

Kanın düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmesi

Selâhaddin ANIK¹⁾

1 — Genel

Biyolojik malzemenin uzun süre muhafaza edilmesi, hastaların tedavisindeki hücresel doku naklinde büyük bir önem taşır. Böyle bir muhafaza, gerekli hücrelerin terapatik miktarda her zaman ve geniş ölçüde mevcudiyeti için şarttır.

Bu usulün en fazla bilinen uygulaması, zor operasyonlarda veya kazalarda, hastalara yapılan kan naklidir. Bağış yoluyla toplanan kanlarda, kan vericinin sebep olduğu hepatitin bulaşma tehlikesini azaltmak maksadıyla, bilhassa uzun süreli konservasyon arzu edilir. Günümüzde büyük operasyonlardan önce, uzun bekleme süreleri nedeniyle, hasta ameliyatta kullanılacak kanı önceden bizzat kendisi verebilir.

2 — Alışlagelmiş usullerle kanın muhafaza edilmesi

İnsan vücudundaki kanın görevi, canlı organizma için lüzumlu maddeleri naklederek dağıtmak ve atılan maddeleri de toplayarak geri getirmektir. Yani canlı organizmadaki bir nevi madde değiş tokuşunu sağlayarak bunların naklini yapmaktır.

Bu kısa açıklama, kanın bileşiminin çok karışık olduğunu bize gösterir. Kanın bileşiminde bulunan her ayrı maddenin çeşitli fonksiyonları vardır. Bunlardan en önemlisi ve bilhassa kansızlık (anemi) çeken hastaların ihtiyaç duydukları alyuvarlardır (eritrositler). Fonksiyonların çoğu bunlar tarafından ifa edilir. Bu alyuvarlar, çapları takriben 8,5 μ m olan bikonkav pulcuklar halindedir. 64 %'ünü H₂O ve 33 %'ünü de hemoglobin meydana getirir. Hemoglobinin ana görevi O₂ ve CO₂'ı nakletmektir. Kandaki alyuvarlar erkek ve kadında ufak bir farklılık göstermesine rağmen, insanlarda takriben 5 milyon/mm³ dür.

Kanın muhafazasında pıhtılaşmanın önüne geçmek gerekir. Ayrıca hücrelerin canlı olarak kalabilmeleri için de, alyuvarların madde alış

1) Prof., İ.T.Ü. Maktına Fakültesi

verişinin devam etmesi lâzımdır. Bunun için, konservasyonda kullanılan stabilizatör sıvı, bu iki fonksiyonu birden yerine getirmelidir. Kanın depolanmasında en iyi eriyik olarak, limon asiti - dekstroz eriyiği (ACD) tavsiye edilir. Burada, sitrat (limon asiti) kanın pıhtılaşmasını önleyen bir maddedir. Dekstrozun görevi de, alyuvarların madde alış verişini devam ettirmektir. İtina ile hazırlanarak sterilize edilmiş olan bu eriyik kan ile takriben 1 : 5 oranında karıştırılır. Kan, kan grubu tam olarak tespit edilen sağlıklı bağışçılardan, müsamahasız septik şartlar altında alınır. Kan konserveleri takriben + 4 °C de saklanırlar. Çalkalanması veya karıştırılıp köpüklendirilmesi yasaktır. Doğru olarak yapılan bir kan muhafazasında, sedimentasyona uğramış alyuvarların üzerinde, kesin bir hatla ayrılmış sarı renkli plazma görülür. Alyuvarlar ile plazma arasındaki sınır bölgede kırmızı renkli bir hemoliz şeridi mevcut ise, bu kan konserveleri kullanılmaz. Hazırlanan kan konserveleri en fazla dört hafta dayanabilir ve mümkün merteye 14 gün içerisinde kullanılmalıdır. Kan, yalnız aynı kan grubunda olan hastalara nakledilir. Bu şekilde depolanan kan, dayanma süresi hariç, birçok yönden tatminkardır.

Kan konservelerinin daha uzun müddet kullanılabilir şekilde tutulmasının birçok yararları vardır. Şöyleki:

- a — Akut lüzumlu hallerde daha iyi cevap verir.
- b — Sağlıklı kan basınçlarının gün geçtikçe azaldığı düşünülürse, bağış kanlardan çok daha ekonomik bir şekilde istifade edilebilir.
- c — Nadir olan kan çeşitleri uzun müddet bir kan bankasında depolanabilir.
- d — Medeniyetten uzak ücra köşelerde dahi yeter miktarda kan konservesi bulundurulabilir.
- e — Otolog bağışlar mümkün olur.

3 — Alyuvar konsantrelerinin (hülâsalarının) düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmesi

Meselâ, yiyecekler gibi diğer organik maddelere uygulanan dondurma usulünün, kan ve onu teşkil eden maddelerine de tatbik edilmesiyle, bunların uzun süre muhafazasına yaklaşılmış olur. Fakat bu arada, birçok biyolojik malzemenin dondurulmasında, eğer kendi tabii ortamların-

da bırakılırsa, korpusküler bileşenlerin tamamen tahrip olduğu tespit edilmiştir. Bundan dolayı dondurma esnasında büyük buz kristallerinin oluşmasını ve atmosferik zorlamaları önleyen ve böylece hücelere zarar gelmemesini sağlayan, koruyucu kimyasal substansların kullanılması gereklidir. En çok kullanılan dondurma koruyucu maddeleri: Gliserin, dimetil - sülfoksit (DMSO), polivinil pirrolidon, hidroksiletil nişastası (HĀS), glikoz, laktoz, glikol ve türevleridir.

Kullanılan koruyucu madde konsantrasyonu ve dondurma hızı, esas parametreler olarak alınırsa, alyuvarlar için birbirinden tamamen ayrı iki dondurma - konserve usulü ortaya çıkar.

a — Yüksek koruyucu madde konsantrasyonunda yavaş dondurma (10°/dak.'nın altında).

Plazmanın büyük bir kısmından ayrılarak serbest hale getirilen kan, dondurma koruyucusu maddesi (gliserin veya DMSO) ile 30 % il 50 % nispetinde karıştırılıp saatlerce takriben — 80° C 'ye kadar soğutulur. Burada kullanılan soğutucu kaplar, kompresyon soğutma makinaları ile techiz edilmiştir. Bundan sonraki depolamada yine — 80 °C'de yapılır.

Bu şekilde dondurulan ve tekrar çözülerek kullanılan alyuvarlar iyi bir terapatik kalitededir ve canlı kalan hücrelerde 85 % civarındadır. Uzun depolama syresi ile alyuvarların yaşama kabiliyeti (canlılığı) konversiyonel ACD - konservelerindekinin altına düşer.

Alyuvarların yavaş dondurma ile konservelenmesi, yüksek bir cihaz kullanmaya ihtiyaç göstermediği ve yüksek bir teknolojiye de dayanmadığı için çok yaygındır. Bununla beraber, hücrelerin azalan hayat sürelerinden başka, yetersiz olan bir nokta da, büyük işlem isteyen çok kademeli yıkama prosesidir. Kan nakli esnasında mikrosirküler arızalar husule geldiği için, koruyucu maddenin, ölü hücrelerin ve serbest hemoglobinin kandan alınması lâzımdır.

b — Alçok koruyucu madde konsantrasyonunda hızlı dondurma (20°/dak'nın üzerinde)

20 % 'nin altındaki koruyucu madde ile karıştırılan alyuvarlar, steril şartlarda bir soğutma kabına doldurulur ve sıvı azot yardımıyla dondurulur. Soğutma kapları genellikle, yüksek kaliteli (alaşım) çelik veya alüminyum silindirik kutuplar veyahut da özel plastik malzemeden yapılmış kap veya torbalar şeklindedir. İyi ve eşit bir ısı iletimi için kap

cidar kalınlıklarının gayet ince, yüzey/hacim oranının ise büyük olması gerekir.

Dondurma işlemi, soğutma hızının ayarlanması veya ayarlanmaması halinde gerçekleştirilir. En basit şekliyle kan kabı bir LN_2 - Banyosuna daldırılır. Kullanılan kabın büyüklüğüne ve şekline bağlı olarak, alyuvarların sıvı azotun sıcaklığını alması ($-196^\circ C$) bir kaç dakika sürer. Bu usul ile hücrelerin canlılığı 90 % 'nin üzerinde gerçekleştirilir.

Alyuvar konservelerinin depolanması doğrudan doğruya sıvı azot içerisinde veya bunun daha üzerinde bulunan N_2 - soğukgaz - atmosferinde yapılır. Depolama sıcaklığı $-110^\circ C$ 'nin üstüne çıkmamalıdır. Gerekli depolama şartlarının yerine getirilmesi halinde, dondurma işleminin sağ çıkan alyuvarların muhafaza edilebilme süreleri pratikman sonsuzdur.

Yiyecek maddelerinin dondurulmasında olduğu gibi, biyolojik maddelerin dondurulmasında da sıvı azot (LN_2) ideal bir soğutucu olarak kendini kabul ettirmiştir. Renksiz, kokusuz ve tatsız olduğu gibi, toksik de değildir ve normal şartlar altında soy bir gaz gibidir. Bunun için, dondurulacak maddelere herhangi zararlı bir tesiri olacağından korkulmamalıdır.

Sıvı azot banyosuna daldırma, depolama ve taşıma, cryobiyojik bir kaç içerisinde gerçekleştirilir. Bu kap çift cidarlı olup, paslanmaz çelikten imal edilmiştir. Cidarlar arasındaki hacim çok katlı bir izolasyon maddesi ile doldurulmuştur ve yüksek bir vakum altındadır. Bir adsorpsiyon maddesi ile çalışma sıcaklığındaki termik izolasyon kalitesi daha da mükemmelleştirilmiştir. Dondurulacak preparatlar askılı özel kapların içerisine yerleştirilir ve bu sıvı azot banyosuna daldırılır. Kullanıldıktan sonra kabın hemen kapanması gerekir. Bu iş için kullanılan sun'i maddeden (plastikten) yapılmış bir tıpa, sıvı azotun buharlaşma kaybını minimumda tutar (meselâ, 40 litre hacimli bir kaptan, 24 saat içerisinde takriben 0,75 litre sıvı azot buharlaşır).

Çok yerde pratik bir kullanma alanı bulan bu usulün halen iki zayıf noktası vardır. Bunlardan birincisi çok pahalı dondurma kaplarına ihtiyaç göstermesi, ikincisi de kan konservesinin çözüldükten sonra yıkanmadan kullanılamayıdır.

M. W. Scheiwe ve H. Chmiel⁽¹⁾ in yeni çalışmaları, alyuvarların konservelenmesini mümkün olduğu kadar otomatikleştirmeyi, ucuz olarak

(1) M. W. Scheiwe, H. Chmiel
«Bedeutung, derzeitiger Stand und auftretende Probleme teilautofatisierter Verfahren zur Tiefkühlkonservierung biologischer Materialien»
Chemie - Ing. - Techn. MS 225/75.

elde etmeyi ve hücrelerin çözüldükten hemen sonra nakledilmesini ele almıştır. Bu usulde, bilhassa yiyecek maddeler endüstrisindeki ambalajla mada sık sık kullanılan hortum torba makinelerinkine benzer şekilde; bir makaradan sürekli olarak folye şekilmekte, torba haline getirilmekte ve sterilize edildikten sonra, bunların içerisine otomatik olarak daha önce hazırlanan alyuvar - koruyucu madde karışımı doldurulmaktadır. Yapılan incelemeler, uygun sun'i maddeden yapılan özel kan torbalarının, bu sistem için kullanılabileceğini kanıtlamıştır. Diğer taraftan bu ambalaj tipi, şimdiye kadar kullanılan kaplara nazaran çok daha ucuzdur.

Bu yeni usulde gerçekleştirilen bir başka üstünlük de, donma ve çözülmeyen sonra alyuvar hülâsasının yaşama nispetinin (veya canlılığını muhafaza etme oranının) en azından 98% olmasıdır. Böyle bir kalitede (98%), serbest hemoglobin ve ölü hücrelerin kandan uzaklaştırılmalarına lüzum yoktur. Bu da, ancak soğutma hızının ayarlanması ile sağlanmaktadır. Yapılan deneyler, normal sıvı azot banyosuna daldırma da olduğundan daha yüksek soğutma hızlarının gerekli bulunduğu ve sıcaklık - zaman fonksiyonunun da belirli sınırlar içerisinde tutulmasının icap ettiğini göstermiştir.

Böylelikle yıkama işlemini ortadan kaldıran birinci şart yerine getirilmektedir. Ayrıca, kullanılan dondurma koruyucu maddesinin de, insan organlarıncı tahamül edilebilir olması gerekir. Hidroksiletıl nişastası (HÄS) bu şartı gerçekleştirmektedir. Scheiwe ve Chmiel dondurma koruyucu maddesi olarak HÄS ile fizyolojik yemek tuzu karışımını ve iki alüminyum plâkanın arasına yerleştirilmiş bir sun'i madde (plastik) torbayı sandviç paketleme şeklinde kullanmıştır. Dondurma işlemi, sıvı azotun (LN₂) püskürtülmesiyle sağlanmakta ve sıcaklık düşüşü de manyetik bir ventil ile ayarlanmaktadır. Bu usulle dondurulan 200 ml'lik kanda, 98,7% gibi yüksek bir yaşama oranı elde edilmiştir.

İdeal bir kan nakli için şart olan alyuvar konservelemesinin yanında, diğer kan hücre fonksiyonlarının konservelemesi de önem kazanmaktadır. Meselâ, konsantre lökositlerin (akyuvarların) katılması enfeksiyonu önleyici bir rol oynar. Trombositlerin nakli, trombositopenili hastalarda cerrahî müdahaleyi mümkün kılmaktadır (Trombositin azlığı dolayısıyla pıhtılaşma sistemi bozulmaktadır).

Zamanımızda diğer kan bileşenlerinin sıvı azot ile düşük sıcaklıkta konservelenme usulleri üzerinde çalışılmaktadır. LN₂- kan konservelemesi konusunda yapılan araştırmalar halen devam etmektedir. Meselâ. pratik olarak gerçekleştirilmesi, bugün Batı Almanya'da henüz başlangıç noktasındadır. Kanın düşük sıcaklıkta konservelenmesi, halen bilinen şekilde yapılandan muhakkak ki daha pahalı olmaktadır (Batı Almanya'da litrede takriben 50 ilâ 100. — DM. daha pahalı). Bununla beraber sınırsız kullanılabilme imkânı bakımından genel arzu, LN₂- Usulünün daha da yaygınlaşması yolundadır.

Gün geçtikçe azalan kan bağışları konusundaki yazılar, nadir bulunan kan grupları için yapılan radyo çağıruları herkesçe bilinen bir gerçektir. Bundan da, bu hayat suyunun bir ev eşyası gibi, pratik ve kolay kullanılmasının ne kadar önemli olduğu anlaşılmaktadır.