

KAN

Kan, organizmada gerçekte kapalı bir kanallar sistemi içinde dolaşan bir dokudur. Dolaşım kanı, **plazma** adı verilen sıvı bir ortam içinde süspansiyon halinde bulunan **şekilli elemanlardan** meydana gelmiştir. Plazma, tüm kanın %55-60'ını oluşturur. Kanın şekilli elemanları, **eritrositler**, **lökositler** ve **trombositler**dir. Kanın şekilli elemanlarının volümünün toplam kan volümüne göre % değeri, **hematokrit** olarak tanımlanır. Klinik uygulamada eritrosit sayısı (RBC), hemoglobin (HGB, HB), hematokrit (HCT), ortalama eritrosit volümü (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), lökosit sayısı (WBC), trombosit sayısı (PLT) beraberce **kan sayımı (hemogram)** olarak ifade edilir. *Bazı otomatik kan sayım cihazları, eritrosit dağılım genişliğini (RDW) de verirler.*

Arteriyel kanın rengi venöz kanınkinden daha açıktır.

Kan, protein içeriği ve şekilli elemanları nedeniyle viskozdur; viskozitesi suyunkinin 5 katı kadardır.

Kan pH'ı ortalama 7,4 ve dansitesi 1,035-1,075 g/cm³ arasındadır.

Kanın görevleri

- 1) Kan, besin maddelerini veya bunların sindirim ürünlerini bağırsaklardan ve karaciğerden dokulara; dokulardan da karaciğere veya bir başka dokuya taşır.
- 2) Kan, akciğerler ile dokular arasında solunum gazlarının alışverişini ve taşınmasını sağlar.
- 3) Kan, metabolizmanın üre ve ürik asit gibi artık ürünlerini atılmak üzere böbreklere, deriye, bağırsaklara ve karaciğere taşır.
- 4) Kan, etkileriyle organların fonksiyonlarını uyaran veya yavaşlatan enzim, hormon, vitamin gibi maddeleri dokular arasında taşır.
- 5) Kan, içerdiği lökosit, antikor ve antitoksinlerle organizmayı mikroorganizmalara karşı korur.
- 6) Kan, vücudun elektrolit, su ve asit-baz dengesini düzenler.
- 7) Kan, vücut yüzeyine yayılıp geri çekilerek vücudun ısınısını düzenler.

Hemogram

Eritrosit sayısı (RBC)

1 mm³ kandaki eritrosit sayısının fizyolojik değeri erişkin erkekte 4,5-6,0x10⁶, erişkin kadında ise 4,0-5,5x10⁶ kadardır. *Manuel eritrosit sayım yöntemlerinde %7-14 hata olabilir. Otomatik kan sayım cihazlarında eritrosit sayımında hata ise %4 kadar olabilir.*

Eritrosit sayısı, gün içinde ±%4 dalgalanma gösterebilir. Eritrosit sayısı, uyku halinde azalır; uyanırken, yükseklerde yaşayanlarda, kas egzersizlerinden sonra, aşırı korku ve heyecanlanma durumlarında, atmosferik ısı artışında, kanın oksijen miktarını azaltan herhangi bir etki varlığında artar.

Kanda eritrosit sayısının artması **polisitemi** olarak tanımlanır. 1 mm³ kandaki eritrosit sayısı, kanın hemoglobin içeriği hakkında indirekt bilgi sağlar. Kanda eritrosit sayısının veya hemoglobin konsantrasyonunun azalması da **anemi** olarak tanımlanır.

Kanda eritrosit sayısının yüksek olarak saptandığı durumlar

İshal, kusma, akciğer ödemi, anafilaktik şok, dağ hastalığı, karbon monoksitle zehirlenme, mitral kapak hastalığı gibi kalp hastalıkları, amfizem gibi akciğer hastalıkları, polisitemia rubra vera, lösemi, kemik iliği tümörleri gibi durumlarda kanda eritrosit sayısı (RBC) yüksek olarak saptanır.

Kanda eritrosit sayısının düşük olarak saptandığı durumlar

Anemiler ve lösemilerde kanda eritrosit sayısı (RBC) düşük olarak saptanır.

Hemoglobin düzeyi (HGB, HB)

Hemoglobin, eritrositlerdeki oksijen taşıyan bileşiktir. 100 mL kandaki hemoglobin miktarı, kanın oksijen taşıma kapasitesinin ölçüsü olarak kullanılabilir. Total kan hemoglobini, esas olarak eritrosit sayısına bağlıdır, daha az ölçüde de her eritrositteki hemoglobin miktarına bağlıdır.

Sağlıklı bir erişkinde kan hemoglobin düzeyi, erkekler için %14-18 g'dır, kadınlar için ise %12-16 g'dır. Erişkin erkeklerde %13 g'dan düşük ve kadınlarda %11'den düşük hemoglobin değeri, anemiyi ifade eder.

Kan hemoglobin konsantrasyonunun diurnal varyasyon gösterdiği gösterilmiştir. Sabah 09.00'da en yüksek ve akşam 08.00'de en düşük değerdedir; ortalama fark %1 g kadardır.

Kan hemoglobin konsantrasyonu, çok sigara içenlerde %0,5-2,2 g kadar daha yüksek olabilir. Gebelikte kan hemoglobin konsantrasyonu, artmış plazma volümüne bağlı olarak düşer; üçüncü trimesterde %10g olabilir.

Kan hemoglobin konsantrasyonunun azaldığı durumlar

Eritrosit sayısında azalma olduğu anemi durumlarında, plazmadaki su miktarının arttığı hidremi durumlarında kan hemoglobin konsantrasyonu (HGB, HB) azalır.

Kan hemoglobin konsantrasyonunun arttığı durumlar

Eritrosit sayısının arttığı polisitemia vera ve kronik anoksili akciğer veya kalp hastalıklarında, dehidratasyon durumlarında kan hemoglobin konsantrasyonu (HGB, HB) artar.

Hematokrit değeri (HCT)

Hematokrit, kan volümüne karşı eritrosit kitlesinin %'sidir. Hematokrit değeri, 1 mm³ kandaki eritrosit sayısı ve dolayısıyla kanın hemoglobin içeriği hakkında indirekt bilgi sağlar. Hematokrit değeri, en çok olarak 1 mm³ kandaki eritrosit sayısına bağlıdır; eritrositlerin ortalama büyüklüğünden biraz etkilenir. *Otomatik kan sayım cihazlarında hematokrit değeri, eritrosit sayısı (RBC) ve ortalama eritrosit volümünden (MCV) hesaplanmaktadır:*

$$RBC \text{ (milyon)} \times 9 = HCT$$

$$HGB \times 3 = HCT$$

Sağlıklı bir erişkinde hematokrit değeri, erkekler için %40-54'dür, kadınlar için ise %37-47'dir. *Venöz kanla yapılan hematokrit değeri, kapiller kanla yapılandan biraz yüksek bulunur.*

Hematokrit değerinin arttığı durumlar

Polisitemia rubra vera ve KOAH'da olduğu gibi kompensatuvar polisitemiler ile hemokonsantrasyon durumlarında hematokrit değeri (HCT) artar.

Hematokrit değerinin azaldığı durumlar

Anemiler ve gebelikteki gibi hemodilüsyon durumlarında hematokrit değeri (HCT) azalır.

Sağlıklı kişiler için: %1 g Hb = %2,94 Hct; %1 Hct = % 0,34 g Hb

%16 g Hb = %100 Hb = 80 Sahli birimi

Ortalama eritrosit volümü (MCV)

Ortalama eritrosit volümü, hematokrit üzerine ortalama eritrosit büyüklüğünün etkisi için ölçülür.

$$MCV = \frac{\text{Hematokrit değeri} \times 10}{\text{Eritrosit sayısı}(\text{mm}^3 \text{ te milyon})} = \dots\dots\dots \mu^3$$

$$MCV = \frac{\text{Hematokrit değeri} \times 100}{\text{mm}^3 \text{ te milyon olarak eritrosit sayısının ilk iki rakamı}} = \dots\dots\dots \mu^3$$

Sağlıklı bir erişkinde ortalama eritrosit volümü, erkeklerde 80-94 μ^3 (80-94 fL) ve kadınlarda 81-99 μ^3 (81-99 fL) veya her iki cinste 80-100 μ^3 (80-100 fL) kadardır. *Çok sigara içenlerde ortalama eritrosit volümü 3 fL kadar yüksek olabilir.*

Ortalama eritrosit volümünün arttığı durumlar

Megaloblastik anemi, makrositik anemi, kronik amfizem ve kronik bronşit, hipotiroidizm, karaciğer hastalıkları ve ağır alkolizm gibi durumlarda ortalama eritrosit volümü (MCV) artar. *Eritrositler yeni doğanda makrosittir; altı hafta sonra erişkindeki gibi olur.*

Ortalama eritrosit volümünün azaldığı durumlar

Demir eksikliği anemisi, idiopatik hipokrom anemi, kronik kanama anemileri ve gebelik anemisinde ortalama eritrosit volümü (MCV) azalır.

Ortalama eritrosit hemoglobini (MCH, OEHB)

Ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), sıradan eritrositteki hemoglobinin miktarının değerlendirilmesini sağlar.

$$MCH (OEHB) = \frac{100 \times \%g \text{ Hb}}{\text{mm}^3 \text{ te milyon olarak eritrosit sayısının ilk iki rakamı}} = \dots\dots\dots \text{pg}$$

Sağlıklı bir erişkinde ortalama eritrosit hemoglobini, 26-34 pg kadardır.

Ortalama eritrosit hemoglobininin arttığı durumlar

Pernisiyöz anemi ve makrositer gebelik anemisi gibi megalositer anemilerde, protein eksikliği anemisinde, folik asit antagonistleri ile tedavi durumlarında, sferositoz durumlarında ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) artar.

Ortalama eritrosit hemoglobininin azaldığı durumlar

Primer demir eksikliği anemisinde, kanama anemilerinde, idiopatik hipokrom anemide, gebelik anemisinde ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) azalır.

Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC)

Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), sıradan eritrositte hemoglobinin ortalama konsantrasyonunun değerlendirilmesini sağlar.

$$\text{MCHC} = \frac{100 \times \% \text{g Hb}}{\text{Hct}} = \dots\dots\dots \% \text{g}$$

Sağlıklı bir erişkinde ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu, % 31-37 g'dır.

Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonunun arttığı durumlar

Şiddetli ishal, durdurulamayan kusmalar gibi uzun süren dehidratasyon hallerinde, şiddetli lipemi durumlarında, sferositoz hallerinde, ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) artar.

Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonunun azaldığı durumlar

Demir eksikliği anemilerinde, kanama anemilerinde, kronik hastalıklara bağlı anemilerde, gebelik hidremisinde, su zehirlenmesinde, ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) azalır.

Eritrosit dağılım genişliği (RDW)

Eritrosit dağılım genişliği (RDW), bazı otomatik kan sayım cihazlarında (hemocounter'lar), MCV ve eritrositlerin büyüklüklerine ait histogram verilerinden hesaplanan bir indekstir; eritrositlerin büyüklüklerindeki farklılıkları ifade eder.

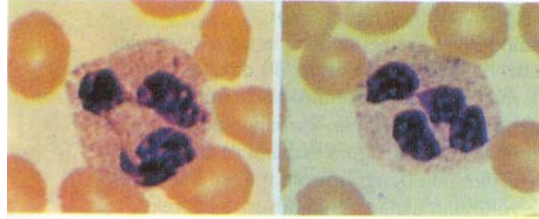
*Normalde eritrositlerin büyüklükleri oldukça birbirinin aynı, çapları ortalama 7,2 mikrondur. Eritrositlerin büyüklüklerinin çok değişiklik göstermesi **anizositoz** olarak tanımlanır; pernisiyöz anemide ve lösemide rastlanabilir. Eritrositlerin küçük olmaları **mikrositoz** olarak tanımlanır; demir eksikliğinde ve akut posthemorajik anemide görülür. Eritrositlerin büyük olmaları **makrositoz** olarak tanımlanır; normal olarak yeni doğanda, patolojik olarak pernisiyöz anemide rastlanır. Eritrositlerin biçimlerinin birbirinden farklı olması **poikilositoz** olarak tanımlanır; sık olarak pernisiyöz anemide rastlanır. Orak hücreli anemide eritrositler orak biçimindedirler. Talasemide eritrositlerde ortada ve çevredeki hemoglobin alanlarının arasında boş gibi görünen bir alan vardır. Eritrositlerin oval biçimde olması hereditör ovalositozda, bazen talasemide ve orak hücreli anemide rastlanabilir. Eritrositlerin normal eritrositlere göre daha kalın, koyu boyanmış ve sferik olmaları **sferositoz** olarak tanımlanır; çoğunlukla hereditör bir abnormalitedir.*

RDW, genel olarak demir, folat ve vitamin B₁₂ yetmezliği anemilerinde, eritrositlerin parçalandığı durumlarda, homozigot hemoglobinopatilerde yükselir. RDW, talassemi

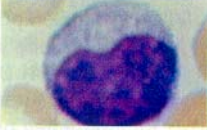
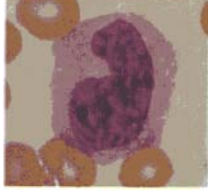
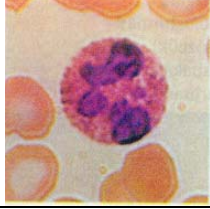
minorda, kronik hastalıkların anemilerinde, normal HbA'lı heterozigot hemoglobinopatilerde normaldir. *RDW'in azaldığı durum yoktur.*

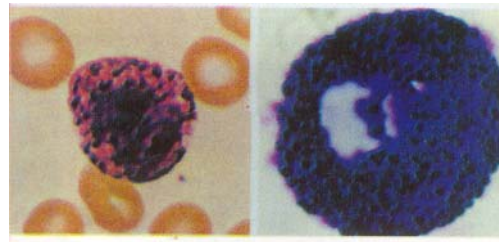
Lökosit sayısı (WBC)

Sağlıklı bir erişkinde 1 mm^3 kandaki lökosit sayısının fizyolojik değeri 5.000-10.000 kadardır. Manuel sayımlarda %4-8 ve otomatik kan sayım cihazlarıyla sayımlarda %2-4 hata olabilir. Kandaki lökositler, %50-70 nötrofil, %20-40 lenfosit, %2-6 monosit, %2-4 eozinofil, %0-1 bazofil şekillerindedirler:



Nötrofiller

		
Lenfositler	Monositler	Eozinofiller



Bazofiller

Kanda lökosit sayısı sabah en düşük akşam en yüksek değerdedir; yatan hastalarda ayaktakilere göre daha yüksektir. Her bedeni faaliyet lökosit sayısını artırır. Güneşte aşırı süre kalma ve yüksek yerlere çıkma da lökosit sayısını artırır.

Kanda lökosit sayısında artış **lökositoz** olarak tanımlanır; lökosit sayısında azalma ise **lökopeni** olarak tanımlanır.

Lökositozun görüldüğü durumlar

Sistemik enfeksiyonlar, lokal enfeksiyonlar, miyokart enfarktüsü, vücut boşluklarına kanama durumları, lösemiler, çok sigara içme ve gebelik gibi durumlarda lökositoz görülür.

Lökopeninin görüldüğü durumlar

Tifo ve paratifo, bruselloz, miliyer tüberküloz gibi bazı akut ve kronik enfeksiyonlar, bazı virüs ve riketsiya hastalıkları, aplastik anemi, alösemik lösemi gibi durumlarda lökopeni görülür.

Trombosit sayısı (PLT)

Sağlıklı bir erişkinde 1 mm^3 kandaki trombosit sayısının fizyolojik değeri 150.000-400.000 kadardır. 1 mm^3 kanda 20.000-30.000 trombosit değeri kanama eğiliminin sınırları olarak kabul edilir. Fakat 5.000-10.000/ mm^3 gibi değerlerde bile kanama olmayabilir; 100.000/ mm^3 değerlerinde kanama olabilir.

Kanda trombosit sayısının az olması **trombositopeni** olarak tanımlanır; fazla olması ise **trombositoz** olarak tanımlanır.

Trombositopeninin görüldüğü durumlar

Septisemi, tifo gibi enfeksiyonlar, X-ışını gibi fizik ajanlara maruz kalma, kan hastalıkları gibi durumlarda trombositopeni görülür. *Esansiyel trombositopeni de tanımlanmıştır.*

Trombositozun görüldüğü durumlar

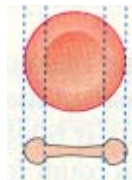
Özellikle femur boynu kırığı gibi kemik kırıklarında, cerrahi girişimlerden sonra 7. ve 20. günler arasında akut trombositoz; miyeloproliferatif hastalıklarda, hodgkin hastalığında kronik trombositoz görülür.

Eritrositler

Eritrositler, ileri derecede özelleşmiş hücrelerdir; içerdikleri hemoglobine O_2 bağlayarak taşıyan kırmızı renkli kan hücreleridirler. *Dolaşım sisteminde belirli bir süre kalan hücrelere kan hücreleri adı verilmektedir.*

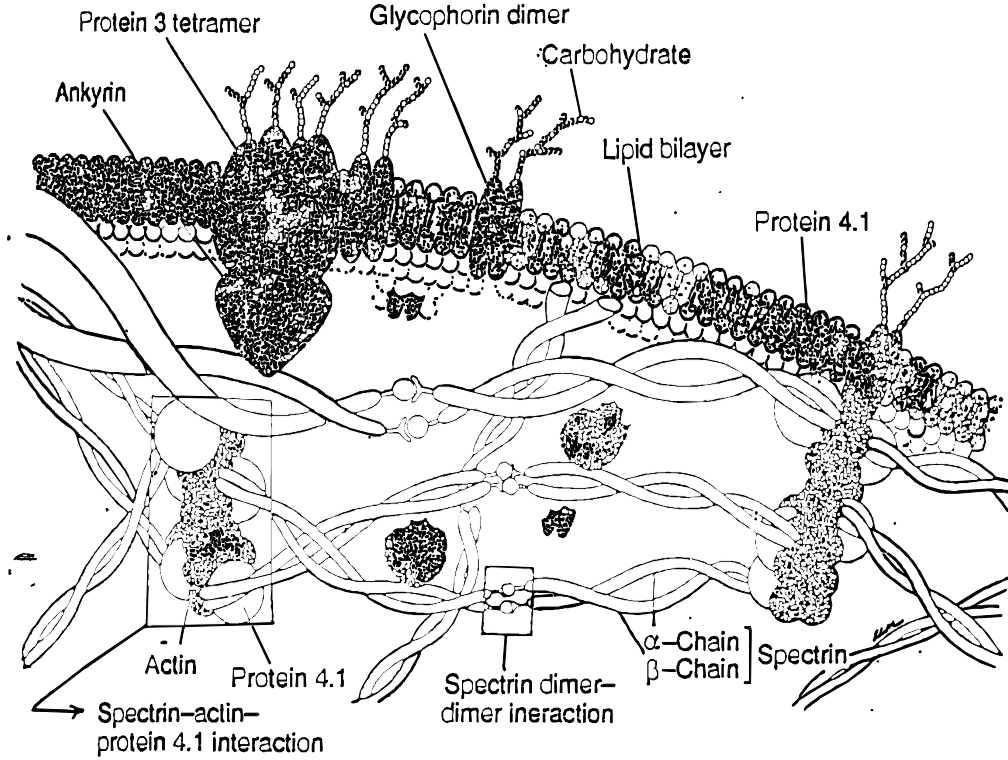
*Eritrositler erişkinlerin kemik iliğinde yapılırlar. Toplam vücut ağırlığının %3-6 kadarını oluşturan kemik iliğinin yaklaşık yarısı eritrosit yapımında görev yapan eritropoietik hücrelerdir. Eritropoietik hücreler ve dolaşımda bulunan eritrositlerin tümüne **eritron** adı verilir.*

İnsan eritrositleri, çekirdeksiz ve bikonkav disk şeklindedirler; çapları 6-9 μ , kalınlıkları merkezde 1 μ ve kenarlarda 2-2,5 μ kadardır:



İleri derecede özelleşmiş hücreler olan eritrositlerin sitoplazmalarının %34 kadarı hemoglobin çözeltisidir. Eritrositlerde nükleus ve mitokondri, ribozom, lizozom, endoplazmik retikulum, Golgi aygıtı gibi subsellüler organeller bulunmaz. *Eritrositler, nükleik asitleri ve proteinleri sentezleyemezler, sınırlı bir lipid metabolizmasına sahiptirler, plazma membranındaki iyon pompalarının yanısıra hemoglobin ve hücre iskeleti fonksiyonlarının sürdürülmesinde büyük ölçüde karbonhidrat metabolizması kullanılır.*

Eritrosit membranı, yaklaşık 6 nm kalınlığındadır; %49 protein, %44 lipid, %7 karbonhidrat içerir:



Eritrosit membranındaki lipidler, diğer memeli plazma hücrelerinde olduğu gibi, hücre etrafında dayanıklı bir yapı oluşturmak üzere iki tabakalı bir yapı meydana getirmektedirler. İnsan eritrosit membran lipidlerinin %25'ini kolesterol, %60'ını fosfogliserid (her biri yaklaşık %15-16 oranında olmak üzere sfingomiyelin, fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin ile %7-8 oranında fosfatidilserin), %5-10'unu glikolipid, geri kalanını kolesterol esterleri, serbest yağ asitleri, sülfatidler, triasilgliseroller (trigliseridler) oluşturur. Bazı fosfolipidler çift tabakanın başlıca dış kısmında bulunurken bazıları iç kısmında bulunurlar. Fosfatidilkolinin 2/3'ü ve sfingomiyelinin %80-85'i membranın dış yüzeyinde yer alır; fosfatidilserin ve fosfatidiletanolaminin %80-90'ı membranın iç yüzeyinde yer alır. Kolesterol ve kan gruplarını belirleyen glikolipidler membranın dış yüzeyinde bulunurlar.

Eritrosit membranında bulunan proteinler, iki gruba ayrılırlar. 1) **İntegral proteinler** adı verilen proteinler, lipid çift tabakanın içinde bulunurlar, lipid çift tabakayı boydan boya geçerler ve polipeptit zincirlerinde içerdikleri hidrofobik dizilerle lipid çift tabakadaki fosfolipidlere sıkıca bağlanmışlardır. 2) **Periferal proteinler (ekstrinsik proteinler)** adı verilen proteinler ise integral proteinlere kovalent olmayan bağlar ile bağlanan periferik proteinlerdir.

İntegral proteinler, genellikle hücre membranından transport işlevi gören proteinlerdir. Eritrosit membranı integral proteinlerinin yaklaşık %25'ini oluşturan band 3, böyle bir proteindir. Band 3, eritrosit membranından $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ değişimini sağlar; iyon değiştirici bir proteindir. Na^+/K^+ ATPaz ve Ca^{2+} ATPaz gibi ATPaz'lar da integral membran proteinleridir. Glikoforinler, eritrositlerin bir başka integral proteinleridir. Glikoforinler, hücre yüzeyinde kan grubu belirleyicileri olarak işlev gören oligosakkaritleri içeren glikoproteinlerdir.

Periferal proteinlerin çoğu, lipid çift tabakanın sitoplazmik yüzeyi boyunca uzanarak hücre iskeletini oluştururlar. Spektrinler olarak adlandırılan band ile band 2.1 (ankirin), band 4.1 ve aktin, periferal veya ekstrinsik proteinlerdir. Esneyebilir çubuk şeklinde olan spektrinler, tetramerik birimler, 8-10 aktinin oluşturduğu filamatöz aktin ile birbirine bağlanarak kesintisiz bir ağ oluştururlar. Ankirin, band 3'e bağlanır ve hücre iskeletini lipid çift tabakaya bağlar. Ayrıca birçok başka protein de bu protein-protein etkileşimlerinin kolaylaştırılması ve güçlendirilmesi gibi düzenleyici görevler yerine getirirler. *Eritrosit hücre iskeleti birçok işleve sahiptir. Hücre şeklini kontrol eder, çapı kendi çapından çok daha küçük olan kapiller damarlardan eritrositlerin geçebilmesi için deformabilite yeteneği sağlar. Eritrositlerde deformabilite kaybı, yaşlı hücrelerin retiküloendotelial sistem (RES) hücreleri tarafından dolaşımdan uzaklaştırılmalarında en önemli faktördür.*

Eritrositlerin hücre içi bileşimi, diğer hücrelerde olduğu gibi, başlıca K^+ olmak üzere Na^+ , Ca^{2+} ve Mg^{2+} gibi katyonlar ile Cl^- ve HCO_3^- anyonlar ve inorganik fosfatlardan oluşur. 2,3-difosfoglisarat (DPG, BPG), ADP, ATP ve $NADP^+$, başlıca fosfat içeren bileşiklerdir.

Eritrosit membranı, Cl^- ve HCO_3^- gibi anyonlara geçirgendir; fakat Na^+ ve K^+ gibi katyonlara geçirgen değildir. Eritrositin hücre içi bileşimi, enerji kullanılarak sürdürülür. Hücre içi Ca^{2+} ve Na^+ iyonları konsantrasyonlarında artış ve K^+ iyonu konsantrasyonunda azalma, hücre iskeletinin kararlılığını azaltır ve hücrenin yıkılmasına yol açar. Eritrosit membrnında, hücre içi ile hücre dışı arasında iyon dengesini sağlayan pompa sistemleri bulunur. Bu pompa sistemleri, Na^+/K^+ ATPaz ve Ca^{2+} ATPaz gibi enzimlerin etkisiyle çalışırlar.

Eritrositlerde karbonik anhidraz, katalaz, peptidaz, kolinesteraz, anaerobik glikoliz yolu ve pentoz fosfat yolu enzimleri de bulunur.

Dolaşımdaki glutatyonun tamamı eritrositlerde dir.

*Eritrositlerin içindeki ozmotik basınç, plazmadaki gibi %0,9'luk NaCl çözeltisinin ozmotik basıncına eşittir ve bu durum izotonik olarak ifade edilir. Eritrositler hipertonic bir ortamda bulunurlarsa büzülerek küçülürler. Eritrositler hipotonik bir ortamda bulunurlarsa su alarak şişerler ve sonunda membranlarının bütünlüklerinin bozulmasıyla içerdikleri hemoglobin dış ortama dağılır ki bu durum **hemoliz** olarak tanımlanır. Eter, kloroform, safra tuzları, deterjanlar, yılan zehiri gibi bazı biyolojik toksinler, donma ve UV ışınları hemolize neden olurlar; patolojik durumlarda vücutta meydana gelen hemolizden sonra hemoglobini görülebilir.*

Eritrositlerdeki metabolik olaylar

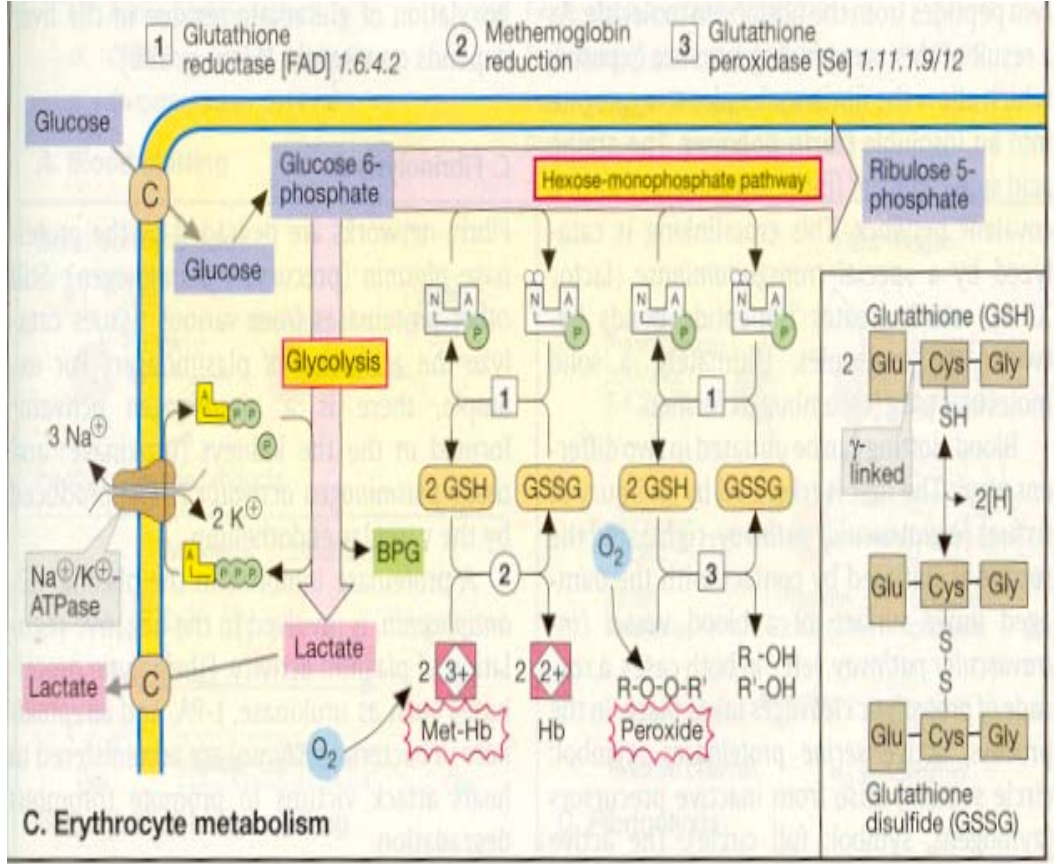
Olgun eritrositlerin öncül hücreleri metabolik olarak çok aktifdirler. Nükleik asit sentezlerler, oksidatif fosforilasyon ile enerji üretirler, birçok kompleks lipid, karbohidrat ve proteinin sentezini gerçekleştirirler. Ancak olgun eritrosit, subcellüler organellere ve bu işlemleri gerçekleştirmek için gerekli enzimlere sahip değildir. Eritrosit olgunlaşması sırasında pek çok metabolik yol yok olmuştur.

Olgun eritrositlerde iki önemli metabolik yol korunmuştur. Bu metabolik yollar, glikoliz ve pentozfosfat (fosfoglukonat) yollarıdır. Glikoliz ve pentozfosfat yolları, hücrenin gerek duyduğu enerjiyi ve indirgeyici kapasiteyi sağlarlar.

Eritrositlerde enerji, çeşitli amaçlar için kullanılır: 1) Hemoglobin yapısındaki demirin, fonksiyonel olan Fe^{2+} şeklinin korunması. 2) Plazmadaki yüksek Na^+ ve düşük K^+ konsantrasyonuna karşı hücre içinde düşük Na^+ ve yüksek K^+ konsantrasyonunun

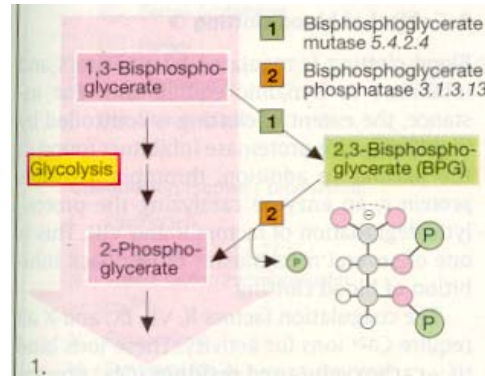
sürdürülmesi. 3) Kandaki yüksek Ca^{2+} konsantrasyonuna karşı hücre içinde düşük Ca^{2+} konsantrasyonunun sürdürülmesi. 4) Hemoglobin ve diğer hücre içi proteinlerle membran proteinlerindeki tiyol ($-\text{SH}$) gruplarının oksidasyondan korunması. 5) Eritrosit membranının ve hücre iskeleti ağının bütünlüğünün korunması ve böylece hücrenin bikonkav şeklinin sürdürülmesi.

Eritrositlerin başlıca metabolik yakıtı glukozdur. Eritrosite glukoz girişi, insüline bağımlı değildir ve kolaylaştırılmış diffüzyonla gerçekleştirilir. Glukoz, eritrositlerde glikoliz yolunda laktata kadar metabolize edilir veya pentozfosfat yolunda okside edilir:



Eritrositlerde glukozun %90 kadarı anaerobik olarak glikolitik yol ile yıkılır. Eritrositler, O_2 'i taşırlar, fakat metabolizmalarında kullanmazlar. Glukozun glikoliz yolunda yıkılımı sırasında pirüvat oluşur. Ancak eritrositlerde mitokondriyal sistemler bulunmadığından pirüvat, sitrat döngüsünde metabolize edilemez; laktik aside dönüşür. Eritrositlerde glukozun glikoliz yolunda laktata yıkılması sırasında 2 ATP tüketilmekte ve 4 ATP oluşmaktadır ki böylece net kazanç 2 ATP olmaktadır. Glikolizle oluşan ATP, ATPaz'ların iyon pompalama işlevleri için kullanılır. Eritrosit hücresinin temel görevi dokulara O_2 bırakarak CO_2 almaktır. O_2 'in eritrositlere bağlanması, transportu ve bırakılması, metabolik olarak enerji harcanmasını gerektirmez.

Eritrositlerde glikolitik yol, dokularda oksijenin hemoglobinden ayrılmasında önemli rol oynayan 2,3-bisfosfoglisarat (BPG, DPG) oluşumunun da en önemli kaynağıdır. Ancak glikolizin 2,3-bisfosfoglisarat yapımında kullanılması, fosfogliserokinaz aşamasındaki ATP oluşumunun atlanmasına yol açar ve net ATP kazancı sıfır olur:



Eritrositlerde glikolitik yol, aynı zamanda NADH sağlar. Glikolizde gliseralehit-3-fosfat dehidrojenaz tarafından oluşturulan NADH, methemoglobindeki Fe^{3+} 'ün methemoglobin redüktaz tarafından Fe^{2+} şekline indirgenmesinde kullanılır. *Methemoglobin hemoglobinin oksijene bağlanması ve salıverilmesi sırasında hemoglobin yapısındaki iki değerlikli demirin üç değerlikli demire yükseltgenmesiyle oluşur.*

Glukozun pentoz fosfat yolunda yıkılımı sırasında NADPH oluşur. Pentoz fosfat yolunda elde edilen NADPH, yükseltgenmiş glutatyonun indirgenerek yeniden kullanılabilir hale dönüşmesi için kullanılmaktadır. *Hemoglobine oksijen bağlanması sırasında güçlü bir oksidan olan süperoksit anyonu oluşur. Son derece toksik olan süperoksit anyonu, süperoksit dismutaz (SOD) etkisiyle hidrojen perokside dönüşür. Hidrojen peroksit (H_2O_2) de toksiktir; katalaz ve selenyum içeren glutatyon peroksidaz etkisiyle etkisiz hale getirilir. Hidrojen peroksidin ve diğer peroksitlerin selenyum içeren glutatyon peroksidaz etkisiyle etkisiz hale getirilmesi sırasında glutatyon (GSH) yükseltgenir ve yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) haline dönüşür. Yükseltgenmiş glutatyonun glutatyon redüktaz vasıtasıyla indirgenerek yeniden kullanılabilir hale dönüşmesi için NADPH gerekmektedir.* NADPH, methemoglobin yapısındaki üç değerlikli demirin yeniden kullanılmak üzere iki değerlikli demire indirgenmesinde de kullanılır.

Eğer eritrosit ATP ve NADPH'den yoksunsa, hemoglobindeki demir oksitlenir ve Fe^{+3} içeren, fonksiyonel olmayan methemoglobin oluşur; hücre içi Ca^{2+} ve Na^{+} konsantrasyonları artar; hücre içi K^{+} konsantrasyonu azalır. Bunun üzerine hücre sferik (küre şekli) hale gelir ve hızla dolaşımdan uzaklaştırılır.

Glukozdan enerji elde edilmesi ve kullanımı için gerekli enzimler, dolaşımdaki eritrositlerde yeniden sentezlenemezler ve 120 gün içinde yavaş yavaş yıkılırlar. Eritrositlerin yaşlanmasıyla eritrosit membranındaki pompa sistemlerinin aktiviteleri azalır; iyon dağılımında değişiklikler olur. Eritrosit içinde Na^{+} ve Ca^{2+} iyonları konsantrasyonu artarken K^{+} iyonu konsantrasyonu azalır. İyon dağılımındaki değişiklikler sonunda eritrositler parçalanırlar. *Eritrositlerin ömrü, insanda ve köpekte yaklaşık 120 gün, ratta 100 gün kadardır. İnsanda her gün eritrositlerin 1/120'si retiküloendotelial sistemde parçalanmakta ve bunlardan 6,5-7 g kadar hemoglobin açığa çıkmaktadır.*

Kan plazması ve kan serumu

Damardan bir santrifüj tüpüne alınan kan kendi haline bırakılırsa içerdiği şekilli elemanlar pıhtılaşma faktörleriyle birlikte çökerek ayrılırlar ve **pıhtı** oluşur; pıhtının üzerindeki sıvı kısım da **serum**dur. Kanın pıhtılaşması antikoagulan denilen bazı

maddelerle önlenabilir ki pıhtılaşması antikoagulanla önlenmiş kan bir tüpte kendi haline bırakılırsa şekilli elemanlar dibe çökerek ayrılırlar, üstte olan sıvı kısım **plazmadır**. Kan plazması, damarlarda dolaşan kanın sıvı kısmıdır. Serumun plazmadan farkı, özellikle fibrinojen olmak üzere bazı pıhtılaşma faktörlerini içermemesidir. Bilirubin ve karotenler seruma sarı renk verirler.

Pıhtılaşması önlenmiş kandaki eritrositlerin çökme hızı, klinik amaçlar için önemli ipuçları verir ki bu, laboratuvarında sedimantasyon (E.S.R.) tayini ile belirlenir.

Antikoagulanlar

Antikoagulanlar, kanın pıhtılaşmasını önleyen maddelerdir. Oksalat, sitrat, flüorür, EDTA (etilen diamin tetraasetik asid) ve heparin, **in vitro kullanılan antikoagulanlardır**. Heparin, dikumarol ve türevleri ile insan protein C **in vivo kullanılan antikoagulanlardır**.

Potasyum oksalatın %20'lik çözeltisinin 0,1 mL'si, 10 mL kanın pıhtılaşmasını kalsiyumu bağlayarak önler. Oksalatlı kanda hemoglobin tayini, eritrosit ve lökosit sayımları, hematokrit tayini yapılabilir; plazma ayrılarak birçok biyokimyasal analizler için kullanılabilir. Ancak, oksalatlı kan ile asit-baz dengesi incelenemez; elektrolit ve bazı kalsiyum ölçüm yöntemleri için uygun değildir. Oksalat, laktat dehidrojenaz gibi bazı enzimlerin tayininde bozucu etki yapar. Oksalatlı kan, lökositlerin nükleuslarında dejenerasyon ve eritrositlerin kenarlarında çentiklenme oluşturduğundan yayma preparatlar için kullanılamaz.

Sodyum sitratın 5 mg'ı, 1 mL kanın pıhtılaşmasını kalsiyumu bağlayarak önler. Sedimantasyon (ESR) tayini için 0,4 mL %3,8'lik sodyum sitrat çözeltisi 1,6 mL kan ile karıştırılır. Protrombin zamanı tayini için 0,2 mL %3,8'lik sodyum sitrat çözeltisi 1,8 mL kan ile karıştırılır. Depo için kan, asid sitrat dekstroz (A.C.D.) çözeltisi üzerine alınır; dekstroz, eritrositlerin normal yaşam süresini uzatır. Sitratlı kan ile asit-baz dengesi incelenemez; elektrolit ve bazı kalsiyum ölçüm yöntemleri için uygun değildir. Sitrat, bazı enzimlerin tayininde bozucu etki yapar.

Sodyum flüorürün 10 mg'ı, 1 mL kanın pıhtılaşmasını kalsiyumla birleşme suretiyle önler. Sodyum flüorür, kanda glikolizin önlenmesi için kullanılır.

EDTA (Etilendiamintetraasetikasit), kanın pıhtılaşmasını kalsiyum ile kompleks yaparak önler. 1 mg Na-EDTA·2H₂O, 1 mL kanın pıhtılaşmasını önler. EDTA'lı kanda eritrosit ve lökosit sayımları, hematokrit tayini, lökosit formülü için kan yaymaları yapılabilir. Ancak, EDTA'lı kan, elektrolit ve kalsiyum tayini için uygun değildir.

Heparin, spesifik olarak pıhtılaşma faktörleri IX ve XI'i bağlayarak ve antitrombin III ile etkileşip bunun trombini inaktive etme yeteneğini artırarak kanın pıhtılaşmasını önler. 75 IU heparin, 1 mL kanı pıhtılaşmaktan korur. Piyasada mL'sinde 100, 1000, 10000 IU heparin içeren preparatlar vardır. *100 IU heparin, 1 mg heparine eşdeğerdir.* Heparinli kan, elektrolit tayini ve eritrosit fragilitesi için kullanılabilir.

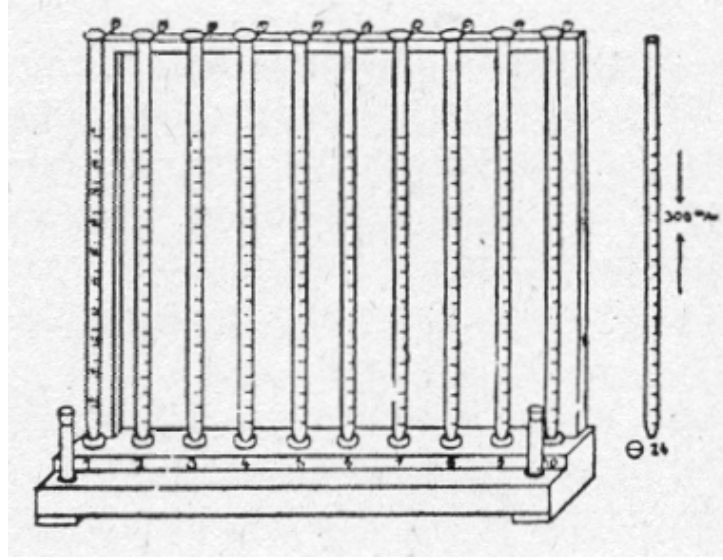
Kumarin grubu ilaçlar, vitamin K antagonistleri olarak, kinon türevlerinin aktif hidrokinon şekillerine indirgenmelerini inhibe ederler ve böylece pıhtılaşma faktörü II, VII, IX ve X'un amino-terminal bölgelerinde glutamik asit kalıntılarının vitamin K'ye bağımlı karboksilasyonunu inhibe ederek bu faktörlerin olgunlaşmasını önlerler.

İnsan protein C, trombinle aktif hale gelir ve pıhtılaşma faktörleri V ile VIII_a'yı inaktif hale getirir.

Eritrosit çökme hızı (ESR, sedimentasyon hızı, sedimentasyon)

Pıhtılaşması önlenmiş ve kendi haline bırakılan kanda eritrositlerin dibe doğru çökmesinde (sedimentasyonda) üç faz vardır. Sedimentasyonun birinci fazında eritrositler, kendi ağırlıklarıyla yavaş olarak dibe çökerler; ikinci fazda eritrositler hızla agregat oluştururlar ve çökme çok hızlanır; üçüncü fazda eritrositler yığın halinde bulundukları kabın dip kısmında yavaş olarak sıkışırlar.

Westergren makrometodu ile sedimentasyon hızı tayini için; 1) 2 mL'lik steril enjektöre 0,4 mL %3,8'lik steril sodyum sitrat çözeltisi ve sonra vena ponksiyonu ile 1,6 mL venöz kan çekilir. Kan alındıktan sonra enjektörün pistonu geri çekilir ve enjektör alt üst edilerek kan ile sitratın karışması sağlanır. 2) Enjektörün iğnesi çıkarılır ve kan, köpürtülmeden küçük bir deney tüpüne aktarılır. 3) Kan, tüpte tekrar karıştırıldıktan sonra Westergren sedimentasyon pipetinin sıfır çizgisine kadar çekilir. 4) Westergren sedimentasyon pipeti, dik olarak Westergren sedimentasyon aletindeki özel yerine yerleştirilir ve saat kurur. 5) ½ saat ve 1 saat sonra eritrosit sütununun yüksekliği Westergren sedimentasyon pipeti üzerinden okunur:



Sedimentasyonun ilk iki fazdaki hızını belirten 1 saatlik sedimentasyon hızı değeri önemlidir.

Westergren makrometodu ile tayin edilen sedimentasyon hızının fizyolojik değeri, erkekte yarım saat için 2-3 mm, 1 saat için 10-15 mm kadardır. Sedimentasyon hızının kadında fizyolojik değeri, yarım saat için 3-5 mm, 1 saat için 12-20 mm kadardır. Fizyolojik olarak sedimentasyon hızı artışına gebelikte raslanır. Ayrıca yaşlandıkça da sedimentasyon hızlanır.

Sedimentasyon hızı artışının görüldüğü durumlar

İltihabi durumlar, akut ve kronik enfeksiyonlar, aktif tüberküloz, akut romatizma, lupus eritematozus, maligniteler, nefrotik sendrom, anemiler, hipotiroidizm gibi birçok durumda sedimentasyon hızı artar.

Sedimentasyon hızı azalışının görüldüğü durumlar

Polisitemi, konjestif kalp yetmezliği, komplikasyonsuz boğmaca, ağır karaciğer parankim hastalıkları, sodyum salisilat, fenil butazon, kortizon gibi ilaçların kullanılması gibi birçok durumda sedimentasyon hızı azalır.

HEMOSTAZ VE PIHTILAŞMA (KOAGULASYON) FAKTÖRLERİ

Yaralanma olaylarında, damar bütünlüğünün bozulmasına bağlı olarak kanama meydana gelmekte ve bu kanama bir süre sonra durmaktadır. Damar bütünlüğünün bozulmasına bağlı olarak meydana gelen kanamanın durması olayı **hemostaz** olarak tanımlanır. Hemostazda, kan damarları, doku faktörleri, plazma faktörleri ve trombositler birlikte görev görür.

Hemostaz, damarların kontraksiyonu, trombosit tıkaçı oluşması, fibrin ağı (pıhtı) oluşması ve fibrinoliz (fibrin ağının çözülmesi) olmak üzere dört basamakta gerçekleşir. *Trombosit tıkaçı oluşumuna kadarki olaylar primer hemostaz olarak, fibrin ağı (pıhtı) oluşması da sekonder hemostaz olarak tanımlanmaktadır.*

1) Hemostazın birinci fazı

Hemostazın birinci fazında yaralanan damar, kan akımını azaltmak için kontraksiyonla daralır.

2) Hemostazın ikinci fazı

Hemostazın ikinci fazında yaralanma yerinde gevşek bir trombosit tıkaçı veya beyaz trombüs oluşur. Yaralanma yerinde endotelin altındaki bağ dokusunda ortaya çıkan kollajen, trombositler için bir bağlanma yeri oluşturur. Trombositler kollajene bağlanırlar ve aktive olurlar. Aktive olan trombositler, iç yapılarında çözülmeye uğrayarak ADP, tromboksan A₂, von Willebrand faktörü (VWF), fibronektin, serotonin, faktör V, trombospondin, trombositlerden türeyen büyüme faktörü, heparinaz ve diğer faktörleri salıverirler. Tromboksan A₂ ve ADP, diğer trombositlerin kollajene bağlı olanlara yapışmalarını sağlarlar; böylece gevşek ve geçici trombosit tıkaçı (beyaz trombüs) oluşur. Bir glikoprotein olan von Willebrand faktörü (VWF), trombosit tıkaçı oluşumunu kolaylaştırır. Arterlerde oluşan beyaz trombüs, trombositler ve fibrinden oluşmuştur; kapillerlerde ise yaygın bir fibrin birikimi ile ikinci tip bir trombüs oluşur.

Kanama zamanı ölçümü ile, hemostazda beyaz trombüs oluşumuna kadarki olayların işlerliği, incelenebilir:

Duke metodu ile kanama zamanı ölçümü için kulak memesi veya parmak ucu alkol veya alkol-eter karışımı ile temizlenir; lanset ile 4 mm derinliğinde bir delme yapılır ve hemen kronometre çalıştırılır; bundan sonra kan, her yarım dakikada bir delme yerinin kenarlarına dokunulmadan bir süzgeç kağıdı ile alınır; süzgeç kağıdında kan lekesi görülmediği yani kanama durduğu anda kronometre durdurulur; delmenin yapıldığı andan kanamanın durduğu ana kadar geçen zaman “kanama zamanı” olarak belirlenir. Kanama zamanı, delmenin yapıldığı alanın kapiller zenginliğine ve kapiller çapına bağlıdır; bu nedenle nasırlaşmış ve sklerotik yerler delme için seçilmemelidir. Ayrıca delme yerinin çevresine yapılacak basınç, doku trombokinazının kanla temasını sağlayacağından kanama zamanını kısaltır.

Duke metodu ile ölçülen kanama zamanı, normalde 1-3 dakika kadardır; nadiren 5 dakikalık değerlere rastlanır. Trombositopenik purpura, tromboastenî, bazı enfeksiyon ve skorbüt hastalıkları, uzun süreli antikoagulan kullanımı, kronik böbrek yetmezliği, bazı bağ doku hastalıkları, safra yolları tıkanıklıkları, aspirin gibi ilaçların alındığı durumlarda kanama zamanı uzar.

Turnike testi de kapiller fragilitiyi ve trombosit tıkaçı oluşumunu incelemek için yapılır.

Turnike testi için, tansiyon aletinin manşonu kola takılır. Manometrenin ibresi sistolik-diastolik basınç arasında duracak şekilde manşona hava verilir. 5 dakika beklenir ki bu sırada ön kolun iç yüzünde geniş kanamalar meydana gelirse test durdurulur. Test sona erdikten sonra ön kolun iç yüzünde 5 cm çaplı bir daire içinde oluşabilecek peteşiler sayılır. Normalde test sona erdikten 15 dakika sonra ön kolun iç yüzünde 5 cm çaplı bir daire içinde hiç peteşi görülmez veya en çok 10 adet peteşi görülür. Peteşi sayısının 10-20 arasında olması şüpheli, 20'den fazla olması patolojik olarak kabul edilir.

Turnike testi, kadınlarda menstruasyon zamanı, vitamin C eksikliği, trombositopeni, kronik nefrit durumlarında pozitifdir.

3) Hemostazın üçüncü fazı

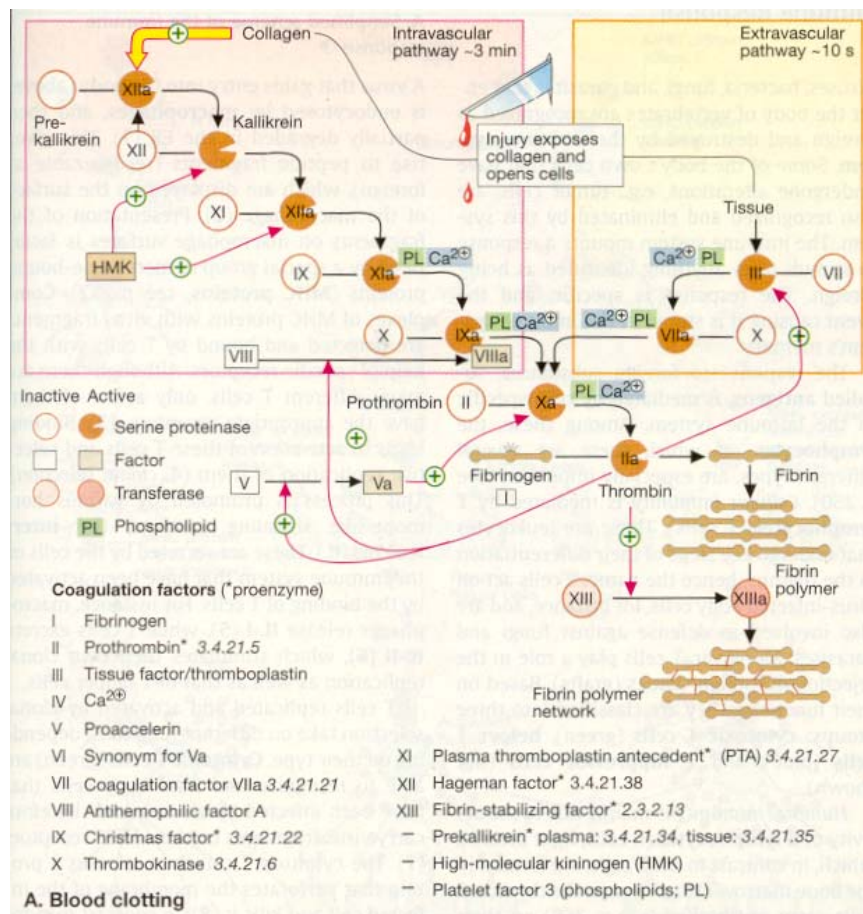
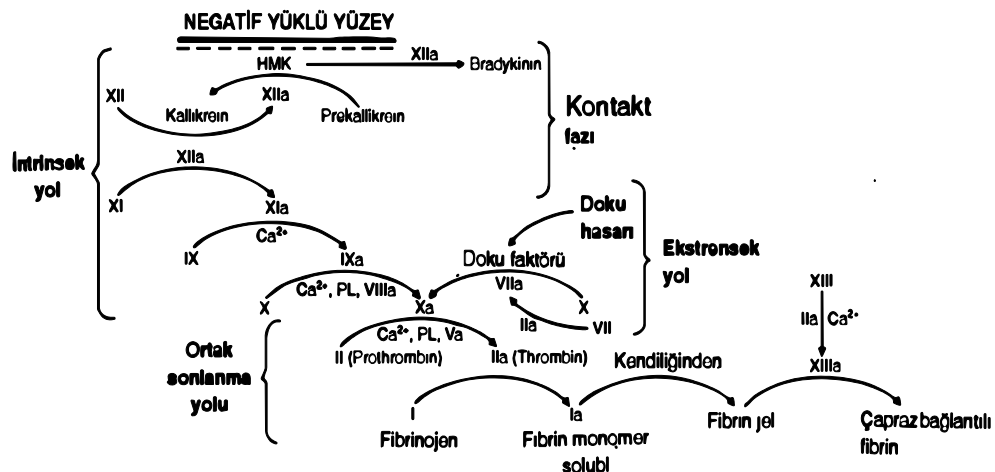
Hemostazın üçüncü fazı, eritrositler ve fibrinden zengin üçüncü tip bir trombüs olan kırmızı trombüsün oluştuğu fazdır. Kırmızı trombüs, morfolojik olarak bir deney tüpünde oluşan pıhtıyı andırır; oluşması, kan pıhtılaşması olarak da bilinir. *Vücutta kan akımının damar duvarında herhangi bir anormallik olmaksızın yavaşladığı alanlarda ve anormal damar duvarı bölgesinde de kırmızı trombüs oluşabilir.*

Hemostazda fibrin ağının yani pıhtının oluşması, plazma koagulasyon sistemi denen sistemi oluşturan ve pıhtılaşma (koagulasyon) faktörleri denen faktörlerin art arda aktivasyonu ile şelale şeklinde meydana gelen olaylar dizisi sonucunda gerçekleşir. Kanın pıhtılaşması, solubl plazma proteini fibrinojenin (faktör I), insolubl polimerlerinin fibröz ağı haline enzimatik dönüşümüdür. Fibrinojenin (faktör I) dönüşümünü sağlayan enzim, trombin (faktör IIa)'dir.

Bilinen pıhtılaşma (koagulasyon) faktörleri şunlardır:

Faktör I	: Fibrinojen
Faktör II	: Protrombin
Faktör III	: Doku faktörü (Tromboplastin)
Faktör IV	: Ca ²⁺ iyonları
Faktör V	: Proakselerin (Labil faktör)
Faktör VII	: Prokonvertin
Faktör VIII	: Antihemofilik faktör A
Faktör IX	: Christmas faktörü
Faktör X	: Stuart-Prower faktörü
Faktör XI	: Plazma tromboplastin antesdenti
Faktör XII	: Hageman faktörü (Cam faktörü)
Faktör XIII	: Fibrini stabilleyen faktör (Laki-Lorent faktörü)
Prekallikrein	: Fletcher faktörü
Yüksek molekül ağırlıklı kininojen	: Fitzgerald faktörü
Protein c (Faktör XIV)	
Protein S	

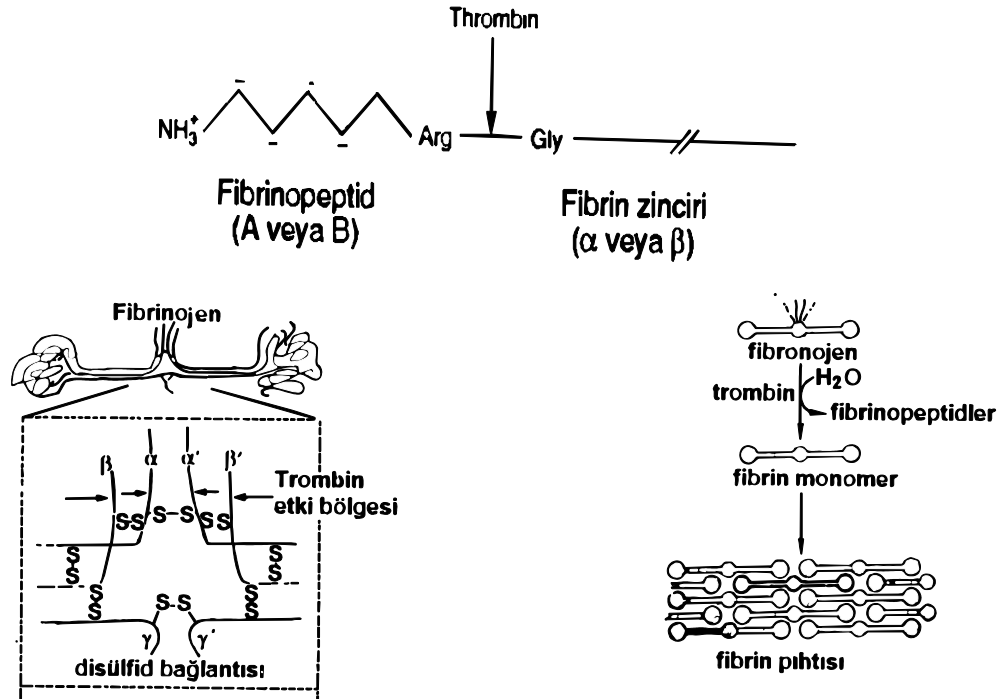
Doku yaralanmasına cevap olarak kırmızı trombüsün oluşması **ekstrinsik yol (ekstravasküler yol)** olarak tanımlanan bir yolla olur. Doku yaralanması olmaksızın kan akımının yavaşladığı bir alanda ve anormal bir damar duvarında kırmızı trombüsün oluşması **intrinsik yol (intravasküler yol)** olarak tanımlanan bir yolla olur. Ekstrinsik ve intrinsik yolların sonunda faktör X aktiflenmektedir. Ekstrinsik ve intrinsik yollar bir **ortak son yolda** birleşirler:



İntrinsik yolda, faktör XII, XI, IX, VIII ve faktör X ile prekallikrein, yüksek molekül ağırlıklı kininojen, Ca^{2+} ve trombosit fosfolipidleri görev alır. Bu yolda, önce temas faktörlerinden Hageman faktörü (Faktör XII), faktör XI, yüksek molekül ağırlıklı kininojen (HMK) ve prekallikrein, subendotelial kollajen üzerinde birbirlerine yakın bir şekilde toplanırlar ve olay, ortamda az miktarda bulunan kallikreinin faktör XII'yi aktive etmesiyle başlar. Oluşan faktör XIIa, bir yandan fazla miktarda kallikrein meydana getirirken diğer yandan faktör XI'i aktive eder; ayrıca yüksek molekül ağırlıklı kininojenden bradikinin oluşumunu da katalizler. Faktör XI'in aktif şekli olan faktör XIa, Ca^{2+} varlığında faktör IX'u aktifler. Böylece oluşan faktör IXa, faktör VIIIa, Ca^{2+} ve trombosit fosfolipidlerinin toplu bir şekilde etkisiyle faktör X, faktör Xa şeklinde aktive olur.

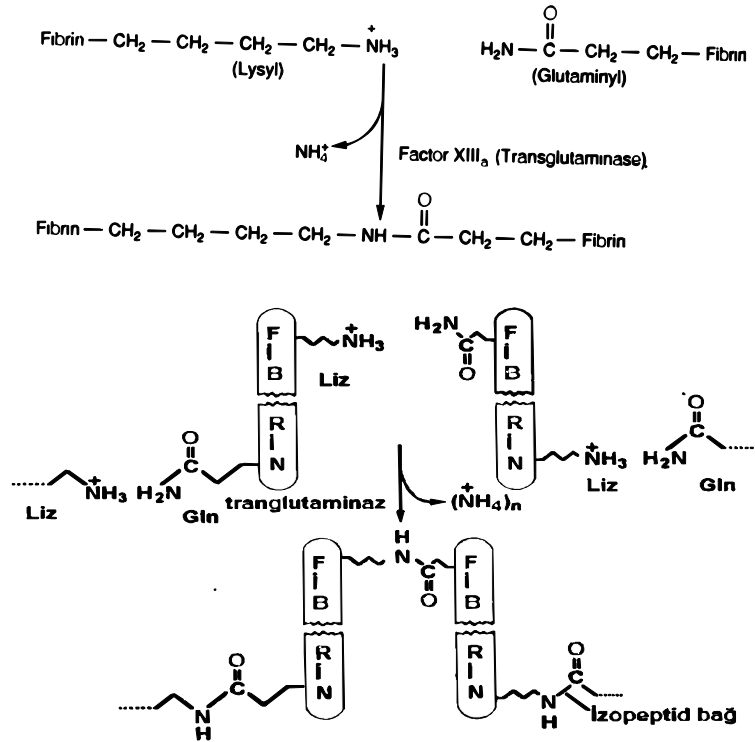
Ekstrinsik yolda faktör Xa'nın oluşumunda intrinsik yoldan daha az sayıda faktör rol oynamaktadır. Ekstrinsik yolun özel faktörleri, faktör III (doku faktörü, TF, tromboplastin), faktör VII ve X ile Ca^{2+} iyonlarıdır.

Pıhtılaşma olayında ortak son yol, protrombinin trombine aktivasyonu ile başlamaktadır. İntrinsik ve ekstrinsik yolların sonunda oluşan, faktör X'un aktif şekli olan faktör Xa ile faktör Va, Ca^{2+} ve fosfolipid yönünden zengin bir ortamda protrombini (faktör II) trombin (faktör IIa) şeklinde aktive etmektedir. Trombin de fibrinojenden fibrin oluşturur. *Trombin, ayrıca faktör V, faktör VIII ve faktör XIII'ü de aktive eder; bunlara ilaveten trombosit aktivasyonu ve sekresyon yapmasını da uyarır.* Trombin, fibrinojen yapısında bulunan dört küçük peptidin α ve β peptit zincirlerinden hidroliz ile fibrin monomerleri $[(\alpha, \beta, \gamma)_2]$ oluşumunu katalizler; fibrin monomerleri de yan yana ve uç uca gelerek fibrin polimerlerini oluşturmaktadır:

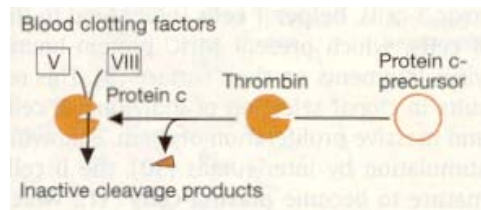


İlk fibrin pıhtısının kovalent olmayan bağlar içeren zayıf bir yapısı vardır. Bu yapıdaki fibrin monomerlerinin transglutaminaz (faktör XIIIa) etkisiyle çapraz bir şekilde kovalent bağlarla bağlanması sonucunda proteolize dirençli stabil pıhtı (sert pıhtı)

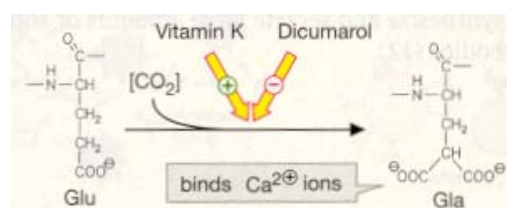
oluşur. Faktör XIIIa, bir fibrin monomerindeki lizil kalıntısının ϵ -amino grubu ile diğer fibrin monomerindeki glutamil kalıntısının γ -karboksil grupları arasında çapraz peptit bağlarının oluşumunu katalize etmektedir:



Kanın pıhtılaşması, aktivatör ve inhibitörler arasındaki dinamik bir denge vasıtasıyla düzenlenir. Örneğin pıhtılaşmanın miktarı, plazmada bulunan, yüksek derecede etkili proteinaz inhibitörleri tarafından kontrol edilir. Ayrıca trombin, faktör V ve VIII'in proteolitik yıkılımını katalizleyen bir enzim olan protein c'yi aktive eder:



Vitamin K, koagulasyon faktörleri II (protrombin), VII, IX ve X'da bol miktarda bulunan γ -karboksiglutamat (Gla) kalıntılarının, karaciğerde glutamat (Glu) kalıntılarından sentezi için gereklidir. Koagulasyon faktörleri II (protrombin), VII, IX ve X'un aktiflenmesi için Ca^{2+} iyonları gereklidir; Ca^{2+} iyonları, bu faktörlerdeki γ -karboksiglutamat (Gla) kalıntılarına bağlanır.



Pıhtılaşma zamanı tayiniyle intrinsik yol ve son ortak yoldaki olayların işlerliliği incelenebilir:

Pıhtılaşma zamanı, Lee-White metodu ve lam metodu ile tayin edilebilir. Lam metodu ile pıhtılaşma zamanı tayini için, parmak ucu alkol veya alkol-eter karışımıyla temizlenir; temizlenen yerde lanset ile 4 mm derinliğinde bir delme yapılır ve hemen kronometre çalıştırılır. Delme yerinden akan kandan 1-2 damla bir lam üzerine alınır. Bundan sonra kan içinde fibrin oluşup oluşmadığı, kan belli aralıklarla lanset ile yoklanarak araştırılır. Lansetin ucuna fibrin lifleri takıldığı an kronometre durdurulur ve okunur. Kronometrede okunan zaman değeri pıhtılaşma zamanı olarak belirlenir. Sağlıklı kişilerde pıhtılaşma zamanı Lee-White metodu ile 5-10 dakika kadar; lam metodu ile 3-7 dakika kadardır. Pıhtılaşma zamanı, tıkanma sarılıkları, hemofili, İV heparin uygulama, kumarin türevlerinin kullanıldığı hallerde uzar; tifo, kanama sonrası, narkoz sonrası, oral kontraseptif kullanılması durumlarında kısalmır.

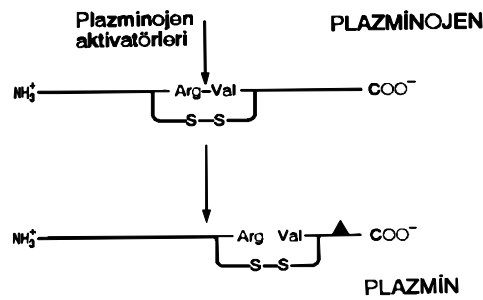
Protrombin zamanı tayiniyle ekstrinsik yol ve son ortak yoldaki olayların işlerliliği incelenebilir:

Sağlıklı kişilerde protrombin zamanı 12-17 saniye kadardır. Karaciğer hücrelerinde ağır harabiyet, tıkanma sarılıkları, vitamin K eksikliği, heparin tedavisi, oral antikoagulanların kullanılması, aspirin kullanılması gibi durumlarda protrombin zamanı uzar.

4) Hemostazın dördüncü fazı

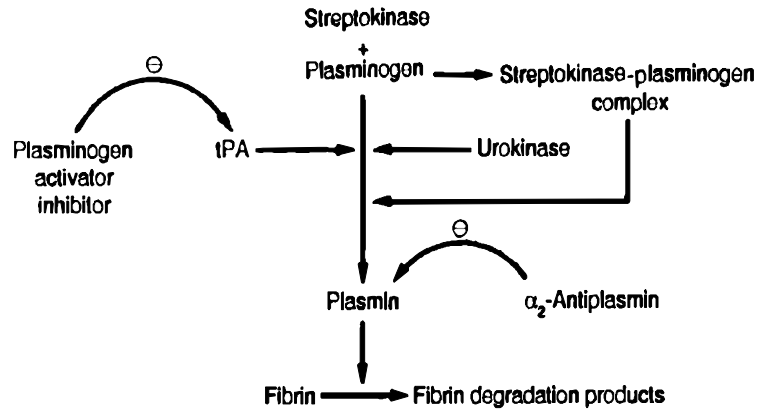
Hemostazın dördüncü fazı, damar hasarının olduğu bölgede meydana gelen kan pıhtısının kısmi veya tam çözünmesidir; **fibrinoliz** diye tanımlanır. Fibrinoliz olayı, damar duvarının onarılmasından sonra, fibrinolitik sistem faktörleri diye bilinen birtakım faktörlerin etkisiyle meydana gelir.

Fibrinolitik sistem faktörleri, çeşitli dokularda oluşturulan ve plazminojenin aktivasyonunu katalizleyen proteinazlardır. Fibrinolitik sistem faktörleri arasında fizyolojik açıdan en önemlisi, doku plazminojen aktivatörü (dPA)'dür. Endotelial hücrelerden salıverilen ve molekül ağırlığı 70 kDa olan dPA fibrin pıhtısı ile birleştikten sonra enzimatik aktivitesi artmakta ve plazminojeni plazmine çevirmektedir:

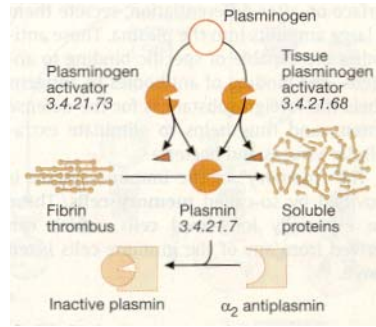


Plazmin de fibrin molekülündeki bir dizi bağı birbirini ardına hidrolitik olarak parçalar ve fibrin parçalanma ürünlerini oluşturur.

Böbreklerde oluşan ve insan idrarında bulunan **ürokinaz**, güçlü bir plazminojen aktivatörüdür ve saflaştırıldıktan sonra klinikte trombolitik tedavide kullanılmaktadır. Bir bakteriyel protein olan 48 kDa molekül ağırlığındaki **streptokinaz** da plazminojen aktivatörüdür ve trombolitik tedavide kullanılmaktadır. *Streptokinaz, diğer plazminojen aktivatörlerinden farklı olarak plazminojen ya da plazmin ile kompleks oluşturduktan sonra plazminojen aktivatörü etkisi göstermektedir. Bazı bakteriyel enfeksiyonlarda gözlenen diffüz kanamalardan sorumlu olan, streptokinaz gibi bazı bakteri ürünleridir.*



α_2 -antiplasmin isimli bir proteinaz inhibitörü, plazmin ile kompleks oluşturarak plazmini inaktive eder; α_2 -antiplasmin, plazmada bulunur ve plazmin aktivitesinin negatif düzenleyicisi olarak etkilidir. Fibrinoliz olayı, α_2 -antiplasminin, plazmin ile kompleks oluşturarak plazmini inaktive etmesinden sonra sonlanmaktadır:



Plazmin, fibrinojeni (faktör I) de parçalayabilir. Ancak, dolaşımdaki plazmin, α_2 -antiplasmin tarafından hızla inaktive edildiğinden fibrinojen üzerindeki etkisi lokal ve sınırlı kalmaktadır.

Fibrinojen

Fibrinojen, 600-700 Å uzunluğunda ve 38 Å genişliğinde bir elipsoid ya da çomak şeklinde moleküllerden oluşmuş plazma proteinidir; karaciğerde sentezlenir. Fibrinojen molekülü, altı polipeptit zinciri içerir ki bu zincirler 2A α , 2 B ve 2 γ zinciridir.

Fibrinojen molekülünün uçları yüksek derecede negatif olarak yüklüdürler ki bu özellik, suda çözünürlüğe katkıda bulunur ve diğer fibrinojen moleküllerinin uçlarını uzaklaştırarak agregasyonu önler.

Plazma fibrinojeninin normal değeri 200-400 mg/dL kadardır.

Doku hasarında, tifo hariç bütün enfeksiyonlarda, gebelik ve menstruasyon döneminde, nefrozlarda, kollajen doku hastalıklarında, karsinomlarda **plazma fibrinojen düzeyi artar**.

Tifoda, ağır hemoraji durumlarında, hemolitik hastalıklarda, ciddi kaşektik hastalıklarda, kloroform, fosfor, CCl₄ ile zehirlenmelerde, obstetrik komplikasyonlarda, uygun olmayan kan transfüzyonlarında ve şiddetli yanık hallerinde **plazma fibrinojen düzeyi azalır**.

HEMOGLOBİN VE HEMOGLOBİN BİLEŞİKLERİ

Hemoglobin

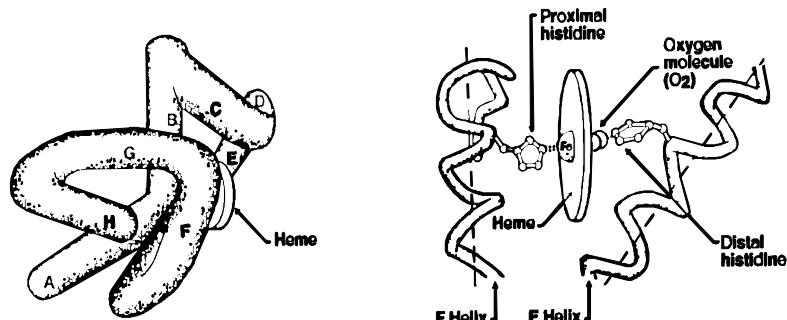
Hemoglobin, kanda eritrositlerde bulunan, kana kırmızı rengini veren, demir-porfirinli bir bileşik proteindir. 70 kg ağırlığında erişkin bir erkekte kan dolaşımında total olarak 750 g hemoglobin bulunur. %g olarak kandaki hemoglobin konsantrasyonunun normal değeri yetişkin erkek için %14-18 g, yetişkin kadın için %12-15 g, çocuk için %12-13 g, yeni doğan için % 21 g kadardır.

Hemoglobin molekülü 4 hem ve 1 globin içerir:



Hemoglobin, proteinlerin kuarterner yapısına iyi bir örnek oluşturur. Hemoglobinin molekül ağırlığı 68 kDa kadar ve molekül çapı 5,5 nm kadardır. Hemoglobinin molekül ağırlığının %96'sını globin kısmı, %4'ünü hem kısmı oluşturur.

Hemoglobinin protein komponenti olan globin, glisince fakir bazik amino asitlerce zengin bir proteindir; tetrahedron şekilde düzenlenmiş 4 polipeptit zincirden yapılmıştır. Çeşitli hemoglobin tiplerinde bulunabilen polipeptit zincirleri α -zincir, β -zincir, γ -zincir, δ -zincir olmak üzere dört tiptir. *Hemoglobindeki α zinciri fetal yaşamda 3.aydan önce, β ve γ zincirleri 3.ayda sentezlenmeye başlar. Ayrıca embriyonik gelişme döneminde sentezlenen 141 amino asitten oluşan zeta (ξ) zinciri ile 146 amino asitten oluşan epsilon (ϵ) zinciri de tanımlanmıştır.* α -zincirde 7 ve β -zincirde 8 segment bulunur. Segmentler, A'dan H'ye kadar harflerle isimlendirilirler; α -zincirde D segmenti yoktur. Her bir segment 7-20 amino asitten oluşur. Ayrıca α_1 - β_1 arasında 30 amino asit kalıntısı vardır; α_1 - β_2 arasında 19 amino asit kalıntısı vardır. Hemoglobindeki hem grubu, globindeki polipeptit zincirlerde F ve E heliksler arasında histidin kalıntılarına bağlı olarak yer alır. α -zincirde F8'deki 87.histidin ile β -zincirde F8'deki 92.histidinler, proksimal histidin olarak tanımlanırlar:

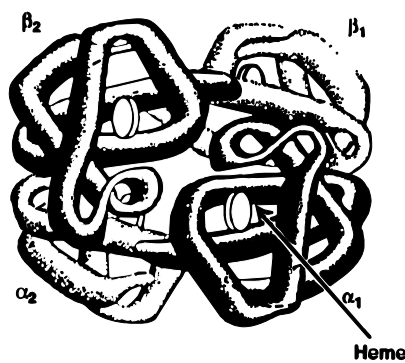
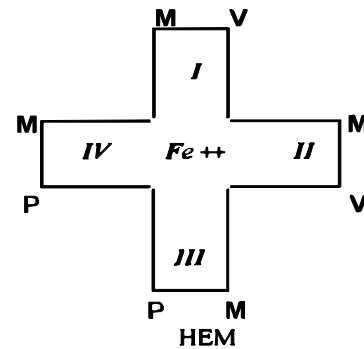
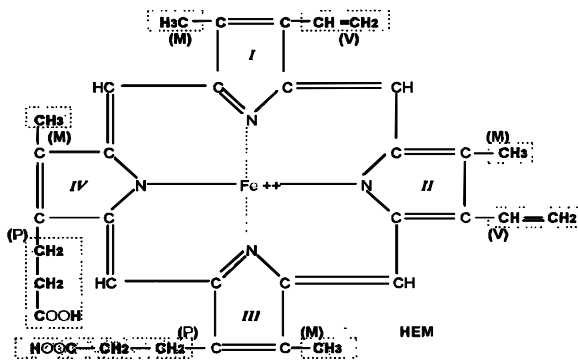


Çeşitli hemoglobin tiplerinde bulunabilen α -zincir, β -zincir, γ -zincir ve δ -zincirin genel yapı özellikleri şöyledir:

Globindeki polipeptit zincir tipleri	Yapı özellikleri
α -zincir	141 aminoasitten yapılmıştır; C-terminalinde arjinin içerir, N-terminalinde valin-lösin içerir.
β -zincir	146 amino asitten yapılmıştır; C-terminalinde histidin içerir, N-terminalinde valin-histidin-lösin içerir.
γ -zincir	146 amino asitten yapılmıştır; β -zincirden farkı, 6. amino asidin glutamik asit yerine lizin olmasıdır.
δ -zincir	146 amino asitten yapılmıştır; β -zincirden farkı, 16. amino asidin glisin yerine arjinin olmasıdır.

Türlere özel hemoglobin tipleri, molekülündeki globinin içerdiği polipeptit zincirleri bakımından birbirlerinden farklıdır.

Hemoglobindeki 4 hemin her biri bir protoporfirin III ve bir Fe^{2+} içerir:



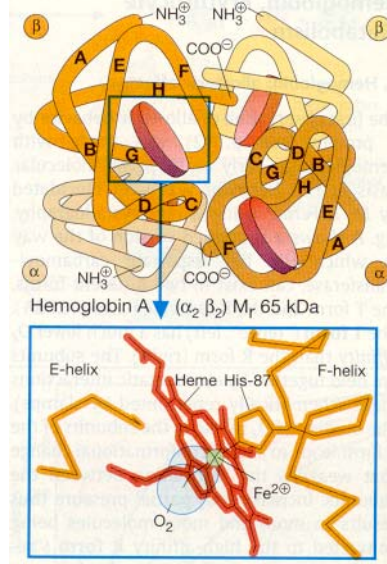
Hemoglobin, molekülünde içerdiği toplam 4 adet Fe^{2+} sayesinde akciğerlerden dokulara O_2 molekülü taşıyabilmektedir. 1 hemoglobin molekülü toplam 4 adet O_2 molekülü bağlayarak taşıyabilir.

1 g hemoglobin 1,34 mL oksijen taşır. 70 kg ağırlığında erişkin bir erkekte kan dolaşımında total olarak 750 g hemoglobin, 1 litre kanda yaklaşık 155 g hemoglobin olduğuna göre; 1 litre kan yaklaşık 200 mL oksijen taşır.

Fizyolojik hemoglobinler (normal hemoglobinler)

Fizyolojik hemoglobinler, erişkin bir şahsın kanındaki eritrositlerde bulunan HbA₁, HbA₂, HbF hemoglobinleridirler. *Gower I, Gower II ve Portland* olarak adlandırılan embriyonik hemoglobinler de tanımlanmıştır. Embriyonik hemoglobinler, gebeliğin 10.haftasından önce kaybolur ve fetüste bulunmaz.

HbA₁: Globininde **2 α ve 2 β** polipeptit zinciri içeren fizyolojik hemoglobindir:



HbA₁, erişkin bir şahsın eritrositlerinde bulunan hemoglobinin %97-98'ini oluşturur. Fetüste 20-35.haftalarda total hemoglobinin %10'unu HbA₁ oluşturur. HbA₁, alkalilere dirençli değildir.

HbA₁'in globininin β -polipeptit zincirindeki α -amino grubuna enzimatik olmayan bir reaksiyonla kovalent bir şekilde karbonhidrat bağlanması sonucu glikozile hemoglobinler oluşur. Glikozile hemoglobin oluşumu, yaş ve açlık kan şekeri artışıyla birlikte artar. HbA_{1a} (HbA₃), HbA_{1b}, HbA_{1c}, HbA_{1d}, HbA_{1e} bilinen glikozile hemoglobinlerdir. Bu hemoglobinler normalde çok az bulunurlar ve hiçbiri toksik değildir. Glikozile hemoglobinlerden en sık rastlanana, HbA_{1c}'dir. HbA_{1c}'de β zincirlerindeki genellikle valin amino asidine fruktoz bağlanmıştır; glukozun fruktoza dönüşümü, **amadori düzenlenim** diye bilinen yeniden düzenlenme reaksiyonu sonucu gerçekleşir. HbA_{1c}, erişkin sağlıklı bir insanda total hemoglobinin %5-8'ini oluşturur; diyabetli kişilerde glikozile hemoglobin düzeyi total hemoglobinlerin %8'inin üzerine çıkarak normalin 2-3 misli olabilir. Hemoglobinlerin glikozilasyonu, eritrositlerin 120 günlük yaşam süresince devam eder; oluşan miktar, etkileştikleri kan glukoz miktarıyla orantılıdır ki uzun süreli hiperglisemide artar. Kan HbA_{1c} düzeyi, diyabetin takibinde ve kan glukoz düzeyinin regülasyonunda önemli bir kimyasal parametredir.

HbA₂: Globininde **2 α ve 2 δ** polipeptit zinciri içeren fizyolojik hemoglobindir. HbA₂, erişkin sağlıklı bir şahsın eritrositlerinde bulunan hemoglobinin %0,5-2,5'ini oluşturur. HbA₂, alkalilere dirençli değildir.

HbF: Globininde **2 α ve 2 γ** polipeptit zinciri içeren, primitif hemoglobin (HbP) diye de bilinen fizyolojik hemoglobindir. HbF'nin γ zincirinin 136.amino asidinin alanin veya glisin oluşuna göre iki tipi vardır. HbF, erişkin sağlıklı bir şahsın eritrositlerinde bulunan hemoglobinin %1'inden azını oluşturur. HbF, yeni doğanda total hemoglobinin

%70-90'ını oluşturur. Doğumda total hemoglobinin %70-90'ını oluşturan HbF, 1.ayın sonunda %50-70, 2.ayın sonunda %25-30, 3.ayın sonunda %10-30, 3 yaşında %1, erişkinde %0,4'tür. HbF, alkalilere dirençlidir; 2,3-bisfosfoglisarat (2,3-DPG) bağlamaz; oksijene affinitesi fazladır.

Anormal hemoglobinler ve hemoglobinopatiler

Hemoglobinopatiler, yapısal olarak farklı hemoglobin molekülünün yani anormal hemoglobinlerin üretilmesiyle karakterize hastalıklardır. Anormal hemoglobinlerin ortaya çıkmasına neden olan patolojiler çeşitlidir: 1) Hemoglobinin polipeptit zincirine bir veya daha fazla amino asit eklenebilir, zincirden amino asit çıkabilir veya zincirdeki amino asitler yer değiştirebilir. 2) Globin zinciri üretiminde defekt olabilir; belli bir globin zinciri türü üretilmez. 3) Tip 1 ve tip 2'nin kombinasyonu olabilir. 4) Herediter persistant fetal hemoglobinemi de tanımlanmıştır; asemptomatiktir. Anormal hemoglobinler, oksijen taşıma kapasitesi azalmış olan hemoglobinlerdir. Anormal hemoglobinlerin pek çok çeşidi vardır ki bunlar, keşfedildiği yer, ilk keşfedilen ailedeki isimler ya da yer değişimi olan amino asidin adı temel alınarak isimlendirilmektedirler.

Hb S: HbA₁'in β-zincirlerindeki 6. amino asit glutamik asit değil de valin olan hemoglobindir. Oksijensiz ortamda Hb S'in solubulitesi azalır; Hb S, çubuk benzeri lifler ve fibröz agregatlar oluşturur. Hb S içeren eritrositler orak şeklinde görüntü oluştururlar ve kolayca parçalanırlar. *Fibröz agregat oluşumu, 2 β zincirindeki etkileşmeden kaynaklanmaktadır.* Hb S deoksijenize olduğunda çözünürlük azalışı viskozitenin artışına neden olur; oraklaşmış eritrositlerin de ince kapillerlerde dolaşımı yavaşlatmasıyla tromboz ve emboliler gelişebilir. Hb S, **orak hücreli anemi (Hb S hastalığı)** olarak tanımlanan hemoglobinopatinin ortaya çıkmasına neden olur.

Orak hücreli anemi (Hb S hastalığı), otozomal resesif kalıttır; homozigotlarda hemolitik anemi ortaya çıkar. Heterozigot taşıyıcılarda asemptomatiktir; ancak pO₂ 25 mmHg'nın altına düştüğünde oraklaşmış hücreler dalakta toplanırlar, dolaşımı bozarlar, ağırlı damar tıkanıklıklarına neden olurlar. Orak hücreli anemi (Hb S hastalığı), Amerika, Afrika, Hindistan, Arabistan ve Akdeniz ülkelerinde görülür. Heterozigot orak hücreli anemi hastaları, sıtma paraziti olan plasmodyum falsiparuma karşı dirençlidirler; sıtmaya karşı hassasiyetleri azdır. Bu kişilerde eritrositlerin yaşam süresi normalden kısadır; parazit, eritrosit içindeki gelişimini tamamlayamaz. Pl.falsiparum eritrosit içinde büyürken intrasellüler pH'da düşme ve H₂O₂ oluşumunda artışa neden olur. Eritrosit içi pH'da düşme oraklaşmayı artırır ve H₂O₂ hücre membran yapılarını bozar; eritrositlerin içinde oldukça fazla bulunan K⁺ iyonları hücre dışına sızar; K⁺ iyonlarının eritrosit içinde azalması sıtma parazitini öldürür.

Hb C: HbA₁'in β-zincirlerindeki 6. amino asit glutamik asit değil de lizin olan hemoglobindir. Hb C, **hemoglobin C hastalığı** olarak bilinen hemoglobinopatinin ortaya çıkmasına neden olur. Homozigot hemoglobin C hastalarında, orta derecede kronik hemolitik anemi gözlenir.

*Bir kısmı β globinde orak hücre mutasyonu gösterirken bir kısmı Hb C özelliğinde olan bir hemoglobinopati, **hemoglobin SC hastalığı** olarak tanımlamaktadır.*

Hb Gun Hill: Globini 4 hem değil de 2 hem içeren anormal hemoglobindir. Hb-Gun Hill molekülünde β polipeptit zincirleri, hem bağlanması için gerekli amino asit kalıntılarını içermez; moleküle hem ve dolayısıyla O₂ bağlayamazlar; yalnızca α polipeptit zincirleri hem ve dolayısıyla O₂ bağlayabildiklerinden Hb-Gun Hill'in oksijen taşıma kapasitesi yarı yarıya azalmıştır.

Hb H ve Hb Bart: Hb H, globini α -zinciri içermeyen, 4β -zinciri içeren hemoglobindir; Hb Bart ise globini α -zinciri içermeyen, 4γ -zinciri içeren hemoglobindir. Hb H ve Hb Bart, α -talassemili hastaların kanında saptanır.

Talassemiler, hereditör hemolitik hastalıklardır; insanlarda tek gen defektinin görüldüğü en sık rastlanan hastalık grubunu oluşturlar. Talassemilerde, normalde uyum içinde sentezlenen α ve β zincirlerinden biri sentezlenmez veya azalmış olarak sentezlenir. α^0 veya β^0 , α^+ veya β^+ gibi, defektli globin zinciriyle anılan çeşitli talassemiler tanımlanmıştır.

α -talassemilerde α globin zincirlerinin sentezi ya hiç olmaz ya da azalmıştır. Her birey, α globin geni için, her bir 16.kromozomda 2 adet olmak üzere dört kopya içerir; bu nedenle zincir eksiklik düzeyleri çeşitlidir. Dört genden biri defektli ise, “silent carrier” terimi kullanılır; çünkü hastalığın varlığına ait hiçbir belirti yoktur. İki α globin geninde defekt varsa “ α talassemi trait” söz konusudur. Eğer üç α globin geninde defekt varsa “hemoglobin H hastalığı” söz konusudur; orta dereceden ciddiye doğru değişen hemolitik anemi tablosu sergilenir. Eğer α globin genlerinin dördü de defektli ise fetal ölümle sonuçlanan “hidrops fetalis” ortaya çıkar; çünkü α globin zincirleri, HbF oluşumu için de gereklidir. Etkilenmeyen γ ve β zincirlerinin sentezleri devam eder ve yeni doğanda γ_4 (Hb Bart) veya β tetramer (Hb H) oluşur. Bu tetramerlerdeki alt birimler hem-hem etkileşmesi göstermezler; oksijene affiniteleri yüksek, oksihemoglobinin dissosiasyon eğrileri hiperboliktir ve bu nedenle dokulara oksijen taşıma kapasiteleri düşüktür.

β -talassemilerde β globin zincirlerinin sentezi azalır veya olmaz; α globin zincir sentezi normaldir. Ancak α globin zincirleri stabil tetramer oluşturmazlar; presipite olurlar ve hücreler, olgunlaşmadan ölürlür. Her birey, β globin geni için, her bir 11.kromozomda 1 adet olmak üzere iki kopya içerir. Tek gen defekti olduğunda “ β -talassemi minör” söz konusudur; her iki β globin geninde defekt olduğunda “ β -talassemi majör” söz konusudur. β globin geni, fetal yaşamın geç dönemine kadar expresse edilmez; bu nedenle β -talasseminin belirtileri doğumdan sonra gözlenir. β -talassemi majörde hastalar, yaşamın bir veya ikinci yılında ciddi anemi tablosu sergilerler; bu hastalar için düzenli kan transfüzyonu gerekir; kronik kan tranfüzyonu nedeniyle hastalarda demir yüklenmesine bağlı “hemosiderozis” tablosu gelişir. β -talassemi majör hastalarında 15-25 yaşları arasında ölüm olur. Tedavi için, kemik iliği replasman tedavisi uygulanabilmektedir.

Hb M (Saskanon): HbA₁’in β -zincirlerindeki 63. amino asit histidin değil de tirozin olan hemoglobindir; β -zincirlerine O₂ bağlayamaz; oksijen taşıma kapasitesi yarı yarıya azalmıştır.

Hb M (Osaka): HbA₁ ve HbA₂’nin α -zincirlerindeki 58. amino asit histidin değil de tirozin olan hemoglobindir; α -zincirlerine O₂ bağlayamaz; oksijen taşıma kapasitesi yarı yarıya azalmıştır.

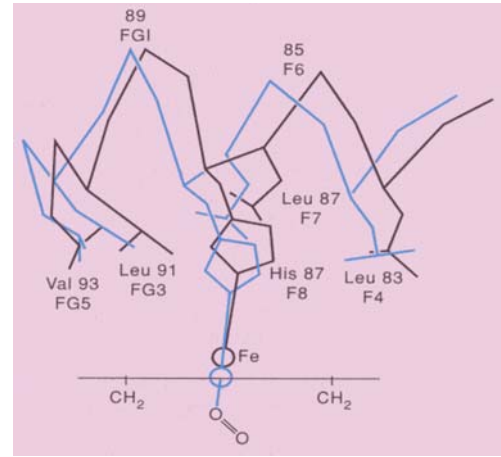
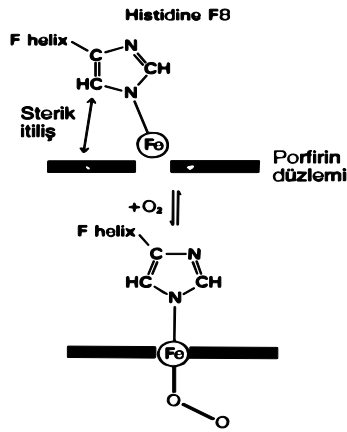
Hemoglobin bileşikleri

Oksihemoglobin (HbO₂)

Oksihemoglobin, hemoglobin molekülündeki 4 Fe²⁺’e akciğerlerde birer O₂ molekülü bağlanması sonucu oluşan hemoglobin bileşiğidir. Bir hemoglobin molekülü, 4 O₂

molekölü bağlayabilmektedir. Hemoglobinin hem grubundaki demir, Fe^{2+} şeklindedir ve bu şekilde oksijeni reversibl olarak bağlar.

Hemoglobine oksijen bağlanmasına, hem grubunun çevresindeki biçimsel değişiklikler eşlik eder. Hemoglobine oksijen bağlanmasıyla, dört alt üniteye karboxil uçları arasındaki tuz bağları parçalanır ve böylece sonraki oksijenin bağlanmasını kolaylaştırır; çünkü ikinci oksijenin bağlanması için daha az tuz bağının parçalanması gerekir. Hemoglobine reversibl olarak oksijen bağlanması sırasında alt üniteler arasındaki ilişkinin %60'lık bölümü değişmeden kalırken %35'lik bölümü kayar; oksijen cep içine girerken Fe oksijene doğru hareket eder ve bağlı olduğu proksimal histidini de cepe çeker; F heliks hareket ederken tuz köprüleri kopmaya başlar. Hemoglobinin böyle oksijenli formu, R (Relaks) form olarak tanımlanır:

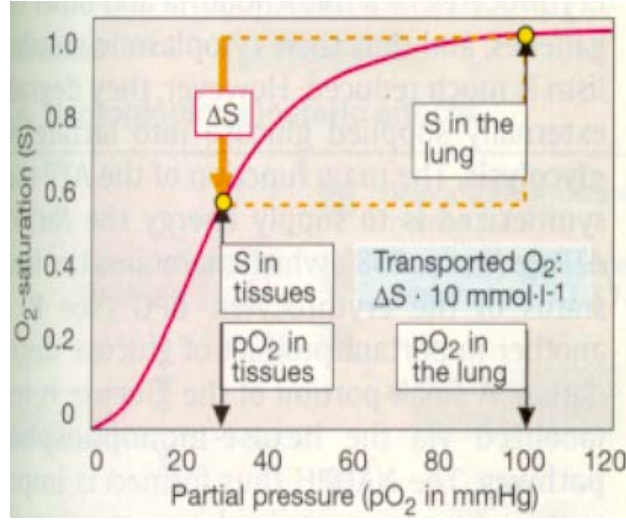


Oksijen, hemoglobinin R formuna 100 kez daha kolay bağlanır; ilk oksijen bağlanmasıyla oluşan konfigürasyon değişikliği, diğer oksijenlerin daha rahat bağlanmasını sağlar. Oksijenin demire bağlanması sırasında demir Fe^{2+} şeklinden Fe^{3+} şekline oksitlenmediğinden, oksijenin hemoglobine bağlanması bir oksidasyon değildir. Bu nedenle hemoglobin molekülüne akciğerlerde O₂ moleküllerinin bağlanması olayı, **hemoglobinin oksijenasyonu** olarak tanımlanır. Bir hemoglobin molekülü, oksijenasyon olayı sonucunda 4 O₂ molekülü bağlayabilmektedir.

Hemoglobinin oksijene affinitesi, oksijenin kısmi basıncına bağlıdır. pO₂ 100 mmHg ve daha fazla olduğunda hemoglobinin oksijene tamamen doyduğu veya hemoglobinin oksijenle % satürasyonunun %100 olduğu ifade edilir ki oksijenle % satürasyonu %100 olan hemoglobinin 1 gramına 1,34 mL O₂ bağlanmıştır. *Hemoglobinin oksijenle % satürasyonunun hayatla bağdaşabilen minimum değeri, 20 mmHg'lık pO₂'de %30 kadardır.*

Erişkin sağlıklı bir insan kanında hemoglobin konsantrasyonu yaklaşık %14,5 gram kadar olduğu kabul edilirse, bu durumda 100 mL kanda hemoglobin ile taşınabilecek oksijen miktarı, 1,34 x 14,5 = 19,43 mL olarak hesaplanır. Buna fiziksel olarak çözünmüş olan 0,393 mL oksijen eklenince, hemoglobin düzeyi %14,5 gram olan bir sağlıklı erişkin insanın kanının 100 mL'sinde yaklaşık 20 mL oksijen taşınabildiği, bir başka deyişle hemoglobin düzeyi %14,5 gram olan bir sağlıklı erişkin insanın kanının O₂ taşıma kapasitesinin yaklaşık 20 mL O₂ / dL (200 mL O₂ / L) kan olduğu hesaplanır.

pO₂ değişimine karşı hemoglobinin oksijenle % satürasyonunu gösteren grafiklere **hemoglobinin satürasyon eğrisi** veya **oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisi** denir. Oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisi, 7,4 pH, 37°C ve 35-40 mmHg pCO₂' ında sigmoid şeklindedir:

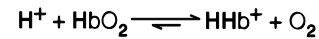
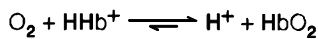
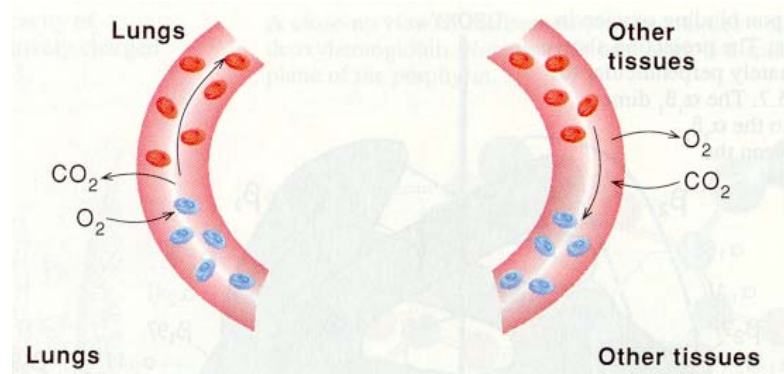


Arteriyel kandaki 95-100 mmHg'lık pO₂'nda hemoglobinin oksijen ile % satürasyonunun %96-98 olduğu saptanmıştır. pO₂ azalacak olursa, pO₂ yaklaşık 50 mmHg'ya düşünceye kadar hemoglobinin oksijenle % satürasyonu çok yavaş azalır. pO₂' nın 50 mmHg'nın altında olduğu durumlarda, pO₂' nın azalması karşısında hemoglobinin oksijenle % satürasyonunda hızlı bir düşüş saptanır ve bu, **hemoglobinin yükünü atma (boşaltma) gerilimi** diye tanımlanır.

Hemoglobinin oksijen ile yarı yarıya doymuş olduğu kısmi oksijen basıncı, P₅₀ olarak gösterilir. İnsan hemoglobinleri için P₅₀, 7,4 pH, 37°C ve 35-40 mmHg pCO₂' ında, HbA için 27 mmHg ve HbF için 20 mmHg bulunmuştur. HbA ile HbF arasındaki P₅₀ farkı, plasentanın HbA'dan oksijen çekmesini sağlar.

Akciğerlerde pO₂ 80 mmHg'ya kadar düşse bile hemoglobinin oksijenasyonunda herhangi bir önemli azalma olmadığı halde dokularda pO₂'in 40 mmHg'ya düştüğü durumlarda oksihemoglobinin dissosiasyonu ile dokulara oksijen bırakılır ki kanın dokular içinden bir kez geçişinde kandaki oksijen miktarı 20 ml/dL'den 15 mL/dL'ye düşer; 100 mL kan ile, akciğerlerden dokulara 5 mL oksijen taşınır.

Akciğerlerde oksijenasyon olayı sonucunda hemoglobine bağlanan oksijen, diğer dokularda **deoksijenasyon** olayı sonucunda hemoglobinden ayrılır:

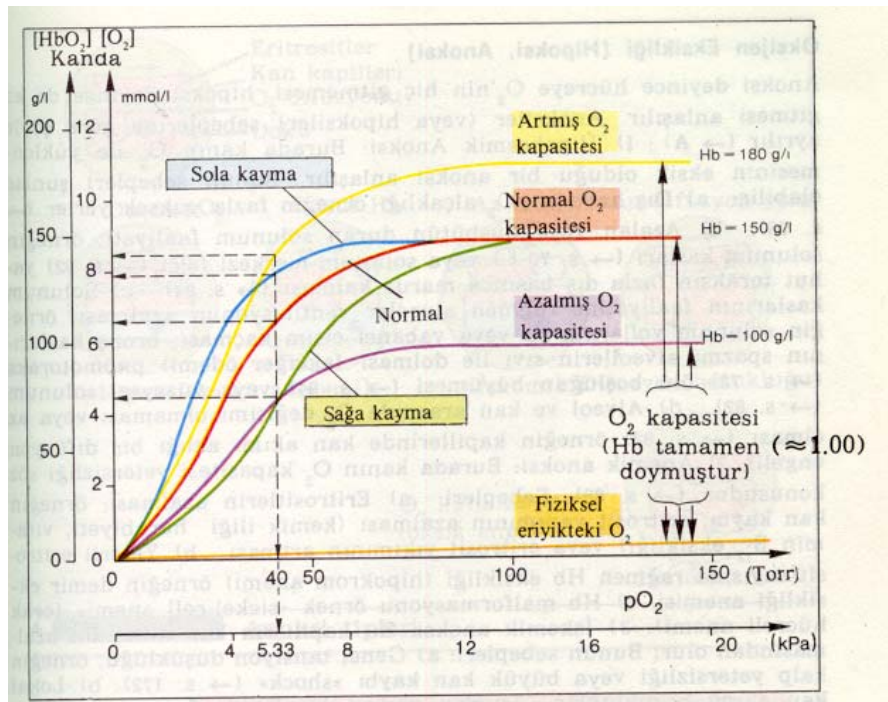


Dokularda pO_2 40 mmHg kadar olduğundan, akciğerlerden gelen kanda oksijenle saturasyonu %75 olan hemoglobin, oksijeni dokulara bırakabilir. Deoksijenasyon sırasında hemoglobin molekülü 1 veya 2 oksijen molekülünü bırakınca, Fe yeniden halka düzleminin üstüne kayar; tuz köprüleri yeniden oluşur. Hemoglobinin böyle oksijenizis formu, T (Taut form, gergin form) olarak tanımlanır.

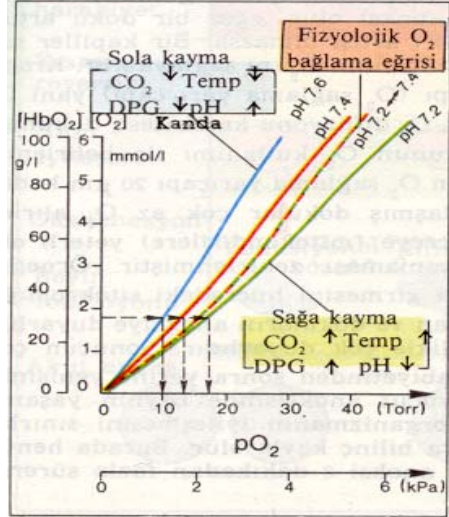
Akciğerlere gelen venöz kanda pO_2 yaklaşık 40 mmHg ve oksijenle saturasyonu %66 alveollerde pO_2 ise 104 mmHg kadar olduğundan, hemoglobin akciğerlerde yeniden oksijenlenir.

Oksijenize hemoglobin (oksihemoglobin) parlak kırmızı, deoksijenize hemoglobin (deoksihemoglobin) koyu kırmızı olduğundan kanın oksijenlenmesinde bir azalma ve bunun sonucu olarak deoksijenize olmuş hemoglobinde artış, deri ve mukozalara karakteristik mavimtrak bir renk verir ki bu durum **siyanoz** olarak tanımlanır. Siyanoz, kapiller kan hemoglobininin %5 g'ın üzerinde olduğu durumlarda görülebilir. Kapiller kan hemoglobininin %5 g'ın altında olduğu ağır anemilerde, deoksijenize hemoglobin artmış olsa bile siyanoz görülmeyebilir.

Oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisi, hemoglobinin oksijenasyonu ve deoksijenasyonu ile ilgili özellikler hakkında bilgi verir. Örneğin oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisinin sağa kayması hemoglobinin akciğerlerde daha az oksijenleneceğini dokularda kolayca deoksijenize olabileceğini sola kayması ise hemoglobinin akciğerlerde daha çok oksijenleneceğini dokularda kolayca deoksijenize olamayacağını ifade eder.



Oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisi, ısı veya sıcaklık, elektrolitler, pH veya pCO_2 , 2,3-bisfosfoglisarat (2,3-DPG; DPG; 2,3-BPG), HbF gibi bazı faktörlerden etkilenir. Bu faktörler ve oksijenin parsiyel basıncı, **hemoglobinin oksijenle bağlanmasını etkileyen faktörler** olarak da incelenirler:



1) Isı veya sıcaklık

Isı veya sıcaklık artışı, oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisini sağa kaydırır; hemoglobinin oksijen ile % satürasyonunu azaltır. 100 mmHg'lık pO_2 'de hemoglobinin oksijenle % satürasyonu $25^\circ C$ 'de %98 olduğu halde $38^\circ C$ 'de %93 kadardır. Oksihemoglobin oksijenini dokulara $38^\circ C$ 'de daha kolay verir. Normal sıcaklığın altında bağlanma daha sıkı olur; sıcaklık artışında bağlar zayıflar ve oksijen ayrılışı artar. Bu, fizyolojik olarak yararlı bir mekanizmadır; ateşli hastalıklarda metabolizma hızı da artar ve ısı artışıyla oksijen salınmasının artışı bunun için gerekli oksijeni sağlar. Egzersizde de kasların ısısı artar; gene metabolizma hızlandığı için oksijen ihtiyacı artar.

2) Elektrolitler

Klorür gibi anyonlar, hemoglobinin oksijen ile % satürasyonunu azaltır; oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisini sağa kaydırır. Oksihemoglobin oksijenini klorür gibi anyonların bulunduğu ortamda daha kolay verir.

3) pH veya pCO_2

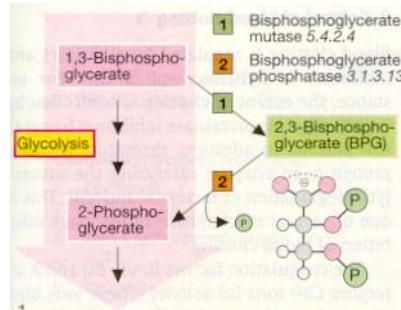
pCO_2 , hücrede 46 mmHg, interstisyel aralıkta ve venöz kanda 45 mmHg, arter kanında 40 mmHg kadardır. Normal şartlarda dokudan akciğerlere CO_2 , kan içinde 0,3 mL CO_2 /100 mL kan olarak taşınır. Egzersiz sonrası dokularda oluşan CO_2 artar ve bu, venöz CO_2 konsantrasyonunu ve asiditeyi artırır.

Karbondioksit artışı, oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisini sağa kaydırır ki bu etki, **Bohr etkisi** olarak tanımlanır. Bohr etkisi veya oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisinde sağa kayma şu durumlarda gözlenir: 1) Karbondioksit kısmi basıncında artış. 2) H^+ iyonları konsantrasyonunda artış veya pH'da düşme (asidoz). 3) Isıda artış ki ATP artışıyla birlikte olabilir. 4) 2,3-bisfosfoglisarat (2,3-BPG; 2,3-DPG) artışı. 5) Pirüvat kinaz eksikliği, hipoksi veya yüksek irtifa ki laktat artışıyla birlikte. 10 m irtifada pO_2 95 mmHg ve hemoglobinin oksijenle satürasyonu %100 olduğu halde 4500 m irtifada pO_2 45 mmHg ve hemoglobinin oksijenle satürasyonu %82'dir. *Oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisinde sağa kayma, P_{50} 'de yükselmeye ve hemoglobinin oksijene olan ilgisinin azalmasına neden olur; dokulara oksijen bırakılması artar; herhangi bir pO_2 'de hemoglobinin oksijen ile doygunluğu azalır. Oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisinde sağa kayma, dokular tarafından alınan oksijen miktarını artırır.*

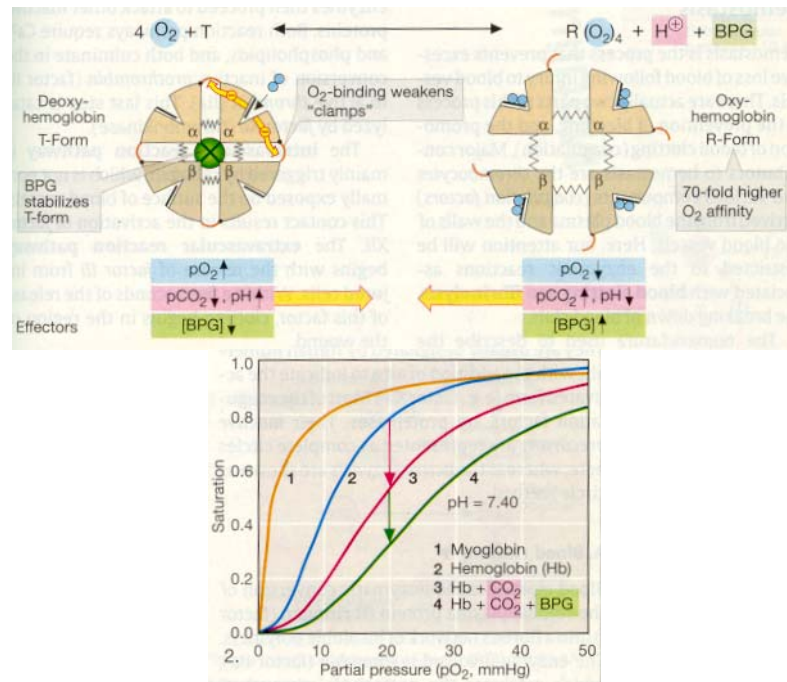
Karbondioksit azalması, oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisini sola kaydırır ki bu etki, **Haldene etkisi** olarak tanımlanır. Haldene etkisi veya oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisinde sola kayma şu durumlarda gözlenir: 1) Karbondioksit kısmi basıncında azalma. 2) H^+ iyonları konsantrasyonunda azalma veya pH'da artma (alkaloz). 3) Isıda azalma. 4) 2,3-bisfosfogliserat (2,3-BPG; 2,3-DPG; DPG) düzeyinde düşme. 5) HbF düzeyinde artma. *Oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisinde sola kayma, P_{50} 'de düşmeye ve hemoglobinin oksijene olan ilgisinin artmasına neden olur; dokulara oksijen bırakılması azalır; herhangi bir pO_2 'de hemoglobinin oksijen ile doygunluğu artar. Oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisinde sola kayma, dokular tarafından alınan oksijen miktarını azaltır.*

4) 2,3-Bisfosfogliserat (DPG; 2,3-BPG)

2,3-BPG, glukozun glikoliz yolunda yıkılımı sırasında, 3-fosfogliseratın *fosfogliserat mutaz* etkisiyle 2-fosfogliserata dönüşümü sırasında oluşmaktadır ve fosfogliserat mutazın kofaktörü olarak görev görür:



2,3-BPG, eritrosit içi pH'da -5 yüklüdür; deoksihemoglobindeki $+8$ yüklü 8 amino aside bağlanır ki 1 deoksihemoglobin 1 mol 2,3-BPG bağlar. 2,3-BPG, hemoglobinin allosterik inhibitörüdür; hemoglobinin oksijene affinitesini azaltır; oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisini sağa kaydırır:



2,3-BPG, hipoksiye adaptasyonda hassas kontrolü yapar; astım hastalığı, yüksek irtifaya çıkmak gibi hipoksik koşullarda miktarı artar ve böylece düşük oksijen basınçlarında dokuların oksijenlenmesi sağlanır. Hipoksik koşullarda 2,3 BPG düzeyinin hızla değişmesinde rol oynayan çeşitli faktörler vardır: a) Deoksihemoglobine 2,3 BPG bağlanmasıyla 2,3 BPG düzeyi düşer ve 2,3 BPG sentezi artar. Hemoglobinin oksijen doygunluğunda azalma da 2,3 BPG'nin hemoglobine bağlanmasına ve dolayısıyla 2,3 BPG düzeyinin düşmesine sentezinin artmasına neden olur. 2,3 BPG, deoksihemoglobine bağlandığı halde oksihemoglobine bağlanmaz. b) Anaerobik glikoliz nedeniyle eritrosit içi pH'da düşme ile, deoksihemoglobin konsantrasyonu ve 2,3 BPG'nin hemoglobin ile bağlı miktarı artar; bu da 2,3 BPG sentezinin artışına neden olur.

2,3 BPG yetmezliğinde dokulara oksijen bırakılması azalır ve orta derecede eritrositoz olur; ancak klinik bulgu görülmez. Transfüzyon için alınıp saklanan kanlarda 2,3 BPG konsantrasyonu ve ATP zamanla azalır ve bu kanlarda hemoglobinin oksijene affinitesi artacağı için, dokulara oksijen bırakılması azalır. Sık sık kan transfüzyonu yapılan hastalarda, hemoglobin değeri normal olmasına karşın doku hipoksisi olabilir. Transfüzyon için alınan kan örneklerini sitrat-fosfat-dekstrozu üzerine almak suretiyle 2,3 BPG konsantrasyonu korunur; hatta ortama dihidroksiaseton fosfat (DHAP) eklenmesiyle 2,3 BPG'in ömrü daha da uzatılır.

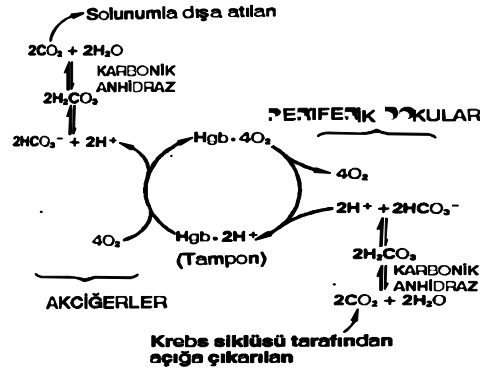
5) HbF

HbF, 2,3-BPG'yi daha gevşek olarak bağlar ve dolayısıyla 2,3-BPG HbF'in oksijene affinitesinin artmasına neden olur. **HbF artışı**, oksihemoglobinin dissosiasyon eğrisini sola kaydırır.

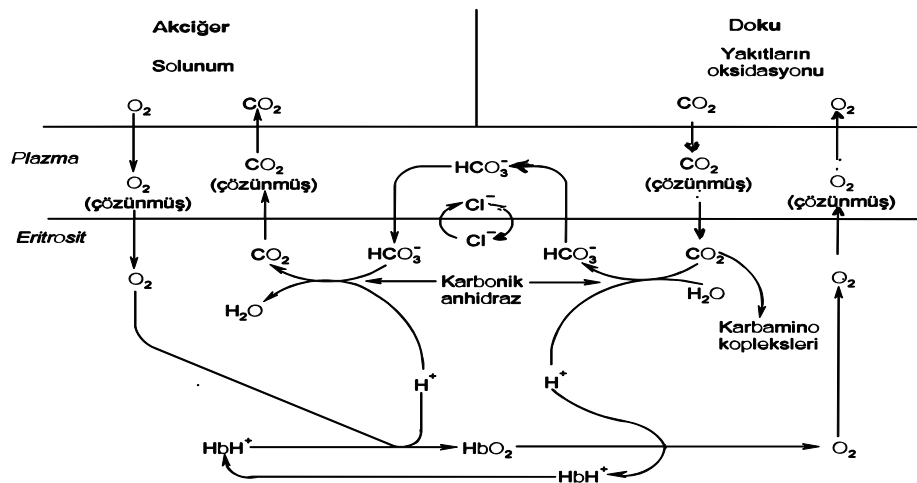
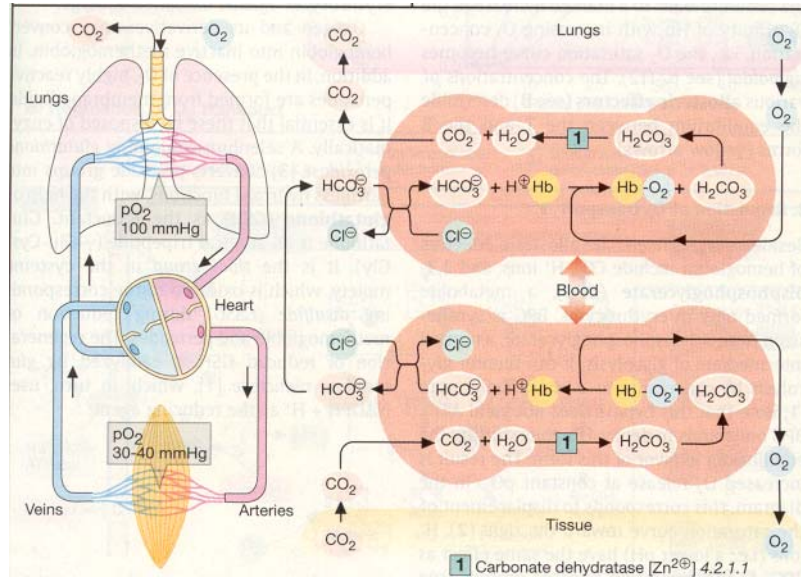
Karbaminohemoglobin

Karbaminohemoglobin, hemoglobindeki globinin serbest α -amino gruplarına reversibl olarak CO_2 bağlanmasıyla oluşan hemoglobin bileşiğidir. *Karbamino grubu, hemoglobinin oksijene olan ilgisini azaltır ki bu etki, pH düşüşünden bağımsızdır.* CO_2 , deoksijenize hemoglobine oksihemoglobinden daha çok bağlanır ve böylece dokulardan akciğerlere hemoglobin ile taşınabilir. pCO_2 , hücrede 46 mmHg, interstisyel aralıkta ve venöz kanda 45 mmHg, arter kanında 40 mmHg kadardır. Normal şartlarda dokudan akciğerlere CO_2 , kan içinde 0,3 mL CO_2 /100 mL kan olarak taşınır.

Kandaki CO_2 'in %15-20'si karbaminohemoglobin bileşimindedir; %5'i plazmada serbest veya H_2CO_3 halindedir; %75-80'i de HCO_3^- şeklindedir. *Egzersiz sonrası dokularda oluşan CO_2 artar ve bu, venöz CO_2 konsantrasyonunu ve asiditeyi artırır. Kandaki başlıca tampon hemoglobindir. Hemoglobinde yoğun olarak histidin bulunur ki histidinin imidazol grubu için pK_a 7,3'tür. Dokularda oksijen konsantrasyonu düşüktür; hemoglobin, oksijeni bırakır ve H^+ bağlar ki hemoglobin protonlandığında His146, Asp94 ile tuz köprüsü yapar ve T form stabilize olur. Protonlarda artış oksijen salınmasına neden olurken oksijende artış protonların salınmasına neden olur. Akciğerlerde hemoglobinin oksijenlenmesiyle, peptit zincirindeki bazı asit gruplarından proton salıverilişi olur. Tam kanda fizyolojik şartlarda deoksihemoglobine bağlanan her oksijen molekülü için 0,31 mol hidrojen salınır. Parçalanmış tuz iyonlarından kaynaklanan bu protonlara Bohr protonları denir ki bunların %40'ı β zincirindeki His146'dan, %25'i N-terminal amino gruplarından, %35'i diğer amino asitlerden kaynaklanır. Salınan H^+ , HCO_3^- ile birlikte H_2CO_3 oluşturur; H_2CO_3 de CO_2 ve H_2O oluşturur.*



Dokulardan kana geçen karbondioksit, karbonik anhidraz etkisiyle eritrositte HCO_3^- konsantrasyonunun artmasına neden olur. Eritrositte artan HCO_3^- plazmaya diffüze olurken elektrostatik yük dengesini sağlamak üzere klorür (Cl^-) de eritrositlere girer. Bu taşınmada bikarbonat-klorür taşıyıcı protein rol oynar ve olay, **klorür kayması** olarak bilinir. Bu olay nedeniyle venöz kandaki eritrositlerde klorür düzeyi, arteriyel kandaki eritrositlerdekinden yüksektir. Akciğerlerde, dokulardaki olayın tersi olur; bikarbonat eritrosite girerken klorür plazmaya geçer:



Alveol havasında normalde 40 mmHg olan kısmi karbondioksit basıncı ($p\text{CO}_2$), arter kanındaki kısmi karbondioksit basıncı ile ve bu da kandaki H_2CO_3 (veya CO_2) konsantrasyonu ile dengededir.

Kanda H_2CO_3 yani CO_2 konsantrasyonu artarsa alveol havasında $p\text{CO}_2$ da artar ve medulla oblongatada bulunan solunum merkezi uyarılarak hiperventilasyon ile $p\text{CO}_2$ düşürülmeye çalışılır. Solunum merkezi, alveol havasındaki $p\text{CO}_2$ ve $p\text{O}_2$ daki değişmelere ve kan pH'ındaki değişmelere duyarlıdır. Alveol havasında CO_2 artışı, solunum merkezinin en önemli uyarıcısıdır. Ancak alveol havasında normalde %5,5 hacim olan CO_2 , %9 hacimden fazla olursa merkezi sinir sistemi deprese olur ve karbondioksit narkozu gelişebilir.

Solunum hız ve derinliğinin ayarlanması, **vücut asit-baz dengesinin düzenlenmesini** sağlamaktadır. Yüksek dozda NaHCO_3 alınması halinde olduğu gibi kanda HCO_3^- konsantrasyonu örneğin 27 mEq/L'den 54 mEq/L'ye yükselirse, vücutta çok önemli bir tampon sistemi olan $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-$ tampon sistemine ait tampon eşitliği veya

Henderson-Hasselbalch denkleminde ($\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]}$) göre kan pH'ı alkali tarafa kayar; bu durumda solunum hız ve derinliği azalır, sonuçta alveol havasında $p\text{CO}_2$ 40 mmHg'dan 80 mmHg'ya kan H_2CO_3 konsantrasyonu ise 1,35 mEq/L'den 2,70 mEq/L'ye yükselir; böylece $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$ oranı değişmediğinden kan pH'ının değişmemesi sağlanmaya çalışılır.

Kanda H_2CO_3 konsantrasyonu artarsa veya HCO_3^- konsantrasyonu azalırsa, solunum hız ve derinliği artar ve böylece $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$ oranının ve dolayısıyla kan pH'ının değişmemesi sağlanmaya çalışılır.

Karboksihemoglobin (Hb·CO)

Karboksihemoglobin, oksihemoglobindeki O_2 yerine karbonmonoksit (CO) geçmesi suretiyle oluşan hemoglobin bileşiğidir.

Hemoglobinin CO'ye affinitesi O_2 'ye affinitesinden 210 misli fazladır; ortamda oksijen ve karbonmonoksit eşit miktarlarda bulunduğunda hemoglobine tercihi olarak CO bağlanır ve anemik hipoksiye neden olur. Ortamda bulunan CO, oksijen taşımada kullanılabilecek hemoglobin miktarını azaltır; bu durumda kan akciğerlerde oksijenlenemez ve dokulara oksijen taşınamaz.

Solunum havasında CO bulunması, CO konsantrasyonuna ve havanın solunma süresine bağlı olarak değişen çeşitli zehirlenme belirtilerinin görülmesine neden olur: 1) Solunum havasında %0,02 oranında CO bulunması, baş ağrısı ve bulantıya neden olur. 2) Solunum havasında %0,1 oranında CO bulunması, baş ağrısı, baş dönmesi, bulantı ve taşikardi ve kan düzeyinin %4-6'ya yükselmesiyle 1 saatte bilinç kaybına, kan düzeyinin %10'a yükselmesiyle 4 saatte ölüme neden olabilir. 3) Solunum havasında %0,4 oranında CO bulunması, baş ağrısı, baş dönmesi, bulantı, taşikardi, yorgunluk, dispne ve kan düzeyinin %20-30'a yükselmesiyle 1 saatten daha kısa sürede ölüme neden olabilir. 4) Solunum havasında %1 oranında CO bulunması, 7-10 dakikada ölüme neden olabilir.

Karboksihemoglobin, kana tipik parlak kırmızı renk verir. CO ile zehirlenmenin belirtileri, bilinç kaybı, turnak dipleri ve mukoz membranların kiraz kırmızısı renk almasıdır. CO ile zehirlenmenin tanısı için kan NaOH ile karıştırılır; normalde koyu kahverengi renk gözlemlendiği halde CO ile zehirlenme durumunda kiraz kırmızısı renk gözlenir.

CO ile zehirlenme durumlarında temiz hava, kandaki karboksihemoglobinin %5'ini 2-3 saatte uzaklaştırır; hiperbarik oksijen (%95 O₂ ve %5 CO₂ karışımı), kandaki karboksihemoglobinin %50'sini 15-30 dakikada tamamını ise 30-90 dakikada uzaklaştırır.

Methemoglobin

Methemoglobin, hemoglobindeki Fe²⁺ 'nin Fe³⁺ haline reversibl olarak oksitlenmesi sonucu oluşan kahverengi bir hemoglobin bileşigidir.

Methemoglobin, hemoglobine bazı oksidan etkenlerin etkisi sonucunda oluşur; hemoglobin, oksijen varlığında , yavaşça methemoglobine okside olur. Vücutta çok az ancak sabit miktarda methemoglobin oluşmaktadır; normalde kanda total hemoglobinin %0,5-1'i kadar methemoglobin bulunur. Methemoglobin, O₂ ve CO bağlayamaz; kandaki methemoglobin total hemoglobinin %10'undan fazla ise siyanoz görülür; %20'sinden fazla ise ayrıca yorgunluk, baş ağrısı, baş dönmesi, uyuklama, taşikardi gibi hipoksi bulguları ve polisitemi görülebilir.

Methemoglobin, glikoliz sırasında oluşan NADH ve spesifik bir enzim olan **methemoglobin redüktaz** tarafından indirgenir. İnsan eritrositlerinden izole edilen methemoglobin redüktazın az miktarda da olsa NADPH kullandığı da gösterilmiştir. Methemoglobin indirgenmezse, methemoglobinemi ve doku anoksisi olur. Methemoglobinemi, herediter ve edinsel olabilir.

Hereditär methemoglobinemide iki ayrı defekt olabilir: 1) Methemoglobin redüktazda defekt olabilir. Otozomal resesif kalıtlıdır. Normalde methemoglobin düzeyi total hemoglobinin % 0,5'i iken, enzim eksikliğinde methemoglobin düzeyi total hemoglobinin % 10-40'ı arasındadır. Tedavi amacıyla, methemoglobini indirgemek için askorbik asit ve metilen mavisi gibi indirgeyici ajanlar verilir. 2) Hemoglobin molekülünde defekt olabilir; methemoglobin redüktaz enziminin hemoglobine bağlanacağı bölgede değişim vardır. Otozomal dominant kalıtlıdır. Methemoglobinin indirgenmesi, askorbat ve metilen mavisi verilmesine dirençli hale gelir.

Edinsel methemoglobinemi, methemoglobin oluşumunu artırıcı fenasetin, anilin, nitrofenol, aminofenol, sulfanilamid, inorganik ve organik nitrat ve nitritler, klorat, ferrisiyanid, pirogallol, sulfonal, hidrojen peroksit gibi maddelerin alınmasına bağlı olarak ortaya çıkar.

Sulfhemoglobin

Sulfhemoglobin, oksihemoglobin ile H₂S'ün reaksiyonlaşması sonucu oluşan yeşil-sarı renkli bir hemoglobin bileşigidir. Sulfhemoglobinde kükürt atomu, hemoglobindeki demire değil porfirin halkasına kovalent bağlanmıştır. Sülfürlenmiş porfirin halkasına O₂ bağlanamaz; hemoglobinin O₂'e affinitesi azalır. Sulfhemoglobin, aşırı kabızlık durumlarında bağırsak bakterilerinin proteinlere etkisi ile oluşan H₂S'ün kana geçmesi sonucu oluşur; bazı aromatik aminlerin alınışı, kataliz yoluyla sulfhemoglobin oluşumunu artırır. Methemoglobin oluşturan fenasetin, asetanilid, sulfonilamid, lepra tedavisinde kullanılan dapson gibi ilaçlar ve hava kirliliği de sulfhemoglobin oluşumuna neden olabilir.

Ölümden sonra proteinlerin kokuşması sonucu olarak dokularda H₂S oluşur ki kadavraların kan toplanan yerlerinde görülen yeşil lekeler buralarda sulfhemoglobin oluşmasının sonucudur.

Azotmonoksit hemoglobin

Azotmonoksit hemoglobin, nitritli dumanların solunması durumlarında oluşan pembe renkli bir hemoglobin bileşimidir.

Siyanhemoglobin

Siyanhemoglobin, HCN solunması sonucu oluşan bir hemoglobin bileşimidir.

Siyanmethemoglobin

Siyanmethemoglobin, inorganik siyanür bileşiklerinin ağızdan alınması sonucu oluşan bir hemoglobin bileşimidir; sellüler enzimlere toksik etkilidir. Siyanür, amigdalin içeren gıdalarla veya Na-nitroprusid, süksinonitril, akrilonitril içeren ilaçlarla ve tütün dumanı ile alınabilir. Siyanür alınması durumunda önce normal hemoglobin methemoglobine dönüşür, sonra siyanürün demirin 6.pozisyonundaki OH ile yer değiştirmesi sonucu siyanmethemoglobin oluşur. Siyanmethemoglobin, hücrelerde normal vücut olayları sırasında elimine edilebilir; karaciğer ve böbrek hücrelerinde mitokondride bulunan rhodanaz (tiyosülfat-siyanid sülfür transferaz) enzimi etkisiyle methemoglobin ve toksik olmayan tiyosiyana (SCN^-) dönüşür.

Hemoglobin tanımlanması ve miktar tayini

İdrar gibi bir biyolojik materyalde hemoglobin, benzidin deneyi ile tanımlanabilir; kanda hemoglobin miktarı, siyanmethemoglobin yöntemi ile tayin edilebilir.

Benzidin deneyi ile idrarda hemoglobin (kan) arama

Hemoglobinin H_2O_2 ile benzidin arasındaki oksidoredüksiyon reaksiyonunu katalizlemesi prensibine dayanır.

Bir deney tüpüne bazik benzidinin glasiyal asetik asitteki %1'lik taze çözeltisinden 2-3 mL ve aynı miktarda %3'lük H_2O_2 çözeltisinden konup karıştırılır. Tüpteki karışım üzerine damla damla idrar eklenip karıştırılır; yeşil veya mavi-yeşil renk oluşup oluşmadığına bakılarak sonuç rapor edilir: Tüpte yeşil veya mavi-yeşil renk oluşumu gözlenmezse idrarda hemoglobin (-)'dir. Tüpte yeşil veya mavi-yeşil renk oluşumu gözlenirse idrarda hemoglobin (+)'dir.

Açıklama: İdrarda hemoglobin varlığında; benzidin ile H_2O_2 arasında oksidoredüksiyon reaksiyonu hızlanır; H_2O_2 suya indirgenirken benzidin yükseltgenir. Ortamdaki yükseltgenmiş benzidin ile henüz yükseltgenmemiş benzidin karışımı, benzidin mavisi diye bilinen mavi-yeşil bir renk oluşturur.

İdrarda lökosit varlığında bunlardaki peroksidazın etkisiyle yalancı (+) sonuç elde edilir; ancak idrar kaynatılırsa, peroksidazın etkisi ortadan kaldırılabilir. Çok fazla miktarda kullanılan vitamin C ise hemoglobinin etkisini önler ve yalancı (-) sonuca neden olabilir. İdrarda az miktarda hemoglobin bulunması durumunda fazla damlatılan idrar benzidini çökeltir ve bu durumda yalancı (-) sonuç elde edilir.

Siyanmethemoglobin yöntemi ile hemoglobin miktar tayini

Siyanmethemoglobin yöntemi ile hemoglobin miktar tayini deneyinde önce hemoglobin, $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisi ile ferrihemoglobin şekline dönüştürülür; daha sonra ferrihemoglobin CN^- ile reaksiyonlaştırılarak stabil olan siyanmethemoglobine çevrilir. Oluşan siyanmethemoglobin kolorimetrik olarak ölçülür ve standart ile karşılaştırılarak hemoglobin miktarı bulunur.

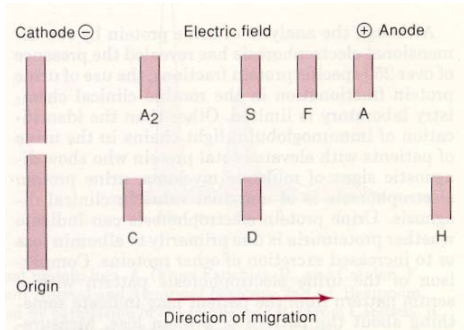
Hemoglobin elektroforezi

Hemoglobin elektroforezi, kanda bulunan çeşitli hemoglobin türlerini, moleküllerindeki total yüklerdeki farklılıklara göre ayırmak ve tanımak için yapılır.

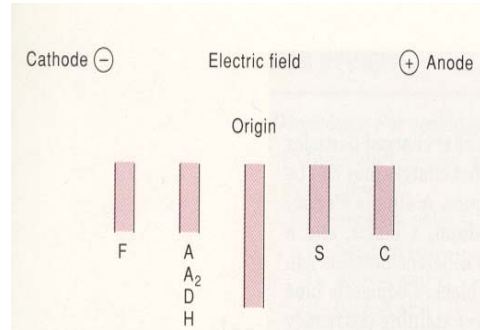
Normal erişkin hemoglobininin (HbA) izoelektrik noktası 6,8 dir. HbA, 6,8'den yüksek pH'da (bazik=alkali ortam) negatif yüklü anyon halindedir, 6,8'den düşük pH'da (asit ortam) ise pozitif yüklü katyon halindedir. Bazik (alkali) çözeltide, HbA'dan daha pozitif yüke sahip hemoglobinler daha yavaş, daha çok negatif yüke sahip hemoglobinler ise daha hızlı olarak, elektriksel alanda anoda doğru göç ederler.

Hemoglobin elektroforezi için, öncelikle hemoglobin, içinde bulunduğu eritrositlerden çıkarılır. Kan, antikoagulanlı tüpe alınır ve eritrositleri plazmadan ayırmak için santrifüj edilir. Üst fazı oluşturan plazma dökülür. Eritrositler, fizyolojik serum (%0,85'lik NaCl) ile bir kere yıkanır ve tekrar santrifüj edilir. Eritrositlerin üzerine distile su (1/9 hücre/distile su) eklenir ve karıştırılarak hemoliz sağlanır. Tekrar santrifüj edilerek eritrosit parçaları ayrılır; üst fazı oluşturan hemolizat, hemoglobin elektroforezi için kullanılır.

Hemoglobin elektroforezindeki protokol da serum proteinlerinin elektroforezindeki gibidir. Hemoglobinleri ayırtetmek için, alkali ortamda elektroforez, kullanılan temel yöntemdir. Hemoglobinler, pH 8,6'da, selüloz asetat veya agaroz jel üzerinde yürütülür. Daha sonra boyama için, S Ponceau veya amido black boyası kullanılabilir. *pH 8,6'da elektroforez, 3 aylıktan büyük herkeste HbS gibi anormal hemoglobinlerin taranmasında genellikle yapılan ilk işlemdir, ancak her anormal hemoglobini ortaya çıkaramayabilir.* Bu nedenle 3 aylıktan küçük çocuklarda HbF'i HbS ve HbA'dan kesinlikle ayırdığı için, pH 6,2' de sitrat agar üzerinde ikinci bir elektroforez tavsiye edilir:



pH 8,6'da hemoglobin elektroforezi



pH 6,2'de hemoglobin elektroforezi

*Orak hücreli aneminin (Hb S hastalığı) tanısı amacıyla Hb S'in varlığının gösterilmesi için, **oraklaşma (sickling) testi** de yapılabilir.*

Oraklaşma testi

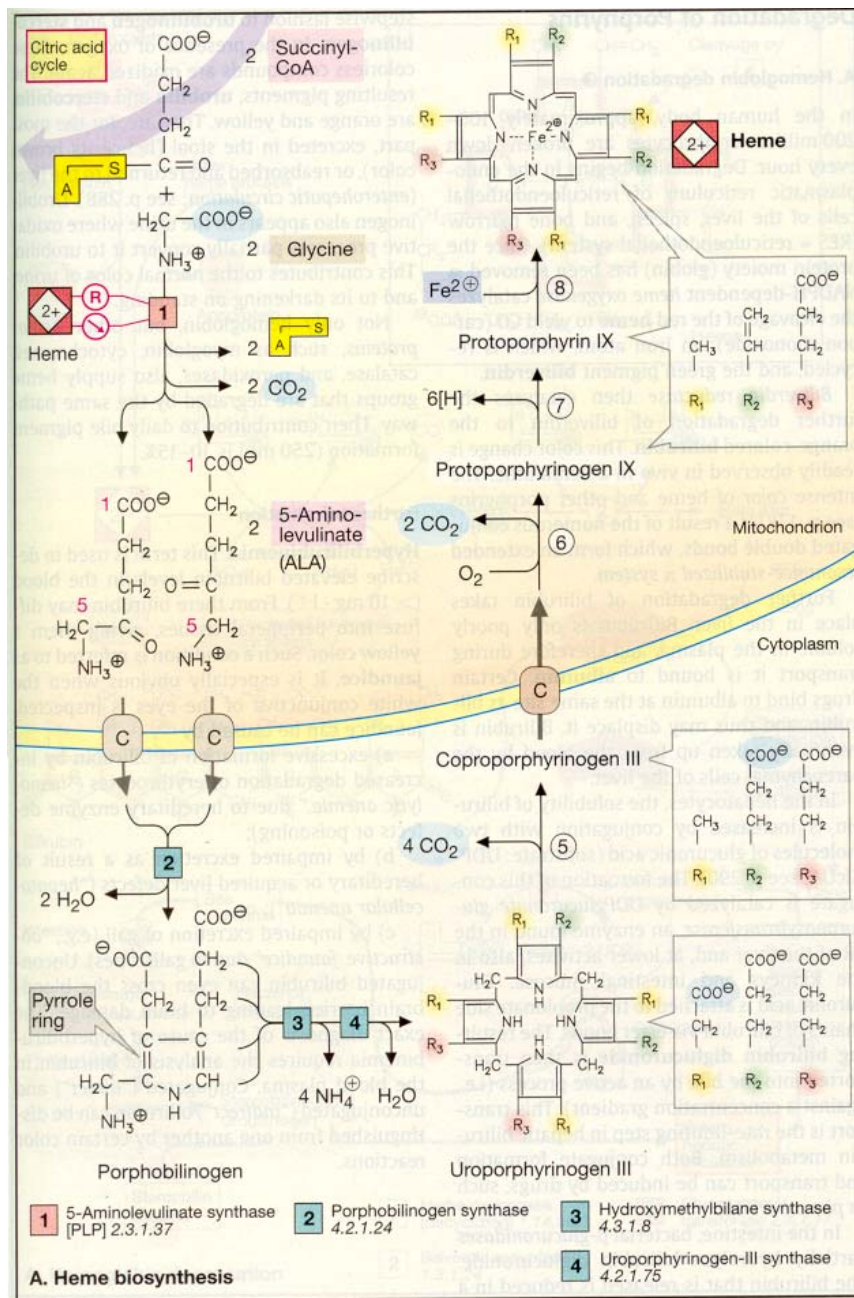
Bir lam üzerinde 1-2 damla %2'lik sodyum metabisülfid ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) ile 1 damla venöz veya kapiller kan karıştırılır. Lamın üzerine lamel kapatılır ve bastırılır. Lamelin çevresi parafin ile kapatılarak oksijen konsantrasyonu düşük bir ortam sağlanır. Ayrıca sağlıklı olduğu bilinen bir kişi kanıyla aynı şekilde bir kontrol preparatı hazırlanır.

Kontrol preparatı ve hasta preparatı, 15., 30.dakikalarda ve negatif sonuç halinde 24 saat sonra mikroskop altında incelenir. Pozitif sonuç, hasta preparatında eritrositlerde oraklaşmanın gözlenmesidir. *Metabisülfid, ortamda bulunan oksijeni redükleyerek oksijen konsantrasyonunun düşmesini hızlandırmakta, düşük oksijen konsantrasyonu ise eritrositlerin orak şekline dönüşmesine neden olmaktadır.*

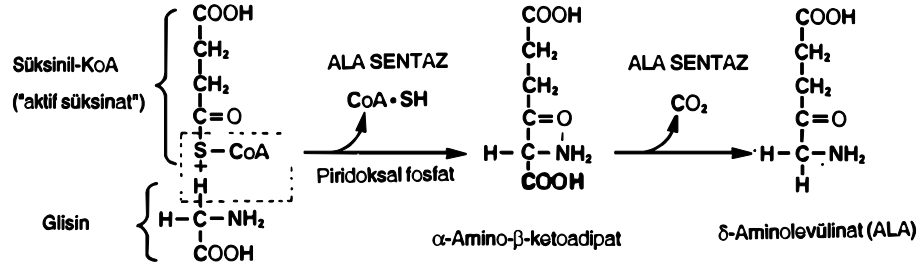
Porfirin ve hemoglobin biyosentezi

Hemoglobinin hem kısmının yapısını oluşturan porfirinler, amino asitlerden derivate moleküllerdir. Porfirin biyosentezi için temel prekürsör, glisin amino asididir. İzotop çalışmalarıyla, porfirin halka sistemindeki metenil grupları karbonu, pirol halkalarındaki azot atomu ve bu azota komşu karbon atomlarından birinin glisinden sağlandığı gösterilmiştir.

Porfirin biyosentezi tüm hücrelerde olmakla birlikte en fazla eritrosit prekürsörü hücrelerde; organ olarak en fazla kemik iliğinde ve karaciğerde gerçekleşir. Porfirin biyosentezi kemik iliğinde hemoglobin sentezi amaçlı iken karaciğerde sitokromların sentezi için gereklidir. Porfirin biyosentezinde iki ana yol, porfirin halkası oluşumu ve yan zincirde modifikasyondur. Hem sentezinde ilk reaksiyon ve son üç reaksiyon mitokondride, diğerleri sitoplazmada gerçekleşir:

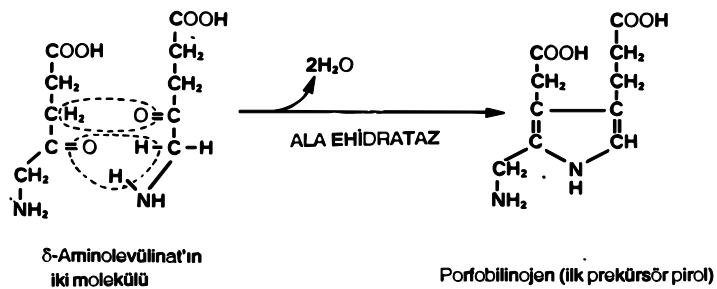


Porfirin biyosentezi için ilk reaksiyon, mitokondride glisin ile süksinil-KoA'nın, α -amino- β -ketoadipat üzerinden δ -aminolevülinat (ALA) oluşturmak üzere reaksiyonlaşmasıdır. *Hemin organik bölümü, sekiz adet glisin ve süksinil-CoA'dan oluşur.* Bu ilk basamakta piridoksal fosfat (PLP, B_6PO_4), glisin ile Schiff bazı oluşturur. Glisinin α karbonunda oluşan karbanyon yapısı, nükleofilik atak oluşumuna zemin hazırlar ve elektronsever molekül olan süksinil-CoA ile birleşim sağlanır; δ -aminolevülinat (ALA) oluşur. Bu reaksiyonu katalizleyen enzim, **ALA sentaz**dır:



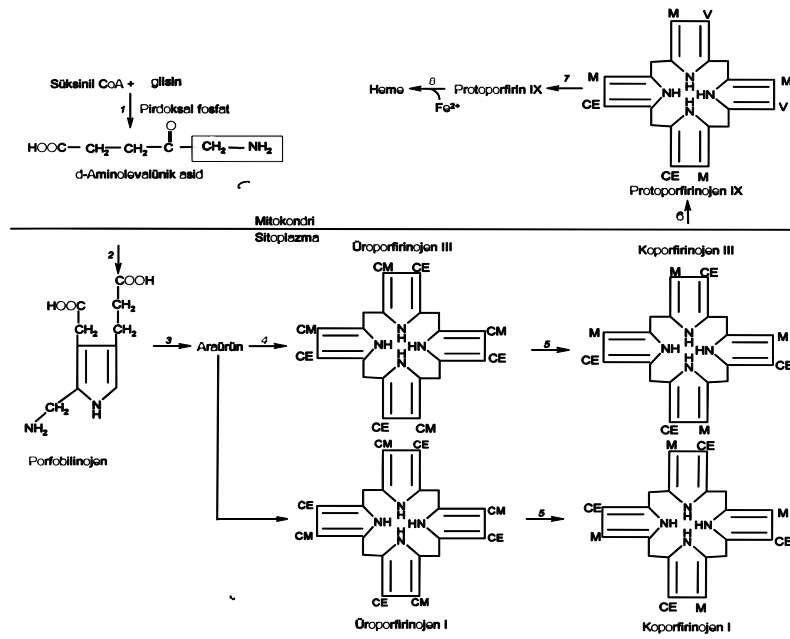
ALA sentaz, porfirin biyosentezinde hız belirleyici enzimdir. Bu enzimin sentezi de mitokondriyal DNA ile değil nükleustan gelen mRNA ile düzenlenmektedir. Enzim, dimer yapıdadır; her biri 71 kDa'luk alt ünite ve bazik N-terminal sinyal dizi içerir. Sinyal dizi, enzimi mitokondriye yönlendirir; şaparon protein olarak tanımlanan ATP'ye bağımlı 70 kDa'luk bir sitozolik komponent, ALA sentazı katlanmayan durumda tutar ve böylece enzim mitokondriyal membrandan geçer. Mitokondride, metal bağımlı bir proteaz tarafından N-terminal sinyal dizi koparılır; her biri 65 kDa olan alt üniteler oluşur. Mitokondriyal matriks içinde her biri 60 kDa'luk alt ünite içeren bir protein, ATP bağımlı ikinci bir işlevle proteinin doğru bir şekilde katlanmasını katalizler ve aktif nativ konformasyonda ALA sentaz oluşur. ALA sentazın yarı ömrü çok azdır; yaklaşık 60 dakika kadardır.

Mitokondride oluşan δ -aminolevülinat (ALA), sitoplazmaya çıkar. Sitoplazmada, 2 molekül δ -aminolevülinat (ALA), porfobilinojen (PBG) oluşturmak üzere kondense olur; reaksiyonu **porfobilinojen sentaz (ALA dehidrataz)** katalizler:



ALA dehidrataz, Zn^{2+} gerektiren sitozolik bir enzimdir; sülfhidril grupları içerir; ağır metallerle inhibisyona çok hassastır. Kurşun ile zehirlenmelerde ALA miktarı artar.

Porfobilinojen (PBG) molekülü, propiyonat ve asetat takıları içerir. Dört molekül porfobilinojen, bir seri enzimatik reaksiyon sonunda protoporfirin IX (Protoporfirin III) oluşturur. Mitokondride oluşan protoporfirin IX'a (Protoporfirin III) mitokondri içinde ferro halinde demir (Fe^{2+}) katılmasıyla "hem" oluşur:



Hemoglobin sentez yolu: Herbir biyokimyasal basamakta yer alan enzimler rakamla belirtilmiştir. 1,Ala sentaz; 2,Ala dehidrataz; 3,üroporfirinojen I sentaz; 4,Üroporfirinojen III kosentaz; 5,Üroporfirinojen dekarboksilaz; 6,koproporfirinojen III oksidaz; 7,protoporfirinojen IX oksidaz; 8; ferroselataz.

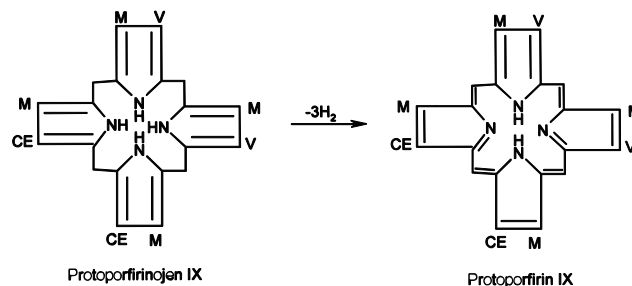
Üroporfirinojen I sentazın sülfhidril içeren grubu, PBG ile, deaminasyon sonucu tiyoeter bağı oluşturur; ardından 5 adet PBG birimi deamine olarak bağlanıp lineer hekzapirol+enzim kompleksi oluşur. Bu yapı hidrolitik olarak parçalanıp enzim pirometan kompleksi ve lineer tetrapirel (hidroksimetilbilan) oluşur. Enzim pirometan bileşiği, bir başka PBG ile yeni bir döngüye girer; pirometan kompleksi, enzime kovalent bağlı bir kofaktördür.

Üroporfirinojen I sentaz etkisiyle oluşan hidroksimetilbilan, iki farklı yolda değişime uğrar: 1) Enzim etkisi olmaksızın formülde bir kapanma ile Üroporfirinojen I (ÜRO I) oluşur. 2) **Üroporfirinojen III kosentaz** etkisiyle tip III izomer olan Üroporfirinojen III (ÜRO III) oluşur.

Üroporfirinojen III dekarboksilaz, yan zincirlere etki ederek ÜRO I ve ÜRO III izomerlerinin sırasıyla KOPRO I ve KOPRO III'e dönüşümlerini sağlar. Enzim, demir tuzlarıyla inhibe olur. Enzim ile ilgili tek gende anormallik, enzim aktivitesinde %50 düşme yapar; deri belirtileri ve ışığa hassasiyet ile karakterize **porfiriya kutanea tarda** denen klinik durum ortaya çıkar.

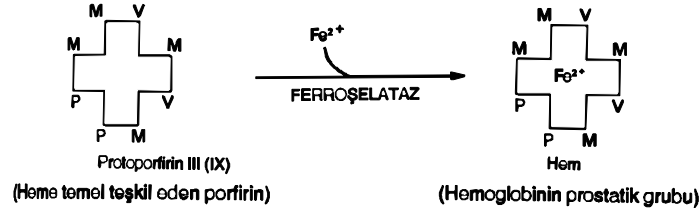
Koproporfirinojen oksidaz, mitokondriyal bir enzimdir; tip III izomerlere etki ederek koproporfirinojen III'den protoporfirinojen IX oluşturur. Enzim eksikliğinde, **herediter hepatik porfiriya** ya da **herediter koproporfiriya** denen klinik durum ortaya çıkar.

Protoporfirinojen oksidaz etkisiyle, protoporfirinojen IX'dan protoporfirin IX oluşur:



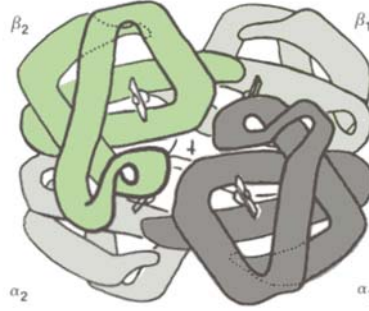
Protoporfirin IX'un suda çözünürlüğü, diğer hem prekürsörlerine göre çok azdır. Protoporfirinojen oksidaz enzimi eksikliğinde, **porfiriya variegata hastalığı** oluşur.

Ferroşelataz, aktivite için redükleyici ajanlara gereksinim gösterir; protoporfirin IX içerisine demir yerleşimini katalizler ve hem molekülü oluştur:



Demir eksikliğinde çinko protoporfirin oluşur ki bu, parlak flüoresans vermesiyle ayırt edilir.

Mitokondride oluşan hem, mitokondri dışında, ribozomlarda sentez edilmiş olan globin ile birleşerek hemoglobin oluşturur:



70 kg'lık bir insanda günde 8 g hemoglobin sentezlenmekte ve yıkılmaktadır. Günlük porfirin sentezi 300 mg'dır ve sentez için ≈ 30 mg Fe^{2+} kullanılır.

Porfirin biyosentezi, hemoglobin gibi hem protein bileşiklerinin konsantrasyonu ile düzenlenir; hem protein bileşikleri, porfirin biyosentezinin ilk basamaklarına feedback inhibitör olarak etki ederler. **ALA sentaz** enzimi, porfirin biyosentezinde oran kontrol edici olarak rol oynar. Hem ve hemin, ALA sentaz ve ALA dehidratazı inhibe ederler. 100'den fazla ilacın ALA sentaz aktivitesini artırdığı da bilinmektedir.

Hemoglobin biyosentezinde pantotenik asit (vitamin B₅), piridoksal fosfat (vitamin B₆), vitamin B₁₂ ve folik asit vitaminleriyle demir ve bakır elementleri gerekir. Pantotenik asit, koenzim A'nın yapısına katıldığı için; piridoksal fosfat, dekarboksilasyonda koenzim olduğu için ALA sentaz enziminin katalizlediği δ -aminolevülinat (ALA) oluşumunda etkilidirler. Vitamin B₁₂ ve folik asit, nükleoproteinlerin yapısına giren pürin biyosentezinde rol alırlar ki vitamin B₁₂ ve folik asit eksikliğinde mitotik faaliyet azalır, kemik iliğinde az sayıda ve büyük eritrositler oluşur, pernisiyöz anemi ortaya çıkar. Demir, her hem molekülüne 1 adet Fe^{2+} olmak üzere bağlanarak hemoglobin oluşumuna katılmaktadır; demir eksikliğinde hipokrom anemi ortaya çıkar. Bakır, eritrositlerin olgunlaşmasında rol oynar ve bunların eritropoetik sistemden açığa çıkışlarını uyarır; bakır eksikliğinde kemik iliğinde olgunlaşmamış eritrositler artar.

İnsanlarda porfirin biyosentezinde görevli bazı enzimlerde genetik defekt olması, eritrositlerde, vücut sıvılarında, karaciğerde spesifik porfirin prekürsörlerinin birikmesine yol açar; **porfiriya**lar diye bilinen bazı genetik hastalıklar ortaya çıkar.

Porfiriyaalar

Porfiriyaalar, genetik olarak tanımlanmış, hem sentezinde görevli enzimlerin fonksiyon bozukluklarıdır. Kongenital eritropoetik porfiriya hariç tüm porfiriyaalar dominant kalıtılırlar. Fonksiyonel enzimi kodlayan tek gen vardır; porfiriyaalarda %50 normal enzim aktivitesi gözlenir; kısmi defekt, hem sentez defektine neden olmaz ve anemi oluşmaz. Ancak defektli enzim gerisindeki porfirinler ve prekürsörleri vücut dokularında ve vücut sıvılarında birikir. Biriken bileşiklerin toksik yapısına bağlı olarak her bir porfiriyaaya özgü semptom ve belirtiler ortaya çıkar. Kendiliğinden, alkol alınımı, kurşun gibi toksinler, östrojen ve oralkontraseptifler, ilaçlar etkisiyle başlayabilen **akut ataklarda** abdominal ağrı, konstipasyon, nöromusküler belirtiler ve psikotik bozukluklar 1-2 günden birkaç haftaya kadar sürebilir; ALA ve PBG ekskresyonunda artış dikkat çekicidir.

Porfiriyaalarda mide bağırsak yakınmalarından abdominal ağrı, en sık belirtidir; kabızlık, mide bulantısı ve kusma olabilir. Otonom sinir sistemi anormallikleri olarak taşikardi, hipertansiyon, terleme, idrar retansiyonu gözlenebilir. Periferik nöropati, ekstremitelerde ağrı, duyu azalma, kas zayıflığı, paralizi, görme kaybı, felç, koma, ADH'un uygunsuz salınımı belirtileri ile ortaya çıkabilir.

Porfiriyaalar, semptomlara göre nörolojik porfiriya ve kutanöz porfiriya olmak üzere iki ana grupta sınıflandırılabilirler.

Nörolojik porfiriyaalar

Nörolojik porfiriyaalar, santral sinir sistemi ve deri tutuluşunun birlikte gözlemlendiği porfiriyaalardır.

1) Akut intermittant porfiriya

Akut intermittant porfiriya, *porfobilinojen deaminaz* aktivitesinde bozukluğa bağlı olarak ortaya çıkar. Akut intermittant porfiriya, en sık rastlanan porfiriya tipidir. Akut intermittant porfiriyaada hem sentezi azalır; porfirinler oluşmadığı için fotosensitivite olmaz.

Laboratuvar bulgusu olarak idrarda ALA ve PBG artar. Nonenzimatik kondensasyon ile idrarda az miktarda ÜRO oluşur. Fekal porfirinler normaldir.

2) Porfiriya variegata

Porfiriya variegata, *protoporfirinojen oksidaz* aktivitesinde bozukluğa bağlı olarak ortaya çıkar. Porfiriya variegatada, PROTO ve KOPRO birikir; akut nörolojik atak ve fotosensitivite gözlenir.

Laboratuvar bulgusu olarak akut ataklarda idrarda ALA ve PBG artar.

3) Herediter koproporfiriya

Herediter koproporfiriya, *koproporfirinojen oksidaz* eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkar. Hastaların ancak 1/3'ünde fotosensitivite oluşur.

Laboratuvar bulgusu olarak feçeste PROTO ve KOPRO birikir.

Kutanöz porfiriyaalar

Kutanöz porfiriyaalar, porfirinlerin deride aşırı derecede birikmesiyle karakterizedirler. Deride biriken porfirinler, 400 nm'de ışık absorplarlar ve yüksek enerjili duruma geçerler. Yüksek enerjili porfirinlerden oksijene enerji transfer edilir ve uyarılmış oksijen ürünleri oluşur. Uyarılmış oksijen ürünleri de hücrel yapıları bozarlar.

Moleküler ve hücresel düzeydeki bu olayların sonucu olarak fotosensitivite ve deri lezyonları ortaya çıkar. Kutanoz porfiriyalarda ALA ve PBG aşırı yüksek değildir.

1) Kongenital eritropoetik porfiriya

Kongenital eritropoetik porfiriya, *ÜRO III kosentaz* aktivitesi düşüktür; tip III izomer yerine ÜRO I ve KOPRO I artışı olur. Kongenital eritropoetik porfiriya, otozomal resesif kalıtılır; erken çocukluk döneminde gözlenir. Kongenital eritropoetik porfiriya aşırı fotosensitivite olur; porfirin depolanmasına bağlı olarak dişler kahverengi olur; hemolitik anemi ve splenomegali saptanır; prognozu kötüdür.

Yoğun miktarda ÜRO ve KOPRO atımına bağlı olarak idrar pembe kırmızı olur. Fekal porfirinler artmıştır. Kan porfirinleri, normal değerin üzerine çıkar. Eritrositler, ÜRO ve KOPRO içerdiklerinden flüoresan mikroskop altında flüoresans verirler.

2) Protoporfiriya

Protoporfiriya, *ferroşelataz*da kısmi defekte bağlı olarak ortaya çıkar. Fotosensitivite, çocuklukta başlar; güneş ışığı altında yanıklar, kaşıntı, deride şişlik olur. Yüz ve el sırtı en fazla etkilenen bölgelerdir.

Laboratuvar bulgusu olarak yüksek miktarda PROTO ekskrete edilir; eritrosit serbest protoporfirinleri yüksektir; idrarda porfirin ve prekürsörleri normaldir.

3) Porfiriya kutanea tarda

Porfiriya kutanea tarda, *üroporfirinojen dekarboksilaz* aktivitesi düşüklüğüne bağlı olarak ortaya çıkar. Ağır karaciğer hastalığı, alkolizm ve bazı ilaçlar semptomları başlatır; en sık görülen edinsel porfiriya türüdür; genelde yetişkin döneme kadar görülmez. Deride mekanik hasar oluşur; fotosensitivite gözlenir. Laboratuvar bulgusu olarak idrarda ÜRO ve 7 COOH'li porfirinler artar.

Porfirin metabolizmasında sekonder bozukluklar

Pb zehirlenmesi

ALA dehidrataz ve ferroşelataz aktiviteleri düşer. Eritrosit Zn protoporfirini yükselir. İdrarda ALA artar; PBG normaldir. Tanı için tam kanda Pb ölçümü yapılmalıdır.

Hem prekürsörlerinin idrardaki normal değerleri şöyledir: PBG 0-2 mg/gün, δ-ALA 1,3-7,0 mg/gün, üroporfirin < 40 µg/gün, koproporfirin < 235 µg/gün, protoporfirin 60 µg/gün.

Fe eksikliği

Zn protoporfirini yüksektir. Eritrosit serbest protoporfirini ölçmek, demir eksikliği için iyi bir tarama testidir. Tanı ve tedavi için ayrıca demir eksikliğine neden olan durumlar araştırılır.