

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Fizyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof.Dr.Sinan ÖNEN

**DIAGNOSTİK ve TERAPİK DOZDA
PULSASYONLU ULTRASES IŞINLAMASININ
İNSAN ERİTROSİTLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
İN VİTRO KOŞULDA İNCELENMESİ**

(DOKTORA TEZİ)

MSc.Mehmet Ali KÖRPİNAR

İstanbul - 1989

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	6
. ULTRASES'in Fiziksel Özellikleri	6
. Dokuların Oksijenlenmesine Etkiyen Unsurlar	26
GEREÇ VE YÖNTEM	47
BULGULAR	56
İRDELEME VE SONUÇ	77
ÖZET	81
SUMMARY	82
KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	92
TEŞEKKÜR	93

GİRİŞ VE AMAÇ

Sesler kulağımızın duyabileceği frekans aralığına göre tanımlanır. Bu aralık 20 ile 20.000 Hertz arasındadır. 20 Hertzden küçük frekanslı ses dalgaları İNFRASES, 20.000 Hertzden büyük frekanslı ses dalgaları ULTRASES diye tanımlanmaktadır.

Varlığı, Röntgen ışınlarından oniki yıl önce ortaya konmuş olan ULTRASES'in etkileri ile ilgili çalışmaların tarihi 1920'lerde başlamış ve zamanımıza kadar devam etmiştir(17).

Doğada ULTRASES uygun bir enerjiye bağlı olarak üretilip, ekolu bir şekilde yarasa, yunus balığı tarafından da kullanılmaktadır. Biyolojik sistemler üzerinde WOOD ve LOOMS'ın araştırmaları bu konuda yapılmış ilk çalışmalarıdır(69,70).

ULTRASES, sahip olduğu fiziksel özellikler nedeni ile:

- MEDİKAL alanlarda,
- ENDÜSTRİ ve diğer alanlarda kullanılmaktadır.

Medikal alanda kullanımı da ikiye ayrılmaktadır.

1- Diagnostik (Tanısal) Olarak

ULTRASES'in Tıpta Diagnostik alanda kullanılmaya başlaması 1950'lerden itibaren olmuştur. Tanı amacıyla ULTRASES'i ilk kullanan kişi Avusturyalı araştırmacı Dr.Karl DUSSIK'dir. Karşılıklı yerleştirilmiş iki transducer yardımı ile beyin tümörlerinin yerleşimini araştırmıştır(53).

Yumuşak dokuları da görüntüleyebilmesi ve röntgen ışınlarından çok daha zararsız olması gibi özellikleri ile ULTRASES; tanı tekniği açısından, diğer tekniklere göre büyük avantajlara sahiptir. Ayrıca ionize edici etkisi de olmayan ULTRASES'le tanı sistemleri özellikle son 20 yıl içinde çok geliştirildi ve bilgisayarlarla donatılarak uygulamaya sokuldu(17,36).

Bu gelişim sırasında ortaya çıkan;

- . A-MODU: (Amplitüde Modu)
- . B-MODU: (Brightness, Parlaklık Modu)
- . T-M MODU: (Time-Motion, Hareket Modu)
- . GRİ-SKALA görüntülenmesi
- . Real-Time SCANNING (gerçek zaman taraması)
- . DOPPLER sinyal değişim tekniği

gibi tanı sistemleri sayesinde değişik organların görüntülenmesi ve kolaylıkla seçilmeleri mümkün olmaktadır(23).

2- Terapötik (Tedavi) Olarak

ULTRASES, 1929 yılından itibaren de ısı etkisinden yararlanılarak bir tür tedavi aracı olarak Tıp'ta kullanılmaya başlanmıştır(32). Zamanımızda da cerrahi uygulamalarda, Hipertermik etkisiyle de Onkolojide kanserli hücrelere karşı kullanılmaktadır(57). Ayrıca;

- Kavitasyon oluşturarak, dişçilikte oyuk aşmada, kemiklerin kaynamasını sağlamada,
- Fizik tedavide,
- Titreşim etkisiyle gözde katarakt dağıtılmasında, ürolojide; böbrek taşlarının parçalanmasında,
- Parkinson ve bazı deri hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır.

Endüstriyel alanda ise;

1- Havada yayılabilirliği nedeniyle, hırsıza karşı alarm, kemirici hayvanların uzaklaştırılmasında v.b.(58),

2- Suda yayılabilirliği nedeniyle;

- Kavitasyonsuz olarak derinlik ölçümlerinde ve sonar olarak,
- Kavitasyonlu olarak aletlerin sterilizasyonunda, sondaj ve derişik karışımların hazırlanmasında,
- Çeşitli sıvıların, zehirli gazlardan arıtılmasında.

3- Katılarda yayılabilirliği nedeniyle de;

- Sürtünme ısıyı sağlayarak metal ve plastik kaynaklarında,
- Mekaniksel zorlama sağlayarak çözünme testlerinde,
- Tahrip etmeden katısal ürünlerdeki çatlakların belirlenmesi ve kalite kontrol testlerinde rahatça ve başarılı şekilde kullanılmaktadır.

Bunca yaygın Endüstriyel ve Sağlık amaçlı kullanılmasına karşın ULTRASES'in Fizyolojik ve Biokimyasal etkileri gerektiği şekilde incelenip tatmin edici bir sonuca varılamamıştır(26).

Hâlâ ULTRASES'in zararlı etkileri olabileceği konusunda çeşitli tartışmalar vardır(16).

Her ne kadar gerek tanı, gerekse tedavi sistemlerinde zararsız dozajlar tayin edilmiş ve sınırlar belirlenmiş ise de MİLLİWATT düzeyindeki ışın şiddetlerine bile itirazlar sürmektedir(24,54).

Bu nedenle pulsasyonlu ULTRASES ışınlarının (in vitro koşulda), eritrositlerin en önemli görevlerinden biri sayılan dokuları oksijenleyebilme yeteneği üzerine etkilerinin araştırılmasının bilimsel açıdan yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Bilindiği gibi dokuların oksijenlenmesini gösteren en önemli Fizyolojik kavram Oksijen Dissasiyasyon Eğrisi (ODE) dir. ODE; oksijen parsiyel basıncı (PO_2) ile total Hem gruplarının oksijenle bağlanma oranı arasındaki ilişkiyi belirler(2,29).

ODE eğrisinin sigmoid durumu, dokulara oksijen taşınmasını ve bırakılmasını belirleyen en önemli göstergedir. Bu eğrinin fonksiyonel değişimini ise P_{50} değeri açıklar(25).

P_{50} değeri olarak; $37^{\circ}C$ sıcaklıkta, $pH = 7,4$ iken ve Parsiyel Karbondioksit basıncı $PCO_2 = 40$ mmHg da olduğu sırada, Hemoglobinin % 50 oksijenle doymuşluğunu sağlayan Parsiyel Oksijen Basınç (PO_2) değeridir şeklinde bir tanımlama yapılmaktadır(13).

Doku oksijenlenmesinde P_{50} değerinin önemi hakkında ve kişide olası anemik düzeyin belirlenmesi ile bu kişinin maksimal iş yükünün saptanması açısından P_{50} değerinin gereği hakkında çeşitli araştırmalar yapılmıştır(29).

Biz de bu araştırmamızda in vitro koşullarda pulsasyonlu ULTRASES ışınlarına tâbi tutulan insan eritrositlerinin

P_{50} değerinde olası değişiklikleri saptamayı ve P_{50} değeri üzerinde etkili olduğu bilinen;

- Eritrosit sayısı, yaşı ve cinsiyet
- pH ve temperatur
- PCO_2
- 2,3 DPG gibi parametreleri göz önünde tutarak ULTRA-SES'in ODE üzerindeki etkisini irdelemeyi amaçladık.



GENEL BİLGİLER

ULTRASES'İN FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ

Ses nedir, ULTRASES nasıl oluşturulur:

Bizim ses olarak kabul ettiğimiz kavram, aslında kulak zarına karşı havanın belirli frekanslarda meydana getirdiği basınçtır(34). Ortamdaki partiküller tarafından taşınan basınç değişiklikleri ortamda küresel dalgalar halinde yayılırlar. Bu yayılma:

$$y = A \cdot \sin 2 \pi \left(\frac{t}{T} - \frac{x}{\lambda} \right)$$

A: Genlik
y: Uzanım
T: Peryot
 λ : Dalga boyu
t: Zaman

denklemini ile ifade edilir(61).

Enine bir dalga özelliğinde olan Elektromagnetik dalgaların (ışık dalgaları da aynı özelliktedir) aksine, boyuna dalga özelliğindeki SES dalgalarının yayılabilmeleri için öncelikle yoğun bir ortam gerekmektedir. Çünkü bir kaynak tarafından oluşturulan basınç değişiklikleri boşlukta iletilemezler(49).

Sesin yayılabilirliği ortamların sıkışabilirliği (kompresibilitesi) ile ters orantılıdır. Bu yüzden ses hızı, çok büyük sıkışabilirliği olan gazlarda en yavaştır. Sıvılarda, gazlara nazaran bir yoğunluk artışı ve bununla orantılı olarak sıkışabilirlikte bir azalma söz konusudur. Bu yüzden sıvılarda ve kemik hariç bir çok dokuda yoğunlukların eşit olması nedeniyle sesin hızı yaklaşık olarak birbirinin aynısı olup, gazlara göre daha yüksektir. Ancak katılarda sıkışabilirlik çok az olduğundan sesin hızı daha da fazladır(69).

Ses hızı katı ve sıvılarda;

$$v = \sqrt{\frac{K}{\rho}}$$

K: Katılarda Young Modülü ve Sıvılarda Bulk modülüdür
ρ: Ortamın yoğunluğu

ve gazlarda;

$$v = \sqrt{\frac{C_p \cdot P}{C_v \cdot \rho}}$$

P : Gaz basıncı
ρ : Gazın yoğunluğu
C_p : Sabit basınçtaki,
C_v : Sabit hacimdeki özgül ısılar

şeklinde formüle edilir(42).

Ayrıca sesin hızı sıvılarda ve gazlarda sıcaklıkla artmaktadır. Genelde ise mekanik bir dalganın hızı;

$$v = \lambda \cdot f = \frac{\lambda}{T}$$

λ: Dalga boyu
f: Frekans
T: Peryot

halinde ifade edilmektedir.

Çizelge 1'de değişik ortamlardaki ses hızları görülmektedir.

ÇİZELGE 1
Değişik Ortamlarda Ses Hızı

<u>BİYOLOJİK OLMAYAN ORTAMDA(m/sn)</u>	<u>BİYOLOJİK ORTAMDA(m/sn)</u>		
Hava	331	Yağ	1450
Aseton	1174	Beyin	1541
Aliminyum	6420	Karaciğer	1549
Pirinç	4700	Böbrek	1561
Etanol	1207	Dalak	1566
Cam (Pyrex)	5640	Kan	1579
Civa	1450	Kas	1585
Naylon	2620	Göz merceği	1620
Polyetilen	1950	Kafatası kemiği	4080
Su (destile) 25°C	1498		
Su (destile) 50°C	1540		

ULTRASES dalgaları transduser denilen ve genellikle PİEZOELEKTRİK özelliklere sahip cisimlerin devamlı halde, seri olarak kasılma ve gevşemeleri ile oluşturulur.

Transduser terimi herhangi bir enerji formunu başka bir enerji formuna dönüştüren her araç için kullanılır. Akustikte transduser elektrik enerjisini, ses enerjisine çeviren ya da bunun tersini yapan araçlara denir.

ULTRASONİK transduser materyallerinde aşağıdaki özelliklerin bulunması gerekmektedir(9).

- 1- Titreşim modları için piezoelektrik karakteristiklere sahip olmalı,
- 2- Homojen bir yapıda olmalı,
- 3- Arzu edilen şekil ve büyüklükte çalıştırılmasına elverişli olmalı,

- 4- Sıcaklıkla, mekanik özelliklerinin değişimi çok küçük olmalı,
- 5- İç direnci mümkün olduğunca küçük olmalı,
- 6- Fiziksel ve kimyasal özelliklerini uzun süre korumalıdır.

Bu özellikleri taşıyan çeşitli tipte ULTRASES transduserleri vardır, şöyle ki;

- PİEZOELEKTRİK TRANSDUSER'ler (10 kHz ile 20 kHz arasında)
- MAGNETOSTRÜKTİF TRANSDUSER'ler (100 kHz de)
- MEKANİKSEL TRANSDUSER'ler (50 kHz sirenler için)
- ELEKTRO MAGNETİK TRANSDUSER'ler (50 kHz'de)
- ELEKTROSTATİK TRANSDUSER'ler (100 MHz üstünde)

Medikal alanda kullanılan transduserleri ise şöyle gruplandırabiliriz(71).

TRANSDUSER

- 2,25 MHz, 13 mm çaplı
- 3,5 MHz, 13 mm çaplı
- 2,25 MHz, 13 mm çaplı odaklanmış
- 2,25 MHz, 3,17 mm çaplı delikli
- 2,25 MHz, 19 mm çaplı uzun iç odaklı

KULLANILDIĞI YER

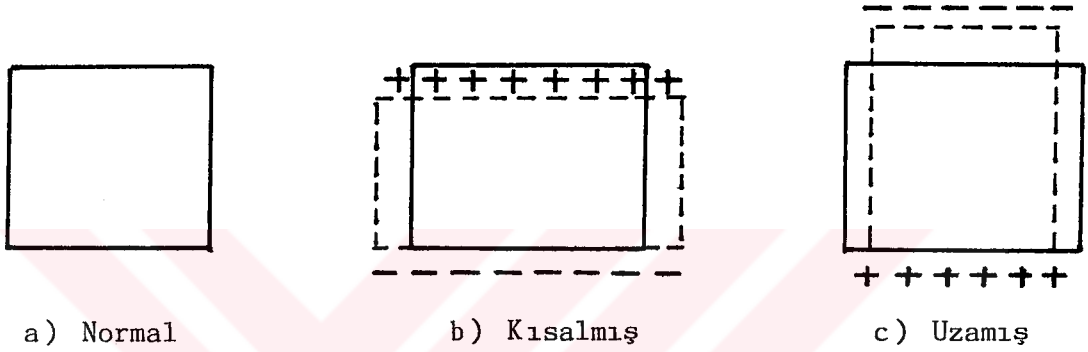
- Genel anlamda tarayıcı olarak
- Çocuk hastalıklarında
- Biopsi A-Modunda taramada
- Biopsi B-Modunda taramada
- Derin doku taramasında

Piezoelektrik

1880'de Pierre ve Jacques Curie kardeşler bir kristalin mekaniksel sıkıştırma ile yüzeyinde elektrik yüklerinin toplandığını keşfettiler(69). Kuartz, lityum sülfat, kadmium sülfat ve çinko oksit gibi kristaller de PİEZOELEKTRİK denilen bu özelliğe sahiptirler.

Piezoelektrik gerçekte basınçla elektriklenme anlamına gelir. Piezoelektrik özellikle bir kristal disk veya prizma

şeklinde ve simetrik kesilip, yüzeyleri ince iletken bir metal (altın, gümüş veya aliminyum) ile kaplanır. Eğer böyle bir kristalin alt ve üst yüzeylerine mekaniksel basınç uygulanırsa, bu yüzeylerde kutuplanmalar, tersi bir uygulama sonucunda ise devamlı değişen voltajın frekansına bağlı seri bir şekilde uzama ve kısaltmalar elde edilir. Bu mekaniksel uzayıp kısaltmalar (titreşimler) de bize ULTRASES'i verir (Şekil 1).



ŞEKİL 1

Piezoelektrik bir kristalin boyutlarının değişmesi ve yüzeylerinin elektriklenmesi

Ayrıca bu kristalleri, uygulanan voltaj frekansına rezonans olan değerlerin tam harmoniklerinde de çalıştırmak mümkün olmaktadır.

Doğal kristallerin yanında, yine piezoelektrik özelliklere sahip seramik kristallerde kullanılmaktadır. Baryum Titanat ve Kurşun Titanat karışımlarıyla, sentetik olarak yapılmış seramik kristali ilk olarak 1955 yılında Jaffe ve arkadaşları üretmişlerdir(69).

Akustik Empedans

ULTRASES dalgalarının değişik ortamlardan yansımalarını sağlayan ve ortamın yansıtıcı özelliğine AKUSTİK EMPEDANS denir. Ortamın yoğunluğu (d) ve bu ortamda yayılan ses dalgalarının hızı (v) ise akustik empedans;

$$Z = v.d \text{ 'dir.}$$

Ayrıca akustik empedans, ortamın MOMENTİ'dir şeklinde de tanımlayabiliriz(49) ve ışık dalgalarının sahip olduğu kırılma indisi kavramı ile de benzeşmektedir.

Çeşitli ortamların akustik empedansı Çizelge 2'de görülmektedir.

ÇİZELGE 2

Çeşitli Ortamların Akustik Empedansı

$$Z (\text{gr.cm}^{-2}.\text{sn}^{-1}).10^{-3}$$

<u>Biyolojik Olmayan Ortamda</u>		<u>Biyolojik Ortamda</u>	
N.Ş.da hava	0,0004	Yağ	1,38
Su	1,48	Göz sıvısı	1,51
Polietilen	1,84	Beyin	1,58
Plexiglass	3,20	Kan	1,61
Aliminyum	18,00	Böbrek	1,62
Civa	19,7	Doku (insan)	1,63
Pirinç	38,0	Dalak	1,64
		Karaciğer	1,65
		Kas	1,70
		Göz merceği	1,84
		Kafatası	7,80

Yansıma, Yayılma ve Kırılma

İki ortam arasındaki değme yüzeyinde sesin mükemmel yayılımı yalnızca ortamlar aynı akustik empedansa sahipse mümkündür(42). ULTRASES dalgası iki farklı akustik empedanslı ortam arasındaki değme düzlemine geldiğinde yansıyan sesin yüzdesi Z'ler farkının büyüklüğüne bağlıdır. Şöyle ki:

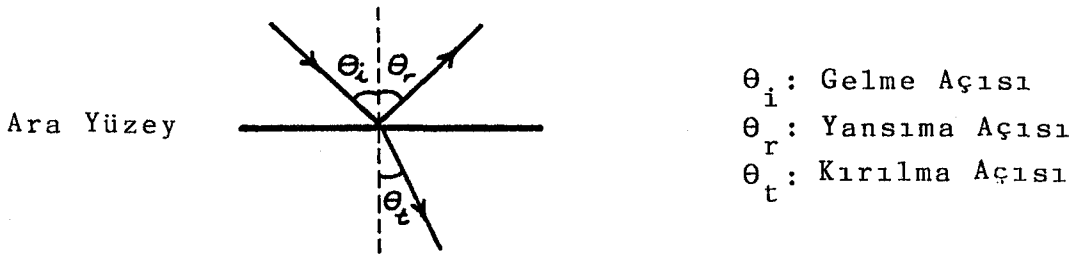
$$\% \text{ YANSIMA} = \left| \frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right|^2 \times 100$$

Z_1 : Birinci ortamın,

Z_2 : İkinci ortamın akustik empedansları.

Yukarıdaki % yansıma denklemi, yansıtıcının düz bir yüzey ve gelen dik açıda olduğu durumda geçerlidir. Eğer yüzey ile gelen ışın arasındaki açı belli bir değerden küçük ise yansıma TAM YANSIMA nedeniyle daha fazla olur.

Ayrıca yansıyan ışın, ışını yollayan üniteye doğrudan geri dönemez. Çünkü, optikte olduğu gibi YANSIMA ve KIRILMA ilkeleri burada da geçerlidir(42) (Şekil 2).



ŞEKİL 2

Gelen ışın, yansıyan ışın ve kırılan ışın

Burada da GELME AÇISI (θ_i) = YANSIMA AÇISI (θ_r) dir. Eğer gelme açısı, belli bir kritik açının üstünde ise TAM

YANSIMA oluşur. Bu tam yansımanın kritik açısı; ses kaynağının bulunduğu (v_i) ve ışının yayıldığı ortamlardaki (v_t) sesin hızlarına bağlıdır.

$$\sin \theta_c = \frac{v_i}{v_t} \quad \theta_c: \text{ Tam yansıma için kritik açı}$$

ÖRNEĞİN: Doku ile kemik arasındaki değme yüzeyinde oluşacak tam yansıma için kritik açı:

$$\sin \theta_c = \frac{\text{Dokuda } (v = 1540 \text{ m/sn})}{\text{Kemikte } (v = 4080 \text{ m/sn})} = 0.377$$

$$\sin \theta_c = 0.377$$

Kritik açı: $\theta_c \approx 22^\circ$ dir.

Bu yüzden probun (ucunda transduser bulunan düzenek) kemik yüzeyi ile 90° lik açı yapması sağlanarak sesin kemiğe tümüyle çarpması sonucu oluşan geri yansımalar ile tarama yapılmalıdır(42).

Ayrıca farklı iki ortam arasındaki bir sınırdan geçerken yayılan ultrases kırınımına uğrar. Kırınma miktarı ortamların akustik empedanslarına bağlı olacaktır.

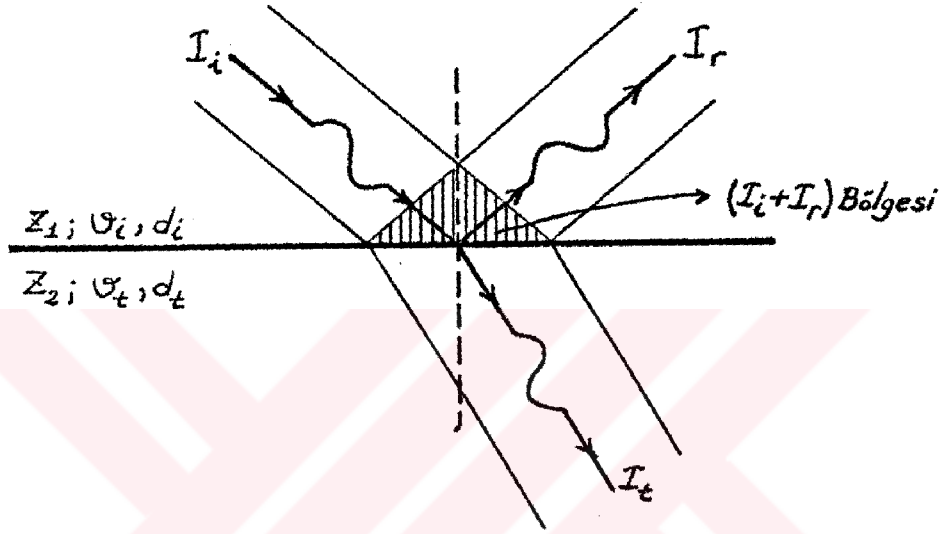
Yüzde kırınım:

$$\% \text{ KIRINIM} = \frac{4 Z_2 Z_1}{(Z_2 + Z_1)^2} \times 100 \quad \text{olacaktır.}$$

İki ortamın ses hızları (v_i) ve (v_t) ise gelme açısı (θ_i) ile kırılma açısı (θ_t) arasındaki ilişki:

$$\frac{\sin \theta_i}{\sin \theta_t} = \frac{v_i}{v_t} \quad \text{dir.}$$

Yansıma düzlemine gelen ses şiddeti (I_i), yansıyan ses şiddeti (I_r) ve kırınıma uğrayan şiddeti de (I_t) ise bu sesler arasındaki etkileşim aşağıdaki şekilde olduğu gibidir.



ŞEKİL 3

Yansıma düzlemine gelen, yansıyan ve kırılan ses dalgaları

Yansıma katsayısı için;

$$r_r = \frac{I_r}{I_i} = \left(\frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right)^2 \quad \text{ve}$$

Kırınma katsayısı için;

$$r_t = \frac{I_t}{I_i} = \frac{4 Z_1 Z_2}{(Z_2 + Z_1)^2} \quad \text{olduğu}$$

deneylerle ispatlanmıştır.

Ve dalga özelliği gereğince ses şiddeti arasında $I_i = I_r + I_t$ şeklinde bir bağıntı vardır.

Eğer $Z_1 = Z_2$ ise $r = 0$ olacak ve bu koşulda da yansıma olmayacaktır. Veya $Z_1 \gg Z_2$ ise $r=1$ olacak ve bu sırada TAM YANSIMA olacaktır(49).

Örneğin: Havanın Akustik Empedansı (Z), Derinin akustik empedansından yaklaşık 10^{-4} kez daha küçüktür. Bu yüzden proptan çıkan ve havadan geçerek deri üzerine ulaşan ULTRA-SES'in hemen tümünün TAM YANSIMAYA uğradığı görülmektedir.

Işınlanma sırasında deri ile prop arasında oluşabilecek ve tam yansımaya neden olan hava ceplerini önlemek için akustik empedansı vücut doku empedansına eşdeğer olan KREM ve ÖZEL ERİYİK'ler deri üstüne sürülür(17).

Yine aynı nedenle hava içeren biyolojik hedeflerden tarama yapmak imkansızdır. Örneğin akciğerlerde olduğu gibi.

Ayrıca sağlıklı bir tarama çalışması yapmak için ULTRASES ışınının yönlendirilmesi ve yansıtılması arasında iyi bir korelasyon oluşturulması gerekmektedir(36).

Aynı şekilde tarama yapılacak dokuların yansıtma kabiliyetini de bilmek gerekmektedir. Çünkü dokulardan bazıları düz veya konkav ayna gibi davranırlar. Örneğin kalp kapakçıkları ile posterior kist duvarları ayna yansıtıcılar gibi davranırlar(53).

Üzerine gönderilen ses dalgalarını karmaşık şekilde saçan yapılara KARMAŞIK YANSITICI denir. Karaciğer parankimasi tipik bir karmaşık yansıtıcıdır. Karmaşık yansıtıcılı yapıların uygun incelenmesi için transduserin değişik bir çok pozisyon ve açıda ışınlanması izlenip değerlendirilmesi gerekmektedir(34).

Yine dokular arasındaki homojen bölgeler ekodan serbest ya da ANEKOİK diye adlandırılırken, heterojen yapılarda EKOJENİK olarak tanımlanır. Akışkanla dolu bir boşluk homojendir, yani ekodan serbesttir. Akışkan dolu kistler ve katı kütleler, bir lezyon içinde eko oluşturan değme yüzeylerinin varlığı ya da yokluğu ile anlaşılırlar. Bu ilke perikardial efizyon, ascites ve aorta gibi kan havuzlarının tanısında kullanılır.

ULTRASES'in Şiddeti ve Şiddet Değişimi

ULTRASES ışınının şiddeti (yoğunluğu), enerji gücünün ölçümüdür ve ışının yayılma doğrultusuna dik birim alandan geçen enerji miktarıdır. Bu şiddet;

$$I = 2\pi^2 f^2 d v A^2 = \frac{P^2}{2 d v} \text{ olup, birimi Watt/m}^2 \text{ dir.}$$

A: Ses dalgalarının genliği
v: Hız
f: Frekans
P: Basınç genliği
d: Ortamın yoğunluğu

Disk şeklindeki bir transduserle oluşturulan ULTRASES ışın şiddetinin matematiksel modelleri ile ışık için geçerli olan fiziksel ilkeler aynıdır. Örneğin Huygens İlkesi gibi. Bu yüzden disk şeklindeki transduserden ULTRASES ışını yayınması ile bir yarığın içinden geçen ışığın yayınması aynıdır(42).

ULTRASES ışınının iyi ve sonuç alıcı şekilde yönlendirilmesi için transduser çapı, yayınlanan ışının dalga boyunun bir kaç katı olmalıdır. Bunu sağlamak için de kristalin ya büyüklüğü artırılır ya da dalga boyu azaltılır(38).

Bu şartlarda disk şeklindeki transduserden yayınlanan ışın iki farklı şiddet bölgesi oluşturur ki bu bölgeler(69):

A. YAKIN BÖLGE (Fresnel Bölgesi)

Transdusere yakın olan bu bölgede sonik güç hemen hemen tümüyle ışının tüm genişliğini kapsar ve bu bölgede uniform bir dağılım gösterir. Yakın bölgenin uzunluğu, yani son maksimum ışın şiddetinin bulunduğu nokta:

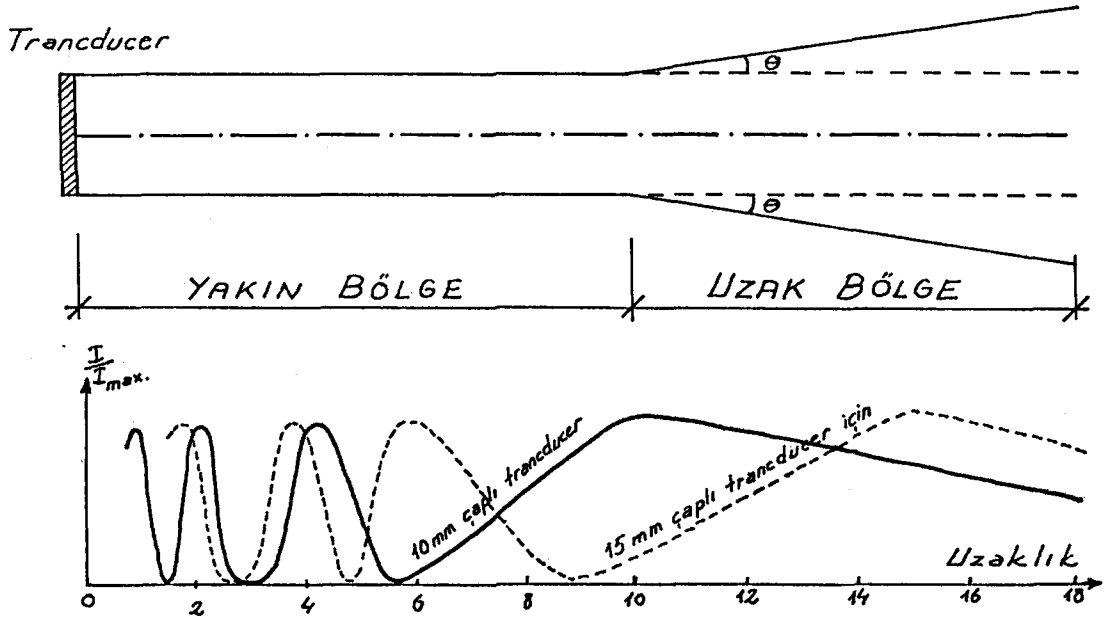
$$X_{\max} = \frac{4 r^2 - \lambda^2}{4 \lambda}$$

r: Transduser çapı
λ: Işının dalga boyu

formülü ile belirlenir. Ancak $r^2 \gg \lambda^2$ sağlanıyorsa bu durumda yakın bölgenin uzunluğunun tespiti için;

$$X_{\max} = \frac{r^2}{\lambda} \quad \text{formülü yeterlidir.}$$

Şekil 4'de farklı ışın şiddetlerine sahip bölgeler ile ışın şiddetinin yakın bölgeden sonra nasıl saçılarak azaldığı ve bu sırada da bağıl şiddet değişiminin de uzaklıkla orantılı olarak osilasyonlu değişimi görülmektedir.



ŞEKİL 4

Işın şiddetinin uzaklıkla değişimi

Sonuçta yakın bölgenin derinliği için iki genelleme yapmak mümkündür.

- 1- Verilen herhangi bir transduser çapı için, frekans büyüdükçe Fresnel Bölgesi derinleşir.
- 2- Verilen herhangi bir frekansta, transduser çapı büyüdükçe yine Fresnel Bölgesi derinleşir.

Bu sonuçları birkaç değerle belirlemeye çalışırsak;

FRESNEL BÖLGESİ DERİNLİĞİ'nin $D = \frac{r^2}{\lambda}$ formülüne göre

değişimi;

a) (Sabit 1 cm çaplı transduserde) Frekansın fonksiyonu olarak):

<u>Frekans (MHz)</u>	<u>Dalga Boyu (cm)</u>	<u>Bölge Derinliği (cm)</u>
0,5	0,3	0,83
1	0,15	1,67
2	0,075	3,33
4	0,0325	7,8
8	0,0163	15,33

b) (1,5 MHz'lik sabit frekansta) Transduser çapının fonksiyonu olarak:

<u>ÇAP (cm)</u>	<u>Bölge Derinliği (cm)</u>
0,5	0,6
1	2,5
2	10
4	40

B. UZAK BÖLGE (Fraunhofer Bölgesi)

Fresnel Bölgesinin ötesinde olan ve Fraunhofer bölgesi denilen bu bölgede ışın yatay dağılıma tabidir. Yakın bölgede hemen hemen sabit çaplı ve sabit şiddette olan ışın:

$$\sin \theta = \frac{0,61\lambda}{r}$$

θ : Dağılıma açısı (derece)

λ : Dalga boyu (cm)

r: Transduser çapı (cm)

formülü ile verilen yarım açıyla iraksamaya başlar. Dolayısıyla ışın şiddetinde de gittikçe azalma söz konusu olacaktır. Sonuç olarak bu bölge içinde iki genelleme yapmamız mümkündür.

1- Verilen herhangi bir transduser çapında frekans büyüdükçe yatay dağılım azalır.

2- Verilen herhangi bir frekansta, transduser çapı da büyüdükçe yatay dağılım azalır.

Eğer bu genellemeleri bir tablo içinde görmek istersek:

ULTRASES İŞİNİNİN DAĞILMA AÇISI ($\sin \theta = \frac{0,61\lambda}{r}$) formülüne göre)'nin değişimi:

a) (Transduser çapı = 1 mm için) Frekansın fonksiyonu olarak:

<u>FREKANS (MHz)</u>	<u>DAĞILMA AÇISI (Derece)</u>
0,5	21,5
1	10,5
2	5,2
4	2,3
8	1,1

b) (Frekans 1,5 MHz olduğunda) Transduser çapının fonksiyonu olarak:

<u>ÇAP (cm)</u>	<u>DAĞILMA AÇISI (Derece)</u>
0,5	14,1
1	7
2	3,5
4	1,7

ULTRASES Işınının Soğurulması ve Zayıflatılması

Dokunun saf suya göre viskozitesi daha yüksektir. Bu yüzden doku molekülleri ULTRASES dalgalarının sıkıştırma etkisine cevap verecek şekilde hareket edebilirler. Ancak doku üzerine gelen ULTRASES enerjisinin belli bir kısmı, ortamın viskozitesinin yenilmesi sırasında, soğurularak harcanır. Ve böylece ortamın viskozitesi yüzünden oluşan enerji kaybı nedeniyle yayılan ışının şiddetinde de bir azalma söz konusu olacaktır(17).

Hatta bazı yapılarda bir sıkıştırma dalgası ile oluşan itmeye moleküller doğal olarak uygun bir cevap verirken, yapısal karakterleri ile uygun bir şekilde geriye gitme yeteneği gereğince yavaşça eski orijinal durumlarına geri dönerler. İşte bu yer değiştirme ve geri dönüşler arasındaki zaman aralığına DİNLENME (Relaksasyon) zamanı denir(57).

Eğer dinlenme zamanı; birbirini izleyen sıkıştırma dalgaları arasındaki zaman aralığının belirgin bir kesri ise bir sonraki itme kendisinden bir öncekinden daha kuvvetli bir dirençle karşılaşır. Çünkü molekül halen ikinci sıkıştırma dalgası gelirken, geriye doğru hareket halindedir. Bu da ışının enerjisinde bir kayba neden olur. Bu anlamda soğurulan enerji miktarı ses dalgalarının frekansına ve soğurucu yapının karakteristik dinlenme zamanına bağlı olur. Verilen bir doku için dinlenme zamanı sabit olduğundan bu mekanizmaya

bağlı olan soğurulmasının altında kalan ve dolayısıyla ihmal edilebilecek bazı frekanslar var olacaktır. Ancak ihmal edilecek bu frekansların üstündeki frekanslarda bu mekanizma değer taşıyacaktır. Ve dolayısıyla frekans arttıkça bunun etkisi de yükselecektir.

Soğurulan ses miktarı dokunun derinliği ve frekansla orantılıdır. Soğurulma sonucu oluşan şiddet değişimi üssel (exponansiyel) dir. Şöyle ki:

$$I_2 = I_1 e^{-\alpha x}$$

α : cm'deki soğurulma katsayısı

x: derinlik

e: 2,71

ULTRASES ışın şiddetindeki relatif kayıp genellikle desibell (dB) olarak ifade edilir. Yumuşak dokular için kayıp ile frekans arasındaki ilişki ULTRASES aralığında hemen hemen lineerdir. Öyleki; α/f oranı hemen hemen sabittir. Yani 1 MHz de cm başına 1 dB'lik ışın soğurabilen doku, 2 MHz de de yaklaşık olarak cm başına 2 dB'lik ışın soğurabilecektir. Bu nedenle Çizelge 3'de α/f nin değerleri ULTRASES'in her frekansı için kullanılabilir(49).

ÇİZELGE 3

Bazı Biyolojik Ortamlarda Ultrases Işınının Zayıflatılması

<u>DOKU</u>	<u>α/f (dB cm⁻¹ MHz⁻¹)</u>
Göz sıvısı	0,1
Kan	0,16
Yağ	0,63
Beyin	0,85
Karaciğer	0,94
Böbrek	1
Omurilik	1
Kas lifi	1,3
Kalp kası	1,8
Göz merceği	2
Kafatası	20
Akciğer	41

Ayrıca küçük ULTRASES şiddet farkları da dB ile ölçülür. Ancak temel birim logaritmik olarak ifade edilen, BELL'dir. Yansıyan ve gelen ışın şiddetleri arasındaki bağıntıyı logaritmik yazarsak;

$$dB = 10 \log_{10} \frac{I_2}{I_1}$$

I_2 : Yansıyan ışın şiddeti
 I_1 : Gelen ışın şiddeti

ULTRASES ışınlarının değişik ortamlarda soğurulması sırasında, gelen ışının şiddetini yarıya indiren soğurucu kalınlığını tanımlayan YARI GÜÇ KALINLIĞI'nı da göz önüne almak gerekir. Bu kavram Nükleer Tıp ve Radyolojide radyasyonun soğurulmasını tanımlamak için kullanılan YARI DEĞER KALINLIĞI ile eşdeğerdedir(33).

dB notasyonunda ise yarı değer kalınlığı hemen hemen gelen ışının gücünü 3 dB azaltan güç ile eşdeğerdedir. Çünkü

$$dB = 10 \log_{10} \left(\frac{0,5}{1}\right) = 10 \log_{10} (0,5) = 10 (-0,301) = -3,01$$

Sonuç yaklaşık olarak -3 dB'dir. Buradaki (-) işaret yoğunluktaki relatif kaybı belirler. Yine burada sıfır dB'lik soğurulma ve yansımayı düşünecek olursak;

$dB = 10 \log_{10} (1) = 0$ $\log_{10} 1 = 0$ olduğundan anlamı bu durumda soğurulmanın olmaması ya da mükemmel bir yansıma vardır denir.

$$I_2 = I_1 e^{-\alpha x}$$

denkleminde $\alpha x = 1$ yapan derinliğe ortamın GİRGİNLIĞİ denir. Dokuda $x = 1$ olan derinlikte şiddet, ilk şiddetin $e = 2,71'$ de birine düşmüş olur. (α) Soğurma katsayısı ile (x) derinlik ters orantılıdır. Çizelge 4'de 2 MHz de çeşitli biyolojik ortamlarda soğurma katsayıları ile GİRGİNLIĞIN değişimi görülmektedir.

ÇİZELGE 4

Girginlik ve Soğurma Katsayısının Değişimi

<u>ORTAM</u>	<u>SOĞURMA KATSAYISI (cm⁻¹)</u>	<u>GİRGİNLİK (cm)</u>
Kas	0,25-0,20	4-5
Böbrek	0,22	5
Karaciğer	0,17	6
Yağ	0,13	8
KAN	0,02	50
Plazma	0,007	140
Su	0,0003	3300

Soğurma katsayısı ile frekansın değişimini yağ dokusu ile kas arasında söz konusu edersek:

ÇİZELGE 5

Soğurma Katsayısı ile Frekansın Değişimi

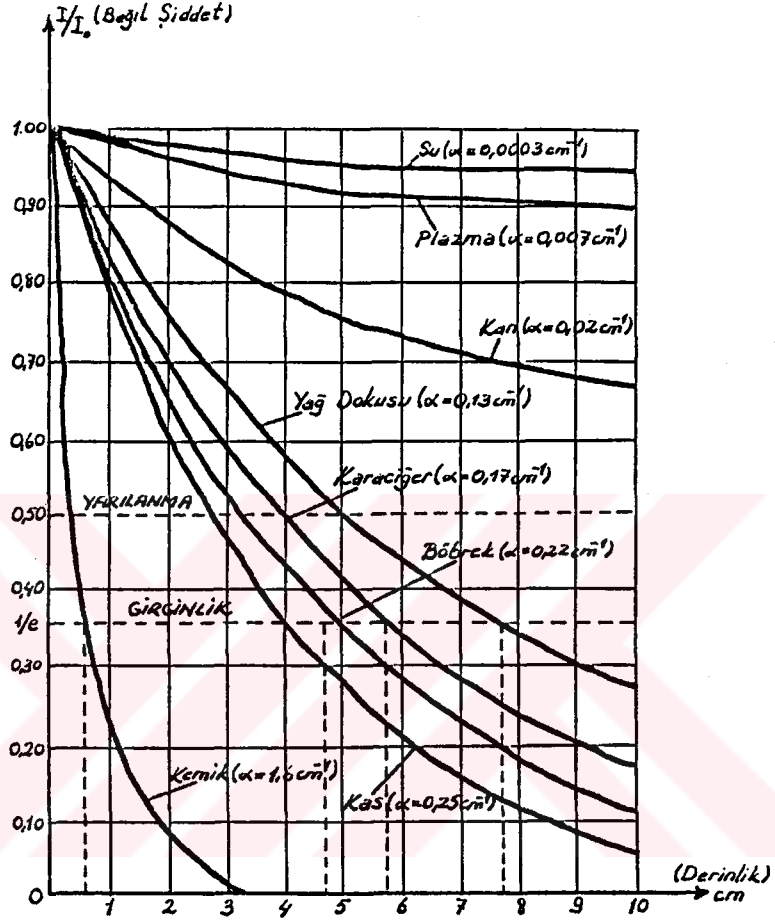
<u>FREKANS</u>	<u>SOĞURMA KATSAYISI</u>	
	<u>Yağ</u>	<u>Kas</u>
1	0,04	0,12
2	0,1	0,24
3	0,16	0,36
4	0,30	0,48

Ayrıca çeşitli biyolojik ortamlarda şiddetin bağıl değişikliğin 2 MHz lik frekansta derinliğe bağılı değişimi aşağıda olduğu gibi grafiksel olarak da gösterilmiştir.

Eğriler incelendiğinde örneğin yağ dokusu için YARILANMA KALINLIĞI'nın 5 cm ve GİRGİNLİĞİN de yaklaşık 8 cm olduğu görülmektedir.

Bir ışın gerçek soğurulma dışında SAÇILMA, YANSIMA - IŞIN SAPMASI ve KESİKLİ DALGA OLUŞMASI gibi mekanizmalarla da zayıflatılır. Bu yüzden bir dokunun zayıflatma katsayısı

o doku tarafından soğurulan enerji ile ilişkilidir. Ama o enerjinin kendisi değildir. Gerçekten de soğurulan enerji o yerde ayrıca lokal ısınmaya da sebep olur(42).



Çeşitli Dokularda Yarılma Kalınlığı ve Girginlik

Oluşan ısınma, yayılan hiperterminin şiddetine bağlı olarak potansiyel bir zarar oluşturur. Bu nedenle son zamanlarda onkolojide habis tümörlerle savaşımında bu tür ısınma etkili bir silah olmaktadır(32).

Başka bir potansiyel zarar da KAVİTASYON oluşumudur ki, bu olay sıkıştırma fazları arasındaki gevşeme fazları esnasında küçük küresel kabarcıkların oluşumudur. Gevşeme esnasında yapı, negatif basınçtan dolayı oluşan gerilim vasıtasıyla parçalara ayrılır. Burada oluşan zarar dokuda sudan daha

fazladır. Çünkü su kısa zaman aralıklarında dahi gerilime daha iyi karşı koyar. İçi, gaz veya sıvı buharı dolu veya boşluk olan kabarcıkların daha çok ses genliğinin en büyük olduğu bölgede oluştuğu ve titreşim genliğinin küçük olduğu yerlere doğru göç etme eğiliminde oldukları deneylerle gösterilmiştir(31).

Ayrıca büyük hacimli ve içi boş olan kabarcıkların birleşmesi sonucu sıvı içinde oldukça büyük şiddetli ŞOK DALGALARI'nın da oluştuğu gözlenmiştir(76).

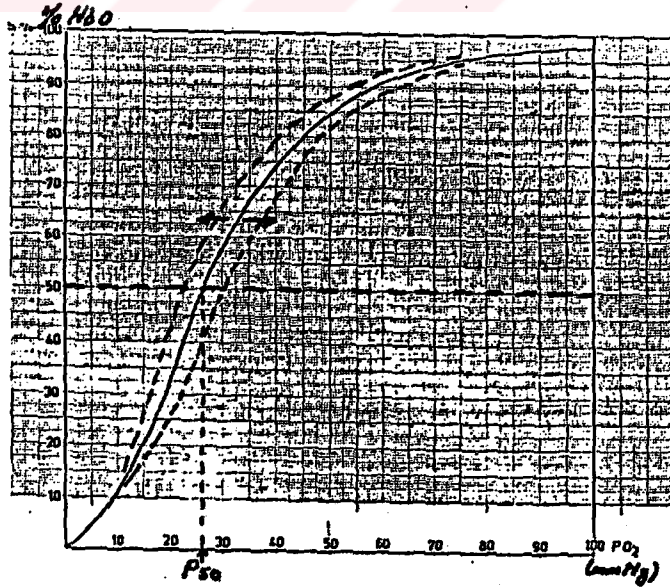
Bir potansiyel zarar sayılan ve ULTRASES uygulanması yoluyla sağlanan KAVİTASYON ile sıvı içinde bulunan katı cisimciklerin ve bakterilerin parçalandığı bilinmektedir. Hatta bir kaç yüz Watt/cm² mertebesindeki ULTRASES ışınlaması ile denaturasyona yol açmadan bakteri zararının parçalanması da başarılmıştır. Bu sırada doku oksidasyon oranlarının artması ve serbestleyen radikaller tarafından sebep olunan kimyasal değişiklikler nedeniyle pH da da bir değişiklik meydana gelmektedir(44). Ayrıca devamlı ve pulsasyonlu ULTRASES ışınları ile insan eritrositlerinde ABD antijen gruplarının da değiştiği bilinmektedir(18,19). Ultrastrüktürel deformasyonların 2,5 W/cm² lik ışın şiddeti ve 6 dakikalık etkiye süresinden itibaren belirginleşmeye başladığı da saptanmıştır(42).

DOKULARIN OKSİJENLENMESİNE ETKİYEN UNSURLAR

Doku oksijenlenmesinde ilk aşama, oksijenin akciğerden kana geçerek hemoglobine bağlanmasıdır. Bilindiği gibi bu aşamada akciğerlerin Ventilasyon-Perfüzyon durumları ve havadaki oksijen basıncı rol oynar. Sonraki aşamada dolaşımdaki damar çaplarının değişmesi ve buna bağlı olarak kan akımının hızı söz konusudur. Doku oksijenlenmesinde son aşama en önemlisi olup hemoglobinin oksijeni verme hızını kapsar. Zira öteki iki aşamada normal de olsa hemoglobin oksijenini belirli basınçlarda bırakmadığı sürece doku oksijenlenemez(5).

Hemoglobinin oksijeni hangi basınçlarda ve ne oranda verdiğini gösteren OKSİJEN DISSOSİYASYON EĞRİSİ (ODE) ile fizyolojik sınırı belirleyen orta bölgenin konumunu gösteren P_{50} değeri, dokuların oksijenlenme derecesini açıklar.

P_{50} değeri; pH: 7,4, PCO_2 : 40 mmHg ve sıcaklık $37^{\circ}C$ 'ta hemoglobinin % 50 doymuşluğunu sağlayan oksijen parsiyel basıncı anlamına gelir(13).



ŞEKİL 5

Oksijen Disasiyasyon Eğrisinin sigmoid şekli ve P_{50} değeri

Hemoglobinin oksijene afinitesi azaldığı zaman ODE sağa kayarken P_{50} değeri yükselir. Afinitite arttığı zaman eğri sola kayar ve P_{50} değeri de düşer. Birçok durumlarda ODE sağa ya da sola kaymak suretiyle yer değiştirir. Ancak sigmoid şekli bozulmaz (Şekil 5).

ODE'nin durumunu açıklayan P_{50} değeri üzerine etkileyen unsurları şöyle sıralayabiliriz:

<u>YÜKSELTEN UNSURLAR</u>	<u>DÜŞÜREN UNSURLAR</u>
1- Sıcaklık artması	1- Sıcaklık azalması
2- pH azalması (PCO_2 artması)	2- pH artması (PCO_2 azalması)
3- Hb konsantrasyonunun azalması	3- Hb konsantrasyonunun artması
4- 2,3 DPG artması	4- 2,3 DPG azalması
5- Yükseklik	5- Septik şok
6- Hipoksemi	6- Derin asidoz
7- Kalp yetmezliği	7- Hipofosfatemi (ATP azlığı)
8- Anemi	8- Panhipopitniterizm
9- Siroz	9- Methemogloblin
10- Hiperfosfatemi (ATP artması)	10- CO zehirlenmesi
11- Anormal hemoglobinler	11- Anormal hemoglobinler

Bu unsurları teker teker inceleyecek olursak:

Hemoglobinin Oksijen Afinitesi

Oksijeni dış ortamdan alarak kan yoluyla dokulara götürme işlevini solunum ve dolaşım sistemleri birlikte yürütmektedir. Deniz düzeyinde, atmosfer havasının solunumu sırasında 100 ml arteriyel kanda taşınan yaklaşık 20 ml O_2 nin 5-6 ml'si dokulara boşaltılır.

Hemoglobin, fonksiyonu konformasyonundaki değişmelere bağımlı, allosterik enzimlerin bir prototipidir. Molekül ağırlığı 64458.5, boyutları 50 x 55 x 64 Å olarak hesaplanan Hb her birinde bir hem grubu tutunan 4 polipeptid zincirinden

yapılı bir tetramerdir. Polipeptid zincirler 141 aminoasitli 2 alfa ile 146 aminoasitli 2 beta'dan ibarettir. Hem grupları da alfa zincirlerinden 87'nci, beta'da ise 92'nci aminoasit'e Fe^{++} aracılığı ile tutunmuştur(29).

Oksijen reversible olarak hem grupları içinde bulunan Fe^{++} atomları ile birleşir. Hb'nin oksijen bağlama kapasitesi erişkinde 1,306 ml/g, fetal kanda ise 1,312 ml/gr'dır. Ancak bu değer kandaki demir miktarına bağlıdır.

Normalde akciğerlerden dokulara ulaşan oksijenin % 97'si eritrositlerdeki hemoglobin ile kimyasal bileşik halinde, geri kalan % 3'ü ise plazma sıvısı içinde erimiş olarak taşınır.

Hemoglobinin dokulara oksijen taşıma fonksiyonunu üç aşamaya ayırmak gerekir.

- 1- Oksijenin akciğerlerden alınması ki buna solunan havanın bileşimi ve akciğerlerin durumu etkir.
- 2- Oksijenin kan yoluyla taşınması
- 3- Oksijenin dokulara bırakılması

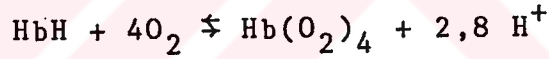
Bu aşamalar ise eritrositlerdeki hemoglobin düzeyi ve oksijene olan afinite ile dokulardan geçen kan akımını direkt olarak etkiler.

Hemoglobinin oksijene olan afinitesi ligand adı verilen bazı molekül ve iyonlar tarafından değiştirilebilir. Bu ligantlar H^+ iyonu, CO_2 , inorganik fosfatlar ve özellikle 2,3-Difosfogliserat (2,3-DPG) dir. Hemoglobinin oksijen satürasyonu (SO_2) bu ligandların bağlanma derecesinden etkilenir. Bu etkileşimler molekülün allosterik karakterine bağlıdır. Bir de Hb'nin oksijen afinitesine etkiyen en önemli unsur BOHR etkisidir.

BOHR ETKİSİ: 1904 yılında BOHR, HASSELBACH ve KROGH ortamda PCO_2 arttıkça hemoglobinin oksijene ilgisinin azaldığını gözlediler. Daha sonra bu olayın pH'ya bağımlı olduğu ve pH: 6-8,5 değerleri arasında oksijen afinitesinin pH ile doğru orantılı olacak şekilde değiştiğini saptadı. Bohr etkisi terimi şimdi yalnızca hemoglobinin H^+ ile etkileşimi sonucu oksijen taşınmasındaki değişiklik anlamında kullanılmaktadır(35). Bohr etkisi, belirli bir saturasyonda (Hb'nin % doymuşluğu) pH değişmelerinin PO_2 'ye yansımalarını gösterir. Basit bir formülle açıklayacak olursak:

$$\text{Bohr etkisi : } \frac{\Delta \log PO_2}{\Delta pH} \quad \text{denklemini ortaya çıkar.}$$

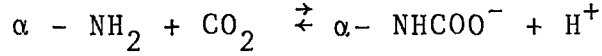
Kilmartin ve Rossi-Bernardi X ışınları analizi ile hemoglobinde oksijenlenme sırasında BOHR protonlarını veren spesifik asit gruplarını göstermişlerdir(41). Bu asit grupların oluşturdukları tuz köprüleri hemoglobinin deoksi konformasyonunun gergin (T) durumunda sabitleşmesinde önemli katkıda bulunurlar.



Bohr etkisi, doku düzeyinde kana geçen CO_2 'nin pH'ı düşürmesi nedeniyle yukarıdaki denklemden anlaşılacağı gibi reaksiyonu sola kaydırarak oksijenin serbestleşmesini kolaylaştırır. Buna karşılık, akciğerlerde de CO_2 'nin kandan ayrılmasıyla pH yükselir ve hemoglobinin oksijene etkisi artmış olur. Bohr etkisinin insan fizyolojisinde önemli bir yeri vardır. pH: 7'de oksihemoglobin (Oksijenlenmiş Hb) deoksihemoglobin (oksijenlenmemiş hemoglobin)'e oranla daha çok negatif yük taşır. Bu yüzden deoksihemoglobin yapısı stabilize dir ve oksijen afinitesi azalmıştır. pH: 7'nin altında ise bu durumun tersi söz konusudur (Asit Bohr etkisi). pH: 7-9 arasında zayıf bazlar elektriksel yük alamayacaklarından deoksi yapının stabilitesi bozulur ve Hb'nin oksijene afinitesi artar (Bazik-Bohr etkisi)(40).

CO₂'nin Etkisi

Ayrıca CO₂, hemoglobinin α amino grupları ile reversibl bileşikler kurmak suretiyle karbominohemoglobini oluşturur.



Bu sırada CO₂, hemoglobinin deoksi yapısına bağlanarak oksijen afinitesini azaltır. Nedeni CO₂ nin deoksi yapıdaki pozitif yüklü aminoasitlerle tuz köprüsü kurmasıdır. Araştırmalara göre β zincirlerinin CO₂'e olan afinitesi α zincirinden 3 kez daha yüksektir(4).

Bilindiği gibi deoksi hemoglobin H⁺ iyonlarını oksihemoglobine göre daha aktif bir şekilde bağlar. Hemoglobinin yüzde doymuşluğunun azalması, dokularda PO₂ gradyanına bağlı olduğu kadar % 1-2 oranında PCO₂ etkisine de dayanır. Kanda CO₂ miktarı arttığı zaman pH'da bir düşme görülür ve bunun sonucu olarak oksijen dissasiyon eğrisi (ODE) sağa kayarken P₅₀ de yükselir.

pH'nin Etkisi

Eritrosit içinde, pH düzenleyici olarak en önemli sistem Hemoglobin Tampon sistemidir. Hemoglobinde diğer protein tampon sistemlerde belirtildiği gibi değişik asit ve bazik gruplar içerir. Hemoglobinin tampon etkisinin büyük bir kısmı histidinin imidazol grupları tarafından yerine getirilir(21). Aslında iki tampon hemoglobin vardır. Bunlar indirgenmiş hemoglobin ve oksihemoglobindir. Eğer hemoglobin olmasaydı CO₂ sadece plazmada erimiş olarak taşınacaktı. Böylece venöz kan, arteriyel kana göre 800 kat daha asit olabilecekti.

Asidite olarak kanda H⁺ iyonlarının artarak pH'ın 7,36'nın altına düşmesi şeklinde tanım yapılmaktadır. Bu durumun

tersinde, H^+ iyonlarının azalıp (OH^- iyonları artarak) pH'ın 7,44 üstüne çıkmasında da Alkaloz meydana gelmektedir.

Asidoz ve Alkaloz solunumsal veya metabolik tipte olabilir. Bu durumun belirlenmesi sadece pH, PCO_2 ve PO_2 'nin tayini ile olmaz. Ayrıca Aktüel Bikarbonat (Akt. HCO_3^-), Standart Bikarbonat (HCO_3^-) ve Base Excess (B.E.) değerlerinin de bilinmesi gerekmektedir.

Aktüel Bikarbonat (HCO_3^-): Aktüel (o andaki) PCO_2 ve aktüel pH'da plazmada mevcut HCO_3^- konsantrasyonudur.

Standart Bikarbonat (HCO_3^-): Hemoglobinin tümü O_2 ile satüre, PCO_2 'si 40 mmHg olan kanın plazmasındaki HCO_3^- konsantrasyonudur.

Normalde Aktüel HCO_3^- ile Standart HCO_3^- eşit değerdedir ve normal değerleri 24 ± 2 mEq/L dir.

Base Excess (B.E.): Kandaki baz eksikliğini veya fazlalığını gösterir. pH = 7,40 ve $PCO_2 = 40$ mmHg'da değeri sıfırdır. 0-2,5 mEq/L arasında normal kabul edilir.

Standart HCO_3^- ve Base Excess (B.E) değerleri sadece metabolik tipteki asit-baz denge bozukluklarında değişmektedir. Solunumsal asit-baz denge bozuklukları bu iki parametreyi etkilemez(21).

Sıcaklığın Etkisi

Hemoglobinin afinitesine ve dolayısıyla ODE'ye etkileyen bir başka unsur da sıcaklık olup, dokulara oksijenin bırakılmasında önemli bir rol oynar. Sıcaklık artımı ODE'yi sağa kaydırır. Bu sağa kayımda hemoglobin, dokulara çok daha fazla oksijen bırakır, ancak eğrinin sigomid şekli aynı kalır(37,60).

PO₂'nin Etkisi

Dokulardan kanın geçişi sırasında, bir dakikada kandan hücre içine geçecek olan oksijen miktarı iki ortam arasındaki PO₂ farkıyla doğru orantılıdır.

Dokularda O₂ tutulması (VO₂ ml/dak) aşağıdaki eşitlikle saptanabilir.

$$VO_2 = 1,306 \text{ Hb } (S_aO_2 - S_vO_2) Q$$

Hb: gr/100 ml Q: Kan akımı (ml/dak)

S_aO₂ - S_vO₂: Arteriovenöz %O₂ saturasyon farkı

Hipoksik koşul olmaması için VO₂ nin yükselmesi gerekir. Bu da eşitlikten görüldüğü gibi kan akımının (Q), eritrosit sayısının (Hb) artması ya da oksijen afinitesinin azalması (S_aO₂ - S_vO₂ nin yükselmesi) ile sağlanabilir. Çeşitli hipoksik koşullarda eritrositlerde glikolitik metabolizma ürünü 2,3-DPG'nin artışına paralel olarak oksijene ilginin azaldığı gözlenmiştir(29). hipoksik koşullarda ODE'nin sağa kayması, eritropoitein yoluyla eritrosit sayısını kontrol etmektedir.

Bellingham ve Huehuns(6) kanda hemoglobin düzeyi ile O₂ affinitesi arasında yüksek bir korelasyon bulunduğunu gösterdiler. Oksijene ilgisi büyük olan Hb variantları nedeniyle de gelişen sekonder polisitemide de bu ilişki saptandı.

Eritrositlerdeki 2,3-DPG konsantrasyonu büyük ölçüde pH'ya bağımlıdır. Bu bakımdan asidoz yaratan koşullarda oksijen afinitesinin yüksek olması (P₅₀ = 19 mmHg) plasentadan fetüse O₂ iletisini kolaylaştırır. Fetal kanda O₂ affinitesinin yüksekliği HbF'nin 2,3-DPG ile etkileşmesinin daha zayıf olmasına bağlanmaktadır. Ayrıca konjenital bozukluklar metemoglobinemi ve CO intoksikasyonları da oksijen affinitesini arttırır.

2,3-DPG'nin Etkisi

2,3-DPG ilk kez 1925'de Greenwald tarafından domuz eritrositlerinde bulunmuştur. Bunu izleyen yıllarda bir çok memeli hayvanın eritrositlerinde de 2,3-DPG'ye rastlanmıştır. Rapoport ve Linebering 1950'de tavşan eritrositlerinde 2,3 DPG konsantrasyonunun devamını sağlayan enzimatik olayları açıklamışlardır. Rapoport 1953'de kanın Asit-Sitrat-Dekatroz (ACD) ile depolanmasının DPG'yi hızla azalttığını gösterirken, 1954'de Valtus ve Kennedy kanın bu şekilde depolanmasının oksijen affinitesini arttırdığını belirtmişlerdir(55,73). Bartlett 1960'da kanın 4°C'de saklanmasıyla 2,3-DPG ile beraber ATP'yi de azalttığını fakat inorganik fosfatlarda bir artış meydana getirdiğini göstermiştir. Chamtin ve arkadaşları 1967'de 2,3-DPG ve ATP gibi organik fosfatların hemoglobinin oksijen affinitesini azalttıklarını, inorganik fosfatların ise daha az etkili olduklarını göstermişlerdir(15,66).

Benesch ve Benesch 1968'de 2,3-DPG ve ATP'nin hemoglobinin oksijen affinitesini 30 kat azaltılabileceğini göstermişlerdir. Her ne kadar her iki maddenin afinite üzerindeki etkisi veya aktivitesi aynı ise de eritrosit içinde ATP'nin çoğunluğunun Mg^{++} iyonlarına bağlı olması ve dolayısıyla inaktif bir halde bulunması nedeniyle bu maddenin reaksiyondaki rolü önemsizdir(7). 2,3-DPG'nin hemoglobinin oksijen afinitesine etkisini açıklayabilmek için eritrosit metabolizmasından söz etmek gerekir.

Eritrosit Metabolizması ve 2,3-DPG:

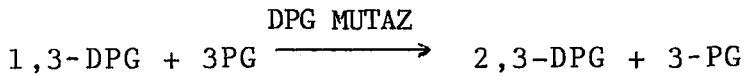
Kemik iliğinden dolaşım sistemine yeni katılan bir eritrositer hücrede, retikulositte; çekirdek ve DNA bulunmadığından RNA Sentez edilemez. Haberci RNA (mRNA) ve ilgili ribozomlar ile birkaç mitokondrinin hücrede bulunduğu 2-3 gün kadar kısa bir sürede protein sentez edilir. Bundan sonra

hücre bütün yaşam süresince protein sentez yeteneğinden yoksundur ve daha önce sentez edilmiş olan proteinlerden yararlanır. Retikulosit fazında lipid, hem ve pürinler yapılırlar; trikarboksilik asid (TCA) oksidatif fosforilasyon sistemleri aktiftir. Retikulosit fazından sonra hücrede aktif fosforilasyon oluşmaz. O₂ kullanımı ve CO₂ üretimi çok yavaştır ve ancak PENTOZ ŞANT yoluyla yapılırlar. Olgun bir eritrositte lipid sentez yeteneği hemen hemen kaybolmuştur. Yeniden pürin sentez edilemez ve gerekli olan adenin başka mekanizmalarla sağlanırlar(66).

Olgun bir eritrositte süregelen başlıca metabolik olay glikoliz veya glikoliz metabolizmasıdır. Bu karbonhidrat metabolizmasının başlıca yolları EMBDEN-MEYERHOFF (EMP) yolu ile bağıllı olan PENTOZ ŞANT yoludur (Şekil 6).

Şekildeki oklar enzimatik reaksiyonların yönünü göstermekte ve elips içindeki sayıllar da 1 gr Hb'deki fosforlu ara metabolizma ürünlerinin miktarını µmol cinsinden vermektedir.

Bir ara maddesi olan 1-3-DPG hem fosfogliserat Kinaz hem de Difosfogliserat Mutaz için bir Substrat meydana getirir. "Yüksek enerjili" 1 fosfatın 1,3-DPG'den 3 fosfogliserat'a taşınmasını katalize ederek düşük enerjili 2,3-DPG'nin oluşumunu sağlar.



Burada 3 fosfogliserat (3-PG) Ko-enzim olarak rol oynar. Difosfogliserat (DPGP), 2,3-DPG'dan bir fosfat çıkararak 3 fosfogliserat (3PG) yi oluşturur.

Bu iki enzim siklusuna Rapoport-Luebering siklusu veya (DPG yolu veya şantı) denir. Bu reaksiyonlar sonucunda hücrede 2,3-DPG yüksek düzeylere ulaşır. Öyle ki insan eritrositlerinde 2,3-DPG, ATP'den 4 kat daha fazla olur.

Genellikle total glikolizin % 20'si 2,3-DPG çemberine girerken geri kalan bölümü fosfogliserat kinaz (PGK) tarafından ADP'yi ko-faktör olarak kullanmak suretiyle 3 PG'ye dönüştürür.

1,3 DPG'nin 2,3-DPG sentezini arttıran madde olduğu belirlenmiştir. 1,3-DPG sentezini kontrol eden faktörlerin inorganik Fosfat ve pH olduğu araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. pH da bir yükselme fosfofrukto kinazı (PFK) aktive ederken, Gliseraldehit - 3 - Fosfatın 1,3-DPG'ye dönüşmesini hızlandırır(68).

Piruvat kinaz eksikliği gibi glikoz metabolizma zincirinin alt bölümlerinde oluşabilecek blok 2,3-DPG'nin sentezini arttırır. Ayrıca 2,3-DPG Fosfatazda DPG miktarını kontrol eden unsurlardan birisidir. pH artışı bu maddeyi aktive ederken 3-PG Konsantrasyonundaki bir artış DPG fosfataz enzimini inhibe eder.

Sonuçta 2,3-DPG miktarı iki ana unsur tarafından etkilenir.

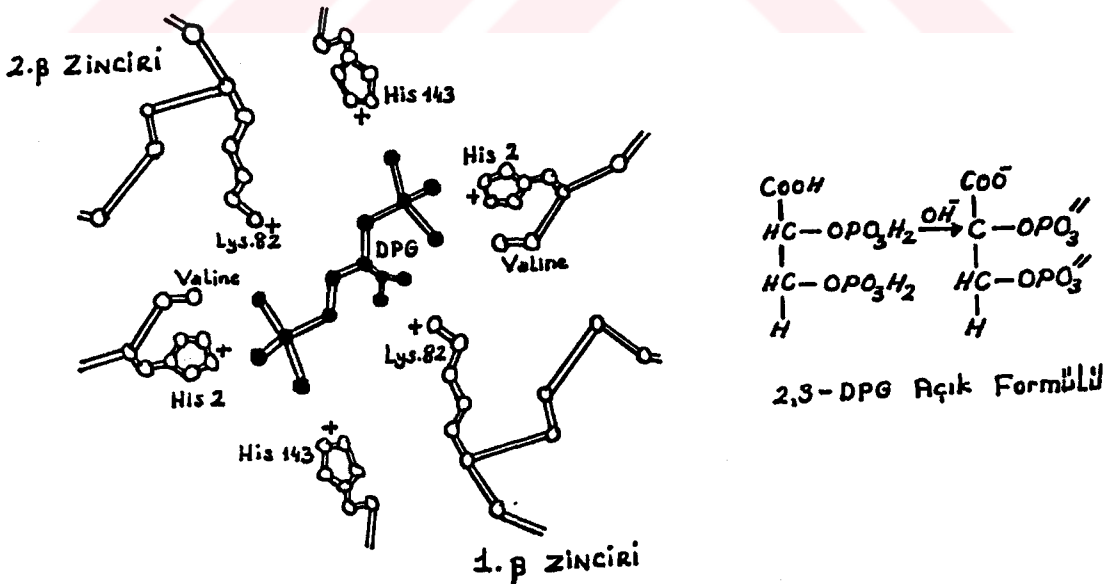
1- pH'da bir düşüş, 2,3-DPG miktarında azalma meydana getirir. Bu azalma glikolizin yavaşlaması, DPG-Mutaz inhibisyonu ve 2,3-Fosfatazın salıverilmesi ile oluşur. Hipoksidede hücre içi pH da artma görülür. Bu artış glikolizi hızlandırarak DPG miktarını da yükseltir.

2- İkinci unsur DPG'nin hemoglobine bağlanmasıdır. Hipoksidede de oksihemoglobinin artması moleküle daha çok DPG bağlanmasını sağlayarak DPG'nin düzenli salıverilmesini ve dolayısıyla 2,3-DPG'nin sentezini hızlandırır. DPG'nin ortamdan çekilmesi DPG-Fosfataz tarafından yıkılmasını önler(56).

2,3-DPG'nin Hemoglobine Bağlanması:

Fizyolojik şartlar altında DPG'nin deoksihemoglobine bağlandığı fakat oksihemoglobine bağlanmadığı sanılmakta idi(8,9). Bu durum Chanutin, Hermann ile Garby ve arkadaşları (1969) tarafından incelenmiş ve DPG'nin hemoglobinin her iki şekline de bağlandığı gösterilmiştir(15,27). Ancak tüm araştırmacılar tarafından hemoglobinin deoksi şeklinin DPG'yi daha çok bağladığı kabul edilmiştir. 2,3-DPG'nin hemoglobin ile özgün olmayan bağlantılar kurabilmesi mümkün ise de deoksihemoglobinin üzerinde özgül bir bağlanma bölgesi olduğu kesinlik kazanmış olup, bu bölgenin oksijen şeklinde ise görülemediği anlaşılmıştır.

2,3-DPG her iki hemoglobin tetrameri ile 1 mol oranında reaksiyona girer. X-ışınları kristallografisi ile DPG molekülünün, deoksihemoglobinin orta çukuruna yerleştiği ve burada her iki beta zincirinin Valin 1, Lysin 82 ve Histidin 143 gibi temel hemoglobin grupları ile reaksiyona girdiği Arnone (1972) tarafından saptanmıştır(4) (Şekil 7).



ŞEKİL 7

2,3-DPG'nin açık formülü ve Deoksihemoglobinin 2 Beta zincirleri arasına bağlanması

Arnone'e göre DPG'nin 5 negatif yüklü grubu hemoglobinin Beta zincirleri arasındaki pozitif yüklü gruplarla tuz köprüleri kurmaktadır. Bu bulgu Perutz'in (1970) daha önceki gözlemlerini doğrulamaktadır. Perutz 2,3-DPG'nin deoksihemoglobinin Beta zincirleri arasındaki açıklığa uyduğunu ve molekülün oksijenlenmesi halinde ise N-Terminalindeki Valinlerin birbirinden uzaklaşmak suretiyle DPG molekülünü boşluktan dışarı attıklarını göstermiştir(48).

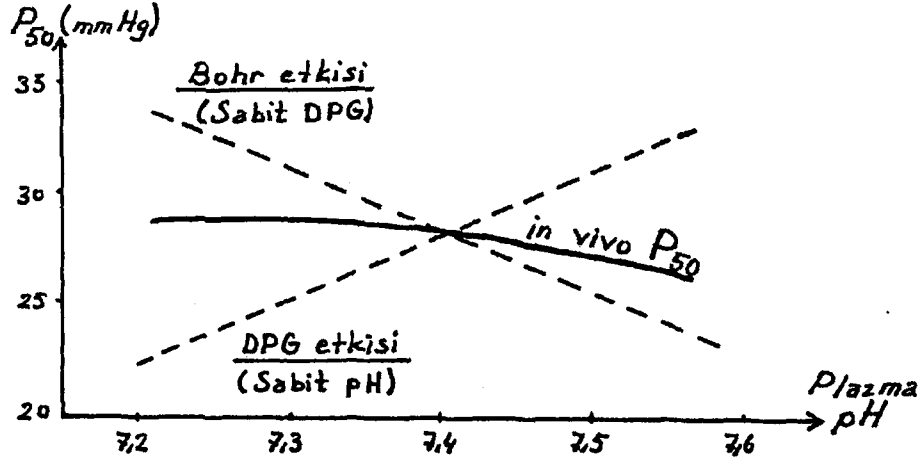
Hem CO₂ ve hem de 2,3-DPG hemoglobinin Beta zincirinin N-Terminal valinlerine bağlandığından, ikisi arasında yerleşme bakımından bir rekabet vardır. Ayrıca hemoglobin molekülünün değişikliği nedeniyle DPG ve O₂ de birbiriyle rekabet eder. Şöyle ki 2,3-DPG hemoglobin molekülünü deoksi konformasyona zorlar ve O₂ açığa çıkar. O₂'nin de hemoglobini oksijen konformasyona çevirmesiyle DPG'yi serbestletir.



Eritrositlerdeki 2,3-DPG Miktarı:

Bir çok araştırmacının bulgularına göre normal eritrositlerdeki 2,3-DPG miktarı 1,3-2,6 µM/ml arasındadır. Eritrositlerde DPG miktarı ile oksijen afinitesi arasında doğru bir ilişki vardır(69).

2,3-DPG'nin artması eritrositlerde oksijen afinitesini azaltırken, DPG'nin seviyesinin düşmesi de oksijen afinitesini arttırır. DPG miktarında 1 µM/grHb'lık bir değişme, tüm kanda P₅₀'nin 0,7 mmHg kadar değişmesine neden olur. Eritrositlerdeki DPG konsantrasyonu % 32 arttığı zaman P₅₀ nin 4,5 mmHg yükseldiği görülmüştür(47). Ancak invivo koşullarda 2,3-DPG'nin P₅₀ üzerindeki etkisi pH'nin direkt etkisi ile hemen hemen bütünüyle kompanse edilebilir.



ŞEKİL 8

Bohr etkisi, DPG etkisi ve her ikisinin bileşik etkisinin P_{50} değerini nasıl değiştirdiği görülmektedir. Lenfant'tan(43)⁵⁰

İnsan yaşı ilerledikçe eritrositlerdeki DPG miktarı azalmaktadır(52). Hipertiriodizm ve konjenital kalp hastalıklarında 2,3-DPG'nin arttığı diabet hastalarında ise düştüğü görülmektedir(3). Değişik ırklarda DPG miktarının farklı olduğu, Eaton ve arkadaşları tarafından 1968'de incelenmiş ve zenci kanının çerkezlerden % 15-20 oranında daha fazla DPG içerdiğini bulmuşlardır. Yüksek dağlarda yaşayanlarda da DPG miktarının arttığını saptamışlardır(22).

2,3-DPG'nin FİZYOLOJİK ve KLİNİK Olaylardaki Değişimi:

ANEMİ: İlk kez Richard ve Strauss 1927'de anemili hastalarda oksijen afinitesinin düştüğünü gösterdiler. Ancak bu olayın nedeni DPG'nin hemoglobin üzerindeki etkisi anlaşılınca kadar açıklığa kavuşturulamamıştır(14).

Aneminin kanama, demir ya da vitamin B_{12} eksikliği gibi nedenlerle oluştuğu bilinmektedir. Anemilerde oksijen afinitesinde normale göre bir azalma görülür. Bu azalma hücre içindeki DPG konsantrasyonunun artmasıyla mümkündür. Kennedy ve Valtiz (1954)'de megaloblastik, hipokromik ve sekonder

anemilerde ODE'nin sağa kaydığını göstermişlerdir(39). Torrance ve arkadaşları 1970'de 85 anemili hasta üzerinde yaptıkları araştırmalarda her eksilen 1 gr/100 ml hemoglobinin karşılığında P_{50} 'nin 0,3 mmHg yükseldiğini bulmuşlardır(68).

Aplastik anemilerde 2,3-DPG artışı azalır. Demir eksikliği anemisinde ise DPG artışı görülüyorsa da DPG ile hemoglobin konsantrasyonu arasında negatif bir ilişki bulunmaktadır.

Kan Depolanmasının 2,3-DPG'ye Etkisi:

Rapoport 1947'de 4°C'de Asit-Sitrat-Dekstroz (ACD) içinde saklanan kanda 2,3-DPG miktarının hızla azaldığını gösterdi. Valtiz ve Kennedy ise ACD ile depolanmış kanın oksijen afinitesinde bir yükselmeyi kanıtladılar(73). Ancak 1967'de Benesch, Chauntin ve Curnish 2,3-DPG'nin hemoglobinin oksijen afinitesi üzerindeki etkisini kanıtlayıncaya kadar bu bulguların nedeni açıklanamamıştır(8).

Burn ve arkadaşları 1969'da ACD ile depolanmış kanda ilk 5 gün içinde DPG oranında % 50 azalma olduğunu göstermişlerdir. Bu azalma ile P_{50} değerinde de bir azalma oluşmaktadır. Öyle ki 2,3-DPG bittiği zaman P_{50} , 12 mmHg kadar azalmaktadır(12).

Bazı araştırmacılar ACD ile depolanmış kan transfizyonu ile taze kan transfizyonunu karşılaştırmışlardır. Taze kan kullanıldığında transfizyondan 3 saat sonra P_{50} 'nin 23,1 mmHg yükseldiğini 5 gün sonra da 28,1 mmHg olduğunu görmüşlerdir. Aynı araştırmacılar 4-5 gün durmuş kan kullanıldığında transfizyondan 3 saat sonra P_{50} 'nin 20 mmHg'den 17,1 mmHg'ye düştüğünü ve bunu izleyen 5 gün içinde P_{50} 'nin 27,9 mmHg'a yükseldiğini gözlemişlerdir. P_{50} 'deki değişmeler DPG konsantrasyonundaki değişmelere uymaktadır. Sonuçta, transfizyon için

sakıncalı sayılmayan 4-5 günlük taze kan kullanıldığında hastaya geçici olarak 2,3-DPG miktarı düşük ve dolayısıyla afinitesi çok yüksek bir kan verilmiş olur. Ayrıca araştırmacılar 24 saatten az bekletilmiş kanda oksijen salıverilmesinin 1,6 Vol./100 ml'den 2,5 Vol./100 ml'ye yükseldiğini, buna karşılık 4-5 gün durmuş kanda oksijen bırakılmasının 1,9 Vol./100 ml'den 1,0 Vol./100 ml'ye düştüğünü hesaplamışlardır(10,20).

Eğer Asit sitrat-Dekstroz (ACD) yerine kana antikoagulan olarak Sitrat-Fosfat-Dekstroz (CPD) çözeltisi eklenirse 2,3-DPG düzeyi daha uzun süre korunur(46). Ayrıca 2,3-DPG düzeyinin değişmesini önlemek amacıyla, transfizyon için kullanılan kanın eritrositlerinin plazmadan derhal ayrılması ve dondurulması bazı araştırmacılar tarafından da önerilmektedir.

2,3-DPG'den arınmış veya konsantrasyonu çok azalmış bulunan kan hastalara transfüze edildiğinde 24 saatte DPG normal düzeyine ulaşabilir; ancak çok ağır bir hasta veya büyük hacimli transfizyonlar için yetersiz olabilir. Böyle bir durumda, kana 2,3-DPG eklenmesi düşünülebilir, fakat eritrosit zarı bu yüksek şarjlı molekülü geçirmediğinden bir fayda sağlamaz. Bunun yerine eritrositlerin bulunduğu ortama inosin verilirse 2,3-DPG azalması önlenebilir. Nedeni inosinin yüksüz olması ve böylece hücre zarından kolaylıkla geçebilmesidir. Eritrosit içinde inosin, bir seri kompleks reaksiyonlarla 2,3-DPG'ye dönüşür. Bu yüzden transfizyon için kullanılacak kana bazen inosin eklenir(65).

Şokun 2,3 DPG'ye Etkisi:

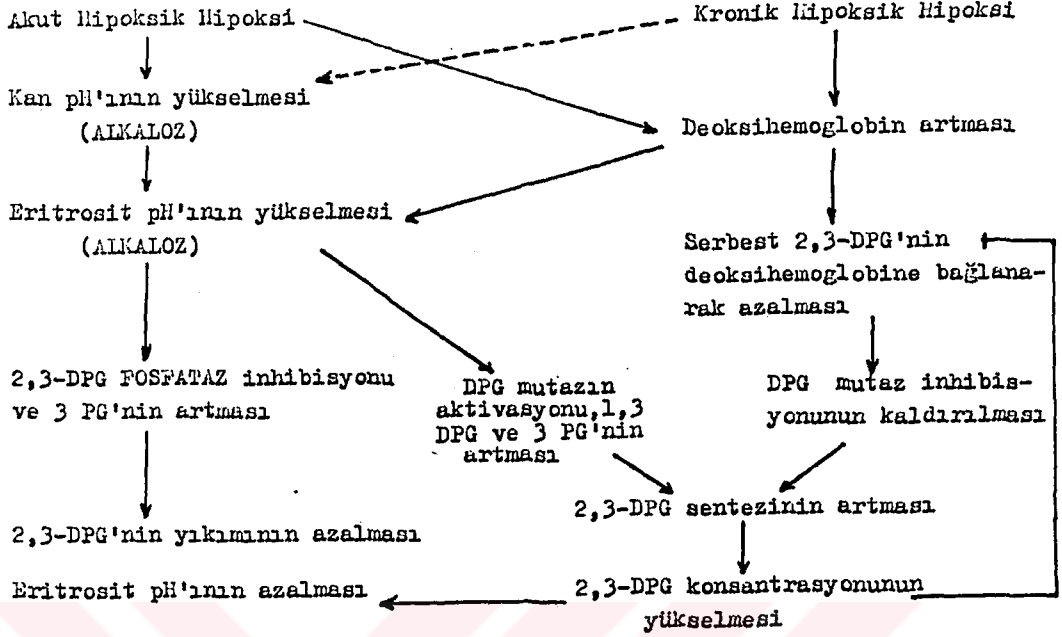
Septik şoktaki hastalarda 2,3 DPG devamlı bir düşüş göstermektedir. Nitekim Chillar ve arkadaşları 1971'de septik kardiojenik ya da hipotermik hastaları araştırarak ilk 6 saat içinde ortalama DPG değerlerinin normalin biraz üstünde oldu-

ğunu ancak bunu izleyen saatlerde metabolik asidoz meydana geldiğinden DPG değerlerinin düştüğünü saptamışlardır.

Proctor ve arkadaşları 1971'de maymunlarda yaptıkları araştırmalarda hemorajik şoku izleyen 2 saat içinde eritrositlerde DPG'de anlamlı bir değişiklik görmemişlerdir. Bu vakalarda, ACD ile depolanmış kan verildiğinde anlamlı bir düşüş görülmüştür. Dengelenmiş tuz solüsyonu intravenöz olarak verildiğinde ise DPG'de anlamlı bir artış meydana gelmiştir(51).

Hipoksemi

Deniz seviyesinden yüksek bölgelerde yaşayan kişilerin kanındaki oksijen afinitesinin düşmesi ilk önce Dill ve arkadaşları tarafından 1937'de gösterilmiştir. 7 yıl sonra Aste-Salazar ve Hurtado 1944'de ODE'de sağa kayma olayını doğrulamışlardır. Lenfant ve arkadaşları 1968'de Lima (PERU)'da yaptıkları bir araştırmada bir grup yerliyi deniz seviyesinden alıp 4509 m yüksekliğe çıkarmışlar. 24 saat sonra bu kişilerde 2,3-DPG konsantrasyonunda normale göre % 51 artış ve ODE'de 4,4 mmHg sağa yatış gözlemişlerdir. Bu değerler denekler dağda kaldıkları sürece değişmemiştir. Denekler deniz seviyesindeki LİMA'ya döndükleri zaman 36 saat içinde 2,3-DPG ve P₅₀ değerleri normale dönmüştür(43). Yine Lenfant 1971'de yüksek dağlarda hiperventilasyon sonucu kanda ALKALOZ meydana geldiğini ve bu alkalozun DPG sentezini artırarak ODE'yi sağa kaydırıldığını göstermişlerdir. Ama yükseğe çıkmadan önce veya yüksekte kalışın ilk 2 gününde asetazolamid alınacak olursa pH'da ve 2,3-DPG düzeyinde değişiklikler oluşmaz ve böylece ODE ile P₅₀ değişmez.



ŞEKİL 9

Eritrositlerde 2,3-DPG miktarını arttıran mekanizmalar

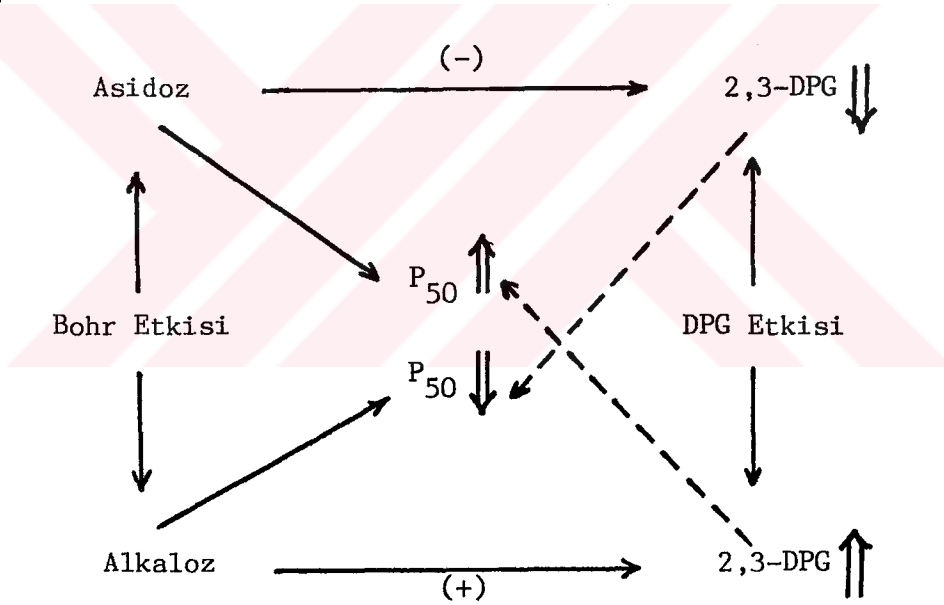
DPG artışını engellemede ya da başlatmada en önemli unsur hücre içi pH olmaktadır. Şöyle ki akut hipoksik hipokside hiperventilasyon sonucu kan pH'sı yükselir ve dolayısıyla eritrosit içi pH'da aynı oranda artar. Kronik hipoksik hipokside ya da anemiden doğan hipokside solunum alkalozu görülür ve bunun sonucu olarak da intrasellüler pH yükselir. Aynı zamanda deoksihemoglobinin artması da Gibbs-Donnan dengesinin değişmesi yoluyla dolaylı olarak intrasellüler pH'yı yükseltir. Eritrosit içi pH'nın yükselmesi 2,3-DPG yıkılmasını azaltırken, yapımını hızlandıran bazı mekanizmaları harekete geçirir. Böylece eritrosit içindeki DPG konsantrasyonu artar. DPG'nin artışı 2 türdür. Feed-Back mekanizması tarafından kontrol edilir (Şekil 9).

1- 2,3-DPG'nin artmasıyla serbest halde bulunan DPG miktarı yükselir ve yapımı için gerekli olan DPG-Mutaz enzimi inhibe olur.

2- Eritrosit DPG'nin artması intrasellüler pH'ı düşürür, bunun nedeni DPG'nin eritrositi terk etmeyen bir anyon olmasıdır. Bu durum Gibbs-Donnan zar dengesini bozar. Eritrosit içindeki pH'nın bu düşüşü hipoksi etkisine de ters düşmektedir. Hipoksi hali, yeniden eritrosit içindeki DPG miktarını yükseltir. Böylece DPG yapımı, kendi kendini düzenleyen bir mekanizma ile kontrol edilmiş olur(72).

Asid-Baz Değişimleri

Bellingham ve arkadaşları 1971'de 2,3-DPG'nin alkalozdan 4 saat sonra anlamlı bir şekilde artmadığını, ancak 24 ile 48 saat arasında sürekli bir şekilde arttığını bulmuşlardır(5).



ŞEKİL 10

Asit-baz dengesinin P₅₀'ye etkisi. Foex(24)'den

Şekil 10'da da görüldüğü gibi asidoz doğrudan doğruya P₅₀'yi yükseltirken, aynı zamanda 2,3-DPG'nin yapımını durdurur. 2,3-DPG'nin yapımının durması ise asidoz etkisinin tersine olarak P₅₀'yi düşürür.

Alkaloz ise doğrudan P_{50} 'yi etkileyerek, düşürür. Ancak bu sırada DPG yapımını hızlandırır ve dolayısıyla P_{50} 'nin artmasına neden olur. Asit-baz dengesi P_{50} 'yi hemen etkilerken, DPG'deki değişimler yavaşlar ve bu yüzden eritrositlerdeki konsantrasyon en üst düzeyine ancak 24-48 saat sonra erişir.

Sonuç olarak 2,3-DPG'nin artıp azalmak suretiyle pH'nın P_{50} üzerindeki etkisini kompanse ettiğini söyleyebiliriz(15).

2,3-DPG Üzerine Hormonların Etkisi

Hipertroidi de, troksinin eritrosit metabolizmasına direkt etkisi sonucunda 2,3-DPG'nin arttığı Versmold ve arkadaşları tarafından ifade edilmektedir(75).

Tiroid hormonlarından başka aldestron, kortizol, androjenler ve somatotrop hormon gibi diğer hormonların da eritrosit 2,3-DPG konsantrasyonunu ve dolayısıyla hemoglobinin O_2 afinitesini etkilediği bazı araştırmacılar tarafından ileri sürülmüş, ancak etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır(45).

Ayrıca Sugerman ve arkadaşları 1972'de oksijen afinitesinin invivo koşulda farmakolojik maddelerle de değişebileceğini kanıtlamışlardır(64). Anestetiklerle verilen bazı maddelerin P_{50} 'yi düşürdüğü ve hatta Halothamin ODE eğrisini sola kaydırıldığını belirlemiştir.

Antreman ve egzersizlerle de arteriyel ve venöz 2,3-DPG'nin % 5.5 ve % 5.3 artması durumunda P_{50} 'de bir değişiklik görülmemiştir. Araştırmacılar akut egzersizde 2,3-DPG'nin yükselmesine karşın P_{50} 'nin değişmemesini antremandan sonra ortalama hemoglobin konsantrasyonundaki düşmeye bağlamaktadırlar(62).

Buraya kadar ODE'nin değişimini açıklayan P_{50} değerinin önemini ve P_{50} 'ye etkileyen parametrelerin, etkiye mekanizmalarını açıklamaya çalıştık.

Ayrıca bu parametrelerin de hangi koşullarda ve ne şekilde değiştii hakkında genel bir bilgi vermek istedik.

Amacımız P_{50} 'nin ULTRASES'le değişimini incelemek olduğundan bu genel bilgilerin ışığı altında söz konusu parametreleri göz önüne alarak ULTRASES'in P_{50} üzerine etkisini inceledik.



GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamızda 13 erkek ve 12 kadın olmak üzere yetişkin ve sağlıklı 25 denegin venöz kanı kullanılarak P_{50} , 2,3 DPG ve kan parametreleri incelendi.

Bu inceleme sırasında deneklerimizden steril koşullarda 30 ml kan alındı. Alım sırasında dışarıdan hava girmesini önlemek amacıyla enjektörün ölü boşluğu heparinle dolduruldu. Alınan tüm kan örneklerinde Eritrosit sayısı, Hemoglobin ve Hematokrit ölçümleri yapıldı. Ayrıca ULTRASES'le ışınlama öncesinde ve ışınlama sonrasında pH, PCO_2 , Aktüel HCO_3^- , standart HCO_3^- , B.E, PO_2 , SO_2 , 2,3-DPG ve P_{50} değerleri tayin edildi.

Elde edilen veriler arasında oluşan farklılıklar istatistiksel yaklaşımla yorumlandı.

Eritrosit Sayımı

Eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekildi. Hayem sulandırma eriyiği ile 200 kez sulandırarak, 1-2 dakika beklendi. Neubauer tipindeki hemositometrede sayım yapıldı. Çıkan sonuçlar önce 200 sonra da 4000 ile çarpılarak 1 mm^3 sulandırılmış kandaki eritrosit sayısı belirlendi.

Hematokrit Tayini

Burada mikro metod kullanıldı. Heparize edilmiş kapiller tüplerin 3/4'üne kadar kan çekildi. Tüplerin bir ucu Tube Sealing Compound ile kapatıldıktan sonra 10.000 devirde 5 dak. santrifüje edildi. Tüplerdeki eritrosit seviyesinin yüzdesi cetvel yardımı ile okundu.

Hb, pH, PCO₂, Aktüel HCO₃⁻, Standart HCO₃⁻, B.E, PO₂ ve SO₂ (O₂ Yüzde Doymuşluk) Tayini

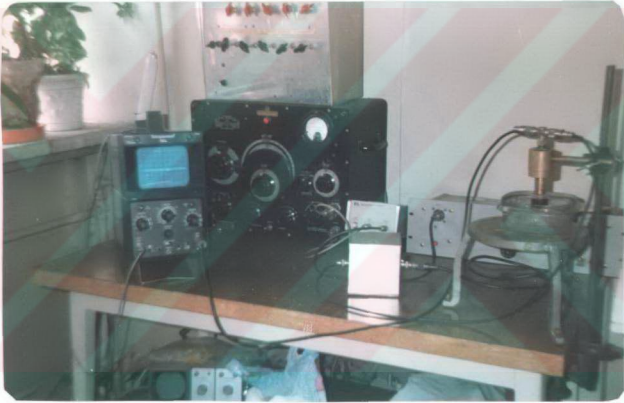
Gerek ışınlama öncesinde ve gerekse ışınlama sonrası kan örnekleri bekletilmeden "ABL-3 Laboratory" aygıtına verildi. Söz konusu ölçümler 0.6 ml'lik örnek kandan bir kerede elde edildi. Bu aygıt elektronik olup, sonuçları hem ekranında görmek ve hem de printeri yardımı ile yazılı olarak almak mümkündür (FOTOĞRAF 1). Kalibrasyonunu kendi kendine yapmakta ve tüm sonuçları 37°C'lik vücut sıcaklığında vermektedir. Halen Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalında rutin olarak kullanılmaktadır.



FOTOĞRAF 1
ABL-3 Laboratory Aygıtı

ULTRASES'le Işınlama

Ultrases ışınlama seti, Fotoğraf 2'de görüldüğü gibi Frekans Jeneratörü (General Radio Co. marka), Frekans tetikleyicisi, amplifikatör (Hewlett-Packard marka), Match-Box ile transduser probundan oluşmuştur. ULTRASES üreten 5 MHz'lik kuars kristali bu transdusere takılmaktadır. Ayrıca kuars kristalin, içinde örnek kan bulunan ve tamamen kapalı olan silindirik kaba ULTRASES ışınını gönderip göndermediği, kontrol devresi ve Ossiloskop (Telequipment marka) yardımı ile her an gözlem altında tutuldu.



FOTOĞRAF 2
ULTRASES Işınlama Seti

Kan örneklerini ULTRASES'le ışınlama süresi 30 dak. idi. Bu süre içinde venöz kandaki metabolizmayı yavaşlatmak için, silindirik kap, küçük buz parçaları ile dolu bir dış kap içinde 0°C sıcaklıkta tutuldu. Ayrıca silindirik kabın boyu da Fresnel bölgesi içinde kalacak şekilde seçildi, tabanı da ULTRASES dalgalarını iyi yansıtsın diye metal (prinç) ile kaplandı(30). Kullanılan ULTRASES dalgalarının puls uzunluğu da $50 \mu\text{Sn}$ idi.

P₅₀ Değerinin Hesaplanması:

P₅₀ değeri, Severinghaus'un nomogram ve hesaplarına dayanarak Aberman ve arkadaşlarının 1975'te geliştirdiği denklemle hesaplandı(1,59). Bu denklem;

$$\text{Erkekler için: } P_{50} = 27,4 \times \frac{PO_{2C}}{PO_{2S}}$$

$$\text{Kadınlar için: } P_{50} = 26,7 \times \frac{PO_{2C}}{PO_{2S}}$$

dir.

P₅₀ : Hemoglobinin yarı doymuşluğundaki, oksijenin parsiyel basıncıdır.

27,4 : Erkekler için;

26,7 : Kadınlar için kullanılan ve normal ODE eğrisi üzerindeki P₅₀'nin sabit değerleridir.

PO_{2C} : Örneklerden ölçülen PO₂'nin, pH: 7,4 ve 37°C'ye göre hesaplama cetveli ile düzeltilmiş değeridir.

PO_{2S} : Örneklerden ölçülen oksijen saturasyonuna, ölçülen pH'da; standart eğri de özdeş olan oksijenin parsiyel basıncıdır.

ABL-3 Laboratory aygıtıyla okunan pH, PO₂ ve SO₂ değerleri ve Severinghaus "Blood Gas Calculator" Typ BCG: 1 (Radiometer-Copenhagen marka) cetveli yardımıyla yapılan düzeltmelerle P₅₀ değerleri hesaplandı.

Bu cetvel; bir ana gövde ile bu gövde içinde hareket edebilen ince bir cetvel ve ana gövde üzerinde sağa sola gidabilen bir gezici göstergeden ibarettir.



FOTOĞRAF 3

Kan gazları hesaplama cetveli ön yüzü I- ve arka yüzü II-

Fotoğraf 3'te de görüldüğü gibi cetvelin bir ön yüzü ve bir de arka yüzü olmak üzere iki yüzü vardır. Ancak biz hesaplamalarımızda cetvelin hep ön yüzünü kullandık. Cetvelin ön yüzünde; üst kısımda, parsiyel oksijen basıncı (PO_2) ve oksijen satürasyon (SO_2), temperatur ve pH değerleri ile alt kısımda ise aneorobik sıcaklık değişimleri ile Gaz-Hacim düzeltim skalası bulunmaktadır. Arka yüzünde ise Handerson - Hasselbalch denkleminin uygulamasını içeren skala vardır.

P_{50} değerinin hesaplanması için iki parametrenin cetvel yardımı ile bulunması gerekir:

1- PO_{2S} 'nin okunuşu: Gezici göstergenin kırmızı çizgisi yardımıyla, $37^{\circ}C$ ve pH: 7,4 değerleri alt alta getirilir. Bu durumda, ölçülen SO_2 değeri (B) skalasında bulunur ve bu

değere karşılık gelen PO_2 değeri (A) skalasında okunur ki bu değer bizim için standart değer sayılır ve PO_{2S} bulunmuş olur.

2- PO_{2C} 'nin okunuşu: Yine gezici göstergenin kırmızı çizgisi yardımıyla $37^{\circ}C$ 'la, örneğin pH değeri alt alta getirilir. Bu sırada ölçülen SO_2 değeri (B) skalasından bulunur ve bu değere karşılık gelen PO_2 değeri (A) skalasından okunur. Bu değer de bize düzeltilmiş PO_{2C} değerini verecektir.

Bulunan PO_{2S} ve PO_{2C} değerleri denklemde yerlerine yazılarak P_{50} değeri hesaplandı.

2,3-DPG'nin Ölçülmesi

2,3-DPG'nin ölçülmesi için SIGMA-Diagnostic firmasının Kalorimetrik hesaplama yöntemini içeren 665 nolu kit'i kullanıldı.

Önce lineer nitelikli kalibrasyon doğrusu milimetrik kağıda çizildi. Bu çizim için:

1- Solüsyonlar test tüplerine aşağıdaki çizelgede gösterildiği gibi pipetlendi.

Tüp No	Fosfor St. Solüsyonu	Arı Su	Kandaki 2,3-DPG ($\mu\text{mol/ml}$) (Kalibrasyon İçin Verilen Sabit Değerler)
1	0	5.1	0
2	0.3	4.8	1.55
3	0.6	4.5	3.10
4	0.9	4.2	4.65
5	1.2	3.9	6.20
6	1.5	3.6	7.75

2- Her iki tüpe 1 ml Asit molibdat solüsyonu ilave edildi ve vertex'le karıştırıldı.

3- Her tüpe 0.25 ml Fiske and Subbarow solüsyonu kondu ve başaşağı çevrilerek karıştırıldı. Renk oluşumu için tüpler karanlıkta 10 dak. bekletildi.

4- 2. tüpten başlayarak 6. tüpe kadar tüm tüpler 660 nm'lik dalga boyunda spektrometrede, 1. tüple kıyaslanacak şekilde absorbansları okundu. Okumalar 10 dak.'lık sürede tamamlandı.

5- Kandaki 2,3-DPG'nin prospektüste verilen sabit değerleri apsiste ve okunan absorbanslarda ordinatta olacak şekilde orijinden geçen lineer kalibrasyon doğrusu milimetrik kağıt üzerine çizildi.

Örneklerimizde; total 2,3-DPG değerlerini saptarken şu aşamalar uygulandı:

1- Heparize venöz kan alındı. 1 ml kan örneği ile 3 ml % 8'lik TCA Karıştırıldı. 10 dak. süreyle 6000 devir/dak. da santrifüj edildi. Tüpün üst kısmında biriken temiz süpernatant, ayrı bir tüpe aktarıldı (süpernatant içindeki 2,3 DPG, gerekirse 0^o-6^oC'de 2 hafta korunabilir).

2- Blank ve test tüpleri her örnek için hazırlandı. Bu tüplere:

	<u>Blank</u>	<u>Test</u>
- Proteinsiz süpernatant	0.5 ml	0.5 ml
- Trictanolamin tampon	2.5 ml	2.5 ml
- Fosfogliserat mutaz	0.02 ml	0.02 ml
- Fosfoglikolik asit	-	0.1 ml

solüsyonları konduktan sonra vertextlendi ve 37^oC'deki su banyosunda inkübasyon için 20 dak. bekletildi. Yine bu tüplere;

	<u>Blank</u>	<u>Test</u>
- TCA (Başasağı getirilerek karıştırıldı)	2 ml	2 ml
- Fosfoglikolik asit (Vertexle karıştırıldı)	0.1 ml	-
- Asit molibdat solüsyonu	1 ml	1 ml
- Fiske and Subbarow	0.25 ml	0.25 ml

solüsyonları ilave edildikten sonra renk oluşumu için karanlıkta 10 dak. bekletildi. Renk oluşumundan sonra 10 dak. içinde Blank ve test tüplerindeki örneklerin absorbanları 660 nm dalga boyunda, arı suya karşı spektrometrede okundu.

3- Okunan absorbanlara, karşılık gelen Blank ve Test'e ait 2,3-DPG değerleri kalibrasyon doğrusu yardımı ile bulundu. Blank ve Test'e ait 2,3-DPG değerleri arasındaki fark da bize örnek kandaki total 2,3-DPG değerini vermektedir.

İstatistiksel Değerlendirme

Aynı örnekler söz konusu olduğundan ve ışınlama öncesi ile sonrası değerlerinin karşılaştırılması gerektiğinden değerlerimizi EŞLENDİRİLMİŞ DİZİLER şeklinde tanımladık ve "Student t" testini uyguladık. Bunun için aşağıdaki formülü kullandık:

$$t = \frac{\bar{x} \cdot \sqrt{n}}{SD_{n-1}}$$

\bar{x} : Işınlama öncesi ve sonrası değerler arasındaki farkların ortalaması

n : Örnek sayısı

SD_{n-1} : Standart sapma (n<100 için)

Hesaplanan "t" değeri, serbestlik derecesi (n-1)'e göre tablodan bulunan (t) değeri ile karşılaştırıldı. Böylece ULTRASES nedeniyle oluşan değişimin anlamlı olup olmadığı belirlendi.

Ayrıca llen parametrelerle, P₅₀ değerleri arasındaki ilişkinin varlığının saptanması ve ilişki gücünün denetlenmesi için KORELASYON analizi yapıldı(74). Analiz sonuçlarında doğrusal ve anlamlı ilişki içeren durumlarda Regresyon analizi uygulanarak deneysel verilerden geçen doğruların denklemleri belirlendi ve grafiksel gösterimleri çizildi.

Korelasyon analizi ile Student "t" testi SINCLAIR marka Spectrum (+) 64 K tipte bilgisayarda hazır paket program yardımı ile yapıldı.

B U L G U L A R

Örneklerimizin yaş ortalaması $35,52 \pm 14,7$ yıl olarak belirlendi. Araştırmamız sonucunda insan venöz kanından in vitro koşulda elde ettiğimiz; Eritrositer parametrelere ait bulgular TABLO 1'de, kan gazları ve asit-baz parametrelerine ait bulgular da TABLO 2'de görülmektedir.

Ayrıca örneklerimizin ortalama % Hemoglobin konsantrasyonunu (MCHC), olası bir aneminin varlığını ve tipini belirlemek için hesapladık. Eritrositlerde ortalama % 35 ± 3 gr hemoglobin konsantrasyonu normal olarak kabul edilmektedir. Eğer hemoglobin konsantrasyonu bu sınırlar içinde ise NORMOKROM, altında ise HİPOKROM, üzerinde ise HİPERKROM olarak belirlenir. Bizim örneklerimizde; ortalama MCHC = % $31,32 \pm 5,6$ gr olduğundan Hipokrom bir anemi saptandı. Yine tek eritrosit ortalama hacmi (MCV): $98,78 \pm 4,73 \mu^3$ olduğundan, eritrositlerin MAKROSİTER olduğunu ve tek eritrositteki Hemoglobin değerinin (MCH) ortalaması: $30,96 \pm 5,27$ mikro-mikrogram 10^{-12} gr olarak belirledik (TABLO 5).

ERİTROSİTER PARAMETRİLER

Eritrosit Sayısı: Örneklerimizin eritrosit ortalaması $4,434 \pm 0,4 \cdot 10^6 \text{ mm}^3$ olarak hesaplandı (TABLO 1). Eritrosit sayıları ile ULTRASES'le ışınlama öncesi hesaplanan P_{50} değerleri arasındaki korelasyon katsayısı $r = 0,037$ idi ve $p < 0,50$ düzeyinde anlamlı bulundu. Işınlama sonrası P_{50} değerleri ile

korelasyonu $r = 0,26$ oldu ve $p < 0,10$ düzeyinde anlamlı olduğu saptandı (TABLO 3).

Hemoglobin Konsantrasyonu: Örneklerimizde ortalama Hemoglobin değeri $13,69 \pm 2,27$ gr ve % ortalaması da $92,49 \pm 15,34$ olarak hesaplandı (TABLO 1). Ölçülen hemoglobin değerleri ile ULTRASES'le ışınlama öncesi hesaplanan P_{50} değerleri arasındaki korelasyon katsayısı $r = 0,32$ olarak hesaplandı ve $p < 0,10$ düzeyinde anlamlı bulundu. Yine hemoglobin değerleri ile ışınlama sonrası hesaplanan P_{50} değerleri arasındaki korelasyon katsayısı $r = 0,16$ olarak hesaplandı ve $p < 0,50$ düzeyinde anlamlı olduğu belirlendi (TABLO 3).

Hematokrit % Değerleri: Örneklerimizde Hematokrit % değerlerinin ortalaması $43,88 \pm 5,12$ olarak hesaplandı (TABLO 1). Ölçülen Hematokrit % değerleri ile P_{50} 'nin ULTRASES'le ışınlama öncesi ve ışınlama sonrası değerleri arasındaki ilişkiyi belirlemek için korelasyon hesapları yapıldı. Işınlama öncesi korelasyon katsayısı $r = 0,09$ idi ve $p < 0,50$ düzeyinde anlamlı bulundu. Işınlama sonrasında ise korelasyon katsayısı $r = 0,16$ idi ve $p < 0,50$ düzeyinde anlamlı olduğu belirlendi (TABLO 3).

KAN GAZLARI VE ASİT-BAZ PARAMETRİLERİ

ULTRASESle ışınlama öncesinde ve ışınlama sonrasında örneklerimizin pH, PCO_2 , Aktüel HCO_3 , Standart HCO_3 , B.E., PO_2 ve SO_2 (oksijen saturasyonu) değerleri bir kerede Digital ABL-3 Laboratory aygıtı ile ölçüldü. Tablo 2'de bu değerlerin tümü ve ortalama değerleri görülmektedir. ULTRASES ışınlaması nedeniyle bu parametrelerde oluşan değişimlerin anlamlılığı araştırıldı ve bu parametreler ile P_{50} değerleri arasındaki ilişkinin gücü belirlendi.

pH Değerleri: Örneklerimizin ULTRASES'le ışınlama öncesi pH değerlerinin ortalaması $7,36 \pm 0,037$ olup, ışınlama ön-

cesi P_{50} değerleri ile korelasyonu $r = -0,879$ olarak hesaplandı ve $p < 0,001$ düzeyinde ileri derecede bir ilişki olduğu belirlendi. Işınlama sonrası ölçülen pH değerlerinin ortalaması $7,34 \pm 0,043$ olup, ışınlama sonrası bulunan P_{50} değerleri ile korelasyonu $r = -0,841$ olarak bulundu. Bu durumda da $p < 0,001$ düzeyinde ileri derecede bir ilişki olduğu saptandı (TABLO 3).

Ayrıca ULTRASES'le ışınlama öncesi ve ışınlama sonrası değişen pH değerleri arasında Student "t" testi uygulandı ve $t = 6,295$ değeri bulundu. Bu sonuca göre ölçülen pH değerlerinde $p < 0,001$ düzeyinde ileri derecede anlamlı bir AZALMANIN olduğu belirlendi (TABLO 4).

PCO₂ (Parsiyel Karbondioksit Basıncı) Değerleri:
ULTRASES'le ışınlama öncesi ölçülen PCO₂ değerlerinin ortalaması $43,84 \pm 10,9$ mmHg idi ve ışınlama öncesi hesaplanan P_{50} değerleri ile korelasyonu $r = -0,041$ olarak bulundu. Işınlama sonrasında ise PCO₂ ortalaması $44,32 \pm 10,8$ mmHg olup, ışınlama sonrası P_{50} değerleri ile korelasyonu $r = -0,203$ olarak saptandı. Gerek ışınlama öncesi ve gerekse ışınlama sonrası korelasyon katsayıları $r = 0,4$ 'ten küçük olduğundan dolayı ihmal edilecek bir ilişki olduğu belirlendi (TABLO 3).

Ayrıca ULTRASES'le ışınlama öncesi ve ışınlama sonrası ölçülen PCO₂ değerleri arasında Student "t" testi yapıldı ve $t = 0,832$ olarak hesaplandı. Böylece $p < 0,5$ düzeyinde anlamsız bir değişim olduğu belirlendi (TABLO 4).

Aktüel HCO₃⁻ Değerleri: Örneklerimizde, ULTRASES'le ışınlama öncesi ölçülen Aktüel HCO₃⁻ değerlerinin ortalaması $26,58 \pm 2,93$ mM/L olup, ışınlama öncesi hesaplanan P_{50} değerleri ile korelasyonu $r = 0,56$ olarak belirlendi. Bu değerler arasında $p < 0,01$ düzeyinde bir ilişki olduğu bulundu. Işınlama sonrasında ise ölçülen Aktüel HCO₃⁻ ortalaması $25,54 \pm 3,12$ mM/L olup ışınlama sonrası hesaplanan P_{50} değerleri ile korelasyo-

nu $r = 0,54$ olarak saptandı. Bu değerler arasında da $p < 0,01$ düzeyinde orta güçte bir ilişki olduğu saptandı (TABLO 3).

Yine ayrıca ULTRASES'le işınlama öncesi ve işınlama sonrası llen Aktüel HCO_3^- değerleri arasında oluşan AZALMA'nın nitelenmesi için Student "t" testi uygulandı ve $t = 4,904$ olarak saptandı. Bu sonuca göre oluşan değişimin $p < 0,001$ düzeyinde ve çok ANLAMLI olduğu belirlendi (TABLO 4).

Standart HCO_3^- Değerleri: ULTRASES'le işınlama öncesi llen Standart HCO_3^- değerlerinin ortalaması $23,86 \pm 1,29$ mM/L olup, işınlama öncesi hesaplanan P_{50} değerleri ile korelasyonu $r = 0,012$ olarak bulundu. Bu değerler arasında $p < 0,50$ düzeyinde ihmal edilecek bir ilişki olduğu saptandı. IŞınlama sonrasında llen Standart HCO_3^- değerlerinin ortalaması $22,68 \pm 1,2$ mM/L olup, işınlama sonrası değerlerle hesaplanan P_{50} bulguları ile korelasyonu $r = 0,091$ olarak belirlendi. Her iki durumda da korelasyon değerleri, $r = 0,4$ değerinden kk olacak Şekilde bulunduğundan dolayı anlamlı bir ilişki saptanamadı (TABLO 3).

Ayrıca ULTRASES'le işınlama öncesi ve işınlama sonrası llen Standart HCO_3^- değerleri arasında oluşan AZALMA'nın irdelenmesi için de Student "t" testi uygulandı ve $t = 7,99$ olarak bulundu. Bu değere göre oluşan azalmanın $p < 0,001$ düzeyinde ileri derecede ANLAMLI olduğu belirlendi (TABLO 4).

B.E. (Base Excess) Değerleri: ULTRASES'le işınlama öncesi llen B.E. değerlerinin ortalaması $0,52 \pm 1,56$ mEq/L olarak belirlendi ve işınlama öncesi hesaplanan P_{50} değerleri ile korelasyonu $r = 0,21$ idi. IŞınlama sonrasında ise llen B.E. değerlerinin ortalaması $-0,72 \pm 1,53$ mEq/L Şeklinde saptandı ve işınlama sonrası P_{50} değerleri ile korelasyonu $r = 0,23$ oldu. Ancak gerek işınlama öncesi gerekse işınlama sonrası $p < 0,30$ olarak saptandığından anlamlı bir iliŐkiden söz etmek mümkün olmadı (TABLO 3).

Fakat ışınlama öncesi ve ışınlama sonrası ölçülen B.E. değerleri arasında görülen değişim için $t = 7,29$ olarak bulundu. Bu sonuca göre $p < 0,001$ düzeyinde ileri derecede ANLAMLI bir azalma saptandı (TABLO 4).

PO₂ (Parsiyel Oksijen Basıncı) Değerleri: Örneklerimizin ULTRASES'le ışınlama öncesi, ölçülen PO₂ değerlerinin ortalaması $29,97 \pm 11,56$ mmHg olup, ışınlama öncesi hesaplanan P₅₀ değerleri ile korelasyonu $r = -0,45$ olarak bulundu. Işınlama sonrası ölçülen PO₂ değerlerinin ortalaması ise $32,26 \pm 11,77$ mmHg idi ve ışınlama sonrası hesaplanan P₅₀ değerleri ile korelasyonu $r = -0,41$ olarak bulundu. Bu sonuçlara göre $p < 0,05$ düzeyinde zayıf bir ilişkinin varlığı belirlendi (TABLO 3).

ULTRASES'le ışınlama öncesi ve ışınlama sonrası ölçülen PO₂ değerlerinde görülen ARTMA, Student "t" testi ile incelendi ve $t = 3,038$ olarak bulundu. Buna göre $p < 0,01$ düzeyinde ANLAMLI bir artmanın olduğu saptandı (TABLO 4).

SO₂ (Oksijen Satürasyonu) Değerleri: ULTRASES ışınlaması yapılmadan önce ölçülen SO₂ değerlerinin ortalaması $49,26 \pm 17,97$ mmHg oldu ve ışınlama öncesi hesaplanan P₅₀ değerleri ile korelasyonu $r = -0,55$ olarak belirlendi. Bu sonuca göre $p < 0,01$ düzeyinde orta güçte bir ilişkinin olduğu saptandı. Işınlama sonrası ölçülen SO₂ değerlerinin ortalaması $54,02 \pm 17,6$ mmHg idi ve ışınlama sonrası hesaplanan P₅₀ değerleri ile korelasyonu da $r = -0,43$ olarak belirlendi. Bu sonuçta bize $p < 0,05$ düzeyinde bir ilişkinin olduğunu anlatmaktadır (TABLO 3).

Yine ULTRASES'le ışınlama öncesi ve ışınlama sonrası ölçülen SO₂ değerlerinde görülen ARTMA, Student "t" testi ile incelendi. $t = 2,68$ idi ve $p < 0,02$ düzeyinde anlamlı bir artmanın olduğu saptandı (TABLO 4).

2,3-DPG Değerleri: Pulsasyonlu ULTRASES'le ışınlamadan önce ölçülen total 2,3-DPG değerleri ortalaması $1,21 \pm 0,27$ $\mu\text{M/ml}$ olup, ışınlama öncesi P_{50} değerleri ile korelasyonu $r = 0,42$ idi. Bu değere göre $p < 0,05$ düzeyinde zayıf bir ilişkinin olduğu belirlendi. Işınlama sonrası ölçülen total 2,3-DPG değerlerinin ortalaması $1,55 \pm 0,27$ $\mu\text{M/ml}$ olup, ışınlama sonrası P_{50} değerleri ile korelasyonu da $r = 0,29$ olarak belirlendi. Bu değere göre bir ilişki varlığı saptanamadı (TABLO 3).

Ayrıca ULTRASES'le ışınlama nedeniyle total 2,3-DPG değerlerinde oluşan değişimde Student "t" ile incelendi ve $t = 7,276$ olarak bulundu. Bu sonuca göre total 2,3-DPG değerlerinde $p < 0,001$ düzeyinde ileri derecede ANLAMLI bir ARTMA olduğu saptandı (TABLO 4).

P_{50} Değerleri: 5 MHz'lik sabit frekanslı ULTRASES'le 30 dak. süreyle ışınlama öncesi hesaplanan P_{50} değerlerinin ortalaması $28,1 \pm 2,18$ mmHg idi ve ışınlama sonrası P_{50} değerlerinin ortalaması ise $29,8 \pm 1,52$ mmHg olarak saptandı (TABLO 2).

ULTRASES'le ışınlama sonucunda P_{50} değerlerinde oluşan ARTMA'nın da Student "t" testine göre ($t = 8,506$) ileri derecede olduğu ve $p < 0,001$ düzeyinde ANLAMLI olduğu saptandı (TABLO 4).

Ayrıca Eritrositer parametrisinin (Eritrosit Sayısı, Hb ve Hct) ortalama değerleri ile standart sapmalarını içeren grafiksel gösterimleri çizildi (Şekil 11). Yine kan gazları ile asit-baz parametrisinin (pH, PCO_2 , Aktüel HCO_3^- , Standart HCO_3^- , B.E., PO_2 , SO_2), 2,3-DPG'nin ve P_{50} 'nin ULTRASES ışınlaması nedeniyle, oluşan değişimleri grafiksel olarak çizildi (Şekil 12).

P₅₀ değerleri ile diğer parametirler arasında olası ilişkilerin saptanması için korelasyon analizi yapıldı.

P₅₀ ile pH, Aktüel HCO₃⁻, PO₂, SO₂ ve 2,3-DPG arasında olan ilişkilerinde grafiksel gösterimleri belirlendi (şekil 13, 14, 15, 16, 17).



TABLO 1
Eritrositer Parametiriler

Sıra No	Adı ve Soyadı	Yaş	Cins	Eritrosit $\times 10^6 \text{ mm}^3$	Hb		Hct %
					Gr	%	
1	H.İ.Ş.	22	E	4,50	16,5	111,4	46
2	K.M.	14	E	4,45	14,3	96,6	41
3	S.B.	46	E	4,60	15,6	105,4	45
4	M.D.	48	E	4,15	12,8	86,4	41
5	A.İ.	46	K	3,80	10,6	71,6	35
6	K.B.	54	E	4,66	15,2	102,7	52
7	M.Ş.	65	E	4,55	11,5	77,7	40
8	M.A.	40	E	5,15	14,3	96,6	52
9	H.Y.	30	E	4,50	14,9	100,6	45
10	K.V.	35	K	4,45	11,2	75,6	43
11	T.A.	27	E	4,70	15,0	101,3	46
12	S.D.	20	K	3,95	10,8	72,9	39
13	İ.A.	50	E	4,30	11,8	79,7	42
14	N.D.	22	E	4,85	14,9	100,6	48
15	S.K.	23	E	4,50	16,0	108,1	42
16	K.S.	32	E	4,95	15,9	107,4	52
17	Ş.H.	19	K	3,90	10,6	71,6	38
18	S.V.	24	K	4,00	11,1	75,0	41
19	A.A.	18	K	4,50	13,2	89,1	46
20	S.Ö.	59	K	4,80	17,0	114,8	49
21	F.D.	46	K	4,45	13,5	91,2	45
22	M.Ş.	51	K	3,95	10,1	68,2	39
23	S.O.	45	K	5,10	12,9	87,1	52
24	G.S.	17	K	3,60	18,1	122,2	34
25	N.K.	35	K	4,50	14,6	98,6	44
Ort.		35,5		4,43	13,69	92,49	43,88
SD _{n-1}		±14,7		±0,40	±2,27	±15,34	± 5,12

(37°C'deki ölçümler)

TABLO 2
Kan Gazları ve Asit-Baz Parametirileri

Sıra No	pH		PCO ₂		Aktüel HCO ₃ ⁻		Standart HCO ₃ ⁻		B.E.		PO ₂		SO ₂		2,3-DPG		P ₅₀	
	Ü	S	Ü	S	Ü	S	Ü	S	Ü	S	Ü	S	Ü	S	Ü	S	Ü	S
1	7,39	7,37	49,8	51,2	29,5	29,3	25,8	25,3	3,5	2,9	22,0	22,2	36,7	39,2	0,83	1,25	27,22	28,27
2	7,36	7,34	48,1	48,8	26,3	25,6	23,7	23,0	0,5	-0,4	27,1	31,6	47,3	56,4	0,65	0,85	27,14	28,7
3	7,37	7,35	46,2	45,4	27,0	25,1	24,7	22,8	1,5	-0,5	28,5	29,9	52,1	53,7	1,65	1,90	28,49	28,61
4	7,37	7,39	47,7	37,2	26,8	21,8	23,9	21,6	1,1	-2,4	18,3	37,8	25,8	70,8	1,24	1,35	28,25	27,8
5	7,40	7,38	38,7	38,8	23,5	22,9	23,7	23,1	-0,8	-1,5	63,1	66,2	59,3	69,2	0,90	1,80	27,4	28,30
6	7,39	7,37	44,6	43,6	26,5	25,8	24,7	23,9	1,3	0,7	33,2	35,1	63,2	67,9	1,30	1,45	27,90	28,70
7	7,36	7,33	53,1	53,8	28,9	27,8	25,9	23,8	2,6	0,8	28,5	29,6	52,9	61,5	1,60	1,72	28,3	29,67
8	7,28	7,26	63,4	66,5	30,5	29,6	25,1	23,9	2,2	0,9	28,1	29,9	45,1	48,8	1,92	2,00	31,10	33,60
9	7,35	7,33	48,2	49,5	26,4	25,2	23,6	22,4	0,3	-0,9	28,9	29,2	53,2	58,9	1,38	2,22	28,0	29,6
10	7,35	7,32	49,0	50,9	32,9	32,5	24,0	22,3	0,3	-1,0	26,2	25,9	57,2	59,4	1,34	1,39	28,3	30,6
11	7,34	7,32	53,1	54,2	27,5	27,0	23,9	23,3	0,7	-0,1	29,8	30,3	52,1	54,9	1,40	1,57	29,03	31,7
12	7,39	7,37	35,1	36,2	23,5	20,7	20,2	20,1	-3,7	-3,6	20,9	24,1	32,8	34,0	1,25	1,50	27,8	29,2
13	7,39	7,37	30,6	31,3	27,7	27,6	25,7	24,5	2,4	1,4	46,8	49,1	57,8	57,9	1,15	1,39	28,3	29,2
14	7,32	7,30	58,3	59,0	28,2	28,0	23,1	22,7	0,6	0,2	17,1	17,7	21,3	27,3	1,4	1,8	29,30	31,4
15	7,37	7,35	24,3	26,1	20,1	19,7	23,8	23,2	-0,6	-1,2	23,0	24,2	39,7	44,6	1,20	1,5	28,30	29,6
16	7,36	7,35	43,7	43,6	24,0	23,4	22,3	21,4	-1,3	-2,2	33,1	33,8	60,1	61,5	1,2	1,55	28,2	29,17
17	7,38	7,36	42,7	41,9	24,9	24,3	22,6	21,2	-0,8	-1,7	36,4	37,6	69,0	71,4	1,15	1,55	27,30	27,90
18	7,37	7,35	50,3	49,7	27,2	26,5	24,3	23,5	0,6	-0,8	29,0	31,1	52,7	56,3	1,30	1,55	27,75	28,5
19	7,34	7,32	48,0	46,4	24,9	23,7	22,8	21,8	-1,0	-2,3	37,4	39,4	66,8	69,1	0,95	1,80	28,1	29,3
20	7,41	7,39	37,6	38,0	23,8	22,9	24,0	23,0	-0,1	-1,3	51,8	53,5	86,8	87,0	1,20	1,50	26,3	27,2
21	7,39	7,34	48,2	50,1	28,3	26,2	25,7	22,6	2,7	-0,4	27,6	29,6	50,8	51,9	1,18	1,55	27,09	28,6
22	7,39	7,38	44,6	44,8	26,1	25,9	24,2	23,3	1,0	0,6	19,4	19,9	29,6	30,5	1,25	1,40	27,02	27,4
23	7,42	7,33	36,0	43,5	22,9	22,3	23,2	20,6	-0,9	-3,8	41,3	44,3	77,5	76,1	1,00	1,45	25,9	28,9
24	7,25	7,19	10,2	12,4	32,2	30,8	22,9	22,2	1,4	-0,1	10,2	12,4	7,3	9,2	0,9	1,30	31,5	32,2
25	7,37	7,34	44,6	45,2	24,9	24,1	22,7	21,7	-0,4	-1,5	21,7	22,1	34,4	34,2	1,15	1,50	27,6	28,8
Ort.	7,36	7,34	43,8	44,3	26,58	25,54	23,86	22,68	0,52	-0,72	29,97	32,26	49,26	54,02	1,21	1,55	28,1	29,8
±SD _{n-1}	0,037	0,043	10,9	10,8	2,93	3,12	1,29	1,20	1,56	1,53	11,56	11,77	17,97	17,60	0,27	0,27	2,18	1,52

(37°C'deki ölçümler)

TABLO 3

Eritrositer Parametrilerin ve Kan Gazları İle Asit-Baz Parametrilerin ULTRASES'le Işınlama Öncesi ve Işınlama Sonrası Değerleri İle P₅₀'nin Işınlama Öncesi ve Işınlama Sonrası Değerleri Arasındaki KORELASYON Katsayıları ve Olası Bağını Sonuçları

Parametriler		P ₅₀ (mmHg)	
		ÖNCE	SONRA
Eritrosit		-0,037 p<0,50	0,26 p<0,10
Hb (gr)		0,32 p<0,10	0,28 p<0,10
Hct (%)		-0,09 p<0,50	0,16 p<0,50
pH	Ö	-0,88 p<0,001**	-0,84 p<0,001**
	S		
PCO ₂ (mmHg)	Ö	-0,04 p<0,50	0,20 p<0,30
	S		
Aktüel HCO ₃ ⁻	Ö	0,56 p<0,01*	0,54 p<0,01*
	S		
Standart HCO ₃ ⁻	Ö	0,012 p<0,50	0,091 p<0,50
	S		
B.E. (mEq/L)	Ö	0,21 p<0,30	0,23 p<0,30
	S		
PO ₂ (mmHg)	Ö	-0,45 p<0,05*	-0,41 p<0,05*
	S		
SO ₂ (%)	Ö	-0,55 p<0,01*	-0,43 p<0,05*
	S		
2,3-DPG (µmol/ml)	Ö	0,42 p<0,05*	0,29 p<0,10
	S		

TABLO 4

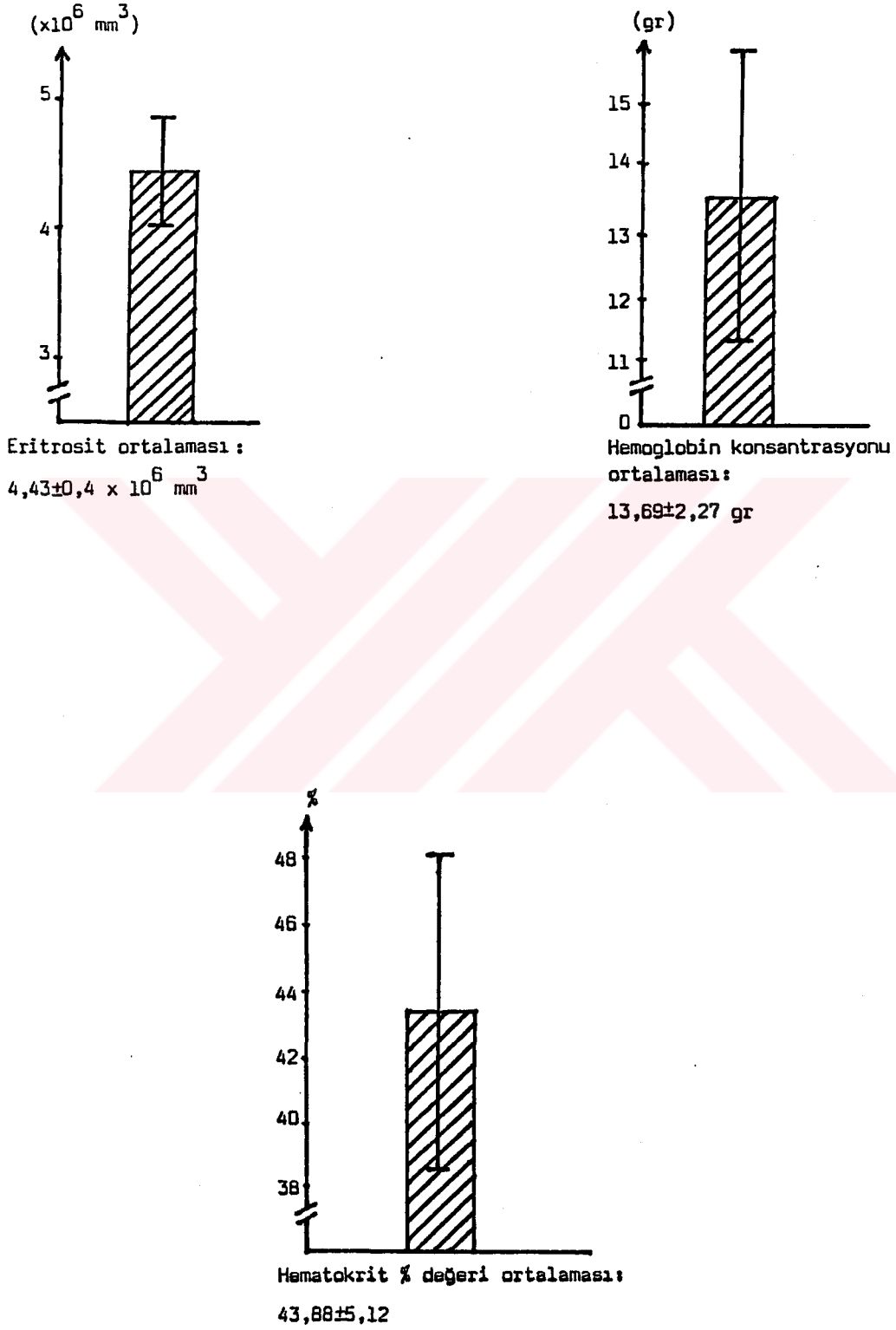
ULTRASES Işınlaması Nedeniyle Işınlama Öncesi ve Işınlama Sonrası pH, PCO₂, Aktüel HCO₃⁻, Standart HCO₃⁻, B.E., PO₂, SO₂, 2,3-DPG ve P₅₀ Değerlerinde Oluşan Farklılaşmaların Anlamlılık Tablosu (Student "t" Testi Uygulandı)

pH	t = 6,295, p<0,001 ileri derecede anlamlı AZALMA***
PCO ₂ (mmHg)	t = 0,832, p<0,5 anlamsız bir ARTMA
Aktüel HCO ₃ ⁻ (mM/L)	t = 4,904, p<0,001 ileri derecede anlamlı AZALMA***
Standart HCO ₃ ⁻ (mM/L)	t = 7,99, p<0,001 ileri derecede anlamlı AZALMA***
B.E. (mEq/L)	t = 7,29, p<0,001 ileri derecede anlamlı AZALMA***
PO ₂ (mmHg)	t = 3,038, p<0,01 anlamlı bir ARTMA**
SO ₂ (%)	t = 2,684, p<0,02 anlamlı bir ARTMA**
2,3-DPG (µmol/ml)	t = 7,276, p<0,001 ileri derecede anlamlı ARTMA***
P ₅₀ (mmHg)	t = 8,506, p<0,001 ileri derecede anlamlı ARTMA***

TABLO 5

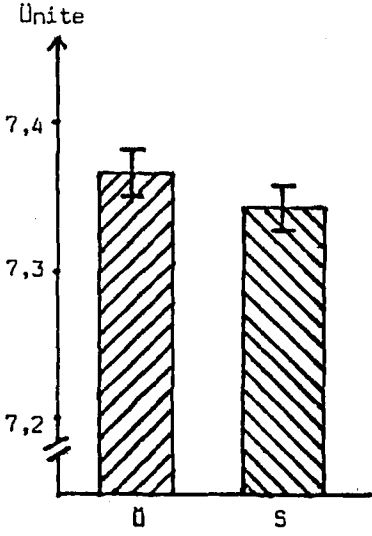
Eritrosit Ortalama Hemoglobin Konsantrasyon (MCHC),
Tek Eritrosit Ortalama Hacmi (MCV),
Tek Eritrosit Ortalama Hemoglobin (MCH)
Değerleri Tablosu

No	MCHC ($\frac{Hb}{Hct} \times 100$)	MCV ($\frac{Hct}{Er.say} \times 10$)	MCH ($\frac{Hb}{Er.say} \times 10$)
1	35,86	102,20	36,66
2	34,87	92,13	32,13
3	34,66	97,82	33,91
4	31,21	98,79	30,84
5	30,28	92,10	27,89
6	29,23	111,50	32,61
7	28,75	87,91	25,27
8	27,50	100,97	27,76
9	31,11	100,00	33,11
10	26,04	96,62	25,16
11	32,60	97,87	31,91
12	27,69	98,73	27,34
13	28,09	97,67	27,44
14	31,04	98,96	30,72
15	38,09	93,33	35,55
16	30,57	105,05	32,12
17	27,89	97,43	27,17
18	27,07	102,50	27,75
19	28,69	102,22	29,33
20	34,69	102,08	35,41
21	30,00	101,12	30,33
22	25,89	98,73	25,57
23	24,80	101,96	25,29
24	53,23	94,44	50,27
25	33,18	97,77	32,44
	$\bar{X} = 31,321$ $SD_{n-1} = 5,686$	$\bar{X} = 98,798$ $SD_{n-1} = 4,731$	$\bar{X} = 30,96$ $SD_{n-1} = 5,276$

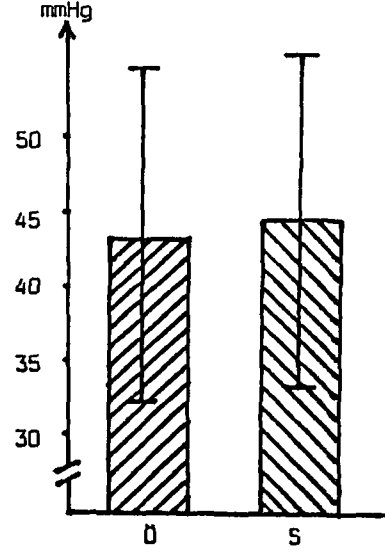


ŞEKİL 11

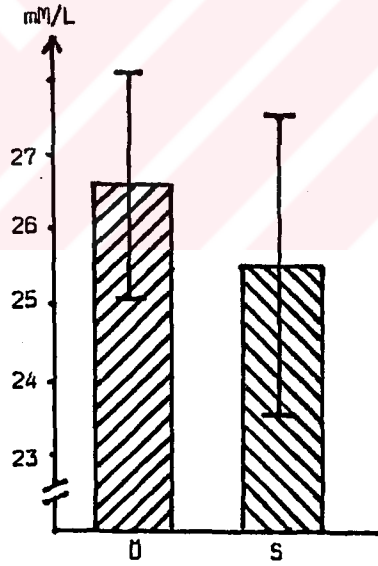
Eritrositer parametirler ortalaması ve standart sapmaları



pH ortalama değerleri:
Ü: 7,36±0,037
S: 7,34±0,043
p<0,001***



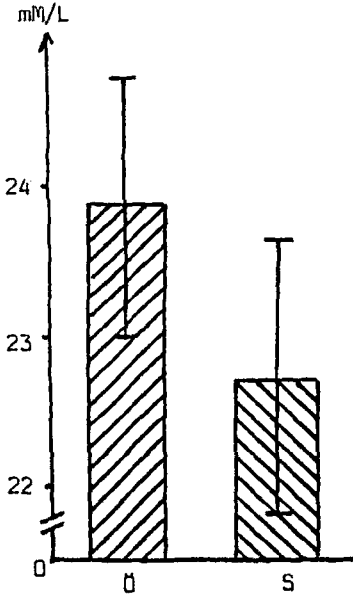
PCO₂ ortalama değerleri:
Ü: 43,84±10,9 mmHg
S: 44,32±10,8 mmHg
p<0,5



Aktüel HCO₃⁻ değerleri ortalaması:
Ü: 26,58±2,93 mM/L
S: 25,54±3,12 mM/L
p<0,001***

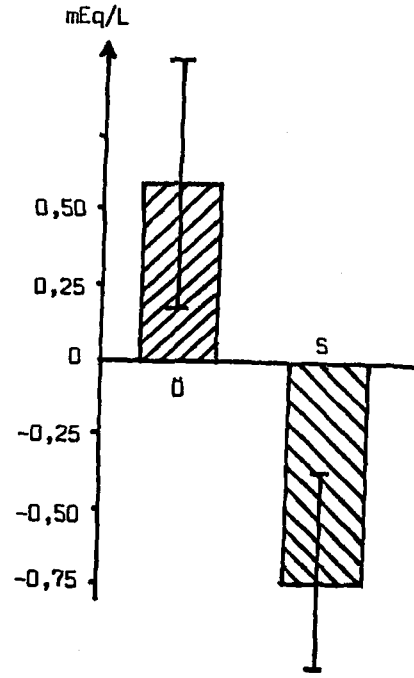
ŞEKİL 12

Kan gazları ve asit-baz parametrislerinin ultrasesle değişimleri



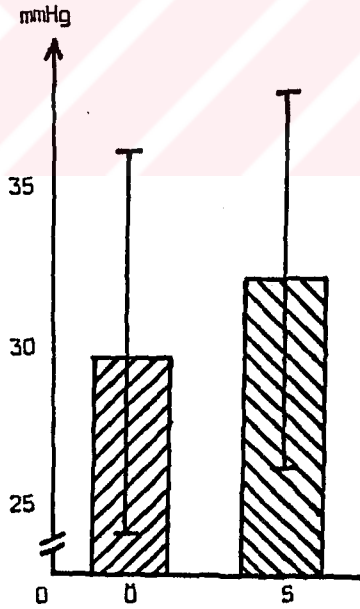
Standart HCO_3^- değerleri ortalaması:

Ü: $23,86 \pm 1,29$ mM/L
S: $22,68 \pm 1,20$ mM/L
 $p < 0,001^{***}$



B.E. değerleri ortalaması:

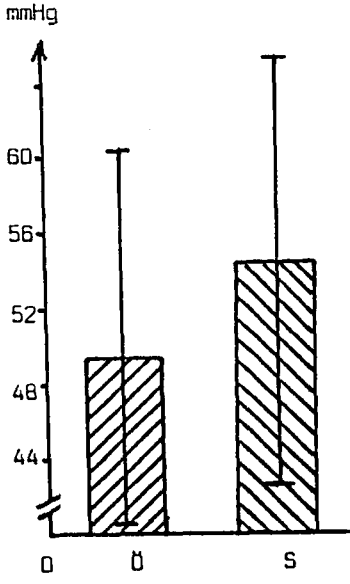
Ü: $0,52 \pm 1,56$ mEq/L
S: $-0,72 \pm 1,53$ mEq/L
 $p < 0,001^{***}$



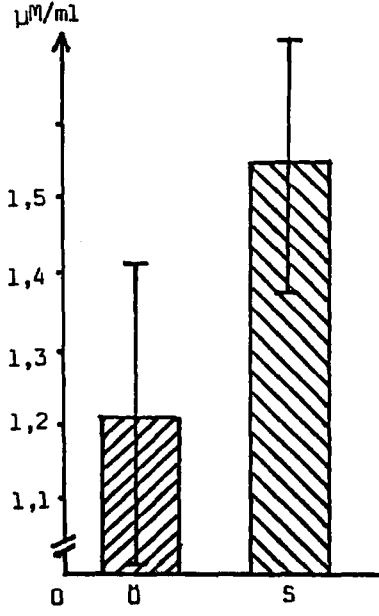
PO_2 değerleri ortalaması:

Ü: $29,97 \pm 1,56$ mmHg
S: $32,26 \pm 1,77$ mmHg
 $p < 0,01^{**}$

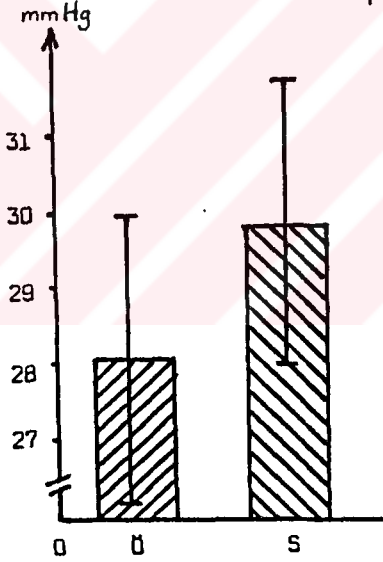
ŞEKİL 12 (devam)



SO₂ değerleri ortalaması:
Ü: 49,26±17,97 mmHg
S: 54,02±17,6 mmHg
p<0,02**

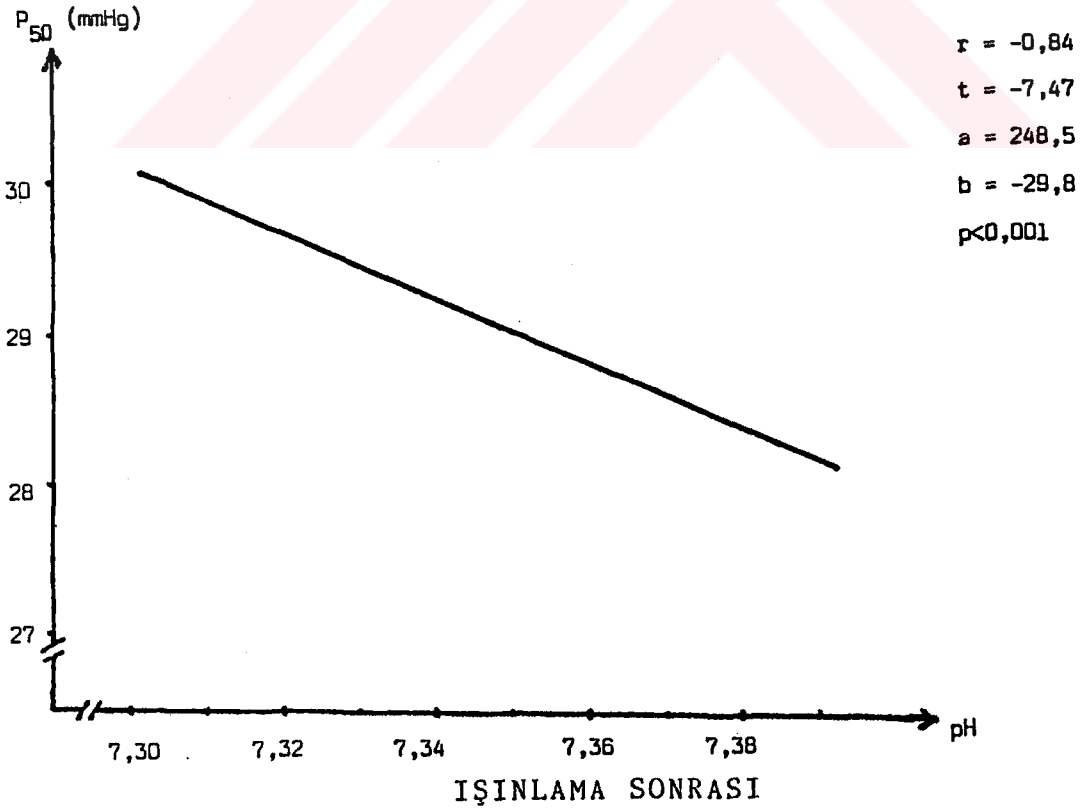
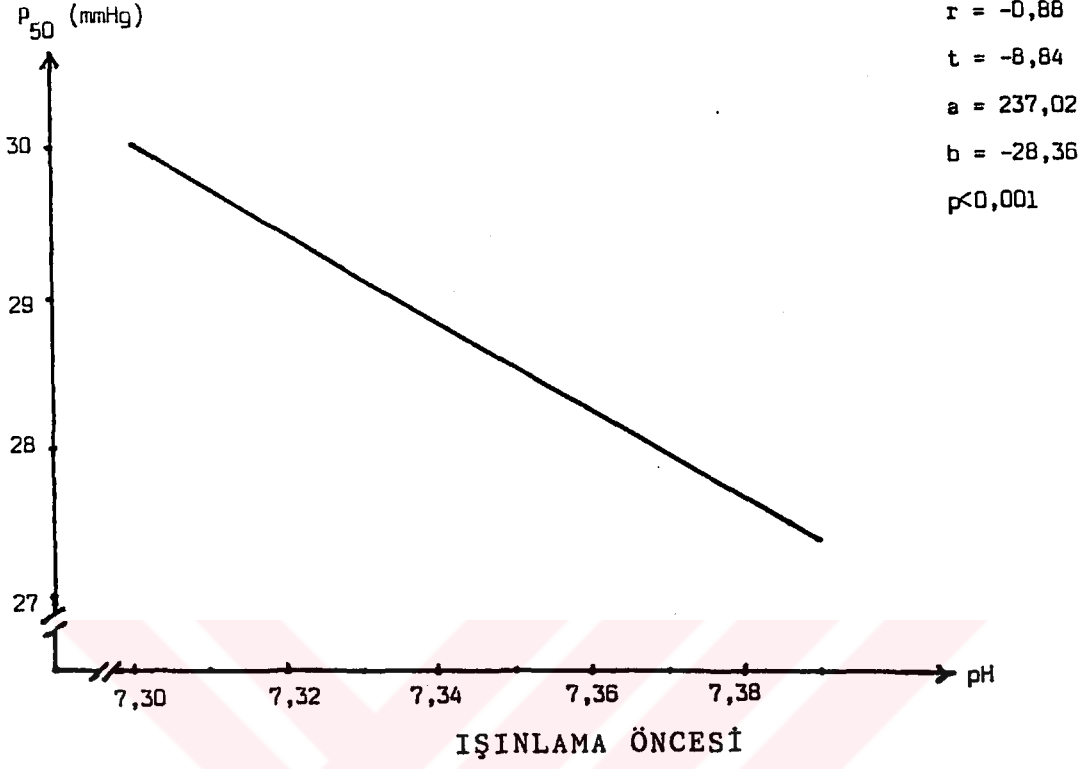


2,3-DPG değerleri ortalaması:
Ü: 1,21±0,27 µM/ml
S: 1,55±0,27 µM/ml
p<0,001***

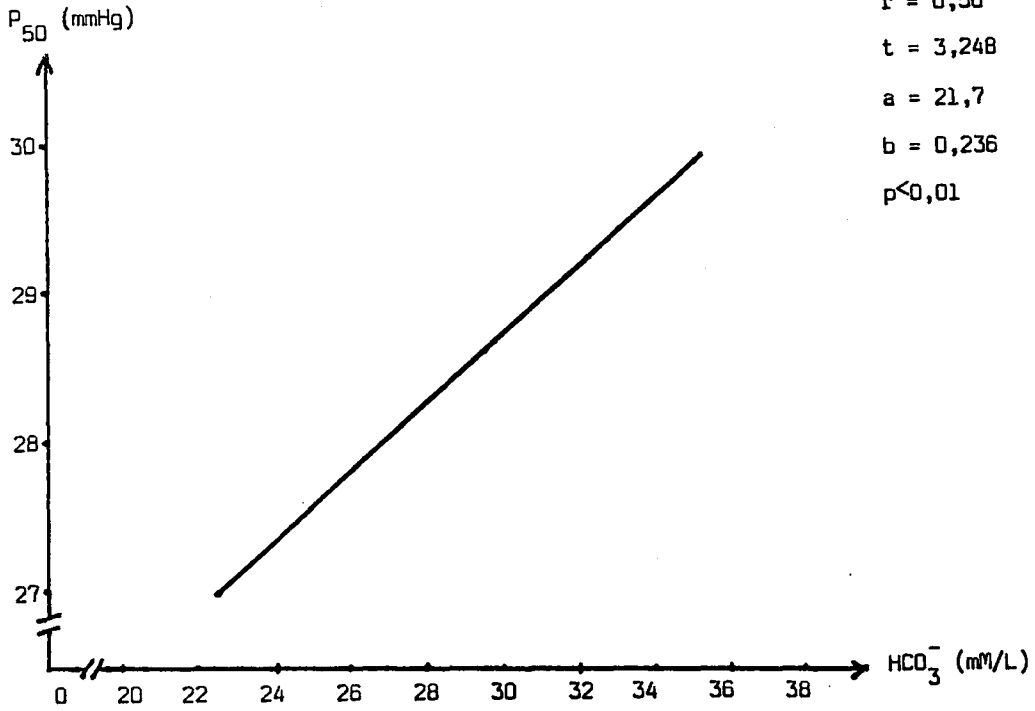


P₅₀ değerleri ortalaması:
Ü: 28,1±2,18 mmHg
S: 29,8±1,52 mmHg
p<0,001***

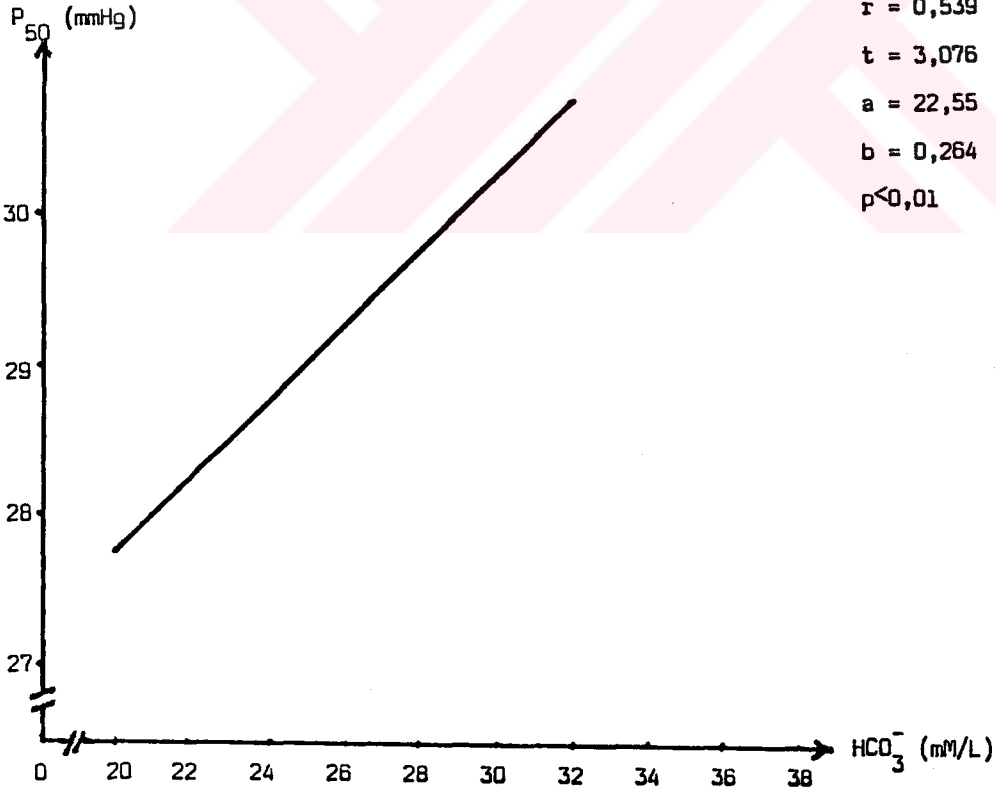
ŞEKİL 12 (devam)



ŞEKİL 13
 P_{50} ile pH arasında ilişki

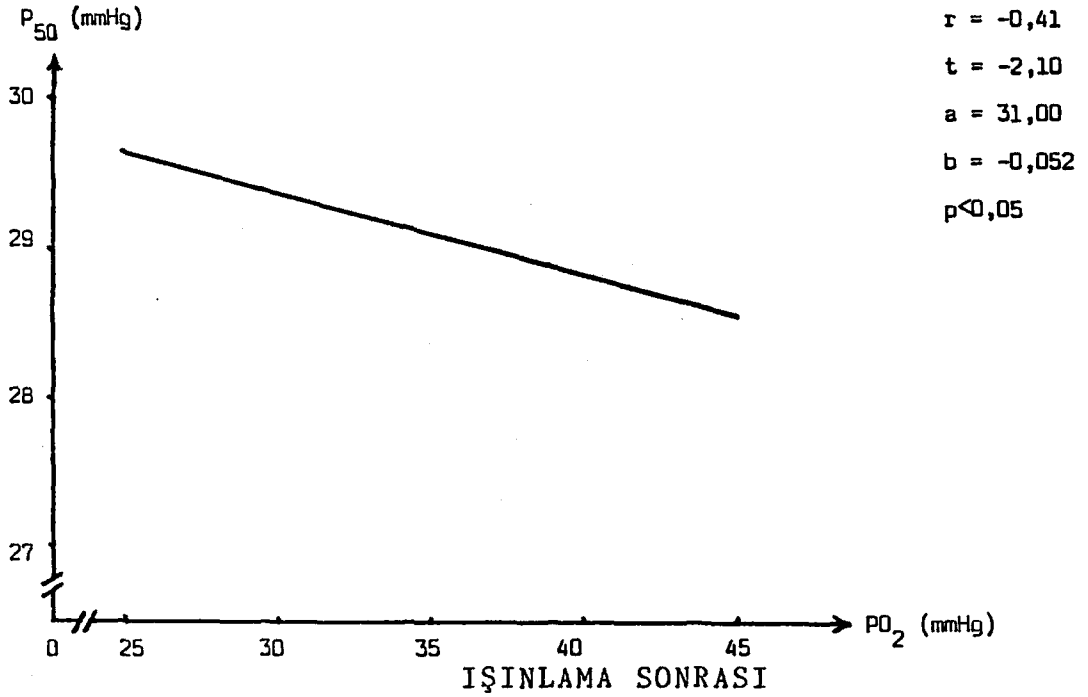
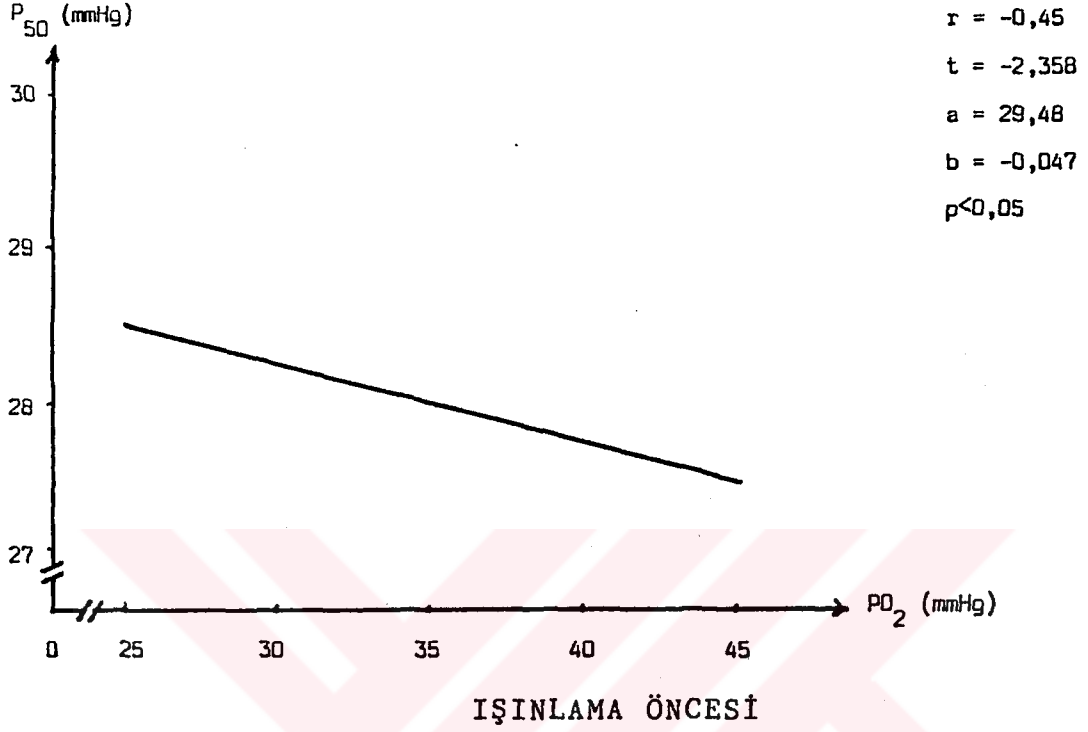


İŞINLAMA ÖNCESİ

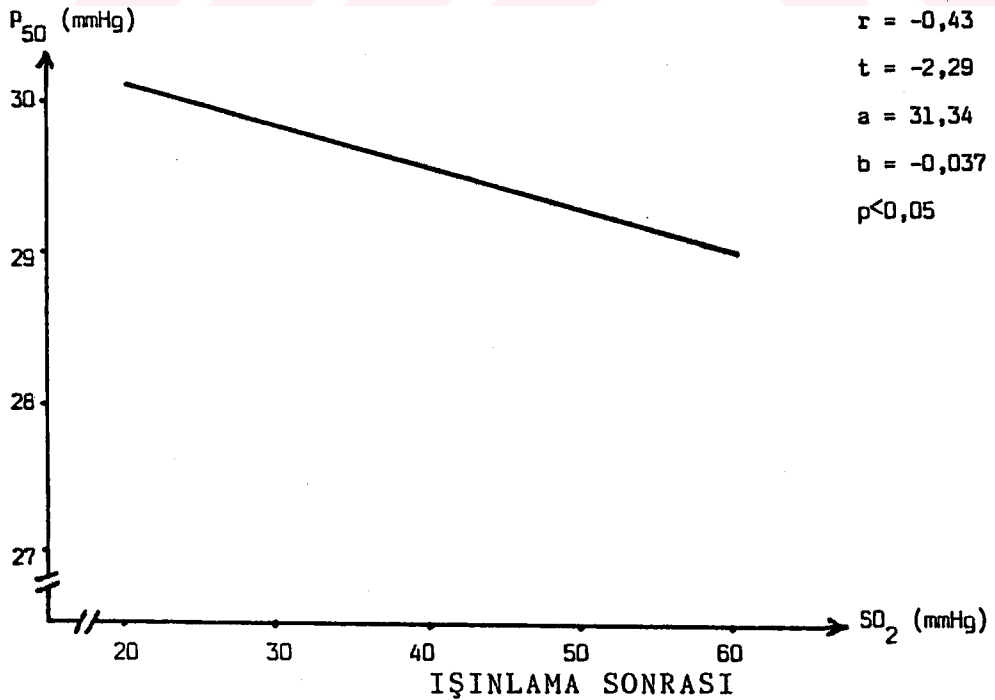
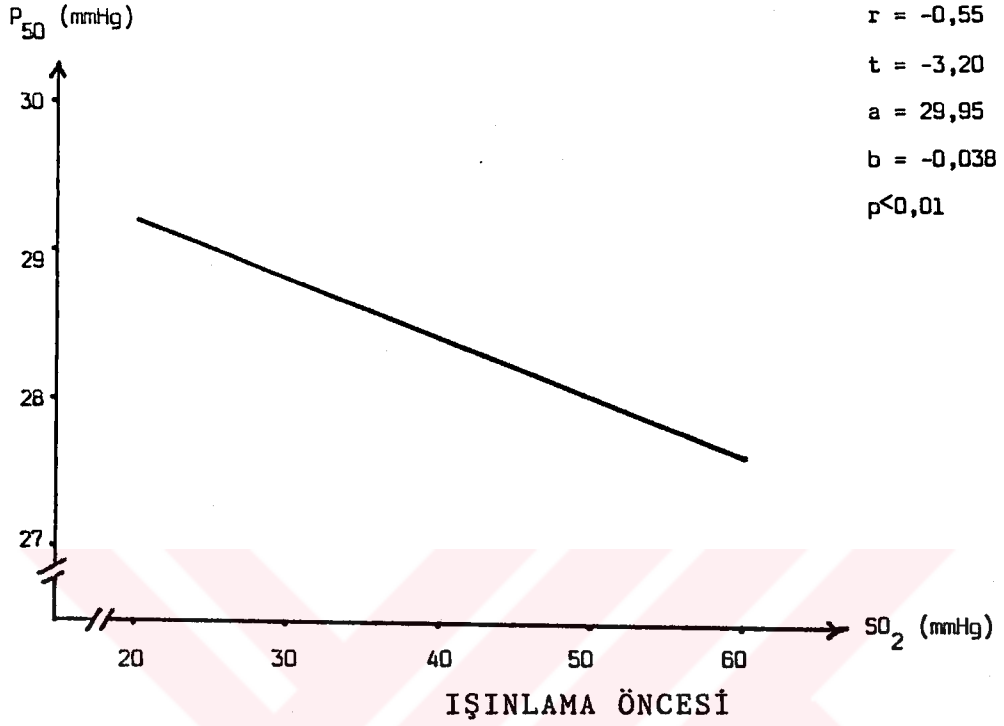


İŞINLAMA SONRASI

ŞEKİL 14
 P_{50} ile aktüel HCO_3^- arasında ilişki

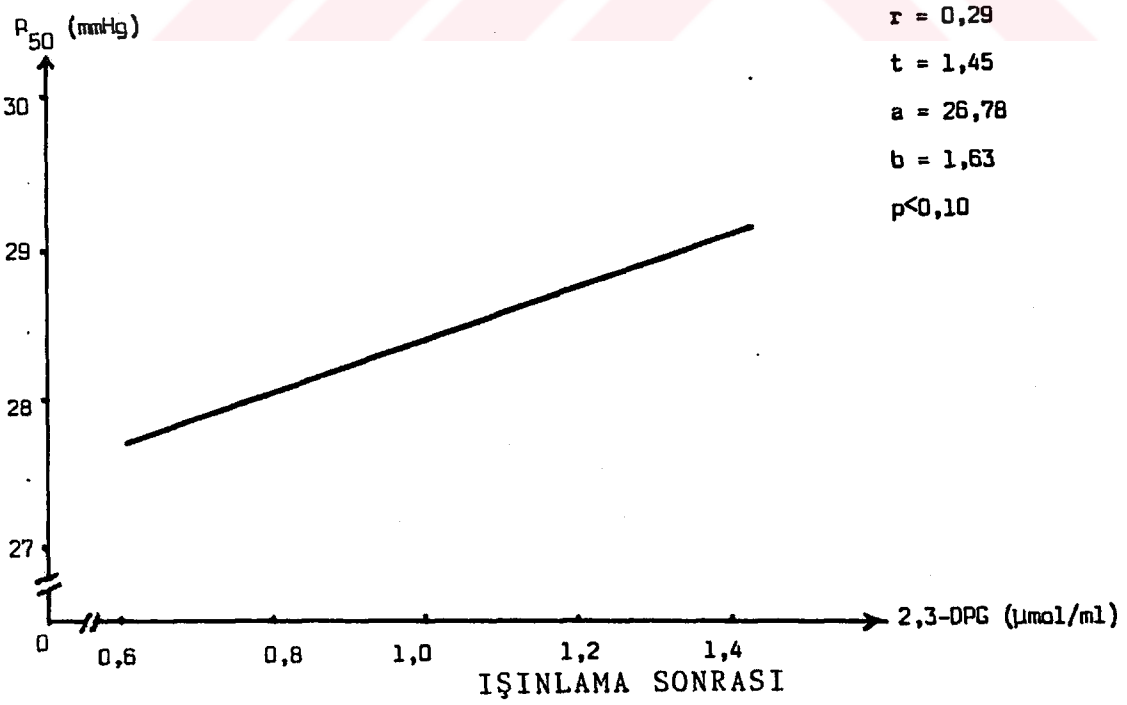
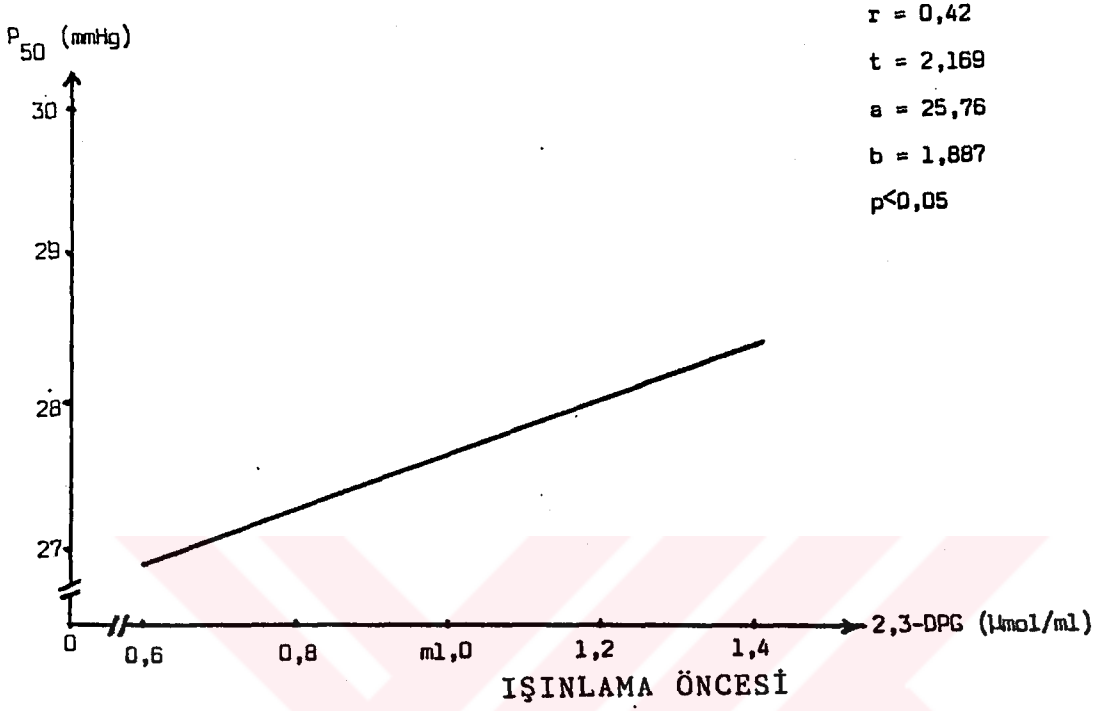


ŞEKİL 15
 P_{50} ile PO_2 arasında ilişki



ŞEKİL 16

P_{50} ile SO_2 arasında ilişki



ŞEKİL 17
 P_{50} ile 2,3-DPG arasında ilişki

İRDELEME VE SONUÇ

In vitro koşulda, pulsasyonlu ULTRASES'le ışınlama nedeniyle ODE'nin değişimini izlemek amacıyla yaptığımız araştırma sonucunda; bulgularımızdan venöz kan pH'sı ile P_{50} değerleri arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptandı (TABLO 3). Grafiksel olarak Şekil 13'te de görülmektedir.

Ayrıca pH değerlerinde ULTRASES'le ışınlama yüzünden ileri derecede anlamlı bir azalma görüldü. Bu sırada P_{50} değerlerinde de ileri derecede anlamlı artma belirlendi (TABLO 4).

Kan pH'sındaki azalmanın, P_{50} değerinin artmasına neden olduğu diğer araştırmacılar tarafından da belirtilmektedir. Nitekim bu görüş Thomas ve ark.(67), Foex ve ark.(25) ile Severinghaus(60) tarafından da desteklenmiştir. Bilindiği gibi kandaki H^+ iyonları, 2-3-DPG ve kanın oksijen saturasyonu (SO_2) birbiriyle etkileşerek, hemoglobinden oksijenin ayrılmasını düzenlerler. Böylece ODE'nin P_{50} değeri ile belirlenebilen durumunu saptamış olurlar. Bu sırada ortamda artan H^+ iyonlarının, oksijenin dissosiyasyon eğrisini 3 aşamada sağa kaydıracağı görülür. Bu aşamalar:

- 1- H^+ iyonunun hemoglobine bağlanması,
- 2- Hemoglobinde konformasyon değişikliği
- 3- Molekülün gevşemesi

şeklinde görülmektedir(4,7).

Bir de pH değerindeki azalmanın metabolik asidozdan da kaynaklanabileceği bilinmektedir(21). Aktüel ve Standart HCO_3^- ve B.E. değerlerinde ULTRASES nedeniyle ileri derecede anlamlı bir AZALMA'nın olması ile bu sırada PCO_2 'deki değişimin normal sınırlar içinde kalması pH değerindeki azalmaya etkisi olduğu inancındayız (TABLO 4).

Ancak P_{50} değerlerindeki değişmelerin yalnızca pH'ya bağlanmaması gerektiği ve sıcaklık sabit alındığında kanda 2,3-DPG artışının da katkısı olduğu bilinmektedir(20).

Biz de araştırmamız sonucunda total 2,3-DPG değerlerinde, ULTRASES'le ışınlama nedeniyle ileri derecede anlamlı bir artma olduğunu belirledik (TABLO 4).

Fakat artan 2,3-DPG değerleri ile P_{50} arasındaki ilişkiyi belirlemek için yaptığımız korelasyon hesapları sonucu, pH'taki kadar büyük olmadı (TABLO 3). Grafikselleştirmemi Şekil 17'de görülmektedir.

Ancak bu bulgumuz Sinet tarafından da doğrulanmaktadır(63).

Deneklerimizde hipokrom bir anemi göze çarpmaktadır, (ortalama MCHC: $31,32 \pm 5,58$). Bu yüzden ileri derecede anlamlı bir 2,3-DPG artışında bu faktörün de önemli bir katkısı olduğu inancındayız.

Ayrıca kanda oksijen saturasyonu (SO_2) ile 2,3-DPG arasında doğrusal bir ilişki olduğu bilinmektedir. Öyle ki Deoksijenasyon eritrositte alkaloz meydana getirebilir. Alkalozda eritrosit içinde glikolizi hızlandırır. Böylece hücrede serbest 2,3-DPG miktarı artar. Bu artış ise DPG-Mutaz enzimini inhibe eder. Bir Feed-back mekanizması ile 2,3-DPG yapımı

yavaşlatılır. Bu durumun tersinde yani SO_2 'nin artması halinde glikoliz yavaşlar ve DPG'nin hemoglobine bağlanması zorlaşmaktadır(27,28). Ancak biz araştırmamızda SO_2 ile 2,3-DPG arasında çok anlamlı bir ilişki saptayamadık. Bu bulgumuz, Oski ve arkadaşlarının(47) bulgularıyla da uyum sağlamaktadır.

Deneklerimizin eritrosit sayısı ile P_{50} değerleri arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı. Aynı şekilde Hematokrit yüzde değerleri ile P_{50} arasında da bir ilişki belirleyemedik. Buna karşılık Hemoglobin değerleri ile P_{50} değerleri arasında zayıf da olsa bir ilişkinin olduğunu saptadık (TABLO 3).

Pinamonti ve ark.(50) 8 MHz'lik sabit frekansta, 30 dakikalık etkiye sürecinde sadece eritrositleri izotonik sıvı içinde ve $0^{\circ}C$ 'da in vitro koşulda pulsasyonlu ULTRASES ışınına tâbi tutmuşlar. Bunun sonucunda P_{50} değerinde 14 mmHg'lık bir farklılık olduğunu belirlemişlerdir.

Ancak bu araştırma sırasında P_{50} değerini etkilediği bilinen parametrisi göz önüne almamışlardır.

Halbuki biz bu araştırmamızda söz konusu parametrisi de göz önüne aldığımızda; ULTRASES'le ışınlamadan en çok pH'ın etkilendiğini ve sırasıyla Aktüel HCO_3^- , Standart HCO_3^- , B.E., 2,3-DPG'nin ileri derecede anlamlı bir değişime uğradığını belirledik. Doğal olarak da bunların etkilediği bilinen P_{50} değerlerinde de ileri derecede anlamlı bir ARTMA saptadık.

Hatta araştırmamızın daha doğal koşullar içinde olmasını arzu ettiğimizden, deneylerimizi sadece eritrositler üzerinde değil, venöz kan örneklerinde yaptık.

Fakat bizim P_{50} bulgularımızda görülen değişim ortalaması Pinamonti ve arkadaşlarınkı kadar büyük olmadı. Nedeninin ışınlama sırasında venöz kandaki diğer şekilli elementlerin ve plazmanın gelen ULTRASES ışınını soğurması olduğunu belirtebiliriz.

Ayrıca ULTRASES'in hemoglobin molekülünde oluşturduğu bir konformasyon değişikliği ile P_{50} değerindeki artışa neden olabileceğini söyleyebiliriz. Bu yorumumuzun kesinleşmesi için ileriki araştırmalarımızda, ULTRASES ışınlaması yapıldıktan sonra X-ışınları kristallografi yöntemi ile hemoglobin molekülündeki olası yapısal değişimleri ortaya çıkarmak arzusundayız.

Sonuç olarak; 5 MHz'lik sabit frekansta 30 dakikalık etkime süresinde, in vitro koşulda, 0°C 'lık ortamda pulsasyonlu ULTRASES ışınına tâbi olan venöz kanın P_{50} değerinde ileri derecede anlamlı bir artma meydana gelmektedir.

Ö Z E T

Araştırmamızda insan eritrositlerinin Oksijen Disosiyasyon Eğrisi (ODE) üzerine, pulsasyonlu ULTRASES ışınlarının etkisini incelemek amacı ile ODE'nin davranışını açıklayan P_{50} değeri ve P_{50} 'yi etkilediği bilinen Eritrositer paramet-riler (Eritrosit sayısı, Hct, Hemoglobin) ile Kan Gazları ve Asit-Baz paramet-rilerin (pH, PCO_2 , Aktüel HCO_3^- , Standart HCO_3^- , B.E., PO_2 , SO_2 ve 2,3-DPG) ışınlamadan önce ve ışınla-madan sonraki değerleri ölçüldü.

Normal şahıslardan alınan venöz kan örnekleri; 5 MHz sabit frekanslı pulsasyonlu ULTRASES ışını ile $0^{\circ}C$ sıcaklıkta 30 dakika süreyle ışınlandı.

Deneylerimiz sonucunda, ULTRASES'le ışınlama nedeniyle pH, Aktüel HCO_3^- , Standart HCO_3^- , B.E., 2,3-DPG ve P_{50} değerle-rinde ileri derecede anlamlı bir değişme belirlendi.

Ayrıca P_{50} değerleri ile diğer paramet-riler arasındaki ilişkiyi belirlemek için korelasyon hesapları yapıldı. Buna göre değişen P_{50} değerleri ile pH, Aktüel HCO_3^- , PO_2 , SO_2 ve 2,3-DPG değerleri arasında anlamlı bir ilişki olduğu görüldü.

Sonuç olarak 5 MHz frekansa sahip pulsasyonlu ULTRA-SES ışınının in vitro koşulda insan venöz kanındaki P_{50} değe-rini anlamlı bir şekilde arttırdığı ve ODE eğrisini sağa doğ-ru kaydırıldığı saptandı.

S U M M A R Y

Effect of the pulsed ULTRASOUND on the Oxygen Dissociation Curve of human erythrocytes in vitro were investigated, and erythrocytes parameters (erythrocyte count, Hct, % hemoglobin gr), Blood Gass parameters and Acit-Bases parameters (pH, Actuel HCO_3^- , Standart HCO_3^- , B.E., PCO_2 , PO_2 , SO_2) and 2,3-DPG was measured to after and before of the exposure ULTRASOUND in this study.

Venous blood samples of normall human was sonicated to constant temperature (0°C) and frequency (5 MHz) has by pulsed ULTRASOUND.

Our results of researche showed, value of pH, Actuel HCO_3^- , Standart HCO_3^- , Base Excess, 2,3-DPG and P_{50} was a significantly difference causes by pulsed ULTRASOUND.

Among P_{50} and other parameters investigated a relation by statistical analyses and a partial correlation revealed. For this reason was found a significant relation to between P_{50} and value of pH, Actuel HCO_3^- , PO_2 , SO_2 , 2,3-DPG.

These results showed, to value of P_{50} was increased significantly and an evident shifting towards the right of the oxygen dissociation curve in vitro conditions during exposed by pulsed ULTRASOUND to 5 MHz frequency.

KAYNAKLAR

- 1- Aberman,A., Cavanilles,J.M., Well,M.H.: Blood P_{50} calculated from a single measurement of pH, PO_2 and SO_2 . J.Appl.Physio. 38:171-176 (1975).
- 2- Aksoy,M., Tartaroğlu,N.: Anormal hemoglobinlerin oksijen afinitesi. Solunum 3(1), 36 (1980).
- 3- Alberti,K.G., Darley,J.N.: 2,3-Diphosphoglycerate and tissue oxygenation in uncontrolled diabetes mellitus. Lancet 26:391-395 (1972).
- 4- Arnone,A.X: X-ray studies of the interaction of CO_2 with human deoxyhemoglobine. Nature, 247:143-145 (1974).
- 5- Bellingham,A.J., Detter,J.C. and Lenfant,C.: Regulatory mechanism of hemoglobin oxygen affinity in acidosis and alkalosis. J.Clin.Invest. 50:700-706 (1971).
- 6- Bellingham,A. and Huehns,K.R.: Compensation in haemolytic anemias caused by abnormal hemoglobins. Nature 218:924 (1968).
- 7- Benesch,R.E., Benesch,R. and Chi Ing YU: The oxygenation of hemoglobin in the presence of 2,3-Diphosphoglycerate effect of Temperature, pH, ionic strength and hemoglobin concentration. Biochem. 8:2567-2571 (1969).

- 8- Benesch,R., Benesch,R.E. and Enoki,Y.: The interaction of hemoglobin and its Subunits with 2,3-Diphosphoglycerate. Proc.Nat.Aca.Sci. 61:1102-1106 (1968).
- 9- Berlincourt,D.: Power capacities of piezoelectric ceramics in sonar-type acoustic transducers. Elec.Resc. Divi. Clevite Corp. No 16-18, July, 31 (1971).
- 10- Berry,E.R. and Chanutin,A.: Effect of blood storage conditions on the electrophoretic patterns of red cell hemolysates. J.Clin.Invest. 37:974 (1968).
- 11- Brewer,G.: General red cell metabolism. "The red blood cell". Vol. I, Editor: D.Mac Surgenor. Academic Press, London (1974).
- 12- Burn,H.F., Jandl,J.H.: Control of hemoglobin function with in the red cell. New Eng.J.Med. 282:1414-1421 (1970).
- 13- Çağlayan,Ş., Gökhan,N.: Doku oksijenlenmesinde P₅₀ değerinin önemi. Solunum 3 (1):108-118. (1980).
- 14- Caldwell,R.B., Jaffe,E.R., and Nagel,R.L.: The content of 2,3-DPG in human erythrocytes: Effect of pH and oxygen and their role in anemia. II'nd Inter. Symposium Vienna. 157-159 (1972).
- 15- Chanutin,A., Hermann,E.: The interaction of organic and inorganic phosphates with hemoglobin. Arc.Biochem.Bioph. 131:180-184 (1969).
- 16- Davies,P.: Hazards of Ultrasound. British Medical Journal Vol. 288, p.2001 (1984).
- 17- Donald,I. and Levi,S.: Present and Future of Diagnostic Ultrasound. John Wiley, Kooyker Scien. Pub. Netherland (1976).

- 18- Dooley,D.A.: The effect of Continuous wave and pulsed Ultrasound on rat thymocytes in vitro. Ultrasound in Med. and Bio. Vol.9, No 4, pp.379-384 (1983).
- 19- Douglas,L.M.: Lack of effect of pulsed Ultrasound on ABO antigens of human erythrocytes in vitro. Ultrasound in Med. and Bio. Vol.12, No 3, pp.209-216 (1986).
- 20- Duhm,J.: Effects of 2,3-DPG and other organic phosphate compounds on oxygen affinity and intracellular pH of human erythrocytes. Pflügers Arch. 326:341-356 (1971).
- 21- Dursun,Ş.: pH'nin tanımı ve Asit-Baz Denge. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Biofizik Anabilim Dalı, Teksir Yayınları (1988).
- 22- Eaton,J.W., Berewer,G.J. and Graver,R.F.: Role of red cell 2,3-DPG in the adaptation of man to altitude. J.Lab. Clin.Med. 73:603-609 (1969).
- 23- Filipozynski,L. and Lypacewicz,G.: Vibration patterns and properties of piezoelectric ceramic transducers for diagnostic application in medicine. Ultrasound in Med. and Bio. pp.81-89 (1972).
- 24- Fishman,S.S.: Biological effects of Ultrasound: in vivo and in vitro haemolysis. Proc. Western Pharmacol. Soc. 11:149-151 (1968).
- 25- Foex,P.: Le Role De La P₅₀ en Reanimation. Bull Physio-path. Resp. 11:637-658 (1975).
- 26- Fry Francis,J.: Biological effects of Ultrasound: A review Proceedings of the IEEE. Vol. 67, No 4, pp.604-619 (1979).

- 27- Garby,L., De Verdier,C.H.: Affinity of human hemoglobin a to 2,3-DPG. Effect of hemoglobin concentration of pH. Scand.J.Lab.Invest. 27:345-350 (1971).
- 28- Garby,L., Gerber,G. and De Verdier,C.H.: Binding of 2,3-DPG and ATP to human hemoglobin A.Europ.J.Biochem. 10:110 - 115 (1969).
- 29- Gökhan,N.: Oksijen taşınmasında Hemoglobinin rolü ve etkili faktörler. Solunum. 3(1):9-21 (1980).
- 30- Görgez,B.: A new highly sensitive measuring system to determine the velocity of Ultrasound in liquid. İ.Ü. Fen Fak.Mec. Seri C:50-55 (1986).
- 31- Haar,G.R. and Daniels,S.: Evidence for Ultrasonically induced cavitation in vivo. Phy.Med.Bio. 26, 1145-1149 (1981).
- 32- Haar,G.R. and Hopewell,J.W.: Ultrasonic Heating of mamalian tissues in vivo. Brit.J.Cancer 45:65-67 (1982).
- 33- Hasegawa,T. and Yashioka,K.: Acoustic radiation force on fused silica sphere and intensity determination. J. Acoust.Soc.Amer. 58:581-585 (1975).
- 34- Hill,C.R.: Calibration of Ultrasonic Beam for Bio-Medical Applications. Phys. in Med. and Bio. 15:241-248 (1970).
- 35- Hlastala,M.P. and Woodson,R.D.: Saturation depending of the Bohr effect: Interaction among H^+ , CO_2 and DPG. J. Appl.Physiol. 38:1126-1131 (1975).
- 36- Hovry,D.N.: Techniques used in Ultrasonic visualization of soft tissues in Ultrasound in Biology and Medicine. Ame.Inst. of Bio.Sci. No 3, pp.49-63 (1977).

- 37- Jayalakshmi, M. and Seakins, M.: The oxygenation of hemoglobin-A and hemoglobin-S in intact erythrocytes and in aqueous solution. *Biochem. Med.* 16:104-115 (1976).
- 38- Kanevskii, B.: Focusing of cylindrical ultrasonic waves in an absorptive medium. *Sovyet Phys. Acoust.* 10-3:262-264 (1975).
- 39- Kennedy, A.C. and Valtis, D.J.: The oxygen dissociation curve in anemia of various types. *J. Clin. Invest.* 33:1372-1381 (1954).
- 40- Kilmartin, J.V.: Interaction of Hb with proton CO_2 and 2,3-DPG. *Br. Med. Bull.* 32:209-212 (1976).
- 41- Kilmartin, J.V. and Rossi-Bernardi, L.: Inhibition of CO_2 combination and reduction of the Bohr effect in haemoglobin chemically modified at its α -amino groups. *Nature* 222:1243-1246 (1969).
- 42- Körpınar, M.A.: Diagnostik ve terapik dozda ULTRASES ışınlamasının, farelerde çeşitli dokular üzerine etkisinin ultrastrüktürel olarak incelenmesi. Y.Lisans Tezi, İstanbul (1985).
- 43- Lenfant, C., Torrance, J.D. and Reynafarje, C.: Shift of O_2 -Hb dissociation curve at altitude: Mechanism and effect *J. Appl. Physiol.* 30:625-631 (1971).
- 44- Lyon, M.F. and Simpson, G.M.: An investigation into the possible genetic hazards of Ultrasound. *Brit. J. Rad.* 47:707-711 (1974).
- 45- Molinari, P.F., Chung, S.K. and Synder, L.M.: Variations of erythrocyte glycolysis following Androjen. *J. Clin. Med.* 81:443-446 (1973).

- 46- Ochlal,T. and Enok,Y.: Oxygenation properties and intra-erythrocytic constituents of human blood when stored in diferent media of ACD and CPD. Jap.J.Physiol. 26:375-384 (1976).
- 47- Oski,A.F. and Gottlieb,A.J.: Red-cell 2,3-DPG levels in subjects with chronic hypoxemia. New Eng.J.Med. 280:1165-1166 (1969).
- 48- Perutz,M.: The Bohr effect and combination with organic phosphate. Nature 228:734-739 (1970).
- 49- Pikerton,J.M.M.: Absorbtion of Ultrasonic waves in liquids and it's relation to molecular constitution. Proc.Phys.Soc. No 62, pp.129-141 (1969).
- 50- Pinamonti,S., Gallenga,P.E. and Mazzeo,V.: Effect of pulsed Ultrasound on human erythrocytes in vitro. Ultra-sound in Med. and Bio. Vol.8, pp.631-638 (1982).
- 51- Proctor,H.J., Lentz,T.R. and Johnson,B.A.G.: Alterations in Baboon Erythrocyte 2,3-DPG concentration associated with hemorrhagic shock and resuscitation. Am.Surg. 174:923-931 (1971).
- 52- Purcell,Y., Brozoviç,B.: Red cell 2,3-DPG concentration in man decreases with age. Nature 251:511-513 (1974).
- 53- Reid,J.M.: Diagnostic Applications of Ultrasound. Proc. IRE. No 47, pp.11-14 (1977).
- 54- Rooney,J.A.: Determination of acoustic power in the microwatt-miliwatt range. Ultrasound in Mde. and Bio. 1:13-16 (1973).

- 55- Rapoport, S.: Dimensional osmotic and chemical changes of erythrocytes in stored blood. I. Blood preserved in sodium citrate, neutral and acid citrate glucose (ACD) mixture. *J.clin.Chem.* 138:269-282 (1941).
- 56- Rose, Z.: Enzymes Controlling 2,3-DPG in human erythrocytes. *Ferd.Proc.* 29:1105-1111 (1970).
- 57- Schwan, H.P.: Biophysics in Diatermy in Therapeutic Heat. S.Licht, Ed. E.Licht New Haven. Connecticut, pp.55-115 (1978).
- 58- Sewell, G.D.: Ultrasonics signal from rodent. *Ultrasonics* 8:26-30 (1970).
- 59- Severinghaus, J.W.: Blood gas calculator. *J.Appl.Physiol.* 21:1108-1116 (1966).
- 60- Severinghaus, J.W.: Oxyhemoglobin dissociation curve correction for temperature and pH variation in human blood. *J.Appl.Physiol.* 12:485-486 (1958).
- 61- Shaskolskaya, S.: Fundametal of Crystal Physics. Mir Publishers-Moscow (1982).
- 62- Shappell, S.D., Murray, J.A., Bellingham, A.J., Woodson, R.D., Detter, J.C. and Lenfant, C.: Adaptation to exercise role of haemoglobin affinity for oxygen and 2,3-DPG. *J.Appl.Physiol.* 30:827-832 (1971).
- 63- Sinet, M., Muffat, Joly, M. and Pocidalo, J.J.: The haemoglobin oxygen affinity dependence on haemoglobin concentration: Study of a specific effect. *Biomedicine* 25:358-360 (1976).

- 64- Sugerman, H., Miller, D.L., Oski, F.A., Diaco, J. and Papadopoulos, M.D.: Decreased 2,3-DPG and reduced oxygen consumption in Septic shock. Clin.Reser. 18:418-420 (1970).
- 65- Sugerman, H.J., Pololck, T.W., Rosat, E.F., Papadopoulos, D.M., Miller, L.D., and Oski, F.A.: Experimentally induced alterations in affinity of haemoglobin for oxygen. II. in vivo effect of inosine pyruvate and phosphate on oxygen haemoglobin affinity in Rhesus monkey. Blood. 39:525-529 (1972).
- 66- Terzioğlu, M.: 2,3-DPG'nin hemoglobinin oksijen afinitesinde etkisi. Solunum 3(1):22-35 (1980).
- 67- Thomas, H.M., Lefrak, S.S., Irwin, R.S., Fritts, H.W., Caldwell, P.R.B.: The oxyhaemoglobin dissociation curve in health and disease. Ame.J.Med. 57:331-348 (1974).
- 68- Torrance, J.D.: Clinical implications of the interaction between 2,3-DPG and haemoglobin. S.Afri.J.Med. 39:33-61 (1974).
- 69- Williams, A.R.: Ultrasound: Biological Effects and Potential Hazards. Academic Press. p.126-132 (1983).
- 70- Wood, R. and Loomis, A.: Physical and Biological Effects of High Frequency Sound Waves of Great Intensity. Aphys. Rev. 2 Vol.29, p.373 (1927).
- 71- Woodward, B. and Allen, A.J.: The importance of calibration in Medical Ultrasonics. Brit.J.Radiol. 47:707-711 (1974).
- 72- Valeri, C.R. and Collins, F.B.: Physiologic effect of 2,3-DPG depleted red cells with high affinity for oxygen. J.Appl.Physiol. 31:823-827 (1971).

- 73- Valtis,D.J. and Kennedy,A.C.: The causes and prevention of defective function of stored red blood cell after transfusion. Glasgow Med. 34:521-543 (1953).
- 74- Velicangil,S.: Biyoloji, Tıp, Diş Hekimliği ve Eczacılık Bilimlerinde Biyoistatistik. Filiz Kitapevi, 167-181 (1984).
- 75- Vermsmold,H. and Horn,K.: The rapid postnatal increase of red cell 2,3-DPG: It's relation to plasma thyroxine. Resp.Physio. 18:26-30 (1973).
- 76- Vild,J.: The use of Ultrasonic pulses for measurement of Biological Tissues and the detection of Tissues density changes. Surg. Vol. 127, No 2, pp.183-188 (1969).

Ö Z G E Ç M İ Ő

17 Mayıs 1951 tarihinde İstanbul-Fatih'te doğdum.

İlk, orta ve lise eğitimimi İstanbul'da yaptım.

İ.Ü. Fen Fakültesi Fizik-Matematik bölümü Teorik Fizik kısmından 1975 yılında mezun oldum.

Aynı yıl Yıldız Üniversitesi Galatasaray Mühendislik Fakültesinde Fizik asistanlığı görevine başladım. 1977 yılında askerlik nedeniyle bu görevden ayrıldım.

1979 Şubat ayından itibaren de İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizik Ders Biriminde Fizikçi olarak görev yapmaktayım.

1985 yılında Biofizikte Yüksek Lisans Eğitimimi tamamladım.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı öneren ve Doktora eğitimim sırasında beni yönlendirip teşvik eden değerli hocam Sayın Prof.Dr.Sinan ÖNEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım esnasında kan gazları ölçümüne izin veren Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr.Sadi SUN'a ve kan alımı sırasında yardımlarını esirgemeyen tüm Anabilim Dalı öğretim üyesi ve yardımcılara teşekkür ederim.

Ayrıca ULTRASES setinin Cerrahpaşa Tıp Fakültesine getirilip, kurulmasına ve kullanılmasına izin veren İ.Ü. Fen Fakültesi Genel Fizik öğretim elemanı Y.Doç.Dr.Berkay GÖRGEZ'e de teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın her aşamasında yanımda olan ve özellikle istatistiksel hesaplamalarda her türlü yardımı sağlayan sevgili eşim Ülker KÖRPINAR'a da teşekkür ederim.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ