

Lökaferez

Önder ARSLAN

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı

1960'lı yıllardan itibaren periferik kan kökenli HKH'lerin myeloablasyon sonrası hematopoezi yeniden yapılandırabildiği hayvan modellerinde gösterilmiş olmasına karşın, insanlarda lökaferez ile elde edilen otolog hücrelerin myeloablative tedavi sonrası hematopoezi yeniden başlatabileceği 1981 yılında kronik myelositer lösemili hastalarda Goldman ile Körbling ve ark tarafından tanımlanmıştır.

1990 yılında yapılan transplantların hemen hemen tamamında hematopoietik kök hücre (HKH) kaynağı olarak kemik iliği kullanılmışken, son 10 yılda önemli bir değişimle, 2001 yılında Avrupa'da yapılan tüm transplantların sadece %16'sında kemik iliği kaynaklı HKH kullanılmışken, %83'ünde periferik kan HKH, %1'inde ise kemik iliği ile birlikte periferik kan HKH kullanımı ile hematopoietik kök hücre transplantasyonu (HKHT) uygulanmıştır.

Otolog transplantların tamamına yakını (%97) mobilize periferik kan HKHT şeklinde iken, allojeneik transplantasyonda da artan bir ivme ile periferik HKHT, kemik iliği transplantasyonunun önüne geçmiştir (2001'de %59); HLA tam uyumlu kardeşten yapılan allojeneik transplantların %62'si, diğer aile üyelerinden yapılanların %76'sı ve akraba olmayan vericilerden yapılanların %48'inde HKH kaynağı mobilize periferik kandır. Normal kişilerde periferik kanda CD34 ekspresyonu gösteren hematopoietik progenitör miktarı çok düşüktür. Kemik iliğindeki mononükleer hücrelerinin %1-4'ünü, periferik kan nükleer hücrelerinin ise %0.05'ini CD34+ hücreler oluşturur.

Kök hücre toplanması işlemi çeşitli aşamalarda gerçekleşmektedir.

1. Hastaya kök hücre nakli kararının alınması

2. Mobilizasyon rejiminin başlanması
3. Damar yolunun değerlendirilmesi
4. Toplama gününün saptanması
5. Toplama işlemi
6. Toplama işleminde kullanılan cihazlar
7. Ürün yeterliliğinin saptanması
8. İşlem komplikasyonları ve tedavisi

1. Kök Hücre Nakli Kararının Alınması

Bu kararın alınması kliniğimizde konsey kararı ile olmaktadır. Bu onay alındığı ortamda aferez sorumlu hekimi ve teknisyeni de bulunmakta ve potansiyel lökaferez işlemi yapılacak hasta adı, tanısı ve uygulanacak işlem kayıt altına alınmaktadır.

2. Mobilizasyon Rejiminin Başlanması

Aferez ekibinin ve hastayı takip eden hekimin önerileri doğrultusunda hastaya en uygun mobilizasyon rejimi başlanmaktadır. Mobilizasyon rejiminin başlanmasından mutlaka aferez ekibi haberdar edilmeli, hatta mobilizasyonun başlayacağı güne aferez grubu karar vermelidir. Koleksiyonunu yapılacağı veya CD34 hücrelerinin ölçümlerinin yapılacağı günlerin hafta sonuna gelmemesine özen gösterilmelidir. Mobilizasyon rejimi başlandıktan önce yine aynı ekip tarafından hastanın veya donörün damar yolları gözden geçirilmeli ve eğer periferik venler yeterli değilse kateter takılması sağlanmalıdır.

3. Damar Yolu Değerlendirilmesi ve Seçimi

Aferez işlemlerinin optimal düzeyde gerçekleştirilmesi için uygun bir venöz yolun sağlanması gerekmektedir. Devamlı-akım prensibi ile çalışan aferez cihazları için en az dakikada 20 ml kan akım

hızı sağlayabilen iki venöz yola gereksinim duyulmaktadır. Kesikli akım prensibi ile çalışan aferez cihazları için tek venöz yol yeterli olmakta ancak işlem süresinde uzamalar yaşanmaktadır. Allojenik periferik kan kök hücre aferezi planlanan sağlıklı vericilerin % 90'ında kateter gereksinimi olmamakta ve direk venöz girişim yeterli olmaktadır. Damarları çok ince olan veya tekrarlayan aferez yapılması vb nedenler ile damar yapıları korunamayan vericilere geçici kateterler takılabilmektedir. Otolog periferik kan kök hücre aferezi yapılacak olan hastalarda ise uygun venöz yolun sağlanması daha zordur. Damar yolu uygun olan az sayıdaki hastada damarların dikkatli kullanımı ve korunması ile tekrarlayan aferezler yapmak mümkün olabilse de bir çok hastada daha önceden yapılan tedavi ve girişimlerin çokluğu nedeni ile uygun venöz yolun sağlanması için kateter takılması gerekmektedir. Hastaların aferez sonrası transplantasyon işlemine alınma olasılıkları yüksek olduğundan takılan kateterin seçiminde bu kateterin transplantasyon işlemleri için de kullanılabileceği göz önüne alınmalıdır. Kateterin uzunluğu, lümen çapı ve duvar sertliği kan akımında önemli olduğu için kateter seçiminde bu noktalara dikkat edilmesi gerekmektedir. Kemoterapi hastalarında sıklıkla kullanılan cilt altına yerleştirilmiş olan çift lümenli Hickman veya Broviac tipi kateterler ne yazık ki aferez uygulamaları için uygun olmamaktadır. Bir çok üç yollu kateter de lümen çapları küçük olduğundan aferez işlemleri için uygun değildir. Aferez öncesi eğer takılı ise bu tip kateterlerin aferez ve diyaliz kateteri olarak kabul edilen daha kısa, duvar sertliği fazla, kolay kollaps olmayan, kateter ucu etkinliğin arttırılabilmesi için özel dizayn edilmiş perkutan takılan kateterler ile değiştirilmesi gerekmektedir. Erişkin hastalar için 10 Fr ve üzerinde çapa sahip kateterler yeterli olmakta iken çocuk hastalar için 5-7 Fr çapa sahip kateterlerin kullanılması önerilmektedir.

a. Periferik venlerin kullanılması

Periferik venlerin kullanılması enfeksiyon, hemoraji ve tromboz riskini azaltacaktır. Antekubital yerleşimli olan medial kubital, cephalic ve basilik venler hem alış hem de dönüş yolu olarak tercih edilir. Bu damarlara 16-18 G çelik ince duvarlı iğneler takılarak 120ml/dk'ya varan akım hızları elde edilebilir. Antekubital bölge değerlendirilirken dirsekten 8-10cm yukarıya bir turnike bağlanır veya tansiyon aleti manşonu kullanılabilir. Dönüş yolu için antekubital venlerin yenilenecek işlemler için saklanması adına, daha distal venler ve el sırtı kullanılabilir.

Giriş yerleri arasında rotasyon yapılması skar ve tromboz oluşumunu azaltır. Sıcak kompres ve el egzersizleri periferik venöz yolların gelişimine katkıda bulunur. Yapılan bir çalışmada periferik venöz yol (antekubital venler), SVK ve Hickman tipi kateterlerin akım hızları değerlendirilmiş ve sırasıyla 60ml/dk, 65ml/dk ve 45ml/dk olarak bulunmuştur (p=0,002). Mc Diarmid erkeklerde kadınlara görece akım hızlarını daha yüksek bulmuştur (70 ml/dk – 50,5 ml/dk, p<0,001). Değerlendirilmesi gereken ikinci durum ise prosedürün tahmini sayı ve frekans ihtiyacıdır. Bir çok durumda prosedürü periferik venöz yol ile sağlamak çok zordur ve bu durum hastalar için daha rahatsızlık verici olabilir. Bu nedenle bazen her gün uygulanan sık ve çok sayıdaki prosedürler genellikle santral venöz yola ihtiyaç duyarlar.

b. Santral venöz damar yolu

Geçici santral venöz kateter (SVK): Çok fazla sayıda ve birbirinden farklı santral venöz erişim cihazları mevcuttur. Dializ kateterleri, santral venöz kateterler, femoral venöz kateterler bunlara örnek olarak verilebilirler. Bu cihazlar tünelli veya tünellsiz olabilirler. Tünelli olmayan cihazlar geçici kullanım için daha uygundur. Bunlar özellikle periferik damar yolları kullanılmayan allogeneik kök hücre vericilerinde tercih edilen kateterlerdir. Her doktor ve kurum kendi uyguladığı prosedüre en uygun olan kateteri seçmelidir. Dializ kateterleri doktor tarafından yerleştirilir. Geniş ve çift lümenlidirler. Yüksek akım hızına izin verirler ve daha güvenli bir venöz akış sağlarlar.

En sık kullanılan bölgeler subklaviyen (1970'den beri), juguler (1980'den beri) ve femoral venlerdir (1960'dan beri). Silikon, polivinilklorid veya poliüretandan yapılırlar. Hastalarda kök hücre toplama işlemleri için çift lümenli olanları önerilmektedir. Bir lümen akım için (proksimal) diğeri ise dönüş için (distal) kullanılır.

Yarı kalıcı (tünelli) SVK: Tünelli olanlar bakterilere karşı fiziksel bir bariyer olan antimikrobiyal kaf sayesinde uzun süre kullanılabilirler. Uzun süreli santral venöz kateterler ameliyathanede veya radyolojik destek altında, cerrahi cut down ile ve tünel oluşturarak yerleştirilir. Bu kateterin bir giriş bir de çıkış bölgesi vardır. Bu kateterlerin çoğunda hastaya ekstra bir koruma sağlayan antimikrobiyal kaf bulunmaktadır. Kaf kollagen porlar içerisine büyümeyi kolaylaştırarak ve şişlik oluşturarak bakterilere karşı fiziksel bir engel oluşturur, bu da çıkış bölgesinde kateter/doku engeli oluşturarak kateter güvenliliğini artırır. Kateterler genel-

likle ihtiyaç duyulduğu süre boyunca yerlerinde kalırlar. Tahmin edilen veya belirlenmiş bir komplikasyon gelişirse çıkarılmaları gerekebilir. Son 5 yıldır merkezlerde özellikle otolog kök hücre naklinde daha sık olmakla birlikte yarı kalıcı hemaferez (hemodiyaliz) kateterleri (Quinton Raaf, Bard Hickman, Kimal, Medcomp vb) kullanılmaktadır. Bu kateterlerin ağız kısımları "L" şeklinde olup proksimal ve distal akım yerlerinde en az 2cm. bulunmakta ve "resirkülasyon" (dönen kanın kateter içine tekrar alınma yüzdesi) oranları düşük olmaktadır. Bu kateterler en az 28cm. boyunda ve silikon karakterli oldukları için negatif basınç altında kolabe olmamaları için daha kalın ve geniş lümenlidirler. Bu kateterler kaflı olup Hickman benzeridirler.

4. Toplama Gününün Saptanması

Otolog veya allojenik kök hücre transplantasyonu planlandığı zaman karar verilmesi gereken önemli konulardan biri mobilizasyonun hangi aşamasında afereze başlanması gerektiği ve ne zaman sonlandırılacağıdır. Burada amaç en az aferez ile kısa sürede ve kalıcı engramanı sağlayacak yeterli sayıda kök hücrenin toplanmasıdır. Bu amaçla lökosit sayısı ve toparlanma hızı, trombosit sayısı, CD34+ hücre sayısı gibi parametreler kullanılmaktadır. Bunlardan en önemlisi perifer CD34+ hücre sayısıdır. Lökosit sayısının 10.000mm³veya trombosit sayısının 50.000 mm³ olana kadar beklenmesini öneren otörler de vardır. Mobilizasyon rejiminin başlanmasından belli günler sonrasında, özellikle hastaların lökosit sayıları 1000 mm³ olduğundan günlük olarak her sabah CD34+ düzeylerine bakılmalıdır. Perifer CD34 düzeyleri >20µl olan hastalarda toplama işlemine başlanabilir. 10-20µl arasındaki hastalarda ertesi günkü değerler göz önüne alınır ve 20'nin üzerine çıktığında işleme başlanır. Ertesi günkü sayılar gene bu düzeylerde ise hastalarda ve donörde yüksek hacimli aferez işlemi düşünülmelidir. Bu hastalarda toplama işlemi çoğu zaman birkaç seansta gerçekleşecektir. 10µl'nin altında ısrar eden CD34 düzeylerinde ise hasta ve donörler poor mobilizatör olarak değerlendirilir ve toplama işlemi yapılmaz. Bu kişilerde alternatif yöntemler aranmalıdır. Aferez öncesi 50-100/µl ve üzerindeki periferik kan CD34 pozitif hücre sayılarının tek bir aferez ile hedef değerlere ulaşılmasını sağladığı bilinmektedir.

5. Kök Hücre Toplama İşlemi

Günümüzde aferez teknolojisinin sağlıklı trombosit vericilerinde önemli bir risk oluşturmaksızın

yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Sağlıklı vericiler için büyük oranda standardize edildiği için önemli sorun oluşturmayan konuların özellikle otolog kök hücre toplama işlemi yapılacak hastalarda altta yatan medikal hastalığın olumsuz etkileri nedeni ile büyük önem taşıdığı açıktır. Örneğin Goldberg ve ark. tarafından 554 periferik kan kök hücre aferezi işlemleri sırasında oluşan komplikasyonlar değerlendirildiğinde aferez yapılacak olan 75 hastanın 74'üne kateter takılması gerektiği, hastaların yarısında en az 1 kez kateter tıkanması olduğu, % 15 hastada hipokalsemi, % 14 hastada hipotansiyon geliştiği, % 16 hastanın ise aferez işlemleri sırasında enfeksiyöz olaylar yaşadığı bildirilmiştir. Hastalara periferik kan kök hücre aferezlerinin çok iyi moniterizasyon koşulları olmadıkça en az kemik iliği toplama işlemi kadar risk taşıyabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Ortalama işlenen kan hacimi bir seansta 2-2.5 tam kan hacmidir (10-12L). Hedef sayıya ulaşabilmek için 1-4 seans toplama işlemine gerek duyulmaktadır. Bu işlem alış hızlarına bağlı olarak ortalama 3-4 saat sürebilmektedir.

Genelde yüksek hacimli lökaferes (YHL) sırasında 15-40 L kan 6-8 saatlik sürede işlenebilmektedir. YHL uygulanmasının başlıca avantajı daha az sitokin kullanarak ve daha az sayıda aferez yaparak zaman ve maliyet açısından kazanç sağlamaktır. Standart kök hücre aferezi işlemlerine göre teknik açıdan bir farkı olmayan YHL işlemlerinde sürenin kısaltılabilmesi için daha yüksek akım hızları kullanılmaktadır. YHL işlemlerinin en önemli dezavantajları ise işlem başına düşen aferez süresinin uzaması, kullanılan sitrat veya diğer antikoagülanların dozlarında artış nedeni ile yan etki olasılığının artması, özellikle trombosit sayılarında belirgin düşüş, PTT uzaması ve elektrolit imblanslarıdır. YHL işlemleri sırasında CD34 pozitif hücrelerin özellikle işlemin ilk bölümlerinde periferik kandan toplanması ve periferik kanda CD34 pozitif hücre sayısı düştüğü için işlemin geri kalan bölümlerinde aferez etkinliğinin azalacağı ve hasta/vericinin gereksiz yere antikoagülan toksisitesi ve trombosit sayılarında düşme gibi yan etkilere maruz kalabileceği düşünülmüştür. Ancak birçok yayında YHL ile aferez öncesi hesaplanandan daha fazla CD34 pozitif hücre toplandığı gösterilmiştir. Bu durum özellikle işlem sırasında periferik kanda CD34 pozitif hücre havuzu azaldıkça daha fazla sayıda CD34 pozitif hücrenin kemik iliği havuzundan periferik kana sürekli geçişi ile açıklanmaktadır. Sadece aferez işleminin mobilizasyon etkisi olduğu kanıtlanamamıştır. Tüm bu nedenler-

Tablo 1. Dört Farklı Cihazın Fikriliğinin Karşılaştırılması

	<i>Baxter Amicus</i>	<i>Fenwal CS 3000+</i>	<i>Cobe Spectra</i>	<i>Fresenius-As 204</i>	<i>P</i>
İşlem Öncesi WBC ($\times 10^9/L$)	50,4 \pm 11,2	49,7 \pm 12,8	50,4 \pm 14,5	57,0 \pm 15,5	0,60
İşlem Öncesi CD34 (/mc)	42,4 \pm 34,5	66,2 \pm 34,9	125,1 \pm 60,3	116,9 \pm 108,9	0,24
İşlenen Kan Vol./L	13,4 \pm 1,4*	10,7 \pm 2,5	10,5 \pm 1,6	11,3 \pm 1,6	0,004
Ürün Vol. (ml)	170 \pm 30,4	175,0 \pm 55,2	153,9 \pm 50,5	270,4 \pm 73,7*	0,0001
MNC ($\times 10^8$)	298,1 \pm 98	292,2 \pm 110,6	346,4 \pm 176,7	297,8 \pm 138,8	0,79
MNC Toplama Etkinliği (%)	43,5 \pm 17,8	62,7 \pm 22,1	59,7 \pm 40,9	62,5 \pm 51,5	0,59
Total CD34 ($\times 10^6$)	382,5 \pm 178,3	233,4 \pm 122,9	361,2 \pm 169,6	314,3 \pm 100,5	0,13
CD34 $\times 10^6/L$	28,0 \pm 12,9	23,9 \pm 15,5	35,4 \pm 18,1	28,1 \pm 9,5	0,36
Ürün trombosit ($\times 10^9/L$)	826,2 \pm 238,7*	2949 \pm 1361,9	3217 \pm 1118,2	2211,4 \pm 1506,1	0,0001
Donörlerin trombosit kaybı (%)	17,3 \pm 6,3*	56,5 \pm 35,1	45,6 \pm 9,8	47,8 \pm 15,4	0,0001

den dolayı YHL özellikle daha az aferez ile yeterli kök hücre toplanması hedeflenen ve mobilizasyona yanıtı düşük olan hastalarda tercih edilmektedir.

6. Kök Hücre Toplanmasında Aferez Cihazları ve Karşılaştırılmaları

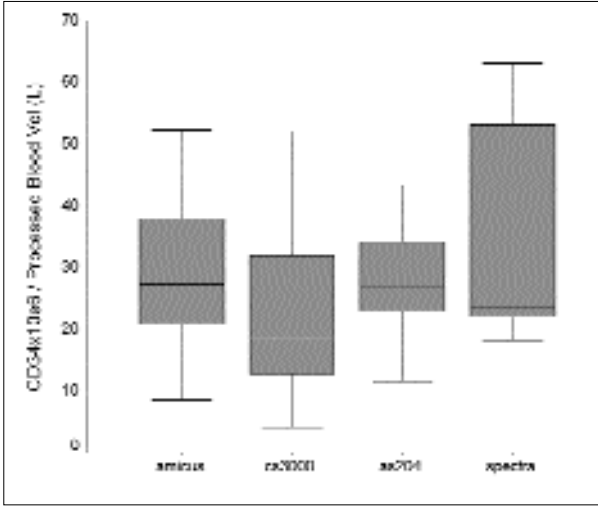
Günümüzde kullanılan tüm aferez cihazları ile kök hücre aferezi yapılabilmektedir. Yapılan toplama işlemi aslında mononükleer hücrelerin daha fazla toplanmasını sağlamaya yönelik uygulanan bir lökoferez işlemidir. Periferik kök hücre aferezi sırasında morfolojik olarak lenfositlere benzediği düşünülen kök hücrelerin toplanması için aferez cihazları altta granülosit/ eritrosit katmanı ile üstte trombosit/plazma katmanı arasında yer alan bölgede bulunan mononükleer hücreleri toplama çalışmaktadır. Eğer aferez cihazı ile kök hücre toplama işlemi sırasında fazla sayıda eritrosit toplanırsa anemi gelişebilmektedir. Ayrıca toplanan üründe fazla sayıda eritrosit olmasının diğer bir sakıncası ise donma-çözülme işleminin ardından eritrositlerin parçalanarak serbest hemoglobinin açığa çıkması ve infüzyon ile böbrek yetmezliğine kadar gidebilen yan etkiler ile karşılaşılabilmesidir. Nadir rastlanmakla birlikte özellikle yüksek hacimli aferez uygulanan işlemlerde bu olasılık daha fazladır. Ek olarak parçalanmış eritrositlerin varlığı kompleman fiksasyonu tekniğinin kullanıldığı purging (ayıklama) tekniklerinde de sorunlar yaşanmasına yol açmaktadır.

Kök hücre aferezi sırasında trombositlerin de ürün içinde fazla miktarda toplanması istenmemektedir. Özellikle olog işlemlerde aldıkları tedaviler nedeni ile trombosit sayıları zaten düşük olan hastalarda trombositopeni derinliğini arttırarak kanama riski oluşturmaları yanında ürün içinde

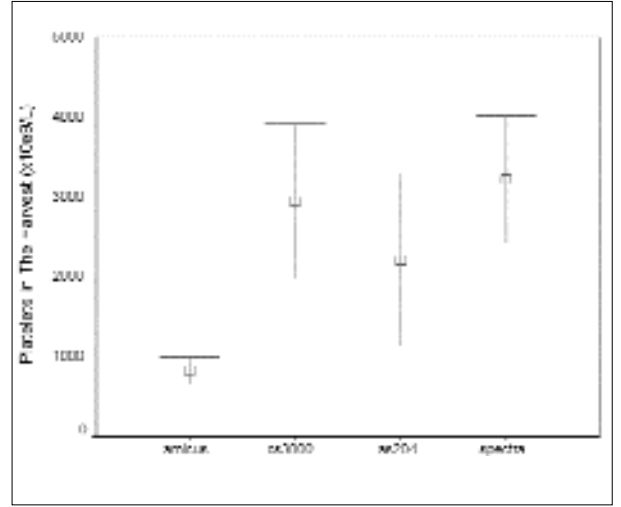
bulunan yüksek sayıdaki trombositler diğer hücrelerle birlikte pıhtılaşma ve kümelenmeye yol açarak kök hücre kaybının artmasına da yol açabilmektedir. Benzer şekilde kök hücre aferezi sırasında granülositlerin de üründe yüksek oranda toplanması istenmemektedir. Bunun başlıca nedenleri arasında bu hücrelerin donma-çözülme sırasında canlılığını koruyamayıp parçalanmaları nedeni ile ortama kök hücre hasarına yol açan peroksidaz ve diğer toksik maddelerin salınımına yol açmaları ve açığa çıkan genomik DNA'nın kök hücrelerin kümelenmesine neden olması yer almaktadır.

Değişik firmalar tarafından üretilen ve kök hücre toplanması işlemlerinde kullanılan birçok aferez cihazı bulunmaktadır. Aferez merkezlerinin cihaz seçiminde kullandığı başlıca kriterler, kendi gereksinimleri ve cihazlar konusundaki deneyimlerinden oluşmaktadır. Günümüzde kullanılan bütün aferez cihazları ile kök hücre toplanabilmektedir. Cihazlar arasında işlem süreleri, damar dışı dolaşım hacimleri, hücre kontaminasyon oranları, toplanan ürün hacmi, sitrat tüketimleri gibi çeşitli parametreler açısından farklılıklar bulunabilmektedir. Devamlı akım prensibi ile çalışan cihazların kök hücre toplama etkinliği kesikli akım prensibi ile çalışan cihazlara göre daha fazladır.

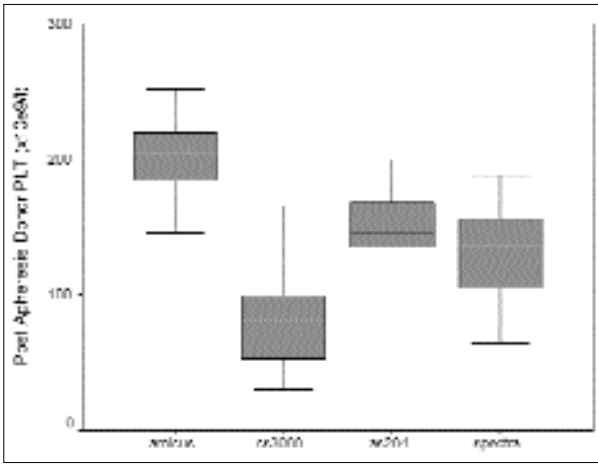
Merkezimizde yılda 40'dan fazla allojenik periferik kök hücre aferezi yapılmaktadır. Her cihazla yapılan 10 işlem analiz edilmiştir (Fenwal-Amicus, Fenwal- CS3000, COBE-Spectra ve Fresenius AS 204). Hastaların HLA doku uyumu tam olan donörlerin, yaş ortancası 42,8 idi (16-62 arası). Donörler dört gün, günde 2 kez 5mcg/kg rhG-CSF (Amgen-Roche) aldılar ve 5.gün son doz G-CSF aldıktan sonra kök hücre toplanmaya başlanır. Hedeflenen $4 \times 10^6/kg$ CD 34+ hücrenin toplanması için total



Şekil 1. CD34+ hücre toplama etkinliği



Şekil 2. Toplanan üründeki trombosit miktarı



Şekil 3. Afereze sonrası donör trombosit sayıları

kan volümü 2-3 kez işlenir.

Mononükleer hücre toplama etkinliği ve komplikasyonlar açısından cihazlar arasında farklılık gözlenmedi. Kök hücre ve işlenen kan volümü başına CD34 kazancı da dört cihazda farklılık göstermiyordu. (Şekil 1). Amicus istatistiksel olarak toplanan ürün içerisinde en düşük miktarda trombosit kontaminasyonu ile dikkat çekici bir performansla sahipti ($p=0.0001$) (Şekil 2). Uyumlu olarak işlem sonunda donördeki trombosit miktarındaki düşüş de azdı ($p=0.0001$) (Şekil 3). Fakat bu cihaz diğerlerine göre daha fazla ACD kullanmaktaydı ($p=0.0001$).

7. Afereze Ne Zaman Son Verilir (Ürün Yeterliliğinin Tanımlanması)

En sık kullanılanlar arasında kültür ortamında CFU oluşumunun ölçülmesi ve CD34 antijeni taşı-

yan hücre sayılarının saptanması gibi yöntemler yer almaktadır. Mononükleer hücre sayıları sağlıklı sonuç vermemektedir. Yine de bir rakam vermek istenirse $6.0-6.5 \times 10^8/\text{kg}$ hücre yeterli olabilir denmektedir. Toplanan üründeki CD34 pozitif hücre sayısı afereze başlandığı zamanda periferik kanda bulunan CD34 pozitif hücre sayısı, işlenen kan hacmi ve kullanılan aferez cihazının toplama etkinliği gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Ayrıca toplanan ürünün yeterliliğinin değerlendirilmesinde hedeflenen CD34 pozitif hücre dozu da önem taşımaktadır. Üründeki CD34 pozitif hücre oranı arttıkça engraftman süresinin kısaldığı bilinmektedir. Kemik iliğinde >2.5 CD34+ hücre içeren kişilerde sağlıklı bir mobilizasyon ile yeterli hücre toplanabildiği bilinmektedir. Ayrıca daha önce ağır kemo/radyoterapi almış kişilerde engraftman için 2 kat daha fazla hücreye gereksinim olduğu önerilmektedir. Birçok araştırmacı tarafından kabul edilebilir bir sürede granülosit ve trombosit engraftmanının olabilmesi için alıcı ağırlığı başına $2-3 \times 10^6/\text{kg}$ üzerinde CD34 pozitif hücre içeren ürün kullanılması önerilmektedir. Bununla birlikte trombosit engraftmanının hızlı olabilmesi için $5 \times 10^6/\text{kg}$ üzerinde CD34 pozitif hücre içeren ürün kullanılmasını hedefleyen merkezler de bulunmaktadır. Allojenik transplantasyonlarda tam ve sürekli bir engraftman sağlanabilmesi için toplanan ürünün en az $2.2-2.5 \times 10^6/\text{kg}$ dozda CD34 pozitif hücre içermesi önerilmektedir. Günümüzde CD34 pozitif hücre sayılarının saptanmasında akış sitometrik yöntemler kullanılmaktadır. Ölçüm yöntemleri arasındaki metodolojik farklılıklar yeterli engraftman için kabul edilen eşik değerler arasında çeşitli merkezler arasında farklılıklar olması-

na yol açmaktadır. Bu durumun engellenebilmesi için CD34 pozitif hücre ölçümlerinde standardizasyonu sağlamaya yönelik rehberler geliştirilmiştir. Hazırlanan ürünün hematopoietik potansiyelinin değerlendirilmesinde ve kök hücrelerin fonksiyon ve canlılıklarının gösterilmesinde kullanılan en etkili yöntem CFU ve LT-CIC ölçümleridir. Ancak değişik merkezler arasında kullanılan yöntem ve değişik reaktiflere bağlı CFU-GM ölçümleri arasında önemli farklıklar bulunmaktadır. Bu nedenle birçok merkez yeterli engrafman için kendi eşik değerlerini oluşturmaktadır. CD34 pozitif hücre ölçümlerinde olduğu gibi CFU ölçümleri için de standardizasyon yöntemleri geliştirilmektedir. 6.3×10^5 /kg üzerinde CFU-GM içeren ürünlerin kullanılması ile tüm hastalarda engrafmanın sağlandığını belirten merkezlerin yanında 2.5×10^5 /kg dozunun yeterli olduğunu kabul eden merkezler de bulunmaktadır. Hastalıklar arasında da farklıklar olduğu bilinmektedir. CFU değerleri üzerinde otolog transplant yapılacak hastalıkların da etkisi olduğu bilinmektedir. Allojeneik nakillerde ise $37-50 \times 10^4$ /kg CFU-GM değerlerinin yeterli olduğu bilinmektedir.

8. İşlem Komplikasyonları ve Tedavisi

Periferik kan kök hücre aferezi sırasında iyonize kalsiyum seviyesi aferez sonrası işlenen kan miktarı ve sitrat konsantrasyonuyla ilgili olarak %13.3 ile %35 oranında düşme gösterebilir. Hastaların yaklaşık %20'sinde belirti oluşturan hipokalsemi gözlenmektedir. Bununla birlikte çoğunda oral kalsiyum replasmanı yeterli olur. Hastaların ancak %1-2'sinde intravenöz kalsiyum replasmanı gerektiren ciddi hipokalsemi Türkiye'nin 1998 yılı verilerinin yayınlandığı bir makalede de (Transfusion Science 2000; 22: 195-201) 525 periferik kök hücre aferezi sırasında 82 yan etki gözlendiği rapor edilmiştir. Bunlardan 22'si (yan etkilerin %20'si) parestezidir ve semptomların çoğunun hafif düzeyde olduğu belirtilmektedir.

İyonize kalsiyum seviyesi 3 mg/dl düzeyinin üstünde olduğunda genellikle hipokalsemi semptomları gözlenmez. Kan kalsiyum düzeyi bir miktar düştüğünde parmak uçlarından başlayan parestezi, kas krampmaları, tremor, anksiyete, üşüme hissi, baş dönmesi gibi belirtiler oluşur. Fizik muayenede Chevestec (fasial sinirin zigomatik dalı üzerine vurulmasıyla yüzün perküsyon yapılan noktaya doğru seyirmesi) ve Trousseau (tansiyon aletinin sistolik kan basıncı üzerinde şişirilip 3-5 dakika beklenmesiyle parmaklarda ebe eli dediğimiz parmak spazmı oluşması) belirtileri pozitifir.

Bu dönemde EKG'de QT mesafesinde uzama gözlenir. Daha ağır vakalarda grand-mal epileptik nöbetler, tetani, laringospazm ve ciddi kardiyak aritmiler gelişir. Sitrat infüzyon hızı 1mg/kg/dakika-nın altındaysa sağlıklı bir ki'de bu belirtiler gözlenmez veya çok hafiftir. Bu nedenle profilaktik kalsiyum replasmanı önerilmez. Belirtiler gözlenen vakalarda aşağıdaki tedbirler alınabilir: 1) İşlemin kan akım hızı dü'ürülebilir. 2) ACD oranı azaltılabilir. 3) Eğer replasman sıvısı olarak TDP veriliyorsa bunun hızı azaltılır. 4) ACD yerine ACD-heparin solüsyonuna geçilebilir. 5) Hastaya oral yoldan Ca+2 içerikli sıvılar veya oral Ca+2 preparatı verilir. 6) Bu şekilde şikayetler geçmiyor veya ağır semptomlar oluşmuşsa intravenöz Ca+2 replasmanı uygulanmalıdır. Dönüş sıvısı TDP veya kriyosüpernatant plazma içeriyorsa replasman ayrı bir damar yolundan yapılmalıdır. Replasman sıvısı albüminse Ca+2 direkt olarak mayi içine verilebilir.

KAYNAKLAR

1. Apheresis Principles and Practice, 2nd Edition. Mobilization and Collection of Peripheral Blood Stem Cells. Chapter 23, S. Mechanic, D. Krause, MA. Proytcheva, E. Snyder. AABB Press, Bethesda, 2003.
2. Donör Aferezi ve Terapötik Aferezde Damar Yolu Sağlanması, M. Arat. I. Aferez Kongresi, Konuşma Özetleri Kitabı, İstanbul, 2003.
3. Hematopoietik Kök Hücre Transplantasyonunda Aferez Uygulamaları, Kök Hücre Toplanması. İ. Karadoğan. Aferez Kongresi, Konuşma Özetleri Kitabı, İstanbul, 2003.