

KANLA VE İDRARLA İLGİLİ DENEYLER

1. Kan Grupları

Kan grupları A ve B olmak üzere iki ana faktörden oluşmaktadır. AB ve 0 faktörleri bu ana faktörlere bağlı olarak belirlenir. En çok 0, A, B ve AB kan grupları bilinmekle birlikte genetik olarak karakterize edilmiş 14 kan grubu ve 100 farklı kan antijeni belirlenmiştir. Bu durum doku ve organ nakillerinde verici ve alıcının doku tipinin aynı olmasını gerektirir.

A ve B kan gruplarında yapı aynı olmasına rağmen fark, glikoprotein yapısının sonuna bağlı şekerden kaynaklanır. Bütün insanlarda 0 tipi oligosakkarit dizisi sentezlenir. Bu dizinin ucuna bir galaktoz ilavesi B-tipini, bir N-asetil galaktozamin ilavesi ise A-tipini meydana getirir (Şekil 6.1). Bu katılmaların yapılabilmesi için ilgili transferaz enzimlerinin bulunması gerekir. 0 grubundan kişilerde bu enzimler bulunmaz bundan dolayı oligosakkarit zincirinin ucuna ilave yapılamaz. Bazı kişilerde ise enzimlerden sadece biri bulunur ve bunlar enzimin cinsine göre A veya B gruplarını oluştururlar. Heterozigotlarda ise her iki enzim de bulunduğundan bunların hücre yüzeylerinde hem A hem de B grubunun oligosakkaritleri bulunur ve bunlara AB grubu denir.

Kan grupları alyuvarların yüzeyinde bulunan antijenlere göre belirlenir. Ayrıca her grubun kan plazmasında kendine has antikorları vardır.

Örneğin A grubu kanı olan bir insanda Anti-B proteinleri üretilir. Bu proteinler toplanarak Anti-B serumu üretilir. Bu sayede kan grubu testleri yapılabilir

0 grubu kişiler sadece 0 grubundan kan alabilirler, fakat kendi oligosakkarit dizileri antijenik olmadığından bütün gruplara kan verebilirler. AB grubundan kişilerin kanlarında her iki tip oligosakkarit dizisi de bulunduğundan onlarda hiç antikor oluşmaz. Dolayısıyla AB grubundan kişiler şanslıdır ve herkesten kan alabilir ama sadece AB grubuna kan verebilirler (Tablo 1). Kan nakillerinin uygun olarak yapılabilmesi için aynı gruptan antijen ve antikor yapılarının karşı karşıya gelmeleri önemlidir. Aksi takdirde kümeleşme ve çökme (aglutinasyon) tepkimesi meydana gelir ve bunu alyuvar hemolizi izler.

A ve B kan gruplarını belirleyen kalıtsal özellik, 0 kan grubuna baskın durumdadır.

Fenotip	Alyuvardaki antijen	Plazmadaki antikor	Kan alabildikleri	Kan verebildikleri
A	A	Anti B	A,0	A,AB
B	B	Anti A	B,0	B,AB
AB	AB	-	A,B,AB,0	AB
0	-	Anti A ve Anti B	0	A,B,AB,0

Tablo 1. Kan alıp verme kuralları

2. Rh Faktörü

Kan gruplarında önceleri sadece ABO sistemi biliniyordu. Kan grupları ile ilgili bilimsel çalışmalar yapılırken, sonradan Rh faktörü olarak adlandırılan bir proteinin varlığı tespit edilmiştir. Bu buluş, **Rhesus cinsi maymun** kanının tavşanlara enjekte edilmesi sonrasında, maymun kanının, tavşan kanında antikor adı verilen proteinlerin oluşumuna sebep olduğunun saptanması sayesinde yapılmıştır. Maymun kanındaki yabancı bu madde de Rhesus isminin ilk iki harfi alınarak '**Rh faktörü**' adı verilen bir antijendir.

Alyuvarları bu antijeni taşıyan kimseler Rh(+), taşımayanlar ise Rh(-) olarak belirlenmiştir.

3. Yenidoğan Hemolitik Hastalığı (Eritroblastosis Fetalis)

Fetus ve yeni doğanın eritrositlerin çökmesi ve fagotisozu ile kendini gösteren bir hastalıktır. Çoğu yenidoğan hemolitik olgusunda anne Rh(-) antijenini alır. Anne, bebeğin Rh antijeni ile karşılaştıktan sonra anti Rh antikorlar geliştirir. Plasentadan geçen antikorlar fetusun kanında eritrosit çökmesine yol açarlar. Annede gelişen anti Rh antikorlar plasenta membranı yoluyla yavaş olarak fetus kanına geçer ve hemoglobin serbestleşir. Bu durum sonucunda cilt sararır ve sarılık (bilurubine) oluşur.

4. İdrar

İdrar, böbreklerde oluşan ve idrar yolları ile atılan sıvıdır. İdrarın rengi, 24 saatlik hacmi, kokusu, kıvamı, yoğunluğu, pH'si gibi fiziksel özelliklerindeki değişikliklerin incelenmesi patolojik durumların saptanmasında yararlı olabilmektedir (böbrekler, idrar yolları ve idrar kesesi hastalıkları ile karaciğer, kalp, kan hastalıkları ve çeşitli enfeksiyon hastalıkları ve şeker hastalığı).

İdrar bazen koyu ya da açık sarı olabilir. Bu rengi ürokrom denilen bir pigment verir. Yetişkin bir insanın idrar miktarı günde yaklaşık 2.5 L'dir.

4.1. İdrar İçeriği

İdrarda normal olarak %96 oranında su bulunur, ayrıca inorganik maddeler olarak Na, K, Ca, Mg, Cl, PO_4^{3-} , NH_3 , SO_4^{2-} ve az miktarda Fe, Cu, NO_2 , HCO_3^- gibi maddeler bulunur. Azotlu organik maddeler olarak ise üre, kreatinin, ürik asit, kreatin, hippürik asit, indikan, ürobilinojen, ürobilin ile az miktarda amino asitler, enzim, hormon ve vitaminler bulunur. Azotsuz organik maddelerden glukoz, glukuronik asit, kolesterol, keton cisimleri, okzalatlara, organik tuzlar, organik asitler ve kükürtlü bileşikler yok denecek kadar azdır.

Bazı patolojik durumlarda, normalde idrarda saptanmayan protein, amino asitler, porfirinler, hemoglobin, bilirubin gibi azotlu organik maddeler; glukoz, laktoz, pentozlar, keton cisimleri gibi azotsuz organik maddeler saptanabilir. Bu maddelerin idrarda aranması ve saptanması, mevcut patolojinin tanısı açısından oldukça yararlıdır. İdrarda bakteri bulunması durumunda nitrit saptanabilir.

5. İdrarda Protein

Normal idrarda bir günde 70-100 mg protein dışarı atılabilmektedir. Bu nedenle normal idrarda pratikte protein yoktur denir. İdrarda verilen değer üzerinde protein atılması patolojik durumun göstergesidir. Patolojik hallerde idrarda en çok rastlanan proteinler albümin, globülin ve Bence-Jones'dur. Molekül ağırlığının düşük olması nedeniyle idrara en kolay geçen protein albümin olduğundan klinikte idrarda protein varlığını ifade eden proteinüri terimi yerine çoğu kez albüminüri terimi kullanılmaktadır.

Böbrekler kandan atık maddeler de dahil birçok maddeyi süzer. Bu atık maddeler daha sonra idrarla boşaltılır. Normalde bu süzme işlemi sırasında böbrekler vücudun ihtiyaç duyduğu protein gibi bileşenleri alıkoymaz. Proteinüri, ya glomerül (filtrasyon bariyeri) geçirgenliğinin artması ya da tübüllerden geri emilimin azalması sonucu oluşur. Proteinüriler (albüminüriler) oluşumlarına göre fonksiyonel ve organik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

1) Fonksiyonel proteinüri: İdrarla protein atımı organik bir hastalığa bağlı değildir. İdrarın tüm özellikleri normaldir, böbreklerde işlevsel bir yetmezlik yoktur. Genellikle gençlerde görülür.

2) Organik proteinüri: Prerenal, renal ve postrenal olmak üzere 3 şekilde değerlendirilmektedir.

a) Prerenal (böbrek öncesi) albüminüri: Böbrek dışı nedenlerden kaynaklanmaktadır. Kalp hastalıkları, karın boşluğundaki sıvı kitlesi, karın tümörleri gibi hastalıklar böbreği yalnız protein moleküllerine geçirgen hale getirmekte ve böbrek dolaşımını güçleştirmektedir. Karaciğer hastalıkları, ateşli hastalıklar, kan hastalıkları sonucunda da prerenal albüminüri görülmektedir.

b) Renal (böbrek) albüminüri: Böbrek bozuklukları sonucunda oluşan en önemli albüminüridir. Nefrit ve nefrozlarda görülmektedir. Akut ve kronik nefritler böbreklerin iltihaplanması nefrozlar ise lipid dejenerasyonundan ileri gelmektedir.

c) Postrenal (böbrek sonrası) albüminüri: Böbrek leğeni, üreter, prostat üretranın iltihaplı, travmalı ve tümörlü hastalıklarında görülmektedir. Böbrek sonrası albüminürilerde (üretit, sistit, prostatit) albumin ve globülinden daha çok, parçalanmış hücre proteinleri bulunur.

Patolojik hallerde idrarda günde 10-30g arasında protein görülebilmektedir. İdrarda proteinin saptanabilmesi için yapılan deneyler, proteinlerin çöktürülmesi esasına dayanmaktadır. Proteinler genellikle çinko, kadmiyum, demir, civa, bakır, kurşun gibi ağır metaller, triklorasetik asit, molibdik asit, sülfosalisilik asit, tungustik asit gibi derişik asitler ve spesifik antikorlar ile çöktürülmektedir.

6. İdrarda Şeker

Şeker idrarda çok az miktarda (160-180mg/dL) bulunmaktadır. Bu yüzden normalde idrarda şeker yoktur denilir.

İdrarda glukoz iki şekilde bulunur;

(1) Normal kan şekeri ile birlikte görülen glukozüri

a) Renal glukozüri: Kanda şeker yükselmemiştir. Şeker hastalığının bilinen belirtileri yoktur. Böbrek eşik değerinin (%160 mg) düşmesi sonucu idrarda glukoz bulunur. Özellikle yaşlılarda görülür.

b) Besine bağlı glukozüri: Fazla miktarda karbohidratlı besin maddeleri alındığı zaman görülür (Gebelikte, ilerlemiş böbrek iltihaplarında ve heyecan ya da üzüntü hallerinde).

(2) Kan şekeri yükselmesiyle görülen glukozüri, Hipertiroidizm (Tiroid bezinin büyümesi) ve Şeker hastalığı (Diabetes Mellitus) şeklinde kendini gösterir.

7. İdrarda Kan ve Hemoglobin

Çeşitli böbrek ve idrar yolu hastalıklarında idrarda kan görülmektedir. Özellikle, böbrek taşlarının varlığı, idrar yolu kanserleri ve enfeksiyonlarında idrarda kan miktarı artar. İdrarda eritrositlerin bulunmasına 'hematüri' denir.

İdrarda eritrosit bulunmayıp sadece hemoglobin bulunmasına 'hemoglobinüri' denir.

8. Deneysel Çalışmalar:

Deney 8.1. Kan Grubu Tayini (Lam yöntemi)

Deneyin prensibi: Lam yöntemi ile kan grubu tayini: A,B,D antikorları kullanarak kanda antijen aranması sonucu, aglütinasyon tepkimesi meydana getirilmesidir.

Deneyin yapılışı:

- (1) İşaret parmağı alkollü pamukla silinir.
- (2) Steril bir lansetle ucundan dikkatli bir şekilde delinir.
- (3) Temiz bir lam üzerinde aralıklı olarak A,B ve D harflerini yazıp, parmak ucunda toplanan kandan her bir harfin altına 1 damla damlatılır.
- (4) Lam üzerindeki ilk kan damlasına Anti-A, diğerine Anti-B ve sonuncusuna da Anti-D serumlarından kana değdirmeden 1 damla damlatılır.
- (5) Her biri farklı bir kürdanın ucuyla homojen olarak karıştırılır. Bu esnada kan damlalarının birbiri ile karışmamasına dikkat edilir.
- (6) Lam, öne arkaya, sağa sola hafifçe hareket ettirilir.
- (7) Zamanla meydana gelen değişimler gözlemlenir ve yorumlanır (Şekil 6.3).

8.2. İdrarda Protein Aranması

Deney 8.2.1. Benzidin Deneyi

Deneyin prensibi: Hemoglobinin peroksidaz aktifliği ile H₂O₂'i parçalaması ve serbest hale geçme benzidini oksitlemesi esasına dayanır.

Deneyin yapılışı:

- (1) Bir deney tüpüne 1 mL idrar konur, su ile 5 mL'ye tamamlanır.

(2) Sonra sırası ile 1 mL benzidin hidroklorür, 1 mL H₂O₂ ve 1 mL sodyum asetat çözeltisi ilave edilir. Yeşil, mavi-yeşil ya da mavi rengin oluşumu idrarda hemoglobinin varlığını gösterir.

(3) Meydana gelen renk değişimleri gözlemlenerek yorumlanır.

Çözeltiler:

%1'lik benzidin hidroklorür çözeltisi: 1 g benzidin saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.

%3'lük hidrojen peroksit çözeltisi: 1 g H₂O₂ saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.

%1'lik sodyum asetat çözeltisi: 1 g CH₃COONa saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.

8.2.2. Haller Deneyi

Deneyin prensibi: İdrardaki fosfatların kuvvetli alkaliler yardımı ile çöktürülmesi sırasında hemoglobinin de çökmesi esasına dayanır.

Deneyin yapılışı:

- (1) Bir deney tüpüne 3 mL idrar koyulur.
- (2) Tüpe, 1.5 mL sodyum hidroksit çözeltisi ilave edilir ve tüp ısıtılır.
- (3) Meydana gelen renk değişimleri gözlemlenerek yorumlanır.

Çözeltiler:

%10'luk NaOH çözeltisi: 10 g NaOH distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

8.2.3. Sülfosalisilik Asit Deneyi

Deneyin prensibi: Proteinlerin serbest amino asit gruplarının sülfosalisilik asit ile bağlanarak proteinlerin sülfosalisilat şeklinde çökmesi esasına dayanmaktadır.

Deneyin yapılışı:

- (1) Deney tüpüne 3 mL idrar koyulur.
- (2) Üzerine 3-4 damla sülfosalisilik asit çözeltisi ilave edilir ve karıştırılır.
- (3) Meydana gelen renk değişimleri gözlemlenerek yorumlanır.

Çözeltiler:

%20'lik sülfosalisilik asit çözeltisi: 20 mL sülfosalisilik asit alınarak saf suyla 100 mL'ye tamamlanır.

8.2.4. Kantitatif Protein Tayini (Modifiye Purdy Deneyi)

Deneyin prensibi: Proteinlerdeki katyonlar ile TCA anyonlarının, suda çözünmeyen tuzlar oluşturması esasına dayanır.

Deneyin yapılışı :

(1) 15 mL'lik bir santrifüj tüpüne 10 mL idrar koyulur.

(2) Üzerine 2 mL%50' lik asetik asit ve 3 mL potasyum ferrosiyanür ilave edilir, tüpün ağzı bir tıpa ile kapatılır.

(3) Tüp iyice sallanarak içindekiler karıştırılır. 10 dk sonra 1500 rpm'de 5dk santrifüjlenir.

(4) Tüpün dibinde meydana gelen çökeleğin hacmi tayin edilir ve aşağıdaki formülle çözelti içerisindeki protein miktarı bulunur.

$$\% \text{ g protein} = V \times 0,21$$

Çözeltiler:

%50'lik glasiyel asetik asit: 50 mL glasiyel asetik asit alınarak saf suyla 100 mL'ye tamamlanır.

%10'luk potasyum ferrosiyanür: 10 g KSCN tartılır, 100 mL saf suda çözülür.

8.3. İdrarda Şeker Aranması

8.3.1. Pikrik Asit Deneyi

Deneyin prensibi: İndirgen şeker çözeltisinin pikrik asiti pikramik asite çevirerek kırmızı bir renk oluşturması esasına dayanır.

Deneyin yapılışı:

(1) Bir deney tüpü alınır.

(2) Tüpe 1 mL pikrik asit çözeltisi ve 0.5 mL Na₂CO₃ ilave edilir.

(3) Su banyosunda renk deęişiklięi meydana gelinceye kadar bekletilir.

(4) Kırmızı renk oluşumu idrarda şeker varlığını gösterir.

Çözeltiler:

Doymuş pikrik asit çözeltisi

1 M Na₂CO₃: 10.6 g Na₂CO₃ tartılır, 100 mL saf suda çözülür.

KAYNAKLAR

(1) Ankara Üniversitesi Biyokimya Anabilimdalı Analitik Biyokimya Laboratuvar Notları

(2) Biyokimya Pratikleri, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 74, Ankara, 1996.

(3) Pratik Biyokimya, Abdurrahman Aktümsek, Z. Ülya Nurullahoęlu, [Nobel Akademik Yayıncılık](#), 2. Baskı, 2007.