



T. C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KAN BAĞIŞI YAPANLARDA, KAN VERME
İŞLEMİNDEN SONRA PERİFERİK KANDA KÖK
HÜCRE SAYISINDAKİ DEĞİŞİMİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. HALUK MUMCUOĞLU

KAYSERİ 2011



T. C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KAN BAĞIŞI YAPANLARDA, KAN VERME
İŞLEMİNDEN SONRA PERİFERİK KANDA KÖK
HÜCRE SAYISINDAKİ DEĞİŞİMİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Haluk MUMCUOĞLU

Danışman

Doç. Dr. Bülent ESER

KAYSERİ 2011

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanması sırasında bana her yönden destek olan hocalarım, çalışma arkadaşlarım, yardımcı sağlık personellerimiz ve sevgili aileme çok teşekkür ederim. Ayrıca bu tezin oluşmasında desteği ve anlayışını hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Bülent ESER'e çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| TEŞEKKÜR | i |
| KISALTMALAR | iii |
| TABLO LİSTESİ | iv |
| ŞEKİL LİSTESİ..... | v |
| ÖZET..... | vi |
| ABSTRACT | viii |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 4 |
| 2.1. KÖK HÜCRELER..... | 4 |
| 2.1.1. Kök Hücre Tipleri..... | 6 |
| 2.1.2. Embriyonik Kök Hücreler (EKH)..... | 6 |
| 2.1.3. Erişkin Kök Hücreler | 7 |
| 2.1.4. Hematopoietik Kök Hücreler..... | 7 |
| 2.1.5. Kök Hücre Plastisitesi..... | 9 |
| 2.1.6. CD34 ve CD45 Yüzey İşaretleyicileri | 10 |
| 2.2. AKIM SİTOMETRİ | 11 |
| 2.2.1. CD34+ Hücre Sayım Teknikleri | 12 |
| 2.3. KAN BAĞIŞININ FAYDALARI | 12 |
| 3. HASTALAR VE YÖNTEM..... | 14 |
| 4. BULGULAR | 17 |
| 5. TARTIŞMA | 28 |
| 6. SONUÇLAR | 34 |
| 7. KAYNAKLAR | 35 |
| TEZ ONAY SAYFASI..... | 42 |

KISALTMALAR

| | |
|---------------|--|
| EKH | : Embriyonik Kök Hücre |
| DM | : Diyabetes Mellitus |
| HKH | : Hematopoietik Kök Hücre |
| CD | : Cluster of Differentiation |
| HB | : Hemanjioblast |
| MKH | : Mezenkimal Kök Hücre |
| MAPC | : Multipotent Erişkin Progenitor Hücreler |
| VEGF | : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü |
| FGF2 | : Fibroblast Büyüme Faktörü 2 |
| LCA | : Leukocyte Common Antigen |
| HLA CD | : Human Leukocyte Antigen Cell Differentiation |
| ISHAGE | : The International Society of Hematotherapy and Graft Engineering |
| FITC | : Fluorescein Isothiocyanate |
| AMI | : Akut Miyokard İnfakts |
| KOAH | : Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı |
| kg | : Kilogram |
| m | : Metre |
| EDTA | : Etilen Diamin Tetraasetikasit |
| VKİ | : Vücut Kitle İndeksi |
| KABG | : Koroner Arter Bypass Greftleme |
| G-CSF | : Granulocyte-Colony Stimulating Factor |
| KSA | : Kronik Stabil Anjina |

TABLO LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Tablo 1: Kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki tam kan sayımı sonuçları | 18 |
| Tablo 2: Kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki tam kan sayımı sonuçlarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 19 |
| Tablo 3: Periferik kandaki CD34+ ve CD45+ hücrelerin kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki değerleri | 23 |
| Tablo 4: Periferik kandaki CD34+ ve CD45+ hücrelerin kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 24 |

ŞEKİL LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1: Kan bağışının hemoglobin düzeyine etkisi | 20 |
| Şekil 2: Kan bağışının hematokrit düzeyine etkisi | 20 |
| Şekil 3: Beyaz küre sayısının sigara kullanımı ve kan bağışıyla ilişkisi | 22 |
| Şekil 4: Kan bağışının periferik kandaki CD34+ hücre sayısına etkisi | 25 |
| Şekil 5: Kan bağışını yapan gönüllülerde periferik kandaki CD34+ hücre sayısının cinsiyete göre değişimi..... | 26 |
| Şekil 6: Kan bağışını yapan gönüllülerde periferik kandaki CD34+ hücre sayısının sigara kullanımına göre değişimi | 27 |

**KAN BAĞIŞI YAPANLARDA, KAN VERME İŞLEMİNDEN SONRA
PERİFERİK KANDA KÖK HÜCRE SAYISINDAKİ DEĞİŞİMİN
ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Amaç: Kan bağışının bilinen birçok faydası mevcuttur. Kan bağışının faydalı etkilerinin oluşmasında birçok faktör tespit edilmiş olup kan bağışı sonrasında periferik kandaki kök hücre sayısındaki değişikliğin rolü araştırılmamıştır. Bu çalışma ile kan bağışının periferik kandaki kök hücre sayısına etkisini araştırmayı planladık.

Hastalar ve Yöntem: Çalışmaya Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Kan Merkezi'ne kan bağışı yapan 22'si erkek (%71) ve 9'u kadın (%29) toplam 31 gönüllü dahil edildi. Çalışmaya alınan gönüllülerden kan bağışı için 450 ml tam kan alındı. Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerde tam kan sayımı yapıldı ve akım sitometrik yöntem ile periferik kanda CD34+ ve CD45+ hücre sayıları ölçüldü.

Bulgular: Kan bağışı sonrasında hemoglobin ve hematokrit düzeyleri 6. ve 24. saatlerde kademeli olarak azalmaktaydı ve bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlıydı. Kan bağışı sonrasında 6. saatte periferik kandaki beyaz küre sayısında artış mevcuttu ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıydı, 24. saatte beyaz küre sayısı tekrar azalmaktaydı ve 6. saat ile karşılaştırıldığında bu azalma istatistiksel olarak anlamlıydı. Sigara içenlerde periferik kandaki beyaz küre sayısı içmeyenlere göre daha yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Kan bağışı sonrasında periferik kanda trombosit sayısında 6. saatte azalma, 24. saatte ise 6. saatte göre artış oluyordu ancak ortaya çıkan bu değişikliklerin hiçbiri istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kan bağışı sonrasında 6. saatte periferik kandaki CD34+ hücre sayısında artış mevcuttu ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıydı. 24. saatte ise CD34+ hücre sayısı 6. saate göre azalmaktaydı ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıydı. Kan bağışı öncesi ve kan bağışından sonra 24. saatteki CD34+ hücre sayısı karşılaştırıldığında 24. saatte CD34+ hücre sayısında azalma mevcuttu ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kadın ve erkeklerin periferik kandaki

CD34+ hücre sayısı karşılaştırıldığında, her üç ölçümde de CD34+ hücre sayısı erkeklerden fazlaydı ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sigara içen ve içmeyenlerin periferik kandaki CD34+ hücre sayısı karşılaştırıldığında, sigara içenlerin CD34+ hücre sayısı içmeyenlere göre her üç ölçümde de daha yüksekti ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kan bağışı yapan gönüllülerde total kan volümü ile periferik kandaki CD34+ hücre sayısındaki artış arasında negatif korelasyon vardı ancak bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kan bağışı sonrasında 6. saatte periferik kandaki CD45+ hücre sayısında artış mevcuttu ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıydı, 24. saatte ise CD45+ hücre sayısı tekrar azalmaktadı ve 6. saat ile karşılaştırıldığında bu azalma istatistiksel olarak anlamlıydı.

Sonuç: Bu çalışma sonucunda, kan bağışı sonrasında periferik kandaki CD34+ hücre sayısında kısa süreli bir artış olduğu, 24. saatte ise CD34+ hücre sayısının tekrar kan bağışından önceki düzeylere gerilediği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kan bağışı, periferik kök hücre, CD34, CD45.

THE RESEARCH ON CHANGES OF THE STEM CELL NUMBER IN PERIPHERIC BLOOD AFTER BLOOD DONATION IN BLOOD DONORS

ABSTRACT

Aim: There are many known advantages of blood donation. Many factors have been determined in the generation of beneficial effects of blood donation, but the stem cell number change in the peripheral blood after blood donation has not been investigated yet. We have planned to find the effect of blood donation to the number of stem cell in the peripheral blood with this study.

Patients and the Method: Total 31 volunteers, 22 of whom are male (71%) and 9 whom are female (29%) and who have made blood donation to Erciyes University Medical Faculty Hospitals Blood Center, have been included into this study. Totally 450 ml blood has been taken from the volunteers that have included in this study. The total blood counting of the volunteers have been made before the blood in taken then after the phlebotomy, in the 6th and 24th and with flowcytometric method their CD34+ and CD45+ cell numbers have been measured in peripheral blood.

Findings: After blood donation, their hemoglobin and hematocrit levels were decreasing in the 6th and 24th hours gradually and these decreases were statistically significant. In the 6th hour after blood donation there was an increase in the white blood cell number and this increase was statistically significant but in the 24th hour the number of white blood cell were again in decreasing trend and when compared with the ones in 6th hour, this decrease was statistically significant. The white blood cell numbers in the peripheral blood of the patients who are smoking were higher according to the no smoking ones and this difference was statistically significant. There was a decrease in the thrombosit number in the peripheral blood in the 6th hour after blood donation and in the 24th hour there was an increase according to hour 6, but none of these appeared changes were statistically significant. In the 6th hour after blood donation, there was an increase in CD34+ cell number in peripheral blood and this increase was statistically significant. In the 24th hour the number of CD34+ cells was decreasing according to 6th hour and this decrease statistically significant. When before and in the 24th hour after the blood donation, CD34+ cell number is compared, there was a decrease in the cell number but this decrease was not statistically significant. When CD34+ cell number in the peripheral blood of female and male are compared, females' CD34+ cell number were

more than males in every measurement but the difference between them were not statistically significant. When CD34+ cell number in the peripheral blood of the ones who are smoking and non smoking are compared, it has been seen that the ones who are smoking have more CD34+ cell number according to the no smoking ones in every measurement. But this difference was not statistically significant. There was a negative correlation between the total blood volume and CD34+ cell number in the peripheral blood of the volunteers who make blood donation but this correlation was not statistically significant. There was an increase in the CD45+ cells in the 6th hour of blood donation, and this increase was statistically significant. And the CD45+ cell number was again decreasing in the 24th hour and when it is compared with 6th hour this change was statistically significant.

Results: As a result of this study ; it has been determined that there is a short time increase in CD34+ cell numbers after blood donation, and in the 24th hour the CD34+ cell number decreases to the levels that it has been before blood donation.

Key words: blood donation, peripheral stem cell, CD34, CD45.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde gerek allojeneik gerekse otolog kemik iliği transplantasyonlarının artması sonucunda kök hücre naklinin sadece kök hücre nakli olmadığı, birçok dokuda ikincil faydalarının olduğu anlaşılmıştır. Kök hücrenin önemli olan özellikleri; doku onarımı sağlayabilmeleri, rejenerasyon potansiyelleri ve migratuar (gezici) özellikleridir. Kök hücreler intravenöz infüzyon sonrası genellikle kemik iliğine yönelir ve burada yerleşme eğilimi gösterirlerse de eğer inflamasyonun bulunduğu bir bölge/doku varsa bu bölgeye de yerleşebilirler (1). Burada homing önemli bir özelliktir. Hücrelerin gidip yerleştikleri (engrafman) ve fonksiyonel etkilerini gösterdikleri dokuyu tanımlamaktadır. Kök hücrelerin hareketleri, kemokinlerin az yoğun olduğu bölgeden daha yoğun olduğu bölgeye doğrudur. İnflamasyon bölgesinde artmış kemokin düzeyleri kök hücreleri buldukları bölgeye çekerler. CD34 gibi bazı yüzey antijenleri ise endotele tutunmaları ve endoteli geçmelerinde görev alır (2). Kök hücrelerin mezodermal dokulara dönüşebildiği bilinmekle beraber plastisiteleri sayesinde invitro koşullarda nöron gibi ektodermal, hepatosit gibi endodermal dokulara dönüşümü de sağlanabilmiştir. Kolay elde edilebilirliği, yüksek çoğaltılabilme potansiyeli ve moleküler biyoloji mühendisliği ile çeşitli değişikliklerin yapılabilmesi bu hücrelerin doku onarımı ve yenilenmesinde kullanılabilmesini sağlamaktadır. Çalışmalarda beyin, miyokard, karaciğer ve eklem hasarını onarabildikleri gösterilmiştir (2).

Yapılan alışmalar sonucunda düzenli olarak kan bağışı yapan insanlarda akut miyokard infarktüsü (AMI) sıklığının kan vermeyen insanlara göre anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir (3). Ayrıca kan bağışı sonucunda ortaya çıkan faydalı etkilerin kan bağışı sıklığının artmasıyla daha da arttığı tespit edilmiştir (4). Kan bağışı yapanlarda gözlenen AMI'deki azalmanın sebebi olarak; vücuttaki toplam demir miktarının azalması ve serum kolestrol düzeylerindeki değişikliklerin etkisini gösteren çeşitli çalışmalar yapılmıştır (3) ancak bu hastalarda kan bağışı sonrasında periferik kandaki kök hücre sayısındaki değişikliklerin AMI gelişimine olan etkisi araştırılmamıştır. Deneysel olarak AMI oluşturulan fareler (5) ve AMI geçiren hastalara (6) G-CSF (Granulocyte - Colony Stimulating Factor) uygulanarak kök hücre mobilizasyonu sağlanmış ve bu sayede ventrikül fonksiyonlarında iyileşmeyle birlikte mortalitede azalma olduğu tespit edilmiştir. Ortaya çıkan bu etkilerden periferik kanda artan CD34+ kök hücrelerin sorumlu olduğu tespit edilmiştir. CD34+ kök hücrelerin hasar görmüş miyokard dokusuna yerleşerek kardiyomiyositlere dönüştüğü ve anjiogeneze yol açarak hasar görmüş dokulardaki revaskularizasyonu sağladığı gösterilmiştir (5).

Vasküler travma hastalarında yapılan çalışmalar sonucunda ortaya çıkan vasküler hasarı takiben hızlı bir şekilde kemik iliğinden CD34+ kök hücre mobilizasyonu olduğu ve 96 saatten itibaren artan kök hücre sayısının hızla normal seviyeye indiği gösterilmiştir. Bu hastalarda periferik kandaki kök hücre sayısının en yüksek olduğu zaman 6. saat olup gerçekleşen bu pikten sonra kademeli olarak 96. saate kadar kök hücre sayısı azalmaktadır (7)

Çok farklı sebeplere bağlı olarak periferik kanda lökositoz gözlenebilmektedir. Bunlara rnek olarak ilaç kullanımı (glukokortikoidler, G-CSF), enfeksiyonlar (bakteriyel, fungal, viral), inflamasyon (yanık, miyokard infarktüsü, pulmoner tromboemboli, hipersensitivite reaksiyonları, kollajen doku hastalıkları,) myeloproliferatif hastalıklar (polistemia vera, myelositik lösemi), stres, aşırı fiziksel aktivite, metabolik hastalıklar (diyabetik ketoasidoz, akut böbrek yetmezliği, zehirlenmeler, eklampsi), maligniteler, travma ve akut kanama sayılabilir (8).

Kan bağışı esnasında donörlerden eşit miktarda (450 mL) kan alındığı için çalışmaya alınan gönüllülerde kontrollü olarak standart miktarda akut hemoraji taklit edilmektedir. Bu çalışmayla kan bağışı sonrası 6. ve 24. saatlerde kan sayımında ve periferik kanda dolaşan kök hücre sayılarındaki değişikliğin incelenmesi

amaçlanmıştır. Ayrıca bu kişilerin tamamen sağlıklı grup olması nedeniyle bu parametreleri etkileyebilecek diğer nedenler ekarte edilmiş olmaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.KÖK HÜCRELER

Kök hücre, bir canlının vücudunda çok uzun bir süre bölünmeye devam ederek kendini yenileyebilen ve ayrıca farklılaşmış hücreler oluşturabilen öncül hücrelere verilen addır. Başka bir deyişle, farklı hücre tiplerine dönüşebilme potansiyeline ve kendisini yenileyebilme yeteneğine sahip olan hücrelere kök hücre denir. Vücudumuzdaki kas, karaciğer, sinir hücreleri gibi hücrelerin görevleri bellidir ve bu hücreler bölündükleri zaman yine kendilerine benzer bir hücre oluştururlar. Bir hücreyi, kök hücre olarak tanımlayabilmek için o hücrenin sahip olması gereken 5 tane özellik vardır (9).

i) Kök hücreler, uzun süre bölünebilme ve kendi kendilerini yenileme yeteneğine sahiptirler.

ii) Kök hücreler özelleşmemişlerdir. Bir kök hücre, miyokard hücresinde olduğu gibi kanı vücuda pompalamak için kasılmaz, trombositlerde olduğu gibi hemostazda görev almaz. Ancak, özelleşmiş hücrelere dönüşmek üzere kaynak oluşturabilir.

iii) Kök hücreler, özelleşmemiş hücrelere kaynaklık edebilirler. Bu olaya, farklılaşma (diferansiyasyon) denir. Kök hücreler birden fazla hücre tipine farklılaşabilirler. Bunun en iyi örneğini döllenmiş yumurta hücresi ya da zigottan itibaren görebiliyoruz. Vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilecek potansiyele sahip bu ilk

embriyonel hücreye "totipotent" (her şeyi yapabilen) hücre denmektedir. Bu hücreler sınırsız farklılaşma ve farklı yönlere gidebilme yeteneğine sahip kök hücrelerdir. Erken embriyonel dönemde 4 hücreden 8 hücreye kadar olan tüm blastomerler totipotenttir. Fertilizasyonun yaklaşık 5. gününde bu hücreler "blastosist" denilen içi boşluklu hücre topluluklarına dönüşürler. Blastosistin iç hücre kitlesindeki hücreler (embriyoblastlar), endoderm, ekdoderm ve mezodermden köken alan çok farklı hücre çeşidine (yaklaşık 250 çeşit) farklılaşabilirler. Bu özelliğe sahip hücrelere "pluripotent" hücreler denir. İnsan embriyonik kök hücreleri blastosistin iç hücre kitlesinden elde edilirler ve pluripotenttirler. Gelişimin ilerleyen dönemlerinde (fetal hayat), hücreler biraz daha özel görevlere sahip olup ve erişkin tip kök hücrelere dönüşürler. Bu erişkin kök hücreler, tipik olarak yer aldıkları dokunun hücre tiplerini üretirler. Kemik iliği kök hücreleri en iyi örnektir. Biraz daha özelleşmiş bu hücrelere "multipotent" hücreler denir (10).

Bir kök hücrenin "lineage" (dizi) değiştirmesi veya farklılaşması için başlıca 4 alternatif yol mevcuttur (11). Pluripotent veya multipotent kök hücreler daha sonra belirli hücre dizilerine farklılaşacak progenitor hücreleri oluştururlar.

1. Transdeterminasyon: Belli hücre grubunu oluşturmaya programlanmış bir kök hücrenin, başka bir yönde hücre oluşturmak üzere planlanmış diğer bir kök hücreye değişip, bu prekürsörün hücre tiplerini oluşturmasıdır. Buradaki prekürsör veya kök hücre multipotenttir ve belirlenmiş bir diziye geri dönüşümsüz olarak değişime gitmemiştir.

2. Transdiferansiyasyon: Farklılaşmış bir hücrenin diğer bir farklılaşmış hücrenin fenotipini almasıdır. Burada hücrenin gen ekspresyon şekli tamamen farklı bir hücre tipine dönüşür. (12).

3. Dediferansiyasyon: İlk iki terimin toplamını anlatır. Dediferansiye olacak bir hücre farklılaşmış bir hücre veya bir hücre grubunu yapmaya planlanmış bir hücre olabilir. Bu tür bir hücrenin, diğer bir hücre grubuna farklılaşmasını takiben diğer kola kaymasına dediferansiyasyon denilir. (11).

4. Hücre füzyonu: Hücre füzyonu ilk olarak klonlama ile gösterilmiştir. Burada, olgun ve bir hücre grubunu oluşturmaya programlanmış hücrenin çekirdeği, çekirdeği çıkarılmış bir ovum içerisine sokularak tekrar programlanabilir ve böylece

değişen çevre ile olgun çekirdeğin tekrar programlanması çoğu dokuların oluşumunu sağlar (13).

iv) Kök hücreler, hasar gören alıcıya nakil sonrasında kaynak dokuyu işlevsel olarak tekrar çoğaltabilirler.

v) Kök hücreler, canlı organizma içinde doku hasarının olmadığı durumlarda bile farklılaşmamış kuşaklara katkı sağlayabilirler.

2.1.1.Kök Hücre Tipleri

Embriyodan, fetal dokulardan, kordon kanından çeşitli kök hücreler izole edilmiştir. Bunun yanında kemik iliği, beyin, deri, göz, kalp, böbrek, akciğer, gastrointestinal sistem, pankreas, karaciğer, meme, over, prostat ve testis gibi memeli erişkin dokularından da kök hücreler izole edilmiştir (14).

2.1.2.Embriyonik Kök Hücreler (EKH)

EKH, blastokistin iç hücre kitlesinden elde edilir, bu kitle vücuttaki bütün dokuların yanı sıra embriyon dışı endoderm, ektoderm, mezoderm ve amniyon gibi dokulara kaynaklık eder. Dolayısıyla bu hücreler pluripotenttir.

EKH'ler sınırsız kendi kendilerini yenileme kapasitesine sahiptirler ve tüm fetal dokulara ve erişkin kök hücrelerine ve bunların daha farklılaşmış progenitörlerine farklılaşabilir. EKH'ler in vitro süspansiyonda kültür edildiklerinde kendiliklerinden embriyonik cisimler oluştururlar.

İnsan ve fare EKH'leri, hücre biyolojisinin pek çok temel ve uygulamalı yönleri için güçlü araçları temsil etmektedir. EKH'lerin in vitro koşullarda özgün hücre serilerine farklılaşmasına dayanan gözlemler, bu hücrelerin; yeni ilaçların geliştirilmesi ve toksisitelerinin belirlenmesi için gen hedeflerinin tanımlanmasında, gelişimsel biyolojide teratolojik ve toksik bileşiklerin tanımlanmasında, gen tedavilerinde, malignitelerin oluşum mekanizmalarının tespit edilmesinde, hücre kaynaklı tedavilerde kullanılmak üzere, daha olgun hücrelerin ve dokuların üretilmesinde kullanılabileceğini göstermektedir (15).

İnsan EKH'leri kullanılarak tedavi edilebilecek hastalıklar arasında; Alzheimer, akut serebrovasküler hastalık, parkinson, Tip 1 diyabetes mellitus (DM), multiple skleroz, amiyotrofik lateral skleroz, omurilik zedelenmesi, iskemik kalp yetmezliği, depo hastalıkları, kanser, osteogenezis imperfekta ve romatoid artrit yer alabilir.

2.1.3.Erişkin Kök Hücreler

Erişkin kök hücre olarak adlandırılan bir grup hücre, bu hücreleri destekleyen hücreler mikroçevre olarak adlandırılan bir yörede ve erişkinde kemik iliği, kalp, böbrek, beyin, deri, göz, gastrointestinal sistem, karaciğer, pankreas, akciğer, meme, over, prostat ve testis gibi organlarda tespit edilmiştir (16). Erişkin kök hücreler, adı geçen organda kendilerine ait bir mikroçevre içerisinde kısa veya uzun bir süre dinlenmede kalabilirler. Erişkin kök hücreler, yüksek telomeraz aktivitesine sahip oldukları halde EKH'lerle karşılaştırıldıklarında daha sınırlı bir farklılaşma potansiyelleri vardır ve bu sebeple daha sınırlı sayıda progenitör hücre oluştururlar. Erişkin kök hücreler, mikroçevrelerindeki değişiklikleri takiben çoğalabilirler veya daha olgun ve dokuya özel hücre tiplerine farklılaşabilirler (17).

Erişkin kök hücrelerin simetrik olarak ikiye bölünmesiyle birbirine benzer iki adet kardeş kök hücre oluşur ve bu sayede bu hücrelerin kendi kendini yenileme işlemi gerçekleşmiş olur. Erişkin kök hücreleri, özellikle hematopoetik kök hücreler, bazı fizyolojik veya patolojik koşullarda kan dolaşımı yoluyla diğer uzak organ ve dokulara yerleşebilirler.

2.1.4.Hematopoietik Kök Hücreler (HKH)

Hematopoetik sistem özel fonksiyonları olan birçok hücreden oluşmaktadır. Eritrositler dokulara oksijen taşımakla görevlidirler. Megakaryositlerden köken alan trombositler hemostazda rol alan hücrelerdir. Granülositik hücreler (nötrofil, bazofil ve eozinofiller) ve makrofajlar bakteri, mantar ve paraziter infeksiyonlara karşı savunma hattını sağlayan miyeloid sistemi oluşturmaktadır. Bu hücrelerin bazıları aynı zamanda doku ve kemiklerin yeniden şekillendirilmesinde ve ölü hücrelerin ortamdaki uzaklaştırılmasında görev almaktadır. B lenfositler seri hücreleri antikor sentezinden sorumlu iken, T lenfositler virüsle enfekte hücreler ve kanser hücreleri gibi vücuda yabancı hücreleri direkt olarak öldürebilme ya da izole edebilme fonksiyonuna sahiptir. Kan hücrelerinin çoğunun periferik kanda yaşam süreleri kısadır ve devamlı olarak yenilenmeleri gerekmektedir. Bu üretimin devamlılığı HKH'ler ile sağlanmaktadır.

Kök hücreler ile ilgili çalışmalar yaklaşık 60 yıl önce başlamıştır. 1945'de Hiroşima ve Nagasaki'ye atom bombası atılması sonrasında daha düşük dozda ve uzun sürede radyasyona maruz kalarak ölen kişilerin hematopoetik sistemlerinin zayıfladığı ve

yeterli kan hücresi üretemedikleri görülmüştür. Deneysel çalışmalarda; tüm vücut ışınlanması yapılan farelerin iki hafta içinde hematopoetik yetersizlik nedeniyle öldükleri (18), kemik iliğinden hazırlanan hücre süspansiyonlarının verilmesi ile de hematopoetik yetmezliklerinin düzeldiği gösterilmiştir (19). Düşük doz radyasyon verilen kemik iliği hücrelerinin daha sonra dalakta miyeloid ve eritroid hücre kolonileri meydana getirebildikleri bilinmektedir. Bu kolonilerin büyüklüklerinin infüze edilen hücre sayısı ile ilişkili olduğu ve tek bir prekürsör hücreden köken aldıkları saptanmıştır.

Kemik iliği, stroması ve hematopoetik sistem elemanlarından oluşan çok organize bir dokudur. Stromada bulunan osteoblastlar granülosit koloni stimüle edici faktör, IL-6, Notch ligandı jagged 1 gibi çeşitli faktörleri eksprese ederek HKH'lerin proliferasyon ve farklılaşmasını etkileyebilirler. HKH'ler de osteoblastik sekresyonu düzenler (20). Doğum sonrası, HKH'ler kemik iliği, kordon kanı ve mobilize edilmiş periferik kan gibi hematopoetik dokularda bulunurlar. HKH'lerin en önemli belirteçlerinden birisi CD34'tür. CD34 insan kemik iliği hücrelerinin %0.5-5'inde eksprese olur. Erken progenitorlarda bulunurken daha olgun hücrelerde bulunmamaktadır (21). İnsan HKH'leri için tanımlanmış diğer belirteçler; Lin, CD38, CD43, CD45RO, CD45RA, CD59, CD90, CD109, CD117, CD133, CD166, Sca-1, ve HLA-DR' dir. Fakat bunların çoğunluğu kök hücre için spesifik olan belirteçler değildir. Dolayısıyla, birkaç belirtecin birlikte değerlendirilmesi ile ancak saf bir HKH topluluğu tanımlanabilmektedir. Yüksek saflıktaki insan HKH'leri genellikle deneysel çalışmalarda kullanılmakta, klinik çalışmalarda ise temel olarak CD34 belirteci kullanılmaktadır. CD34 pozitif hücre topluluğu HKH ve progenitör kan hücreleri açısından oldukça zengin olmasının yanı sıra diğer hücre tiplerini de içerebilmektedir. CD34-pozitif CD90- pozitif kombinasyon yüksek oranda saflık sağlayabilmektedir. HKH'ler kemoterapi ve/veya radyoterapi ile miyeloablasyon sağlanan hastalara verildiğinde adezyon molekülleri sayesinde kemik iliğinde yerleşir ve yeni kan hücrelerini oluşturur, yani engraftman özelliği gösterir.

Kemik iliğindeki HKH'ler pluripotent özellikte olup, en azından 10 farklı fonksiyonel hücre tipini oluşturabilirler. Hematopoiesis esnasında, periferik kanda az miktarda CD34+ hücrelerin bulunması, HKH'lerin kemik iliği ile diğer organlar arasında sürekli bir hareketini akla getirir. Kemoterapiden sonra kemik iliğinin tekrar yapılanması ve büyüme faktörlerinin uygulanması CD34+ hücrelerin periferik kan

içerisine doğru hareketlenmesini (mobilizasyon) kolaylaştırır. Hematopoietik organlardan elde edilen kök hücrelerin, hematopoietik hücrelerden farklı olarak kemik, kıkırdak, nöral hücreler, pnömositler, kas, deri, endotel, epitel hücreleri, hepatositler gibi hücreleri oluşturma kapasiteleri vardır (22). HKH'ler den başka, hematopoietik hücreleri oluşturan dokularda en azından üç tane primitif progenitor/kök hücre tipi tanımlanmıştır:

1. Hemanjioblast (HB): Hematopoietik ve kan damar endotel hücrelerinin prekürsörüdür (11).
2. Mezankimal kök hücre (MKH): Mezodermal kökenli kemik, kıkırdak, kas, nöral hücreler, adipositi oluşturur ve hematopoetik stromayı destekler.
3. Multipotent erişkin progenitor hücreler (MAPC): Ekdodermal, endodermal, mezodermal kökenli hücrelerin çoğunu oluşturur (23).

MKH'ler ve MAPC'ler, hematopoietik hücrelerin en önemli belirteci olan CD45'i taşımazlar. MKH'ler kültür ortamından zemine yapışan, hızlı çoğalan ve fibroblast benzeri hücreler olarak belirirler. Kemik iliğinde bulunan çekirdekli hücrelerin % 0.0001 gibi küçük bir kısmını oluştururlar. Mezodermal kökenli dokulara dönüşebilirler. Vücut dışı koşullarda T lenfosit proliferasyonunu inhibe ederler. En önemli özellikleri sistemik dolaşıma verildiklerinde mezodermal kökenli dokulardaki infarkte dokuya yerleşebilirler. Bu özellikleri, MKH'lerin kültür süreleri arttıkça ve infarkt eskidikçe azalır. Uzun süreli kültürlerde destek tabakası oluşturur. MKH'leri tanımlamakta kullanılan özel bir belirteç olmamakla birlikte Stro 1, CD13, alfa-integrinler (CD49a ve CD49b), beta1 integrinler (CD29), CD44 (hyaluronat), CD71 (transferrin), CD90 (thy-1) gibi belirteçlerden bazılarını taşırlar (24).

2.1.5.Kök Hücre Plastisitesi

Son zamanlara kadar erişkin kök hücrelerinin gelişimsel olarak yapıldığı ve sadece içinde buldukları dokunun hücre serilerine farklılaşabildikleri düşünülüyordu. Fakat bir dizi deney erişkin kök hücrelerinin plastisite veya transdiferansiyasyon olarak nitelendirilen çeşitli hücre tiplerine farklılaşma yeteneğine sahip olduklarını göstermiştir. İnsan erişkin kök hücre çalışmaları iskelet miyoblastlarına (25), nöroektodermal hücrelere (nöronlar, oligodentrositler ve astrositler) (26), hepatositler ve kolanjiositlere (27), deri, karaciğer, sindirim (özefagus, barsaklar ve mide) ve

solunum sistemi epitel hücrelerine (28) ve endotel hücrelerine (29) farklılaşmayı göstermiştir.

Bununla birlikte kök hücre tedavilerinde en çok araştırma yapılan kemik iliği dışı doku kalptir. Kardiyak patolojilerde kök hücre uygulamaları çok farklı yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Tedavide kullanılan bu yöntemlerle kök hücreler arteriyel veya venöz kateterlerle (30-33), transendokardiyal enjeksiyonlarla (34) elektrokimyasal haritalama kılavuzluğunda doğrudan infarktli miyokarda (35,36), kök hücre mobilizasyonu ile veya doğrudan epikardiyal enjeksiyonlarla (37) infarktli ve iskemik dokuyu besleyen koroner damarlara verilmiştir. Kalp hasarından sonra doğal kök hücre mobilizasyonunu taklit etmek için sitokinlerin kullanılması, olumsuz olaylar riskini ve teorik olarak doğal onkogenezele ilişkili ajanların tetiklediği tümörogenezi göz önünde tutarak dikkatle değerlendirilmelidir (38). Yapılan bu çalışmalar sonucunda otolog progenitör mononükleer hücre infüzyonunun uygulanabilir ve güvenli olduğunu ve kısa dönemde terapötik fayda sağlayabileceğini düşündürmektedir (34). Kemik iliğinden izole edilmiş mononükleer hücreler, hücre implantasyonundan sonra vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve temel fibroblast büyüme faktöründe (FGF2) önemli bir artışla birlikte infarktli kalplerde kollateral yeni damarlanmayı arttırmış, akut (6 saat) ve kronik (4 hafta) miyokard infarktüsünde kardiyak işlevde önemli düzelme sağlamıştır. Düzenli kan bağışı yapan kişilerde kalp krizi riskinin diğer kişilere göre belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir. Fakat bunun nedeni pek açık değildir.

2.1.6.CD34 ve CD45 Yüzey İşaretleyicileri

İmmun sisteme ait hücrelerin karakteristik görünümünü sağlayan ve bu hücreleri birbirinden ayırmamıza yardımcı olan yüzey molekülleri bulunmaktadır. Bu hücre yüzey moleküllerinin tamamına Cluster of Differentiation (CD) işaretleyicileri denilmektedir. Günümüzde tanımlanmış yaklaşık 500 civarında CD işaretleyicisi bulunmaktadır. Bu moleküllerin çoğunluğu protein yapısında olup hücrelerde adezyon (yapışma), fagositoz ve migrasyon (göç) gibi birçok hücrenel olayın içinde yer almaktadır (39).

CD34; My-10 olarak da bilinen 105-120 kDa boyutunda, siyalomusin benzeri özellikler gösteren ve yoğun bir şekilde glikozillenmiş olan tip I transmembran glikoproteinidir. Hücre yüzeyinde CD62L (L-Selektin) için ligand (bağlayıcı) görevi

üstlenir. Muhtemelen CD62L ve CD62E aracılığıyla sitoadazyondan (hücre yapışması) sorumludur. Hematopoietik öncü hücrelerde, kemik iliği stromal hücrelerinde ve kapiller endotelde bulunan endotelyal prekürsör hücrelerde bulunmaktadır. Kök hücre işaretleyicisi olarak bilinir ve kemik iliği, periferik kan ve diğer dokulardaki kök hücrelerin belirlenmesinde kullanılır (40).

CD45; LCA (Leukocyte common antigen) ve B220 olarak da bilinir. CD45RA, RB, RC, RO'dan oluşan 4 adet izoformu mevcuttur. 180-220 kDa boyutunda tip I transmembran glikoproteinidir. Membranın proksimal bölgesinde 3 adet fibronektin ve membranın hücre içi bölgesinde ise 2 adet fosfotirozin fosfatazdan oluşmaktadır. İntrensek tirozin fosfataz aktivitesine sahiptir. T ve B hücrelerinin antijen reseptör ilişkili aktivasyonu için gereklidir. CD45'in çapraz bağlanması lenfositlerdeki apoptozu uyarır. Tüm hematopoietik hücrelerde bulunmaktadır ancak en yoğun lenfositlerde bulunur. Lökosit alt gruplarında farklı izoform ekspresyonu mevcuttur ve bu sayede bu hücrelerin aktiviteleri değişmektedir. Aynı hücre tipinde birden fazla izoform eksprese olabilir. Genel olarak saf (naive) T ve B hücrelerinde CD45RA eksprese olurken, hafıza hücrelerinde CD45RO eksprese olur (40).

2.2.AKIM SİTOMETRİ

Sitometri, hücrelerin veya biyolojik partiküllerin fiziksel ya da kimyasal karakterlerinin ölçülmesidir. Akım sitometri (flow cytometry) ise, akan bir sıvının içerisindeki hücrelerin özelliklerinin incelenmesi olarak tanımlanabilir (41-43). Günümüzde "flow" sitometri ya da akım sitometri terimleri kullanılmaktadır. Akım sitometrinin en önemli kullanım alanları alt tiplerine kadar hücre tespiti (HLA CD = Human Leucocyte Antijen Cell Differentiation, İnsan Lökosit Antijeni Hücre Ayırım Belirteci) ve biyolojik çalışmalar için epitop ekspresyonudur. Akım sitometri ışık mikroskopi ile kıyaslanınca çok daha fazla hücreyi daha kısa sürede inceleme fırsatı vermesiyle avantaj sağlamaktadır. Akım sitometrik teknik ile 1 saniyede 500 hücre sayılabilir ve ortalama 10.000 hücre 20 saniyede analiz edilebilir.

Akım sitometrik analiz hücre süspansiyonunun hazırlanması, hücrelere monoklonal antikor eklenmesi, cihazın kalibrasyonu, kontrol ve örneklerin cihazda çalışılması, veri analizi ve veri yorumu ve raporu aşamalarından oluşur Akım sitometri analizi için hücre süspansiyonu hazırlamak amacıyla kan, kemik iliği, beyin omurilik sıvısı,

bronkoalveoler lavaj sıvısı, eklem sıvısı, plevral sıvı, asit sıvısı, doku biyopsi örnekleri, parafin bloktaki dokular ve hücre kültürü örnekleri kullanılabilir. Tam kan örneğinden ön işlemler ile manuel ya da otomatik ön işlem cihazları ile çalışılması arzu edilen hücre süspansiyonu (eritrosit, lökosit ve trombosit) hazırlanabilmesine olanak sağlar (44-47).

Akım sitometride, hücrenin büyüklüğü, hücrenin iç yapısı (granülaritesi) ve hücrede incelemek istediğimiz antijene ait işaretlediğimiz monoklonal antikorun floresansı ölçülmektedir.

2.2.1.CD34+ Hücre Sayım Teknikleri

Akım sitometri ile CD34 sayımı için iki yöntem kullanılmaktadır. Kullanılan ilk yöntemde beyaz kürelerdeki CD34+ hücre oranları bulunup hemogramda elde edilen mutlak beyaz küre değerleri kullanılarak hesaplanır ve iki aşamalı (dual platform) ölçüm olarak isimlendirilir. İkinci yöntemde ise birim hacimde bulunan CD34+ hücre sayısı doğrudan ölçülür ve tek aşamalı (single platform, procount) yöntem olarak isimlendirilir. Tek aşamalı ölçüm için ya volumetrik cihazlar kullanılır ya da mutlak sayısı bilinen parlak floresan veren boncuklar eklenerek birim hacimdeki hücre sayısı hesaplanır. Bu yöntemle kan dışı ürünlerde (kord kanı, kemik iliği gibi) görülebilen çekirdekli kırmızı küre ya da küme trombositlerden kaynaklanan hatalı beyaz küre sayımlarına bağlı oluşan hatalar dışlanmış olur. Laboratuvarlar arası değişkenlik azalır. Sayımlar için seçilecek antikorlar, "Class" III veya II epitoplara özgün olmalı ve tercihan phycoerytrin (PE) işaretli olmalıdır, "Class"II FITC konjuge antikorlar kullanılmamalıdır. En sık kullanılan "Single"platform ISHAGE metodu ile yapılan ölçümlerdir. Yönteme yapılan bazı eklemeler ile CD34+ hücre alt gruplarının veya hücre canlılığının da değerlendirilmesi mümkün olmaktadır (48).

2.3.KAN BAĞIŞININ FAYDALARI

Yapılan çalışmalar sonucunda düzenli olarak kan bağışı yapan insanlarda akut miyokard infarktüsü sıklığının kan vermeyen insanlara göre anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir (3). Kan bağışı yapanlarda gözlenen miyokard infarktüsündeki azalmanın sebebi olarak; vücuttaki toplam demir miktarının azalması ve serum kolesterol düzeylerindeki değişikliklerin etkisini gösteren çeşitli çalışmalar yapılmıştır (3).

Kan bağışı yapan sağlıklı gönüllülerde insülin duyarlılığının arttığını gösteren çalışmalar mevcut olup ortaya çıkan bu sonuçlardan vücuttaki toplam demir miktarının ve serbest oksijen radikallerinin azalması sorumlu tutulmuştur (4,49). Kan bağışının artan insülin duyarlılığı ile ilişkili olduğu Tip 2 diyabetli hastalarda da gösterilmiştir (50). Bu gözlemin en çarpıcı yönü kan bağışının uzun ömürlü etkisidir. İnsülin duyarlılığındaki değişiklikler işlemden bir yıl sonra bile devam etmektedir (50). Ayrıca, yüksek-normal serum ferritin düzeyine sahip kişilerde Tip 2 diyabetin önlenmesinde yeterli ve güvenli bir tedavi olarak kan bağışı veya flebotomi faydalı olabilir (51).

Kan bağışı yapan sağlıklı gönüllülerde vasküler fonksiyonlarda düzelme tespit edilmiş olup sık kan bağışı yapanlarda ortaya çıkan bu düzelmenin daha seyrek kan bağışı yapanlara göre daha fazla olduğu bulunmuştur (49). Vasküler fonksiyonlardaki bu iyileşmenin sebebi olarak; oksidatif stres ürünlerindeki azalma, plazma eritropoietin düzeyindeki artış, glikohemoglobin düzeyindeki azalma ve endotel fonksiyonlarında düzelme gösterilmiştir (49).

Yapılan tüm bu çalışmalarda ortaya çıkan faydalı etkilerin sebebi araştırılırken periferik kandaki kök hücre miktarı araştırılmamıştır.

3.HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışmaya Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı tarafından belirlenmiş olan kan bağışı yapabilme kriterlerini karşılayan, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Kan Merkezi'ne kan bağışı yapan gönüllüler dahil edildi.

Çalışma prospektif olarak yapıldı.

Çalışma protokolü Helsinki Deklerasyonu'na uygun olarak hazırlandı ve Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından kabul edildi (Etik Kurul Karar No: 2010/42).

Yapmış olduğumuz çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklendi (Proje numarası: TSU-11-3511).

Gönüllülere çalışma hakkında ayrıntılı bilgi verilerek gönüllü olur formu bir şahit önünde okutuldu ve kabul edenler imza karşılığında çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen gönüllülerin tamamı 18-65 yaş arasındaydı (23-57). Gebeler, gebelik şüphesi olanlar ve emziren kadınlar çalışmaya dahil edilmedi. Gönüllülerin kan bağışı öncesinde cinsiyet, yaş, boy, kilo, beden kitle indeksi, sigara kullanımı, daha önce yapılan kan bağışı sayısı eşlik eden hastalıkları sorgulanarak veriler kaydedildi.

Hastaların kan bağışı öncesinde fizik muayeneleri yapılarak kaydedildi. Çalışmaya alınan gönüllülerin hiçbirinin fizik muayenesinde patolojik bulguya rastlanmadı.

Kan bağışı esnasında ve sonrasında meydana gelen komplikasyonlar kaydedildi.

Çalışmaya, 22 erkek (%71) ve 9 kadın (%29) olmak üzere toplam 31 gönüllü dahil edildi.

Çalışmaya alınan gönüllülerden 15 tanesi (%48.3) daha önceden en az bir sefer kan bağışı yapmıştı ancak 16 gönüllü (%51.7) ise daha önceden hiç kan bağışı yapmamıştı.

Çalışmaya alınan gönüllülerden 12 tanesi (%38.7) sigara içmekteydi ve sigara içen gönüllülerin ortalama sigara içme süresi 9.6 ± 4.5 yıl/paketti, 19 gönüllü (%61.3) ise sigara içmiyordu.

Çalışmaya alınan gönüllülerden bir tanesinin (%3.2) hafif kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) bulunmaktaydı ve düzensiz olarak uzun etkili inhaler β 2 mimetik ilaçlar kullanmaktaydı ancak son olarak kan bağışı yapmadan 2 ay önce ilaç kullanma hikayesi olduğu öğrenildi.

Çalışmaya alınan gönüllülerin total kan volümleri kilogram (kg) cinsinden vücut ağırlığı ve metre (m) cinsinden boyları kullanılarak hesaplandı. Hesaplamalar her iki cinsiyet için ayrı ayrı yapıldı. Hesaplamalar aşağıdaki formüllere uygun şekilde yapıldı.

Erkek: $0.3669 \times (\text{Boy})^3 + 0.03219 \times (\text{Vücut Ağırlığı}) + 0.6041$

Kadın: $0.3561 \times (\text{Boy})^3 + 0.03308 \times (\text{Vücut Ağırlığı}) + 0.1833$

Çalışmaya dahil edilen gönüllülerden Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Kan Merkezi görevlisi tarafından antekubital fossada bulunan brakial ven kullanılarak Kansuk marka flebotomi setiyle toplam 450 ml tam kan alındı. Gönüllülerden kan bağışından hemen önce ve kan bağışı sonrası 6. ve 24. saatlerde toplam 6'şar ml kan alınarak 2 adet EDTA'lı tüpe 3'er ml kan eşit olarak paylaştırıldı. Alınan her bir örnek 30 dk. içerisinde elden ilgili laboratuvarlara çalışılmak üzere teslim edildi.

EDTA'lı tüpe alınan örneklerden birinden Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda 22 parametrelilik Tam Kan Sayımı çalışıldı. Alınan diğer örnek ise Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mehmet Kemal Dedeman Hematoloji ve Onkoloji Hastanesi Akım Sitometri Laboratuvarı'nda BD FACS Calibur (Becton Dickinson San Jose, USA) cihazında çalışıldı. EDTA'lı tüplere alınan periferik kan

örnekleri laboratuvarında 40 µm çapındaki partikülleri ayıran süzgeçlerde süzöldükten sonra, her bir tüp için 100 µL örnek alınarak 10 µL P-gp PE ve 10 µL CD34 PerCP işaretleycileri ile işaretleme yapıldı. Karanlıkta 15 dakika inkübasyon sonrası tüplere 1.5 ml BD FACS lysing solüsyonu ilave edildi ve hızlı bir şekilde vortekslendi. Daha sonra çıkarılan tüpler BD Cell Wash ile 3 sefer yıkandı ve 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süspansiyon halindeki hücreler akım sitometride analiz edilerek CD45 ve CD34 ekspresyonları ölçöldü. CD34 ekspresyonları procount (tek aşamalı, single platform) yöntem ile çalışıldı.

3.1.İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Veriler SPSS 15.0 istatistik paket programında değeriendirildi. Verilerin normal dağılımına Shapiro-Wilk testi ile bakıldı. Ölçümler arası farka normal dağılan değerişkenler için Tek Yönlü Tekrarlı Varyans Analizi ile normal dağılmayan değerişkenler için Friedman Analizi ile bakıldı. Fark çıkan değerişkenlerin çoklu karşılaştırmalarında parametrik ve parametrik olmayan Tukey testi kullanıldı. İki grup karşılaştırmalarında normal dağılan değerişkenler için bağımsız örnek t testi, normal dağılmayan değerişkenler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmaya alınan gönüllülerin ortalama yaşı 31.6 ± 6.52 idi.

Çalışmaya alınan gönüllülerin ortalama vücut kitle indeksleri (VKİ) 26.04 ± 4.41 kg/m^2 idi.

Çalışmaya alınan gönüllerin hiçbirinin kan bağışı öncesinde yapılan fizik muayenesinde patolojik bulguya rastlanmadı. Bir gönüllünün (%3.2) kan bağışı sonrasında hafif hipotansiyonu (sistolik ve diyastolik tansiyon ölçümünde kan bağışı öncesi ölçülen değere göre 20 mmHg'lık düşüş tespit edildi) ve baş dönmesi gelişti ve 30 dakikalık istirahat ve ayakların elevasyonu sonrasında şikayetleri düzeldiği için ek müdahalede bulunulmadı.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki tam kan sayımı sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki tam kan sayımı sonuçları.

| Parametreler | Kan bağışı öncesi Ortanca (Min.-Maks.) | Kan bağışı sonrası 6. Saat Ortanca (Min.-Maks.) | Kan bağışı sonrası 24.saat Ortanca (Min.-Maks.) |
|-------------------------------------|--|---|---|
| Hemoglobin (g/dL) | 15.0 (12.0-16.4) | 14.3 (11.3-15.9) ^a | 14.2 (10.9-15.3) ^{b,c} |
| Hematokrit (%) | 42.6 (36.2-47.8) | 41.2 (34.1-48.4) ^a | 40.4 (30.0-45.7) ^b |
| Beyaz küre ($\times 10^9/L$) | 8.20 (6.01-10.66) | 9.28 (6.11-13.04) ^a | 8.16 (5.47-12.55) ^c |
| Nötrofil (%) | 60.9 (47.5-78.6) | 60.3 (35.6-74.0) | 58.1(45.2-75.4) |
| Nötrofil sayısı ($\times 10^9/L$) | 4.98 (3.97-8.12) | 5.34 (4.19-9.46) ^a | 4.82 (3.66-8.78) ^c |
| Lenfosit (%) | 29.2 (14.0-40.7) | 30.3 (17.6-44.5) | 31.2 (16.3-42.0) |
| Lenfosit sayısı ($\times 10^9/L$) | 2.42 (1.76-3.26) | 2.80 (1.81-3.33) ^a | 2.47 (1.74-3.30) ^c |
| Monosit (%) | 5.2 (3.1-7.2) | 5.7 (2.9-10.9) | 5.2 (3.8-9.7) |
| Monosit sayısı ($\times 10^9/L$) | 0.43 (0.25-0.66) | 0.51 (0.34-1.12) | 0.42 (0.27-1.01) |
| Trombosit ($\times 10^9/L$) | 250 (155-333) | 233 (124-348) | 251 (168-336) |

* p: <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

** **a:** Kan bağışı öncesi ve 6. saat arasında anlamlı fark olanlar, **b:** Kan bağışı öncesi ve 24. saat arasında anlamlı fark olanlar, **c:** 6. saat ve 24. saat arasında anlamlı fark olanlar.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki tam kan sayımı sonuçlarının istatistiksel olarak karşılaştırılması Tablo 2’de verilmiştir.

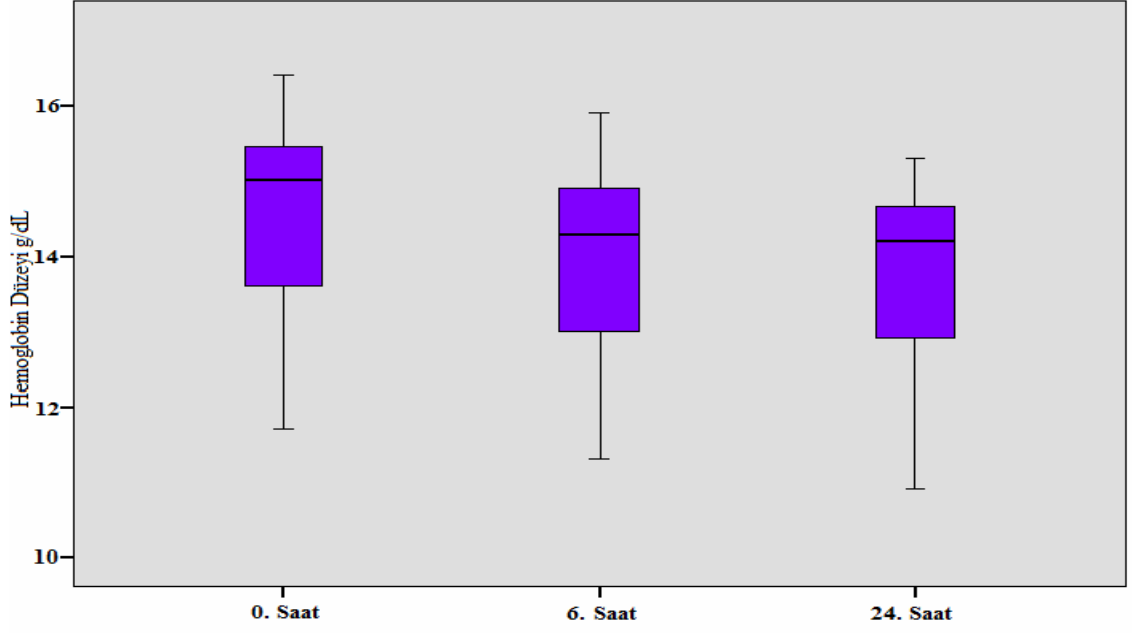
Tablo 2: Kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki tam kan sayımı sonuçlarının istatistiksel olarak karşılaştırılması.

| Parametreler | Kan bağışı öncesi - 6. saat | Kan bağışı öncesi - 24. saat | 6.saat - 24 saat |
|------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------|
| Hemoglobin | p= <0.001 | p= <0.001 | p= 0.042 |
| Hematokrit | p= <0.001 | p= <0.001 | p= 0.071 |
| Beyaz küre | p= <0.001 | p= 0.382 | p= <0.001 |
| Nötrofil % | p= 0.313 | p= 0.191 | p= 0.117 |
| Nötrofil sayısı | p= <0.001 | P= 0.202 | p= <0.001 |
| Lenfosit % | p= 0.298 | p= 0.207 | p= 0.256 |
| Lenfosit sayısı | p= <0.001 | p= 0.095 | p= <0.001 |
| Monosit % | p= 0.452 | p= 0.798 | p= 0.447 |
| Monosit sayısı | p= 0.981 | p= 0.322 | p= 0.782 |
| Trombosit | p= 0.212 | p= 0.788 | p= 0.223 |

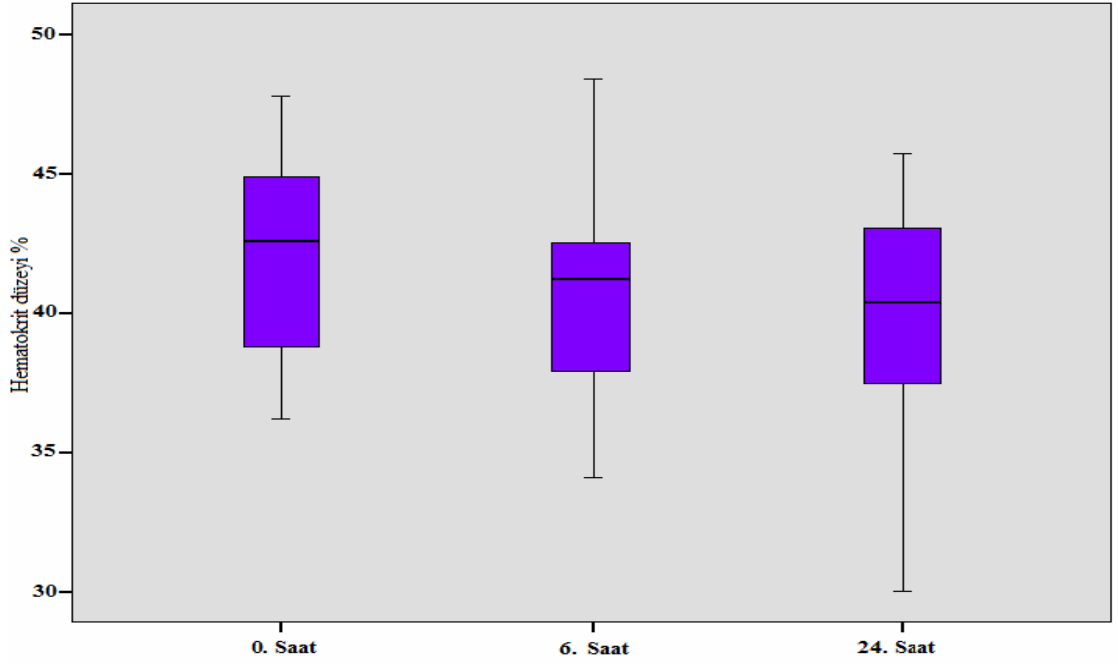
* p: <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 1’ de görüldüğü gibi çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesinde hemoglobin ortanca değeri 15.0 (12.0-16.4) g/dL idi ve kan bağışı sonrasında 6. ve 24. saatlerde hemoglobin düzeyleri azalmaktaydı ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıydı. Kan bağışı sonrasında 6. saat ve 24. saatlerdeki hemoglobin düzeyi karşılaştırıldığında, 24. saatte 6. Saate göre hemoglobin düzeyinde azalma mevcuttu ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıydı. Hemoglobin düzeylerindeki değişiklik Şekil 1’de gösterilmiştir.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesinde hematokrit ortanca değeri %42.6 (36.2-47.8) idi ve kan bağışı sonrasında 6. ve 24. saatlerde hematokrit düzeyi azalmaktaydı ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıydı. Kan bağışı sonrasında 6. ve 24. saatlerdeki hematokrit düzeyi karşılaştırıldığında 24. saatte 6. Saate göre hematokrit düzeyinde azalma mevcuttu ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Hematokrit düzeylerindeki değişiklik Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 1: Kan bağışının hemoglobin düzeyine etkisi.



Şekil 2: Kan bağışının hematokrit düzeyine etkisi.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesinde beyaz küre ortanca değeri $8.20 (6.01-10.66) \times 10^9/L$ idi ve kan bağışı öncesi ve kan bağışından sonra 6. saatteki beyaz küre değerleri karşılaştırıldığında, 6. saatte beyaz küre değerinde artış

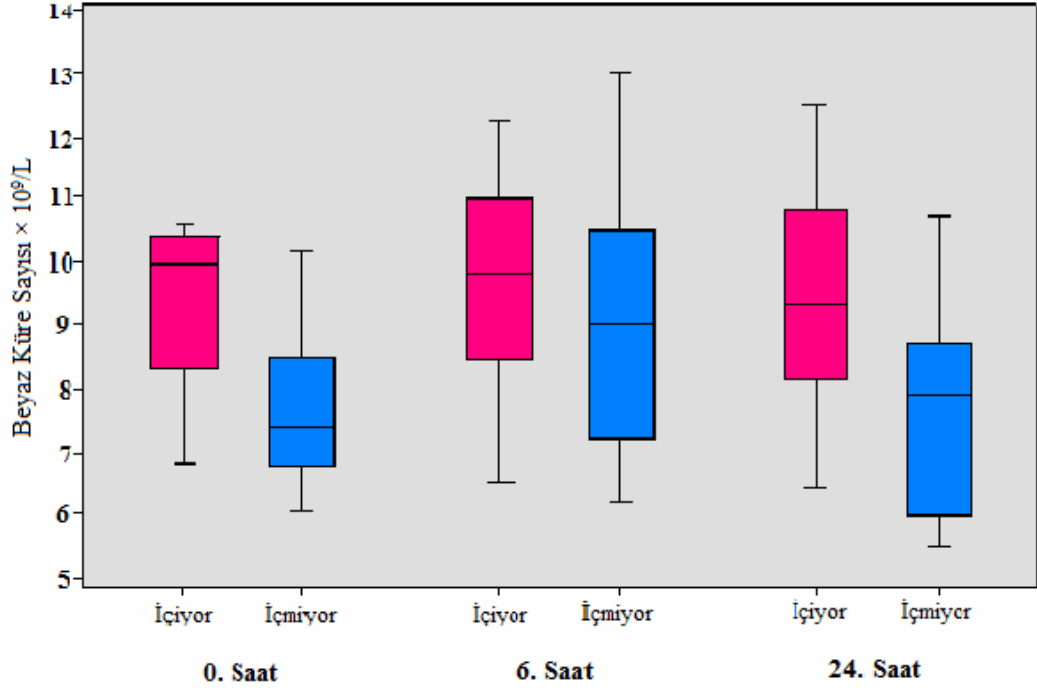
mevcuttu ve artış istatistiksel olarak anlamlıydı. Kan bağışı sonrasında 6. ve 24. saatlerdeki beyaz küre değerleri karşılaştırıldığında, 24. saatte beyaz küre değerinde azalma olduğu ve azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Kan bağışı öncesi ve kan bağışından sonra 24. saatteki beyaz küre değerleri karşılaştırıldığında, 24. saatte beyaz küre değerinde azalma olduğu ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi.

Sigara içen gönüllülerin ortalama beyaz küre değeri $9.89 (6.93-10.66) \times 10^9/L$ ve sigara içmeyen gönüllülerin ortalama beyaz küre değeri ise $7.47 (6.01-10.31) \times 10^9/L$ 'di. Sigara içenlerde beyaz küre değeri daha yüksekti ve bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlıydı ($p = <0.001$).

Sigara içen gönüllülerin sigara içme süresiyle beyaz küre değerleri karşılaştırıldığında, sigara içme süresiyle beyaz küre değerleri arasında pozitif korelasyon mevcuttu ancak bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Sigara içen gönüllülerin kan bağışı öncesindeki beyaz küre değeriyle kan bağışından sonra 6. saatteki beyaz küre değeri karşılaştırıldığında, 6. saatte beyaz küre değerinde azalma olduğu ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Kan bağışı öncesi ve kan bağışından sonra 24. saatteki beyaz küre değerleri karşılaştırıldığında beyaz küre değerinde yine azalma olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Kan bağışı sonrası 6. ve 24. saatlerdeki beyaz küre değerleri karşılaştırıldığında 24. saatte beyaz küre değerinde 6. saate göre azalma olduğu ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi.

Sigara içmeyen gönüllülerin kan bağışı öncesi ve kan bağışından sonra 6. saatteki beyaz küre değerleri karşılaştırıldığında, 6. saatte beyaz küre değerinde artış olduğu ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Kan bağışı öncesi ve kan bağışından sonra 24. saatteki beyaz küre değerleri karşılaştırıldığında beyaz küre değerinde artış olduğu bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Kan bağışı sonrası 6. ve 24. saatlerdeki beyaz küre değerleri karşılaştırıldığında 24. saatte beyaz küre değerinde 6. saate göre azalma olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Sigara kullanımı ve beyaz küre sayısının kan bağışıyla ilişkisi Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 3: Beyaz küre sayısının sigara kullanımı ve kan bağışıyla ilişkisi.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerde bakılan nötrofil, lenfosit ve monosit yüzdeleri karşılaştırıldığında her üç serinin yüzdesinde ortaya çıkan değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesi mutlak nötrofil sayısı ortanca değeri $4.98 (3.97-8.12) \times 10^9/L$ idi. Kan bağışı öncesi ve kan bağışından sonra 6. saatteki mutlak nötrofil sayıları karşılaştırıldığında 6. saatte artış olduğu ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Kan bağışı sonrası 6. ve 24. saatlerdeki mutlak nötrofil sayısı karşılaştırıldığında, 24. saatte mutlak nötrofil sayısında azalma olduğu ve azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Kan bağışı öncesi ve kan bağışından sonra 24. saatteki mutlak nötrofil sayıları karşılaştırıldığında, 24. saatte mutlak nötrofil sayısında azalma olduğu ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesi mutlak lenfosit sayısı ortanca değeri $2.42 (1.76-3.26) \times 10^9/L$ idi. Kan bağışı öncesi ve kan bağışından sonra 6. saatteki mutlak lenfosit sayıları karşılaştırıldığında 6. saatte artış olduğu ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Kan bağışı sonrası 6. ve 24.

saatlerdeki mutlak lenfosit sayısı karşılaştırıldığında, 24. saatte mutlak lenfosit sayısında azalma olduğu ve azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Kan bağıışı öncesi ve kan bağıışından sonra 24. saatteki mutlak lenfosit sayıları karşılaştırıldığında, 24. saatte mutlak lenfosit sayısında artış olduğu ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağıışı öncesinde mutlak monosit sayısı ortanca değeri $0.43 (0.25-0.66) \times 10^9/L$ idi. Kan bağıışı öncesi, kan bağıışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki mutlak monosit sayıları karşılaştırıldığında; mutlak monosit sayısındaki değişikliklerin istatistiksel anlamlı olmadığı tespit edildi.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağıışı öncesinde trombosit ortanca değeri $250 (155-333) \times 10^3/\mu L$ idi. Kan bağıışı öncesi, kan bağıışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki trombosit sayıları karşılaştırıldığında; trombosit sayısındaki değişikliklerin istatistiksel anlamlı olmadığı tespit edildi.

Kan bağıışı yapan gönüllülerde periferik kandaki CD34+ ve CD45+ hücrelerin kan bağıışı öncesi, kan bağıışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki değerleri Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3: Periferik kandaki CD34+ ve CD45+ hücrelerin kan bağıışı öncesi, kan bağıışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki değerleri.

| Parametreler | Kan bağıışı öncesi Ortanca (Min.-Maks.) | Kan bağıışı sonrası 6. Saat Ortanca (Min.-Maks.) | Kan bağıışı sonrası 24.saat Ortanca (Min.-Maks.) |
|--|--|---|---|
| CD34+ hücre sayısı/ μL | 2.82 (0.56-5.5) | 3.27 (1.22-8.98) | 2.73 (0.49-9.02) |
| CD45+ hücre sayısı ($\times 10^9/L$) | 7.90 (5.19-11.11) | 8.46 (5.64-14.03) | 7.98 (4.27-12.65) |

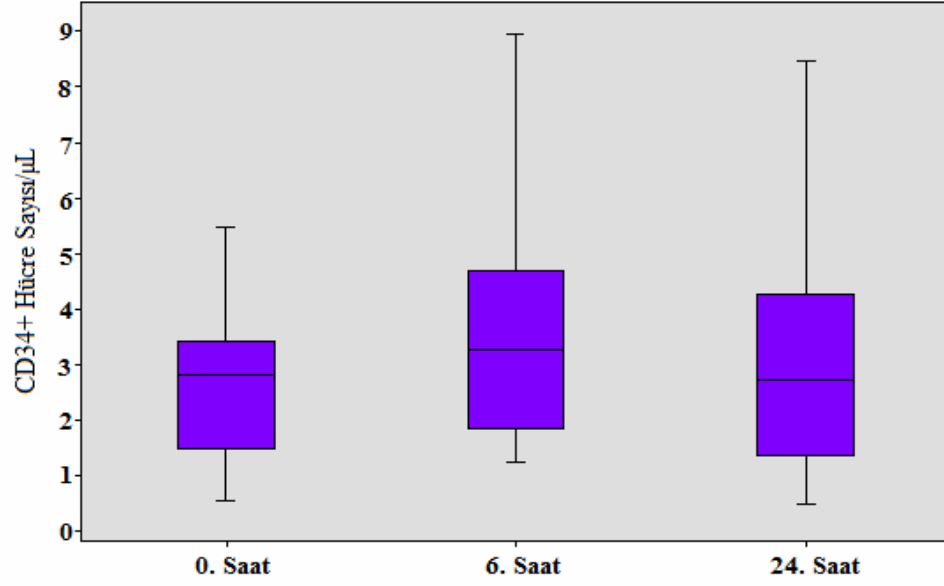
Çalışmaya alınan gönüllülerin periferik kandaki CD34+ ve CD45+ hücrelerin kan bağıışı öncesi, kan bağıışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması Tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 4: Periferik kandaki CD34+ ve CD45+ hücrelerin kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması.

| Parametreler | Kan bağışı öncesi - 6. saat | Kan bağışı öncesi - 24. saat | 6.saat - 24 saat |
|--------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------|
| CD34+ hücre sayısı | p= 0.004 | p= 0.194 | p= 0.002 |
| CD45+ hücre sayısı | p= <0.001 | p= 0.367 | p= <0.001 |

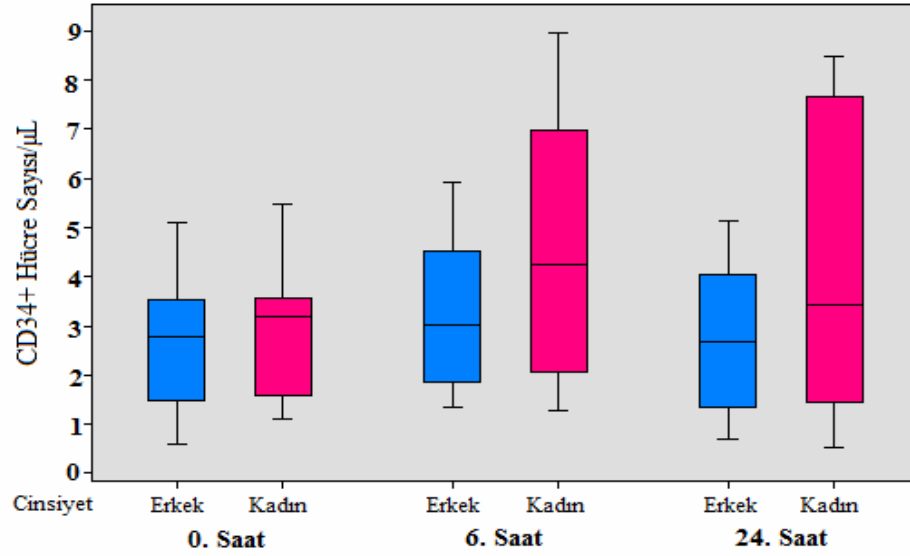
* p: <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesinde periferik kanda bulunan CD34+ hücrelerin ortanca değeri mikrolitrede 2.82 (0.56-5.5) hücre idi. Kan bağışı öncesi ve kan bağışından sonra 6. saatteki periferik kanda bulunan CD34+ hücre sayısı karşılaştırıldığında, kan bağışından 6 saat sonra periferik kandaki CD34+ hücre sayısı artış göstermekteydi ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıydı. Kan bağışından sonra 24. saatte 6. saate göre azalma mevcuttu ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıydı. Kan bağışı öncesinde periferik kanda bulunan CD34+ hücre sayısı ile kan bağışından sonra 24. saatteki periferik kanda bulunan CD34+ hücre sayısı karşılaştırıldığında 24. saatte azalma mevcuttu ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kan bağışının periferik kandaki CD34+ hücre sayısına etkisi Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4: Kan bağışının periferik kandaki CD34+ hücre sayısına etkisi.

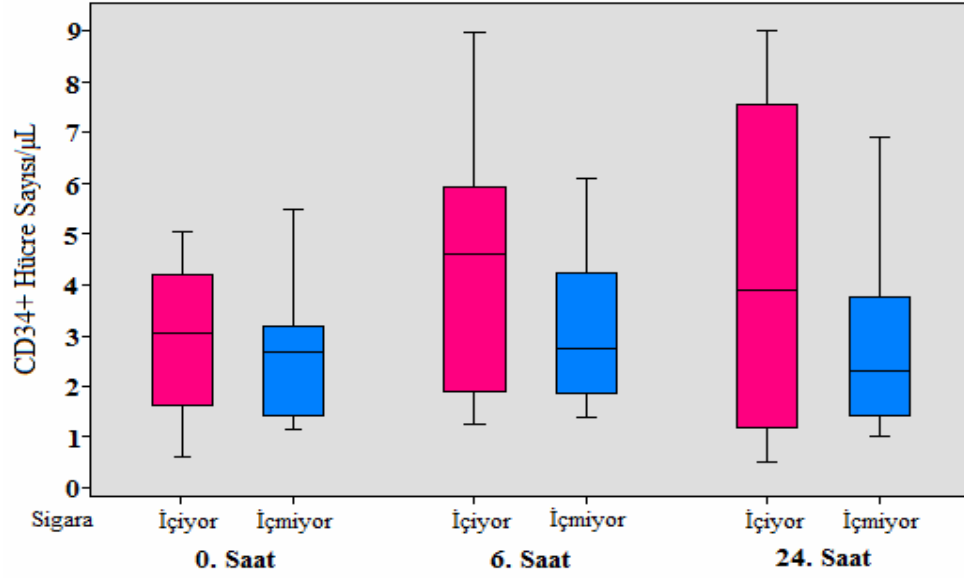
Çalışmaya alınan 22 erkek ve 9 kadın gönüllünün kan bağış öncesi, kan bağışından sonraki 6. ve 24. saatlerdeki periferik kandaki CD34+ hücre sayıları karşılaştırıldığında kadın gönüllülerin CD34+ hücre sayısı her üç ölçümde de erkek gönüllülerin CD34+ hücre sayısından fazlaydı ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Her iki cinsiyete göre ayrı ayrı periferik kandaki CD34+ hücre sayılarındaki artış miktarı karşılaştırıldı ve artış miktarı ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon tespit edilmedi. Periferik kandaki CD34+ hücre sayısının kan bağışıyla ilişkisi kadın ve erkek cinsiyete göre ayrı ayrı Şekil 5'te gösterilmiştir.



Şekil 5: Kan bağışı yapan gönüllülerde periferik kandaki CD34+ hücre sayısının cinsiyete göre değişimi.

Çalışmaya alınan gönüllülerden sigara içen 12 kişinin kan bağışı öncesi, kan bağışından sonraki 6. ve 24. saatlerdeki periferik kandaki CD34+ hücre sayıları sigara içmeyen 19 kişi ile karşılaştırıldığında sigara içenlerin CD34+ hücre sayıları her üç ölçümde de içmeyenlere göre daha yüksekti ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Periferik kandaki CD34+ hücre sayısının kan bağışıyla ilişkisi sigara içen ve içmeyenlere göre ayrı ayrı Şekil 6'da gösterilmiştir.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesinde total kan volümleri için ortanca değer 4991 (3659-6034) ml idi. Kan bağışı öncesi, kan bağışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki periferik kanda bulunan CD34+ hücre sayıları total kan volümüne göre karşılaştırıldı. Total kan volümü ile periferik kandaki CD34+ hücre miktarındaki artış arasında negatif korelasyon vardı ancak bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildi.



Şekil 6: Kan bağışı yapan gönüllülerde periferik kandaki CD34+ hücre sayısının sigara kullanımına göre değişimi.

Çalışmaya alınan gönüllülerin kan bağışı öncesinde periferik kanda bulunan CD45+ hücrelerin ortanca değeri $7.90 (5.19-11.11) \times 10^9/L$ idi. Periferik kanda bulunan beyaz kürelerin tamamında CD45 ekspresyonu bulunduğu için beyaz küre sayısındaki değişimlerle CD45+ hücre sayılarındaki değişimler ve ortaya çıkan sonuçlar birbiriyle aynıydı.

5.TARTIŞMA

Herhangi bir nedene bağlı olarak akut kan kaybı gelişen hastalarda kan kaybından hemen sonra bakılan tam kan sayımında hematokrit ve hemoglobin değerlerinde kan kaybı öncesine göre değişiklik olmamaktadır. Hematokrit ve hemoglobin değerlerinin değişmemesinin nedeni kan kaybı esnasında kanın hücresel elemanlarıyla birlikte plazma kaybının da olmasıdır. Adaptif mekanizmalar devreye girdikten sonra plazma hacminin artarak hemodilüsyon gerçekleşebilmesi için belirli bir zamana ihtiyaç duyulmaktadır. Akut kan kaybı sonrası gerek ekstrasellüler alandan intravasküler alana sıvı geçişi, gerekse hormonal etkilerle idrar konsantrasyonunun artarak renal su ve sodyum reabsorbsiyonunun artması sonucu kan kaybından sonra 1. saatte hematokrit ve hemoglobin değerleri azalmaya başlar. Kan kaybının şiddetine göre değişmekle beraber yaklaşık 12-48 sonra hematokrit ve hemoglobin değerleri stabil hale gelir. Total kan hacmindeki %8-10'luk kayıp ile hematokrit değerinde %2-3.5, hemoglobin değerinde ise 0.7-1.1 gr/dl'lik azalma meydana gelir (52).

Yurtseven ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, hastaların total kan volümünü tespit etmek için radyoaktif krom 51 (Cr^{51}) kullanımıyla hastaların boy, kilo ve cinsiyeti kullanılarak hesaplanan total kan volümleri karşılaştırılmıştı. Bu çalışma sonucunda iki yöntem arasında total kan volümünü hesaplama açısından fark olmadığı bulunmuştur (53). Biz de çalışmamızda hastaların total kan volümünü hesaplamak için boy, kilo, cinsiyetini kullanarak formül ile total kan volümünü

hesapladık. Bizim çalışmamızda çalışmaya alınan gönüllülerin hesaplanan total kan volümü 4991 (3659-6034) ml idi. Kan bağıışı için gönüllülerden 450ml kan alındığı için kan bağıışı sonrasında yaklaşık %10'luk kan kaybı gerçekleşmişti. Kan bağıışından sonra 6. ve 24. saatlerdeki hemoglobin düzeylerinde başlangıca göre sırasıyla 0.7 ve 0.8 g/dl, hematokrit düzeylerinde ise %1.4 ve %2.2 azalma gözlemlendi. Kan kaybını takiben periferik kanda hızlı bir şekilde kan kaybının derecesine göre değişen miktarlarda hafif orta düzeyde lökositoz gelişmektedir. Lökositoz gelişiminin esas mekanizması kan kaybı sonrasında oluşan katekolamin deşarjına bağılı olarak kemik iliğinde ve marjinal havuzda depolanmış olan lökositlerin periferik kana geçmesi şeklindedir. Kan kaybı sonrasında depolanmış olan lökositler perifere geçtiği için lökositoz dakikalar içerisinde gelişebilmektedir (54).

Bizim çalışmamızda da kan bağıışından sonra 6. saatte beyaz küre sayısında artış gözlenmekteydi ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıydı. Kan bağıışından sonra 24. saatte ise beyaz küre sayısı hızla azalmaktaydı. 24. saatte gerçekleşen beyaz küre sayısındaki azalmanın sebebi lökositoya yol açan stresin (kan kaybı) kısa süreli ve tek sefer etki etmesi, 24. saatte total kan volümünün kan bağıışı öncesi düzeylere gelmesi sonucunda katekolamin deşarjının ortadan kalkması ve perifere salınan beyaz kürelerin yarı ömrünün çok kısa olması idi.

Literatürde daha önceden sigara kullanımının beyaz küre sayısı üzerine etkisi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Kronik sigara kullanımı periferik kanda lökositoya sebep olmaktadır. Kronik sigara kullanımının hangi mekanizmalarla lökosit sayısını arttırdığı tam olarak bilinmemekte ancak kronik hava yolu ve alveolar irritasyona bağılı olarak kemik iliğinden artmış beyaz küre yapımının (özellikle nötrofil) en önemli sebep olduğu düşünülmektedir (55,56). Sigara kullanım süresi arttıkça periferik kandaki beyaz küre sayısının da bu süre ile ilişkili olarak arttığı gösterilmiştir (57).

Bizim çalışmamızda da sigara içenlerdeki beyaz küre sayısı sigara içmeyenlere göre her üç ölçümde de daha yüksekti ve bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlıydı. Çalışmaya alınan gönüllülerde sigara kullanım süresi arttıkça beyaz küre sayısının da arttığı ancak aradaki bağlantının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Bunun sebebinin çalışmaya alınan sigara içen gönüllü sayısının az olması ve sigara kullanım miktarının bireyler arasında farklılık göstermesi olduğu düşünüldü.

Akut kan kaybını takiben kaybedilen kan miktarına göre değişmekle birlikte trombosit kaybı da olmaktadır. Bu kayıp 1ml kan için $150-450 \times 10^6$ adet trombosit

anlamına gelir. Kan bağışı yapan bir gönüllüde yaklaşık $67.5- 202.5 \times 10^9$ adet trombosit kaybedilmektedir. Kan kaybı sonrasında ilk dönemde katekolaminlerin etkisiyle dalakta göllenmiş halde bulunan trombositler periferik kana geçer. Daha sonraki dönemlerde trombopoietin, interlökin 6 ve diğer sitokinlerin etkisi ile kemik iliğinde megakaryositlerden trombosit yapımı artmaktadır. Kan kaybının derecesine göre değişmekle birlikte akut kan kaybı sonrasında reaktif trombositoz beklenmektedir (58).

Bizim çalışmamızda da kan bağışından sonra 6. saatte kan bağışı öncesine göre trombosit sayısında hafif azalma ve 24. saatte tekrar kan bağışı öncesindeki değerlere yükselme tespit edildi. İlk 6 saatteki azalma ve trombosit kaybı ve hemodilüsyonun etkisi, 24. saatteki hemodilüsyona rağmen gerçekleşen artışın ise kemik iliğinden artmış olan trombosit yapımı ve dalaktan periferik kana salınan depolanmış trombositlerin etkisine bağlı olduğu düşünüldü. Kan bağışı ile total kan volümünde yaklaşık %10 luk kayıp olduğu için ciddi düzeyde reaktif trombositozun gerçekleşmediği düşünüldü.

Literatürde kan kaybı ya da kan bağışı ile periferik kandaki HKH lerin sayısındaki değişikliği araştıran çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda kan kaybını takiben periferik kanda HKH'lerin hızlı bir şekilde arttığı ve 24. saatte tekrar kan bağışından önceki düzeylere düştüğü tespit edildi. Gill ve arkadaşları tarafından koroner arter bypass greftleme (KABG) operasyonu yapılan hastalarda operasyon sonrasında periferik kandaki CD34+ hücrelerin değişimini araştıran bir çalışma yapılmıştı. Bu çalışmada operasyondan sonra 6. saatte periferik kanda CD34+ hücrelerin maksimum konsantrasyonda olduğu, gerçekleşen bu pikten sonra hızlı bir şekilde CD34+ hücre sayısının azalmaya başlayarak operasyondan sonra 96. saatte preoperatif değerlere gerilediği tespit edilmişti. Yanık hastalarında ise yine yanığın geliştiği andan itibaren 6. saatte CD34+ hücre sayısının pik yaptığı ancak 336. saatte bile kontrol grubundaki hastaların periferik CD34+ hücre sayısının 2 katı düzeyde olduğu tespit edilmişti (7).

Leone ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise AMI ve kronik stabil anjina (KSA) gibi iskemik kalp sendromu olan hastalar çalışmaya alınmıştı. AMI olan hastalarda periferik CD34+ hücre sayısı, G-CSF ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi sitokinler en yüksek düzeydeyken KSA'lı hastalarda daha düşük kontrol grubunda ise en düşük konsantrasyonda bulunmuştu (59).

Bu çalışmalardan da anlaşılacağı gibi vücutta gerçekleşen herhangi bir doku hasarını takiben G-CSF ve VEGF gibi endojen sitokinlerin etkisi ile kemik iliğinde HKH mobilizasyonu olmaktadır. Oluşan hasarın şiddetli olduğu durumlarda HKH mobilizasyonu daha yoğun bir şekilde gerçekleşirken hasarın hafif olduğu durumlarda daha hafif bir HKH mobilizasyonu gerçekleşmektedir. Yanık gibi hasarın uzun süre devam ettiği durumlarda periferik HKH sayısı daha uzun süre normalden yüksek konsantrasyonda kalırken KABG gibi hasarın daha kısa süreli olduğu durumlarda HKH sayısı hızla azalmaktadır. Bizim çalışmamızda da kan bağıışı sonrasında 6. saatte CD34+ hücre sayısını kan bağıışı öncesine göre arttığı 24. saatte ise tekrar kan bağıışından önceki değerlere gerilediği tespit edilmiştir. Kan bağıışı ile gerçekleşen kan kaybının kısa süreli olması ve tekrarlayan doku hasarının bulunmaması nedeniyle periferik kandaki HKH artışı buna paralel olarak kısa süreli olmuştur.

Kajstura ve arkadaşları tarafından deneysel olarak AMI oluşturulan dişi farelere infraktüsten hemen sonra erkek farelerden alınan ve Y kromozomları rhodamin ile işaretlenmiş olan HKH'ler verilmişti. Farelere her seferinde 5×10^4 adet olacak şekilde 2 sefer HKH verilmiş ve AMI oluşumundan 10 gün sonra nakil yapılan farelerin kalbi otopside incelenmişti. Yapılan inceleme sonucunda her miyokard içinde yaklaşık 4.5 milyon adet kardiyomiyosit, koroner arteriyol ve kapiller yapıların oluşumuna katılmış işaretli hücre tespit edilmişti (60). Bu hücrelerin hasarlı bölgeye nasıl yerleştikleri tam olarak bilinmemektedir, ancak HKH'lerin hareketlerinin kemokinlerin az yoğun olduğu bölgeden daha yoğun olduğu bölgeye doğru olduğu bilinmektedir (2).

Gerek akut serebravasküler hastalık (61) gerekse AMI (62) sonrası G-CSF uygulamasıyla beyin ve kalpte meydana gelen irreversibl doku hasarı önlenmiş ve bu organlardaki fonksiyon kayıpları sınırlandırılmıştır. Kan bağıışı sonrasında periferik kanda artış gösteren CD34+ hücreler doku hasarı bulunan ve kemokin salınımına yol açan patolojiler varlığında hasarlı dokuya yerleşerek bu dokulardaki hasarın tamirinde görev almış olabilirler. Kan bağıışı sonucunda ortaya çıkan faydalı etkilerde periferik kanda artış gösteren HKH'lerinde rolü olabilir diye düşünüyoruz. Tekrarlayan kan bağıışlarıyla CD34+ hücrelerin yapmış olduğu doku onarımı ve rejenerasyonu daha da artacak böylece düzenli kan bağıışı yapanlarda kümülatif bir etki ortaya çıkacaktır. Bu konuyla ilgili yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Reichelt ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada sağlıklı bireylerde periferik kanda CD34+ hücre sayısının erkeklerde kadınlardan daha fazla olduğu tespit edilmişti. Erkeklerde CD34+ hücre sayısının kadınlardan daha fazla olmasının sebebinin anabolizan özellikte olan testosteron hormonunun fazla olması ve erkeklerde vücut yapısının daha büyük olmasının etkili olduğu düşünülmektedir (63). Bizim çalışmamızda kadın gönüllülerin periferik kandaki CD34+ hücre sayıları erkek gönüllülerden tüm ölçümlerde daha yüksekti ancak iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Daha önce yapılan çalışmalarla bizim çalışmamız arasında ortaya çıkan bu farklılığın nedenlerinin çalışmaya alınan gönüllü sayısının az olması, kadın ve erkek gruplarındaki kişi sayısının birbirinden farklı olması ve bireysel fizyolojik varyasyonların bulunması olduğu düşünüldü. Kadın erkek sayısının eşit olduğu ve daha fazla gönüllü ile yapılacak yeni çalışmalarla cinsiyetin CD34+ hücre sayısına etkisi daha iyi değerlendirilebilir.

Daha önce yapılan birçok çalışma ile sigara kullanımının periferik kandaki CD34+ hücre sayısını azalttığı gösterilmiştir (64,65). Sigaranın periferik kandaki CD34+ hücre sayısını nasıl azalttığı ile ilgili 2 hipotez vardır. İlki serbest oksijen radikallerinin artması sonucunda nitrik oksit biyoyararlanımının azalması ve kemik iliğinden HKH mobilizasyonunun buna paralel olarak azalması, ikinci hipotez ise sigara içmenin endotel disfonksiyonuna yol açması ve hasarlı dokuların endotel fonksiyonlarının devamı için CD34+ hücrelerin kullanılması hipotezidir (65). Ayrıca Kando ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmayla sigaranın periferik kandaki CD34+ hücre sayısını azaltıcı etkisinin geçici olduğu ve sigarayı bıraktıktan sonra hızlı bir şekilde CD34+ hücre sayısının arttığı gösterilmiştir. Yoğun sigara içicilerde hafif sigara içicilere göre periferik CD34+ hücre sayısının daha fazla azaldığı ve sigaranın bırakılmasıyla periferik CD34+ hücre sayısının daha geç yükseldiği gösterilmiştir (65).

Bizim çalışmamızda sigara içenlerde periferik kandaki CD34+ hücre sayısı kan bağıışı öncesi, kan bağıışından sonra 6. ve 24. saatlerde sigara içmeyenlere göre daha yüksekti. Literatürdeki çalışmalarla bizim çalışmamız arasındaki farklılığın nedenlerinin; her iki grupta bulunan gönüllü sayılarının birbirinden farklı olması ve sigara içenlerde hafif sigara içiciliğinin daha fazla olması olduğu düşünüldü. Ayrıca bireysel varyasyonlarında ortaya çıkan bu farklılıkta etkili olabileceği düşünüldü.

Günümüzde kan bağıışının tespit edilen birçok faydası vardır ancak ortaya çıkan bu faydalarda periferik kandaki kök hücre artışının rolünü araştıran çalışma

yapılmamıştır. Salonen ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada düzenli olarak kan bağışı yapan 2862 kişi 9 yıl boyunca takip edilmiş ve kan bağışı yapanlarda AMI ve AMI'e bağılı ölümlerin kan bağışı yapmayanlara göre anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmişti. Ortaya çıkan bu azalmanın sebeplerinin; total vücut demirinin azalması ve serum lipid düzeylerindeki değışiklikle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (3).

Fernandez ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise düzenli olarak kan bağışı yapan kişilerde insülin direncinin azalarak tip 2 DM gelişimi olasılığının azaldığı tespit edilmiş ve bunun nedeninin serbest oksijen radikallerinin azalması olduğu düşünölmüştür (49). Voltarelli ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise 15 adet Tip 1 DM hastasına otolog nonmyeloablatif hematopoietik kök hücre nakli yapılmış ve 14 hastanın beta hücre fonksiyonlarında artış olurken sadece bir hastanın beta hücre fonksiyonlarında iyileşme gözlenmemiştii (66).

Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda, kan bağışı sonrasında periferik kanda CD34+ kök hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış olduğu tespit edilmiştir. Periferik kanda artış gösteren kök hücrelerin kan bağışı sonucunda ortaya çıkan faydalı etkilerdeki rolünü araştırmak için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6.SONUÇLAR

1. Kan bağışı sonrasında 6. ve 24. saatlerde kademeli olarak hemoglobin ve hematokrit değerlerinde azalma olmaktadır.
2. Kan bağışı sonrasında 6. saatte beyaz küre değerinde artış olurken 24. saatte beyaz küre değeri tekrar azalarak kan bağışından önceki düzeylere gerilemektedir.
3. Sigara içenlerde beyaz küre sayısı içmeyenlere göre daha yüksek bulunmuştur.
4. Kan bağışı sonrasında periferik kandaki trombosit sayısında anlamlı değişiklik olmamaktadır.
5. Kan bağışı sonrasında 6. saatte periferik kandaki CD34+ hücre sayısı artarken 24. saatte tekrar azalarak kan bağışından önceki düzeylere gerilemektedir.
6. Periferik kandaki CD34+ hücre sayısı açısından kadın ve erkekler arasında fark bulunmamaktadır.
7. Sigara içenlerde ve içmeyenlerde periferik kandaki CD34+ hücre sayısı açısından fark bulunmamaktadır.
8. Kan kaybı miktarı ve periferik kandaki CD34+ hücre sayısı artışı arasında ilişki bulunmamaktadır.

7.KAYNAKLAR

1. Le Blanc K & Ringden O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med*, 2007; 262: 509– 525.
2. Brooke G, Cook M, Blair C. et al. Therapeutic application of mesenchymal stromal cells. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2007;18: 846–858.
3. Salonen JT, Tuomainen TP, Salonen R, Lakka TA, Nyysönen K. Donation of blood is associated with reduced risk of myocardial infarction. *Am J Epidemiol*, 1998; 148:445-451
4. Zheng H, Cable R, Spencer B, Votto N, Katz SD. Iron Stores and Vascular Function in Voluntary Blood Donors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005; 25:1577-1583
5. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S. et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of the America*, 2001; 98: 10344-10349
6. Ince H, Petzsch , Kleine HD. et al. Evolving Acute Myocardial Infarction by Granulocyte Colony-Stimulating Results of the Front-Integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Colony-Stimulating Factor After Acute Myocardial Infarction: Final 1-year Prevention of Left Ventricular Remodeling With Granulocyte Factor (FIRSTLINE-AMI) Trial. *Circulation*, 2005; 112: 73-80
7. Gill M, Dias S, Hattori K. et al. Vascular Trauma Induces Rapid but Transient Mobilization of VEGFR2+ AC133+ Endothelial Precursor Cells. *Circ. Res.* 2001; 88: 167-174
8. Anthony S. Fauci, Eugene Braunwald, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson, and Joseph Loscalzo (eds). *Harrison's*

Principles of Internal Medicine, 17th Edition. The McGraw-Hill companies, 2008; (pp. 379).

9. Verfaillie CM, Pera MF, Lansdorp PM. Stem cells hype and reality. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2002; p:369-391.
10. Herzog EL, Chai L, Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. Blood, 2003; 102:3483-3493.
11. Martin-Rendon E, Watt SM. Stem cell plasticity. Br J Haematol, 2003; 122:877-891.
12. Patapoutian A, Wold BJ, Wagner RA. Evidence for developmentally programmed transdifferentiation in Mouse esophageal muscle. Science, 1995; 270:1818-1821.
13. Campbell KH, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. Nature 1996; 380:64-66.
14. Mimeault M, Batra SK. Concise Review: Recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapies. Stem Cells, 2006; 24:2319-2345.
15. Karaöz E, Ovalı E. Kök hücreler. Celepler Matbaası, Trabzon, 2004; p:17-63.
16. Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. The evolving concept of a stem cell: Entity or function. Cell, 2001; 105:829-841.
17. Fuchs E, Tumber T, Guasch G. Socializing with the neighbors: Stem cells and their niche. Cell, 2004; 116:769-778.
18. Jacobsen LO, Marks EK, Gaston EO, Zirkle RE. Effect of spleen protection on mortality following X-irradiation. J Lab Clin Med, 1949; 34:1538-1543.
19. Lorenz E, Uphoff ED, Reid TR, Shelton E. Modification of acute irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injection. Radiology, 1951; 58:863-877.
20. Murphy MJ, Wilson A, Trumpp A. More than just proliferation: Myc function in stem cells. Trends Cell Biol, 2005; 15:128-137.

21. Civin CI, Strauss LC, Fackler MJ, Trischnamm TM, Wiley JM, Loken MR. Positive stem cell selection-basic science. *Progress in Clinical Biological Research*, 1990; 333:387-401
22. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 2002; 418:41-49.
23. Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B, Koodie L, Marker PH, Verfaillie CM. Origin of endothelial progenitors in human post-natal bone marrow. *J Clin Invest*, 2002; 109:337-346.
24. Pittinger MF, Mackay AM, Beck SC et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal cells. *Science*, 1999; 284:143-147.
25. Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, et al. Muscle regeneration by bone marrow derived myogenic progenitors. *Science*, 1998; 279:1528.
26. Mezey E, Chandross K, Harta G, et al. Turning blood in brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. *Science*, 2000; 290:1779.
27. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med*, 2000; 11:1229-1234.
28. Krause DS, Theise ND, Collector MI et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*, 2001; 105:369-377.
29. Jackson KA, Majka SM, Wang H et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest*, 2001; 107:1395-1402.
30. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*, 2002; 106:1913-1918.
31. Vina RF, J, Vrsalovick F, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary stems cells implant. *Source for Interventional Cardiovascular News and Education*, Accessed January 2004.

32. Vina RF, Saslavsky J, Vrsalovick F, et al. Trans (coronary) LIMA implantation of stems cells in chronic coronary disease. Source for Interventional Cardiovascular News and Education, Accessed September 2003.
33. Vina RF, Saslavsky J, Vrsalovick F, et al. Angiogenesis: trans (coronary) venous implantation of stems cells in chronic coronary disease. Source for Interventional Cardiovascular News and Education, Accessed May 2003.
34. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation*, 2003; 107:2294-2302.
35. Tse HF, Kwong YL, Chan JK, et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet*, 2003; 361:47-49.
36. Patel AN, Geffner L, Vina R, et al. Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem cell transplantation: a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005; 130:1631-1638.
37. Benetti F, Vina RF, Patel AN, et al. OPCABG plus simultaneous autologous stem cells implants. Source for Interventional Cardiovascular News and Education, Accessed June 2003.
38. Perin EC, Lopez J. Methods of stem cell delivery in cardiac diseases. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2006; 3: 110-113.
39. Lee GOLDMAN, Dennis AUSIELLO (eds). *Cecil Medicine 23rd edition*. Elsevier & Saunders. 2008; (pp: 249-251)
40. Beare A, Stockinger H, Zola H, Nicholson I. The CD System of Leukocyte Surface Molecules. *Curr. Protoc. Immunol*, February 2008; 80:73-91.
41. Deniz G. Flow sitometrik tekniklerin klinik kullanımı. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci*, 2007; 3: 73-80.
42. Villas BH. Flow cytometry: an overview. *Cell Vis*, 1998; 5: 56-61.
43. Rahman M. *Introduction to flow cytometry*. Serotec Ltd. Oxford (UK): Published by Serotec Ltd; 2006.

44. Rose AS, Knox KS. Bronchoalveolar lavage as a research tool. *Semin Respir Crit Care Med*, 2007; 28: 561-573.
45. Matteucci E, Giampietro O. Flow cytometry study of leukocyte function: analytical comparison of methods and their applicability to clinical research. *Curr Med Chem*, 2008; 15: 596-603.
46. Peterson RA, Krull DL, Butler L. Applications of laser scanning cytometry in immunohistochemistry and routine histopathology. *Toxicol Pathol*, 2008; 36: 117-132.
47. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood*, 2008; 111: 3941-3967.
48. Fornas O, Garcia J, Petriz J. Flow cytometry counting of CD34+ cells in whole blood. *Nature Medicine*, 2000; 6: 833-836.
49. Fernandez-Real JM, Lopez-Bermejo A, Ricart W. Iron Stores, Blood Donation, and Insulin Sensitivity and Secretion. *Clinical Chemistry*, 2005; 51: 7 1201–1205
50. Fernandez-Real JM, Penarroja G, Castro A, Garcia-Bragado F, Hernandez I, Ricart W. Blood letting in high-ferritin type 2 diabetes mellitus. Effects on insulin sensitivity and β -cell function. *Diabetes*, 2002; 51: 1000–1004.
51. Fernandez-Real JM, Lopez-Bermejo A, Ricart W. Cross-talk between iron metabolism and diabetes. *Diabetes*, 2002; 51: 2348–2354.
52. Anthony S. Fauci, Eugene Braunwald, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson, and Joseph Loscalzo (eds). *Harrison's Principles of Internal Medicine Practice Answers on Demand*, 17th Edition. The McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2008, (pp. 4).
53. Yurtseven N, Toraman F, Yardı ÖF. Kan Volümünün Hesaplanmasında Kullanılan Yöntemlerin Radyoaktif Krom 51 Yöntemine Göre Hassasiyetlerinin Karşılaştırılması. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 2003; 11:101-104.
54. Lichtman M, Beutler E, Kaushansky K, Kipps T, Seligsohn U, Prchal J. (eds). *Williams Hematology*, Seventh Edition. The McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2006, (pp. 913-914).

55. Robert C. Noble, Barbara B. Penny. Comparison of Leukocyte Count and Function in Smoking and Nonsmoking Young-Men. *Infection and Immunity* 1975; p: 550-555.
56. van Eeden SF, Hogg JC. The response of human bone marrow to chronic cigarette smoking. *Eur Respir J*, 2000; 15: 915-921.
57. Carel RS, Tockman MS, Baser M. Smoking, leukocyte count, and ventilatory lung function in working men. *Chest*, 1988; 93:1137-1143.
58. Schafer AI. Thrombocytosis. *N Engl J Med*, 2004; 350:1211-1219.
59. Leone AM, Rutella S, Bonanno G et al. Endogenous G-CSF and CD34+ cell mobilization after acute myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2006 Aug 10; 111: 202-208.
60. Kajstura J, Rota M, Whang B. et al. Bone Marrow Cells Differentiate in Cardiac Cell Lineages After Infarction Independently of Cell Fusion. *Circ. Res*. 2005; 96:127-137.
61. Shyu WC, Lin SZ, Lee CC, Liu DD, Li H. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *CMAJ*. 2006 Mar 28;174:927-933.
62. Harada M, Qin Y, Takano H et al. G-CSF prevents cardiac remodeling after myocardial infarction by activating the Jak-Stat pathway in cardiomyocytes. *Nat Med*. 2005 Mar;11:305-311.
63. Reichelt H, Barz D, Thude H. CD34+ and CD133+ Primitive Stem Cell Expression in Peripheral Blood: Considering Gender, Age and Smoking. *Transfus Med Hemother* 2009; 36:129-134.
64. Ludwig A, Jochmann N, Kertesz A. et al. Smoking decreases the level of circulation CD34+ progenitor cells in young healthy women- a pilot study. *BMC Women's Health* 2010; 10:20-29
65. Kondo T, Hayashi M, Takeshita K. et al. Smoking Cessation Rapidly Increases Circulating Progenitor Cells in Peripheral Blood in Chronic Smokers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004; 24:1442-1447.

- 66.** Voltarelli JC, Couri CE, Stracieri AB. et al. Autologous Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Newly Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus. *JAMA*. 2007;297:1568-1576.

TC.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Haluk MUMCUOĞLU'na ait "KAN BAĞIŞI YAPANLARDA, KAN VERME İŞLEMİNDEN SONRA PERİFERİK KANDA KÖK HÜCRE SAYISINDAKİ DEĞİŞİMİN ARAŞTIRILMASI" adlı çalışma, jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : 10/05/2011

İmza :



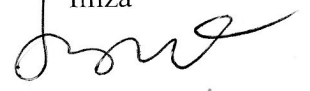
Başkan Prof. Dr. Ali ÜNAL

İmza



Üye Prof. Dr. Bülent TOKGÖZ

İmza



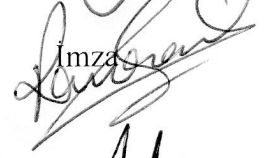
Üye Doç. Dr. Bülent ESER

İmza



Üye Yrd. Doç. Dr. Ramazan COŞKUN

İmza



Üye Yrd. Doç. Dr. Alper YURCI

İmza

