

Biyokimya Laboratuvarı'na Giriş

Yrd.Doç.Dr.Filiz Bakar Ateş



Klinik Analiz

- ◆ Klinik analiz, hastalıkların teşhisinde yararlanmak amacıyla çeşitli biyolojik materyaller üzerinde yapılan kalitatif ve kantitatif analizleri kapsar.

Klinik Analiz

◆ Bu amaçla materyal olarak;

-kan

-idrar,

-omurilik sıvısı

-mide, duodenum ve barsak sıvıları ile

-amniotik sıvı, tükürük, ter v.s. kullanılır

Analiz sonuçları laboratuvar bulguları olarak isimlendirilir.

Örneklerin Toplanması

- Örneklerin toplanmasıyla ilgili çok sayıda faktör deneylerin sonuçlarını ve dolaylı olarak da sonuçların geçerliliği ile değerlendirilmesini etkileyebilmektedir.

Örneklerin Toplanması

1-Örnek alımından önce dikkat edilecek konular:

-Beslenme şekli,

-Hastanın aldığı ilaçlar,

-Yaptığı kas egzersizlerinin şiddeti,

-Analiz materyalinin günün hangi saatinde alındığı,

-Kan alınırken hastanın duruş şekli (postür)

Örneklerin Toplanması

- ✧ Bazı kimyasal testler hastanın son günlerde aldığı besinlerden etkilenebilmektedir.
- ✓ Vanilya, idrarda kateşolamin metabolitlerinin tayininde kullanılan bazı yöntemleri etkiler.
- ✓ Domates, 5-OH indol türevlerinin idrarla atımını etkilemektedir.
- ✓ Son günlerde besinlerle alınan karbohidrat miktarı hastanın glukoz tolerans testine vereceği cevabı,
- ✓ Kalsiyum alımı ise, kalsiyumun idrarla atımını etkilemektedir.

Örneklerin Toplanması

- ◆ Bazı ilaçlar kimyasal analizleri etkilemektedir.
- ◆ Bu ilaçlar karbonhidrat metabolizması, lipit metabolizması, plazma proteinleri, plazma hormonları, karaciğer fonksiyonları ve plazma demiri üzerinde etkili olmaktadır.
- ◆ Fenobarbital, plazma GGT (gama-glutamil transferaz) aktivitesini,
- ◆ Metildopa, HMMA (hidroksimetil mandelik asit) nın idrarla atımını etkiler..

Örneklerin Toplanması

- Bu nedenle bu tür ilaçların alımını mümkünse analiz öncesi durdurmak gerekir.
- Bazı ilaçlar bir analiz yöntemini etkilediği halde alternatif yöntemi etkilemeyebilir. Böyle durumlarda yöntemin seçimi büyük önem taşır.
- Diğer taraftan, plazma içeriği maddelerin bir kısmı günün farklı zamanlarında konsantrasyon bakımından önemli değişiklikler gösterir. Demir, kortizol v.b. gibi.

Örneklerin Toplanması

2-Örnek alırken dikkat edilecek konular:

- ◆ Kan alırken hastanın duruş şekli,
- ◆ Cildi temizlemek için kullanılan maddenin türü,
- ◆ Uygun damarın seçimi,
- ◆ Venöz tıkanma olasılığı,
- ◆ Kanın hemoliz olmaması.

Kan Parametreleri

- ◆ Dolaşımda bulunan kan: Plazma sıvısı + süspansiyon hücreleri
- ◆ Kanda bulunan hücreler:
 1. Eritrositler,
 2. Lökositler
 3. Trombositler (plateletler) dir.



Bu elemanlar total kan hacminin %46'sını oluştururlar.

Kan pıhtılaşmaya bırakılırsa fibrinojen plazmadan ayrılır, kalan sıvıya serum denir.

Kan Parametreleri

- Kan pıhtılaşmaya bırakılırsa fibrinojen plazmadan ayrılır, kalan sıvıya serum denir.

Kan Parametreleri

- Eğer serum elde edilecekse, damardan alınan kan temiz bir tüpe hemoliz olmayacak şekilde yavaşça boşaltılır. Bunun için iğne enjektörden çıkarılır, kan fişkırtmadan ve hava sızdırılarak boşaltılır. Serumun kendi kendine ayrılması beklenir.
- Eğer plazma elde edilecekse, kan bir antikogülan üzerine alınır, tüp çok yavaş döndürülerek karışmaları sağlanır.

Antikoagülanlar

- Kanın pıhtılaşmasını önlemek için kullanılan maddelerdir.
- Oksalat,
- Sitrat,
- Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) ve
- Heparin kullanılır.

Antikoagülanlar

- ◆ Oksalat, sitrat ve EDTA kandaki Ca^{2+} ile çözünmeyen tuzlar oluşturur ve Ca^{2+} iyonlarının pıhtılaşma mekanizmasını başlatmasını önlerler.
- ◆ Heparin ise pıhtılaşma faktörlerinden trombinin tromboplastine dönüşümünü önler.
- ◆ Ayrıca, fibrinojeni ortamdan uzaklaştırarak fibrine dönüşümü engellenerek de pıhtılaşma önlenabilir.

Antikoagülanlar

- Antikoagülanın doğru seçimi ve miktarı çok önemlidir.
- Yetersiz antikoagülan kullanılması kısmi pıhtılaşmaya neden olur.
- Yanlış antikoagülan seçimi hücrelerin yapısını bozar.
- Fazla antikoagülan ise kanın seyrelmesine neden olur.

Laboratuvar Çözeltileri

Çözücü (solvent) + Çözünen (solut) = Çözelti (solusyon)

Çözünen Madde Konsantrasyonlarına Göre Çözeltiler

1. Dilue Çözeltiler (seyreltik çözeltiler)
2. Konsantre Çözeltiler (derişik çözeltiler)
3. Sature Çözeltiler (doymuş çözeltiler)

Çözelti Konsantrasyonları

- Bir çözeltinin konsantrasyonu, çözeltinin belirli bir volümü içinde çözünmüş olan madde miktarıdır.

A. Hacmi Temel Alan Konsantrasyonlar

1. **Molarite (M):** Çözünen maddenin 1 litre çözelti içindeki mol sayısıdır.

Seyreltik çözeltiler çoğunlukla, mili-, mikro-, nano-, ve pikomolarite ile ifade edilirler.

$$1\text{mmol}=10^{-3}\text{ mol}$$

$$1\text{mM}=1\text{mmol/L}=1\mu\text{mol/ml}$$

$$1\mu\text{mol}=10^{-6}\text{ mol}$$

$$1\mu\text{M}=1\mu\text{mol/L}=1\text{nmol/ml}$$

$$1\text{nmol}=1\text{m}\mu\text{mol}=10^{-9}\text{ mol}$$

$$1\text{nM}=1\text{nmol/L}=1\text{pmol/ml}$$

$$1\text{pmol}=10^{-12}\text{ mol}$$

A. Hacmi Temel Alan Konsantrasyonlar

- Molar çözelti avogadro sayısı kadar molekül içerir.

Avogadro sayısı = g mol başına molekül sayısı

= g atom başına atom sayısı

= gram iyon başına iyon sayısı

= 6.02×10^{23}

Örnek: 35.5 g Cl^- iyonu 1 mol' dür.

A. Hacmi Temel Alan Konsantrasyonlar

2. **Normalite (N):** Çözünen maddenin 1L çözelti içindeki ekivalan (eşdeğer) sayısıdır.

Normaliteyi hesaplayabilmek için;

-Çözünen madde miktarının (Wtg)

-Ekivalan ağırlığının (EW) bilinmesi gerekir.

$$\underline{Wtg} = \text{Normalite} \times \text{Hacim}$$

EW

A. Hacmi Temel Alan Konsantrasyonlar

• Ekvivalan ağırlık = $\frac{MW}{n}$

n: molekül başına yer değiştirebilen H^+ veya OH^- sayısıdır.

Ox-red reaksiyonlarında molekül başına kazanılan ya da kaybedilen e^- sayısıdır.

A. Hacmi Temel Alan Konsantrasyonlar

- 1 N çözelti deyince, 1 litresinde 1 Eq (1000mEq) çözünen bulunduğu anlaşılır.

$$1\text{N} = 1\text{Eq}/\text{L} = 1000\text{mEq}/\text{ml}$$

$$1\text{mN} = 10^{-3}\text{N}, 1\mu\text{N} = 10^{-6}\text{N}$$

A. Hacmi Temel Alan Konsantrasyonlar

- Ekstrasellüler sıvıda;

Total katyon : 154 mEq/L

Total anyon : 154mEq/L

Sıvı bölümlerinin elektrolit bileşimi (mEq/L)

	Plazma	Hücre içi
Katyonlar	155	195
Na ⁺	142	10
K ⁺	5	156
Ca ⁺⁺	5	3
Mg ⁺⁺	3	26

Sıvı bölümlerinin elektrolit bileşimi (mEq/L)

	Plazma	Hücre içi
Anyonlar	155	195
Cl ⁻	103	2
HCO ₃ ⁻	27	8
Proteinat	17	55
Diğer	8	130

A. Hacmi Temel Alan Konsantrasyonlar

3. % Ağırlık / Hacim (% w/v): Çözünmüş maddenin 100 ml çözelti içindeki gram cinsinden ağırlığıdır.

% miligram (%mg): Çözünmüş maddenin 100ml çözelti içindeki mg cinsinden ağırlığıdır.

A. Hacmi Temel Alan Konsantrasyonlar

4. Osmolarite: 1 L sıvıda çözülmüş 1 mol katı partiküle denir (1 Osm/L)

Çözeltideki taneciklerin mol sayısıdır. Disosiye olmayan maddelerin 1 M çözeltisi, aynı zamanda 1 osmolardır.

1 osmolar çözelti $6,023 \times 10^{23}$ tanecik içerir.

Disosiye olan maddelerin ise, 1 molar çözeltisi disosiye olan iyon sayısı ile ilişkilidir.

Örnek: 0.02 M KCl = 0.04 osmolar

Örnek: 0.350 osmolar NaCl = 0.175 M NaCl

Plasma osmolaritesi

275 - 295 mOsm/kg



% 1-2 deęişim

osmoreseptörler yanıt verir

B. Ağırlığı Temel Alan Konsantrasyonlar

1. **% Ağırlık / Ağırlık (%w/w):** Çözünen maddenin 100 gram çözelti içindeki ağırlığıdır.

Laboratuvarda Kullanılacak Araç ve Gereçler

Puar

Serolojik pipet

Cam deney tüpü

