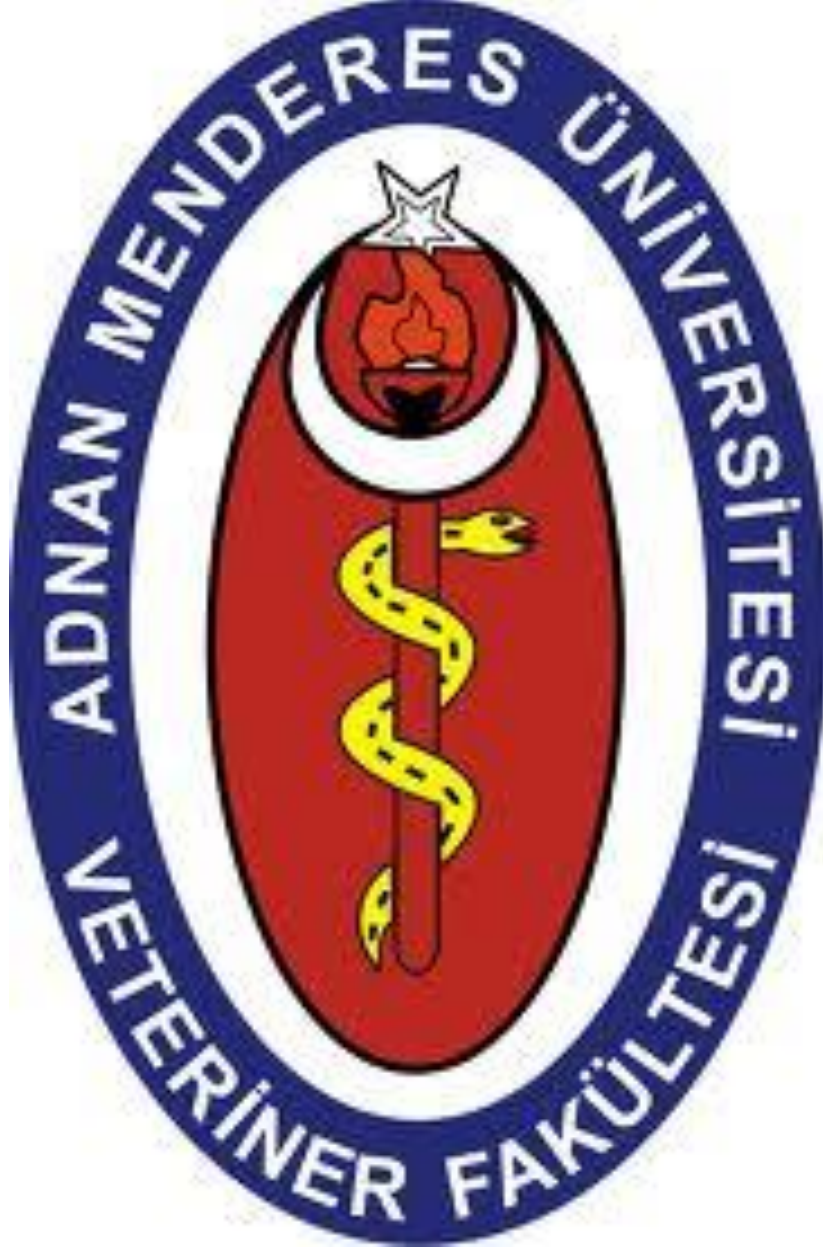


**VET-108**  
FİZYOLOJİ I DERSİ  
UYGULAMA KİTAPÇIĞI



2021

**Uygulamanın adı:** Fizyolojiye giriş, uygulamada kullanılan araç ve gereçlerin tanıtılması, laboratuvar kullanımıyla ilgili genel bilgiler ve biyogüvenlik uygulamaları

**Yapılacağı hafta:** 1

**Uygulamanın temel hedefi:** Laboratuvarda uyulması gereken kurallar, biyogüvenlik uygulamaları, laboratuvarda kullanılacak ders materyalinin tanıtımı, kan alma yöntemleri ve tekniklerinin öğrenilmesi.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:** MP30 cihazı, PhysioEx 8.0 programı ve diğer laboratuvar malzemeleri.

## **UYGULAMA BİLGİSİ:**

### **1- MP30 ve PhysioEx 8.0 programı**

Özellikle öğrenci uygulamaları için geliştirilmiş olan laboratuvar simülasyon programlarıdır. Bu programlar, deney hayvanına ya da deney yapılacak olan canlıya zarar vermeden kontrollü bir şekilde fizyolojik mekanizmanın açıklanmasına yönelik geliştirilmiş programlardır. Ayrıca deney düzeneğinin hazırlanması ve uygulaması zor olan bir takım mekanizmaları gerçeğe yakın olarak simülasyonunu sağlayıp, geri yönelik olarak ya da rahatça deneyin tekrarını sağlayarak mekanizmanın daha kolay öğrenilmesini de amaçlamaktadır.

### **2- Kan sayımında kullanılan araç ve gereçler ve temizliği**

#### **Sayım Lamları:**

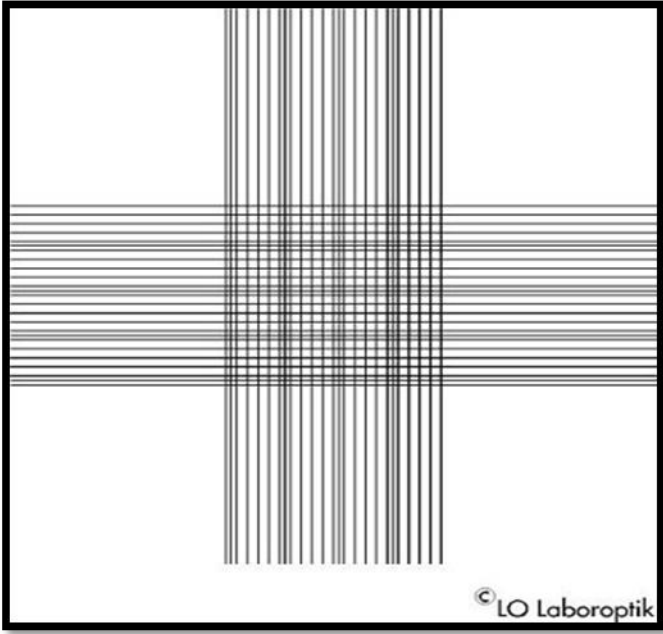
Üzerine özel araçlarla küçük kareler çizilmiş kalın lamlardır. Üstten lamel kapatılınca alt kesimde bir boşluk oluşması nedeniyle sayma kamerası da denir. Birçok modelleri vardır. Tümü Thoma-Zeiss'in kurmuş olduğu esasa dayanır. Sadece, üzerlerindeki gridler (bölüntüler) farklıdır. *Thoma, Türk, Berker, Neubauer, Zappert, Elzholz, Speirs-Levy, Levy-Hausser, Spencer, Brandt, Fusch-Rosental* gibi çeşitleri varsa da laboratuvarlarda genellikle Thoma ve Neubauer sayma lamları kullanılır.

#### **Thoma Lamı:**

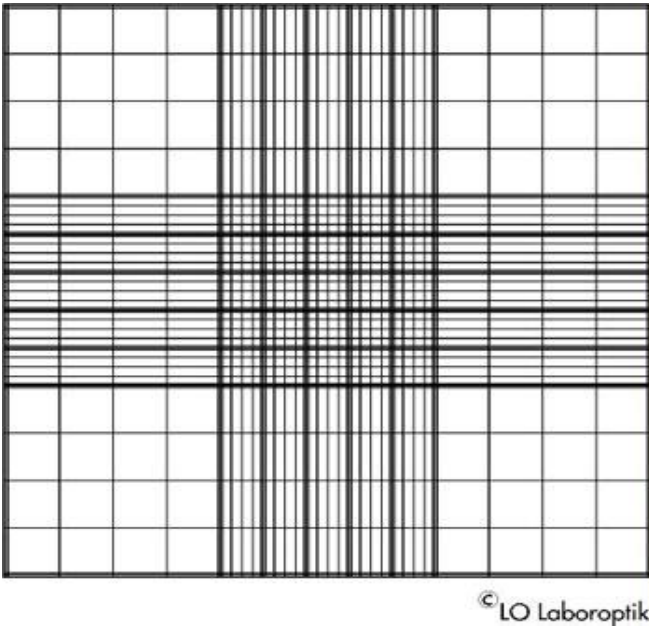
Üzerinde dört olukla ayrılmış üç çıkıntı vardır. Bu çıkıntılardan ortada bulunan, iki yandakinden 0.1 mm daha derindedir. Bu bölüm üzerinde özel olarak çizilmiş küçük kareler bulunur. Ortada bulunan büyük karenin alanı  $1 \text{ mm}^2$ 'dir ve sayım burada yapılır. Bu karenin kenarları 20 eşit parçaya bölünmüş ve 400 küçük kare meydana getirilmiştir. Bu karelerin bir kenarı  $1/20 \text{ mm}$  ve alanı  $1/400 \text{ mm}^2$ 'dir. Üzerine lamel kapatıldığında yüksekliği 0.1 mm olduğundan bir küçük kare prizmanın hacmi  $1/4000 \text{ mm}^3$  olmaktadır. Ayrıca 1, 6, 11 ve 16. çizgiler çift çizilerek içlerinde 16 küçük kare bulunan orta büyüklükteki 16 kareye ayrılmıştır.

#### **Neubauer Lamı:**

Ortada Thoma lamına benzer üçer çizgi ile ayrılmış 25 adet orta kare bulunur. Üç çizgili kareler hariç bu bölümde 400 küçük kare yer almıştır. Orta karenin kenarlarında 16 orta kareden oluşan kenarları 1 mm olan 4 büyük kare bulunmaktadır. Sayım lamının hem alt hem de üstünde iki adet sayım bölgesi bulunmaktadır. Orta alanda alyuvar sayımı, kenarlardaki karelerdeyse akyuvar sayımı yapılır. Sayım her iki alanda yapılarak ortalaması alınır.



Şekil 1: Thoma lamının küçük büyültme ile mikroskoptaki görüntüsü



Şekil 2: Neubauer lamının küçük büyültme ile mikroskoptaki görüntüsü.

### **Sulandırma Pipetleri:**

Kanın sulandırılması ve karıştırılmasında kullanılır. Bu nedenle karıştırma pipeti adını da alırlar. Bir sulandırma pipeti; cam bölüm, lastik boru ve ağızlık olmak üzere üç parçadan oluşur. Cam bölüm kapillar ve balon olmak üzere iki kısımdan ibarettir.

### **Alyuvar Sulandırma Pipeti:**

Kapillar kısmın hacmi, balonun yüzde biri kadardır. Kapiller kesim on eşit parçaya ayrılarak ortasında 0.5, üst kısmına 1 sayısı, balonun üst kesimine ise 101 sayısı işaretlenmiş olup balon kısmında karıştırmayı sağlamak üzere kırmızı bir boncuk taşır.

### **Akyuvar Sulandırma Pipeti:**

Kapiller kesimin hacmi, balonun onda biridir. Kapiller kesim üzerinde 0.5 ve 1, balonun üst kesiminde ise 11 sayısı işaretlenmiş olup yine karıştırma işlemine yardımcı olmak üzere beyaz bir boncuk taşır.



Şekil 3: Alyuvar ve akyuvar sulandırma pipetleri.

### **Sulandırma Eriyikleri:**

Sulandırma eriyikleri sayımı kolaylaştırmak, sayım alanını boşaltmak için, sayımı yapılacak hücreler dışındaki hücreleri yok etmek amacıyla kullanılır. Aynı zamanda bu eriyik sayımı istenen kan hücrelerine zarar vermemeli ve normal biçimlerini bozmamalıdır. Bu amaca yönelik olarak hazırlanmış, kan sayımlarında kullanılan çeşitli eriyiklerin bileşimleri aşağıda verilmiştir.

### **Alyuvar Sayımında Kullanılan Eriyikler:**

Basit olarak % 0.85- 0.90 oranındaki fizyolojik tuzlu su bu amaç için yeterliyse de laboratuarlarda en çok kullanılan aşağıda bileşimi verilen Hayem Eriyiğidir.

#### **Hayem Eriyiği**

|               |            |
|---------------|------------|
| Sodyum Sülfat | : 2.0 gr   |
| Civa Klorür   | : 0.5 gr   |
| Sodyum Klorür | : 1.0 gr   |
| Saf Su        | : 200.0 ml |

### **Akyuvar Sayımında Kullanılan Eriyikler:**

Günümüzde en çok kullanılan, bileşimi aşağıda verilen Türk Eriyiğidir. Bu eriyikte, asetik asit alyuvarları parçalar, jansiyan menekşesi akyuvarların çekirdeklerini boyayarak onları belirgin bir duruma getirir. Hayem, Türk ve diğer bazı eriyikler içerisinde uzun bir süre sonra mantar oluştuğundan sayımı güçleştirir. Böyle eriyikler ancak süzgeç kâğıdında süzildükten sonra kullanılabilir.

#### **Türk Eriyiği**

|                                            |          |
|--------------------------------------------|----------|
| Buzlu Asetik Asit                          | : 2.0 ml |
| Jansiyan Menekşesi (suda % 1' lik eriyiği) | : 2.0 ml |
| Saf su                                     | : 200 ml |

### **Trombosit Sayımında Kullanılan Eriyikler:**

Trombositlerin biçimlerinin düzensiz oluşu, yapışma (adhezyon; adhesion), küme yapma (agregasyon; aggregation), ve çökme (aglutinasyon; agglutination) gibi özellikleri nedeniyle incelenmeleri güçtür. Bu yüzden, trombosit sayımında kullanılmak üzere direkt ve indirekt birçok yöntem ve değişik eriyikler önerilmiş fakat her duruma elverişli kusursuz bir yöntem bulunamamıştır. Bu eriyiklerden iki tanesinin bileşimi aşağıda verilmiştir.

#### **Rees-Ecker Eriyiği**

|                         |           |
|-------------------------|-----------|
| Sodyum Sitrat           | : 0.80 g  |
| Nötral Formaldehit % 38 | : 0.22 ml |
| Parlak Kresil Mavisi    | : 0.05 g  |
| Saf Su                  | : 100 m   |

#### **AnkaraEriyiği**

|                 |                       |
|-----------------|-----------------------|
| Propilen Glikol | : 50 ml               |
| Saf Su          | : 40 ml               |
| Malahit Yeşili  | : 2 ml                |
| Sodyum Karbonat | : Sudaki %1 çözeltisi |

Ankara Eriyiği, hücrelerin normal biçimlerini korur ve küme yapmalarına engel olur. Alyuvarları görünmez ve ışığı yansıtmaz duruma getiren bu eriyikle insan ve hayvanlarda akyuvarlar da sayılabilir. Bu eriyiğin pH derecesi 6.8 olup süzülüp, sterilize edildikten sonra cam kapaklı şişelere konmalıdır. Buzdolabında 2-4 C°de 1.5-2 ay bozulmadan kalabilir.

### **Retikülosit Boyanması ve İndirekt Sayımında Kullanılan Eriyikler:**

Dolaylı yöntemle retikülosit sayımı, sürme kan frotilerinde yapılır. Gelişimini tamamlamamış olan alyuvarlar içindeki retikulumu göstermek için vital boyalar kullanılır. Bunların başlıcaları Brilliant Cresly Blue (New-Jersey) ve New Metilen Blue boyalarıdır.

#### **Parlak Kresil Mavisi Eriyiği**

|                              |          |
|------------------------------|----------|
| Parlak Kresil Mavisi Eriyiği | : 1.0 g  |
| Sodyum Klorür                | : 100 ml |
| Sodyum Sitrat                | : 4.0 ml |

### **Yeni Metilen Mavisi Eriyiği**

|                     |          |
|---------------------|----------|
| Yeni Metilen Mavisi | : 0.5 g  |
| Potasyum Oksalat    | : 1.6 g  |
| Saf Su              | : 100 ml |

### **Eozinofil Sulandırma Eriyiği:**

Eozinofil sayımında Pilot Eriyiği kullanılır. Bu eriyikle kanatlı kanlarında heterofiller de (psöydoozinoofil) sayılabilir. Her iki hücrede kırmızıya boyanır. Bunların dışındaki alyuvar ve akyuvar tiplerinin tümü eriyerek kaybolur. Sodyum karbonatın tartılması ve ölçümünde çok dikkatli olunmalıdır. Oda ısısında bir ay beklemiş eriyikler kullanılmadan önce karıştırıp süzülürler.

### **Pilot Eriyiği**

|                                            |         |
|--------------------------------------------|---------|
| Propilen Glikol                            | : 50 ml |
| Saf Su                                     | : 40 ml |
| Floksin (suda % 1' lik eriyiği )           | : 10 ml |
| Sodyum Karbonat ( suda % 10' luk eriyiği ) | : 1 ml  |

### **Kanatlı Kanı Sayımında Kullanılan Eriyikler:**

Kanatlı hayvanlarda kan hücrelerinin fizyolojik ve morfolojik özellikleri nedeniyle kan sayımları güçtür. Buna ilişkin olarak değişik yöntemler ve çeşitli eriyikler önerilmiştir. Bunlardan Natt-Herrick Eriyiği, tavuklarda alyuvar, akyuvar ve trombositleri aynı kan örneğinden direkt olarak saymaya olanak sağlar. Bu eriyiğin pH'sı 7.3 tür. Hazırlandıktan 12-24 saat sonra süzülür ve yıllarca dayanıklılığını korur. Bileşimi şöyledir.

### **Natt-Herrick Eriyiği**

|                                      |           |
|--------------------------------------|-----------|
| Sodyum klorür                        | : 3.88 g  |
| Sodyum Sülfat                        | : 2.50 g  |
| Disodyum Fosfat, 12 H <sub>2</sub> O | : 2.91 g  |
| Monopotasyum Fosfat                  | : 2.25 g  |
| Formalin ( % 37 )                    | : 7.50 ml |
| Metil Menekşesi                      | : 0.10 g  |
| Saf Su                               | : 1000 ml |

### **Kullanılan Malzemelerin Temizlenmesi:**

Kan muayenelerinde hemolize engel olmak ve doğru sonuç alabilmek için, kullanılan araç ve gereçlerin son derece temiz ve kuru olması gereklidir.

### **Alyuvar, Akyuvar, Hemoglobin ve Sedimentasyon Pipetlerinin Temizliği:**

İçlerine bir kaç kez çeşme suyu çekilip dökülerek iyice yıkandıktan sonra damıtık sudan geçirilir. Önce alkol sonra eter çekip boşaltılarak kurumaları sağlanır. Aspiratör ya da bu iş için özel yapılmış özel el pompaları yardımıyla içlerinden hava geçirilerek kolayca kurutulabilirler. Kan pipetlerinin yöntemine uygun biçimde temizlenip, kurumuş olduklarını anlamak için, pipetler sallanarak cam boncuğun serbestçe oynayıp oynamadığı kontrol edilir. İyice kurumamışsa boncuk bir kenara yapışır. Böyle durumlarda pipet

yeniden alkol ve eterden geçirilerek hava akımında kurutulur. Pipetlerde kurumuş kan kalırsa; potasyum hidroksit, antiformin, ya da sodyum hidroksit yoğun eriyiklerinden biri içerisinde bir süre bırakıldıktan sonra su ile iyice temizlenir. Kapillar kesim içindeki tıkanmaları açmak için gerekirse at kuyruğu kılı kullanılabilir. Bu amaçla ince madensel tel, iç kenarı çizdiğinden asla kullanılmaz. Uzun süre kullanılmaları sonucu, alyuvar pipetlerinde buzlu cam görünümü, akyuvar pipetlerinde morumsu bir renk oluşur. Birincisi amonyak, ikincisi de alkol içinde tutularak temizlendikten sonra bol suda yıkanır.

### **Sayım Lamalarının Temizliği:**

Çeşme suyu ve saf suyla yıkandıktan sonra silinerek kurutulur. Kesinlikle alkol ve eter kullanılmamalıdır.

### **Lam ve Lamellerin Temizliği:**

Temiz bir bezle iyice silinerek, doymuş nitrik asit içerisinde bir gece bırakılır. Sonra en son asit bulaşığı gidinceye kadar (yıkama suyu mavi turnusol kağıdına etki yapmayacak duruma gelinceye kadar) iyice yıkanır. Daha sonra cam kaplar içinde bulunan, yarı yarıya alkol-eter karışımında bir gün bırakılır. Buradan yüzleri birbirine değmeyecek biçimde ağzı güzelce kapanan cam kaplara konur. Kullanılacakları zaman bir pensle alınırlar.

### **Tüp ve Diğer Cam Gereçlerin Temizliği:**

Doymuş potasyum bikromat-sülfürik asit eriyiğinden geçirildikten sonra az miktar suyla çalkalanır. Eriyikteki sülfürik asit, su ile ısı meydana getirir. Bu sıcaklık temizlenmesi istenen şeyi iyice temizler. Sonra renk kayboluncaya kadar bol suda yıkanır. Alkol ve eterden geçirilerek kurutulur. Temizlenen cam gereçlerde lamlarda olduğu gibi kapalı kaplarda saklanırlar.

**Uygulamanın adı:** Biyolojik membranlarda taşınma olayları.

**Yapılacağı hafta:** 2

**Uygulamanın temel hedefi:** Hücre membranındaki taşınma mekanizmalarının ve bu mekanizmalar arasındaki farkın anlaşılması.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:** Bilgisayar, projeksiyon cihazı ve PhysioEx 8.0 programı.

## UYGULAMA BİLGİSİ:

Hücre membranında transport iki temel olayla gerçekleşir; *difüzyon (pasif transport)* ya da *aktif transport*. **Aktif transport**, iyon ya da diğer maddelerin taşıyıcı bir proteinle birleşerek membranı geçmesidir. Enerji harcanarak gerçekleşen bir olaydır. **Difüzyon**, ya membrandaki moleküller arası boşluktan ya da taşıyıcı bir proteine bağlanarak rastgele molekül hareketiyle geçişi demektir. Enerjiye ihtiyaç duyulmaz. **Basit difüzyon, ozmoz ve kolaylaştırılmış difüzyon** pasif transporta örnektir.

Bu uygulamada sırasıyla basit difüzyon (şekil 4), kolaylaştırılmış difüzyon (şekil 5), ozmoz (şekil 6), filtrasyon (şekil 7) ve aktif transporta (şekil 8) ilişkin simülasyonlar yapılacaktır.

**1) Basit Difüzyon:** Molekül veya iyonların, membrandaki deliklerden veya membrandaki moleküller arası boşluktan taşıyıcı proteine bağlanmaksızın kinetik hareketlerle membranı geçmesidir. Membranın permeabilitesi, kalınlığı, por aralığı ve kimyasal yapısı, yoğunluk farkı, elektriksel yük farkı, basınç farkı (genellikle gazlarda), ısı, diffüze olacak partikülün tipi ve çapı gibi faktörler difüzyon hızını etkiler.



Şekil 4: Basit difüzyona ilişkin simülasyon.

Simülasyonda ekranın üst kısmında iki adet havuz yer almaktadır. Sağdaki havuz hücre içini, soldaki havuz ise hücre dışını temsil eder. İki havuz arasında, ekranın sağ tarafında yer alan dört membrandan birinin yerleştirileceği aralık bulunur. Bu membranların her biri farklı büyüklükteki

moleküllere geçirgendir. Havuzların içerdikleri sıvıların konsantrasyonları isteğe bağlı olarak değiştirilir ve ayrıca, havuzlardan birine deiyonize su da konulabilmektedir.

Öncelikle, membranlardan 20 MWCO (molecular weight cut off) olan seçilir. Sol havuzun  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  konsantrasyonu 9mM olarak ayarlanır. Sağ havuz ise deiyonize su ile doldurulur. Süre 60 saniyeye ayarlanarak deney başlatılır. Deney sonucunda veriler kaydedilir.

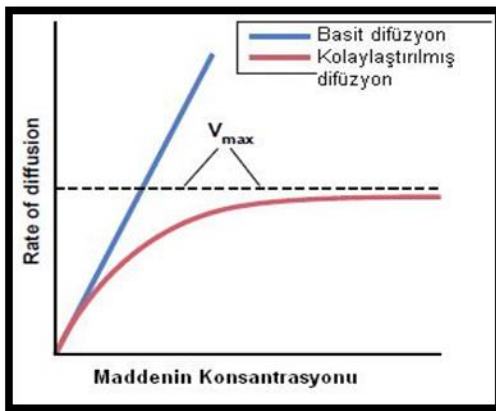
Deney, daha sonra diğer membranlar kullanılarak ve solüt konsantrasyonları ayarlanarak gerçekleştirilir.

| CHART 1 |  | Basit Difüzyon  |    |     |     |
|---------|--|-----------------|----|-----|-----|
|         |  | Membrane (MWCO) |    |     |     |
| Solüt,  |  | 20              | 50 | 100 | 200 |
| NaCl    |  |                 |    |     |     |
| Üre     |  |                 |    |     |     |
| Albumin |  |                 |    |     |     |
| Glikoz  |  |                 |    |     |     |

Tablo 1: Basit difüzyon simülasyonuna ilişkin sonuç tablosu

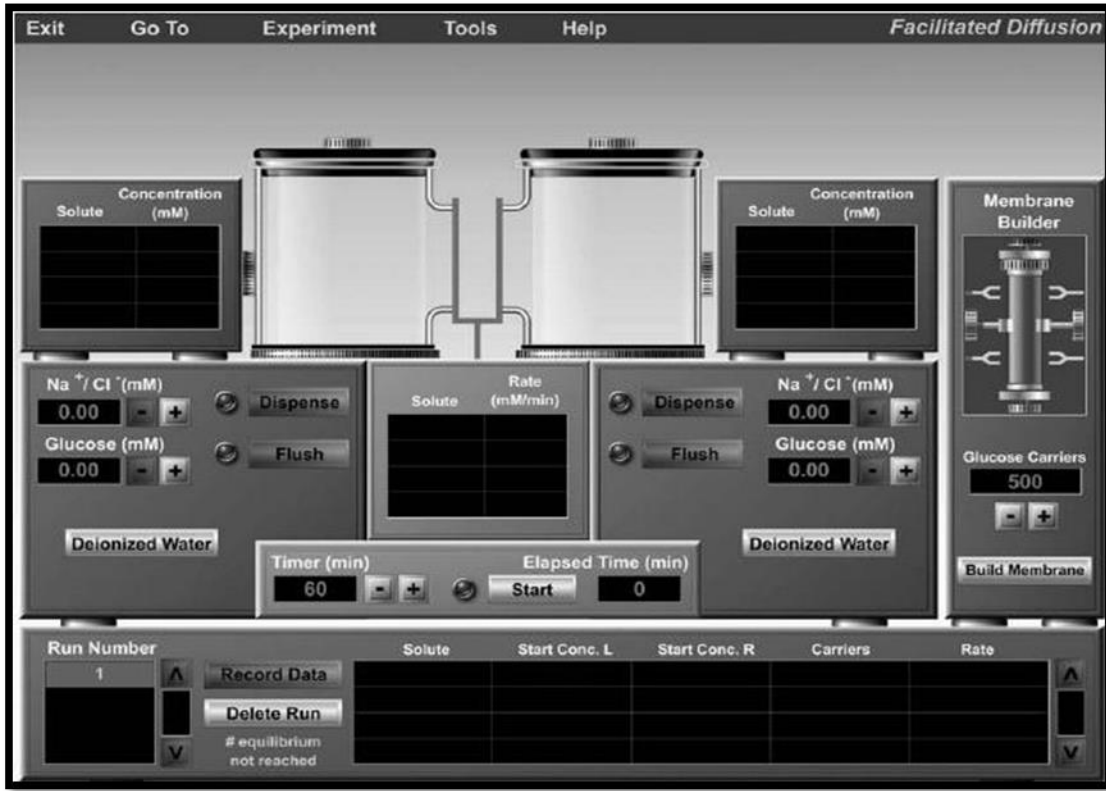
**2) Kolaylaştırılmış Difüzyon:** Molekül ve iyonların taşıyıcı bir proteinle etkileşimini gerektirir. Taşıyıcı protein, molekül ya da iyonların membranı geçmelerine yardım eder.

Kolaylaştırılmış difüzyon, açık bir kanaldan gerçekleşen basit difüzyondan şu açıdan ayrılır; açık bir kanaldan difüzyon hızı, diffüze olan maddenin konsantrasyonu arttıkça arttığı halde, kolaylaştırılmış difüzyonda difüzyon hızı, maddenin konsantrasyonu artarken  $V_{\max}$  olarak isimlendirilen bir maksimum değere ulaşır (Şekil).



Grafik 1: Kolaylaştırılmış difüzyonun  $V_{\max}$ 'a ulaştığının gösterimi.

Glikoz ve aminoasitlerin çoğu membrandan kolaylaştırılmış difüzyonla geçer.



Şekil 5: Kolaylaştırılmış difüzyona ilişkin simülasyon.

Simülasyonda ekranın sağ tarafında yer alan membranın glikoz taşıyıcı sayısı 500 olarak ayarlanır ve membran iki havuz arasına yerleştirilir. Sol havuzun  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  ve glikoz konsantrasyonu 9mM olarak ayarlanır, sağ havuz ise deiyonize su ile doldurulur. 60 sn içinde deney gerçekleştirilir.

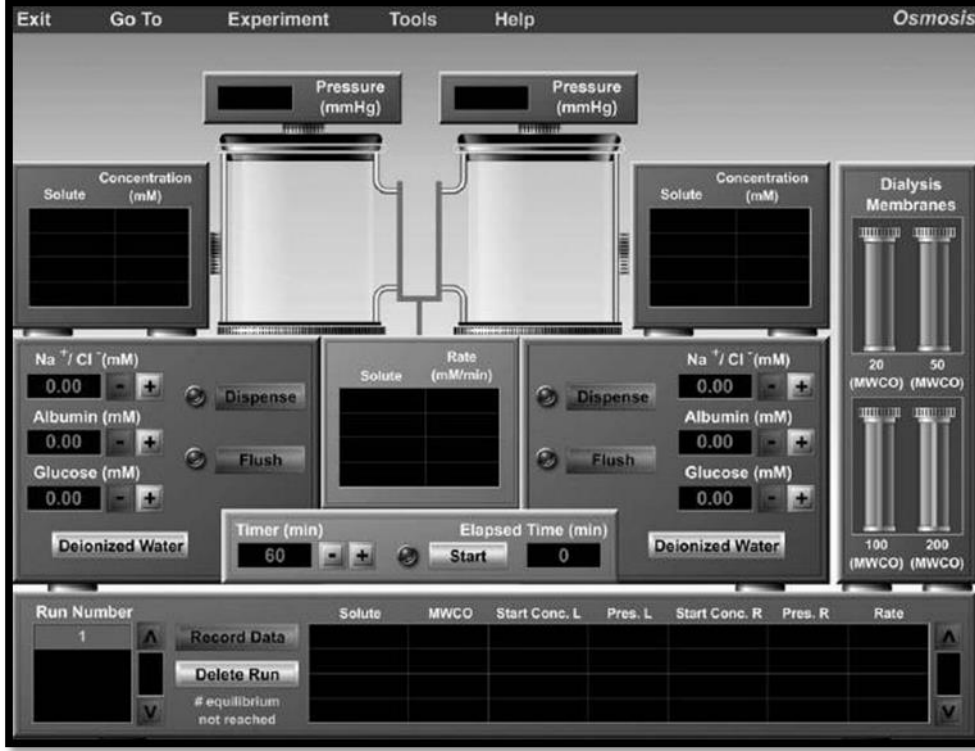
Glikoz taşıyıcı sayısı önce 300'e düşürülerek sonra sırasıyla 700 ve 900'e yükselterek deney tekrarlanır. Ayrıca, sol havuzun glikoz konsantrasyonu 3 mM'ye düşürülerek de deney yinelenir.

| CHART 2                    |                                     | Kolaylaştırılmış difüzyon sonuçları |     |     |     |
|----------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-----|-----|-----|
| Glikoz konsantrasyonu (mM) | Glikoz taşıyıcı proteinlerin sayısı | 300                                 | 500 | 700 | 900 |
|                            |                                     |                                     |     |     |     |
| 3                          |                                     |                                     |     |     |     |
| 9                          |                                     |                                     |     |     |     |

Tablo 2: Kolaylaştırılmış difüzyona ilişkin sonuç tablosu.

**3) Ozmoz:** Suyun seçici geçirgen membrandaki net difüzyonudur. Suyun ozmosis yoluyla hücre içine geçmesi hücre iç basıncını artırır (**ozmotik basınç**).

Solüsyonların yoğunluğu membranın her iki tarafında aynı ise, bu solüsyonlara **izotonik** solüsyonlar denir. Daha az ozmolariteye sahip solüsyonlara **hipotonik** solüsyonlar, daha fazla ozmolariteye sahip olanlara ise **hipertonik** solüsyonlar denir.



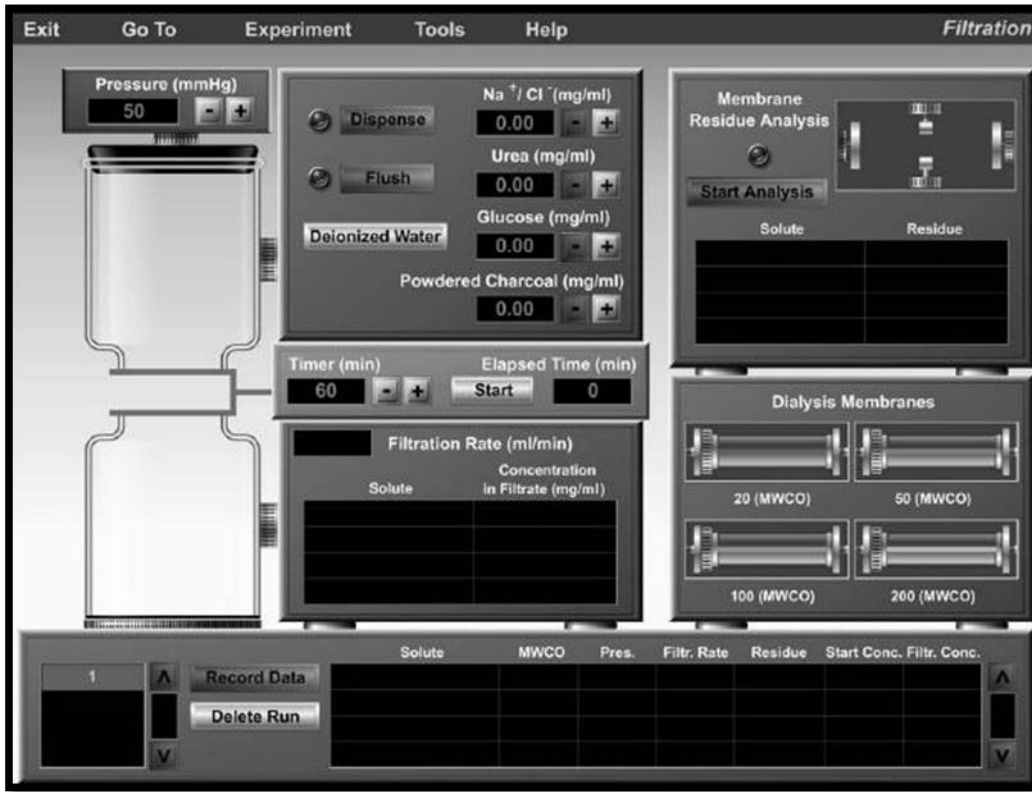
Şekil 6: Ozmoza ilişkin simülasyon.

Ozmozise ilişkin simülasyon basit difüzyona benzer olmakla birlikte her bir havuzun üzerinde basınç göstergesinin yer almasıyla farklılık gösterir. Simülasyonda iki havuz arasına 20 MWCO membranı yerleştirilir. Sol havuzun  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  konsantrasyonu 9 mM olarak ayarlanır. Sağ havuz deiyonize su ile doldurulur. 60 sn'lik sürede deney gerçekleştirilir. Diğer membranların kullanımı ile ve ayrıca sol havuzun önce albumin konsantrasyonu sonra da glikoz konsantrasyonu 9mM'ye getirilerek deney tekrarlanır.

| CHART 3                   |  | Ozmozis sonuçları (basınç-mmHg) |    |     |     |
|---------------------------|--|---------------------------------|----|-----|-----|
|                           |  | Membranı (MWCO)                 |    |     |     |
| Solüt                     |  | 20                              | 50 | 100 | 200 |
| $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$ |  |                                 |    |     |     |
| Albumin                   |  |                                 |    |     |     |
| Glikoz                    |  |                                 |    |     |     |

Tablo 3: Ozmozise ilişkin sonuç tablosu.

**4) Filtrasyon:** Membranın her iki tarafında basınç farkı varsa yüksek basınçtan alçak basınca madde geçişine filtrasyon denir. Örneğin; kan kapıllarından doku arasına madde geçişı, glomerüllerdeki madde geçişı gibi.



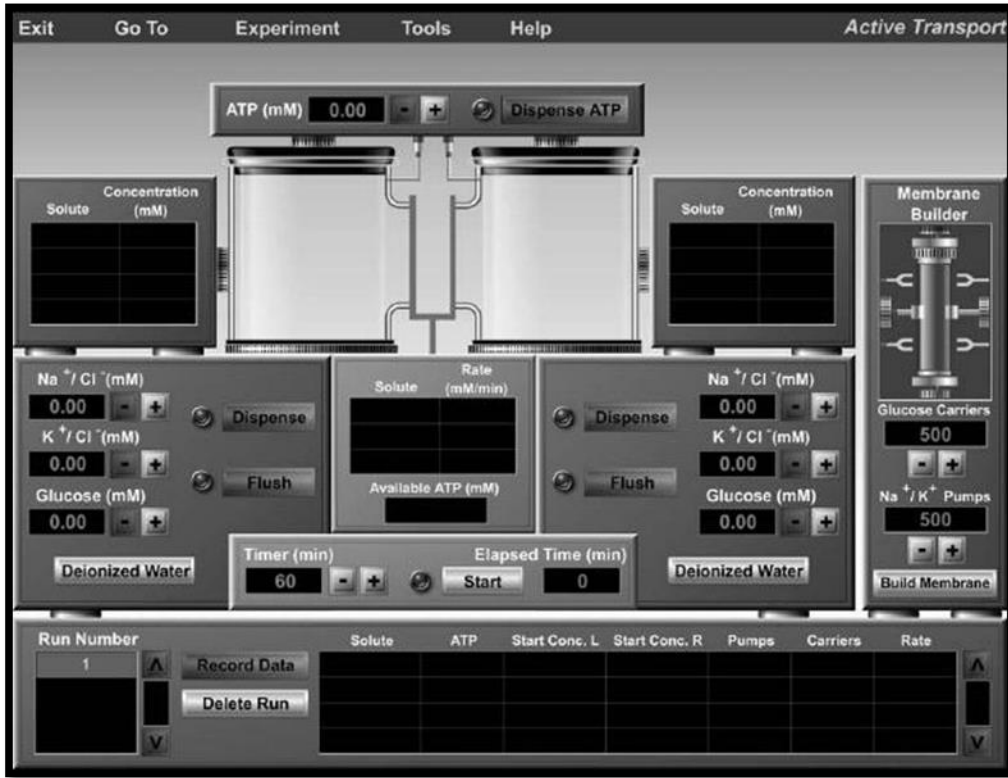
Şekil 7: Filtrasyona ilişkin simülasyon.

Simülasyonda ekranın sol tarafında biri üstte biri altta olmak üzere iki havuz yer alır. Üstteki havuzun bir basınç göstergesi bulunur. Bu gösterge hidrostatik basıncı ölçmektedir.

İki havuzun arasına 20 MWCO membran yerleştirilir. Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> 9mM, üre ve glikoz 5 mM ve powdered charcoal 5mg/ml değerlerine getirilir. Basınç 50mmHg'ye, süre 60 saniyeye ayarlanır. Deney başlatılır. Deney esnasında filtrat analiz birimi gözlemlenerek membrandan geçen moleküller tespit edilir. Deney tamamlandığında ise membran analiz edilerek filtre edilemeyen moleküller belirlenir. 50 MWCO membran kullanılarak ve daha sonra basınç 100 mmHg'ye yükseltilerek deney tekrarlanır.

**5) Aktif Transport:** Pasif transporttan farklı olarak moleküllerin, difüzyonun görülebileceği yönün tersi yönünde ozmotik basınç, hidrostatik basınç, yoğunluk gradienti veya elektrokimyasal gradiente karşı geçmeleridir. Bu olaylar esnasında enerji kullanılır.

Hücre membranından aktif transportla taşınan maddeler arasında sodyum, potasyum, kalsiyum, demir, hidrojen, klorür, iyodür, bazı şekerler ve aminoasitlerin çoğu yer alır.



Şekil 8: Aktif transporta ilişkin simülasyon.

Simülasyonda glikoz taşıyıcı sayısı ve  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pompası 500 olarak ayarlanır. Soldaki havuza 9 mM  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$ , sağdaki havuza deiyonize su eklenir. ATP ise 1 mM olarak ayarlandıktan sonra deney başlatılır. Daha sonra soldaki havuza 9 mM  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  konulurken sağdaki havuza da 9 mM  $\text{K}^+/\text{Cl}^-$  konularak deney tekrarlanır. ATP miktarı artırılarak veya taşıyıcı ve pompa sayısı değiştirilerek de deney tekrarlanabilir.

### ÇALIŞMA SORULARI

1. Basit difüzyon ve kolaylaştırılmış difüzyon arasındaki temel fark nedir?

2. Kolaylaştırılmış difüzyon ile aktif transport arasındaki temel fark nedir?

3. “Basit difüzyon” simülasyonunda, 20 MWCO membranından hangi solüt(ler) geçmiştir?

Neden?

4. Pasif transport mekanizmalarına 3 örnek veriniz.

5. Hücre hipotonik bir solüsyon içine konulduğu zaman, hacmi nasıl değişir?

**Uygulamanın adı:** Hücre ve organelleri.

**Yapılacağı hafta:** 3

**Uygulamanın temel hedefi:** Hücre ve yapısının, yapısında bulundurduğu organellerin fonksiyonlarının ve yerleşimlerinin görsel araçlar ile kavranması.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:** Bilgisayar, projeksiyon cihazı.

### **UYGULAMA BİLGİSİ:**

Canlıların temel yapı ve işlevsel birimi hücredir. Bütün canlılar bir ya da daha fazla hücreden meydana gelmiştir. Kalıtım materyali hücrede bulunur. Yeni hücreler var olan hücrelerin çoğalması ile oluşur (Modern Hücre Teorisi). Bu teoriyi şöyle açıklanabilir: Canlılarda gördüğümüz her türlü yapısal ve işlevsel faaliyeti hücrede görebiliriz. Yani bir hücre büyüme, boşaltım, üreme, hareket vs. gibi canlılığa özel işlevleri tek başına yerine getirebilir.

Bütün canlılar hücrelerin bir araya gelmesiyle oluşmuştur. Tek bir hücreden meydana gelen amip, terliksi hayvan ve milyarlarca hücreden meydana gelen insan gibi. Canlılığın en temel özelliklerinden birisi hücresel yapıya sahip olmalarıdır. Hücreler yaşayan organizmaların yapısal ve fonksiyonel birimleridir. Hücreler küçük fakat karmaşık yapılardır.

#### **Fonksiyonel Özellikleri:**

- Hücreler ortamdan ham materyali alırlar.
- Enerji üretirler: Bu enerji iç ortam dengesini sağlamak, ve sentez reaksiyonlarını yürütmek için gereklidir. Termodinamiğin 2. Kanununa karşı koymak ancak enerji ile mümkündür.
- Kendi moleküllerini sentez ederler.
- Organize bir şekilde büyürler.
- Çevreden gelen uyarılara cevap verirler.
- Çoğalırlar (bazı istisnalar haricinde).

#### **Yapısal Özellikleri:**

- Kalıtsal bilgiler DNA içinde saklanır.
- Genetik kod temelde aynıdır.
- Bilgi DNA'dan proteinlere RNA aracılığı ile geçer.
- Proteinler ribozomlar tarafından yapılır.
- Proteinler hücrenin fonksiyon ve yapısını düzenlerler.
- Bütün hücreler seçici geçirgen bir zar olan plazma membranı ile çevrilmiştir.

#### **Hücre Zarı:**

Hücreyi dışarıdan çevreleyen, hücreye belli bir şekil kazandıran canlı, esnek, seçici ve geçirgen özellikteki kısımdır. Protein, karbonhidrat, yağ moleküllerinin bir araya gelip, özel bir şekilde dizilmesi ile oluşmuştur. Günümüzde en geçerli zar modeli akıcı-mozaik zar modelidir. Bu modele göre yağ tabakaları hareketli iki sıra halinde dizilmiştir. Protein molekülleri yağların arasına gömülmüştür. Karbonhidratlar ise yağlar üzerine bağlı veya proteinler üzerinde bağlı olarak bulunur.

## Sitoplazma:

Çekirdek ile hücre zarı arasındaki %70-90'ı sudan oluşmuş yumurta akı kıvamında sıvıya sitoplazma denir. Sitoplazmada suyun yanında; enzimler, hormonlar, nükleotitler, RNA, ATP, iyonlar, aminoasit, glikoz, yağ asitleri, mineraller ve sindirilmemiş besin molekülleri bulunur. Organeller sitoplazma içerisine gömülü olarak bulunurlar ve hücre içerisindeki hayatsal faaliyetleri (beslenme, boşaltım, sindirim, solunum,... vb.) yapmak üzere özelleşmişlerdir.

## Çekirdek (Nukleus):

Adından da anlaşılacağı gibi hücrenin genellikle merkezinde konumlanmıştır. Fakat vakuolü çok büyük olan bitki hücrelerinde nukleus vakuol ile hücre duvarına sıkışmış bir vaziyette olabilir.

Nukleus yapısı itibarıyla bir zar ile kuşatılmıştır. Bu zarda tıpkı hücrenin kendi zarındaki gibi porlar bulunur. Nukleusun içerisinde ise DNA içeren kromatin iplikçikler bulunur. Bu iplikçikler hücre bölüneceği zaman katlanmalar yaparak kromozomları meydana getirirler. Nukleus genelde bir tane olmasına karşın bazı hücrelerde birden fazla sayıda olabilir.

Bir çekirdek dört ana kısımda incelenir:

- 1. Çekirdek Zarı:** İki katlı zardır. Hücre zarına benzer bir yapı gösterir. İç ve dış zarın birleşme yerlerinde porlar oluşur. Porlar çekirdek ile sitoplazma arasında madde alış verişini sağlar.
- 2. Nükleoplazma:** Sitoplazmaya benzer fakat koyu kıvamlıdır. Yapısında su, nükleotitler, RNA, enzimler ve ATP bulunur.
- 3. Çekirdekçik:** Çekirdeğin içerisinde görülen koyu renkli kısımdır. Ribozom sentezlemekle görevlidir. Protein sentezi çok olan hücrelerde, çekirdekçik sayısı da artmaktadır. Hücre bölünmesi sırasında eriyerek kaybolur, bölünme tamamlandıktan sonra tekrar oluşur.
- 4. Kromatin:** Hücrenin kalıtsal karakterini taşıyan kısımdır. Hücre bölünmeye başlarken kromatin maddesi iplik halini alarak kromatin ipliklerine dönüşür. Kromatin iplikler daha da kısalıp kalınlaşarak kromozom adını verdiğimiz yapı oluşur.

## Ribozom:

Ribozomlar proteinlerin sentez edildikleri yerdir. Protein sentezi için gerekli bilgi DNA'dadır. Bu bilgi RNA'ya transfer edilir ve ribozomlarda RNA'daki bu bilgiyle protein yapılır. Bir hücre için protein sentezi çok önemlidir. Bu yüzden de hücrede binlerce ribozom bulunur. Ribozomlar ya sitoplazmada serbestçe yüzerler ya da endoplazmik retikulumla bağlı olarak bulunur. Ribozomların membranı yoktur. Protein sentezlemedikleri zaman 2 alt grupta halinde bulunurlar. Alt gruplar ribozomal RNA (rRNA) ve ribozomal proteinlerden oluşur.

## Lizozom:

Lizozomlar 0,2 ila 2 µm çapında organellerdir. Hücre içi sindirimi sağlamak üzere yaklaşık 40 civarında enzim içerirler. Lizozom membranı, lizozomun hücreyi tümüyle sindirmesini önler. Bu enzimler için optimal pH 5 civarındadır. Lizozomlarda ATP hidrolizi ile çalışan H<sup>+</sup> pompası vardır. Bu sayede lizozomun pH'sı düşük tutularak enzimlerin etkin hale geçmesi önlenir.

**Endoplazmik Retikulum:**

Endoplazmik retikulum lipid, protein (ribozomlar aracılığı ile) ve kompleks karbonhidratların yapım yeridir. Endoplazmik retikulum hücredeki toplam membranların yarısından fazlasını oluşturur. Endoplazmik retikulum iki membrandan oluşur. Bu iki membran arasında kalan boşluğa endoplazmik retikulum lümeni denir. İki tip endoplazmik retikulum vardır.

Granüllü Endoplazmik Retikulum: Üzerinde ribozomlar vardır. Sisterna denilen yassılaştırmış keseler şeklindedir.

Düz (Smooth) Endoplazmik Retikulum: Ribozomları yoktur. Tüplerden oluşan bir ağ şeklindedir.

**Golgi aygıtı:**

Golgi kompleksi hem yapı hem de fonksiyon yönünden endoplazmik retikulum ile yakından ilişkilidir. Bu organel birbirine paralel bir dizi membranöz kanaldan oluşur ve salgı yapan hücrelerde iyi gelişmiştir. Golgi kompleksinin fonksiyonu endoplazmik retikuluma sentezlenen maddelere son şeklini vermek ve bu maddeleri bir membranla çevrelemektir. Ayrıca hücre zarının yenilenmesi ve yüzeyinin genişletilmesi görevini de üstlenir.

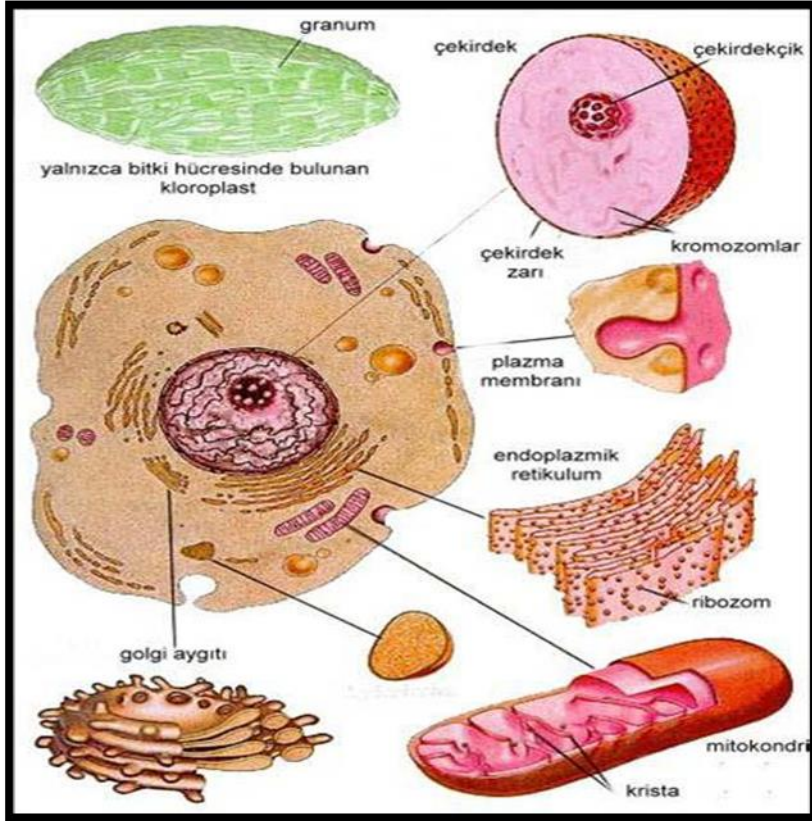
**Mitokondri:**

Mitokondri, hücre için gerekli olan enerjinin üretildiği organeldir. Bu organelde tıpkı diğer organeller gibi birim zar ile çevrilidir. Fakat iç kısmındaki zar dıştaki gibi düz değildir ve kıvrımlar meydana getirir. Bu kıvrımlara "Krista" adı verilir.

Mitokondri içerisinde cereyan eden kimyasal olaylar oldukça karmaşıktır. Hücrede bulunan üç binin üzerindeki enzimlerden ayrı olarak mitokondri içerisine yüzlerce enzim görev almıştır.

**Sentrozom:**

Yalnızca hayvan hücrelerinde bulunur. Yapısında bir çift sentriol adı verilen protein yapıda iplik vardır. Zar yapısına sahip olmayan bir organeldir.



Şekil 1. Hücre ve organelleri

**Uygulama adı:** Aksiyon potansiyeli ve sinir iletim hızı.

**Yapılacağı hafta:** 4

**Uygulamanın temel hedefi:** Aksiyon potansiyeli ve sinir iletim hızının ve bazı kimyasal faktörlerin bunlar üzerindeki etkilerinin gözlemlenerek anlaşılması.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:** Bilgisayar, projeksiyon cihazı ve PhysioEx 8.0 programı.

## UYGULAMA BİLGİSİ:

Sinirsel sinyaller membran potansiyellerindeki hızlı değişimlerden oluşan **aksiyon potansiyelleri** ile iletilir. Her aksiyon potansiyeli normal dinlenim negatif potansiyelden pozitif membran potansiyeline ani bir değişimle başlar ve hemen hemen aynı hızla tekrar negatif potansiyele döner.

Aksiyon potansiyeli birbirini izleyen 3 dönemden oluşur:

**Dinlenme dönemi (polarizasyon);** bu dönem aksiyon potansiyeli oluşmadan önceki membran dinlenme potansiyelini belirtir. Bu dönemde büyük bir negatif (-90 milivolt) membran potansiyelinin bulunması nedeniyle membran **polarize** durumdadır.

**Depolarizasyon dönemi;** bu sırada membran aniden  $\text{Na}^+$ 'a karşı geçirgen hale gelerek çok büyük miktarda (+) yüklü  $\text{Na}^+$  iyonunun akson içine alınmasına yol açar. Normalde -90 mV'luk polarize durum potansiyelin hızla (+) yönde yükselmesiyle kaybolur. Buna **depolarizasyon** denir.

**Repolarizasyon dönemi;** membranın  $\text{Na}^+$ 'a geçirgenliğinden sonra, saniyenin on binde biri gibi kısa bir sürede  $\text{Na}^+$  kanalları kapanmaya başlar ve  $\text{K}^+$  kanalları normaldeki haline göre daha da açılır.  $\text{K}^+$  iyonlarının dışa doğru hızla difüzyonu normal (-) membran dinlenme potansiyelinin yeniden oluşmasını sağlar. Buna membranın **repolarizasyonu** adı verilir.

$\text{Na}^+$  kanalları açıldığı zaman, membran hiçbir uyarana cevap vermez. Bu döneme *absolut refraktör periyod* denir. Repolarizasyon esnasında, membran normalden daha şiddetli bir uyarana stimüle edilebilmektedir. Bu dönem ise *relatif refraktör periyod* olarak isimlendirilir.

Uygulamada, kurbağa siniri ve birkaç elektronik araç kullanılacaktır. İlk kullanılacak olan araç “elektiriksel stimülatör”dür. Sinirler kimyasal maddeler, temas veya elektrik şoku ile uyarılabilirler. Elektiriksel stimülatör, elektrik şoku uygular ve böylelikle şokun voltajı, sıklığı ve süresi tam olarak kontrol edilebilir.

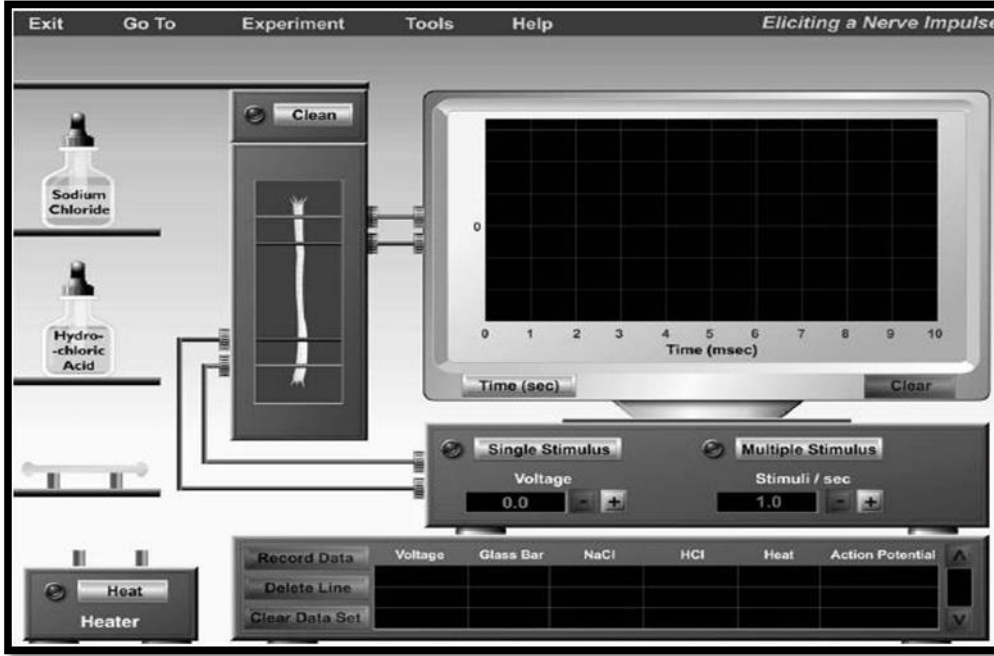
İkinci elektronik araç “osiloskop”tur. Bu cihaz, belli zaman periyodunda voltaj değişikliklerini ölçer. Sinir uyarıldığı zaman, osiloskop ekranında ya hiç cevap şekillenmez ya düz bir çizgi ya da pik noktasını içeren bir grafik şekillenir. Bu grafik aksiyon potansiyelinin oluştuğunu gösterir.

Uygulama esnasında unutulmaması gereken, çok sayıda nörondan oluşmuş tek bir sinirle çalışıldığıdır. Osiloskop ekranında şekillenen aksiyon potansiyeli, sinirdeki bütün nöronların aksiyon potansiyelini ifade eder.

Bu uygulamada impuls oluşumu (şekil), inhibisyonu (şekil) ve sinir iletim hızına (şekil) ilişkin simülasyonlar yapılacaktır.

## 1. Sinir İmpulsunun Oluşumu

**a) Elektriksel Stimülasyon:** Voltaj 1'e ayarlanır ve tek uyarı verilir. Osiloskop ekranında herhangi bir cevap şekillenmemişse ya da düz bir çizgi meydana gelmişse, aksiyon potansiyeli oluşmamış demektir. Voltaj artırılarak deney tekrar edilir.



Şekil1: İmpuls oluşumuna ilişkin simülasyon.

**b) Mekanik Stimülasyon:** Cam çubuk sinire dokundurulur ve osiloskop ekranı gözlemlenir.

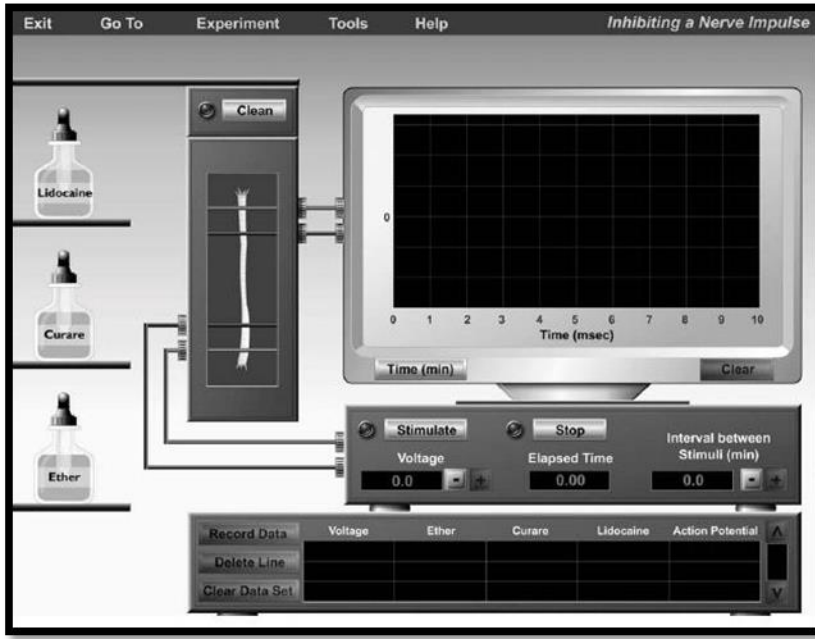
**c) Termal Stimülasyon:** Cam çubuk ısıtıcıya götürülerek bırakılır ve çubuk kırmızı renge dönüşene kadar beklenir. Daha sonra ısınan cam çubuk sinire yaklaştırılır ve herhangi bir değişikliğin şekillenip şekillenmediği incelenir.

**d) Kimyasal Stimülasyon:** Önce sodyum klorürden sinire damlatılır ve aksiyon potansiyelinin oluşup oluşmadığı gözlemlenir. Daha sonra hidroklorik asitten sinire damlatılarak deney tekrarlanır.

## 2. Sinir İmpulsunun İnhibisyonu

Bu simülasyonda sinir iletimi üzerindeki çeşitli ajanların etkisi gözlemlenecektir.

**a) Eterin Etkisi:** Sinire, stimülasyondan ve kayıttan sorumlu elektrotlar arasından ether damlatılır. Osiloskop üzerindeki zaman bölümü seçilir ve böylece zaman skalası değiştirilmiş olur. Bu değişimden dolayı, aksiyon potansiyeli keskin vertikal bir yükseliş sergiler. Daha sonra uyaranlar arası zaman aralığı 2 dakikaya ayarlanır ve stimülasyon başlatılır. Zaman skalasındaki değişimle birlikte, aksiyon potansiyeli düz vertikal bir çizgi şeklinde meydana gelir.



Şekil 2: İmpuls inhibisyonuna ilişkin simülasyon.

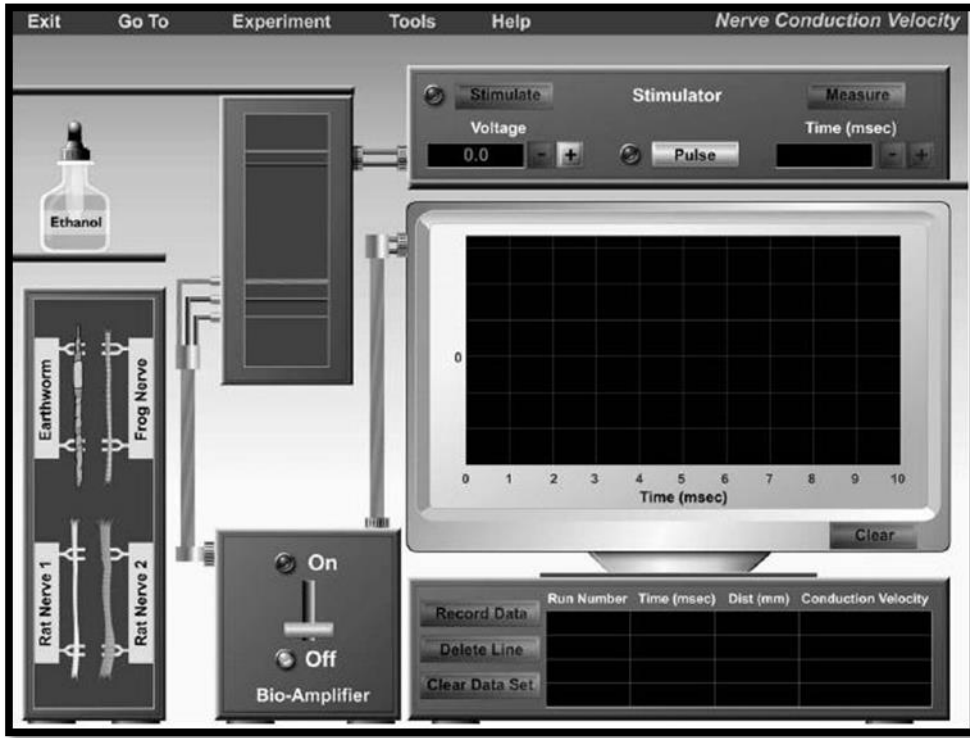
**b) Kürarın Etkisi:** Kürar, Güney Amerikan yerlilerinin ok zehiri olarak kullandıkları, avlarını felç eden bir bitki ekstraktıdır. Asetilkolinin bağlandığı postsinaptik hücre membranına bağlanarak sinaptik iletimi bloke eder. Kürar da eterin uygulandığı bölgeden verilerek deney gerçekleştirilir.

**c) Lidokainin Etkisi:** (Not; lidokain sodyum kanal antagonistidir.) Sinire uygulanarak deney tekrarlanır.

### 3. Sinir İletim Hızı

Bu aktivitede, osiloskop ve stimülatör “biyo-yükseltici” denilen üçüncü bir araç ile birlikte kullanılır. Biyo-yükseltici membran depolarizasyonunu yükseltmek amacıyla kullanılmaktadır ve böylece aksiyon potansiyeli osiloskopta belirgin şekilde gözlemlenir. Normal şartlarda, depolarizasyon şekillendiği zaman, hücre membranının içi -70 mV’den +40 mV’ye yükselir. Bu durum osiloskopta yükseltici olmaksızın gözlemlenir ve kaydedilir. Ancak, bu simülasyonda sinirin dış membran potansiyelindeki değişiklik değerlendirilir. Depolarizasyon esnasında belirgin bir değişiklik meydana gelmediğinden, aksiyon potansiyelinin osiloskopta görülebilmesi için yükseltilmesi gerekmektedir.

Bu simülasyonda, farklı tipteki sinirlerin iletim hızları ölçülüp karşılaştırılacaktır. Solucan, kurbağa ve iki rat siniri olmak üzere dört sinir incelenecektir. Solucan siniri en ince olanıdır. Kurbağa siniri orta kalınlıkta ve miyelinlidir. Rat sinirlerinden biri orta kalınlıkta ve miyelinsiz, diğeri ise miyelinli ve gruptaki en kalın sinirdir.



Şekil 3: Sinir iletim hızına ilişkin simülasyon.

**a) Sinir İletim Hızının Ölçümü:** Öncelikle atım butonuna basılır. Biyo-yükseltici devreye sokularak solucan üzerine etanol damlatılır. Böylece solucan uyuşturulur ve uygulama esnasında hareket etmesi önlenir. Etanolün sinir iletim hızı üzerine etkisi yoktur. Düşük konsantrasyonu bile yeterlidir ve solucan 15 dakika içerisinde normale döner. Solucan, sinir bölümüne alınır. Voltaj 1'e ayarlanarak uyarım başlatılır. Daha sonra stimülatör bölümünde yer alan ölçüm kısmı seçilir. Osiloskop ekranının sol kenarında sarı renkli vertikal bir çizgi şekillenir. Bu esnada (+) butonuna basılarak çizginin sağ tarafa doğru hareketi sağlanır. Bu çizgi, grafiğin tamamlanması için geçen sürenin ölçümünü sağlar. Çizginin ilk yükselmeye başladığı ana kadar süre artırılır.

## ÇALIŞMA SORULARI

- 1) Depolarizasyon ve aksiyon potansiyeli arasındaki fark nedir?  
.....
- 2) Etherin aksiyon potansiyelinin şekillenmesinde nasıl bir etkisi vardır?  
.....
- 3) Sodyum klorid ilavesi neden aksiyon potansiyelini şekillendirir?  
.....
- 4) Kürarın aksiyon potansiyelinin şekillenmesinde nasıl bir etkisi vardır?  
.....
- 5) Lidokainin aksiyon potansiyelinin şekillenmesinde nasıl bir etkisi vardır?  
.....
- 6) Miyelenizasyonun sinir iletim hızındaki etkisi nasıldır?  
.....

**Uygulamanın adı:** Refleks arkı.

**Yapılacağı hafta:** 5

**Uygulamanın temel hedefi:** Refleks arkı ve bileşenlerinin öğrenilmesi, reaksiyon zamanının incelenmesi ve öğrenme ile reaksiyon zamanı arasındaki ilişkinin kavranması.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:** Bilgisayar, projeksiyon cihazı, Biopac MP 30 ve ilgili malzemeleri.

## UYGULAMA BİLGİSİ:

Refleks reseptörlerin uyarılması ile efektörlerde (kas, bez gibi) yaratılan istek dışı aktivitedir. Herhangi bir sinir fonksiyonunun yapılabilmesi için en az bir reseptör, bir afferent nöron, bir merkez, bir efferent nöron ve bir de efektör organ bulunması gerekir. Bu sinir komponentlerinden kurulmuş yapıya Refleks Arkı denir. Sinir fonksiyonunu yapan esas yapı refleks arkıdır.

Refleks olayı istek dışı bir olaydır. İstekle yapılan hareketler reflekslere dahil edilemezler. Fakat ister istek dışı ister istek içi olsun her çeşit aktivitenin meydana gelişi esas sinir mekanizması ile yani refleks arkı ile olmaktadır. Fonksiyon bakımından sinir sisteminin esas birimi refleks arkıdır. Refleks ve refleks arkı ayrı şeylerdir. Refleks bir olay, refleks arkı ise anatomik bir yapıdır.

Bir yarışın başlangıcı, kişilerin bir uyarıyı duyduğu (yarış tabancası) ve bir şekilde buna reaksiyon gösterdiği (tepki), uyarı-tepki durumuna klasik bir örnektir. Uyarı-tepki durumunda iki anahtar faktör bulunmaktadır; reaksiyon zamanı ve öğrenme.

- Reaksiyon zamanı uyarının meydana gelmesiyle buna karşı verdiğimiz tepki arasında kalan gecikmedir.
- Öğrenme ise deneyim ya da açıklamaya bağlı olarak yeteneklerin ya da bilginin elde edilmesidir.

Uyarının duyulması ve tepki verme arasındaki gecikme afferent uyarının beyne ulaşması ve beyin kaslara efferent bir uyarı yollaması için geçen süreden dolayıdır. Öğrenme ile sürecin çeşitli basamakları için geçen süre kısalabilir. Reaksiyon zamanı kişiden kişiye ve durumdan duruma çeşitlilik gösterip çoğu insan gecenin geç vakitlerinde ve sabahın erken saatlerinde gecikmiş reaksiyon zamanlarına sahiptir.

Kişiler uygulama ya da işlemde ne olacağını öğrendikçe, reaksiyon zamanı genellikle azalır. Genç bir erkeğin ilk kez bir pist yarışına katılıyor olduğu bir durumda: Tabanca ateşlendiğinde, ne yapacağını bilemeyebilir fakat etrafındaki herkes koşmaya başladıktan sonra, harekete geçmesi gerektiği fikrine kapılıp o da koşmaya başlayacaktır. Bir sonraki yarışta, arada geçen sürede belli düzeyde de olsa öğrenmenin meydana geldiğini varsayarak, kendisinden, yarışa katılan diğer kişiler ile yaklaşık aynı anda başlangıç yapmasını (tamı tamına olmasa da) bekleyeceğiz. Pratik ile ve daha da önemlisi, öğrenme ile o kişinin reaksiyon zamanları birkaç saniyeden saniyenin çok küçük kısımlarına kadar azalabilir.

Bu uygulama ne zaman butona basılacağını önceden tahminleme yetenekleri tarafından ispatlanır şekilde bireylerin ne kadar kolay ve hızlıca öğrendiklerini gösterir. Uygulama neyin kısa reaksiyon zamanlarıyla sonuçlandığı belirlemek için nispeten basit bir uyarı çeşidini (sözde rastlantısal ya da pseudo-random ile sabit aralıklarla ölçümleri kıyaslayarak) kullanır.

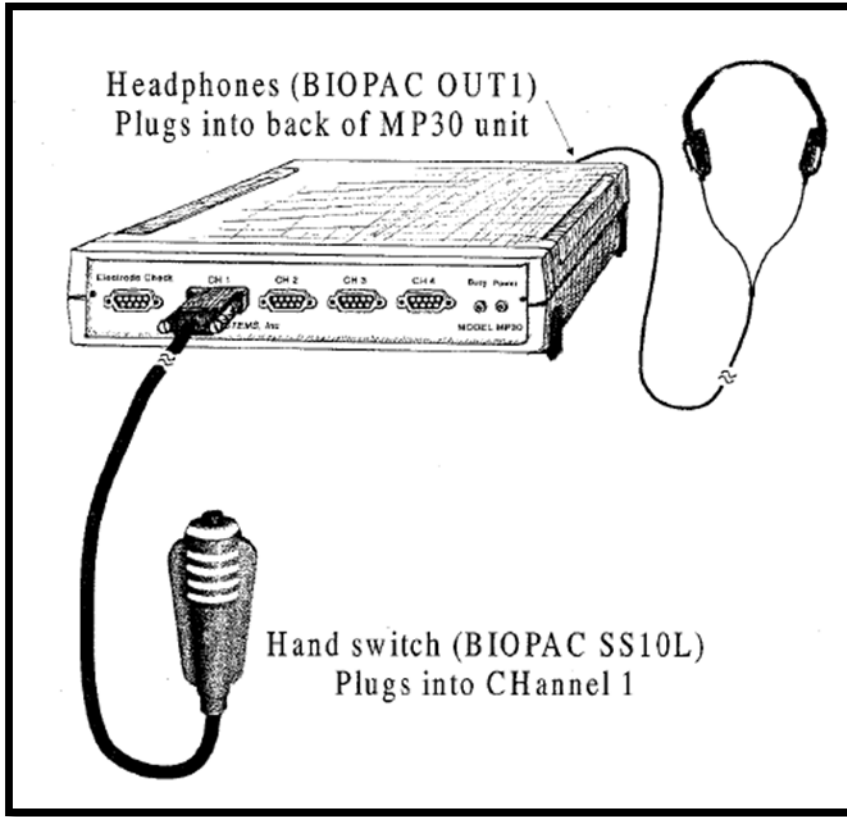
Sözde rastgele uyarıların verildiği durumda reaksiyon zamanlarında azalma uzun sürmekte ve azalış sabit aralıklarla uyarı verilmesinde meydana gelene göre daha azalır.

Sabit-aralıklı uyarılarla uygulama tekrarlanarak gerçekleştirildiğinde, ortalama reaksiyon zamanı her yeni data kaydında genellikle bir noktaya kadar azalır. Sonuçta, minimum reaksiyon zamanı işlem hakkında bilgi edinmeyi gerektirir ve reaksiyon zamanı sabit hale gelir.

Bu uygulama nispeten basitçe reaksiyon zamanına ve bir işlemin küçük bir yönündeki değişikliğin reaksiyon zamanındaki farklılıklarla nasıl sonuçlanabildiği ile ilgilidir. Sözde-rastlantısal ve sabit aralıklı uyarıların verildiği uygulamalar arasında ortalama reaksiyon zamanlarında muhtemelen bir farklılık not edilir ve bu farklılık büyük ihtimalle sabit aralıklarla uyarıların verildiği kısımdaki segmentlerin tarafındadır. Bu farklılığın bir kısmı muhtemelen rastgele ve rastgele olmayan uyarıların verildiği uygulamaların karşılaşmasından dolayıdır. Ancak, pratik ile daha iyisini yapabileceğimiz izlemi uyandırır şekilde reaksiyon zamanının sözde-rastlantısal uygulamalardan sabit aralıklı uygulamalara doğru azaldığını da fark edebiliriz.

### Deneyin Yapılışı:

Öncelikle PC ve Biopac MP30 cihazı talimatlara uygun şekilde hazır hale getirilir (Şekil ). Kanal 1'e el butonu takılır. Kulaklık ise MP 30 cihazının arka kısmına monte edilir. Bilgisayardan program açılır ve reaksiyon zamanı uygulamasına başlanır.



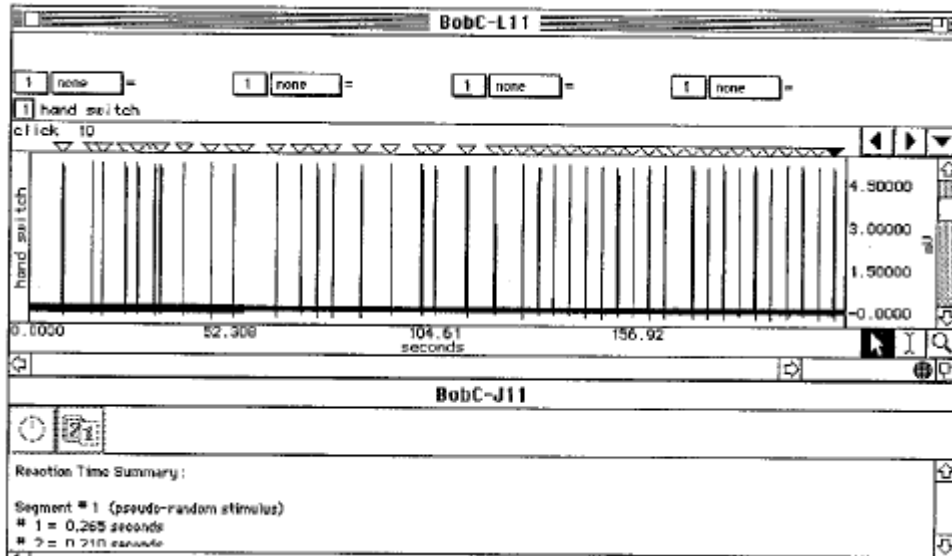
Şekil 1. Reaksiyon zamanı uygulamasının hazırlanışı.

Kalibrasyon işlemi için öncelikle denek hazırlanır. Denek rahat bir pozisyonda, kulaklık takılı ve gözleri kapalı bir şekilde oturur. Başparmağı butona basmak için hazır halde bekler. Sonrasında kalibrasyona geçilir. Klik sesi duyulduğunda denek butona bir kez basar (Basılı tutmamalı ya da birden fazla basılmamalıdır). Kalibrasyonun yaklaşık 4. saniyesinde klik sesi duyulur ve 8 saniye sonunda kalibrasyon tamamlanır.

Kayıt alma işlemine geçilir. Kayıt alma 4 kısımda gerçekleştirilir. 1. ve 2. kısımda sözde-rastgele aralıklarla (1 ila 10 saniye) uyarı verilir. 3. ve 4. kısımlarda ise sabit aralıklı uyarı (4 saniyede bir) verilmektedir. Program klik sesinden 1 sn sonraki ve klik sesinden önce butona bastığımızda bunları değerlendirmeye almaz. Denek rahat bir pozisyonda, gözleri kapalı ve kulaklıklar takılı bir şekilde oturmalıdır. El butonunu hazır bir şekilde tutarak beklemelidir.

Segmentler halinde kayda başlanır. 1. Segmentte sözde-rastgele klik sesleri verilir (1 ila 10 aralıklarla olabilir). Her klik sesinden sonra olabildiğince çabuk butona basılmalıdır. Her doğru basış için ekranda bir grafik çizdirilir. 1. segment 10 klik sesinden sonra tamamlanır. Resume butonuna tıklanarak 2. segmente devam edilir. Bu kısımda program otomatik olarak grafiğe bir işaret koyar. Bu kısımda da ilki gibi sözde-rastgele klik seslerine karşı butona basılır. 10 klik sesinden sonra bu segment de tamamlanır. Yine resume butonuna tıklanarak 3. segmente geçilir. Burada ise sabit aralıklı klik sesleri verilir. Bu sesler her 4 sn'de bir kez gelir. 10 klik sesi ardından segment sonlanır. Son olarak yine aynı butona tıklanarak 4. segmente geçilir. Burada da 3. segmentin tekrarı şeklinde sabit aralıklı klik sesleri verilir. 10 klik sesinden sonra otomatik olarak kayıt tamamen sonlanır. Done butonu ile kayıt işlemi tamamlanır ve analize geçilir.

Analiz kısmında grafiğin alt kısmında her segment için 10 reaksiyon zamanı ve bunların ortalaması hesaplanarak gösterilmektedir (Şekil ). Grafikteki her dalga yakınlaştırılarak klik sesinin duyulduğu an ile reaksiyon dalgasının pik yapmaya başladığı nokta arası işaretlenerek  $\Delta T$  değerleri bulunabilir. Böylece istenilen reaksiyon zamanı kontrol edilebilir. Elde edilen sonuçlar her segment için ve segmentler arası olacak şekilde değerlendirilir. Farklı denekler arasında da elde edilen kayıtlar incelenir.



Şekil 2. Reaksiyon zamanı data grafiği.

**Uygulamanın adı:** Biyogeribildirim.

**Yapılacağı hafta:** 6

**Uygulamanın temel hedefi:** Biyogeribildirim tanımı, yöntemin mekanizması ve kullanıldığı alanlar hakkında bilgi edinilmesi ile bu uygulamaların temelde nasıl yapıldığının kavranması.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:** Bilgisayar, projeksiyon cihazı, Biopac MP 30, EKG elektrot seti, tek kullanımlık elektrotlar, elektrot jeli ve GSR transdüseri.

## UYGULAMA BİLGİSİ:

Vücudumuzda istemli olarak kontrol ettiğimiz hareketler bilinçli olarak yapılır. Ancak örneğin su içerken yutduğumuzda genellikle bunu otomatik olarak takip eden düzenleyici sistemler vardır (tükrük salgılanması, suyu mideye yönlendirmek için özefagusta ritmik kontraksiyonlar, midenin çalkalanmaya başlaması gibi). Bu işlemler otonom sinir sistemi tarafından düzenlenir ve serebral korteks tarafından bilinçli kontrole gereksinim duymaz.

Biyogeribildirim otonomik fonksiyonlar ile bilinçli farkındalık arasındaki bağlantıyı tamamlamaktadır. Biyogeribildirim uygulaması otonom sinir sistemi tarafından kontrol edilen fizyolojik işlemler üzerine insanların bilinçli kontrol göstermeleri aracılığıyla yapılan bir öğrenme sürecidir. Biyogeribildirim araçları fizyolojik fonksiyonları (kalp atımı gibi) basit bir biçimde gözlemler ve gerçek zamanlı geribildirim sağlar. Cihaz, geribildirim gözlemlenen faktörlerdeki değişimlere ilişkin bir sinyal kullanarak meydana getirir. Denek de sonrasında bu sinyali istenilen yanıtı artırmak için kullanabilir.

Biyogeribildirim uygulamaları ile bireyler birçok işlemi kontrol edebilir duruma gelmiştir: kalp atım sayısını azaltmak, kan basıncını düşürmek, başağrıları kontrol etmek ve stresli durumlara karşı yanıtları düzenlemek gibi.

Uygulama metotlarından birisi eldeki terleme tepkisini içermektedir. Buradaki biyogeribildirim sinyali ellerin sıcaklığı ile ilişkilidir. Terleme ile yüksek kan basıncı arasında bir ilişki mevcuttur. Kan basıncı kardiyak output'un (dakikada kalbin atım hacmi) ve periferik direncin bir sonucudur. Periferik direnç periferdeki kan akım miktarı ile ters orantılıdır. Kan vücutta ısınır ve derideki kan akımı arttığında deri de ısınır. Bu yüzden ısınmış eller periferik direnç ve kan basıncı azaldığında meydana gelen artmış kan akımına işaret eder.

Biyogeribildirim uygulamaları ayrıca stres kontrolü tekniklerinin öğretilmesinde de kullanılmıştır. Fizyolojik açıdan biyogeribildirim uygulamalarını kullanarak oluşan rahatlama bireylere otonom sinir sistemlerinin parasempatik kısmına spesifik kontrolleri (kalp atım sayısını azaltmak gibi) aktive edebilmeyi öğretir. Aynı zamanda biyogeribildirim sempatik sinir sisteminin aktivitesinin azaltmada da kullanılabilir.

Galvanik deri tepkisi ya da elektrodermal aktivite genel olarak sempatik sinir sistemi aktivitesi ile ilişkili tek değişkendir. Galvanik deri tepkisi, ter bezi aktivitesi ve elin palmar yüzeyindeki deri tepkileri tarafından etkilenir. Kalbin aksine ter bezleri sadece sempatik sistem tarafından aktive edilir. Eğer otonom sinir sisteminin sempatik kolu aşırı derecede aktive olursa sonrasında ter bezi aktivitesi artar ve bu nedenle GSR de artar. Bu ilişkiden dolayı GSR geleneksel olarak doğal sempatik aktivitenin göstergesidir. Bir kişi rahatladığı zaman GSR düşüş göstermelidir.

GSR duygusal ve sempatik yanıtın bir ölçüsü olarak kullanılmıştır. Tepkiler, aynı uyaran düzeyi verildiğinde birbirleriyle uyumlu değildirler. Dış faktörler (örneğin; sıcaklık ve nem) tutarsız sonuçlara ilave olarak GSR ölçümlerini etkiler. İç faktörler de (ilaç uygulamaları) GSR ölçümlerini değiştirebilir.

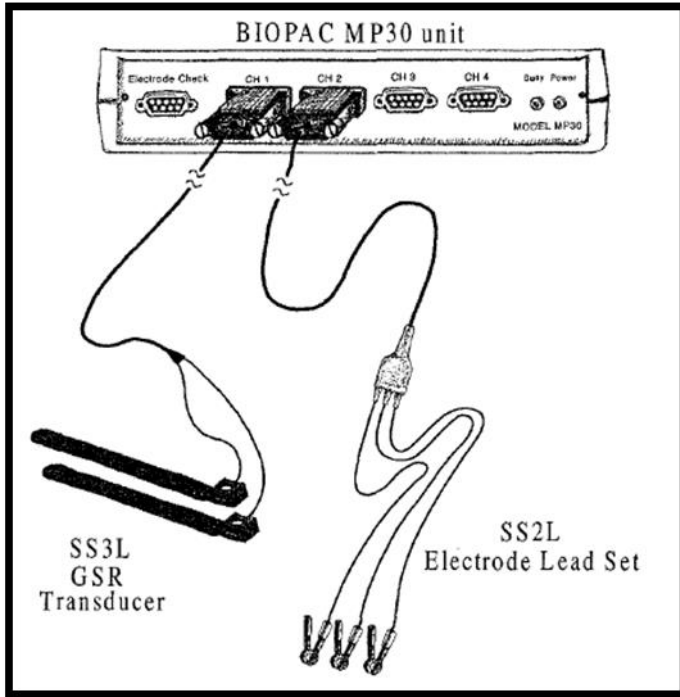
Diğer bir farklılık palmar ter bezlerinin nörotransmitterlerinin sempatik sinir sisteminin çoğunda bulunduğu üzere norepinefrin değil asetilkolin olmasıdır.

Bu uygulamada biyogeribildirim sinyali, deneğin kendi kalp atım sayısı ve uyarılmasının (GSR) bilincine varmasına imkan tanıyan kalp atım sayısı ve GSR'deki değişiklikler ile yükseliş ya da düşüş gösteren termometre şeklinde çubuk bir grafik ekran üzerine çizdirilecektir. Denek okunan değerleri fiziksel hareketler olmaksızın değiştirmeye çalışacak ve kalp atım sayısı ile uyarılma düzeyinin birbirinden bağımsız olduğunu görebilecektir.

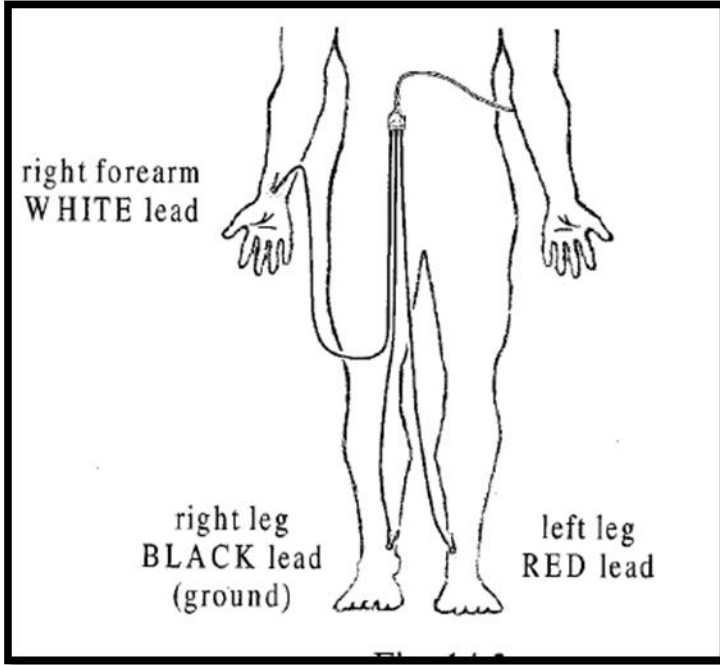
Projeksiyon üzerinden PC ile bağlı Biopac MP 30 kayıt cihazında biyogeribildirim kaydı yapılacaktır.

### Deneyin Yapılışı:

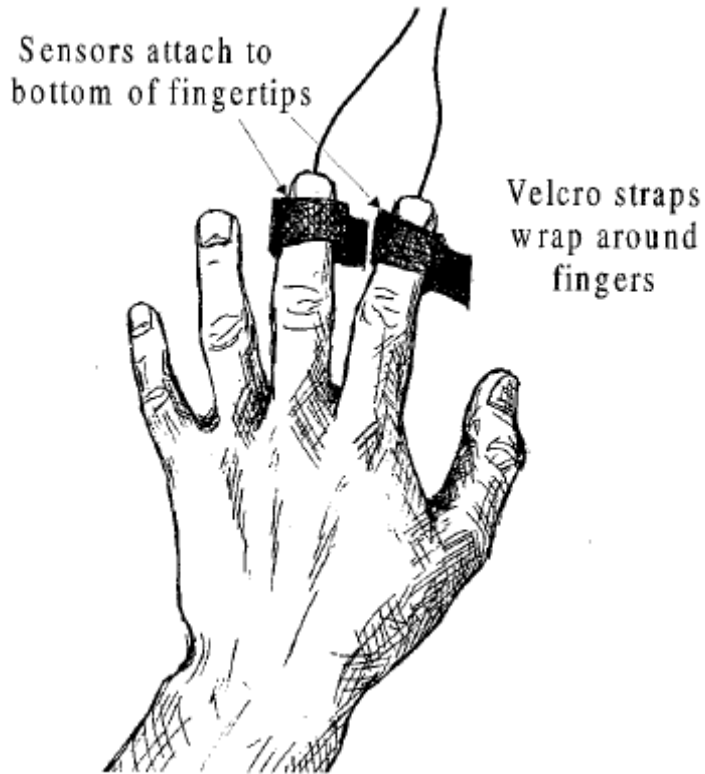
Öncelikle PC ve Biopac MP30 cihazı talimatlara uygun şekilde hazır hale getirilir (Şekil ). GSR transdüseri kanal 1'e, elektrot kablo seti kanal 2'ye bağlanır. Son 1 saat içinde egzersiz yapmamış bir denek seçilir. Sağ el bileği, sol ve sağ ayak bilekleri içine elektrotlar yerleştirilerek bipolar ekstremite derivasyonlarından II.derivasyon hazırlanır. Sağ el bileğine beyaz, sol ayak bileğine kırmızı ve sağ ayak bileğine siyah (toprak) kablo ve elektrot uçları yerleştirilir (Şekil ). Sonrasında elektrot boşlukları jel ile doldurularak GSR transdüseri parmak uçlarına takılır. Transdüser ile parmak uçlarının tırnaksız kısımları sarılır (Şekil ).



Şekil 1. Biyogeribildirim uygulamasının hazırlanışı.



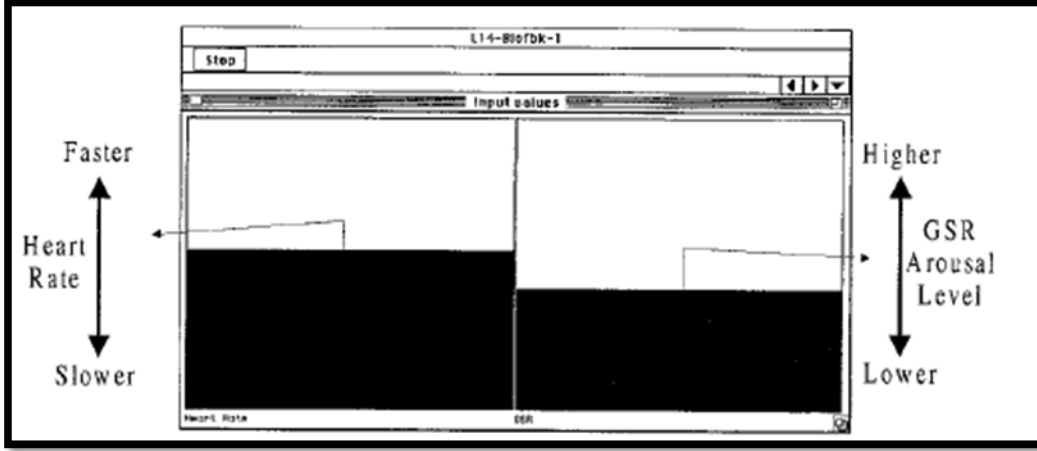
Şekil 2. EKG elektrotlarının ve kablolarının yerleştirilmesi.



Şekil 3. GSR Transdüserinin yerleştirilmesi.

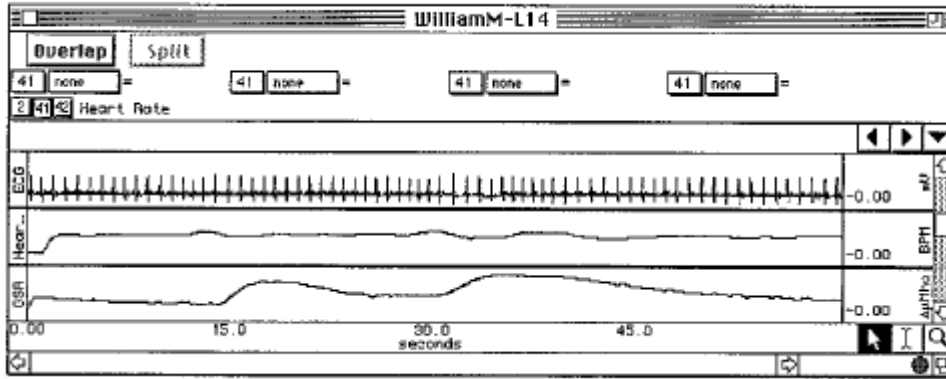
Kalibrasyon için program açılır. Denek rahat ve normal durumda oturtulur. Kalibrasyona başlanır. Bip sesinden sonra denek bir kez nefes alır ve verir (Artefakt oluşturmamak için göğüs kafesi kasları aşırı zorlanmamalıdır). 10 sn sonunda da kalibrasyon tamamlanır.

Öncelikle kayda başladığınızda kalp atım sayısı ve GSR düzeyi termometre şeklindeki çubuk bir grafikte ekrana gelecektir (Şekil 4). Kalp atım sayısı solda GSR'deki değişiklikler ise sağda izlenecektir. Kalp atım sayısının artışı ile grafikte yükseliş gösterecektir. GSR düzeyi de yüksek derecede bir uyarılmayı gösterir şekilde grafikte yükselir. Bu uygulamada denek öncelikle bu monitöre konsantre olarak fiziksel hareketler olmadan okunan değerleri değiştirmeye çalışacaktır. Kalp atım sayısı ve GSR düzeyi birbirinden bağımsızdır. Böylece bu değerlerin birini ya da diğerini veya her ikisini birden de değiştirebilir. Bu grafik sadece kayıt işlemi yapılırken ekranda görülecektir. Kayıt tamamlandığında görüntü standart data grafiğine dönüşecektir.



Şekil 4. Kalp atım sayısını ve GSR düzeyini gösteren grafik.

Kayıt butonuna tıklayarak kayıt işlemine geçilir. İlk 90 sn boyunca denek sakin olmaya çalışarak grafikteki düzeyleri aşağıya çekmeye çalışmalıdır. Bunun için denek oturmuş pozisyonunu rahatlatılabilir, çok yavaş nefes alıp verebilir, kendini sıcak ve sakin bir deniz kıyısında hayal edebilir, gülümseyebilir ve gözlerini kapayabilir. Bu 90 sn sonunda kayda bir işaret konulur. Bunun için klavyeden F9 tuşu kullanılır. Sonrasında denek kayıta bu kez GSR ve kalp atım sayısını artırmaya çalışır. Kendini daha fazla uyarılmış bir hale getirebilmek için stresli bir durumu düşünebilir. Deneğin arkasında aniden el çırpılabilir, yüzünü buruşturabilir ve nefesini tutabilir. Değerler değiştirmeye çalışıldıktan belli bir süre sonra durdurma butonuna iki kez tıklanır. Bu kez ekranda standart 3 kanal kayıt ekranı belirir (Şekil 5). En üstte GSR kaydı, ortada EKG ve en altta ise kalp atım sayısı grafiği mevcuttur. Kayıt çizelgelerinde herhangi bir sorun yoksa kayıt işlemi tamamlanır.



Şekil 5. Üç kanallı standart kayıt ekranı.

Kayıtların incelenmesine geçilir. Kanal 2 yani EKG kaydı Ctrl tuşu kullanılarak grafikten kaldırılır. 41 ve 42. Kanallardaki değerlere bakılır. Bunun için I imleci ile istenilen nokta ya da noktalar arası ölçülür.

10 sn'deki değerler referans olarak alınır. Sonrasında işaret koyduğumuz kısmın hemen önü değerlendirilerek maksimum rahatlamanın etkilerine bakılır. İkinci kısımda da ölçümler yapılır ve son olarak maksimum uyarılma noktasında değerlendirme gerçekleştirilir. Kayıt değerlendirilmesi bu şekilde tamamlanır.

### **ÇALIşMA SORULARI**

- 1) Biyogeribildirim nedir tanımlayınız ve nasıl bir mekanizmaya sahiptir açıklayınız?
- 2) GSR ölçümü biyogeribildirim uygulamalarında neden kullanılır?
- 3) Otonom sinir sisteminin bölümlerini ve fonksiyonlarını yazınız?

**Uygulamanın adı:** Görme testleri ve özel duyular.

**Yapılacağı hafta:** 7

**Uygulamanın temel hedefi:** Görme, işitme, koku, tat duyuları gibi özel duyuların kavranması ve görsel içerikleri ile duyusal mekanizmaların öğrenilmesi.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:** Bilgisayar, projeksiyon cihazı.

## **UYGULAMA BİLGİSİ**

Canlıda duyuma neden olan etkene uyaran denir. Uyaran, sadece organizmanın dış ortamından gelmez, iç bünyesinden de gelebilir. İç uyaranlar, organların kontrolünü, dış uyaranlar ise canlının dış çevresi ile olan ilişkilerinin düzenlenmesini sağlar.

### **Özel Duyular:**

#### **1) Görme olayı**

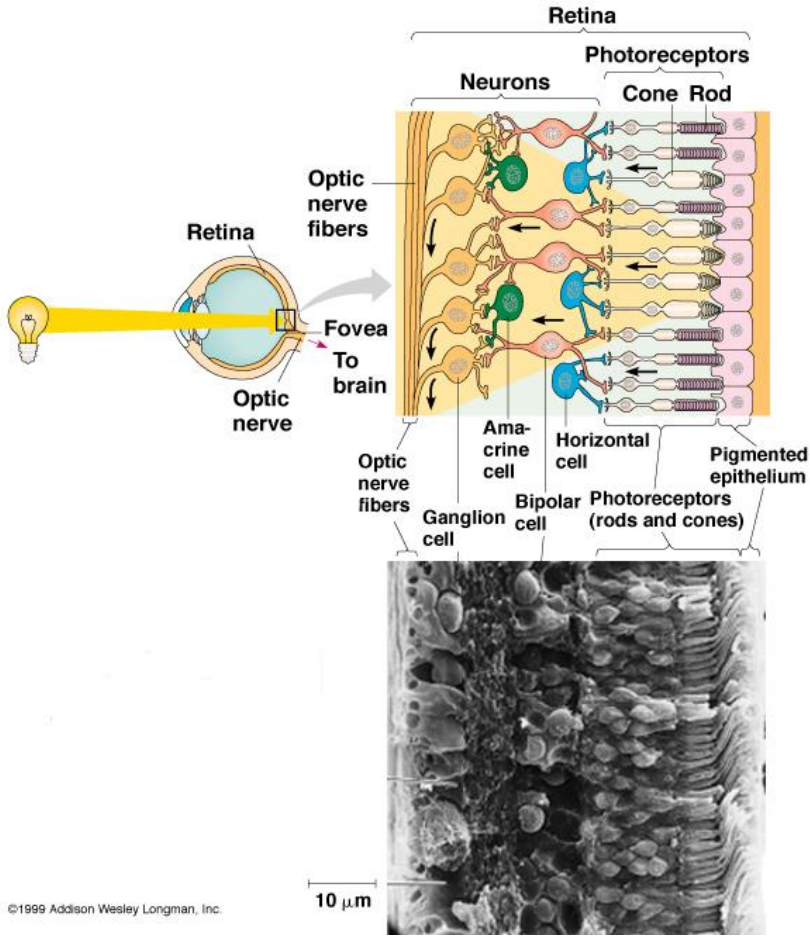
Göz hem ışık reseptörü, hem de uzaklık reseptörüdür. Değişik hayvan grupları değişik dalga boylarındaki ışığa karşı duyarlılık gösterir. Örneğin insanda kırmızı ötesi ışık, enerjisinin düşük olması nedeniyle görme ile ilgili pigment moleküllerinde gerekli enerji değişimi yapamaz ve uyarı gerçekleşemez. Ancak, bazı hayvanlar örneğin yılanların kırmızı ötesi ışığa duyarlı reseptörleri vardır. Ayrıca, göze gelen ışık şiddeti pupillanın genişleyip daralması, skleranın saydam olmaması ve koroid, retina, iris pigmentlerinin absorbe edici özellikleri ile ayarlanır.

Görme fonksiyonu için retinanın uyarılması birinci koşuldur. Retina, üç gangliyon tabakasından ve bunların uzantısından oluşan karmaşık bir yapıdır. Işığa duyarlı kısım retinanın en gerisindedir. Bu fotoreseptörler, retinanın koroid tabakasına değen dış katmanda sıralanmış olan koni ya da çomak şeklindeki hücrelerdir. Göze gelerek merceklere kırılan ışınlar, retinayı oluşturan histolojik yapılarda hiç bir etki yapmadan geçer ve retinanın en sonunda bulunan bu hücrelere ulaşır. Fizyolojik olarak görme süreci bu yapılarda meydana gelir.

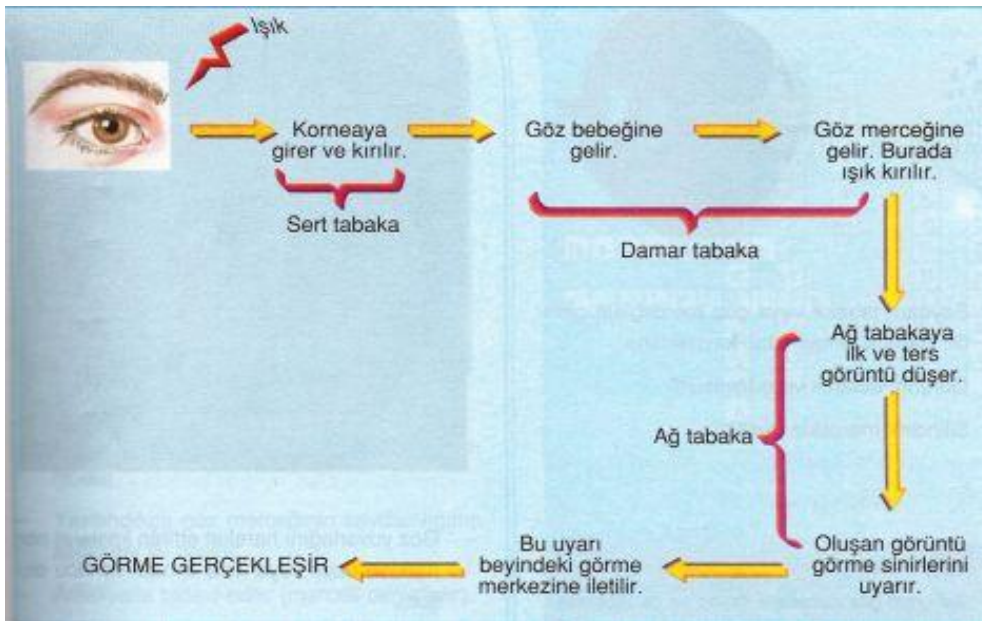
Işığın retinaya ulaşmasıyla burada fiziksel, kimyasal ve morfolojik değişiklikler meydana gelir. Işık etkisiyle retinada elektrik potansiyeli değişir ve aksiyon potansiyeli meydana gelir. Omurgalı gözlerinde, sürekli bir potansiyel fark oluşturulur. Bu potansiyel fark, ışık etkisinden sonra aksiyon potansiyeline çevrilir. Omurgalı retinasındaki rod reseptörleri (çubuk-çomaklar-basiller) az ışıpta renksiz görmeden sorumludur. Kon reseptörleri (koniler) ise aydınlık ışıpta renkli görmeden sorumludurlar.

Bir rod fotoreseptörü; dış ve iç segmentleri, hücre gövdesi ve bir sinaptik bölgesi ile (rodun kimyasal sinyali retinal sinir hücresine aktardığı) oldukça özelleşmiş bir hücredir. Rodopsin, G-protein bağlantılı reseptör ailesinin diğer üyelerine homolog 7 geçişli transmembran bir moleküldür ve üçlü G-protein aracılığı ile etkili olur.

Rodopsin, ışığın etkisiyle protein ve A vitaminine parçalanır. Bu durumda kırmızı rengini kaybeder. Serbest kalan A vitamini retinale dönüşür. Böylece rodopsin, retinal ve proteine parçalanmış olur. Bu kimyasal değişiklik görme sinirinin uçlarını uyarır. Bu uyarı da beyne ışık alma duyusu olarak gönderilerek görme olayını başlatır.



Şekil 1. Fotreseptörler.



Şekil 2. Görme olayı.

## 2) İşitme

Kulak üç temel kısımdan oluşmuştur: Dış kulak, Orta kulak, İç kulak

Kulağın her bir kısmı özel bir amaçla sesi algılamak için çalışmaktadır. Dış kulak ses dalgalarını toplayıp orta kulağa iletmekten, orta kulak aldığı ses dalgalarının enerjisini değiştirerek sıkıştırılmış dalgalar şeklinde iç kulağa iletmekten sorumludur. İç kulak ise aldığı bu ses dalgalarını sinir sinyallerine dönüştürerek beyne gönderir ve beyinde sesin algılanıp yorumlanması gerçekleşir.

### Dış Kulak

Dış kulak, kulak kepçesi ve kulak kanalı olmak üzere 2 kısımdan oluşmuştur. Kulak kepçesi özgül şekli sayesinde ses dalgalarını toplamaktan sorumludur. Bu yapı ayrıca, sesin gelme yönünü ayırt etmemizi de sağlar. Kulak kepçesinden giren dalgalar yaklaşık 2 cm uzunluğunda olan kulak kanalından geçerek kulak zarına gelir. Bu aktarım esnasında, kulak kanalı ve kulak kepçesinin yapısından dolayı, özellikle 3000 Hz frekansındaki sesler şiddetleri artırılarak orta kulağa gönderilir (dış kulağın transfer fonksiyonu). Esas olarak basınç dalgaları olan ses dalgaları, kulak zarına çarparak titreşmesine neden olurlar.

### Orta Kulak

Orta kulak, kulak zarı ve birbirine eklemlenmiş 3 tane kemikçikten oluşan hava dolu bir boşluktur. Bu 3 kemik dıştan içe doğru sırasıyla çekiç (malleus), örs (incus) ve üzengi (stapes)'dir. Kulak zarı oldukça gergin bir yapıdır ve zarın titreşim frekansı gelen ses dalgasının frekansı ile aynıdır. Kulak zarı çekiç kemiği ile bağlantılı olduğundan zarı titreştiren ses dalgaları aynı zamanda çekiç kemiğini de titreştirir ve çekicinin hareketi diğer iki kemiği (örs ve üzengi) de hareket ettirir. Üzengi tabanının iç kulaktaki oval pencereyle bağlantılı olması sayesinde bu titreşimler iç kulağa iletilir.

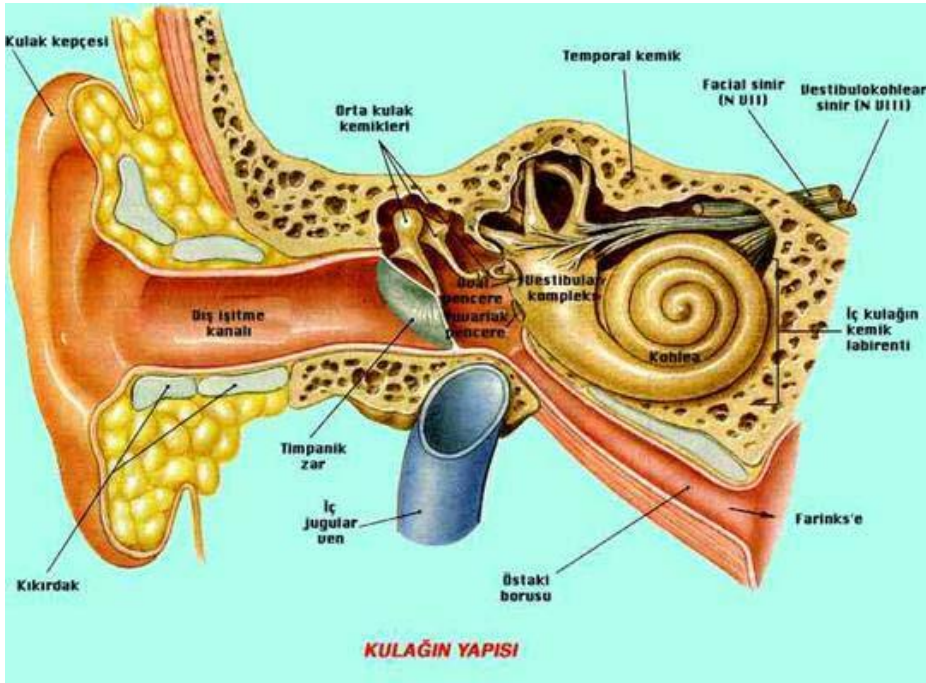
### İç Kulak

İç kulak, denge ile ilişkili olan 'vestibüler sistem' ve işitme merkezi olan 'kohlear sistem'i içeren karmaşık yapıya sahip bir bölgedir.

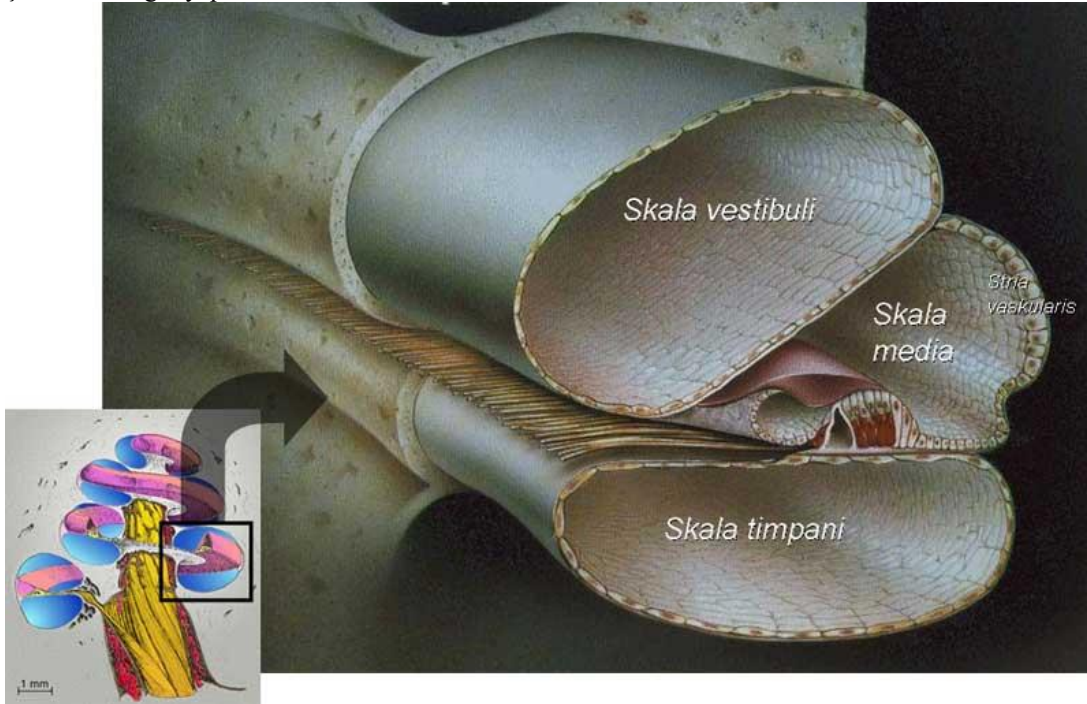
Sesin kohleaya gelişi ve baziller zardaki değişimler;

Stapes (üzengi) kemiğinin tabanı, kohleanın tabanında bulunan ve kohleanın girişini oluşturan 'yuvarlak pencere' ile temas halindedir. Stapes tabanının oval pencereye doğru hareketi perilenf sıvısını skala vestibuli boyunca hareket ettirir. Bu hareket helikotremanın skala timpaniye geçerek oval pencerenin alt kısmında bulunan yuvarlak pencereyi dışarı doğru iter. Perilenfin bu hareketi hem endolenfin hem de baziller membranının titreşmesine neden olur.

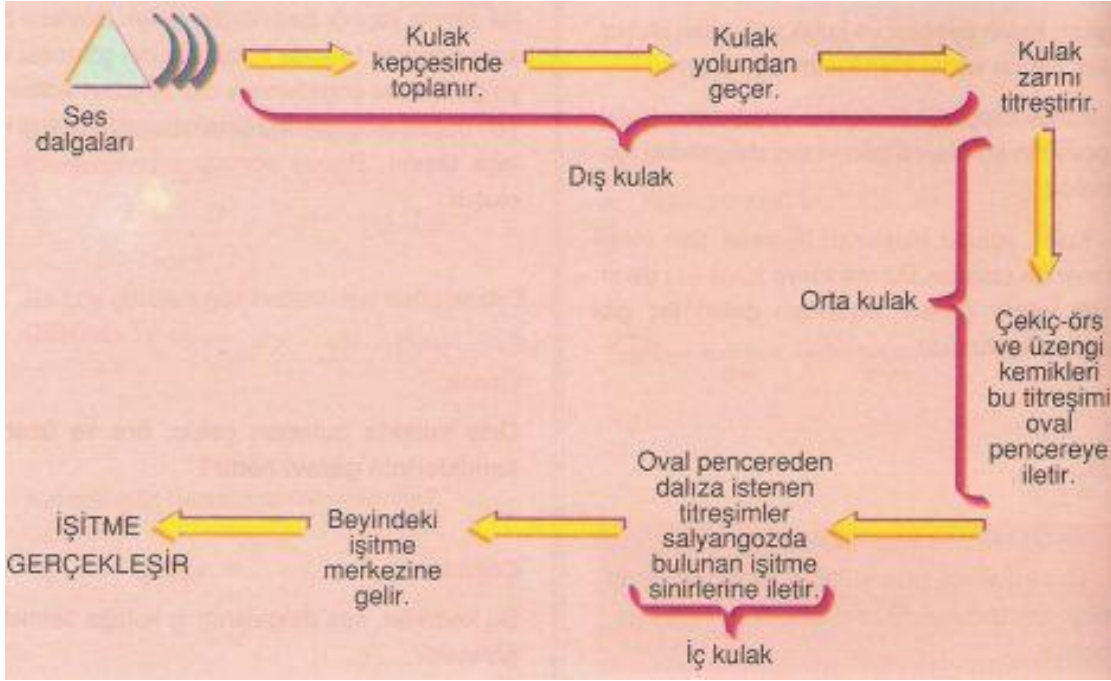
Baziller zar, skala mediyayı scala timpaniden ayıran fibröz bir membrandır. Helikotremanın doğru gittikçe genişleyen bir yapıya sahip olan membran 20.000-30.000 kadar baziller lif içerir. Bu lifler membranın başlarında kısa ve kalın iken kohleanın tepesine doğru gittikçe boyları uzar ve çapları küçülür. Bu nedenle baziller membran oval pencere yakınında dar ve sert iken apikal uçta daha geniş ve esnektir. Zardaki bu değişkenlik ile gelen sesin frekansına göre baziller zarın farklı pozisyonlarda titreşmesi sağlanır. Her maddenin, bileşimine bağlı olarak belli bir doğal frekansı olduğu göz önüne alınırsa, baziller zarın dar ve sert olan baş kısmının doğal frekansı, daha geniş ve esnek olan apikal ucun doğal frekansından yüksektir. Dolayısıyla her bir ses frekansı baziller zarın özel bir bölgesini diğerlerine göre daha fazla titreştirir ve titreşimin miktarı da gelen dalganın genliği (şiddeti) ile orantılıdır.



Şekil 3. Kulağın yapısı.



Şekil 4. İç kulakta kokleanın enine kesiti.



Şekil 5. İşitme olayı.

### 3) Koku Alma

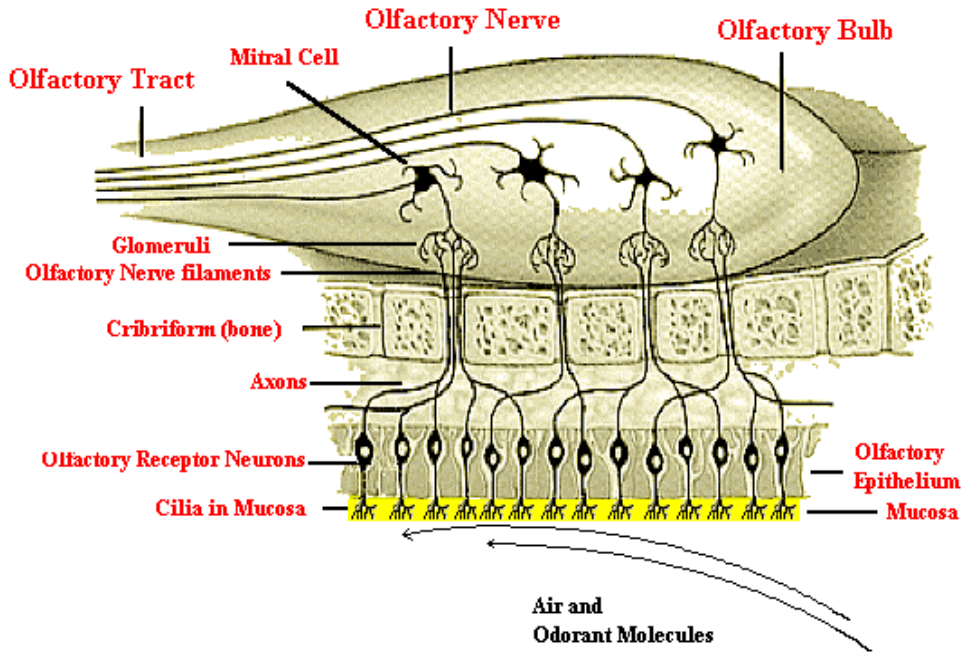
Koku duyusu doğada yiyeceklerin varlığı, alınan zevk ve tehlike hakkında bilgi verir. Yiyeceklerin sindirimi ve kullanımı için gerekecek olan fizyolojik değişiklikleri başlatır.

Koku almak için suda ya da yağda eriyebilen bileşiklerin burun mukozasına teması gerekir. Yüksek oranda emilen kimyasallar, düşük koku oluşturma etkinliğine sahiptir. Etkin bir koku uyarımı için burun hava akımı gerekmektedir.

#### **Koku algılama hücreleri:**

- Dış dünya ile direkt ilişkidirler, bariyer yoktur.
- Beyinle direkt iletişim kurarlar.
- Kokuyu ileten sinirler organizmadaki en ince ve yavaş sinirlerdir, diğer duylara oranla algı biraz gecikir.
- Koku duyusu sinirleri koku yakalamak için özelleşmiştir.
- Mukus;
  - o Gerekli molekülleri ve iyonik ortamı sağlar.
  - o Çözünebilir, koku bağlayan proteinler bulunur.
  - o Molekül yoğunlaştırma, taşıma uzaklaştırma görevini yaparlar.

Koku duyusunun ilk basamağı burundaki koku duyu sinirlerinde başlar. Bu sinirler burun boşluğunun arkasında  $5 \text{ cm}^2$ 'lik bir alanı kaplayan özelleşmiş bir yapıda bulunmaktadır. Koku bilgisi beyindeki koku merkezine ulaştığında, beyin daha önceki deneyimlerle belirlenmiş olan şifreleri çözerek kokunun tanınmasını sağlar. Beyine ulaşan koku bilgisi duygusal ve dürtüsel merkezlerle de iletişir. Kokunun davranış ve duygular üzerindeki etkileri bu bağlantılarla açıklanabilir.



Şekil 6. Koku Alma

**Uygulama adı:** Elektromiyografi (EMG)

**Yapılacağı hafta:** 8

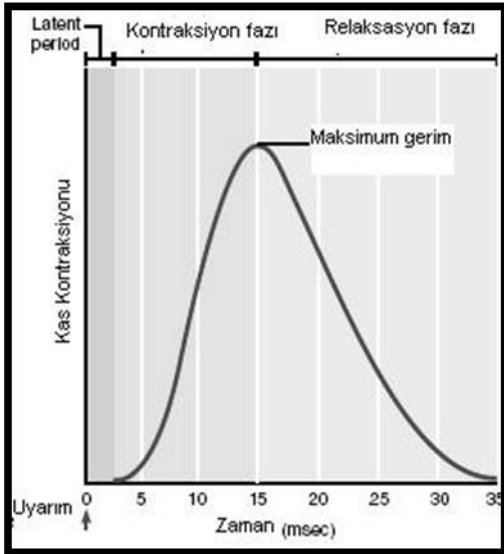
**Uygulamanın temel hedefi:** Summasyon, tetanus, izometrik ve izotonik kontraksiyon gibi kavramların gözlemlenerek anlaşılması.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:** Bilgisayar, projeksiyon cihazı ve PhysioEx 8.0 programı.

### UYGULAMA BİLGİSİ:

Spinal kanalı terk eden her motor nöron, sayısı kasın tipine bağlı olmak üzere, birçok kas lifini innerve eder. Bir motor sinir lifi tarafından innerve edilen kas liflerinin tümüne **motor ünite** denir. Sinir ucu, kas lifiyle lifin ortasına yakın bir yerde, *sinir-kas kavşağı (nöromusküler kavşak)* denen bir bağlantı yapar. Sinir lifi uç kısmında terminal dallara ayrılır ve kas lifinin içine doğru girer. Fakat lifin plazma membranının dışında kalır. Bu yapının tamamına *motor son plak (end-plate)* denir. Aksiyon potansiyeli motor sinir boyunca kas lifindeki sonlanmasına kadar yayılır. Her sinir ucundan nörotransmitter olarak az miktarda asetilkolin salgılanır. Asetilkolin, membrandaki asetilkolin kapılı kanalları açarak, kas lifi membranından çok miktarda  $\text{Na}^+$  iyonunun içeri girmesini sağlar. Bu olay kas lifinde aksiyon potansiyelini başlatır.

Uygulamada, aksiyon potansiyelini tetiklemek için asetilkolin yerine elektriksel uyarı verilecektir. Elektriksel uyarı, stimülatör ile gerçekleştirilir. Tek bir kas lifine elektriksel uyarı verildiğinde kasılma meydana gelir. Kasılmanın 3 fazı vardır: **latent periyot**, kas hücresindeki aksiyon potansiyeli ile kontraksiyonun başlangıcına kadar geçen süreyi ifade eder; **kontraksiyon fazı**, latent periyodun sona ermesi ile başlar ve kas geriminin pik yaptığı noktada son bulur; ve **relaksasyon fazı**, maksimum gerimden kas kontraksiyonunun sonlanmasına kadar geçen süreyi ifade eder (şekil).



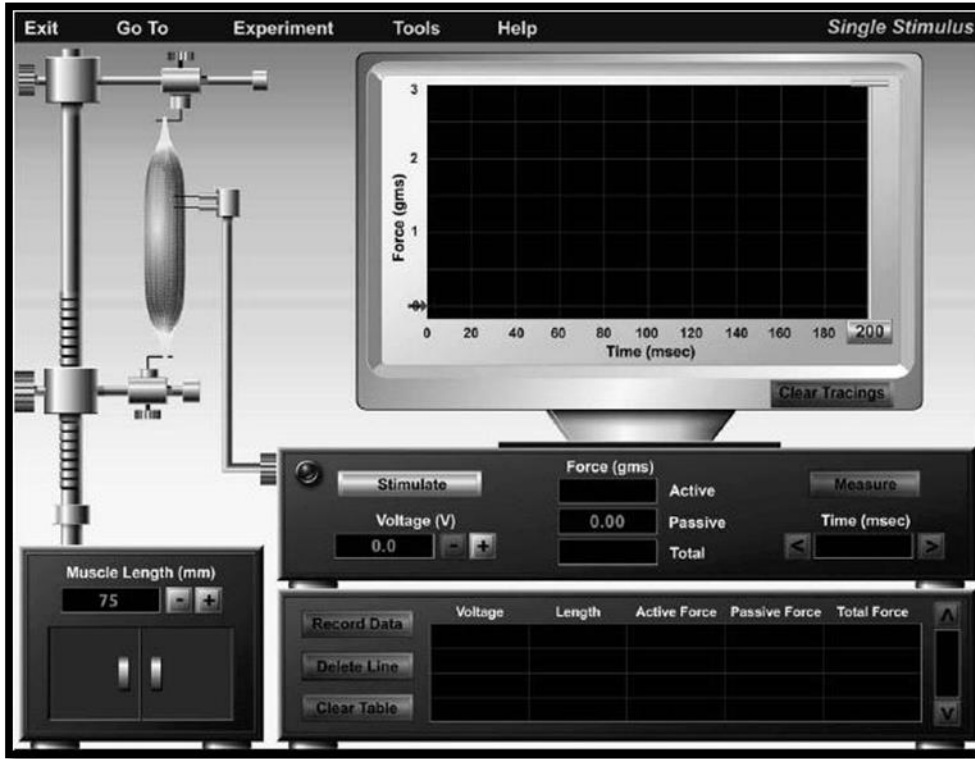
Şekil 1. İzometrik kasılmaya ilişkin miyogram.

Bu uygulamada tek (şekil) ve multiple (şekil) uyarım verilmesine ayrıca, izotonik (şekil) ve izometrik (şekil) kasılmaların oluşumuna ilişkin simülasyonlar yapılacaktır.

## 1. Tek Uyarım Verilmesine İlişkin Simülasyonlar

Ekranın sol tarafında asılı şekilde duran bir kas bulunmaktadır. Elektriksel uyarım verildiğinde, kasta oluşan reaksiyon osiloskop ekranında grafiksel olarak şekillenecektir.

Osiloskop ekranının alt kısmında bulunan stimülatörün voltajı istenilen düzeye ayarlanarak uyarım gerçekleştirilir. Stimülatörün orta kısmında aktif, pasif ve total güç olmak üzere 3 bölüm vardır. Aktif güç, kas kontraksiyonunda; pasif güç ise, kasın geriminde oluşmaktadır. Aktif ve pasif gücün toplamı total gücü verir. Sarı vertikal çizgi şekillendikten sonra ölçüm yapılır. Çizginin X eksenini boyunca ilerlemesi ve aktif, pasif veya total gücün oluştuğu spesifik zamanın belirlenmesi (<) veya (>) tuşlarıyla sağlanır. Uygulama sonucunda elde edilen veriler kaydedilir.



Şekil 2. Tek uyarıma ilişkin simülasyon

**a) Latent Periyodun Belirlenmesi:** Voltaj 6'ya ayarlanarak simülasyon başlatılır. Voltaj değeri artırılarak veya azaltılarak deney tekrar edilir.

**b) Eşik değerin Belirlenmesi:** Depolarizasyonu gerçekleştirmek amacıyla gerekli olan en düşük uyarım *eşik değeri* olarak tanımlanır. Diğer bir deyişle, depolarizasyonu gerçekleştirmek amacıyla  $Na^+$  iyonlarının hücre içine hareketini sağlayan değerdir.

Voltaj 0 olarak ayarlanır ve simülasyon başlatılır daha sonra voltaj 0.1'e yükseltilerek osiloskop ekranı gözlemlenir ve aktif güç şekillenir.

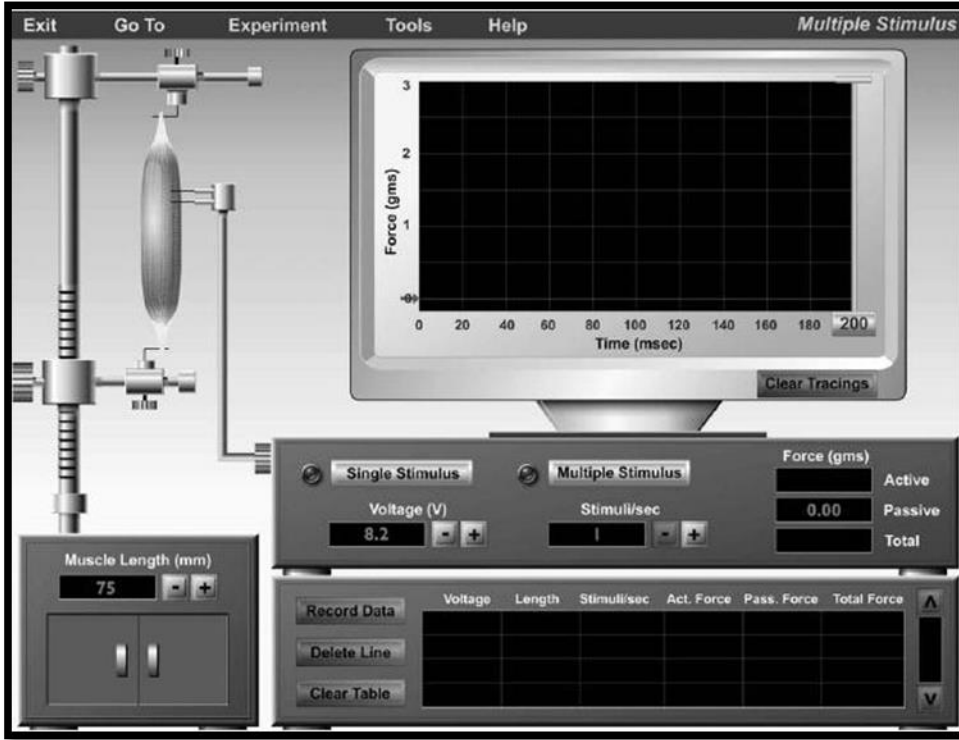
**c) Uyarım Şiddetindeki Artışın Etkisi:** Bu etkinin kas kasılmasını nasıl etkilediği incelenecektir.

Voltaj 0.5'e ayarlanarak uyarım başlatılır. 10 volta ulaşana kadar voltaj 0.5 artırılarak deney tekrarlanır.

## 2. Multiple Uyarıma İlişkin Simülasyonlar

**a) Merdiven Etkisi:** Bir kas uzun bir dinlenme döneminden sonra kasılmaya başladığı zaman, başlangıçtaki kasılma gücü 10-15 sarsı sonraki gücünün ancak yarısı kadar olabilir. Bu demektir ki, kasılma gücü bir platoya kadar giderek artar. Bu fenomene *merdiven etkisi* denir.

Bir önceki aktivitede belirlenen en yüksek voltaja ayarlanır. Osiloskop ekranının sağ köşesinde yer alan 200 bölümü seçilir. Önce tek bir uyarım verilir ve grafiğin yükselmesi ve düşüşü izlenir. Grafik düşer düşmez tekrar bir uyarım verilir. Grafik tekrar yükselir ve düşer. Grafik düştüğü zaman, üçüncü kez yeniden bir uyarım gönderilerek veriler kaydedilir.



Şekil 3. Multiple uyarıma ilişkin simülasyon.

**b) Summasyon:** Tek tek sarsıların birleşerek kasın kasılma şiddetini artırmasına **summasyon** denir. Maksimum voltaja ayarlanır. Tek bir uyarım gönderilerek osiloskop ekranı gözlemlenir. Daha sonra tekrar bir uyarım gönderilir. Grafiğin yükselmesi ve düşmeye başlaması izlenir. Grafik tamamen düşmeden önce iki kez hızlı bir şekilde uyarım verilir ve böylece grafiğin tekrar yükselmesi ve düşmesi sağlanır. Son kez uyarım verilerek grafik yükseltilir. Fakat düşme şekillenmez. Voltaj azaltılarak uygulama tekrarlanır.

**c) Tetanus:** Düşük frekanslı stimülasyonda birbiri ardına tek sarsılar oluşur. Daha sonra frekans artarken her yeni kasılmanın bir öncekinin üstüne bindiği bir noktaya ulaşılır. Sonuçta ikinci kasılma kısmen birinciye eklenir, total kasılma gücü frekansla birlikte giderek artar. Frekans belli bir kritik değere ulaştığında, ardıl kasılmalar o kadar hızlıdır ki, gerçekten birbiriyle kaynaşır ve kasılma tamamen düzgün ve devamlı olur. Buna **tetanizasyon** denir. Kasılma gücü maksimuma ulaştıktan sonra frekansın daha fazla artması kasılma gücünü artırmaz. Buna *maksimum tetanik kasılma* denir.

Uyarım/d 50'ye ayarlanır. Maksimum voltaj seçilerek multiple uyarım gerçekleştirilir. Grafik ekranın tamamında şekillendiğinde uyarım durdurulur. Uyarım/d önce 130'a, daha sonra 145'e artırılarak deney tekrar edilir. Uyarım/d 145'ten sonra 150'ye ulaşınca kadar birer birer artırılarak deney yinelenir.

**d) Kas Yorgunluğu:** Kasın uzun süre ve kuvvetli kasılması kas yorgunluğuna neden olur. Yapılan çalışmalarda kas yorgunluğunun direkt olarak kas glikojen tükenme hızı ile orantılı olduğu tespit edilmiştir.

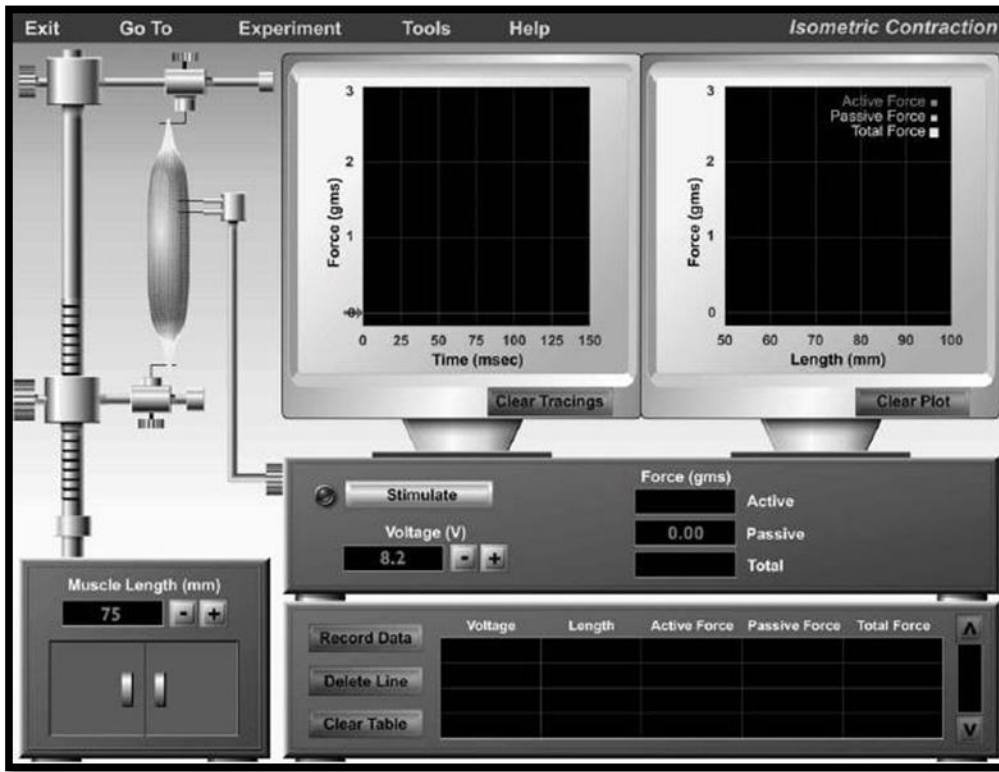
Uyarım/d 100 üzerine çıkarılır ve uygulama gerçekleştirilir.

### 3. İzometrik ve İzotonik Kontraksiyonlar

Kasın kısalmadan kasılmasına **izometrik**, kastaki gerim sabit kalıp kısalarak kasılmasına **izotonik** kasılma denir.

Bu simülasyona ilişkin ilk gerçekleştirilecek aktivite izometrik kontraksiyondur. Simülasyonda iki osiloskop ekranı bulunmaktadır. Bunlardan soldaki daha önceki uygulamalarda kullanılan ile aynıdır. Sağdaki ise farklıdır. Y eksenı gücü, X eksenı ise kasın uzunluğunu belirtir.

Voltaj 8.2'ye ayarlanır ve uyarım verilir. Sağdaki ekranda üç güce ilişkin indikatör görülecektir. Pasif gücün indikatörü yeşil, aktif gücün pembe, total gücün ise sarıdır.



Şekil 4. İzometrik kasılmaya ilişkin simülasyon.

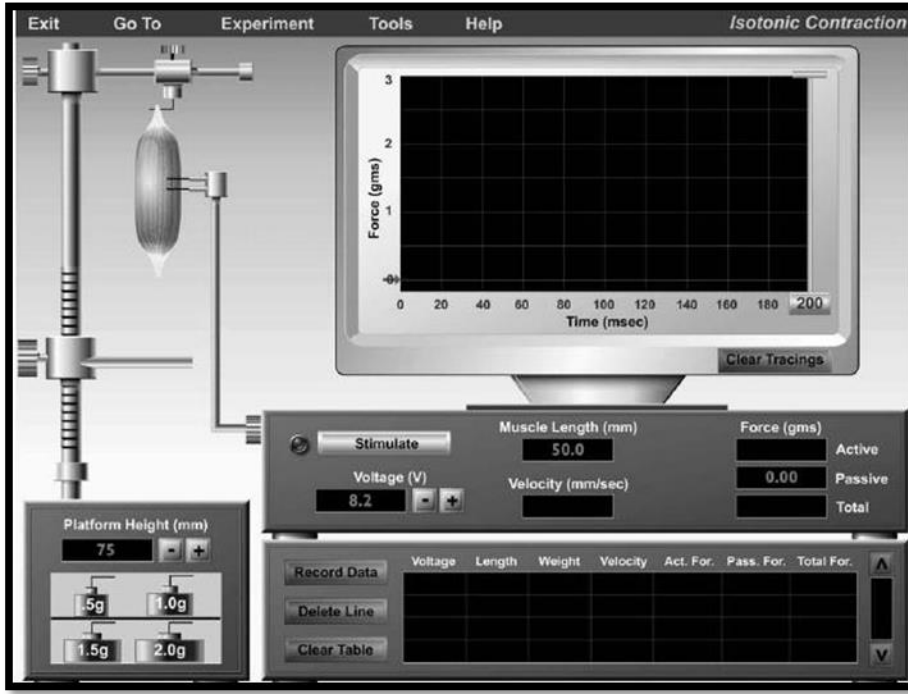
**a) İzometrik Kasılma:** Voltaj 8.2'ye, kas boyu da 50 mm'ye ayarlanarak uyarım başlatılır. Uygulama sonucunda veriler kaydedilir.

Simülasyon, kasın boyu 100 mm'ye ulaşana kadar 10'ar mm artırılarak tekrarlanır.

**b) İzotonik Kasılma:** Bu aktivitede platform boyunun alt kısmında yer alan 4 farklı ağırlık kasa asılarak izotonik kontraksiyon gözlemlenecektir.

Voltaj 8.2'ye, platform boyu da 75 mm'ye ayarlanır. Ağırlıklardan 0.5 g kasa asılarak uyarım başlatılır ve grafik gözlemlenir. Güçte bir artış meydana gelecektir. Daha sonra tekrar uyarım verilir. Aktivite tamamlandığında veriler kaydedilir.

Kasa 0.5 g ağırlık takılıp platform boyu, 100 mm'ye ve daha sonra kasa 1.5 g ağırlık takılıp boy 90 mm'ye ayarlanır ayrıca 60 mm'ye ulaşana kadar 10'ar mm azaltılarak simülasyon gerçekleştirilir.



Şekil 5. İzotonik kasılmaya ilişkin simülasyon.

### ÇALIŞMA SORULARI

1) Kas kasılmasının genel mekanizması hakkında bilgi veriniz.

.....

2) Asetilkolinin kas kasılmasındaki rolü nedir?

.....

3) Yorgunluğun kimyasal nedeni ne olabilir?

.....

4) Dambıl kaldırıldığında, kaslarda hangi tip kasılma meydana gelir (izotonik/izometrik)?

.....

5) Tetanizasyon nedir? Açıklayınız.

.....

**Uygulamanın adı:** Alyuvar sayımı

**Yapılacağı hafta:** 9

**Uygulamanın temel hedefi:** Alyuvar morfolojisi hakkında bilgi edinme ve tam kanda alyuvar miktarının sayısal olarak hesaplanması.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:** Işık mikroskobu, Neubauer lamı, lamel, alyuvar sulandırma pipeti, Hayem Eriyiği ve kan örneği.

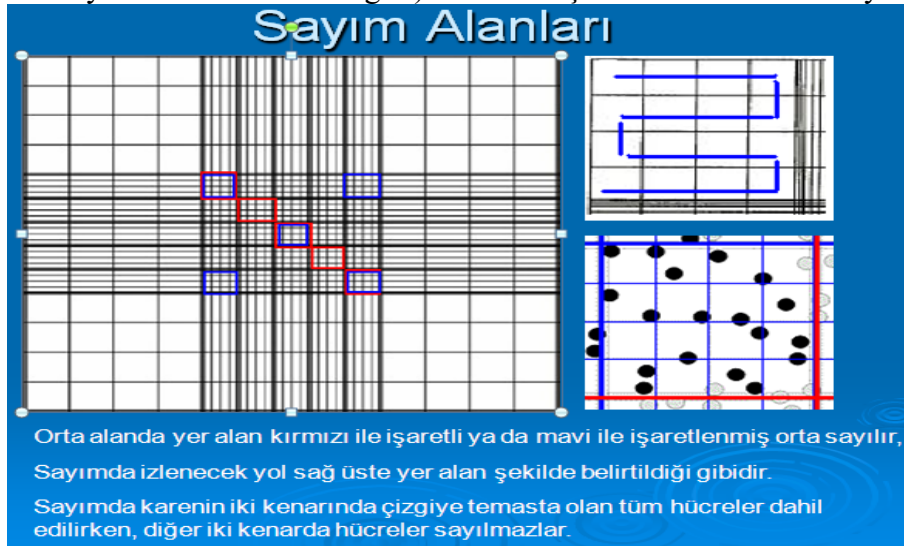
## UYGULAMA BİLGİSİ

### Deneyin Yapılışı

Alyuvar pipeti, baş ve işaret parmakları arasında lastik boru ile cam bölümün birleştiği yerden tutulur. Pipet üzerindeki bölümler görülebilecek şekilde ağızlık dudaklar arasında tespit edilir. Pipetin ucu kana daldırılarak -0.5- çizgisine kadar kan çekilir. Ucundaki kan bulaşığı silinir. Kan sütununun değişmemesi için ağızlık dille tamponlanır ya da yatay tutulur. Sonraki aşamada pipet dik bir şekilde Hayem Eriyiğine daldırılır ve -101- çizgisine kadar çekilir. Böylece kan 1/200 oranında sulandırılmış olur. Pipetin iki ucu baş ve orta parmaklar arasında tespit edilerek içten dışa doğru kan 3-5 dakika karıştırılır. Pipetin kapillar kesiminde sadece sulandırma sıvısı bulunduğundan, ilk iki damla kan atılır. Pipet 45° eğik tutularak, lam ile lamelin birleştiği yere dokundurulur. Kapillarite özelliği ile sayma kamarası kanla dolar. Lam mikroskobun preparat tablasına konur, alyuvarların çökmesi için birkaç dakika beklenir.

### Hücre Sayımı

Önce küçük büyültme ile alyuvarların homojen bir biçimde dağılıp dağılmadıkları kontrol edilir. Yer yer birikmeler varsa lam yeniden hazırlanır. Yayılma istenen biçimdeyse orta büyültme ile sol üst köşeden sayıma başlanır. Sayım dört köşeden bir de ortadan olmak üzere 5 orta karede gerçekleştirilir. Yani hacmi 1/4000 mm<sup>3</sup> olan küçük karelerden 80 tanesinin içindeki alyuvarlar sayılır. Orta kareler sayılırken, önce sol üst sıradan sağa doğru gidilir. Sağ kenar sonuna gelince alt sıraya geçilerek bu kez sağdan sola bir yol izlenir. Bir küçük karedeki alyuvarlar sayılırken de birbirine komşu iki kenar seçilir (örneğin sağ ve üst kenar ya da sol ve alt kenar gibi) ve bu komşu kenarlardan birisi sayılır, diğeri sayıma dahil edilmez.



Şekil: Örnek sayma şekilleri ve sayılacak-sayılmayacak çizgiler.

**Hesaplama:** Sayımın ilkesi, bilinen hacimde ne kadar hücre bulunduğunu saptayıp, buradan 1 mm<sup>3</sup>'teki miktarı hesaplamaktır. Yani hacmi 1/4000 mm<sup>3</sup> olan küçük kare prizmalardan birindeki alyuvarları sayıp, bunu 4000 ve sulandırma oranıyla çarparak 1 mm<sup>3</sup>'teki alyuvar sayısı bulunabilir. Ancak her küçük karedeki dağılım aynı olmadığından gerçeğe yakın bir değer hesaplama açısından aşağıdaki formülden yararlanılır.

$$\text{Alyuvar Sayısı} = \frac{\text{Bulunan hücre adedi (a) x sulandırma oranı x 4000}}{\text{Sayılan küçük kare adedi}}$$

Kullanılan değerler yerine konulursa;

$$\text{Alyuvar Sayısı} = \frac{(a) \times 200 \times 4000}{80} = a \times 10000 / \text{mm}^3 \text{ formülü elde edilir.}$$

Tablo 1. İnsan ve Hayvanlarda Alyuvar Sayıları (10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)

| Tür       | Ortalama değer ve değişim sı. | Yazar  | Tür         | Ortalama değer ve değişim sı. | Yazar       |
|-----------|-------------------------------|--------|-------------|-------------------------------|-------------|
| İnsan (E) | 5.4 (4.5-6.0)                 | Kolb   | Maymun      | 5.0 (4.0-7.0)                 | Schermer    |
| İnsan (K) | 4.8 (4.0-5.5)                 | “      | Tavşan      | 5.7 (4.5-6.6)                 | Erkol Konuk |
| At        | 9.5 (6.5-12.5)                | Schalm | Kobay       | 5.4 (4.6-6.5)                 | Schermer    |
| İnek      | 7.0 (5.0-10.0)                | “      | Beyaz sıçan | 8.0 (5.5-10.0)                | “           |
| Koyun     | 12.0 (8.0-16.0)               | “      | Beyaz fare  | 9.0 (8.0-12.0)                | “           |
| Keçi      | 13.0 (8.0-18.0)               | “      | Hamster     | 7.0(6.0-9.0)                  | “           |
| Köpek     | 6.8 (5.5-8.5)                 | “      | Tavuk       | 2.7 (2.14-3.15)               | Gardner     |
| Kedi      | 6.8 (5.5-8.5)                 | “      | Deve        | 9.3 (6.4-12.2)                | Wirth       |
| Domuz     | 6.5 (5.0-8.0)                 | “      | Ördek       | 3.0 (2.23-3.75)               | Gardner     |
| Merkep    | (6.4-7.1)                     | “      | Güvercin    | 3.4 (2.13-4.20)               | Schermer    |

## ANEMİLER

Alyuvar sayısının ya da hemoglobin miktarının veya her ikisinin birden azaldığı durumlara anemi denir. Günümüze kadar süren çalışmalar neticesinde kesin sınırlarla ayrılmış bir anemi sınıflandırması yapmak mümkün olmamıştır. Fakat belli kriterler açısından değerlendirmek gerekirse şu şekilde sınıflandırılabilir:

### Morfolojik sınıflandırma

Makrositik normokromik anemi  
Makrositik hipokromik anemi  
Normositik normokromik anemi  
Mikrositik hipokromik anemi

### Patofizyolojik sınıflandırma

Hemorajik anemiler  
Hemolitik anemiler

### Hipoproliferatif anemiler

Beslenme yetersizliği anemileri  
Paraziter hastalık anemileri  
Yangısal hastalık anemileri  
Aplastik anemiler

## Morfolojik Sınıflandırma

### MCV

- 1- Macrocytic
- 2- Macrocytic
- 3- Normocytic
- 4- Microcytic

### MCHC

- Normochromic  
Hypochromic  
Normochromic  
Hypochromic

**Makrositik Normokromik Anemi:** İnsanlarda ve seyrek olarak köpeklerde Vit.B<sub>12</sub> ve Folik asit eksikliğinden dolayı meydana gelir. Diğer nedenleri arasında çeşitli antimikotik ilaçlar, bazı karaciğer

hastalıkları, alyuvarların miyeloproliferatif hastalıkları (Eritremik Myelosis) ve bazı lösemiler sayılabilir. Makrositik alyuvarlar bazı Poodle ırkı köpeklerde anemi olmaksızın oluşabilir (MCV>80 fl). Makrositik normokromik alyuvarlar, kedilerde FeLV (Feline Leukemia Virus) bağlantılı miyeloproliferatif hastalıklarda yaygın olarak görülür.

**Makrositik Hipokromik Anemi:** Ergin alyuvarlara oranla daha büyük olan retikülositlerin sayısındaki artışla karakterize rejeneratif anemilerdir. MCV artmıştır. Retikülositler hipokromiktir. MCHC azalmıştır. Hemoglobin sentezi henüz bitmemiştir ve mevcut hemoglobin miktarı daha büyük hacim içerisindedir. Akut kan kaybı ya da akut hemorajilerde gözlemlenir. Aneminin başlangıcından birkaç gün geçtikten sonra kan tablosunda bu değişimler gözlemlenir. Aneminin düzelmesinden sonraki günlerde ise alyuvarlar kan tablosunda normal görüntülerine kavuşurlar.

**Normositik Normokromik Anemi:** Eritropoiezinin baskılandığı bazı kronik hastalıklarda, üreminin şekillendiği nefritler, kötü huylu tümörler ve bazı endokrin hastalıklarda gözlemlenir. Retikülosit cevabı ya hiç yok ya da çok azdır. Bunun nedeni eritropoetin yapımında bir eksiklik, kemik iliği baskılanması ya da demir kullanımındaki defektler olabilir. Bu tür anemide tedavi girişimleri aneminin tedavisinden çok primer hastalığın tedavisine yönelik olmalıdır.

**Mikrositik Hipokromik Anemi:** Demir eksikliği ya da kullanılabilir demir kullanımında bir aksaklık belirgindir. Alyuvarlar küçüktür (MCV'de azalma) ve hemoglobin miktarı yönünden yetersizdirler (MCHC'de azalma). Alyuvar yapısındaki değişiklik aneminin şiddetine ve sürekliliğine bağlı olarak değişir. Demir metabolizmasının normal işleyip işlemediğinin kontrolü için serum demiri, demir bağlama kapasitesi ve kemik iliği demirinin saptanması gerekir. Ciddi demir eksikliği anemilerinde yeterli miktarda kan naklinin yapılması ve demirin direkt olarak verilmesi gibi tedaviler önerilebilir.

## **B-Patofizyolojik Sınıflandırma**

**I- Hemorajik Anemiler:** Fazla miktardaki kanın kısa sürede (akut) veya az miktarda kanın uzun süreli veya tekrarlanan şekilde (kronik) kaybıyla gelişen anemilere denir.

### **1- Akut kan kayıpları;**

Travma ya da cerrahi müdahaleler, koagülasyon bozuklukları. Sığırlarda eğrelti otu, tatlı yonca zehirlenmesi. Warfarin zehirlenmesi. Çeşitli nedenlerle damar içi pıhtılaşmanın yayılması. Trombositopeni. Parazitler; Haemonchus, Kancalı kurtlar, Koksidiyoz.

### **2- Kronik kan kayıpları:**

Gastrointestinal lezyonlar. Parçalı leimyonlar, ülser, koksidiyoz gibi parazitizmler. Vücut boşlukları veya dokularda kanamalı neoplaziler. Köpeklerde Hemangiomaskom. Pıhtılaşma bozuklukları. Vit-K ve protrombin eksiklikleri. Köpek ve taylarda Hemofili A. Trombositopeni Parazitler kene, pire, bit, kancalı kurt, haemonchus.

Kanın vücut boşlukları ya da vücut dışına çıkmasıyla şekillenen anemilerde küçük çaplı kayıplar karşılanabilirken büyük miktarlardaki kan kayıpları ölümlere neden olmaktadır. Anemi şekillendiğinde dalaktan alyuvarlar dolaşıma verilir ve ekstrasvasküler sıvılarda damar içine girerler. Normal düzeyler birkaç saat içerisinde sağlanır. Retikülosit cevabı ilk 2-3 günde belirgin değildir ve bu aşamada olgu bir depresyon anemisi olarak düşünülebilir. Hastadan alınan anemnez ve fiziksel bulgular bunun ayırımını sağlar. Plazma protein konsantrasyonu 2-3 günde artmaya başlar ve genelde 5-7 günde normal sınırlara girer. Lökosit sayısındaki artış saatler içerisinde olur ve nedeni de nötrofil sayısındaki artıştır ve

olgunlaşmamış lökositler retikülositleri takiben dolaşıma girer ve sola kayma gözlenir. Olgunlaşmamış alyuvarlar kan kaybından veya alyuvar yıkımından 72-96 saat sonra dolaşıma girmeye başlarlar. Retikülosit salınımındaki pik düzey 5 ve 7. günler arasında olur ve sonra derece derece azalarak alyuvarlar kandaki normal düzeylerine inerler. Pik noktayı takiben kan tablosunda polikromatik makrositler, çekirdekli alyuvarlar ve Howel-Jolly cisimcikleri denen çekirdek kalıntısı bulunan alyuvarlar görülür.

**Demir Eksikliği Anemisi:** Demirin önemli bir bölümü vücutta hemoglobin demiri olarak bulunur. Geri kalanı ferritin ve hemosiderin olarak dalak, karaciğer ve kemik iliğinde depo edilir.

Fizyolojik olarak demirin bir kısmı dışkıyla, az bir kısmı da deri, saç, tırnak ve idrarla atılır. Ayrıca kadınlarda ve primatlarda menstruasyon esnasında bir kısım demir kaybedilir. Normalde bu kayıplar besinler ile karşılanır. Demir eksikliği anemisinde, kan tablosunda mikrositik-hipokromik bir tablo hakimdir. Hemoglobin sentezi hücre için gerekli olandan daha azdır. Hemoglobin eksikliğinden dolayı alyuvarlar açık renkte boyanırlar ve poikilositoz gözlenir.

**II Hemolitik Anemiler:** Alyuvarların yaşam sürelerinin extravasküler veya intravasküler faktörler tarafından kısaltılmasıyla karakterize olan anemilerdir.

- |                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                             |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1- Kan parazitleri ve riketsiyal etkenler;<br>Anaplasmosis; sığır, koyun ve keçi<br>Babesiosis; sığır, at, köpek, koyun ve keçi<br>Haemobartenellosis; kedi, köpek ve sığırd<br>Trypanosomiasis; sığırd<br>Theileria; sığırd<br>Ehrlichiosis; köpek ve kedide                        | 8- Metabolik hastalıklar;<br>Postparturient hemoglobinüri; sığır<br>Su zehirlenmesi; sığırd |
| 2- Bakteriyel enfeksiyonlar<br>Leptospirosis; sığır, koyun, keçi<br>Basiller hemoglobinüri; sığır ve koyunda<br>Staph. pyogenes, inekte                                                                                                                                              |                                                                                             |
| 3- Viral enfeksiyonlar;<br>Atların Viral Anemisi                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                             |
| 4- Kimyasallar ve ilaçlar;<br>Bakır zehirlenmesi; kedi, köpek ve domuzda<br>Kurşun zehirlenmesi; köpek, at ve sığırd<br>Fenotiyazin zehirlenmesi; at ve koyunda<br>Metilen mavisi ve asetaminofen zehirlenmesi; kedide<br>Nitrat ve nitrit zehirlenmesi; sığırd<br>Fenol bileşikleri |                                                                                             |
| 5- Bitki ve hayvan zehirleri<br>Yılan zehiri,<br>Lahana ve kolza zehirlenmesi; sığır ve koyun                                                                                                                                                                                        |                                                                                             |
| 6- Alyuvar içindeki defektler enzim eksikliği;<br>Konjenital porfiri; sığır, koyunda<br>Purivat kinaz eksikliği; köpekte<br>Methemoglobinemi; köpek, kedi, at                                                                                                                        |                                                                                             |
| 7- İmmun aracılı hemolitik anemiler;<br>Otoimmün hemolitik anemiler; köpek, kedi, at<br>Neonatal izoeritrolizis; sığır, at                                                                                                                                                           |                                                                                             |

Hemoglobinemide; normal ya da artmış sarılık indeksi, değişen bir hiperbilirubinemi (hem direk hem de indirek bilirubin artışından dolayı) ve normal değerler içinde plazma protein konsantrasyonu vardır. Anizositozis, polikromazi, çekirdekli ya da çekirdeksiz retikülosit sayısında artışlar, anormal alyuvar yapıları (sferosit, şistozit, leptosit ve poikilositlerin diğer formları) lökositosis, nötrofili nedeniyle rejeneratif sola kayma gözlemlenir.

### III-Hipoproliferatif Anemiler

- 1- Beslenme yetersizliği anemileri;  
Protein, mineral ve vitamin eksiklikleri
- 2- Yangısal hastalık anemileri;  
Üremili nefritis; köpekte  
Kötü huylu tümörler  
Hypotiroidizm, Hypoadrenokortikoidizm gibi endokrin bozukluklar
- 3- Paraziter hastalık anemileri;  
Trichostrongyloides; koyunda
- 4- Aplastik ya da Hypoplastik Anemiler  
Radyasyon  
Soya fasülyesi küspesi Trikloretan ekstraktları  
Östrojen toksisitesi; köpek  
Karaciğer hastalıkları
  - \* Vitamin B<sub>12</sub> Eksikliği; insanlarda makrositik hipokromik anemiye çok segmentli nötrofillere, megalositlere, periferik kanda Howel-Jolly cisimcikli alyuvarlara neden olur. Vitaminin emilimini sağlayan intrinsik faktör yokluğunda da **pernisisyöz anemiye** neden olur.
  - \* Niasin Eksikliği; köpeklerde çok önemlidir, yokluğunda Siyah Dil sendromu gelişir. lökemi ile birlikte makrositik anemi gelişir.
  - \* Vitamin B<sub>6</sub> Eksikliği; demirin hemoglobine dönüşümünde görevlidir. Mikrositik hipokromik anemiye neden olur.
  - \* Vitamin C Eksikliği; insanlarda deri ve diş eti kanamalarına, peteşiyal kanamalara normositik normokromik anemiye neden olur.
  - \* Bakır eksikliği; Sitokrom-C oksidaz aktivitesinin azalmasından dolayı mikrositik hipokromik anemiye neden olur.
  - \* Aplastik anemiler ise kemik iliğini etkileyen nedenlerden dolayı kan yapımının baskılanmasından dolayı oluşur.

### POLİSİTEMI

Kanda normal düzeyin üzerindeki alyuvar sayısı artışına genelde polisitemi denir.

#### Polisitemilerin Sınıflandırılması

##### 1- Primer Polisitemi

Polisitemia Vera; malignant (kötü huylu) hemopoietik kök hücre rahatsızlığı.

##### 2- Sekunder Polisitemi

Hipoksi sonucu eritropoietin yapımının artması (örn; yoğun egzersiz), atmosferik oksijende azalma (örn; yüksek rakım), pulmoner hipoksi (örn; astım), kardiovasküler hastalıklar, hemoglobinin oksijen taşıma kabiliyetinin azalması, neoplastik olmayan renal kistler, hidronefroz.

Neoplastik hastalıklar; renal tümörler, uterus leiomyonları, serebellar hemangioblastoma, insanlarda ailesel eritrositoz.

### **3- Relatif Polisitemi**

Çeşitli nedenlerden kaynaklanan dehisrasyon (su kaybı), dalakta kasılma.

Primer polisitemi miyeloproliferatif bir bozukluktur ve genelde Polisitemi Vera olarak isimlendirilir. Eritroid, granülositik ve megakaryositik hücrelerin anormal çoğalmasıyla beraber total lökosit ve trombositlerde de artışa neden olur.

Sekonder polisitemi bazen eritrositozis olarak da isimlendirilir. Eritropoietin yapımındaki artışla karakterizedir. Primer ve sekonder polisitemide plazma volümünde önemli bir artış olmaksızın total alyuvar sayısında önemli bir artış gözlenirken, relatif polisitemide normal bir alyuvar sayısı ve plazma volümünde bir azalma gözlenir. Sekunder polisitemide arterial oksijen doygunluğu düşük, serum ya da idrar eritropoietin düzeyi yüksektir. Fakat primer polisitemide oksijen doygunluğu normal ve eritropoietin düzeyi genelde normalin altındadır. Relatif polisitemi de ise hem oksijen doygunluğu, hem de eritropoietin düzeyi normaldir.

**Uygulamanın adı:** Hematokrit değeri ve hemoglobin miktarının saptanması.

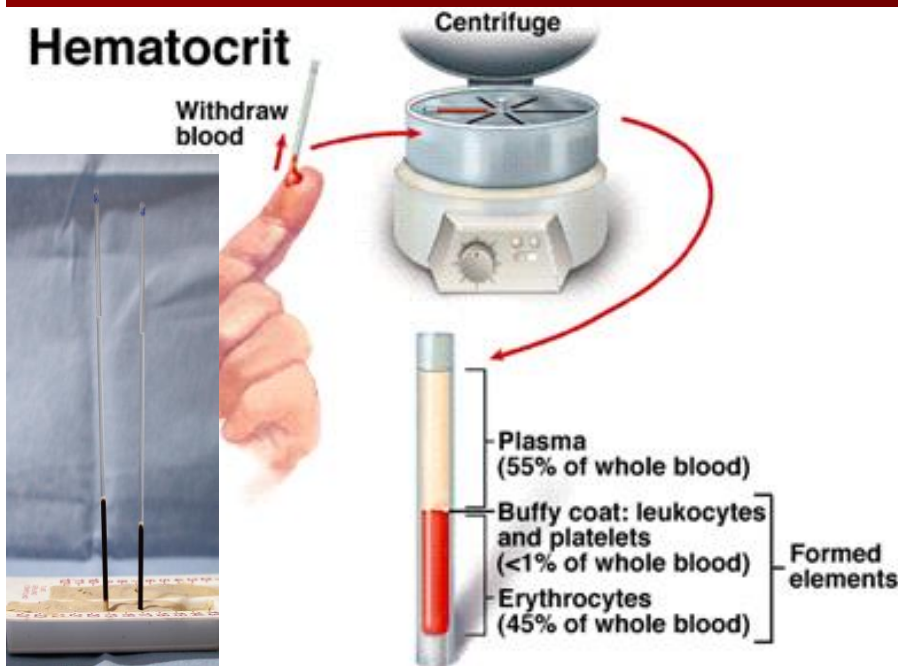
**Yapılacağı hafta:** 10

**Uygulamanın temel hedefi:** Kanın şekilli elemanları ve sıvı kısmı gibi kanı oluşturan unsurların irdelenmesi ve hemoglobin miktarını belirleyerek yapısı, görevleri ve hemoglobinin miktar ve yapısındaki değişikliklere bağlı hastalıklar hakkında bilgi sahibi olmak. Alyuvarları hemolize ederek hemoglobini serbest hale getirmek.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:**

**Hematokrit Değeri Tayini:** Heparinli kapillar tüp, cam macunu, yüksek devirli hematokrit santrifüjü, lanset, alkol, pamuk.

Mikrohematokrit (kapillar) tüpler 1.4 mm çapında, 75 mm uzunluğunda iki ucu açık kapillar borulardır. İçleri heparin ile kaplanmıştır. Santrifüj, 24 adet kapillar tüpü alabilen özel başlıklı olan ve dakikada 13 bin devir yapan santrifüjdür. Okuma aracı bagalitten yapılmıştır. Üzerinde aşağı yukarı hareket edebilen bir kol ve sağa sola sürülebilir ve ortasındaki oyuya kapillar tüp yerleştirilen bir tabla vardır. Aracın sağ tarafında yukarıdan aşağı doğru % 100 den sıfıra kadar taksimatlı bir çizelge bulunur. Ayrıca hematokrit okuma skalaları da vardır.



Şekil 1. Hematokrit tüpü ve santrifüj aleti.

**Hemoglobin Miktarı Tayini:** Sahli Hemometresi, yalın (derecesiz) pipet, lancet, alkol, pamuk, N/10'luk HCl çözeltisi, saf su.

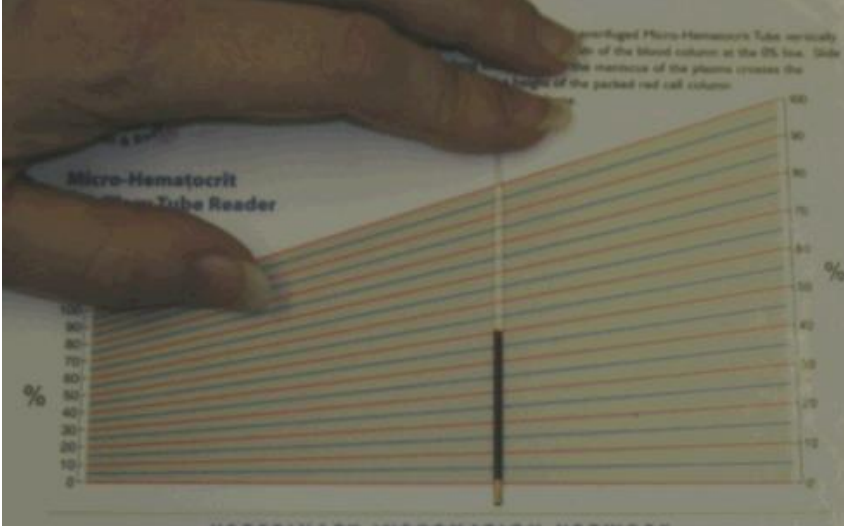
**Sahli Hemometresi:** Kolorimetre, 20 µl'lik kan alma pipeti, hemoglobin tüpü, saf su damlatmak için bir damlalık, çözeltiyi karıştırmak için bir cam bagetten oluşur. Kolorimetre arkada beyaz bir camla kapalı olup, önde yan yana üç oyuya sahiptir. Yanlardaki iki oyuya koyu sarı standart cam çubuk yerleştirilmiştir. Ortadaki oyuya ölçüm sırasında hemoglobin tüpü konulur. Hemoglobin tüpleri bazıları % hemoglobin miktarını gösterdiğinden 0'dan 140 veya 160'a kadar derecelendirilmiştir. Diğer tüpler ise 100 ml kandaki hemoglobin miktarını gram cinsinden vermek üzere 0'dan 22 ya da 24'e kadar derecelendirilmiştir. Bir takım tüpler ise her iki derecelenmeyi bir arada taşıyan yuvarlak tüplerdir. 1/10 N tuz asidi (HCl) 100 ml de 3.65 gr HCl bulunan eriyiktir. Normal HCl eriyiği ticari

olarak satılan % 36 ya da % 37'lik ve 1.1 yoğunluktaki asitten 8.3 ml alınıp su ile 1000 ml'ye tamamlanarak elde edilir.

## UYGULAMA BİLGİSİ

**Hematokrit Değer Tayini:** Parmak ucu bilinen yöntemlere göre delinir ya da mevcut kan örneğinden kan kapillar tüpe değiştirilerek kapillarity özelliği ile 3/4'üne kadar kanla doldurulur. Tüpün kansız ucu alevde ısıtılarak ya da macunla kapatılır. Çift olarak hazırlanan tüpler hematokrit santrifüj başlığına kapalı uçları dışa gelecek şekilde yerleştirilir. Böylelikle merkezkaç kuvvetinin etkisiyle tüplerin içindeki kanın boşalmaması sağlanır. 5 dak. santrifüj edildikten sonra santrifüjden çıkarılır.

**Değerlendirme:** Kapillar tüp kapalı ucu, kan sınırı sıfır çizgisine gelecek şekilde okuma aracının plastik tablasındaki özel oyuğun içerisine yerleştirilir. Hareketli kol 100 çizgisine kadar yukarı kaldırılır. Bu durumda plastik tabla sağa sola kaydırılarak plazmanın üst sınırı kolun alt kenarına gelecek biçimde ayarlanır. Kolun alt sınırı çökmüş olan alyuvar katının üzerine gelinceye kadar aşağı indirilir. Çizelgeden kolun gösterdiği sayı okunur. Bu rakam 100 ml kanda bulunan alyuvar hacmini verir ve % olarak ifade edilir. Hematokrit değer anemi veya polisitemi olup olmadığını, varsa derecesini saptamada kullanılan bir tanı aracıdır.



Şekil 2. Hematokrit değer okunması

**Hemoglobin Miktarının Belirlenmesi:** Önceden pipetle, Sahli Hemoglobinometresinin dereceli tüpü içerisine kullanım kılavuzuna bakılarak 2 ya da 10 çizgisine kadar 1/10 N HCl konulur, kan pipetinin 0.02 ml (20 µl) işaretine kadar kan çekilir. Ucu pamuk ya da kurutma kağıdıyla silinerek kan tüpün içerisine boşaltılır ve birkaç kere üflenip boşaltılarak kanın tamamı tüpe aktarılmış olur. 1 dakika beklendikten sonra içine özel damlalıkla her seferinde bir damla olmak üzere saf su konularak cam bagetle karıştırılır. Tüp içindeki renk kanın rengiyle aynı oluncaya kadar bu işleme devam edilir, daha sonra eriyiğin gram ya da % olarak miktarı belirlenmiş olur. Sahli yönteminde hemoglobinin % oranını gösteren sayılar genellikle kanlarının 100 ml'de 16 gr hemoglobin bulunan sağlam insanların hemoglobin miktarları % 100 kabul edilerek derecelenmiştir. İnsanlarda bu araçta okunan yüzde değerler bir işleme başvurmada doğrudan doğruya kullanıldığı halde, hayvanlarda durum farklıdır. Hayvan türlerinin her birinde normal hemoglobin miktarı değişiktir. Bu nedenle Sahli Aracıyla hemoglobin tayini yapılırken, araçta okunan yüzde değerler hemoglobin miktarı tayin edilen hayvan türüne ait normale göre yüzde hemoglobin miktarını göstermez. Bunu bulmak için hemoglobinemetrede okunan sayıyı bu hayvan türü için normal kabul edilen yüzde hemoglobin miktarına bölüp, sonucu 100 ile çarpmak gerekir. Bu nedenle, evcil hayvanlarda hemoglobin tayini yapılırken 100 ml kanda gram cinsinden hemoglobin miktarını gösteren değerler okunur. Kanatlı kanı

hemoglobin değerleri alyuvarların çekirdekli olmalarından dolayı yüksek ve eriyik bulanık renkli çıkar. Bundan dolayı elde edilen değer Duker ve Schwarte'nin düzeltme faktörü kullanılır (**Kanath Hemoglobin Miktarı= (Gram değer x 0.91) - 1.49**).

Tablo 1. İnsan ve Hayvanlarda Hematokrit Değerler (%)

| Tür       | % Değer    | Yazar    | Tür         | % Değer    | Yazar    |
|-----------|------------|----------|-------------|------------|----------|
| İnsan (E) | 47         | Wintrobe | Maymun      | 40 (32-49) | Gardner  |
| İnsan (K) | 42         | “        | Deve (Hint) | 27 (20-33) | Schalm   |
| At        | 42 (32-52) | Schalm   | Lama        | 40 (31-45) | “        |
| İnek      | 35 (24-46) | “        | Tavşan      | 42 (36-48) | Gardner  |
| Koyun     | 38 (24-50) | “        | Kobay       | 42 (37-47) | “        |
| Keçi      | 35 (24-46) | “        | Fare        | 42         | Schalm   |
| Köpek     | 45 (37-55) | “        | Sıçan       | 46 (39-53) | Schermer |
| Kedi      | 37 (24-45) | “        | Hamster     | 46 (36-54) | “        |
| Domuz     | 42 (32-50) | “        | Tavuk       | 27 (26-30) | Gardner  |
| Eşek      | 37 (30-48) | “        | Hindi       | 33 (25-40) | “        |
| Katır     | 35 (30-42) | “        | Balık       | 31 (21-40) | “        |

Tablo 2. Bazı Türlerde Hemoglobin Miktarları (g / 100 ml)

| Tür     | Ortalama Değer ve Değişim Sınırları | Tür      | Ortalama Değer ve Değişim Sınırları |
|---------|-------------------------------------|----------|-------------------------------------|
| İnsan E | 16 (14-18)                          | Güvercin | 13.7 (11-15)                        |
| K       | 14 (12-16)                          |          |                                     |
| At      | 15 (11-19)                          | Tavşan   | 12.4 (8.4-15.5)                     |
| Sığır   | 12 (9 -15)                          | Sıçan    | 16 (13-19)                          |
| Koyun   | 12 (10-15)                          | Fare     | 13.5 (11.2-16.5)                    |
| Keçi    | 10.5 (7-14)                         | Hindi    | 10.5 (7.9-12.7)                     |
| Kedi    | 11 (8-15)                           | Kaz      | 16.4                                |
| Köpek   | 14 (11-17)                          | Ördek    | 10.5 (7-15.5)                       |
| Deve    | 15.5 (10-20)                        | Kanarya  | 9 (7-12)                            |
| Tavuk   | 6.7 (5.8-7.8)                       | Kurbağa  | (8-11.4)                            |

Bazı kan hastalıklarının tanısında ve özellikle anemilerin ayırıcı tanısında alyuvar sayısı, hemoglobin konsantrasyonu ve hematokrit değerden bazı alyuvarlar parametrelerin hesaplanması önem kazanmaktadır. Bu parametreler şunlardır.

**1-Renk İndeksi (R.İ.):** Tek bir alyuvarlara düşen hemoglobinin miktarını göreceli olarak belirler. R.İ. hemoglobinin yüzdesiyle alyuvarların yüzdesi arasındaki orandır. Her bir alyuvara düşen hemoglobinin normale göre azalıp çoğalması hakkında bilgi verir.

**R.İ.= Hb miktarının normale göre % si / Alyuvar sayısının normale göre % si**

Bu formülde hemoglobinin normale göre yüzdesi direkt olarak sahli hemoglobinometresinden okunan değerdir. Payda ise kan muayenesi ile bulunan alyuvar sayısı, normal değere göre orantı yapılarak hesaplanır. Pratikte kadın ve erkekte 100 ml kanda 14.5 gr hemoglobin ve 1 mm<sup>3</sup> kanda 5x 10 alyuvar % 100 kabul edilerek hesaplanır.

Örneğin Hb miktarı 12.6 gr/100 ml, alyuvar sayısı 4.9 x 10 olan kan örneğinde renk indeksini hesaplayalım:

$$\% \text{ Hb} = \frac{12.6 \times 100}{14.5} = 86.9$$

$$\% \text{ Alyuvar} = \frac{4.9 \times 10 \times 100}{5 \times 10} = 98$$

$$\text{R.İ.} = \frac{86.9}{98} = 0.89$$

Normal değerler insanda 0.85-1.1 arasındadır. Renk indeksi bu değerlerden büyük olursa bir alyuvar içinde normalden çok, bu değerlerden küçük olursa normalden az hemoglobin var demektir. Bu da göreceli bir tanımlama sağlamaktadır.

**2- Ortalama Alyuvar Hacmi (MCV):** Alyuvar sayısı ve hematokrit değerden yararlanılarak hesaplanır.

$$MCV = \frac{\% \text{ Hematokrit değeri} \times 10}{\text{Alyuvar sayısı ( mm}^3 \text{ de milyon )}} = \mu^3 \text{ (mikron küp = fl)}$$

Her hayvan türünde MCV farklıdır. Normal değerlerin altındaki bulgular mikrositer, üstündeki bulgular ise makrositer anemiyi gösterir.

**3- Ortalama Alyuvar Hemoglobini (MCH):** Hemoglobin miktarı ile alyuvar sayısından yararlanılarak hesaplanır.

$$MCH = \frac{\text{Hemoglobin ( gr / 100 ml )} \times 10}{\text{Alyuvar Sayısı ( 10}^6 \text{ / mm}^3 \text{)}} = \text{Pikogram ( pg)}$$

**4- Ortalama Alyuvar Hemoglobin Yoğunluğu (MCHC):** Hematokrit değeri ve hemoglobin miktarından yararlanılarak hesaplama yapılır.

$$MCHC = \frac{\text{Hemoglobin (gr /100 ml )} \times 100}{\text{Hematokrit ( \% )}} = \% \text{ veya g / dl}$$

Tablo 3. İnsan ve Hayvanlarda Wintrobe Alyuvar İndekslerinin (MCV-MCH-MCHC) Normal Değerleri

| Tür   | MCV (μ <sup>3</sup> ) | MCH (pg)   | MCHC (%)    | Yazar                   |
|-------|-----------------------|------------|-------------|-------------------------|
| İnsan | 78-94                 | 2.5        | 35 *        | Irmak, Gökhan; Emiroğlu |
| At    | 46 (34-58)            | 13.9       | 35 (31-37)* | Schalm                  |
| İnek  | 52 (40-60)            | 14 (11-17) | 33 (30-36)  | “                       |
| Koyun | 33 (23-48)            | 11 (9-12)  | 33 (31-38)  | “                       |
| Keçi  | 27 (19-37)            | -          | 38 (35-42)  | “                       |
| Köpek | 70 (60-77)            | 23 (19-25) | 34 (32-36)  | “                       |
| Kedi  | 45 (39-55)            | 15 (13-17) | 33 (31-35)  | “                       |
| Domuz | 63 (50-68)            | 20 (17-23) | 32 (30-34)* | “                       |

\*Wintrobe Hematokrit Yöntemine göre bulunmuş değerlerdir.

**Uygulamanın adı:** Alyuvarların ozmotik dirençleri (fragiliteleri) ve sedimentasyon hızının saptanması.

**Yapılacağı hafta:** 11

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:**

**Ozmotik fragilite.** 16 adet ependorf, tüp sporu (plastik), otomatik pipet ve pipet uçları, % 1'lik ve % 0.85'lik NaCl eriyikleri, saf su, cam kalemi, kan örneği.

**Sedimentasyon.** Westergreen sedimentasyon sehpası, sedimentasyon pipeti, 2 ml'lik steril enjektör ve iğne, % 3.8'lik sodyum sitrat eriyiği, boş şişe, pamuk, alkol.

Sedimentasyon aracı, bir sehpa ile üzerine dik olarak yerleştirilen sedimentasyon pipetlerinden oluşmuştur. Sehpa, aşağı kesiminde pipetlerin yerleştirileceği lastik destekler, üst kesiminde ise pipetleri üst ucundan tespit eden yaylı veya vidalı kapaklar taşır. Sedimentasyon sehpasının değişik sayılarda pipet taşıyan tipleri bulunmaktadır. Sedimentasyon pipeti, 30 mm uzunluğunda iç çapı 2.5 mm olan üst ucu düz bir pipettir. Üst kesimde 10 cm' lik bölüntüsüz bir kısımdan sonraki 20 cm'lik bölümü 0'dan 200'e kadar eşit aralıklara ayrılmıştır. Yaklaşık hacmi 1 ml olan bu işaretli bölümde iki çizgi arası 1 mm'yi göstermektedir.



Şekil 1. Sedimentasyon sehpası ve sedimentasyon pipeti

**Uygulamanın temel hedefi:** Hipotonik, hipertonik ve izotonik terimlerinin anlamları ile alyuvarların zar dayanıklılığını etkileyen faktör ve hastalıklar hakkında bilgi sahibi olmak. Kanın çökme hızını belirleyip klinik kullanılabilirliği hakkında bilgi edinmek.

## UYGULAMA BİLGİSİ:

### Alyuvarların Ozmotik Dirençliliğinin Saptanması

Alyuvar dayanıklılığının ölçülmesi için çeşitli yöntemler vardır. Bunlarda esas, alyuvarları değişik yoğunluktaki hipotonik eriyikler içerisinde bir süre bırakarak hemolizin meydana geldiği yoğunluğu saptamaktan ibarettir.

16 adet endorf tüp sporuna yerleştirilir. Endorflar soldan başlayarak 1'den 16'ya kadar numarandırılır. Kontrol olarak değerlendirilecek 1. tüpe 0.85 ml (= 850 µl) %1'lik NaCl eriyiği ve üzerine 0.15 ml (= 150 µl) saf su konulur. 2. tüpe 0.80 ml %1'lik NaCl eriyiği ve üzerine 0.20 ml saf su konulur. İşleme, aynı biçimde her kez bir öncekinden 0.05 ml daha az %1'lik NaCl eriyiği ve 0.05 ml daha fazla saf su konularak 16. tüp de dahil dilüsyonlar hazırlanır. Sonunda her tüp içinde tuz eriyiği ve damıtık su toplamı 1 ml bulunacak biçimde kademeli olarak hipotonik NaCl eriyikleri hazırlanmış olur. Tüplerin her birine bir damla (40 µl) taze kan damlatılır ve karışması için hafifçe çalkalanır. Birkaç dakika beklendikten sonra endorflar santrifüj edilir. Önce kontrol tüpünde (1. tüp ) hemoliz olup olmadığı araştırılır. Kontrol tüpünde hemoliz olmaması gerekmektedir. Hemoliz yoksa diğer tüpler okunur. Hafif kırmızı rengin meydana gelişi hemolizin başlangıcı, berrak kırmızı renkte tam hemoliz olarak kabul edilir. Hemolizin başladığı tüpteki tuz eriyiği yoğunluğu minimal dayanıklılık, hemolizin tamamlandığı tüpteki tuz eriyiği yoğunluğu da maksimal dayanıklılık olarak kaydedilir.

Tablo1. Hipotonik Tuz Eriyikleri Hazırlanırken Eklenen Tuz ve Saf Su Miktarları

| Tüp No | %1'lik NaCl ml | Saf Su ml | NaCl Yoğunluğu % | Tüp No | %1'lik NaCl ml | Saf Su ml | NaCl Yoğunluğu % |
|--------|----------------|-----------|------------------|--------|----------------|-----------|------------------|
| 1      | 0.85           | 0.15      | 0.85             | 9      | 0.45           | 0.55      | 0.45             |
| 2      | 0.80           | 0.20      | 0.80             | 10     | 0.40           | 0.60      | 0.40             |
| 3      | 0.75           | 0.25      | 0.75             | 11     | 0.35           | 0.65      | 0.35             |
| 4      | 0.70           | 0.30      | 0.70             | 12     | 0.30           | 0.70      | 0.30             |
| 5      | 0.65           | 0.35      | 0.65             | 13     | 0.25           | 0.75      | 0.25             |
| 6      | 0.60           | 0.40      | 0.60             | 14     | 0.20           | 0.80      | 0.20             |
| 7      | 0.55           | 0.45      | 0.55             | 15     | 0.10           | 0.90      | 0.10             |
| 8      | 0.50           | 0.50      | 0.50             | 16     | 0.00           | 1.00      | 0.00             |

Tablo 2. İnsan ve Hayvanlarda Alyuvarların Ozmotik Dirençlerine İlişkin Normal Değerler

| Tür         | En az dayanış (Hemolizin başlaması) % NaCl | En çok dayanış (hemolizin bitimi) % NaCl | Yazar        |
|-------------|--------------------------------------------|------------------------------------------|--------------|
| İnsan       | (0.39-0.45)                                | (0.30-0.33)                              | Wintrobe     |
| At          | 0.56                                       | 0.34                                     | Schalm       |
| Koyun       | 0.70 (0.60-0.8)                            | (0.44-0.52)                              | “            |
| Keçi        | 0.74                                       | 0.60 (0.46-0.60)                         | Schermer     |
| Köpek       | 0.46 (0.40-0.50)                           | 0.44                                     | Schalm       |
| Kedi        | 0.60 (0.66-0.72)                           | 0.33 (0.32-0.42)                         | “            |
| Maymun      | 0.40                                       | 0.30                                     | Schermer     |
| Deve        | 0.30                                       | 0.21                                     | “            |
| Tavşan      | 0.49 (0.48-0.54)                           | 0.42 (0.40-0.44)                         | Schalm       |
| Kobay       | (0.52-0.62)                                | (0.36-0.44)                              | Erkol, Konuk |
| Beyaz Sıçan | 0.48                                       | 0.36                                     | Schermer     |
| Beyaz Fare  | (0.56-0.6)                                 | (0.38-0.42)                              | “            |
| Hamster     | 0.40                                       | 0.30                                     | “            |
| Tavuk       | (0.46-0.6)                                 | (0.32-0.42)                              | “            |
| Güvercin    | 0.45                                       | 0.40                                     | “            |
| Kurbağa     | 0.36                                       | 0.13                                     | “            |

Normal olarak plazmanın ozmotik basıncı alyuvarlarınkine eşittir. Her ikisinin belirli miktarında bulunan iyon, molekül vb. parçacıkların sayıları birbirine denktir. % 0.85 NaCl gibi izotonik eriyikler

içinde alyuvarlar biçim ve yapısını koruduğu halde, hipertonic ortamlarda su vererek büzülür. Hipotonik ortamlarda ise su alarak şişerler ve çok hipotonik ortamda ise hemoliz meydana gelir. Alyuvarlar ince yapılı hücreler oldukları halde, beden içinde üç, dört aylık sürtünmeye dayanırlar. Hipotonik eriyiklere karşı direnç, insan ve çeşitli hayvan türlerinde farklıdır. Ayrıca bir canlıda bulunan alyuvarların tümünün ozmotik frajiliteleri de aynı değildir. Bir kısmında hemen hemoliz şekillenirken bazıları daha dayanıklıdır. Patolojik olarak, hemolitik anemilerde özellikle hemolitik ikterusta alyuvarların dirençleri çok azalır. Organizmada ileri derecede hemoliz meydana geldiğinde, bu durumun alyuvarların dayanıklılığının azalmasından mı, yoksa kanda bulunan bazı hemolizinlerden dolayı mı oluştuğu önemlidir. Böyle durumlarda alyuvarların dirençlerinin mutlaka araştırılması gerekir.

■ **Direnç artmışsa:** Yüzey hacim oranı yüzey yönünde artar.

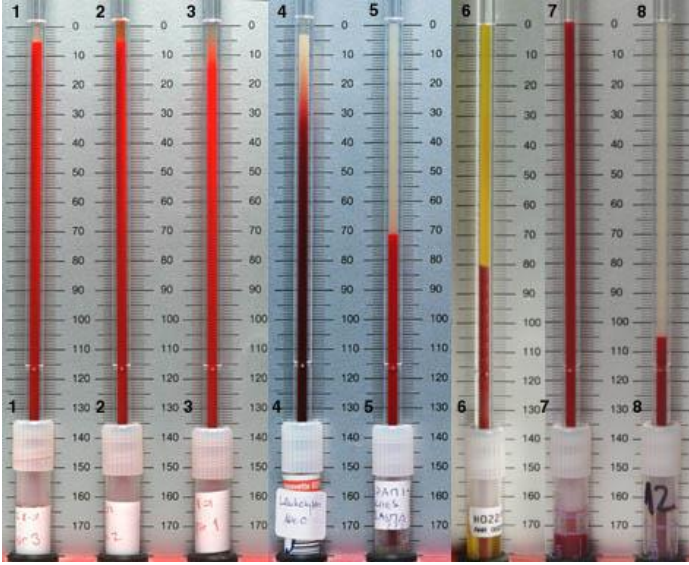
- Talasemi
- Orak hücreli anemi (hemoliz % 0.35’de başlar)
- Hemoglobin bozuklukları

■ **Direnç azalmışsa:** Yüzey hacim oranı hacim yönünde artar.

- Sferositozis (hemoliz % 65’de başlar)
- Kalıtsal hemolitik anemiler
- Kalıtsal enzim eksiklikleri

### **Alyuvarların Sedimentasyon Hızı**

2 ml’lik steril enjektöre 0.4 ml steril sodyum sitrat eriyiği çekilir. Sedimentasyon hızı saptanacak türe göre, venöz damarlardan birine enjektörle girilir ve enjektörün iki çizgisine kadar yani 1.6 ml kan alınır. Böylelikle kan antikoagülan madde ile 1/5 oranında sulandırılmış olur. Enjektör damardan ayrıldıktan sonra iğnesi çıkarılır. Pistonu geri çekilir ve bir kaç kez alt üst edilerek sodyum sitratla karıştırılan kan köpürtülmeden temiz ve kuru bir tüpe boşaltılır. Sedimentasyon pipeti ile tüpten, sıfır çizgisine kadar kan çekilip, pamukla ucundaki bulaşık silindikten sonra araçtaki yerine takılır. Okumanın yapılacağı sürenin sonunda kan hücrelerinin plazmadan ayrıldığı noktada pipet üzerindeki sayının mm olarak okunmasıyla çökme hızı tespit edilmiş olur. Sedimentasyonda okuma süreleri insanlarda 1 saat, 2 saat ve 24 saat sonradır. Genellikle sadece 1 saat sonunda okunması yeterlidir. Hayvanlarda ise hayvanın türüne göre değişmek üzere 30 dakika ve 1 saat sonunda yapılır. Bazen özel çalışmalarda 15 dakika 2 ve 24 saat sonraki çökmelerden de yararlanılır. Sığır, koyun, tavşan, tavuk gibi hayvanlarda kanın çökme hızı çok yavaş olduğundan bu hayvanlarda çökme hızı saptanırken sedimentasyon sehpası 45° eğik tutulur.



Şekil: Farklı sedimentasyon hızlarına ait örneklemeler (1- Normal, 2- Hemoliz, 3- Retikülositoze bağlı plazmanın bulanıklaşması, 4- Şiddetli lökositosis, 5- Lipemi, 6- İcterus, 7- Polisitemi, 8- Şiddetli infalmasıyon).

Tablo 10. İnsan ve Hayvanlarda Normal Sedimentasyon Değerleri

| Tür         | mm/60 d            | mm/120 d.     | 24 saat       | Yazar                  |
|-------------|--------------------|---------------|---------------|------------------------|
| İnsan E-K   | 4 (0-6.5) 8 (0-15) | -             | -             | Irmak- Gökhan-Emiroğlu |
| At          | 135 (92-154)       | 143 (132-156) | 148 (136-161) | Konuk                  |
| Sığır       | 1.17               | -             | 14.5          | Gardner                |
| Sığır*      | 16.5 (87-27)       | 31.8 (20-47)  | 110 (92-128)  | Konuk                  |
| Koyun       | 1                  | 1.3           | 10            | Schermer               |
| Köpek       | 2                  | 4.0           | 10            | “                      |
| Kedi        | 4                  | 10            | 32            | “                      |
| Domuz       | 5.35               | -             | 45.9          | Gardner                |
| Merkep      | 54.3 (21-63)       | -             | -             | Schalm                 |
| Maymun      | 1.2                | 2.5           | 19            | Schermer               |
| Tavşan      | 1.1 (1.2-1.5)      | 1.9 (1.5-2.5) | 20.5 (15-26)  | Erkol, Konuk           |
| Tavşan*     | 38.0 (26-50)       | 62.0 (46-76)  | 119 (102-129) | “                      |
| Kobay       | (1.0-2.0)          | (2.5-4.0)     | (18-24)       | Schermer               |
| Beyaz sıçan | 0.7                | -             | -             | Gardner                |
| Hamster     | 0.5                | 0.7           | -             | Schermer               |
| Tavuk       | 2.12 (1.5-3.0)     | 4.7 (3.0-7.0) | 77.8 (60-107) | Erkol, Konuk           |
| Tavuk*      | 34.0 (26-43)       | 57.0 (48-71)  | 122 (114-129) | Konuk                  |

\* Sedimentasyon sehpasında 45° eğim verilerek elde edilmiş değerlerdir.

**Uygulamanın adı:** Kan grupları, kanama ve pıhtılaşma zamanının belirlenmesi.

**Yapılacağı hafta:** 12

**Uygulamanın temel hedefi:** Kan gruplarının belirlenmesindeki moleküler faktörler ve kanama-pıhtılaşmanın fizyolojik mekanizmasının öğrenilmesi.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:**

**Kan grupları.** Anti-A, Anti-B ve Anti D serumları, iki adet lam, iki adet cam baget, alkol, pamuk, lanset ve tek kullanımlık eldiven.

**Kanama ve pıhtılaşma zamanı.** Alkol, pamuk, süzgeç kağıdı, 2 adet kapillar boru, lanset, saniyeli saat, cam testeresi.

## UYGULAMA BİLGİSİ

**1- Kan grupları:** Kan gereksinimi doğuran birçok hastalıkta, hastalara sağlamlardan kan verme fikri uzun süre araştırmacıların ilgisini çekmiş ve bu konuda ilk girişimlerin başarısızlıkla sonuçlanması da onları çeşitli kan gruplarının var olduğu düşüncesine yöneltmiştir. Kan grupları konusundaki ilk gelişme yirminci yüzyılın başlarında Landstainer'in insan kanlarında A, B, O tiplerini ayırt etmesiyle başlamıştır. Günümüzde, kan transfüzyonu sağlıklı bir biçimde gerçekleştirilmektedir. Bunun yanında insan ırklarının kökeninin belirlenmesinde ve adli tıpta da kan gruplarından faydalanılmaktadır. Hayvanlarda kan grupları tayini, doğan yavrunun babasının belirlenmesi, identik ve identik olmayan ikizlerin ayırt edilmesi, freemartinlerin erken tanısı ve kan grupları ile verim özellikleri arasındaki ilişkinin incelenmesi gibi durumlarda önem taşımaktadır.

Landstainer ve daha sonraki araştırmacılar insanlarda ABO sistemi adı verilen bir kan grubu sistemi bulunduğunu ve bu sisteme göre A, B, AB, ve O olmak üzere 4 kan grubu olduğunu ortaya koymuşlardır.

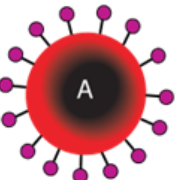
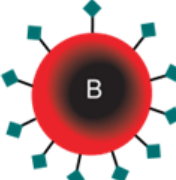
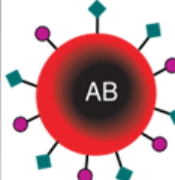
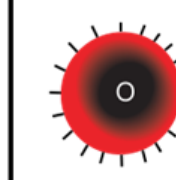
| Kan Grubu | Alyuvar       | Serum                       |
|-----------|---------------|-----------------------------|
| A         | A Antigeni    | $\beta$ Antikoru            |
| B         | B Antigeni    | $\alpha$ Antikoru           |
| AB        | A, B Antigeni | Antikor yok                 |
| O         | Antigen yok   | $\alpha$ , $\beta$ Antikoru |

Görüldüğü gibi kan grupları alyuvarların taşıdığı antijen tipine göre adlandırılır. O grubu kanda antijen, AB grubu kanda ise antikor bulunmaz. Kan transfüzyonlarında aglütinasyona uğrayan, verilen kanın alyuvarları olduğuna göre O grubu kan verilmesi halinde, alyuvarlarında antijen taşımadığından aglütinasyon şekillenmez. AB grubu kanda ise her iki antijen de bulunduğundan bu kan hiç antikor taşımayan bir gruba yani yine AB grubuna verilebilir. Kural olarak her insana kendi kan grubundan kan nakli yapılır. Ancak O grubu her gruba kan verebildiği için genel verici, AB grubu ise her gruptan kan alabildiği için genel alıcı olarak isimlendirilir. Bir insana uygun olmayan bir gruptan kan verilirse, aglütine olan alyuvarlar küçük damarları tıkararak önemli bozukluklara yol açar. Vücudun çeşitli yerlerinde ürpertici ağrılar, hızlı fakat zayıf nabız, aglütine alyuvarlardaki hemoglobinin idrara geçmesiyle hemoglobinüri, bazen de böbreklerin işlevlerini sürdürememeleri nedeniyle oluşan anüri sonucu ölüm şekillenir.

**Rh Faktörü:** ABO sistemi göz önüne alınarak yapılan kan transfüzyonlarında yine şiddetli reaksiyonlar görülmüş ve A ve B reseptörlerine göre yapılan gruplandırmanın yetersiz olduğu anlaşılmıştır. Landstainer ve Wiener tarafından Rhesus maymunları üzerinde yapılan araştırmalarla

oluşan bozuklukların Rhesus maymunun kanında bulunan faktörden ileri geldiği anlaşılmış ve bu maymunun adının ilk iki harfi alınarak bu faktöre Rh faktörü adı verilmiştir. Rh faktörü yönünden insanların % 85'i Rh (+), % 15'i Rh (-)' dir.

**Deneyin yapılışı:** Lamlardan birinin sol köşesine A, sağ köşesine B, ikinci lama Rh yazılır. Alkolle temizlenen parmak ucu lansetle delinir. Çıkan ilk damla kan kuru bir pamukla silindikten sonra, A, B ve Rh ile işaretlenen yerlere birer damla olmak üzere damlatılır. Damlatılan kanların yanına Anti-A, Anti- B ve Anti-D test serumundan birer damla damlatılır. Test serumuyla kan damlaları her seferinde bagetin farklı bir ucuyla olmak üzere yaklaşık 1.5-2 cm çapında bir daire oluşturacak biçimde karıştırılır. Lam baş ve işaret parmakları ile iki ucundan tutulur ve 3 dakika kadar dairesel hareketler yaptırılır. Kan Anti-A test serumu ile aglütinasyon yapmışsa A grubu, Anti-B test serumu ile aglütinasyon yapmışsa B grubu, her iki test serumu ile aglütinasyon yapmışsa AB grubu, hiçbiri ile aglütinasyon oluşturamamışsa O grubudur. Yine Rh yazılı lamda aglütinasyon varsa kan Rh (+), aglütinasyon yoksa Rh (-)'dir.

|                 | A Grubu                                                                                           | B Grubu                                                                                           | AB Grubu                                                                                                  | O Grubu                                                                                                   |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Alyuvar tipi    |                 |                 |                         |                        |
| Antikor varlığı | <br>Anti-B     | <br>Anti-A     | Antikor yok                                                                                               | <br>Anti-A and Anti-B |
| Antijen varlığı | <br>A antijeni | <br>B antijeni | <br>A ve B antijenleri | Antijen yok                                                                                               |

Şekil 1. Kan grupları ve antijen-antikor varlığı.

## 2- Kanama ve pıhtılaşma süresinin tayini:

**Kanama süresi:** Kanama süresi, damarda herhangi bir hasar oluşuktan sonra kanamanın durmasına kadar geçen zamana denir. Kanama süresi trombosit sayısı ve işlevi ile kapillar duvar işlevine ilişkin bozukluklarda fikir verdiği gibi operasyon öncesinde de başvurulmuş bir laboratuvar yöntemidir.

**Deneyin yapılışı:** Parmak ucu alkolle temizlendikten sonra lanset ile delinir. İlk çıkan damla atılır. 8-10 cm çapında kesilmiş olan süzgeç kağıdı 30'ar saniye aralıklarla kan damlasına değdirilir. Kan damlası oluşmayana kadar bu işlem sürdürülür. Kanın akması ile durması arasında geçen süre kanama süresi olarak, lekelerin sayılmasıyla belirlenir.

Duke yöntemi ile kanama süresi sağlıklı insanlarda 2-5 dakikadır. Evcil hayvanlarda 1-5 dakika arasında değişir. Trombositopeni, skorbüt, alerji, aplastik anemi, akut lösemi, pernisiyöz anemi, Hodgkin hastalığı gibi durumlarda kanama süresi uzar.

**Pıhtılaşma süresi:** Pıhtılaşma, damar yaralanmalarında fazla kan kaybını önleyen bir savunma sistemi, pıhtılaşma süresi ise kanın koagüle olması için geçen süredir. Pıhtılaşma bozukluğuna bağlı hastalıkların tanı ve prognozunda yararlı bir laboratuvar yöntemidir. Ayrıca operasyon sırasında oluşabilecek pıhtılaşmaya ilişkin bozuklukları saptamak amacıyla pıhtılaşma süresinin belirlenmesi sıklıkla operasyon öncesi başvurulmuş önlemler arasındadır. Kanın pıhtılaşma süresini saptamak için çeşitli yöntemler vardır. Ancak her yöntemde pıhtılaşma için başka bir indeks kullanılması ve deney koşullarının birbirine uymaması nedeniyle değişik yöntemlerle saptanan sonuçlarda birbirinden farklı olmaktadır. Örneğin parmak ucundan alınan kanın pıhtılaşma süresi, vena kanına oranla daha kısadır. Bu yöntemler arasında saat camı, tüp kapillar boru, Lee ve White yöntemleri sayılabilir. Rutin kullanımdaki kolaylığı açısından kapillar boru yöntemi ile pıhtılaşma süresi sıklıkla başvurulmuş yöntemdir.

**Deneyin yapılışı:** Parmak ucu alkolle temizlendikten sonra lansetle delinir. İlk çıkan damla silinir. Kapillar tüp kan damlasına değdirilerek, kapillare özelliği ile doldurulur. İki dakika beklenir. Borunun bir ucuna yakın kısmına önceden cam testereyle çizilen çentikten, boru bükülerek kırılır. İki uç arasında fibrin liflerinin görülmesine kadar 30'ar saniye aralıkla bu işleme devam edilir. Fibrin lifinin görüldüğü ana kadar geçen süre pıhtılaşma süresi olarak ifade edilir. Bu yöntemle saptanmış pıhtılaşma süreleri, sağlıklı insanlarda 2-6 dakika, sığırdaki 3-15 dakika, atta 2-7.5 dakikadır. Karaciğer lezyonlarına bağlı olarak, faktör VII ve faktör XII'nin dışındaki diğer plazma pıhtılaşma faktörlerinin eksikliği halinde, Hemofili A ve Hemofili B' de, K vitamini noksanlığında tıkanma sarılığı, melananeonatorum, anemi ve lösemide, dikumarol ve heparin tedavilerinde pıhtılaşma süreleri uzar.

## HAYVANLARDA KAN GRUPLARI

- Köpek : 7 genetik sistem
- Sığır : 11 "
- At : 7 "
- Keçi : 6 "
- Tavuk : 28 faktör
- Lama: 6 faktör
- Kedi: 3 adet kan grubu
- Domuz: 16 genetik sistem. 77 faktör.
- Koyun: 7 genetik sistem. 22 faktör.

Sığır, domuz, koyun, keçi, lama türlerinde ilk kan transfüzyonu oldukça güvenlidir.

## KÖPEKLERDE KAN GRUPLARI

- A sistemi; 3 faktör.
- Aa1 (USA'da % 45), Aa2 (USA'da % 20), Aa3 (sadece Avustralya'da).
- Aa1, Aa2 doğal antikor bulunmaz. O yüzden ilk transfüzyonda reaksiyon görülmez. İkinci çok şiddetli reaksiyon görülür.
- Aa3 ile ilgili transfüzyon çalışmaları yapılmamıştır.
- B sistemi; 1 faktör. (USA'da % 6, Greyhoundların % 23'ü)
- C sistemi; 1 faktör (USA'da çok nadir)
- D sistemi; 1 faktör (USA'da çok nadir).
- F sistemi; 1 faktör (çok nadir)
- Tr sistemi; 2 faktör
- DEA 8 sistemi.

## KEDİLERDE KAN GRUPLARI

- A grubu; en fazla görülen gruptur. Anti-B antikor doğal olarak çok düşük miktarlarda bulunur. O yüzden ilk transfüzyonda reaksiyon görülmez.
- B grubu; daha az görülür. Anti-A antikor doğal olarak çok yüksek miktarlarda bulunur. İlk transfüzyonda bile şiddetli reaksiyon görülür.

- AB grubu; çok nadir görülür. Ne anti-A ne de anti-B antikor taşırlar. İlk seferde transfüzyon reaksiyonu görülmez.

#### **ATLARDA KAN GRUPLARI (7 SİSTEM 34 FAKTÖR)**

- EAA sistemi; a, b, c, d, e, f, g.
- EAC sistemi; a.
- EAD sistemi; a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r.
- EAK sistemi; a.
- EAP sistemi; a, b, c, d.
- EAQ sistemi; a, b, c.
- EAU sistemi; a.
- Atların % 90'ında doğal olarak diğer kan gruplarına karşı antikor bulunmaz. Yine de transfüzyondan kaçınılır (% 10). İkinci transfüzyonlarda çok şiddetli reaksiyonlar görülür.

#### **SIĞIRLARDA KAN GRUPLARI (11 SİSTEM 70'DEN FAZLA FAKTÖR)**

- |                           |                          |
|---------------------------|--------------------------|
| ● EAA sistemi; 5 faktör.  | ● EAM sistemi; 3 faktör. |
| ● EAB sistemi; 40 faktör. | ● EAS sistemi; 9 faktör. |
| ● EAC sistemi; 12 faktör. | ● EAZ sistemi; 1 faktör. |
| ● EAF sistemi; 5 faktör.  | ● EAR sistemi; 2 faktör. |
| ● EAJ sistemi; 1 faktör.  | ● EAT sistemi; 1 faktör. |
| ● EAL sistemi; 1 faktör.  |                          |

#### **ÇAPRAZ KARŞILAŞTIRMA TESTİ**

Genellikle hayvanlara kan transfüzyonu yapılmadan önce bu yöntem ile kan grupları yönünden uygunluk saptanmaya çalışılır. Yöntem aşağıdaki şekilde uygulanır:

Hem alıcı hem de vericiden antikoagülanlı ve antikoagülanlı kan örnekleri alınır. Antikoagülanlı kan örnekleri santrifüj edilir ve % 0.09'luk NaCl ile yıkanarak % 5'lik alyuvar süspansiyonu elde edilir (2 ml % 0.09'luk NaCl üzerine 5 damla kan örneği). Antikoagülanlı tüplerden ise serum elde edilir. Alıcının alyuvar süspansiyonu (2 damla) ile vericinin serumu (2 damla) ve vericinin alyuvar süspansiyonu (2 damla) ile alıcının serumları (2 damla) deney tüplerine ayrı ayrı konulur ve karıştırılır. Ayrıca alıcı ve vericinin kendi alyuvar süspansiyonları ile kendi serumları da aynı şekilde karıştırılır (kontrol tüpleri). Tüm tüpler 1000 devirde 2 dakika santrifüj edilip 30 dak. Laboratuvar ısısında bekletilir. Örneklerde kümeleşme ve hemoliz olup olmadığı kontrol edilir. Karışımından bir miktar kan lam üzerine konulup mikroskop altında da inceleme yapılabilir. Kontrol tüplerinde hemoliz ya da kümeleşme olmaması gerekir. Çapraz karşılaştırılan tüplerin birinde ya da ikisinde hemoliz ve kümeleşme varsa vericinin uygun olmadığını hiçbirinde hemoliz ve kümeleşme yoksa tam uygunluğu ifade eder.

**Uygulamanın adı:** Akyuvar sayımı.

**Yapılacağı hafta:** 13

**Uygulamanın temel hedefi:** Akyuvarların kandaki artış ya da azalışlarını saptayabilmek ve klinik amaçlı yorum yapmak.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:** Işık mikroskobu, akyuvar sulandırma pipeti, Türk eriyiği, Neubauer lamı, lamel, kan örneği.

### UYGULAMA BİLGİSİ:

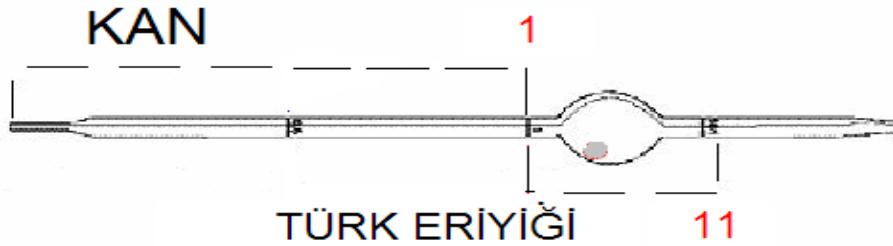
Prensip yönünden alyuvar sayımına benzer. Kandaki oranlarının az olmasından dolayı sulandırma oranı 1/10 olarak yapılır. Akyuvar pipetinin -1- çizgisine kadar kan -11- çizgisine kadar Türk Eriyiği çekilir. 3-5 dakika karıştırıldıktan sonra hazırlanmış olan sayım kamarasına alyuvar sayımında anlatıldığı şekilde doldurulur. Neubauer lamında bir büyük kare üzerine düşen yani 400 küçük karedeki akyuvarların tamamı sayılır. Neubauer lamındaki orta kare olarak bölümlendirilmiş kenarlarda bulunan dört büyük kare sayılarak ortalaması alınır.

Aşağıdaki formülden  $\text{mm}^3$ 'teki akyuvar sayısı hesaplanır.

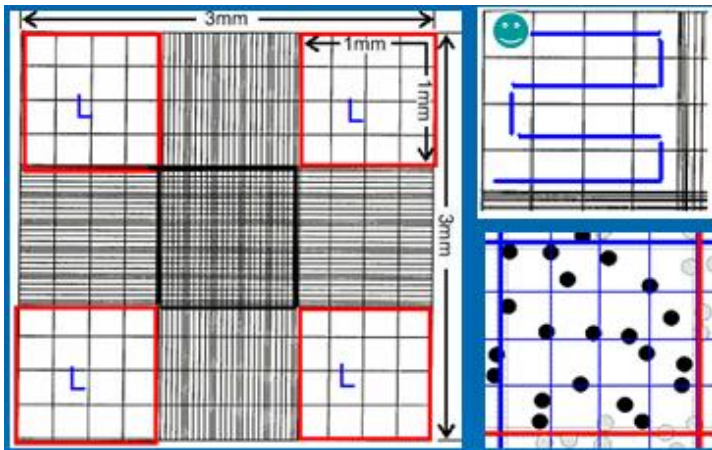
$$\text{Akyuvar Sayısı} = \frac{\text{Bulunan hücre sayısı (a)} \times \text{sulandırma} \times 4000}{400}$$

Değerler yerine konulursa;

$$\text{Akyuvar Sayısı} = \frac{a \times 10 \times 4000}{400} = a \times 100 / \text{mm}^3 \text{ formülü elde edilir.}$$



Şekil1. Akyuvar sulandırma pipeti (1 çizgisine kadar kan, 11 çizgisine kadar sulandırma eriyiği çekilir)



Şekil 2. Akyuvar sayımı. L harfi ile gösterilen bölgelerdeki 4 büyük kare sayılıp ortalaması alınır. Sağ alttaki örnek büyük karede kırmızı ile gösterilen iki kenara temas eden hücreler sayılmaz (hücreler soluk gösterilmiştir), mavi olan iki kenardaki hücreler ve içteki diğer tüm hücreler sayılır. Sayımdaki izlenecek yol sağ üstte gösterilmiştir.

Tablo 1. Akyuvarların ortalama sayıları ve değişim sınırları (10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)

| Tür    | Akyuvar sayısı   | Yazar    | Tür         | Akyuvar sayısı   | Yazar       |
|--------|------------------|----------|-------------|------------------|-------------|
| İnsan  | 7.0 (5.0-10.0)   | Wintrobe | Maymun      | 15.5 (5.0-27.0)  | Schalm      |
| At     | 9.0 (5.5-12.5)   | Schalm   | Deve        | 20.1 (12.1-27.0) | “           |
| İnek   | 8.0 (4.0-12.0)   | “        | Merkep      | 14.4 (11.5-21.9) | “           |
| Koyun  | 4.0 (2.5-7.5)    | “        | Tavşan      | 8.0 (5.2-12.0)   | Schermer    |
| Keçi   | 9.0 (4.0-13.0)   | “        | Kobay       | 9.0 (3.2-15.0)   | “           |
| Köpek  | 11.5 (6.0-17.0)  | “        | Beyaz sıçan | (5.0-25.6)       | “           |
| Kedi   | 12.5 (5.5-19.5)  | “        | Beyaz fare  | 10.0 (7.0-15.0)  | “           |
| Domuz  | 16.0 (11.0-22.0) | “        | Hamster     | 6.2 (3.4-7.6)    | “           |
| Merkep | 14.4 (11.5-21.9) | “        | Tavuk       | 31.9 (21.2-46.4) | Konuk Erkol |

Dolaşımdaki akyuvar sayısının normalden yüksek olmasına lökositoz, düşük olmasına lökopeni denir. Fakat patolojik durumlarda her lökosit tipi aynı oranda artış ya da azalış göstermemektedir. Bazı durumlarda total lökosit sayısı değişmediği halde lökositlerin yüzde oranları değişmektedir. Bu yüzden total lökosit sayısı, (WBC= White Blood Cell) lökositlerin yüzde oranlarının saptandığı sürme kan frotisinden elde edilen lökosit formülü ile birlikte değerlendirilmelidir. Her bir lökositin yüzde değeri ile total lökosit sayısı çarpıldığı takdirde ortaya çıkan sayı her birinin kandaki total sayısını verir. Örneğin WBC= 12000, Nötrofil % değeri= 70 olursa Total Nötrofil Sayısı= 12000 x %70= 8400 bulunur. Ayrıca tüm kan hücrelerinin morfolojilerinin değerlendirilmesi açısından da sürme kan frotisinin yapılması gerekir.

İnsan, köpek ve at kanları nötrofiler karekterde (nötrofillerin kandaki yüzde değerleri diğer lökositlerden daha yüksek), sığır, koyun, keçi, domuz ve tavuk kanları lenfositler karekterdedir (lenfositlerin kandaki yüzdesi diğerlerinden daha yüksek). Genel olarak denebilir ki; lökositosisin en önemli nedenlerinden biri kandaki nötrofil artışıdır. Genelde nötrofiliye bağlı lökositosis görülür. Lökositosis yaratacak yeterli büyüklükte lenfositosis ve eozinofili nadirdir. Tek mideli hayvanlarda lökopeni, nötropeni ile eğdeğerdir. Eğer nötrofil sayısı yeterliyse, lenfopeni ve eozinopeni lökopeniye yol açmaz. Ruminantlarda nötropeni veya lenfopeni, her ikisi de lökopeniye yol açabilir.

### Fizyolojik Lökositosis

Lökogramda (beyaz kan tablosu), sola kayma şekillenmeksizin hafif bir nötrofil artışı görülür. Lenfosit sayısı normaldir veya daha çok lenfositosis oluşur. Eozinofil, bazofil ve monositler normal sayıdadır. Bu tablonun oluşmasının nedeni korku, heyecan, ağır egzersizler sırasında salınan epinefrindir. Mekanizması; nötrofili oluşmuştur çünkü; dolaşımdaki nötrofiller artmış, marjinal depo hücreleri (damar endoteline tutunmuş nötrofiller) azalmıştır. Dolayısıyla kemik iliğinden kana yeni genç nötrofil geçişi söz konusu değildir. Bu durum şu mekanizma ile meydana gelir; korku, heyecan, ani ağır egzersizler sırasında salınan epinefrin muhtemelen musküler aktiviteyi, kalp aktivitesini ve kan basıncını artırarak marjinal nötrofillerin mobilizasyonunu, dolaşıma katılmasını sağlar.

Fizyolojik lökositosis durumlarında artış gösteren hücrelerden birisi de lenfositlerdir ve bunun oluş mekanizması tam anlamıyla açıklanamamıştır. Bu konuda iki teori vardır. 1- Epinefrin lenf nodüllerindeki postkapillar venüllerin endotel hücrelerinde bulunan resöptörleri bloke edebilir ve bu da kandaki lenfositlerin tekrar lenfoid dokuya geçmesini önler. 2- Lenfositlerin torasik kanaldan kana ulaşması artan musküler aktivite ile kolaylaştırılmaktadır.

Fizyolojik nötrofili köpeklerde nadiren görülmesine rağmen, genç ve sağlıklı kedilerde karşılaşılan bir durumdur. Sığırlarda doğum ve ağır egzersiz sırasında oluşabilir. Nötrofil ve lenfosit sayısında artış olur fakat diğer türlerden farklı olarak eozinopeni görülür. Genç ve sağlıklı atlarda da fizyolojik lökositosis oluşur. Laktasyondaki dişi domuzlarda fizyolojik lökositosis, özellikle lenfositosis oluşmaktadır. Ayrıca sağlıklı domuzlarda da beslenmeden sonraki 3-5 saat içerisinde aynı tablo görülür.

## Kortikosteroidlerin Lökositler Üzerine Olan Etkisi

Kortikosteroid verildiği takdirde kanda nötrofil sayısı artar, genellikle sola kayma şekillenmez. Bunun yanında lenfosit ve eozinofil sayısında azalma ve bazı hayvanlarda monositozis görülür. Kortikosteroidler, marjinal depodaki nötrofillerin periferel dolaşıma geçmelerini sağlayarak nötrofiliye neden olurlar. Buna ilaveten kemik iliğinden nötrofillerin salınma oranları artar ve kortikosteroidlerin etkisiyle nötrofillerin yarı ömürleri uzar. Nötrofiller kanda uzun süre kaldıkları için çekirdekleri hipersegmentli bir hal alır.

\* Kortikosteroidlerin ve ACTH'nın tedavi için kullanımlarını takiben vücutta bunlara karşı bir cevap oluşur. Kortikosteroidin tipi, verilmiş şekli ve dozu oluşacak cevabın büyüklüğünü belirler.

\* Hayvanlarda endojen kortikosteroidlerin salınması durumunda da buna karşı bir cevap gelişir. Endojen kortikosteroidler daha çok ağrı, çok yüksek veya çok düşük vücut sıcaklığı durumlarında salınır.

\* Hyperadrenokortikozizli hayvanlarda da vücutta bir tepki meydana gelir. Nötrofilinin büyüklüğü hastalığın uzaması ile birlikte azalır fakat diğer lökosit değişiklikleri kalıcıdır.

Köpeklerde, kortikosteroid uygulandığı takdirde WBC= 15000-25000/ µl. arasındadır bazen nadir olarak 40000/µl'ye kadar çıkabilir. Sola kaymanın şekillenmemiş olduğu nötrofili tablosu tipiktir fakat kortikosteroid etkisi süresince depo nötrofillerde bir azalma şekillenirse genç nötrofillerin sayısı kanda 1000/µl'ye yükselebilir. Ayrıca, lenfosit sayısında azalma (lenfopeni), monositozis ve eozinopeni meydana gelir.

Sığırlarda kortikosteroid salınmasına sebep olan genel nedenlere ilaveten (ağrı ve sıcaklık değişiklikleri) abomazumun yer değiştirmesi, süt humması, güç doğum, ketozis ve indigesyon durumlarında da kortikosteroidal bir tepki oluşur. Sığırlarda kortikosteroid etkisiyle daima eozinopeni oluşur. Sağlıklı sığırlarda dahi, taşınma ve yabancı bir çevreye yerleşme durumunda diğer lökosit tipleri steroidal bir cevap oluşturmazken, eozinofil sayısında azalma görülür.

## Yangısal Hastalıklar ve Nötrofiller

Belirli bir dereceye kadar doku harabiyeti yapan hemen her faktör nötrofili ve lökositozise neden olurlar. Nötrofili/lökositozisin en büyük nedeni aktif yangıdır. Nötrofiller, suppuratif-eksudatif yangılarda baskındır, fakat diğer lökositler (eozinofil, lenfosit, monositler) diğer yangı türlerinde işe karışır ve suppuratif yangıların minör veya değişebilen komponentleridir. Bakteriyel enfeksiyonlar yaygın yangı sebebidirler ancak çoğu yangısal olaylar septik orijinli değildir. Dolayısıyla yangı demek enfeksiyon demek değildir. Septik olmayan yangı nedenleri arasında; nekroz, kimyasal maddelerin oluşturduğu yangılar, immün aracılı yangılar, toksinler sayılabilir.

Nötrofili/ lökositozisin başlıca 4 sebebi vardır:

1- Yangı 2- Stres-steroidler 3- Egzersiz-epinefrin 4- Lösemi

Özetle denebilir ki; nötrofili inflamasyon ile birlikte olsun ya da olmasın vücutta meydana gelen herhangi bir doku hasarı sonucu oluşur. Aşırı yorgunluk, akut kanama, zehirlenme, operasyonlar, periton boşluğunda oluşmuş çok hafif bir kanama ve vücuda yabancı protein zerki dolaşım sistemindeki nötrofil sayısını önemli ölçüde artırır.

## LÖSEMİ

Akyuvarların kontrolsüz üretimi, bir miyeloid ya da lenfoid hücrenin kanseröz mutasyonu sonucu oluşur. Bu, dolaşan kanda anormal akyuvarların sayısının çok artması ile karakterizedir. Lösemiler iki genel tipe ayrılırlar: Lenfoid lösemiler ve miyeloid lösemiler. Lenfoid lösemiler, lenfoid hücrelerin kanseröz üretimi nedeniyle olur. Genellikle lenf düğümleri ve diğer lenfoid dokularda başlar ve sonra vücudun diğer bölgelerine yayılır. İkinci lösemi tipi olan miyeloid lösemi kemik iliğindeki genç miyeloid hücrelerin kanseröz üretimi ile başlar ve sonra vücuda yayılır. Hemen hemen tüm lösemiler, lösemnin kemik iliği veya lenf düğümlerinden kaynaklandığına bakmaksızın dalak, lenf düğümleri, karaciğer ve özellikle damar bölgelerine yayılırlar. Bu bölgelerin herhangi birinde hızla büyüyen

hücreler çevre dokulara yayılır. Bu dokuların metabolik elementlerini kullanır ve sonuçta doku harabiyetine neden olur. Lösemnin genel etkileri; enfeksiyonların gelişmesi, ağır anemi ve trombositopeniye bağlı kanamalar şeklinde görülür. Bu etkiler, normal kemik iliği ve lenfoid hücrelerin fonksiyon yapamayan lösemik hücreler ile yer değiştirmesi sonucu oluşur. Sonuç olarak, lösemnin vücutta belki de en önemli etkisi, büyüyen kanserli hücreler tarafından metabolik maddelerin aşırı kullanımıdır. Lösemik doku yeni hücreleri o kadar hızlı üretir ki, vücut sıvılarında besin maddelerine özellikle aminoasitler ve vitaminlere gereksinim çok artar. Buna bağlı olarak hastanın enerjisi çok azalır ve aminoasitlerin aşırı kullanımı, vücudun normal protein dokularının hızla azalmasına neden olur. Böylece lösemik doku büyürken, diğer dokular gerilemeye başlar. Metabolik açlık sonucu ölüm şekillenir.

### **Köpek ve Kedilerde Nötrofilinin Nedenleri**

- Fizyolojik-korku/heyecan, ağır egzersiz (hafif nötrofili)
- Glikokortikoid veya ACTH verilmesi (orta derecede nötrofili)
- Hiperadrenokortisizm (Cushing sendromu)
- Şiddetli kronik stres, nekroz ve yangı (enfek-siyona bağlı olmayan)
- Hipertroidizm (özellikle kedi)
- Akut enfeksiyon (özellikle bakteriyel), aynı zamanda kronik aktif yangı, şiddetli hemolitik veya hemorajik anemi
- Kronik granülositik anemi (ender)
- Akut granülositik lösemi
- Miyelomonositik lösemi (ender)
- Primer polisitemi (ender)
- Östrojen toksikasyonu
- Kanin granülopati sendromu (çok ender)
- Lenfoproliferatif bozukluklar
- Sistemik lupus eritematozis
- Gebelik
- Anabolik steroidler

### **Atlarda Nötrofilinin Nedenleri**

- |                                                   |                                         |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| - Heyecan/egzersiz (yaygın)                       | - Selulitis (ender)                     |
| - Stres/eksojen kortikosteroid verilmesi (yaygın) | - Pyelonefritis (ender)                 |
| - Kronik pnömoni/plöritis (yaygın)                | - Kronik hepatitis (ender)              |
| - Gurm (Str. equi enfeksiyonu) (yaygın)           | - Kolelitiazis (ender)                  |
| - Kronik peritonitis/abdominal abse (yaygın)      | - Lenfosarkom (ender)                   |
| - Diğer internal abseler (yaygın)                 | - Diğer internal neoplaziler (ender)    |
| - Kronik salmonellozis veya kolitis (yaygın)      | - Hipofiz adenomu (ender)               |
| - Tromboflebitis (yaygın)                         | - Otoimmün hemolitik anemi (ender)      |
| - Purpura hemorajika (vaskulitis) (yaygın)        | - Sistemik fungal enfeksiyonlar (ender) |
| - Bakteriyel endokarditis (ender)                 |                                         |

### **Ruminantlarda Nötrofili Sebepleri**

- |                                                   |                                                 |
|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| - Stres/eksojen kortikosteroid verilmesi (yaygın) | - Kazeöz lenfadenitis (koyun-keçi) (yaygın)     |
| - Kronik pnömoni (yaygın)                         | - Mikoplazma ve klamidal poliartiritis (yaygın) |
| - Kronik travmatik retikulooperitonitis (yaygın)  | - Kronik pyelonefritis (yaygın)                 |
| - Peritonitis (yaygın)                            | - Kronik metritis (yaygın)                      |
| - İnternal abseler (yaygın)                       | - Karaciğer apseleri (yaygın)                   |

- Enteritis (yaygın)
- Umbilikal apseler (yaygın)
- Akut salmonellozis (yaygın)
- Septik artiritis (yaygın)
- Neonatal sepsisemi (yaygın)
- Otoimmün hemolitik anemi (ender)
- Toksinler (ender)
- Gebelik toksemisi (koyun-keçi) (ender)
- Sığırların granülositopatik sendromu (ender)

## LÖKOPENİ/NÖTROPENİ

Lökopeni ve nötropeni köpek ve kedilerde ender oluşur. En yaygın iki nedeni; yangısal reaksiyonlarda aşırı doku tüketimi ve primer kemik iliği hastalıklarıdır. Nötropeni/lökopeninin üçüncü nedeni, genellikle deneysel çalışmalarda görülen nötrofillerin marjinal depoya geçici olarak kaymasıdır. Anafilaksi sırasında, endotoksin ve mediatörler psödonötropeniye neden olur.

Aşırı doku tüketimine bağlı gelişen nötropeniler, şiddetli hastalıklarda gelişir. Bu hastalıklarda erişkin olmayan nötrofiller kemik iliğinden, hatta mitotik depodan (örneğin; miyelositler ve progranülositler) salınırlar. Geniş ve yüzeysel yangısal değişimler (barsak rupturu sonucu şekillenen peritonitis) veya sepsisemi lökopeninin nedenleri arasındadır. Bunun aksine, apse veya piyogen bakterilerin neden olduğu piyometra gibi lokalize irinli gelişmeler genellikle lökositozise neden olurlar.

Kemik iliği hastalıklarında gelişen lökopenileri, yangısal lökopeniden ayırt etmek için, tam kan sayımıyla diğer hücrelerin durumu kontrol edilir. Nonrejeneratif anemi ve trombositopeninin birlikte görüldüğü pansitopeni veya bisitopeni kemik iliği hastalıkları için önemli göstergelerdir. Bu durumda, kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisi endikedir. Primer kemik iliği hastalıklarında çoğunlukla tüm hücre tiplerinde üretim azalmıştır. Nötrofillerin kandaki hayat süreleri kısadır. Bu nedenle, alyuvarlardan ve trombositlerden önce azalabilirler. Nötropeninin bu iki nedeninin ayırımında, geçen zaman süresi de göz önünde tutulmalıdır. Kemik iliğiyle ilgili lökopeniler yavaş gelişirler ve uzun süre devam ederler. Bunun yanında, aşırı doku tüketimi sonucu lökopeni/nötropeniye neden olan hastalıklar akut seyirlidir. Nötrofillerdeki toksik değişiklikler, rulo oluşumu ve erişkin olmayan nötrofiller, şiddetli yangı yada enfeksiyon sebebiyle gelişen lökopeniyi gösterir.

Kemik iliği toksikasyonu sonucu gelişen nötropeni/lökopeni, antikanser kemoterapisi sırasında oluşur. En düşük nötropeni tedavinin başlamasından sonra 5-7. günlerde oluşur. Nötrofil sayısının  $2000/\text{mm}^3$ 'ün altına düşmesi halinde, hastanın sepsis yönünden gözetim altında tutulması gerekir. Hastada nötrofil sayısı  $500/\text{mm}^3$ 'ün altında olduğunda ve ateş görüldüğünde sepsis geliştiği (muhtemelen enterik bakterilerden kaynaklanan) düşünülür. Nötrofil sayısı  $< 2500/\text{mm}^3$  veya trombosit sayısı  $< 50000/\text{mm}^3$  olduğunda miyelosupresif ajanlar ve kemoterapi durdurulmalıdır.

Gri Collie ırkı köpeklerde erken ölümlerle karakterize, sıklıkla nötropeni görülür. Hastalık resesif genlerle taşınır. Nötropeni sırasında total nötrofil sayısı  $0-500/\text{mm}^3$ 'e kadar düşer. Bu sırada, total lökosit sayısında azalma olmayabilir çünkü bunu kompanse edecek biçimde monositozis oluşur.

Büyük hayvanlarda nötropeni, özellikle gastrointestinal hastalıklar, mastitis veya koliform mastitisin neden olduğu, bakteriyel sepsisemi veya endotoksemide gelişir. Viral hastalıklar ve anafilakside nötropeniye neden olur.

Nötrofilide olduğu gibi, nötropeninin değerlendirilmesinde de nötrofil morfolojisi son derece faydalıdır. Tokseminin şiddeti, toksik nötrofillerin sayısı ve toksik değişikliklerin derecesi ile yansıtılır. Şiddetli toksemiye neden olan hastalıklarda, kemik iliğindeki hücreler vakuolleşmeye başlar, bölünemezler ve böylece mevcut nötropeniye katkıda bulunurlar. Şiddetli enfeksiyon ve yangı sonucu gelişen kemik iliği hipoplazisi, sığırlarda çok sık olarak görülür. Büyük hayvanlarda kemik iliği hücre oluşumunun azalmasına bağlı olarak gelişen nötropeni ender görülür.

## BAZOFİLİ

Eozinofiliye neden olan olaylarda ve lipemi durumlarında bazofili görülür. Bazofiller ektoparazitlere karşı direnç oluşumuna yardımcı olur. Deri ve kanda bazofili sığırların kenelere karşı gelişen immün

reaksiyonlarında tespit edilmiştir. Eozinofili yokluğundaki bazofili, bazı köpeklerde değişen lipid metabolizmasına bağlıdır. Bazofiller ve mast hücreleri vücuttaki en büyük heparin kaynağıdır. Heparin kan damarları boyunca kanın yağdan temizlenmesinde lipoprotein lipaz aktivitesini artırır. Büyük hayvan türlerinde de, periferik kanda bazofiller ender olarak görülür. Ancak kedi ve köpeklere oranla daha sık rastlanır. Bazofillerin sayısındaki değişikliklerin yorumlanması zordur. Bazofili, IgE ve lenfokinlerin üretildiği, allerjik dermatitis ve gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonları gibi hastalıklarda görülebilir. Ekzojen kortikosteroid uygulamaları da bazofiliye neden olur.

## **MONOSİTOZİS**

Monositler dokulardaki makrofajların kandaki erişkin olmayan formlarıdır. Monositler makrofaj halinde olgunlaştığında daha spesifik fonksiyonlar kazanırlar (enzim içeriği). Makrofajlar, nekrotik döküntüler mantarlar gibi belirli organizmaları neoplastik hücreleri uzaklaştırırlar. Hastalıklar sırasında sürekli makrofaj ihtiyacı sebebiyle monositozis oluşması beklenir. Örneğin otoimmün hemolitik anemide, alyuvarlar ve bunların üzerindeki antikor veya komplementler sürekli olarak yıkımlanır ve nekrotik hücre yıkıntıları uzaklaştırılır. Makrofajlar tüm yangısal gelişmelerin daha sonraki komponentleridir. Monositozis irinli, piyogranülomatoz, nekrotik, malign, hemolitik, hemorajik ve immün hastalıklarda oluşur. Monositlerin intrasitoplazmik inklüzyonları, nötrofillerde belirtildiği gibi değişik hastalıklarda gözlenebilir. Bu hastalıkların arasında Köpek Gençlik Hastalığı, Erlişyozis Histoplazmozis, Canin Hepatozoonozis ve otoimmün hemolitik anemi oluşturan kan nakilleri bulunur.

Monositozisin ayırıcı tanısında, özellikle köpeklerde steroidal cevap makrofaj ihtiyacı duyulan hastalıklar ve kronik yangısal hastalıklar göz önünde tutulmalıdır. Akut stres durumları ve kronik bozukluklar monositozis oluşturur. Bu nedenle monositozis olduğunda hayvanların öncelikle stres-steroit yönünden tam kan muayeneleri yapılmalıdır. Hayvanda lenfopeni ve eozinopeni yok ise kronik yangı ve hücre yıkımlanmasına yol açan nedenler yönünden değerlendirilmelidir.

Büyük hayvanlarda monositozis kronik irinli hastalıklarda, granülomatoz yangı ve yaygın doku nekrozu ve yabancı cisim hastalıklarında oluşur. Büyük hayvanlarda yangısal hastalıklarda monosit sayısı büyük oranda artmadığından, lökogramda önemli bir yer teşkil etmez.

## **LENFOSİTOZİS**

Fizyolojik lökositoziste anlatıldığı gibi epinefrin etkisiyle geçici lenfositozis oluşur. Sürekli lenfositozis genellikle kronik enfeksiyon, viremi veya immün hastalıklar sırasında oluşan güçlü bir immün uyarıyı gösterir. Köpek ve kedilerde lenfositik lösemi ve lenfosarkomada, FeLV enfeksiyonlarında uzun süreli antijenik stimülasyon yaratan kronik enfeksiyonlarda, aşırı duyarlılık, otoimmünite durumlarında, aşılmalarda, hipoadrenokortisizmde lenfositozis görülür. Atlarda lenfositik lösemide ve atların enfeksiyöz anemisinde nadir olarak lenfositozis görülür. Sığırların lösemik virusu (BLV) persisten lökositozise neden olur. Lenfositik lökositozis BLV ile enfekte sığırların dışındaki hayvanlarda ender görülür. Ayrıca ruminantlarda kronik enfeksiyonlar (pnömoni, perikarditis, karaciğer apsesi, peritonitis) ve lenfositik lösemide lenfositozisin nedenleri arasındadır.

## **LENFOPENİ**

\* Ekzojen kortikosteroidler veya ACTH uygulanması, vücut sıcaklığının üst sınıra çıkması veya iyice düşmesi, hiperadrenokortisizm, ağırlı hastalıklar lenfopeni oluşturur.

\* Akut sistemik enfeksiyonlar: Sığırların enzootik abortları, köpeklerin Corona Virus enfeksiyonları, Equine Herpes Virus, Equine İnfluenza, İnfeksiyöz Kanin Hepatitis, Mycoplasma enfeksiyonları, Koyunlarda Mavi Dil Hastalığı ve septisemilerde lenfopeni görülür.

\* Sonradan oluşan T-lenfosit yetmezliği; doğum sonrası oluşan enfeksiyonlar örneğin köpeklerin gençlik hastalığı, Equine Herpes Virus, Felin İnfeksiyöz Panlökopeni, Felin Löko Virus buna neden olur.

\* Bağışıklık sistemini baskılayıcı gıdalar ve radyasyon.

- \* Lenf sıvısı kaybı (dolaşıma verilen lenfin azalması): Kedilerin kardiyovasküler hastalıklarında şilonların torasik kanalın dışına çıkması, torasik lenf kanalının yırtılması.
- \* Lenfosit kaybı (geri getirilen lenfin azalması); sindirim kanalı lenfosarkomları, barsak neoplazmları, granülomatoz enteritis, Johne's hastalığı, protein kaybına sebep olan enteropatiler (lenfangiektazi), ülseratif enteritis.
- \* Lenf nodülleri yapısındaki yıkımlanmalar, genaralize granülomatöz hastalıklar, çok merkezli lenfosarkomlar.

**Uygulamanın adı:** Kan frotisi yapımı ve formül lökosit I ve II

**Yapılacağı hafta:** 14-15

**Uygulamanın temel hedefi:** Kandaki akyuvar tiplerini yüzde olarak belirleyerek hastalık durumlarında artış, azalış ve fonksiyonel özelliklerinin nasıl değiştiği hakkında klinik amaçlı değerlendirerek yorum yapabilmek.

**Kullanılacak materyal ve malzeme adı:** Lam, lamel, pamuk, ölçü silindiri, damlalıklı şişe veya damlalık, Giemsa Boyası, May-Grunwald Boyası, küvet, cam köprü, damıtık su, çalar saat, pipet.

## UYGULAMA BİLGİSİ:

### Sürme Kan Frotisi Yapımı

İyi bir preparat yapımı, her şeyden önce kullanılacak gereçlerin son derece temiz ve kuru olmasına bağlıdır. Üzerine kan yayılacak lam, sol elin baş ve işaret parmakları arasında tutularak üst yüzü aşağıya gelecek biçimde el bilekten döndürülür. Parmak ya da kulak ucundan çıkan kana değdirilerek ya da kan örneğinden ufak bir damla alınır. Kan, lamın işaret parmağıyla tutulan ucundan bir cm uzaklıkta ve orta noktasına, mercimek büyüklüğünde alınmalıdır. Lamın kan bulunan yüzü tekrar yukarı gelecek şekilde çevrilir. Sağ elin baş ve işaret parmakları arasında tespit edilen lamel lamla 45° açı yapacak biçimde kan damlasının biraz önüne konulur, geriye çekilerek kanla teması sağlanır. Kanın temas kenarı boyunca yayılması beklendikten sonra, lamel lam üzerinde aynı hızda hiç durmadan kaydırılarak froti yapılıp, kuruması beklenir.

İyi bir frothinin; ince ve homojen olması üzerinde yer yer kesiklikler veya toplanmalar bulun-maması yayılmış kanın lamın ucunda dantela tarzında sona ermesi ve normal uzunlukta olması gerekir.

### Animasyon

1- <http://www.youtube.com/watch?v=JMd2RScYu0M&feature=related>

2- [http://www.youtube.com/watch?v=O3d\\_4dVVSE&feature=related](http://www.youtube.com/watch?v=O3d_4dVVSE&feature=related)

### Frotilerin Boyanması

**1- May Grünwald-Giemsa Karışık Boyama Yöntemi:** Pappenheim'in "panoptik boyama yöntemi" de denilen bu yöntemde önce Giemsa Boyası hazırlanır. Bu amaçla her froti için 5 ml olmak üzere boyanacak froti sayısı kadar distile su ölçü silindirine konur. Üzerine, her 1 ml için bir damla hesabıyla Giemsa boyasından damlatılır. Her damlatışta sol elle tutulan ölçü silindiri bilekten sallanarak damlanın suyla karışması sağlanır. Havada kurutulmuş froti küvet üzerindeki cam köprü üzerine üst yüzü yukarı gelecek biçimde dizilir. Üzerine bir pipet aracılığıyla 5 ml May Grünwald boyası dökülerek 3-5 dakika beklenir. Lamın bir ucundan diğer taraftan boya akacak şekilde aynı miktarda damıtık su konur ve 1 dakika beklenir. Saf su dökülür, üzerine önceden hazırlanmış Giemsa boyası dökülerek 20 dakika beklenir. Boya dökülür, damıtık su ile yıkanır, lamın arka yüzündeki boya kalıntıları silinerek havada kurutulur. Böylece froti hazırlanmış olur.

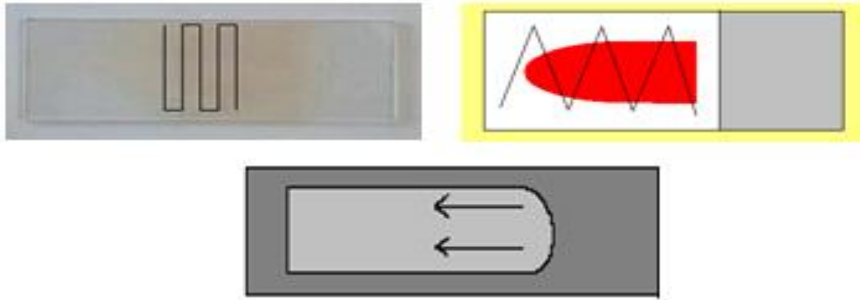
**2- Giemsa Yöntemiyle Boyama:** Bu yöntemde de yukarıda olduğu gibi Giemsa boyası hazırlanır. Froti, metil alkol ile 3-5 dakika bekletilerek tespit edilir. Daha sonra froti üzerindeki metil alkol dökülerek, distile su ile yıkanmasına gerek kalmadan hazırlanmış olan Giemsa boyasından her froti için 5 ml hazırlanıp froti üzerine dökülerek 30 dakika bekletilir. Bu süre sonunda froti üzerindeki boya dökülerek distile suda yıkanır ve havada kurutulur.

## **Frotide Lökosit Formülü Yapılması**

### Lökosit Formülü Çizelgesi

| Band Nötrofil | Parçalı Nötrofil | Çek. | Eozinofil | Bazofil | Lenfosit | Monosit | Çekirdekli Alyuvar | Diğer |
|---------------|------------------|------|-----------|---------|----------|---------|--------------------|-------|
|               |                  |      |           |         |          |         |                    |       |
|               |                  |      |           |         |          |         |                    |       |
|               |                  |      |           |         |          |         |                    |       |
|               |                  |      |           |         |          |         |                    |       |
|               |                  |      |           |         |          |         |                    |       |
|               |                  |      |           |         |          |         |                    |       |
|               |                  |      |           |         |          |         |                    |       |
|               |                  |      |           |         |          |         |                    |       |
|               |                  |      |           |         |          |         |                    |       |
| Toplam        |                  |      |           |         |          |         |                    |       |

Boyalı froti mikroskobun preparat tablasına yerleştirilir. Küçük büyültme ile kan hücrelerinin dağılımı incelenir. Yayılma düzenli ise immersiyon objektifi ile incelenmeye başlanır. Bunun için frotinin uç kısmında kanın ince yayıldığı bir nokta seçilerek bir damla sedir yağı konur ve immersiyon objektifi daldırılır. Bu noktadan başlayarak aşağıdan yukarıya doğru çıkılır, diğer kenara gelince bir, iki mikroskop sahası sola kaydırılır ve tekrar yukarıdan aşağıya doğru bir yol izlenir.



Şekil 1. Frotide diferensiyasyon yaparken izlenebilecek yollar.

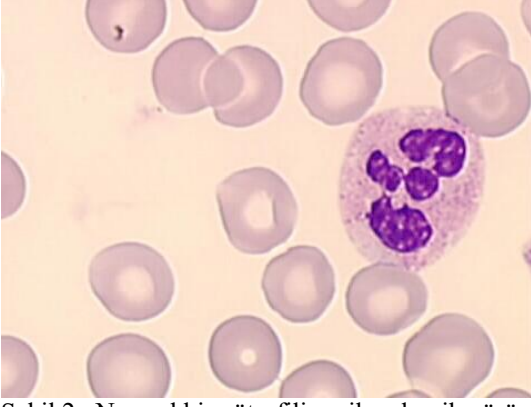
Her sahada görülen akyuvar çeşiti, lökosit formülü çizelgesinde ait olduğu bölüme kaydedilir. Birinci sırada kaydedilen akyuvarların toplamı 10 olunca, alt sıraya geçilir. Böylece on yatay aralığın tümü on tane akyuvarla doluncaya kadar sayıma devam edilir. Böylece 100 akyuvar sayılmış ve çeşitlerine ayrılmış olur. Bir akyuvar çeşidinin yüzde miktarı da o bölüme rastlayan sayıların toplanmasıyla belirlenir.

## **LÖKÖSİTLERİN MORFOLOJİLERİ**

### **Nötrofil Lökositlerin Morfolojisi**

#### **A- Normal nötrofillerde tür farklılıkları**

- 1- Köpek nötrofillerinin çekirdeklerinde genelde filament formu (çekirdek lobları arasında bulunan ipliksi bağlar ) şekillenmez. Çekirdek lobları arası dardır. Sitoplazmada soluk pembe renkte toz benzeri ince granüller görülür.
- 2- Kedilerin nötrofilleri, köpeklerinkine benzer.
- 3- Sığırların olgun nötrofillerinde çekirdek membranı bir veya daha fazla noktalardan büzülmüştür. Granüller genelde hafiften görünür durumdadır ve sitoplazmaya portakal rengi verir.
- 4- Tek tırnaklılarda nötrofillerin nükleer membranları son derece düzensizdir ve nükleus çok loblu görünebilir.



Şekil 2. Normal bir nötrofilin mikroskopik görünümü.

**B- Kanda önemli sayıdaki genç nötrofiller sola kaymaya işaret eder.**

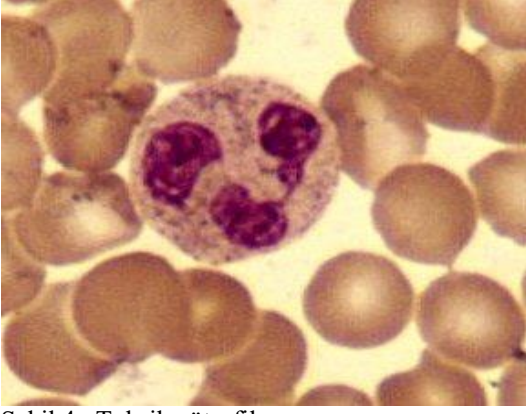
- 1- Band nötrofillerin çekirdekleri daha kalındır ve kromatin, olgun segmentli formlardan daha az kümelenme gösterir. Band nötrofillerin klasifikasyonunda yaygın olan kriter şudur: Nükleus membranı düzdür, çentiksizdir ve kenara paraleldir. Tek tırnaklıların band nötrofillerinde nükleer membran diğer türlerdeki kadar düzgün değildir.
- 2- Bazı durumlarda kanda daha genç nötrofillere rastlanabilir (metamiyelosit, miyelosit veya progranülosit) Çekirdeğin uzunluğu daha azdır ve daha yuvarlaktır. Kromatin kümelenmesi daha azdır ve sitoplazma bu hücrelerde daha bazofiliktir.



Şekil 3. Band nötrofiller.

**C- Toksemi nötrofil olgunlaşmasını bozabilir ve nötrofillerde sitoplazmik değişiklikler gözlemlenir.**

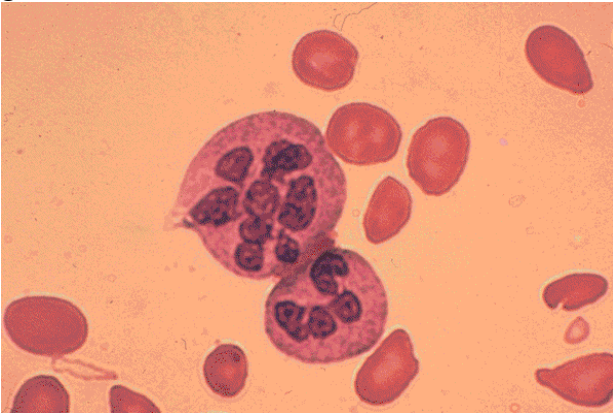
- 1- Doehle cisimcikleri adı verilen oluşumlar mavimsidirler ve köşeli sitoplazmik inklüzyonlar tarzındadırlar. Bu cisimcikler kedilerde oldukça yaygındırlar fakat diğer türlerde, toksemik durumlarda görünürler.
- 2- Daha şiddetli toksik değişimlerde yaygın sitoplazmik bazofili ve bununla birlikte sitoplazmik vakuolleşme görülür. Çoğu türlerde şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar sırasında bu değişimler meydana gelir fakat bu durum enfeksiyonlar için tipik değildir.
- 3- Toksik granülasyon belirgin erguvani renkte sitoplazmik granüller ile karakterizedir ve şiddetli toksemiye belirler. Bu durum atlarda çok yaygındır.



Şekil 4. Toksik nötrofil.

**D- Çekirdek hipersegmentasyonu; beş veya daha fazla sayıda belirgin çekirdek lobları mevcuttur.**

- 1- Hypersegmentasyon, nötrofillerin kanda kalış süresinin uzadığını gösterir. Kortikosteroid tedavisi sırasında, hyperadrenokortikozizm de meydana geldiği gibi veya kronik yangıların geç dönemlerinde görülür.
- 2- Çok segmentli dev nötrofiller, Vit. B<sub>12</sub>, folik asit veya ruminantlarda kobalt yetmezliğinde görülebilir.
- 3- Kedi ve köpeklerde bir anomali olarak, çekirdek hyposegmentasyonu ve yoğunlaşmış kromatin tablosu görülebilir (Pelger-Huet anomalis) ve bu olay doğuştan değil de sonradan da oluşabilir ve nadiren geçici olabilir (pseudo Pelger-Huet). Bu değişikliklerin sola kayma ile bağlantılı hyposegmentasyondan ayırt edilmesi çok önemlidir.
- 4- Nükleus ve sitoplazmanın birlikte olgunlaşması, kemik iliği granülosit yapımının yeniden şekillendiği (radyasyon vb. durumlardan sonra ) durumlarda ve granülositik lösemide gözlemlenir. Bu durum filamentler (iplikçikler) ile ayrılmış olgunlaşmamış kromatin loblarının dikkatli bir şekilde gözlemlenmesi ile tanımlanır.



Şekil 5. Çok segmentli nötrofil.

## MONOSİTLERİN MORFOLOJİLERİ

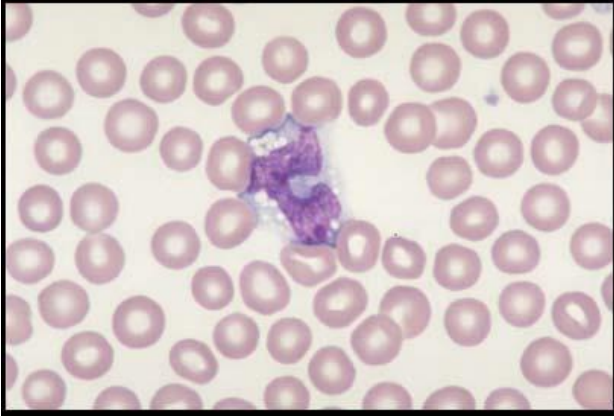
**A-** Monositler, nötrofilik metamiyelositlerden ve büyük lenfositlerden ayırt edilmesi gereken büyük hücrelerdir.

**B-** Monosit identifikasyonu için gerekli kriterler:

- 1- Oval, iki veya üç loblu dantel benzeri kromatini olan bir çekirdek ve çekirdek zarında keskin köşelenmeler görülür.
- 2- Gri-mavi ya da gökyüzü mavisi sitoplazma (her bir nötrofil fazından daha koyu)
- 3- Sitoplazmik vakuoller çok önemli sayılabilecek özelliklerdir. Taze kan frotilerinde (EDTA'lı tüpe alınmış kan örneklerinden kan alındıktan 30-60 d. içerisinde yapılmış frotilerde) monositler içerisindeki vakuoller enfeksiyonu belirtebilir.

4- Kısa saç benzeri yalancı ayaklar.

C- Kanda, makrofaja dönüşmüş monositler nadiren görülür fakat Ehrlichiosis, Histoplasmosis veya Leishmaniasis gibi hastalıklarda kapıllar kandan yapılmış kan frotilerde, makrofajlar görülebilir. Makrofajlar bol granüllü çok büyük hücrelerdir ve vakuollü sitoplazmaya sahiptirler.

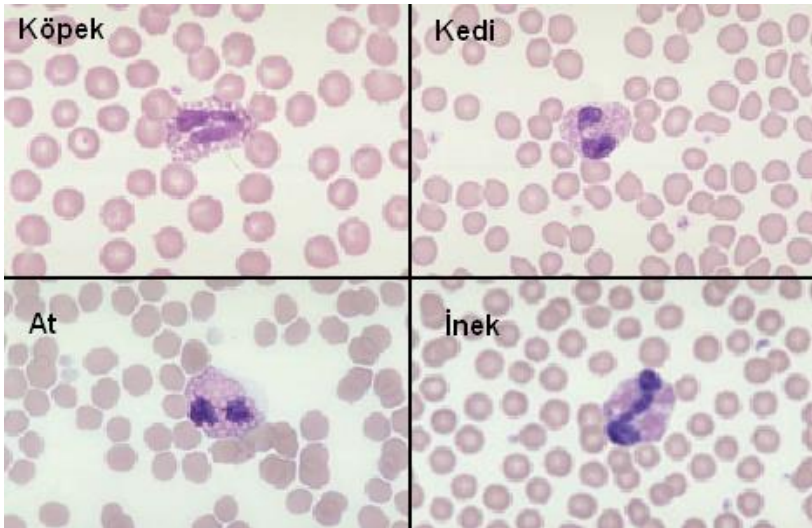


Şekil 6. Monosit.

## EOZİNOFİL MORFOLOJİSİ

### A- Tür farklılıkları oldukça önemlidir.

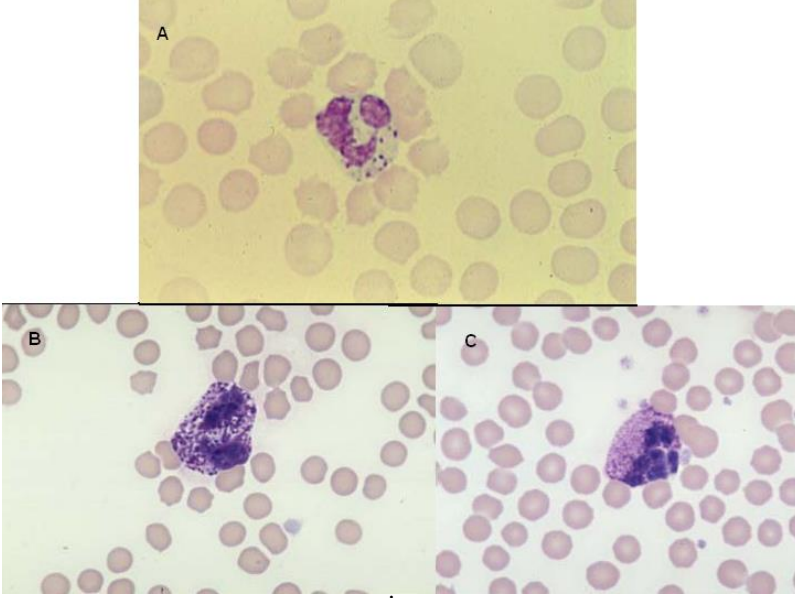
- 1- Köpeklerin eozinofilik granülleri şekil ve sayı bakımından değişkendir ve sitoplazmayı doldurmaz. Donuk portakal rengine boyanırlar. Sitoplazmik vakuoller gözlenmiştir.
- 2- Kedilerin eozinofilik granülleri çok küçük elipsoid veya çubuk şeklindedirler ve hücreyi doldururlar. Mat portakal rengine boyanırlar.
- 3- Sığırların eozinofilik granülleri küçük ve yuvarlaktır, hücreyi doldururlar ve parlak portakal rengine boyanırlar. Domuza ait granüller ölçü ve şekil olarak bunlara benzerler fakat mat portakal rengine boyanırlar.
- 4- Tek tırnaklıların eozinofilik granülleri büyüktür, yuvarlaktır, çok parlak portakal rengine boyanırlar.



Şekil 7. Çeşitli türlerde eozinofil görüntüleri.

## BAZOFİL MORFOLOJİSİ

- 1- Köpek bazofilik granülleri erguvani renktedir ve genellikle granüller sitoplazmayı doldurduğunda mast hücrelerine benzetilebilirler.
- 2- Kedilerin bazofil granülleri biyokimyasal olarak değişkendirler bu yüzden gri maviye boyanırlar. Hücre, nötrofilden bir parça daha büyük görünür. Kedilerin bazofilik myelositleri erguvani granüllere sahiptir.
- 3- Sığır ve tek tırnaklı bazofilleri çok sayıda erguvani renkte granüllere sahiptirler.



Şekil 9. Kedi-köpek (A), At (B) ve İnekte (C) Bazofil görünimleri.

## LENFOSİT MORFOLOJİSİ

**A-** Lenfositlerin frotiler üzerinde yayılma dereceleri değişken ölçülerdedir.

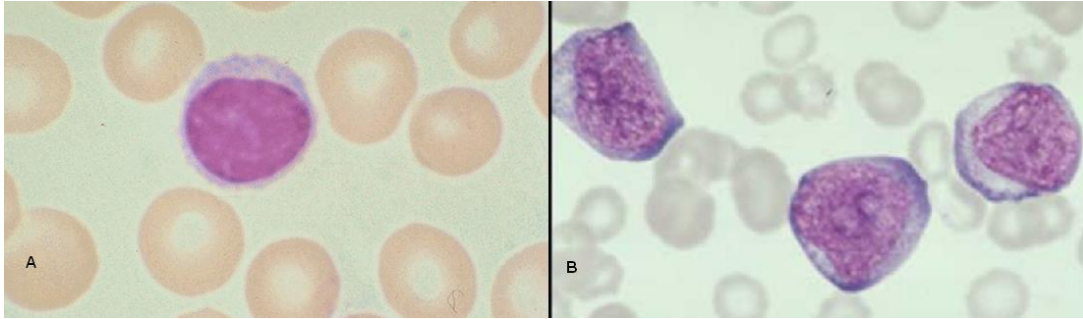
- 1- Köpek lenfositleri sınırlı az miktardaki mavimsi sitoplazmalarıyla birlikte, küçüktürler. Bazı hücreler birkaç koyu kırmızı sitoplazmik granül içerir. Çekirdek kromatin kümelenmesiyle birlikte yuvarlaktır. Çekirdekçik genelde rutin boyamalarda görünmez.
- 2- Kedi lenfositleri köpeklerinkine benzerdir. Çekirdek bazen az yoğundur ve sitoplazmik granüller nadir görülür.
- 3- Lenfositler, sığır lökositlerinde baskın hücrelerdir. Küçük lenfositlerin morfolojileri köpeklerinkine benzer. Büyük lenfositler daha bol sitoplazmaya yoğunlaşmış çekirdek ve daha hafif boyanmış kromatine sahiptirler. Sitoplazmik granüller yaygındır.
- 4- Tek tırnaklı lenfositleri köpek lenfositlerine benzer.
- 5- EDTA'lı tüpe alınmış kanın 30-60 d. bekletilmesi halinde, bu kandan yapılmış frotilerde, lenfositlerde çekirdek loblasması, sitoplazmik vakuolleşme ve flu bir tablo oluşur.

**B-** Vücutta antijenik bir etkinin söz konusu olduğu bazı durumlarda kanda düşük sayıda transforme olmuş lenfositlere (immunositler ve reaktif lenfositler) rastlanılabilir.

- 1- Bunlar muhtemelen T hücreleridirler, fakat B hücreleri de olabilirler.
- 2- İmmunositlerin sitoplazmaları belirgin olarak bazofilik boyanırlar ve bazen sitoplazmada soluk renkte golgi aparatı görülebilir. Nükleus, küçük lenfositlerdeki gibi görülür ve hafif çentiklidir. Çekirdek kromatini kümelenmiştir.
- 3- Plazma hücreleri, lenf nodüllerinde, kemik iliğinde ve nadiren kanda bulunan spesifik immünositlerdir. Çekirdek ve boyanma karakterleri diğer immünositler gibidir. Fakat merkez dışına yerleşmiş bir

çekirdek ve sitoplazmada bulunan soluk renkli perinükleer aparat bu hücrelerin ayırt edilmesine yardımcı olur.

C-Lenfoblastlar pre- veya post-mitotik lenfositlerdir. Bunlar daha büyüktürler, daha bazofilik boyanırlar ve lenfositlerden daha ince kromatine sahiptirler. Nükleolusları (çekirdekçik) genelde görünmez.



Şekil 10. Lenfosit (A) ve lenfoblastlar (B).

**Çeşitli Akyuvar Tiplerinin Yüzde Oranları ( Ortalama Değerler ve Değişim Sınırları )**

| Tür         | Bant Nötrofil | Parçalı Nötrofil | Çek. | Eozinofil     | Bazofil       | Lenfosit                   | Monosit        | Yazar        |
|-------------|---------------|------------------|------|---------------|---------------|----------------------------|----------------|--------------|
| İnsan       | ( 3-5 )       | (54-62)          |      | 1-3           | 0-0.75        | (25-33)                    | (2-3)          | Wintrobe     |
| At          | 0.5( 0-2 )    | 49 (30-65)       |      | 4.0 (0-11)    | 0.5 (0-3)     | 44 (25-70)                 | 4.0 (0.5-7)    | Schalm       |
| İnek        | 0.5( 0-2 )    | 28 (15-25)       |      | 9.0 (2-20)    | 0.5 (0-2)     | 58 (45-75)                 | 4.0 (2-7)      | “            |
| Koyun       | Seyrek        | 30 (10-50)       |      | 5.0 (0-10)    | 0.5 (0-3)     | 62 (40-75)                 | 2.5 (0-6)      | “            |
| Keçi        |               | 36 (30-40)       |      | 4.0 (2-10)    | 0.5 (0-1)     | 56 (30-70)                 | 2.5 (0-4)      | “            |
| Köpek       | 0.8( 0-3 )    | 70 (60-77)       |      | 4.0 (2-10)    | Seyrek        | 20 (12-30)                 | 5.2 (3-10)     | “            |
| Kedi        | 0.5( 0-3 )    | 59 (35-75)       |      | 5.5 (2-12)    | Seyrek        | 32 (20-55)                 | 3.0 (1-4)      | “            |
| Domuz       | 1.0( 0-4 )    | 37 (28-47)       |      | 3.5 (0.5-11)  | 0.5 (0-2)     | 53 (39-62)                 | 5.0 (2-10)     | “            |
| Manda       |               | 45 (15-53)       |      | 4.0 (0.3-7.8) | 2.0 (0-3)     | 48 (32-67)                 | 5.0 (1-9)      | Wirth        |
| Deve        |               | 38.7 (21.1-56.3) |      | 9.5 (0-19)    | 0-1           | 46 (27-65)                 | 5.7 (0-12)     | Schalm       |
| Merkep      |               | 69.8             |      | 4.0           | 0.21          | 23.3                       | 0.9            | Wirth        |
| Katır       |               | 55.0             |      | 2.4           | 0.3           | 39.2                       | 0.1            | Wirth        |
| Tavşan      | Pseudo eos    | 28.9(14-46)      |      | 2.1 (0-4)     | 0.9 (0-0.3)   | 69 (48-89)                 | 4.0 (1.0- 8.0) | Erkol, Konuk |
| Maymun      | (Heterofil)   | 43 (36-52)       |      | 2.3 (1-5)     | Seyrek        | 52 (42-60)                 | 1.7 (0.8-3.0)  | Gardner      |
| Kobay       |               | 41 (31-53)       |      | 2.7 (1.6-3.5) | 0.5 (0.2-0.7) | 54 (39-64)                 | 2.9 (1.5-8.2)  | “            |
| Beyaz fare  |               | 21 (8-58)        |      | 2.6 (0-15)    | Seyrek        | 67 (36-90)                 | 5.7 (0.7- 14)  | “            |
| Beyaz sıçan | 3.4( 0-7 )    | 26 (12-39)       |      | 2.1 (0-3.4)   | 0-1           | 67 (53-83)                 | 4.9 (0.7-7.0)  | “            |
| Hamster     |               | 3-43             |      | 0.2           | 0             | 50-96                      | (0-1)          | Schermer     |
| Tavuk       | Pseudoeos     | 24.3 (18-36)     |      | 2.4 (0-5)     | 8.0 (3-18)    | Bü.8(3-23)<br>Kü.54(37-66) | 3.0 (2-6)      | Konuk, Erkol |
| Güvercin    | Pseudoeos     | 15-50            |      | 0-5           | 0-3.0         | (7-27)                     | (1-3)          | Schermer     |