

DENEY NO: 2

KANDA KARBON MONOKSİT VE SİYANÜR ARANMASI

KANDA KARBON MONOKSİT ARANMASI

A) Genel Bilgi:

a. Karbon monoksit (CO):

Karbon monoksitle zehirlenme, insanoğlunun karşılaştığı en eski toksikolojik olaylardandır ve günümüzde de akut zehirlenme ve ölümler önemini korumaktadır. CO, renksiz, kokusuz bir gazdır ve havadan hafiftir. Karbonlu bileşiklerin (örn. katı ve sıvı yakıtların) tam yanmaması sonucu oluşur; diğer önemli maruziyet kaynağı da, motorlu taşıtların egzoz gazlarıdır. Bunların yanı sıra, sigara dumanı da önemli miktarda CO içerir: Sigara dumanına maruz kalan (gerek sigara içen gerekse pasif maruz kalan) kişiler, CO'ye maruz kalır. İnsan organizmasında, "hem" katabolizması sırasında, endojen olarak da COHb meydana gelir (%0.5 COHb).

CO'in başlıca toksisitesi, hemoglobine olan affinitesi ile ilişkilidir: CO'in Hb'e ilgisi, oksijeninkinden 200-300 kat daha fazladır; buna bağlı olarak da, CO, Hb ile karboksihemoglobin (COHb) oluşturarak, Hb'in dokulara oksijen taşıma kapasitesini düşürür. Havadaki CO ve oksijen kısmi basınçları arasındaki oran, 1/200 olduğunda bile, kandaki Hb'in yarısı CO tarafından tutulmuştur.

Karboksihemoglobin (COHb) Satürasyon Yüzdesi: Kandaki Hb'in CO ile birleşen kısmının yüzde olarak ifadesidir ve zehirlenmenin şiddeti için bir göstergedir.

CO'in Hb'e olan ilgisi, **ferro (Fe⁺²)** iyonlarına affinitesi ile ilişkilidir. Bu nedenle, **Fe⁺²** iyonu içeren, Hb ve miyoglobin (kaslarda bulunan bir hemoprotein) hedef haline gelmektedir.

CO ile zehirlenmelerde, kanın dokulara oksijen taşıma kapasitesi ve buna bağlı olarak da doku oksijen basıncı düşer; bunun yanı sıra, CO etkisiyle, oksijenin Hb'den ayrılmasını da etkiler (oksijenin Hb'e olan ilgisi artar ve oksijen dokuya bırakılamaz). Genel olarak, zehirlenmenin şiddeti, havada bulunan CO miktarı, inhalasyon süresi ve COHb satürasyon yüzdesine bağlıdır:

<u>COHb Satürasyon yüzdesi</u>	<u>Etki</u>
%20	Zehirlenme belirtileri görülmeye başlar.
%40	Zehirlenme belirtileri şiddetlenir.
%60	Ölüm

Zehirlenme belirtileri: Başta dolgunluk (sersemlik) hissi, baş ağrısı, bulantı, kusma, yorgunluk, görme bulanıklığı, kulak çınlaması, mental konfüzyon, konuşma zorluğu, kaslarda inkoordinasyon, nabızda hızlanma, ciltte ateş basması, solunumda hızlanma-düzensizlik. Boğulma ve bilinç kaybını ölüm takip eder. Kanda COHb, %30'un üstünde olduğunda, cilt ve mukoz membranlar pembe renk alır. Akut zehirlenmede, otopside karakteristik pembe renk dikkat çekicidir. Havadaki CO konsantrasyonu düşük ve absorpsiyon yavaş olursa, aksine siyanozis görülür.

Düşük konsantrasyonlarda CO'ye maruz kalma sonucunda, psikomotor nörolojik refleks bozuklukları, görme bulanıklığı, performans değişiklikleri (özellikle, zamanında karar verme yeteneğinde yavaşlama) görülebilir; bu durum, trafiğin yoğun olduğu yerlerde, uzun süreli maruziyette, trafik kazaları açısından özel önem taşımaktadır.

Zehirlenmenin Tanımlanması: CO ile zehirlenmede, kan ve dokuların normal kan rengine göre daha pembe renk alması karakteristiktir. Ölüm halinde, COHb'in kiraz kırmızısı rengi hemen bütün vücut derisi ve mukozasında kendini gösterir; deri parlak kırmızı renk alır. Analitik toksikolojik tanımlama ise, kanda COHb miktarının tayini ile yapılır.

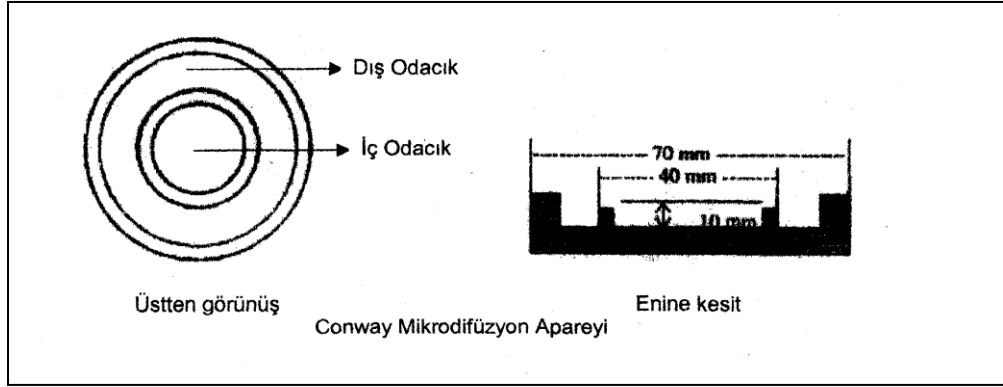
b. Uçucu Zehirlerin ayrılması:

Uçucu zehirlerin ayrılmasında, distilasyon yöntemi ve mikrodifüzyon yöntemlerinden yararlanıldığı daha önce belirtilmişti. Mikrodifüzyon yöntemini kısaca ele alalım.

Mikrodifüzyon Yöntemi:

Kapalı bir sistemde analizi yapılacak biyolojik materyalle bundan uçucu zehiri açığa çıkararak reaktif aygıtın dış bölümüne, uçucu zehiri tutacak çözücü ise iç odacığa konur. Oda sıcaklığında veya 37 C'de gaz haline geçen uçucu zehir, bu kapalı sistemde difüzyona uğrayarak iç odacıktaki çözücüde çözünür. Bu geçiş olayı, sistemde bozulan buhar basıncı dengesi sağlanana dek sürer. Bu şekilde biyolojik materyalde bulunan uçucu zehir iç odacıktaki çözücüye geçmiş olur. Uçucu bileşiğin tanınması, uygun bir reaktifin iç odacığa ilavesiyle mikrodifüzyon aygıtının içinde yapılabileceği gibi, iç odacıktaki çözücü alınarak reaksiyonların bir tüpte yürütülmesi de olasıdır.

Mikrodifüzyon aygıtı, petri kutusuna benzeyen cam veya porselen iki odacık ve kenarları dışarı sızıntı yapmayacak şekilde traşlanmış bir cam kapaktan oluşmuştur. Mikrodifüzyon aygıtının dış odacığına 2-4 g uçucu zehir aranacak biyolojik materyal konur. Üzerine uçucu zehiri açığa çıkaracak reaktiften 1mL eklenir. İç odacığa bu uçucu zehiri absorbe edecek çözücü ve renk reaksiyonu verecek reaktiften 2'şer mL konur. Aygıtın ağzı kapatılır ve 2-3 saat beklenir.



Conway Mikrodifüzyon Aparentinde Uçucu Zehirlerin Aranmaları

Aranacak zehir	DIŞ ODACIK	İÇ ODACIK	
	Zehiri açığa çıkarmak için kullanılan reaktif	Absorban reaktif	Renk reaktifi ve sonuç
Alkoller	Doymuş Na ₂ CO ₃	Asit + K ₂ Cr ₂ O ₇	Sarı → Yeşil
Aldehitler	Doymuş Na ₂ CO ₃	Asit + K ₂ Cr ₂ O ₇	Sarı → Yeşil
Siyanür	%10 H ₂ SO ₄	%10 NaOH	Na ₂ HPO ₄ + Kloramin T → kırmızı renk
Karbon monoksit	%10 H ₂ SO ₄	PdCl ₂	Metalik renk/Siyah
Klorlu hidrokarbonlar	_____	Toluen	%20 NaOH + Piridin → kırmızı renk

B) Deneyin Prensipleri ve Yapılışı:

a) Kanda %20 ve üstündeki COHb satürasyonunun saptanması:

i. İki porselen kapsülden birine 1 mL zehirlenme şüphesi olan kan, diğerine normal kan konur ve su banyosunda yavaşça ısıtılırlar. Normal kan kömürleşerek kahverengi-siyah renk aldığı halde, diğeri tuğla kırmızısı renkte kalır (%40 COHb satürasyonu saptanabilir).

ii. 1 damla numune kan (bağet ile 1 damladan az alınması tercih edilir), bir tüpte 10-15 mL su ile seyreltilir. Aynı şekilde seyreltilmiş normal kan ile karşılaştırılır. Karbonmonoksit bulunan kanın rengi, pembedir (%50 ve üstünde satürasyon olduğunda).

Bu seyreltilmiş numunelere, 5'er damla NaOH ilave edilerek karıştırılır. Normal kan, hemen saman sarısı renge dönüşür, CO bulunan kan ise pembe rengini korur. Bu deney, CO için özel olup, %20 COHb tanınabilir. Pembe renk şiddeti, CO miktarı ile orantılıdır; kantitatif tayin de yapılabilir.

b) Pirokannik asitle %COHb tayini:

Yarı-kantitatif özel bir deney olan bu testle %20 ve üstündeki COHb satürasyonu saptanabilir. Bunun için, 0.5 mL kan, 4.5 mL su ilavesi ile seyreltilir. 5 mL pirotannik asit çözeltisi ilave edilir ve çalkalanır. 15 dakika bekleme sonunda, normal kan gri-kahverengi bir çökelek verdiği halde, CO ihtiva eden kan pembe renk alır. Rengin şiddeti, satürasyon %'sine bağlıdır. Renk şiddeti belli miktarda CO ihtiva eden kan numuneleri ile hazırlanmış standartlarla karşılaştırılarak miktar tayini yapılabilir.

c) Conway mikrodifüzyon yöntemi ile CO tayini:

Deneyin Prensipleri: Kanda COHb, H₂SO₄ ile parçalanmakta; açığa çıkan CO, PdCl₂ ile reaksiyona girerek metalik paladyum ayrılmaktadır.

<u>Dış odacık</u>	<u>İç odacık</u>
1 mL kan	2 mL PdCl ₂
2 mL %10 H ₂ SO ₄	

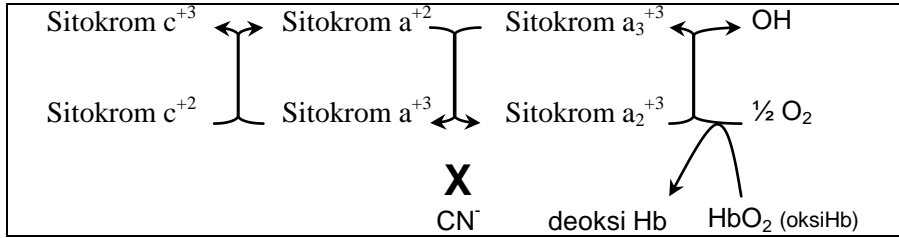
Kan örnekleri: a) Normal kan, b) %60 CO'li kan, c) %100 CO'li kan

Reaksiyonun tamamlanması için, aparey 2 saat süreyle oda sıcaklığında veya 1 saat 37°C'de tutulur.

KANDA SİYANÜR ARANMASI:

A) Genel Bilgi:

Absorbe olan siyanür (CN⁻) iyonları, **ferri (Fe⁺³)** iyonlarına affinitesinden dolayı, bütün dokulardaki oksidatif enzimleri, özellikle de **sitokrom oksidaz** enzimini inhibe eder. Bu etki, elektron taşıma zincirinde elektron taşınmasını engellemesine dayanır. Moleküler oksijene elektron transferi bloke olur ve periferde oksijen basıncı yeterli, hattâ normalden yüksek olduğu halde, oksihb'den oksijen ayrılmadığı için, hücreler oksijeni kullanamaz (histotoksik hipoksi).



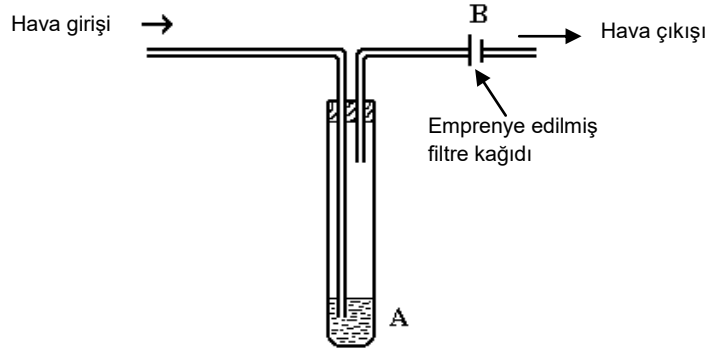
Toksik miktarda inhalasyondan sonra, çok kısa süre içinde belirtiler görülür. Belirtiler arasında, solunum yetersizliği, baş ağrısı, halsizlik, mental konfüzyon, koma, siyanoz, arter kanda renklenme, asfeksiye bağlı konvülsiyon, istem dışı defekasyon ve sık idrara çıkma yer alır. Nabız önce yavaşlar, sonra hızlanır. Bilinç kaybından önce kusma görülür ve kusmakta karakteristik siyanür kokusu hissedilir (acı badem kokusu). Kanda yüksek konsantrasyondaki oksihb nedeniyle, cilt ve mukoz membranlarda kızarma görülür. Ölüm, solunum durması sonucundadır ve çok hızlı (birkaç dakika içinde) gerçekleşebilir; bu nedenle, müdahale acilen yapılmalıdır.

Tedavide;

- 1) Amil nitrit koklatılır (Nitrit, Hb'in MetHb'e oksidasyonunu sağlar. Burada amaç, dolaşımdaki serbest siyanürü bağlayarak sitokrom oksidazı inhibe etmesini önlemektir. Sodyum nitrit enjeksiyonuna kadar, amil nitrit koklatılarak etki derhal başlatılır).
- 2) Sodyum nitrit, intravenöz yolla uygulanır.
- 3) Sodyum tiyosülfat verilir (sistemik antidottur; siyanürün tiyosiyana dönüşmesini ve böylece idrarla atılmasını sağlar)

Tedavi amacıyla, başka yollar da izlenebilir: Örneğin, kobalt edetatla siyanürü bağlayıp idrarla atılımı sağlanabilir. Diğer bir yol ise, kobalamin bileşiği uygulanmasıdır (siyanür ile kobalamin etkileşmesi sonucunda, siyanokobalamin yani Vitamin B12 meydana gelir).

B) Deneyin Yapılışı: (Gettler ve Goldbaum Yöntemi)



Prusya mavisi renk oluşumuna dayanan deney şöyle yapılır:

- A-tüpüne, siyanür aranacak kandan 3 mL konur.
- FeSO_4 ve NaOH ile emprenye edilmiş filtre kağıdı, B- kanatları arasına yerleştirilir.
- A-tüpüne %15 TCAA (trikloroasetik asit) çözeltisinden 2 mL ilave edilerek tüpün ağzı kapatılır ve yaklaşık 30 dakika süreyle, ortamdan gaz çekişi sağlanır.

Bekletme zamanı sonunda, emprenye filtre kağıdı alınır ve %30'luk HCl içine daldırılır. Siyanür varlığında, belirgin mavi renk (**Prusya mavisi**) oluşur. Bu testle 10 mL kadaki 0.005 mg ($5\mu\text{g}$) siyanür tanınabilir ve miktarı saptanabilir.

Filtre kağıdının emprenye edilmesi: Whatman No:50 filtre kağıdı %10 FeSO_4 içine daldırılarak 5 dakika bekletilir ve kurutulur. Ardından %20 NaOH içine daldırılır. 5 dakika sonra çıkartılıp kurutulur.