

DENEY 3.3.: Hemoliz

Teorik Bilgi: Alyuvar(eritrosit) membranının, herhangi bir sebepten dolayı parçalanıp, içindeki hemoglobinin dışarıya çıkması olayına **hemoliz** denir. Kan uyumsuzluğu, uygun olmayan kan nakilleri, mekaniksel zedelenmeler, donma ve çözülme, ısı, safra tuzları, saponin, deterjanlar, lipid eriticiler, yılan zehirleri, bakteri toksinleri gibi faktörler hemolize neden olurlar. Bu gibi faktörlere **hemolizinler** denir. Hemoliz, canlı bünyesinde istenmeyen anormal bir metabolik bozukluktur. Alyuvarların hemoliz olması sonucu, geriye kalan kısmı hemoglobinsiz zar yapısından ibaret kalır ve bu yapıya alyuvar hayaleti(ghost) adı verilir. Alyuvar zarı yarı geçirgen(semipermeabl) bir özelliğe sahip olduğundan, katyon ve iyon geçişine izin verir. Katyon ve iyon konsantrasyonu zarın hangi tarafında fazla ise su molekülleri o tarafa geçme eğilimindedir.

Normalde plasmanın osmotik basıncı alyuvarlarınkine eşittir. Her iki ortamda bulunan iyon, molekül vb. parçacıkların oranı birbirine eşit olduğundan, plasma ile alyuvar arasında su geçişi olmaz. İzotonik tuz çözeltilerinde alyuvarın biçim ve yapısı korunduğu halde, hipertonic ortamlarda su vererek büzülür, hipotonik ortamlarda ise su alarak şişer. Aşırı hipotonik ortamda bulunan alyuvarlarda ise hemoliz gözlenir. Hipotonik ortama karşı olan alyuvar direnci, insan ve çeşitli hayvan alyuvarlarında farklıdır. Aynı zamanda bir canlıda bulunan alyuvarların tümünün hipotonik ortamlara karşı dirençleri de farklıdır.

Zarların bu özelliğinden dolayı alyuvarlar hipotonik, hipertonic ve izotonik ortamlara konarak hemoliz sınırları yani zar dayanıklılığı(osmotik direnç-frajilite) ölçülebilir. Şayet bir organizmada aşırı hemoliz meydana geliyorsa, bunun alyuvarların zar dayanıklılığının azlığından mı, yoksa hemoliz etkisi gösteren hemolizinlerden mi meydana geldiğinin araştırılması gerekir. Kanında alyuvar hemolizi olan bir kişide hemolitik anemi görülebilir ve mutlaka tedavi edilmesi gerekir.

Amaç: Çeşitli konsantrasyonlardaki sodyum klorür(NaCl) eriyikleri içine konan memeli alyuvarlarının zar dayanıklılığının ve hemoliz sınırlarının belirlenmesi.

Materyal: Fibrini alınmış memeli kanı, NaCl(0.010 M), damıtık su, tüp, porttüp, cam kalemi, pipet, damlalık, beherglas.

Metot:

1. Kullandığınız memeli kanının hangi canlıya ait olduğunu kaydediniz.
2. Porttüpünüze 11 adet tüp yerleştirip, 10° dan 0° a kadar numaralandırınız.
3. Her tüpün içine, tabloda verilen miktarlarda sodyum klorür ve su ilave ediniz (Tablo:3.3.1.).
4. Her tüpe fibrini alınmış memeli kanından 6 damla koyarak, homojen bir karışım elde edinceye kadar hafifçe çalkalayınız.
5. Tüplerinizi ışığa doğru tutunuz.
6. Tam hemoliz olan tüplerde çözelti rengi berrak kırmızıdır, neden? Hemoliz görülmeyen tüplerde çözelti rengi bulanık kırmızıdır, neden? Yarı-hemoliz olan tüplerde çözeltinin rengi saydam-bulanık arası bir kırmızıdır, neden?
7. Tam hemoliz, yarı hemoliz ve hemoliz olmayan tüpleri belirleyiniz ve bu tüplerdeki çözelti yoğunluğunu kaydederek, metal iyonları konsantrasyonu bakımından nasıl ortamlar olduklarını belirtiniz.

TABLO

Tüp no:	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0	
NaCl	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0	ml
H ₂ O	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	ml
Çözelti Yoğunluğu 1000' de	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0	

Tablo: 3.3.1. Hemoliz, yarı hemoliz ve hemoliz olmayan tüplerdeki NaCl/H₂O oranlarının hazırlanması.