaşadığı bölge	Rakım 1700 m, göl kenarı
Donörlerin aç/tok olma hali	Kahvaltı yapılmış
Yaşam tarzı	Sedanter,
Alışkanlıklar (alkol, sigara,)	Yok
Sürekli kullanmak zorunda olduğu ilaç	Yok
Önemli hastalık öyküsü	Yok

**Tablo II.** °4 C’de 22 günlük saklama sırasında elde edilen fibrinojen (gram/litre), ½ ve 1 saatlik eritrosit sedimentasyonu (milimetre)’nin değerleri

Gün	Kan torbası I			Kan torbası II			Kan torbası III			Kan torbası IV		
	½ sed	1s sed	Fibrin	½ sed	1s sed	Fibrin	½ sed	1s sed	Fibrin	½ sed	1s sed	Fibrin
1	2	7	3.40	4	8	2.66	3	6	2.61	1	2	2.70
3	4	10	3.40	1	3	2.65	8	15	2.60	1	2	2.70
5	12	25	1.70	28	60	1.52	5	10	1.86	1	2	1.48
7	1	2	1.45	9	20	1.62	4	10	1.86	5	12	1.40
9	1	2	1.32	1	2	1.40	1	3	1.26	1	2	1.29
11	1	2	1.32	1	2	1.40	1	4	1.26	1	4	1.22
13	1	2	1.36	1	2	1.50	1	2	1.33	1	2	1.40
15	1	2	1.50	1	2	1.58	1	2	1.33	1	2	1.42
22	1	2	1.45	1	2	1.40	1	2	1.37	1	2	1.33

**Tablo III.** Fibrinojen düzeyi (gram/litre), ½ ve 1 saatlik ESR (milimetre) testi sonuçlarının ilk gün verileriyle istatistiksel karşılaştırılması (ortalama ± SD)

Günler	Fibrinojen	ESR (½ saat)	ESR (1 saat)
1.	2.84 ± 0.37	2.50 ± 1.29	5.75 ± 2.63
3	2.83 ± 0.37	3.5 ± 3.31	7.5 ± 6.13
5	1.64 ± 0.17 *	11.50 ± 11**	24.25 ± 25.6***
7	1.58 ± 0.20*	4.75 ± 3.3**	11 ± 7.39***
9	1.31. ± 0.21*	1.00 ± 00	2.25 ± 0.5
11	1.30 ± 0.20*	1.00 ± 00	3.00 ± 1.15
13	1.39 ± 0.10*	1.00 ± 00	2.00 ± 00
15	1.45 ± 0.10*	1.00 ± 00	2.00 ± 00
22	1.38 ± 0.05*	1.00 ± 00	2.00 ± 00

P=0.000, \*\*p= 0.030, \*\*\* p= 0.034

### TARTIŞMA

Bu çalışmada zararlı alışkanlıkları bulunmayan, aynı yaş grubunda, sağlıklı, genç ve dinamik donörlerin özellikle seçildiği Tablo I’den de anlaşılmaktadır. Araştırmada elde edilen ham veriler Tablo II’de , bu verilerin istatistiksel anlamlandırılmaları ise, Tablo III’te verilmiştir. Özellikle Tablo III incelendiğinde üçüncü günden sonra fibrinojen seviyesinde görülen ortalama %50 azalma istatistiksel olarak p= 0.000 anlam taşımaktadır; ESR’de % 100’e yakın tespit edilen artış ise, istatistiksel olarak p= 0.030 ve

p=0.034 anlamda karşımıza çıkmaktadır. Araştırmadan elde edilen veriler göstermektedir ki, fibrinojen miktar tayini ve ESR gibi nonspesifik testlerle kan bankasında bekletilen kanların kullanılabilirlik kaliteleri istatistiksel önemde izlenebilmektedir.

CPDI-1 tipi kan torbalarında saklanan kanlarda fibrinojen miktarının bir aylık saklama periyodunun her döneminde; ESR testinin ise, ilk 7 ila 9 gün için eritrositlerin reolojik özelliklerini yansıtabilecek markerler olabileceğini göstermektedir. Transfüzyonun en önemli amaçlarından birisi, eritrositlerden beklenen fonksiyonun sağlanmasıdır (1,17).

Oysa eritrositler başta olmak üzere kan hücreleri ve makromoleküller üzerinde bükleyen kanlarda yapılan pek çok çalışma hücrelerin morfolojik yapılarının bozulduğunu ve fonksiyonel niteliklerinin değiştiğini ileri sürmektedir. (1, 9, 11, 15).

Tartışmalarda boyut ve yönelimlerin çok farklı olması ayrıca dikkat çekmektedir. Bazı otörler kan aktarımının bilinen önemli bulaşma araçlarından olması kadar, alıcı bireylerde tümör oluşumunda etkili olabileceği konusunda endişeli olduklarını bildirmekte (6,13); bir kısım araştırmacılar ise bugünkü standartlarda saklamanın kan torbalarında *Yersinia enterocolitica* üremesine yol açtığını belirlediklerini ileri sürmektedir (4).

Godin ve ark (5), mikroelektrotlar kullanarak depolama işleminin 6. gününden itibaren eritrosit yüzey yükünün azaldığını, 15. günden sonra eritrositlerde negatif elektrik yükün kalmadığını göstermişlerdir. Yük kaybının eritrosit yüzeyinden ayrılan sialik asitle ilgili olabileceği bu nedenle kan torbalarında sialik asit ve yüzey yükü ölçümlerinin saklanmış kanların kullanılmasında önemli birer gösterge olabileceği ifade edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen dikkat çekici sonuç fibrinojenin düzenli olarak azalmasına rağmen ESR'nin önce artıp sonra azalmasıdır. Bu durum başlangıçta sialik asit kaybının fibrinojen azalmasından daha hızlı olmasından kaynaklanabilir.

Ichikawa ve ark (7), kanın reolojik düzeyi hakkında önemli birer gösterge olan kan viskozitesi ve hematokrit düzeylerinin kan transfüzyonu öncesinde araştırılmasının uygun bir işlem olacağını savunmuşlardır.

Çalışmamızın ilk aşamasında fibrinojen ve sedimantasyon testlerinin seçilmesinde bu işlemlerin kolay uygulanabilir ve ekonomik olmalarının dışında eritrositlerin kanın fonksiyonel hücrelerini oluşturması, fibrinojenin ise kan reolojisine dominant etkili en önemli makromolekül olması (3), etkili olmuştur. Fibrinojen eritrositlerle kurduğu makromolekül köprüleri ile kan kompozisyonunu belirlerken, diğer yandan büyük oranda eritrosit yüzeyine bağlı olarak bulunur (9). Yıkımlanan eritrositlerin katalitik

aktif yapıdaki hemoglobin (17) ve diğer enzimler yoluyla bir kan proteini olan fibrinojenin yapısını bozabileceği de düşünülmektedir. ESR'nin 7 ve 9 gün boyunca yükselmesi ( $p=0.03$ ) membran sialik asit azalmasının fibrinojen azalışından daha hızlı olmasına bağlı olarak rulo oluşumun düşmesine, böylece eritrositlerin birbirini itme gücünün azalması ile sedimantasyon düzeyinin artmasına bağlanabilir (12). 7. günden sonra sedimantasyon hızının tekrar düşmesinde ESR'yi artıran makromolekül olan fibrinojenin daha fazla azalması etkili olabilir (5).

Sonuç olarak; kan bankasında bekletilmiş kanların kullanılabilirlik kalitesinin yorumlanması amacıyla elektriksel yük, sialik asit, DPG, viskozite, oksidan göstergeler ve serbest radikaller gibi parametrelerin ölçülmesi her zaman pratik ve ekonomik olmaması nedeniyle yaygın olarak başvurulmuş yöntemler değildir. Öte yandan ESR, fibrinojen ve tam kan sayımı gibi çabuk sonuçlandırılabilen basit testler torbalanmış kanların reolojik niteliğinin yorumlanmasında önemli ip uçları sunabilir. Zira fibrinojenin azalması anemi için tam kan yerine eritrosit süspansiyonu; koagülasyon faktörleri ve diğer plazma proteinleri için taze donmuş plazma kullanılmasının önemini vurgulanmasına yardımcı olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Aslan R, Şekeroğlu MR, Tarakçıoğlu M, Köylü H. Investigation of malondialdehyde formation and antioxidant enzyme activity in stored blood. *Haematologia* 4: 233-7, 1997
2. Cramer JA, Pasternak SJ, Athill LV. A tandem solid phase extraction, reversed-phase HPLC method for determining SDZ WAG 994 in dog, monkey and rat blood. *J Pharm Biomed Anal.*, 749-58. 1997
3. Dinant GJ, Knottnerus JA, Van-Wersch JW. Diagnostic impact of the erythrocyte sedimentation rate in general practice: before and after analysis. *Fam Pract*, 1: 28-31, 1992

4. Gibb AP, Poling N, Murphy WG. Failure to kill *Yersinia enterocolitica* by plasma diluted to the concentration found in red cell units. *J Clin Pathol.*, 5: 434-6, 1996
5. Godin C, Caprani A. Effect of blood storage on erythrocyte/wall interactions: implications for surface charge and rigidity. *Eur Biophys J*, 2: 175-82, 1997
6. Hoher PG. Microbial safety of blood products. *Infusion Transfusionsmed.*, 1: 42-58, 1996
7. Ichikawa H, Kaneko T, Obayashi T, et al. Hemorheological effects of autologous blood storage before surgery for cardiac valvular diseases. *J Cardiol.*, 2: 37-40, 1997.
8. Kjeldsberg CR. Principles of hematologic examination. *Wintrob's Clinical Hematology*. Lea & Febiger. London, p: 30-31.
9. Klaubert W, Schutle-Derne O, Gollwitzer R, Mempel W, Wilmanns W. Limited fibrinogenolysis in stored whole blood and fresh frozen plasma. *Thrombosis Research*, 50: 43-51, 1988
10. Komaromy G, Sundquist PD, Jacobsen LJ, Nuttall KL. Serum succinate by capillary zone electrophoresis: marker candidate for hypoxia. *Ann Clin Lab Sci.*, 2: 163-8, 1997
11. Köse K, Doğan P, Saraymen R. Lipid peroxidation in erythrocyte membranes of whole blood for transfusional use. *Tr J of Medical Sciences*, 20: 119-20, 1994
12. Mayer J, Pospisil Z, Litzman J. The mechanism of erythrocyte sedimentation in Westergreen's examination. *Biorheology*, 29: 261-71, 1992.
13. Newman E, Ho M, Heslin MJ, Chapman DS, Brennan MF. The effect of blood transfusion on tumor growth in sarcoma-bearing rats. *Ann Surg Oncol*, 1: 74-9, 1996
14. Racek J, Herynkova R, Holecek V, Jerabek Z, Slama V. Influence of antioxidants on the quality of stored blood. *Vox Sang.*, 1: 16-9, 1997
15. Schmidt H, Folsgaard S, Mortensen PE, Jensen E. Impact of autotransfusion after coronary artery bypass grafting on oxygen transport. *Acta Anaesthesiol Scand*, 8: 995-1001, 1997
16. Truter EJ, Murray PW. Morphological classification by scanning electron microscopy of erythrocytes stored at 4 °C in citrate-phosphate-dextrose anticoagulant. *Med Lab Sci*, 45: 113-9, 1990
17. Ziouzenkova O, Asatryan L, Sevanian A. Oxidative stress resulting from hemolysis and formation of catalytically active hemoglobin: protective strategies. *Int J of Clin Pharmacol and Therap*, 3: 125-132, 1999

**Yazarlar:**

Y. DÜNDAR: Doç. Dr., Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Afyon  
R. ASLAN: Doç. Dr., Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Afyon

**Yazışma Adresi:**

Doç.Dr. Yılmaz DÜNDAR  
AKÜ, Vet Fakültesi, 03100 AFYON  
Tel: 0.272.2134801- 2136534  
Fax: 0.272.2134138