

2024

İSTİNYE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

DÖNEM I FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI Uygulama Kitapçığı 2024 – 2025

*“Natura nihil frustra facit”
“Doğa hiçbir şeyi boşuna yapmaz”*

Aristoteles

(M.Ö. 384 - M.Ö. 322)

Hazırlayan:

İSÜTF-MÖTEP

Laboratuvar Kurulu

İSÜ | İSTİNYE
ÜNİVERSİTESİ
İ S T A N B U L

Revizyon No: 2024-v0.

ÖNSÖZ

Sevgili Öğrenciler,

Fizyoloji, canlı organizmaların işlevlerini, hücre seviyesinden başlayarak tüm organ sistemlerine kadar olan fizyolojik süreçleri inceleyen ve bu süreçlerin nasıl düzenlendiğini araştıran bir bilim dalıdır. Bu nedenle, laboratuvar çalışmaları fizyolojik kavramların kavranması ve pratik becerilerin geliştirilmesi açısından büyük bir önem taşımaktadır. Bu laboratuvar kılavuzu, fizyoloji alanındaki temel deneylerin, uygulamaların ve laboratuvar prensiplerinin anlaşılmasını ve etkin bir şekilde uygulanmasını desteklemek amacıyla hazırlanmıştır.

Laboratuvar derslerimizde, sinir iletim mekanizmaları, duyuşsal algılamalar ve kardiyovasküler sistemin fizyolojik özellikleri gibi temel fizyolojik deneyleri içeren bir program uygulanacaktır. Bu kılavuzda, laboratuvar güvenliği ve uyulması gereken kurallar, kullanılan cihazlar, deneylerin teorik açıklamaları ve adım adım uygulama süreçleri ayrıntılı olarak sunulmuştur. Bu bilgiler, laboratuvar çalışmalarınızı daha bilinçli, verimli ve güvenli bir biçimde yürütmenize yardımcı olacaktır.

Laboratuvarda düzenli, dikkatli ve titiz bir şekilde çalışmanız gerekmektedir. Her deneyin sonunda, bilimsel yaklaşımla elde edilen verilerin analiz edilmesi ve objektif bir değerlendirme yapılması beklenmektedir. Bu süreçte kazanacağınız bilgi birikimi ve geliştireceğiniz beceriler, sizleri gelecekte nitelikli sağlık profesyonelleri olma yolunda ileriye taşıyacaktır.

Bu kılavuzun, fizyoloji laboratuvar çalışmalarınızda sizlere rehberlik etmesi ve fizyoloji alanına olan ilginizi pekiştirmesi temenni edilmektedir. Bilimin ışığında ilerlemenizi dileriz.

Başarı dileklerimizle.

İstinye Tıp Fakültesi
Fizyoloji Ana Bilim Dalı

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	3
ÖĞRENİM ÇIKTILARI ve DEĞERLENDİRME YÖNTEMİ	4
LABORATUVARDA UYULMASI GEREKEN KURALLAR	5
SANAL LABORATUVAR BİLGİLENDİRMESİ	6
Tüm deneyler sanal ortamda da yer almakta olup, yıl boyunca erişime açık olacaktır.	6
MİKROORGANİZMA, KAN-İMMÜN SİSTEM KURULU	7
1. Kan Grubu, Sedimentasyon, Hematokrit.....	7
KAYNAKLAR	20

ÖĞRENİM ÇIKTILARI ve DEĞERLENDİRME YÖNTEMİ

KURUL ADI	DENEYİN ADI	ÖĞRENİM ÇIKTISI	DEĞERLENDİRME YÖNTEMİ
Mikroorganizma, Kan İmmün Sistem Kurulu	Kan Grubu, Sedimentasyon, Hematokrit	Hematokrit nedir, etki eden faktörler nelerdir, nasıl tayin edilir, avantajları nelerdir bilir.	ÇSS, AUS*, BD*
		Sedimentasyon nedir, etki eden faktörler nelerdir, nasıl tayin edilir bilir, değerlendirmesini yapabilir ve yorumlayabilir.	ÇSS, AUS*, BD*
		Kan gruplarını bilir, spesifik antijen-antikorlarını bilir, Rh antijenini tanımlar özelliklerini bilir, kan grubu determinasyonunun nasıl yapıldığını bilir ve uygular, sonuçlarını okur ve yorumlar.	ÇSS, AUS*, BD*

ÇSS: Çoktan Seçmeli Sınav, AUS: Açık Uçlu Soru, BD: Boşluk Doldurma

*Mazeret sınavlarında uygulanılır

LABORATUVARDA UYULMASI GEREKEN KURALLAR

1. Laboratuvarda sessiz çalışılmalı ve çalışma tezgahının üzerine eşya konulmamalıdır.
2. Laboratuvara önlükle gelinmeli ve laboratuvar süresince önlük çıkarılmamalıdır. Çalışma sırasında önlük ilikli olmalı, saçlar her zaman toplu halde tutulmalıdır.
3. Her öğrenci, kendisine ayrılan alanı ve malzemeleri kullanmalıdır.
4. Çalışmanın sonunda her öğrenci, kullandığı malzemeleri temizleyip görevlilere temiz ve düzenli bir şekilde teslim etmelidir.
5. Laboratuvarda kimyasal maddelere dokunulmamalı, koklanmamalı ve tadına bakılmamalıdır.
6. Deneylerde mümkün olduğunca az madde kullanılmalı ve madde israfından kaçınılmalıdır. Stok şişelerinden gerektiği kadar madde alınmalı; artanlar stok şişesine geri konulmamalıdır.
7. Çalışmalarda kirli malzeme kullanılmamalıdır.
8. Uçucu, yanıcı ve patlayıcı (eter, alkol, kloroform vb.) maddelerin şişeleri kapalı tutulmalı; yakınlarında çakmak, kibrit gibi yakıcı maddeler bulundurulmamalıdır.
9. Çözelti hazırlanıyorsa uygun koşullarda saklanmalı; reaktiflerin üzerlerine adı, hazırlayanın adı, hazırlanma tarihi ve varsa son kullanma tarihi yazılmalıdır. Son kullanma tarihi geçmiş reaktifler kullanılmamalıdır.
10. Saf su yerine kesinlikle musluk suyu kullanılmamalıdır.
11. Kimyasal bir maddeyle, özellikle asit ve alkalilerle temas durumunda, temas bölgesi bol su ile yıkanmalı ve derhal ilgililere haber verilmelidir.
12. Her çalışmadan sonra eller sabunla yıkanmalıdır.
13. Kullanımı bilinmeyen cihazlar kullanılmamalıdır.
14. Çalışma bitince her grup, aldığı malzemeleri sağlam ve temiz bir şekilde teslim etmelidir.
15. Görevliden izin alınmadan laboratuvar terk edilmemelidir.
16. Her laboratuvar çalışması sonunda yoklama kağıdı imzalanmalıdır.
17. Bu deneyde kırılabilir cam malzemeler kullanılmaktadır. Malzeme kırıldığında, toplamaya çalışılmamalı ve hemen deney sorumlusuna haber verilmelidir.

SANAL LABORATUVAR BİLGİLENDİRMESİ

Tüm deneyler sanal ortamda da yer almakta olup, yıl boyunca erişime açık olacaktır.

MİKROORGANİZMA, KAN-İMMÜN SİSTEM KURULU

1. Kan Grubu, Sedimentasyon, Hematokrit

LABORATUVAR: ANK-215

ÖĞRENİM ÇIKTISI

Hematokrit nedir, etki eden faktörler nelerdir, nasıl tayin edilir, avantajları nelerdir bilir.

Sedimentasyon nedir, etki eden faktörler nelerdir, nasıl tayin edilir bilir, değerlendirmesini yapabilir ve yorumlayabilir.

Kan gruplarını bilir, spesifik antijen-antikorlarını bilir, Rh antijenini tanımlar özelliklerini bilir, kan grubu determinasyonunun nasıl yapıldığını bilir ve uygular, sonuçlarını okur ve yorumlar.

Kan Alınması

TEORİK BİLGİ

Kapiller kan, az miktarda kan örneğine ihtiyaç duyulan deneyler için alınır. Bu deneylerden bazıları şunlardır:

- Hematokrit değerinin saptanması
- Hemoglobin ölçümü
- Eritrosit/lökosit sayımı
- Periferik yayma
- Kan grubu tayini
- Pıhtılaşma ve kanama zamanı tayini
- Kan glikozu, üre, bilirubin, pH ve benzeri testlerde
- Yeni doğanlarda neonatal tarama testlerini yapmak için

Kapiller kan bebeklerde topuk veya ayak başparmağından erişkinlerde ise elin 3. veya 4. parmak ucundan alınır.

Kapiller kan alınırken bölgeye aşırı basınç uygulanmamalıdır. Aşırı basınç, doku sıvısının kana geçmesine neden olur. Bu durum analiz sonuçlarının doğruluğunu etkiler.

Araç ve gereçler:

- %70 İzopropil Alkol,
- Pamuk,
- Steril lanset.

Deneyin yapılışı

1. Kan alınacak bölge alkollü pamuk ile temizlenir. Alkolün tamamen buharlaşması beklenir. Lanset ucuna dokunulmadan steril bir şekilde açılır (Şekil A.1-2-3).

2. Alkol kuruduktan sonra steril lansetle parmak ucu delinir. Delinecek bölgenin renginin normal ve sağlıklı olması, yaralı, ödemli, inflamasyonlu bir alan olmaması gerekir.

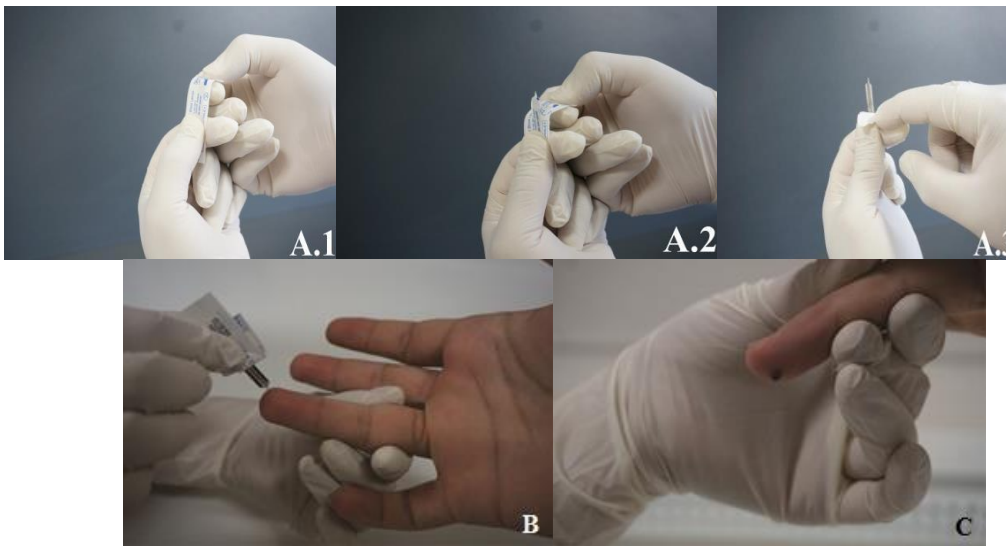
3. Lanset ile parmak ucu delinirken; lanset parmağa dik bir şekilde tutulup, **bilek hareketiyle tek bir hamlede vuruş** yapılmalıdır (Şekil 1B).

4. Lanset ile parmak ucu delindikten sonra, kan alınmasını kolaylaştıracak ve yer çekiminden yararlanılacak şekilde parmak ucu aşağıya doğru tutulmalıdır. (Şekil 1C).

5. İlk damla doku sıvısı ya da parçaları içerdiği için ilk damla silinmelidir.

6. Parmak ucunu çok fazla sıvazlamaktan kaçının çünkü bu kana doku sıvısının (plazma) karışmasına neden olur ve hatta hemoliz olasılığını artırır.

7. Kan alma prosedürünü tamamladık sonra, kanamayı durdurmak için kan alınan bölgeye basınç uygulanır.



Şekil 1. Kapiller kan alma

Uygulama sırasında karşılaşılabileceğimiz problemler

- Kapiller kan alınırken lansetin tek bir hamlede bilek hareketi ile (yeterli güçte) temas ettirilmemesi neticesinde az hacimde kan gelmesi.

Hematokrit Değerinin Saptanması

TEORİK BİLGİ

Hematokrit, kanın şekilli elemanlarının tüm kan hacmine oranını ifade etmektedir. Saptanması temel olarak, pıhtılaşması önlenen kanda, santrifüj ile kanın şekilli elemanlarının kan plazmasından çöktürülerek ayrılması esasına dayanır. Çöken şekilli elemanların hacminin, tüm kan hacmine oranı yüzde (%) olarak bize hematokrit değerini verir. Bununla birlikte, çöken elemanların içinde, lökosit ve trombositlerin miktarı, eritrositlere nazaran ihmal edilebilecek düzeyde olduğundan, hematokrit değerini eritrosit hacminin, tüm kan hacmine oranı olarak da tanımlanabilir. Hematokrit değerleri, **mikrohematokrit metodu** ile tayin edilebilmektedir.

Sağlıklı bir erişkinde hematokrit değeri,

- Erkekler için **%47±5**
- Kadınlar için ise **%42±5**

Hematokrit normal değerleri, yaşı ve cinsiyete bağlı olarak değişir. Ayrıca deniz seviyesinden yüksek bölgelerde yaşayanlarda hematokrit daha yüksektir. Anormal olarak düşük hematokrit değerine sahip kişilerin anemik olduğu düşünülür. Diğer bir deyişle, anemi anormal olarak hematokrit seviyesi gösterir, ancak polisitemide anormal yüksek hematokrit seviyesi mevcuttur. Aynı şekilde, eğer vücut düşük oksijen seviyesini algılasa, kırmızı kan hücrelerinin sayısı özellikle akciğer ya da kalp hastalıklarında kandaki oksijen seviyesini arttırmaya yönelik olarak artar.

Dehidratasyon ve yanık durumlarında plazma hacmi azalacağı için rölatif olarak hematokrit değer yüksek çıkar. Yine kan kayıplarından sonra kanın sıvı kısmı eritrositlere nazaran daha çabuk bir sürede telafi edileceği için hematokrit değer düşük çıkabilir. Ancak aslında, hematokrit değeri normalden daha düşük olabilir.

Araç ve gereçler:

- Heparinize kapiller tüp (1x70 mm),
- Macun (veya ispirto ocağı),
- Mikrohematokrit santrifüjü,
- Hematokrit okuma cihazı veya kartı,

- Lanset,
- %70 İzopropil alkol,
- Pamuk (Şekil 1A).

Deneyin yapılışı

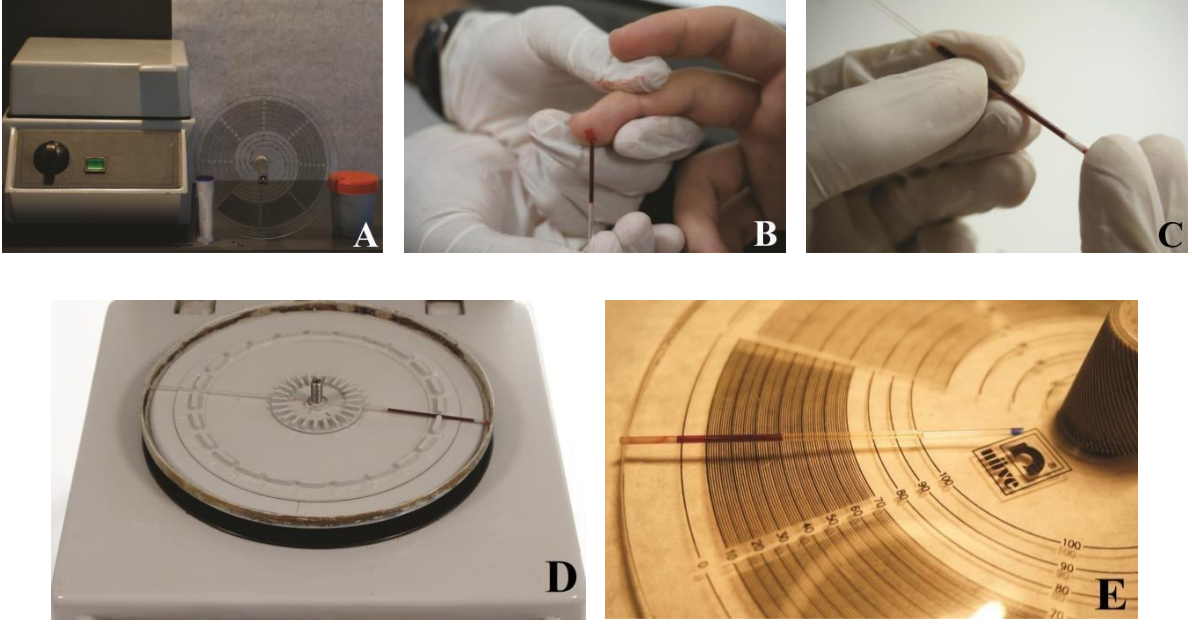
1. Alkollü pamukla parmak ucu temizlenir

2. Parmak ucu lanset ile delindikten sonra heparinize kapiller tüpün renkli ucu yere yatay tutularak parmak ucundaki kan damlasına değdirilir. Kan, kapiller tüpe kapiller etki ile dolacaktır. Tüpün 2/3 'ü ya da ¾'ü dolacak ve kapiller tüpün aynı ucu macunla kapatılır (ya da kapiller tüpün ucu ateş ile ısıtılarak kapatılır).Kapiller tüp, mikrosantrifüj cihazının tablosundaki oluğa macunla kapatılmış ucu dışarı gelecek şekilde yerleştirilir. Dengeli olması bakımından karşısındaki oluğa başka bir hastadan alınan kan örneği yerleştirilir. Hangi oluğa hangi kanın yerleştirildiği not edilmelidir (Şekil 1D).

3. Tüpler hematokrit santrifüjüne konularak 10.000 devir/dk hızla 5 dk süre ile santrifüj edilerek şekilli elemanlar çöktürülür.

4. Santrifüj sonunda, hematokrit pipetinde üç bölüm meydana gelir. En altta, eritrositler koyu kırmızı bant oluştururlar. Onun üzerinde çok ince olarak, bulutsu bir tabaka halinde lökosit ve trombositler bulunur. En üstte ise saydam plazma bulunur.

5. Plazmanın üst noktası 100, eritrosit tabakasının alt noktası da sıfır alınarak, eritrositlerin bittiği yere bakılarak değer hesaplanır (Şekil 1E).



Şekil 1. Hematokrit değerinin saptanması

Uygulama sırasında karşılaşılabileceğimiz problemler

- Kapillere tüpe kan alınırken tüp içerisine hava kabarcıklarının girmesi.
- Macunla tüpün bir ucu iyi kapatılmazsa santrifüj edilirken kanın dışarı çıkması.
- Santrifüj cihazına tüplerin simetrik yerleştirilmemesi sonucu tüplerin kırılması.

Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESR)

TEORİK BİLGİ

Antikoagülan madde kullanılarak pıhtılaşması engellenmiş kanda, eritrositlerin zamanla dibe çökmesi durumuna **sedimentasyon** denir. Bu çökme hızına **sedimentasyon hızı** denir. Sedimentasyon hızı milimetre/saat (**mm/saat**) olarak ifade edilir.

Eritrositlerin sedimentasyon hızı, başta enfeksiyon hastalıkları olmak üzere romatolojik hastalıklar, otoimmün hastalıklar, kanser vb. hastalıklarda artış gösterebilir. Bu hastalıkların teşhis ve takibinde ESR, bilgi vermesi açısından son derece önemli hematolojik bir parametredir.

Eritrositlerin sedimentasyon hızını çeşitli faktörler etkiler. Bu faktörler, eritrositlere, plazmaya, mekanik veya teknik nedenlere bağlı olabilir.

Eritrositlere bağlı faktörler

- Eritrositin büyüklüğü ve ağırlığına (makrosit) bağlı olarak ESR artar.
- Megaloblastik anemi, makrositik bir anemi olmasına rağmen ESR azalır.
- Eritrositlerde rulo formasyonunun olduğu durumlar (myelom, kronik karaciğer hastalıkları, makroglobülinemi), ESR'yi artırır.
- Eritrosit konsantrasyonu anemilerde azalır ve ESR artar.

Plazmaya bağlı faktörler

- Plazma proteinlerinden fibrinojen, α 1-globulin ve α 2-globulinin arttığı durumlar, eritrositlerde agregasyonu hızlandırarak ESR'yi arttırmalar.

Mekanik ve teknik faktörler

• Oda sıcaklığının fazla olması ESR'yi artırır
• Sedimentasyon pipetinin eğimli olması ESR'yi artırır
• Kanın bir saatten fazla bekletilmesi ESR'yi yavaşlatır
• Kanda antikoagülanın fazla olması ESR'yi yavaşlatır
• Tüp çapının 2 mm'den az olması ESR'yi yavaşlatır

ESR'nin normal değerleri

Kadın	20 mm/saat
Erkek	15 mm/saat
Çocuk	10 mm/saat

ESR'nin arttığı durumlar	ESR'nin azaldığı durumlar
Yaşlılıkta fizyolojik olarak artar.	Megaloblastik Anemi
Tüberküloz	Akut kalp yetmezliği
Akut romatizmal ateş	Polisitemiler
Akut ve kronik infeksiyonlar	Albümin artışı
Malign hastalıklar	Hereditör sferositoz
Böbrek yetmezliğinin ileri safhası	

Araç ve gereçler:

- Enjektör (2-5 ml),
- %3,8'lik Sodyum Sitrat Çözeltisi,
- Sedimentasyon tüpü ve pipetleri (Westergren),
- Tüp (13x100 mm),
- Kronometre (Şekil 1A).

Deneyin yapılışı

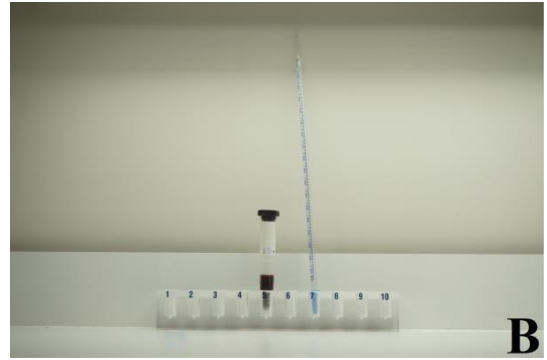
1. Venöz kan alınır.

2. Damardan enjektör çıkarıldıktan sonra içerisinde 0,2 ml %3,8'lik sodyum sitrat çözeltisi bulunan sedimentasyon tüpüne kanı hemolize etmeyecek şekilde tüpte işaretli olan çizgiye kadar kan yavaş yavaş boşaltılır (Şekil 1B) (sodyum sitrat, kalsiyumu bağlayarak kanın pıhtılaşmasını engelleyen antikoagulan bir maddedir).

3. Tüp çalkalanarak sodyum sitrat çözeltisi ile kanın iyice karışması sağlanır.

4. Daha sonra tüpe Westergreen pipeti (30 cm uzunluğunda olup 200 mm'ye kadar işaretlenmiştir, iç çapı 2,5 mm'dir, 1 ml kan alır) dikkatli bir şekilde yerleştirilir. Kan tüpün '0' çizgisine kadar ulaşmalıdır(Şekil 1C-1,2,3).

5. Pipetin sedimentasyon tüpüne yerleştirildiği andan itibaren kronometre başlatılır. **1/2, 1, 2, 24 saat sonunda** kanın şekilli elemanlarının çökme seviyeleri belirlenebilir. Genellikle 1 saat sonundaki değer ESR değeri olarak kabul edilir. Bu değer, plazmanın kan hücreleriyle ayrıldığı yerdir (Şekil 1D-E).





Şekil 1. Eritrosit sedimentasyon hızının tespiti

Uygulama sırasında karşılaşılabileceğimiz problemler

- Pipetin içerisinde sodyum sitrat çözeltisi bulunan tüpe tam olarak yerleştirilememesi.
- Pipet tüpe yerleştirildikten sonra kanın pipetin üst kısmındaki 0 noktasına ulaşmaması.
- Pipetin tüpe sert bir şekilde batırılmasıyla kırılması.

Kan Grubu Tayini

TEORİK BİLGİ

Kan grubu, kişinin eritrositleri yüzeyinde bulunan antijenlere (aglutinojenlere) bağlı olarak tayin edilir. Glikoprotein yapısındaki bu antijenlerde bulunan karbonhidrat, kan grubunun belirlenmesinde esas bileşendir. Eritrositlerde bulunan aglutinojen ile serumda bulunan antikorun (aglutinin) reaksiyona girmesi sonucu eritrosit kümelenmesi (aglutinasyon) görülür. Bu kümelenmenin oluşup oluşmamasına bakılarak kan grubu belirlenir. Kan gruplarının sınıflandırılmasında en çok kullanılan sistem, 1900'de Landsteiner tarafından keşfedilen ABO sistemidir.

Kan Grubu	Eritrositlerdeki Antijen	Serumdaki Antikor	Genotip
A	A	Anti-B	AA ya da AO
B	B	Anti-A	BB ya da BO
AB	AB	-	AB
O	-	Anti-A ve Anti-B	O

Araç ve gereçler:

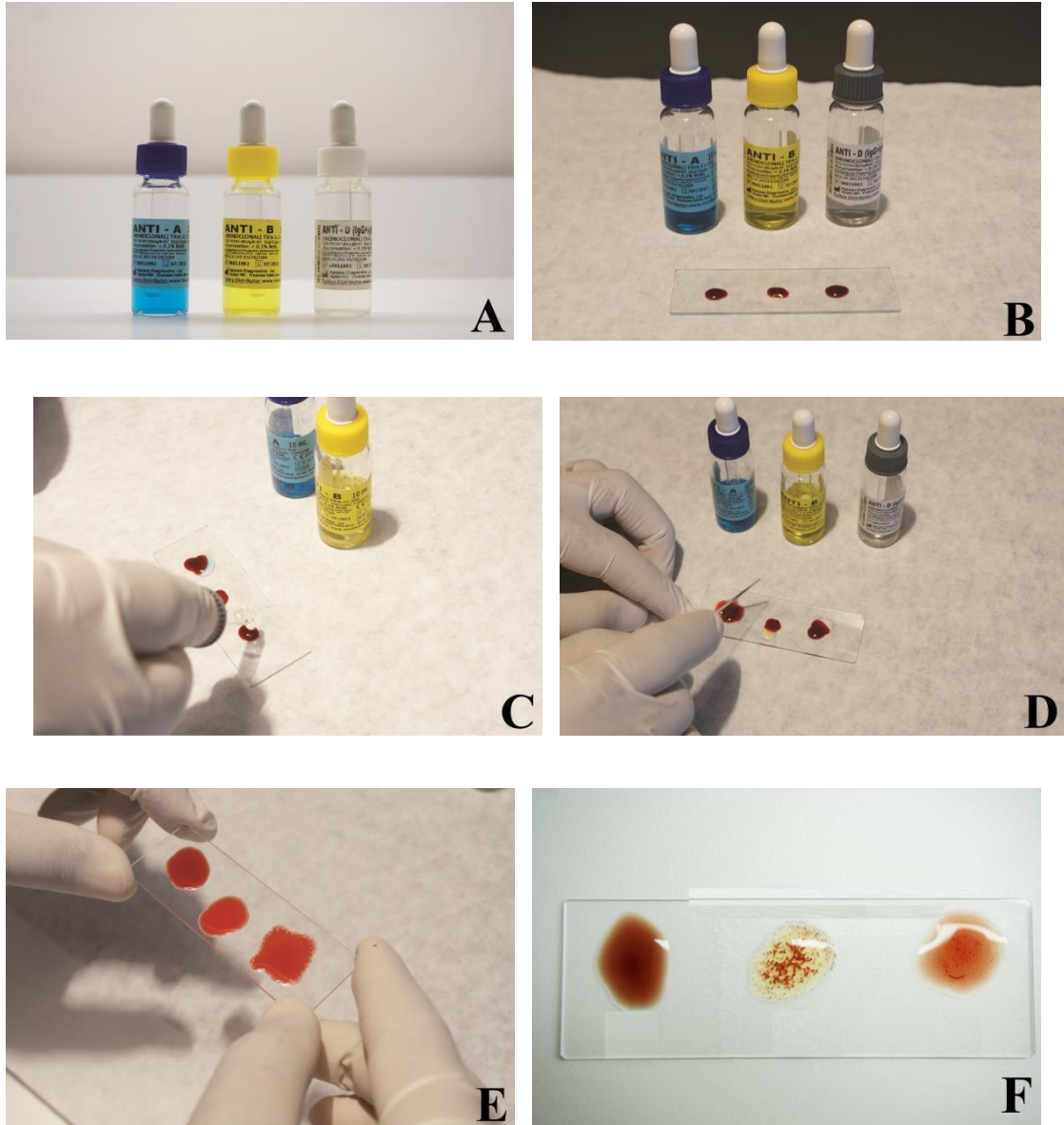
- Anti A, Anti B, Anti Rh (Anti D) Test Serumları
- Lanset
- %70 İzopropil Alkol
- Pamuk
- Lam

Deneyin yapılışı

1. Temiz bir lamın üzerine birbirleri ile temas etmeyecek şekilde 3 damla kapiller kan damlatılır.
2. Kandamlarının üzerine sırası ile Anti-A, Anti-B ve Anti-D damlatılır. Burada önemli olan, hangi damlaya hangi antikorun damlatıldığına karıştırılmamasıdır (Şekil 1B-C).

3. Antikorlar damlatıldıktan sonra kan-antikor karışımı bir lamelin farklı köşeleriyle iyice yayılarak karıştırılır. Baş ve işaret parmakları ile lam tutularak, dairesel hareketlerle eğdirilmek suretiyle 10-15 kez hareket ettirilir. Bu işlemler sırasında farklı damlaların birbirleri ile temas etmemesine özen gösterilmelidir (Şekil 1D).

4. Aglütinasyon olup olmadığı kontrol edilir (Şekil 1E).



Şekil 1. Kan grubu tayini

Uygulama sırasında karşılaşılabileceğimiz problemler

- Anti-A, Anti-B, Anti-D serumlarının çalışmaması veya sırasının karıştırılması
- Kanı karıştırırken damlaların birbirine temas etmesi

- Serumların geç etki etmesi
- Kan damlasının yeterli olmaması ve/veya fazla beklemeden dolayı kanın pıhtılaşması

KAYNAKLAR

Bağcı C. (2015). Fiziyołoji Pratikleri. Gaziantep Üniversitesi.