

DENEY 3.8.: Kanda Hemoglobin Tayini

Teorik Bilgi: Hemoglobin kanda alyuvarların içinde bulunan ve kana kırmızı rengini veren protein özelliğinde bir pigmenttir. Görevi oksijeni alyuvarlardan alıp dokulara götürmek, dokulardan da karbondioksiti alıp akciğerlere getirmektir. Kısaca "Hb" olarak gösterilir. Hemoglobin demir taşıyan hem molekülü ile protein olan globin molekülünden meydana gelmiştir. Hemoglobinin yapısında 4 adet hem molekülü vardır ve her biri bir molekül oksijen bağlar. Globin molekülü ise 4 tane veya iki çift polipeptid zincirinden meydana gelmiştir. Bunlar iki alfa ve iki beta zincirleridir. Hayvan türlerinin hemoglobinleri birbirinden farklıdır. Ayrıca her tür içinde değişik tipte hemoglobinler bulunabilir. Bu farklılığı yaratan globin molekülüdür, hem molekülü ise hepsinde aynıdır.

Normal hallerde hemoglobin kanda daima alyuvarların içinde bulunur. Bazı hastalıklarda plasmaya geçse de, normalde plasmada 100 ml de 1 gramın altındadır.

İnsanda normal olarak iki tip hemoglobin vardır. Birisi yetişkin hemoglobini olan HbA dir, diğeri ise fetal hemoglobin olan HbF dir. Fetal hemoglobinde polipeptid zincirleri iki alfa ve iki gama tipindedir. Doğumdan sonra HbF kaybolur, HbA tipi gelişir. Yaklaşık 4 ayda Hb nin %90 ı HbA dir. Fetal hemoglobin anne kanındaki oksijen basıncında erişkin hemoglobininin daha fazla oksijen taşır , neden? İnsanda bulunan anormal hemoglobinler 275 tiptir. Bu hemoglobinlerdeki değişiklik alfa ve beta zincirlerini oluşturan iki hemoglobin alt ünitesinden birinde, tek bir amino asitten kaynaklanır. Anormal tipteki hemoglobinler HbS, HbC, HbD ve HbE bazı insan popülasyonlarında oldukça sık rastlanır ve patolojik vakalara sebep olurlar. Örneğin HbS, orak-hücre anemisinde (scikle-cell anemi) görülen bir tip olup, alyuvarların dolaşım kanında hemolize uğramalarından dolayı meydana gelir. Bu hemoglobinin zincir yapısında glutamik asit yerine valin amino asiti geçmiştir. HbC tipinde ise zincirde glutamik asit yerine lizin geçmiştir.

Hayvan grupları arasında özellikle omurgasızlarda oksijen taşıyıcı kan pigmenti hemosiyanindir. Bu pigment yapısında demir atomu yerine bakır ihtiva eder ve hücre içinde bulunur. Hemosiyanin oksijen ile bağlanmış durumdayken mavi renklidir, oksijensiz durumdayken ise renksizdir. *Cephalopod*, *Gastropod*, *Limulus* ve *Crustaceae* grubundan hayvanların kanında hemosiyanin bulunur.

Amaç: 100 ml kanda bulunan hemoglobin miktarının kalorimetrik metotla gram ve yüzde olarak ölçülmesi.

Materyal: Sahli hemometre takımı (Şekil:3.8.1.), damıtık su, %1 lik HCl, lanset, pamuk, alkol, yıkama solüsyonları(eter, %1 HCl, %60 alkol, damıtık su serileri), kan.

Sahli hemometre takımında bulunanlar:

Üzerinde standart renk sütunlarının bulunduğu ve hemometre tüpünün yerleştirildiği kasa

Kapiller pipet (0.02 ml)

Lastik hortumlu ağızlık

Ufak çözelti şişesi

Karıştırma çubuğu

Damlalık

Hemometre tüp fırçası

Hemometre tüpü

Metot:

1. Hemometre tüpünün 2 çizgisine veya 10 çizgisine kadar %1 lik HCl ilave ediniz(2-3 damla).
2. Herhangi bir parmağın ucunu alkollü pamukla siliniz ve lansetle deliniz.
3. Parmak ucunda toplanan kanın ilk 2-3 damlasını siliniz.
4. Hemometre pipetinin işaretili mavi çizgisine kadar parmak ucunda toplanan kanı hava kabarcığı yapmadan çekip, parmağınızı alkollü pamukla siliniz.
5. Pipetin ucunu pamukla silip, içindeki kanı t p içindeki asitin hemen üzerine yavaşca üfleyerek boşaltıp, tüpü hemometre kasasına yerleştiriniz.
6. Pipeti, yıkama solüsyonları ile derhal yıkayıp, tıkanmasını önleyiniz.
7. Tam 1 dakika bekleyiniz ve kanın koyu kahverengini görünüz.
8. Tüpün içine damlalıklarla her defasında 3-4 damla saf su ilave ederek cam bagetle karıştırınız. Cam bageti çıkarıp işığa doğru tutunuz.
9. Tüpün içindeki kanın rengi hemometre gövdesindeki standart kontrol çubuklarının rengine eşit oluncaya kadar damla damla su ilave etmeye devam ediniz ve karıştırınız.
10. Renkler aynı olunca tüpü çıkarınız ve sarı rakamlardan 100 ml de bulunan hemoglobin miktarını gram olarak, kırmızı rakamlardan ise yüzde olarak okuyunuz.

 nemli Kriterler:

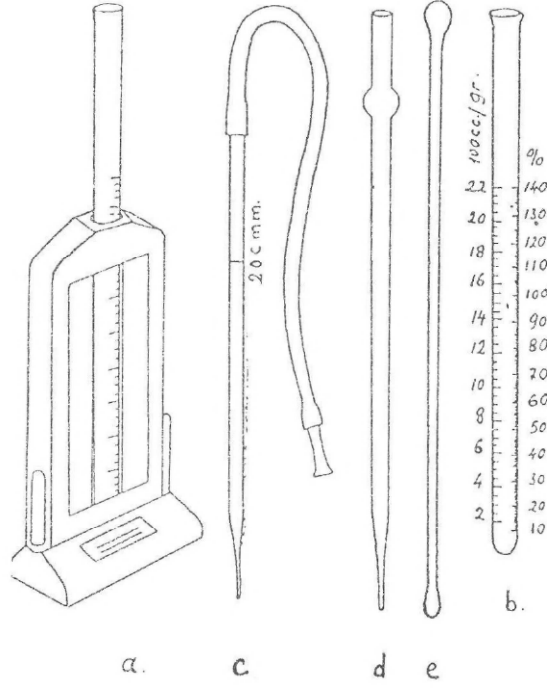
Sahli yönteminde hemoglobin yüzdesini gösteren sayılar sağlıklı insanlara göre hesaplanmıştır. Bu nedenle evcil hayvanlarda Hb tayini yapılırken 100 ml kanda gram cinsinden Hb miktarlarını gösteren değerler okunur. Bu yöntemle kanatlı hayvanların kanlarında Hb tayini yapılırken, alyuvarların çekirdekli olmaları nedeniyle bulanıklık meydana gelir ve yüksek değerler ortaya çıkar. Bunu önlemek için Duker ve Schwarte'nın düzeltme faktörleri kullanılır. Hemometrede gram olarak okunan değerler 0.91 ile çarpılıp elde edilen sayıdan 1.49 sayısı çıkarılır.

Kan hemometre tüpüne konduktan sonra tam 1 dakika beklenmelidir. Bu süre içinde HCl hemoglobine etki ederek onu asit hemoglobine çevirir ve koyu kahverengi bir renk meydana gelir. Bir dakika bekleme süresi kullanılan hemometre tipine bağlı olarak değişebilir. Kan bekleдикe rengin koyulaşması ve daha yüksek değerler vermesi nedeniyle bu s reye özellikle uyulmalıdır.

Hemometrede yapılan tayinlerin hemen tümünde az ya da çok yanılma payı vardır. Normal değerlerden %10-15 farklı sonuçlar fizyolojik değişim sınırları, özellikle tayin yönteminin yanılma sınırları içine girebilir.

Normal Hemoglobin Değerleri:

Bebek (yeni doğmuş):	13.6-19.6 gr/100 ml
Bebek (1 yaşında) :	11.0-13.0 gr/100 ml
ocuk (10 yaşında) :	11.5-14.8 gr/100 ml
Yetişkin erkek :	13.5-18.0 gr/100 ml
Yetişkin kadın :	11.5-16.4 gr/100 ml



Şekil:3.8.1

a. Sahli hemometre, b. Hemoglobin tüpü, c. Kan pipeti, d. Damlalık, e. Karıştırma çubuğu. (Konuk'dan)