T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOBALT SEÇİCİ SENSÖRÜN AKIŞ ENJEKSİYON ANALİZ SİSTEMLERİNDE KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI VE İSKEMİ MODİFİYE ALBÜMİN (İMA) TAYİNİ İÇİN UYGULANMASI

HAKAN TURMUŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI

DANIŞMAN
PROF. DR. İBRAHİM IŞILDAK

İSTANBUL, 2015

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOBALT SEÇİCİ SENSÖRÜN AKIŞ ENJEKSİYON ANALİZ SİSTEMLERİNDE KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI VE İSKEMİ MODİFİYE ALBÜMİN (İMA) TAYİNİ İÇİN UYGULANMASI

Hakan TURMUŞ tarafından hazırlanan tez çalışması 13.03.2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK

Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Mustafa CEMEK

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Yrd. Doç. Dr. Ünal ŞENEL

Çanakkale On Sekiz Mart Üniversitesi _____

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'ın 112S116 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Maddi manevi sayısız nimetler veren Yüce Allah'a hamd ve teşekkür ederim, Yaratılış sebebimiz ve "İlim Çin'de de olsa öğreniniz" prensibini aşılayan Peygamberimiz Hz. Muhammed Sallalahu Aleyhi ve Sellem'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarımın her aşamasında, ilgi ve alakasını hiçbir zaman eksik etmeyen, değerli bilgilerinden, fikir ve tecrübelerinden her zaman yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. İbrahim Işıldak'a,

Tez çalışmalarım sürecinde ve bu çalışmalarımın her safhasında desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Mustafa Cemek'e,

Deneysel çalışmalarım esnasında ilgi ve yardımlarını eksik etmeyen Özlem Tavukçuoğlu ve Vildan Erci'ye

Tez süresince yardımlarını eksik etmeyen arkadaşlarım İsmail AĞIR, Rıdvan Yıldırım, Mustafa Niğde, Gökay Vardar, Recep Adıyaman ve Ahmet Ayaz'a

Ve maddi manevi desteklerini esirgemeyen geniş ailem Turmuş, Sarı, Göral ve Tetik ailelerine, Teyzelerim Fatma Yazıcı, Nezaket Badoğlu, Fatma Baştürk, Dayılarım Hüseyin Tetik, Murat Göral, Halalarım Fatma Karakurt, Hatice Günel, Emine Görmüş Amcalarım Mustafa Sarı, Kadir Sarı, Hüseyin Sarı, Azmi Sarı ve Mevlüt Turmuş, Dedelerim Mehmet Turmuş, Abdullah Tetik, Yılmaz Göral, Nenelerim Emine Turmuş, Muzeyyen Göral, Güldane ve Kadriye Tetik, Annem gibi kıymet gösterdiği Ayşe Teyzem, Babam gibi sevdiğim Ali Amcama, Anneme, Babama, Kardeşime ve İlknur Sarı Hanım'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

"İnsanların en hayırlısı insanlara hizmet edendir" Hz.Muhammed (sav).

Hakan Turmuş

Mart 2015

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ viii

KISALTMA LİSTESİ ix

ŞEKİL LİSTESİ x

ÇİZELGE LİSTESİ xii

ÖZET xiii

ABSTRACT xv

BÖLÜM 1

GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 2
1.3 Hipotez 3

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER 4

2.1 Koroner Kalp Hastalıkları 4
2.2 Klinik Göstergeler 6
2.2.1 Kararlı Anjina Pektoris 6
2.2.2 Sessiz İskemi 7
2.2.3 Sendrom X 8
2.2.4 Prinzmetal (Variant) Anjina 8
2.2.5 Anstabil Anjina 8
2.3 Kan Damarının Yapısı 9
2.4 Ateroskleroz 10
2.4.1 Endotel Hücreler ve Disfonksiyonları 11
2.4.2 İnflamatuvar Hücreler 12
2.4.3 Yağlı Çizgilenmeler 13
2.4.4 Atreosklerotik Plaklar 14
2.5 Miyokardiyal İskeminin Mekanizmaları 15

2.6 Miyokardiyal İskeminin Sonuçları 15
2.6.1 Metabolik Değişiklikler 15
2.6.2 Koroner Arterlerde Darlık ve İş Yükünde Artış 16
2.6.3 İskemik Ön Koşullanma 16
2.7 İskemik Kalp Hastalıklarında Tanısal Testler 16
2.7.1 Girişimsel Olmayan Tanısal Testler 16
2.7.1.1 Öykü 16
2.7.1.2 Fizik Muayene 17
2.7.1.3 İstirahat Elektrokardiyografisi 19
2.7.1.4 Egzersiz Elektrokardiyografisi 20
2.7.1.5 Holter EKG 20
2.7.1.6 Ekokardiyografisi 20
2.7.1.7 Nükleer Görüntüleme Testleri 21
2.7.1.8 Manyetik Rezonans ile Görüntüleme 22
2.7.1.9 Bilgisayarlı Tomografi (BT) 23
2.7.2 Girişimsel Tanı Yöntemleri 24
2.7.2.1 Koroner Anjiyografi 24
2.7.2.2 İntravasküler Ultrasonografi 25
2.7.2.3 Fiberoptik Anjiyoskopi 26
2.7.2.4 Optikal Tomografi 26
2.8 Kalp Hastalıklarının Tanısında Kullanılan Biyokimyasal Belirteçler 26
2.8.1 Miyoglobin 26
2.8.2 Kreatin Kinaz 27
2.8.3 Kardiyak Troponinler 28
2.8.4 B-Tipi Natriüretik Peptid (BNP) 29
2.8.5 C-Reaktif Protein (CRP) 30
2.8.6 Miyoloperoksidaz (MPO) 31
2.8.7 CD40 ligand 31
2.8.8 İskemi Modifiye Albümin (İMA) 32
2.8.8.1 İskemi Modifiye Albüminin Diğer Belirteçlerle Kıyaslanması 32
2.9 Elektrokimyasal Elektrotlar 33
2.9.1 Tanımı ve Prensipleri 34
2.9.2 Sınıflandırılması ve Karakteristik Özellikleri 34
2.10 İyon Seçici Elektrotlar 35
2.10.1 İyon Seçici Membran 36
2.10.1.1 Polimerik Matris 36
2.10.1.2 Lipofilik İyon Değiştiriciler 37
2.10.1.3 İyonoforlar 37
2.10.1.4 Lipofilik Tuzlar 37
2.10.2 İyon Seçici Elektrotların Çalışma Prensibi 37
2.10.3 İyon Seçici Elektrotların Karakteristik Özellikleri 38
2.10.3.1 Tayin Limiti 38
2.10.3.2 Seçicilik Katsayısı 39
2.10.3.3 Cevap Zamanı 40
2.10.3.4 İç Direnç 41
2.10.3.5 Tekrarlanabilirlik 41
2.10.3.6 Lineer Çalışma Aralığı 41

2.10.3.7 Kullanım Ömrü ... 42
2.10.4 İyon Seçici Elektrotların Avantaj ve Dezavantajları ... 42
2.10.4.1 İyon Seçici Elektrotların Avantajları ... 42
2.10.4.2 İyon Seçici Elektrotların Dezavantajları ... 42
2.11 Akış Enjeksiyon Analizi (AEA) ... 42
2.11.1 Çalışma Prensibi ... 44
2.11.2 Numunenin Dağılımı ... 44
BÖLÜM 3
MATERYAL VE METOT ... 46
3.1 Materyal ... 46
3.1.1 Kullanılan Kimyasallar ... 46
3.1.2 Kullanılan Cihazlar ... 46
3.2 Metot ... 47
3.2.1 Kobalt İyon Seçici Elektrotların Hazırlanması ... 47
3.2.1.1 Katı Kontak Hazırlanması ... 47
3.2.1.2 Membran Hazırlanması ... 47
3.2.2 Standart Çözeltilerin Hazırlanması ... 48
3.2.3 Akış Enjeksiyon Sistemi (AEA) ... 48
BÖLÜM 4
SONUÇLAR VE ÖNERİLER ... 49
4.1 Referans Sensör ... 49
4.1.1 Doğrusal Çalışma Aralığı ... 49
4.1.2 Sabit Derişimde Potansiyel Sapması ... 50
4.2 Kobalt Sensörün Sabit Ortam Ölçümleri ... 51
4.2.1 Membran değişimin Sensörün Potansiyometrik Davranışlarına Etkisi ... 51
4.2.2 Seçicilik ... 54
4.2.3 Kobalt İSE'nin Potansiyometrik Ölçüm Kalibrasyonu ... 57
4.2.4 Kobalt İSE'nin Potansiyometrik Tekrarlanabilirliği ... 57
4.3 Kobalt ISE'nin Akış Ortamındaki Potansiyometrik Ölçümleri ... 60
4.3.1 Co^{+2} İSE'nin Akış Ortamında Tekrar Edilebilirlik Ölçümü ... 60
4.3.2 Kobalt İSE'nin Bovine Serum Albumin (BSA) Ölçebilirliği ... 62
4.3.3 Mini Kolon AEA Ölçümleri ... 65
4.3.4 Sağlıklı ve İMA içeren Serum Numunelerinin Tekrarlanabilirliği ... 66
4.4 İMA Tayini ... 67
4.4.1 Kobalt İSE'nin Sağlıklı ve İMA içeren Kan Numunelerinin Tayinleri ... 67
KAYNAKLAR ... 70
ÖZGEÇMİŞ ... 79

SİMGE LİSTESİ

Ca	Kalsiyum
Co^{+2}	Kobalt II
Cu^{+2}	Bakır II
Mg^{+2}	Magnezyum II
Na^{+}	Sodyum +I
K^{+}	Potasyum +I
NH_4^{+}	Amonyum +I
Ca^{+2}	Kalsiyum +II
$E_{hücre}$	Hücre potansiyeli
E_{ISE}	ISE potansiyeli
E_{ref}	Referans elektrot potansiyeli
K	Potasyum
kDA	Kilo dalton
µm	Mikro metre
Na	Sodyum
NO	Nitrik oksit
R	Gaz sabiti (8,314 J / K mol)
T	Mutlak sıcaklık (K)
F	Faraday sabiti (96487 C/ mol)
Z	Elektron transfer sayısı
K	Hücrede ölçülen sabit potansiyel farklılıkların toplamı
S	$59{,}16/Z$ milivolt

KISALTMA LİSTESİ

AEA	Akış Enjeksiyon Analizi
AKS	Akut Koroner Sendrom
ATP	Adenozin Trifosfat
BNP	B-tipi Natriüretik Peptid
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CK	Kreatin Kinaz
CRP	C-reaktif Protein
EKG	Elektrokardiyografisi
ICAM	İntersellüler Molekül
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
IVUS	İntravasküler Ultrasonografi
İMA	İskemi Modifiye Albümin
İSE	İyon Seçici Elektrotlar
KAH	Koroner Arter Hastalığı
KAG	Koroner Anjiyografi
KAP	Kararlı Anjina Pektoris
KKH	Koroner Kalp Hastalıkları
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler
Mİ	Miyokardiyal İnfarktüs
MCP-1	Monosit Kemoatraktan Protein-1
MPO	Miyeloperoksidaz
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MPS	Miyokart Perfüzyon Sintigrafisi
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
S1	Birinci Kalp Sesi
S3	Üçüncül Kalp Sesi
VCAM	Vasküler Hücre Adhezyon Molekülü

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 Koroner arter hastalığı risk Faktörleri [3] 5
Şekil 2.2 Kararlı anjina pektoris durumunda ortaya çıkan semptomlar [3] 6
Şekil 2.3 Anjina ağrısının vücut üzerindeki dağılımı [3] 7
Şekil 2.4 Kan damarlarının yapısı [14] 9
Şekil 2.5 Atheroskleroz gelişim aşamaları [15] 11
Şekil 2.6 Yağlı çizgilenme oluşumu [3] 13
Şekil 2.7 Ateroskleroz plak oluşumu [3] 14
Şekil 2.8 Fizik muayene [3] 18
Şekil 2.9 Kalp muayenesinin önemli bileşenleri [3] 19
Şekil 2.10 EKG uygulaması ve sonuçları [37] 19
Şekil 2.11 Ekokardiyografi görüntüsü [3] 21
Şekil 2.12 Manyetik rezonans görüntü kesiti [51] 22
Şekil 2.13 Bilgisayarlı tomografi görüntüsü [51] 23
Şekil 2.14 Koroner anjiyografi görüntüleri [3] 24
Şekil 2.15 IVUS görüntüleme [58] 25
Şekil 2.16 Miyoglobin yapısı [66] 27
Şekil 2.17 Kreatin kinaz yapısı [69] 28
Şekil 2.18 Troponin [71] 29
Şekil 2.19 B-tipi natriüretik peptid yapısı [75] 30
Şekil 2.20 C-reaktif protein yapısı [81] 30
Şekil 2.21 Miyoloperoksidaz yapısı [84] 31
Şekil 2.22 CD40 ligand yapısı [87] 31
Şekil 2.23 İMA'nın yapısı [91] 32
Şekil 2.24 IUPAC'a göre elektrotların çalışma prensibi 34
Şekil 2.25 Kimyasal sensörlerin sınıflandırılması 34
Şekil 2.26 ISE çalışma prensibi 35
Şekil 2.27 Tayin limiti 39
Şekil 2.28 Seçicilik katsayısı kalibrasyon grafiği 39
Şekil 2.29 Cevap zamanı 40
Şekil 2.30 Doğrusal çalışma aralığı 42
Şekil 2.31 AEA sistemi 44
Şekil 2.32 Numunenin dağılımı 45
Şekil 4.1 Referans elektrotun potansiyel ölçüm grafiği 49
Şekil 4.2 Referans elektrotun kalibrasyon grafiği 50
Şekil 4.3 Referans elektrot potansiyel sapma grafiği 50
Şekil 4.4 66 mg PVC membran ile elde edilen potansiyel eğim grafiği 51
Şekil 4.5 132 mg PVC membran ile elde edilen potansiyel eğim grafiği 52
Şekil 4.6 180 mg PVC membran ile elde edilen potansiyel eğim grafiği 52

Şekil 4.7 200 mg PVC membran ile elde edilen potansiyel eğim grafiği 53
Şekil 4.8 Elektrotların potansiyel ölçüm grafiği 54
Şekil 4.9 Co^{+2} İSE'nin iyon seçicilik grafiği..... 55
Şekil 4.10 Co^{+2} kalibrasyon eğrisi..... 57
Şekil 4.11 Co^{+2} elektrotun tekrar edebilirlik ölçümleri..... 58
Şekil 4.12 Co^{+2} elektrotun online ölçüm grafiği 59
Şekil 4.13 Co^{+2} elektrotun potansiyel eğimi 59
Şekil 4.14 Co^{+2} akış ortamı tekrar edebilirlik ölçümleri 60
Şekil 4.15 Co^{+2} elektrotun akış ortamı online potansiyel ölçüm sonuçları..... 61
Şekil 4.16 Co^{+2} elektrotun potansiyel(mv) birim alan grafiği 62
Şekil 4.17 Sensörün değişen BSA miktarında elde edilen potansiyel fark grafiği 63
Şekil 4.18 Sensörün gün aşırı BSA ölçüm tekrar edebilirliği 63
Şekil 4.19 Sensörün online ölçüm grafiği 64
Şekil 4.20 Mini kolon AEA sistemde kolon dolgu maddelerin pik alanına etkisi..... 65
Şekil 4.21 Sağlıklı ve İMA serum içeren numunelerin tekrar edebilirlik grafiği 66
Şekil 4.22 Sağlıklı ve İMA'lı serum tekrar edebilirlik ölçümü (online)..... 67
Şekil 4.23 Sağlıklı ve hasta (İMA) serum ölçümü pik alan hesapları..... 68
Şekil 4.24 D.bar ve arkadaşlarının elde ettiği sonuç [122] 68

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 İMA'nın diğer biyokimyasal belirteçler ile kıyaslanması 33
Çizelge 3.1 Membran içerikleri 48
Çizelge 4.1 Membranların potansiyel ölçüm değerleri ve potansiyel eğimleri 53
Çizelge 4.2 Co^{+2} elektrotun farklı iyonlara karşı gösterdiği potansiyel sonuçlar 55
Çizelge 4.3 Seçicilik katsayılarının literatür ile karşılaştırılması 56
Çizelge 4.4 Co^{+2} elektrotun gün aşırı tekrar edebilirlik sonuçları 58
Çizelge 4.5 Co^{+2} elektrotun gün aşırı alınan tekrar edebilirlik sonuçları 61
Çizelge 4.6 Sensörün değişen BSA miktarında hesaplanan pik alanları 64
Çizelge 4.7 Sensörün sağlıklı ve İMA içeren numunelerde tekrar edebilirliği 66
Çizelge 4.8 Sağlıklı ve hasta (İMA) serum pik alan sonuçları 69

ÖZET

KOBALT SEÇİCİ SENSÖRÜN AKIŞ ENJEKSİYON ANALİZ SİSTEMLERİNDE KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI VE İSKEMİ MODİFİYE ALBÜMİN (İMA) TAYİNİ İÇİN UYGULANMASI

Hakan TURMUŞ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim Işıldak

İskemi, arterlerin kasılması veya tıkanması sonucu arterin beslediği bölgeye oksijen yetersizliğine sebep olan yetersiz kan sağlanması olarak tanımlanır Miyokardiyal iskeminin tanısında EKG bulguları yanında CK-MB, kardiyak troponinlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kardiyak iskemi veya kalp krizi tanısında kullanılan bu testler, AKS'nin hızlı tanı ve erken tedavisi için yetersiz kalmaktadır. İskemi meydana geldiğinde gerekli teşhis yapılamadığı durumlarda miyokard hasar görerek nekroz oluşmakta ve kalp krizi olarak adlandırılan durum meydana gelmektedir. Iskeminin teşhisi sırasında kan akımının reperfüzyonun sağlanması miyokard infarktüs oluşumuna engel olması açısında oldukça hayati bir önemi vardır. İMA serumda dakikalar içerisinde salınması ve pik değerine saatler içerisinde ulaşması nedeniyle diğer belirteçlere göre oldukça önemlidir.

Bu sebeple tez çalışmamızda, İMA'nın tayini için 5-amino-3 metilisothizolehidroklorit iyonofor ile kaplanmış mikro büyüklükte katı kontak kobalt (II) iyon seçici sensör geliştirildi. Sabit ve akış ortamında yapılan ölçümlere göre kobalt sensörün potansiyel eğimi 30 ± 0,445 mV olarak ölçülmüştür. Doğrusal ölçüm yapabildiği 10^{-5} M ile 10^{-1} M aralığında ki $Co(NO_3)_2$ çözeltisinde sabit ve hareketli ortam ölçümlerine göre sensörün tekrarlanabilirliği 10^{-5} M ile 10^{-1} M arasında olduğu tespit edildi. Kobalt (II) sensör, bovine serum albümin artan miktarlarına karşı artan pik alanı elde etmemize imkân sağladı.

Sensör ile yapılan insan serum testlerine göre İMA teşhisi konulan kişilerin albüminlerin de meydana gelen hasar nedeni ile kobalt iyonuna bağlanma kabiliyetini azalmakta ve bu durumda taşıyıcı fazın derişimini çok az bir oranda azalmasına sebep oldu. Sağlıklı kişilerin albüminlerinde ise kobalt iyonuna bağlanma yeteneği yüksek olması sebebi ile taşıyıcı fazın derişiminde ciddi bir azalma meydana gelmektedir. Bu sonuçlara göre ortama İMA enjekte edildiğinde pik alanı ortalama 2,053 birim alan iken Sağlıklı Albümin enjekte edildiğinde pik alanı negatif yönde ortalama 5,643 birim alan olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: İskemi modifiye albumin, Kobalt seçici sensör, Miyokardiyal iskemi, Hızlı iskemi tanı yöntemi, İskemi için biyokimyasal marker

ABSTRACT

INVESTIGATION OF COBALT SELECTIVE SENSOR ON USAGE OF FIA SYSTEM AND APPLIED FOR ASSINGMENT OF ISCHEMIA MODIFIED ALBUMIN (IMA)

Hakan TURMUŞ

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. İbrahim Işıldak

Ischemica is defined as inadequate blood supply causing lack of oxygen to the area which arter feeds as a result of spasm or occlusion of arteries. In addition to ECG findings, CK-MB, cardiac troponins is also widely used to diagnosis of myocardial ischemia. These tests used in diagnosis of cardiac ischemia or heart attack are inadequate in order to early diagnosis and treatment of ACS. In case of undiagnosedischemia, myocardium is damaged leading to necrosis and heart attack is seen. In case of diagnosis of ischemia, providing reperfusion of blood stream is extremely important in order to prevent miyocardial infatctus (MI).

IMA is most important indicator because of it is released in plasma within a minute and is reached to peak level at hours. For this reason, micro scale solid-state cobalt sensor with coated of 5-amino-3 metilisothizolehidrocloride ionofor was developed in our thesis study. The slope of the electrical potential was measured as 30 ± 0,445 mV according to measurements at the stationary and flow environment. Repeatability of the cobalt selective sensor is detected in $Co(NO_3)_2$ solution between 10^{-1}M and 10^{-5}M concentration. Cobalt (II) sensor provides increase in peak area associated with increase in bovine serum albumin. According to the human serum albumin test with cobalt selective sensor, person who is diagnosed IMA at his/her albumin which is damaged that is caused to reduce for binding capacity to the metal ion such as cobalt (II).

Under this condition this type of damage at the human albumin is caused decrease in mobile phase concentration as slightly ratio. Person who has normal and healthy human

serum albumin which is caused to increase for its binding capacity to the metal ion such as cobalt (II) ion so that cobalt concentration is decreased as high level in the mobile phase that is detect high peak area and height than the ischemia modified albumin. According with these result, peak area is detected as 2,053 unit area for IMA and peak area is detected 5,643 unit area for normal albumin.

Keywords: İschemia modified albumin, cobalt selective sensor, myocardial ischemia, Rapid method for ischemia diagnosis, Biochemical marker for ischemia

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

İskemi vücudun ve kalbin ihtiyacı olan oksijen ve metabolik maddelerin kalbin yeterli kan akışını sağlayamadığı durumlarda meydana gelir. Kalp kasında meydana gelen miyokardiyal iskeminin en önemli nedeni koroner arterlerdeki ateroskleroz olarak bilinmektedir. Ateroskleroz meydana geldiğinde arterlerde yağlı çizgiler birikmeye başlar ve bu yapılar fibröz plakların oluşmasına neden olmaktadır. Arter lümeninde fibröz plakların birikmesi sonucu arter plağı rüptüre olarak tromboz oluşumuna neden olmaktadır. Koroner arterin lümeni ateroskleroz sonucunda azalması ile birlikte miyokardın bazal metabolik ihtiyacının karşılayamadığı durumda iskemi oluşmaktadır. Miyokardiyal iskemi neticesinde oksijensiz kalan bölgede ki dokular hasar görerek nekroz oluşumuna neden olan duruma miyokardiyal infarktüs olarak adlandırılmaktadır. Akut koroner sendrom (AKS) tanısı konulan hastalarda iskemi başladığı andan itibaren kalp kasında nekroz oluşmaması için iskemi bölgesine reperfüzyon sağlanması gerekmektedir. İskemi başlamasından hemen sonra ilgili bölgeden kan plazmasına protein ve enzim kökenli maddeler salınmaya başlar ve bu belirteçler özellikle iskeminin tanısı için oldukça önemlidir. Protein ve enzim kökenli belirteçlerin kan plazmasına salınmaya başlaması ve kanda iskemi tanısı için pik seviyeye ulaşma zamanları farklılıklar göstermektedir. İskemi tanısının hızlı bir şekilde yapılabilmesine imkân sağlayan İskemi Modifiye Albümin (İMA) kan serumunda dakikalar içerisinde salınıma başlayarak serumda pik değerine yaklaşık olarak 2 ile 4 saat arasında ulaşmaktadır. Albüminin kan serumunda çeşitli metal iyonlarına bağlanabilme kapasitesi sahiptir. İskemi meydana geldiğinde ise albüminin N-terminus bölgesinde meydana gelen değişme nedeniyle albüminin çeşitli metal iyonlarına bağlanma kabiliyetini azalmakta ve kan serumuna iyon salınımı arttırmaktadır. Albüminde meydana gelen bu değişim ölçülebilir

kimyasal bir belirteç olmakta ve iskemi durumun da teşhis edilmesine imkân sağlamaktadır.

1.2 Tezin Amacı

Miyokardiyal iskemi tanısında keratin kinaz, troponin ve miyoglobin gibi birçok protein ve enzim kökenli biyomolekül kullanılarak farklı biyokimyasal testler uygulanmaktadır. Belirteç olarak kullanılan bu biyomoleküllerin serumda yükselmesi ve pik noktası ulaşmasına bağlı olarak iskemi teşhisinde kullanılmaktadır ancak bu biyomoleküllerin plazmadaki düzeyleri iskemi meydana geldikten saatler sonra artmakta ve yaklaşık olarak 24 saat sonra pik değerine ulaşmaktadır. Plazmada ki değerlerine geç ulaşmaları ve moleküllerin bir kısmının miyokardiyal iskemiye özgün olmaması nedeniyle iskeminin erken teşhisine imkân sağlamamaktadır. Vücutta önemli görevleri bulunan albümin kanda kobalt, bakır, demir gibi metal iyonlarına bağlanması ve taşıma kapasitesine sahiptir. Yapılan çalışmalar iskemi meydana geldiğinde albüminin N-terminus bölgesi değişerek metal iyonu taşıma kapasitesinin düştüğünü göstermektedir. Bozulan albüminin yapısını tespit edilerek iskeminin erken teşhis edilebileceğini göstermektedir. Modifiye olan albümin tayinine yönelik sınırlı sayıda yöntem geliştirilmiştir. Klinikte en yaygın olarak kullanılan spektrofotometrik yöntemdir. Spektrofotometrik yöntemin seçiciliği ve hassasiyeti düşük olması ve numune tayininde bazı ön işlemler gerektirmesi nedeniyle farklı tayin yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Yeni tayin yöntemleri için HPLC, LC-MS ve voltametrik yöntemlere yönelik bazı çalışmalar yapılmış fakat bu yöntemlerin maliyet olarak pahalı ve test analizi için uzman kullanıcı gerektirmesi mevcut sistemin yerine almalarını imkân sağlamamıştır. Yeni yöntemlerdeki dezavantajların ortadan kaldırmaya imkân sağlayacak olan potansiyometrik yöntem yüksek seçicilik, hassasiyet, kısa analiz süresine sahip olması ve uzman kullanıcı gerektirmemesi açısından İMA teşhisi için iyi bir yöntem olabileceği düşünülmektedir. Tez çalışmamızda kullanılacak potansiyometrik iyon seçici elektrotlar polimer membranlı klasik eletrotlar ile aynı ölçüm performansını sergilemesi, yapısında iç referans çözelti ve iç referans elektrot olmaması sebebiyle her türlü büyüklükte hazırlanma imkânı sağlaması, üretim maliyeti ucuz olması, akış enjeksiyon analizlerinde (AEA) dedektör olarak kullanılarak otomatik tespite imkan sağlaması ve tayin için düşük hacimlere ihtiyaç duyması gibi avantajları nedeniyle iskemi teşhisinde kullanılması amaçlanmıştır. Tüm bu avantajları düşünüldüğünde tez çalışmamızda mikro boyutta kobalt seçici sensör kullanılarak modifiye olmuş albüminin

serumdaki düzeyini hızlı, yüksek özgünlük ve hassasiyette tayin edilmesi hedeflenmektedir. AEA sistemlerinde kobalt iyon seçici sensörün dedektör olarak kullanılması ile hızlı ve otomatik bir şekil ile İMA'nın kobalt ile yaptığı bağlanma düzeyi belirlenerek, serum içerisinde bulunan metal bağlanma bölgesi bozulmuş olan albümin miktarı tayin edilecektir.

1.3 Hipotez

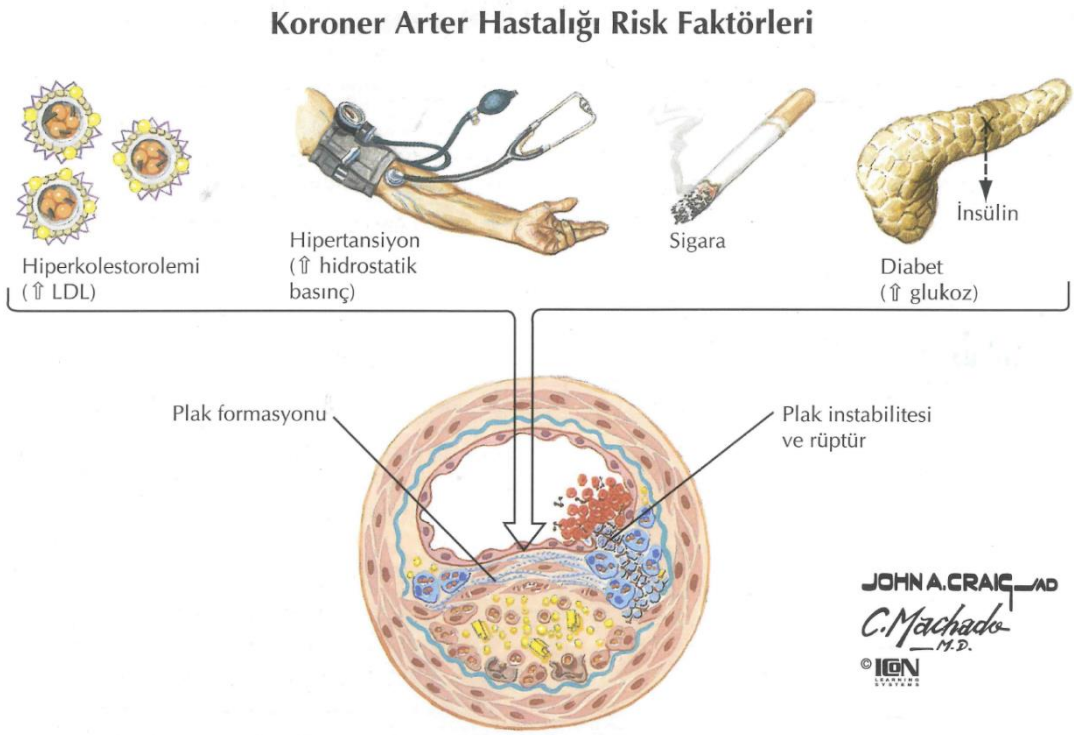
Miyokardiyal infarktüs olarak adlandırılan kalp krizinin en önemli sebebi olan iskeminin tanısında kullanılan İMA serumda dakikalar içerisinde salınması ve pik değerine saatler içerisinde ulaşması nedeniyle diğer belirteçlere göre oldukça önemlidir. Kalbin ilgili bölgesinin yeterli oksijen alamadığı iskemi durumunda hastaya iskemi teşhis konularak kan akımının reperfüzyonun sağlanması miyokard infarktüs oluşumuna engel olması açısında oldukça hayati bir önemi vardır. İskemi meydana geldiğinde gerekli teşhis yapılamadığı durumlarda miyokard hasar görerek nekroz oluşmakta ve kalp krizi olarak adlandırılan durum meydana gelmektedir. Kalp krizi ile birlikte kalp dokusunda kayıplar, fonksiyon bozuklukları ve ölüm meydana gelme riski taşıması nedeniyle mevcut iskemi tespitine yönelik testlerden daha hızlı ve güvenilir sonuç verecek yeni yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla tez çalışmamızda geliştirilecek yöntemde akış enjeksiyon sisteminde dedektör olarak kullanılacak potansiyometrik kobalt iyon seçici elektrot ile mevcut İMA'nın tayin metotlarından daha hızlı ve güvenilir bir şekilde tespit edilmesi hedeflenmektedir. Mevcut durumda İMA tayini için kullanılan yöntemler ve literatür çalışmalarında potansiyometrik yöntemin bulunmaması bu konuda yapılacak çalışma ve sonuçları açısında özgün olacağı düşünülmektedir.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 Koroner Kalp Hastalıkları

Koroner kalp hastalıkları (KKH) toplumda koroner arter hastalığı, aterosklerotik kalp hastalığı, aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı veya iskemik kalp hastalığı olarak bilinmektedir. Kalp hastalıklarının en yaygın türü ve aynı zamanda kalp krizlerinin en temel sebebi KKH'dır [1]. Kalp hastalığında zaman içerisinde kalp arterlerinin iç duvarları boyunca arter plağı birikmesi nedeniyle arterlerde kanın geçtiği lümenin iç çapı ve kalbin kendisini beslediği kan akışının zamanla azalmasına sebep olmaktadır. KKH bazı kişilerde herhangi bir semptom gözlenmezken, bazı kişilerde ise belirgin semptomlar ortaya çıkmaktadır. Anstabil koroner kalp hastalığında hasta olan kişiler kalp krizi geçirene kadar göğüs ağrısı gibi herhangi bir semptom ile karşılaşmazlar ve ani olarak gelişen kalp krizi ile karşılaşırlar. Stabil koroner kalp hastalığında ise hasta olan kişilerde genelde göğüs ağrısı, sol kola vuran ağrı gibi semptomlar ortaya çıkmaktadır. Dünya genelinde en yaygın ölüm nedeni olarak koroner kalp hastalıkları gelmektedir [2]. KKH neden olan risk faktörleri yaş, diyabet, kolesterol, yüksek tansiyon, yanlış yemek yeme alışkanlığı, sigara ve stres en genel faktörlerdir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Koroner arter hastalığı risk faktörleri [3]

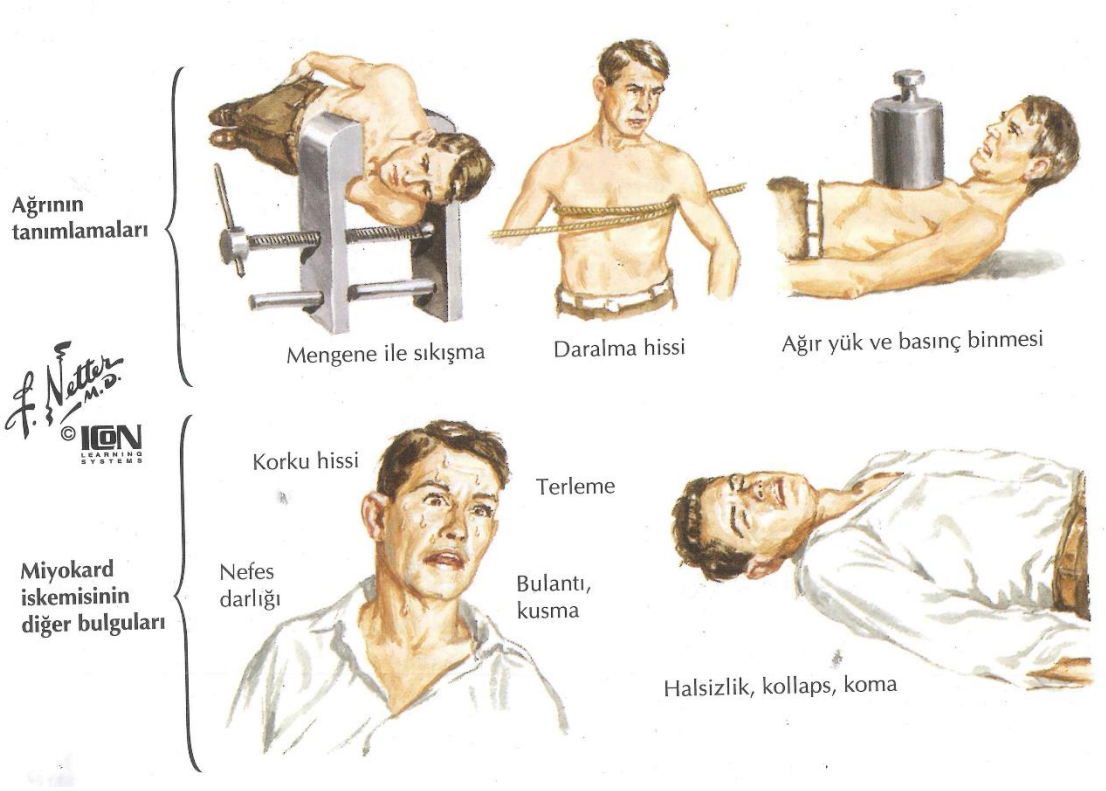
KKH sebep olan risklerin önlenmesine yönelik toplumda izlenebilirlik oldukça zor olmasına rağmen özellikle sağlıklı beslenme, diyabet, yüksek kolesterol ve yüksek tansiyonun ilaç tedavisi ile iskemi oluşma riskini azaltmakta ve koroner kalp hastalıklarını engellemesine yardımcı olmaktadır. KKH etiyolojisinin % 90'ından fazlasını koroner arterlerde meydana gelen hastalıklar ve koroner arterde ki bu hastalıklarında % 90'ından fazlasını epikardiyal arterlerin aterosklerozu oluşturmaktadır. KKH kararlı anjina pektoris (KAP), vazospastik anjina, kardiyak sendrom X, asemptomatik (sessiz) iskemi, iskemik kardiyomiyopati gibi klinik durumlar da karşımıza çıkar. Klinikteki genel durumların dışında nadiren koroner arterlerin konjenital anomalileri, miyokardiyal köprüleşme, sistemik vaskülitlerle ilişkili koroner arterit, radyasyon kaynaklı koroner hastalık gibi aterosklerotik olmayan nedenlerle de koroner hastalıklar olarak karşımıza çıkabilir. KKH epidemiyolojisi dünya genelinde bölgesel olarak farklılıklar göstermektedir. Prevalansı Kuzey Amerika, Batı Avrupa ve Avustralya'da düşme eğiliminde iken Doğu Avrupa ve Asya'da artmaktadır. Dünya genelinde yılda yaklaşık 7 milyon kişinin ölümüne koroner kalp hastalığı neden olmaktadır [4]. Ülkemizde yaklaşık 1,6 milyon kalp hastası bulunmaktadır. Kalp hastası olanların sayısı yılda ortalama 95 bin yeni olgu eklenmekte ve yılda yaklaşık 130.000 kişi KKH'den kaybedilmektedir. Ülkemizde meydana gelen tüm ölümlerin % 43'ünden KKH

sorumludur. Ülkemizde erişkinlerde kalp hastalığı sıklığı bölgelere göre değişim göstermektedir. Karadeniz, Marmara bölgelerinde kalp hastalığı sıklığı yüksek iken Akdeniz, İç Anadolu bölgelerinde ise hastalık sıklığı düşük oranlardadır.

2.2 Klinik Göstergeler

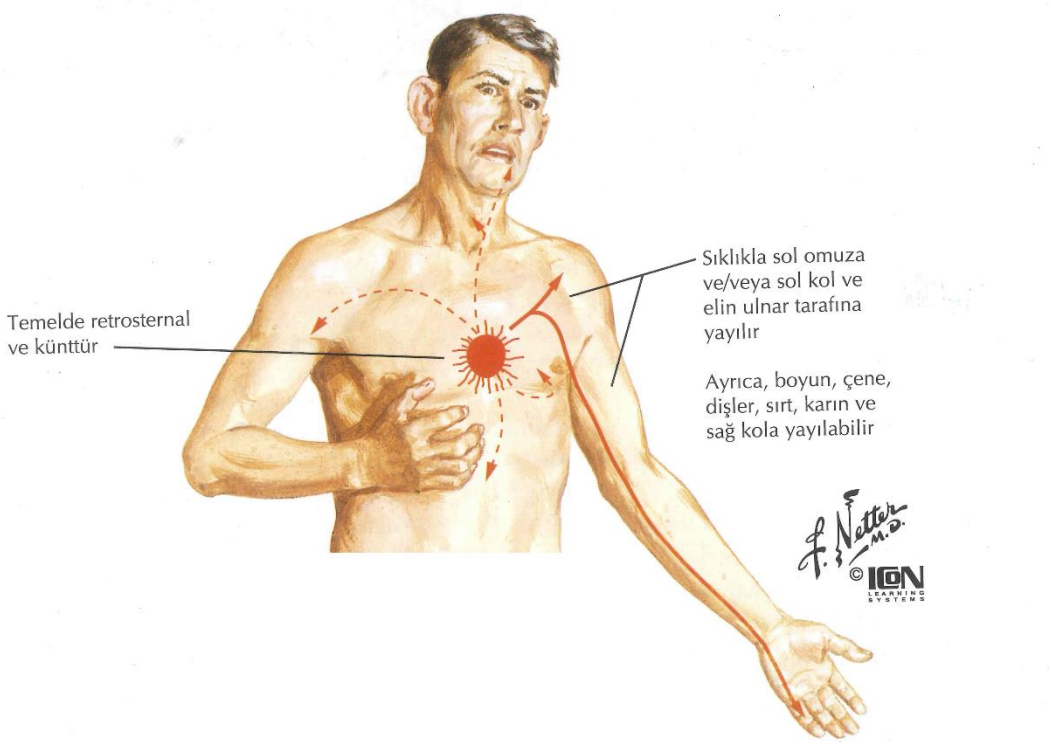
2.2.1 Kararlı Anjina Pektoris

Kararlı Anjina Pektoris (KAP)'de rahatsızlık bazı durumlarda ağırlık, yanma, düğümlenme gibi tarif edilir (Şekil 2.2). Genel olarak ağrı göğüs ortasında hissedilir karakterize edildiğinde sternum üzerinde yumruk şeklinde gösterilir [5]. Bazı hastalarda göğüs dışında omuzlarda, kollarda, sırt ve çene bölgesinde ortaya çıkabilir.



Şekil 2.2 Kararlı anjina pektoris durumunda ortaya çıkan semptomlar [3]

Anjinal ağrının vücut üzerinde yayılımı iskeminin şiddeti ile ilişkilidir ve göğüsten boyuna, omuzlara, kollara genellikle sol kola ve çeneye yayılabilmektedir (Şekil 2.3). Semptomlar genellikle kısa sürelidir, yaklaşık 3–5 dakika kadar süren tipik olarak ağır egzersiz, duygusal gerilim ile başlayan ve ağrı başlama eşiği sigara, soğuk hava, yemek sonrası düşerek daha kolay ağrı meydana gelmektedir. Ortaya çıkan bu semptomlar genellikle dinlenme, stresin uzaklaşması veya nitrogliserin verilmesi ile düzelir.



Şekil 2.3 Anjina ağrısının vücut üzerindeki dağılımı [3]

Anjina Kanada Kardiyovasküler Birliği'nin ölçüsüne göre 4 gruba ayrılmıştır [6].

Sınıf I: Olağan fiziksel aktivitelerde anjinaya ortaya çıkmaz. Anjina sadece çok ağır, hızlı, uzamış efor ve egzersizle ortaya çıkar.

Sınıf II: Olağan aktivitelerde hafif kısıtlanması. Yemek sonrası yürümekle veya yokuş çıkmakla, soğukta, duygusal streste ya da uyandıktan sonra 2 bloktan fazla yürüyünce veya 1 kattan fazla merdiven çıkmakla anjina ortaya çıkar.

Sınıf III: Günlük fiziksel aktivitede belirgin kısıtlanma. 1-2 blok yürümekle, 1 kat merdiven çıkmakla ağrı ortaya çıkar.

Sınıf IV: En ufak bir fiziksel hareket ile anjina ortaya çıkar. En ufak harekette ağrı oluşur ve rahatsızlık hissetmeden hiçbir fiziksel aktiviteyi gerçekleştiremezler. İstirahat anında anjina semptomu oluşabilir.

2.2.2 Sessiz İskemi

Sessiz iskemi genel iskemi vakalarındaki beklenen semptomları vermemesi nedeniyle stabil anjinalı hastaların iskemik ataklarının (%75) klinik olarak sessiz iskemi olarak tanımlanmaktadır. Sessiz iskemi meydana geldiğinde hastada meydana gelen olaylar

sırası ile şu şekildedir: miyokardiyal perfüzyonun azalması ile diyastolik ve sistolik sol ventrikül fonksiyonlarındaki azalma bu azalmaların neticesinde miyokardiyal laktat metabolizmasına neden olur, elektrokardiyografik testlerde değişmeler gözlemlenir ve son olarak anjina pektoris semptomları başlar [7].

2.2.3 Sendrom X

Sendrom X vücudun oksijen ihtiyacının arttığı durumlarda koroner akımın arttırma kabiliyetinin azalması ile meydana gelen bir hastalıktır. Sendrom X hastalarında koroner vazomotor bozukluğu ve anjina ağrısı olabilir. Stabil anjinalı hastaların yaklaşık % 25'inde egzersizle koroner akımın değişmediği koroner lezyon vardır [8], [9].

2.2.4 Prinzmetal (Variant) Anjina

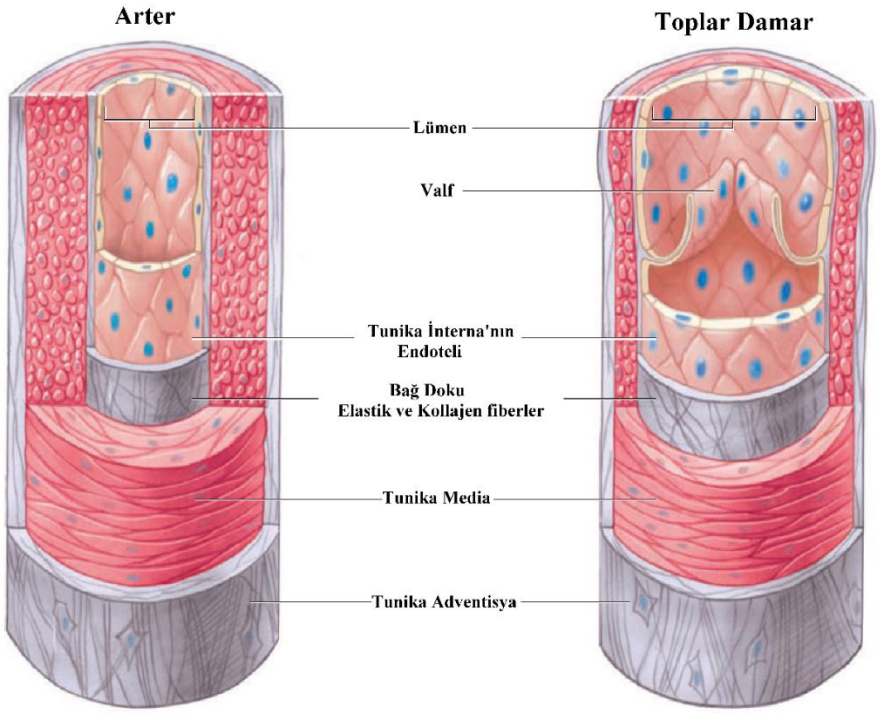
Prinzmetal anjina geçici ST segment yükselmesi ve lokalize miyokardiyal perfüzyon ve fonksiyonel bozukluklar ile ilişkilidir. Variant anjinanın mekanizmasının koroner spazm olduğu bilinmektedir [10], [11], [12].

2.2.5 Anstabil Anjina

Anstabil anjina kronik stabil anjina ve miyokardiyal infarktüs (Mİ) arasında bulunan bir sendrom olarak tanımlanmaktadır. Anstabil anjina non-ST segmentli Mİ ve ST segmentli Mİ sendromlarının bütününü teşkil etmektedir. Hastalığın ortaya çıkması sonucu oluşan hasarın şiddetine, oluşan trombüsün büyüklük ve tipine, daha önce meydana gelen miyokard nekrozunun miktarına bağlı olarak değişmektedir. İskemi büyüklüğü arterin miyokard dağılımına, stenozun şiddetine, kollateral dolaşımın olmasına veya olmamasına, kanın oksijenlenmesini besleyen durumların etkilenmesine, kalp hızı, kan basıncı ve kontraktiliteyi içeren miyokard ihtiyacına bağlı olmaktadır. Anstabil anjinada ortaya çıkan semptomlardan olan göğüs ağrısı dinlenme sırasında artabilir ya da daha önce var olan stabil anjinanın semptomlarını hızlandırarak ortaya çıkarabilir. Anstabil anjina EKG ya da kalp enzim testleri ile tespit edilebilir. Kimyasal testlerde troponinler veya kreatinin kinaz CK-MB gibi miyokard proteinlerde yükselme olup olmadığına bakılarak anstabil anjina ya da Non-ST segmentli Mİ tanısı konabilir [13].

2.3 Kan Damarının Yapısı

Kan damarları dolaşım sisteminin bir parçasını oluşturmaktadır. Bu damar sistemin en temel görevi kanın tüm vücuda taşınmasından sorumludur. Kan damarları 3 ana türü mevcuttur arterler, kılcal damarlar ve toplar damarlardan oluşmaktadır (Şekil 2.4). Arterler kanı kalpten tüm vücuda taşınmasında, kılcal damarlar kan ve dokular arasında kimyasal ve su değiş-tokuşunda, toplar damarlar ise kılcal damarlardan gelen kirli kanı kalbe doğru taşınmasından sorumludur. İnsan vücudunda bulunan damarlar 3 tabakadan oluşmaktadır.



Şekil 2.4 Kan damarlarının yapısı [14]

İnsan vücudundaki arterler ve toplar damarlar 3 tabakadan oluşmuştur, özellikle arterlerde orta tabaka oldukça kalın bir yapıya sahiptir.

Tunika intima: kan damarının en içinde bulunan ve en ince katmanlı olan tabakasıdır. Polisakkarin hücreler arası matris üzerine tek sıra yerleşmiş olan endotel hücrelerden oluşmaktadır. Bu tabaka bebeklerde sadece birkaç mikrometre (μm) kalınlığındayken erişkinlerde 100 mikrometrenin üzerine çıkabilir. Bu kalınlaşma, bağ dokusu lifleri (tip I ve tip III kollagen), proteoglikanlar ve mezenkimal hücrelerdeki artış nedeniyle olur. Kan ile arter duvarı arasında bir bariyer görevi görmektedir. Düz kas hücrelerinden

meydana geldiği için arter tonusunun sağlanmasından da vazifelidir. Tunika intimanın etrafı iç elastik lamina olarak adlandırılan dairesel olarak düzenlenmiş elastik bantların birçoğu ile beraber bağ dokusunun kalın tabakası tarafından çevrelenmiştir. Tunika intimada bazal membran üzerine yerleşmiş tek sıra endotel hücrelerinden oluşur.

Tunika media: arter duvarının en geniş ve kalın tabakasıdır. Vasküler düs kas hücrelerinin katmanlar halinde organize olmasıyla yani sarılması ile meydana gelmiştir. Bu tür tabakalar büyük damarlarda 25-50 kat olabilmektedir. Bu tabaka elastik fiberler, bağ dokuları, polisakkarit maddeleri düzenlenmektedir. İkinci ve üçüncü katmanları başka kalın elastik bant ile ayrılmıştır bu banda eksternal elastik lamina olarak adlandırılmaktadır. Tunika media düz kas hücrelerinden zengin olduğu için damarların çaplarını kontrol etmektedir.

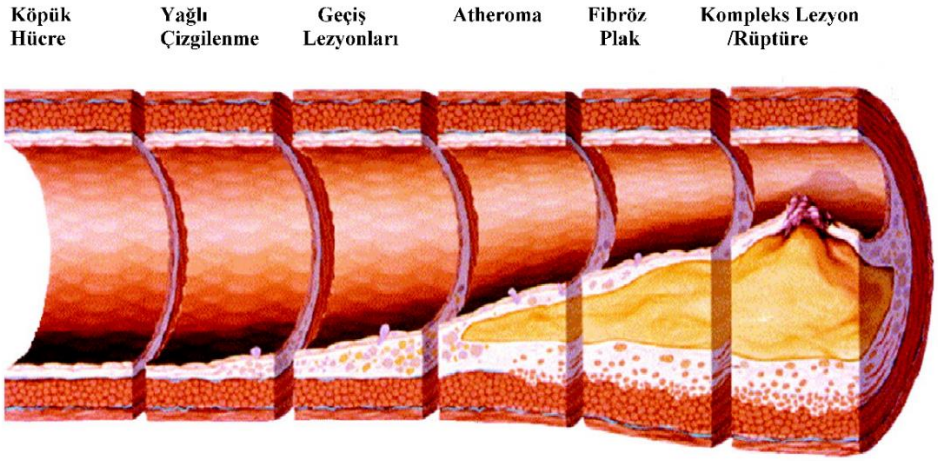
Tunika adventisya: toplardamarlarda ki en kalın katmandır. Tamamen bağ dokulardan özellikle kollagen ve elastin liflerinden meydana gelmektedir. Media tabakasının üst kısmını kaplar, bitişik organ ve dokularla aynı stromayı paylaşır. Kollagen ve elastin liflerinden oluşur, media tabakasına yakın olan iç kısımları daha fibröz ve sıkı, dışa doğru ise daha gevşek bir yapıdadır. Fibroblastlar, adiposit, mast hücreleri, sempatik sinir uçları, lenf ve kan damarlarını da yapısında bulundurur. Vazo-vazorum olarak bilinen bu küçük vasküler yapılar, kalın bir media tabakasına sahip damarlarda, düz kas hücre tabakalarının lümene uzak olan dış kısımlarının beslenmesini sağlar.

İntimal kalınlaşma, damar lümenindeki meydana gelen zorlanma ve mekanik streslere karşı gelişen bir savunma ve korunma mekanizması olduğu görüşü desteklenmektedir. Bu kalınlaşma daha çok atar damarların yan dal yaptıkları dallanma bölgelerinde olması, bu düşünceyi desteklemektedir. Vasküler stresin maksimuma ulaştığı, türbülanslı akışa maruz kalan bu yerlerde endotel tabakasının geçirgenliği, media tabakasındaki düz kas hücrelerinde organizasyon bozulmasına ve hücre çoğalımı olarak ifade edilen proliferasyon artmıştır. Arterlerde mekanik streslerin arttığı ve fiziki zorlanmanın meydana geldiği yerlerden aterosklerozun daha fazla geliştiği de bilinmektedir.

2.4 Ateroskleroz

Ateroskleroz elastik arterlerin intima tabakasında meydana gelen hastalıklar olarak tanımlayabiliriz. Vücudun bazı bölümlerinde bulunan arterlerde ateroskleroz meydana gelme durumu diğer bölgelerdeki arterlere göre daha yüksektir. Koroner, karotis, serebral, renal arterler ve aort genel olarak ateroskleroz olaylarının en sık meydana geldiği

arterlerdir. Bazı alt arterlerde ateroskleroza karşı duyarlıdırlar fakat internal mamaryal arter hemen hemen hiç ateroskleroza tutulmazlar. Ateroskleroz damarda gelişimi belirli bir sürede ve birçok evrede gerçekleşir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Atheroskleroz gelişim aşamaları [15]

Ateroskleroz gelişimi ilk olarak yağlı çizgiler olarak adlandırılan lipid yüklü makrofaj köpük hücreleri ve ilgili T lenfositlerinin endotel tabakanın altında birikmesi ile başlar. Aterosklerozun gelişimi ikinci kısmı fibröz plak oluşumu, bu süreç ölen köpük hücrelerden intimaya serbest kolesterol bırakılır, düz kaslar intimadaki kolesterol içinde depolamaya başlar ve bazı düz kaslar intimaya doğru göç ederler tüm bu durumların neticesinde kollajen sentezinde göç eden düz kaslar tutulur ve fibröz kepler oluşur. Fibröz plaklar yağlı çizgilerden daha büyüktür ve arter lümenin doldurarak daraltmaktadır. Aterosklerozun diğer aşaması ise endotel yaralanması ve damar içerisinde yağlı çizgiler ve fibröz plakların birikimi ile meydana gelen stabil ateroskleroz plakların anstabil plağa dönüşmesine neden olur ve plak rüptüre olarak tromboz gelişir bir çok durumda Mİ ile sonuçlanır [16].

2.4.1 Endotel Hücreler ve Disfonksiyonları

Endotel hücreler antikoagülan ve antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı damar sağlığın sürdürülebilmesi ve sağlanabilmesi için oldukça temel bir fonksiyonları vardır. Bu özellikler nitrik oksit (NO) aracılığı ile gerçekleşmektedir. NO endotel hücrelerde sentezlenir ve çok sayıda anti-ateroskleroz özelliklere sahiptir, sahip olduğu özellikleri sıralamak gerekirse 1. NO endotel hücrelerinde güçlü platet agregasyonu inhibitörü olarak çalışır. 2. NO intersellüler molekülü (ICAM-1), vasküler hücre adhezyon molekülü

(VCAM-1), P-selektin ve monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) gibi inflamasyon hücrelerini yakalayarak bu hücrelerin intima tabakasına girmesini kolaylaştırırlar [17]. inflamasyonda görev alan bu proteinlerin sentezlenmesinde gerekli olan gen ekspresyonunu durdurarak intimaya hücre geçişini azaltabilir [18]. Aterosklerozun en erken saptanan belirtisi NO farmakolojik veya hemodinamik olaylar karşısında salınım düzeyinin azalmasıdır. Bu durumun sebebi ya NO üretiminde azalma ya da NO yıkımında artma olarak ifade edilebilir. Bazı ateroskeloroz risk faktörleri endotel fonksiyonunda bozulmalara sebep olarak NO salınımında azalmaya ya da NO yıkımında artmaya sebep olmaktadılar. Hiperlipidemik hastalarda NO-aracalığı vazodilatasyonda azalma mevcuttur [19]. Diyabetik hastalarda NO üretiminde azalmaya bağlı endetol fonksiyonu bozulur. Oksidatif stresin NO yıkımını artırmaktadır [20].

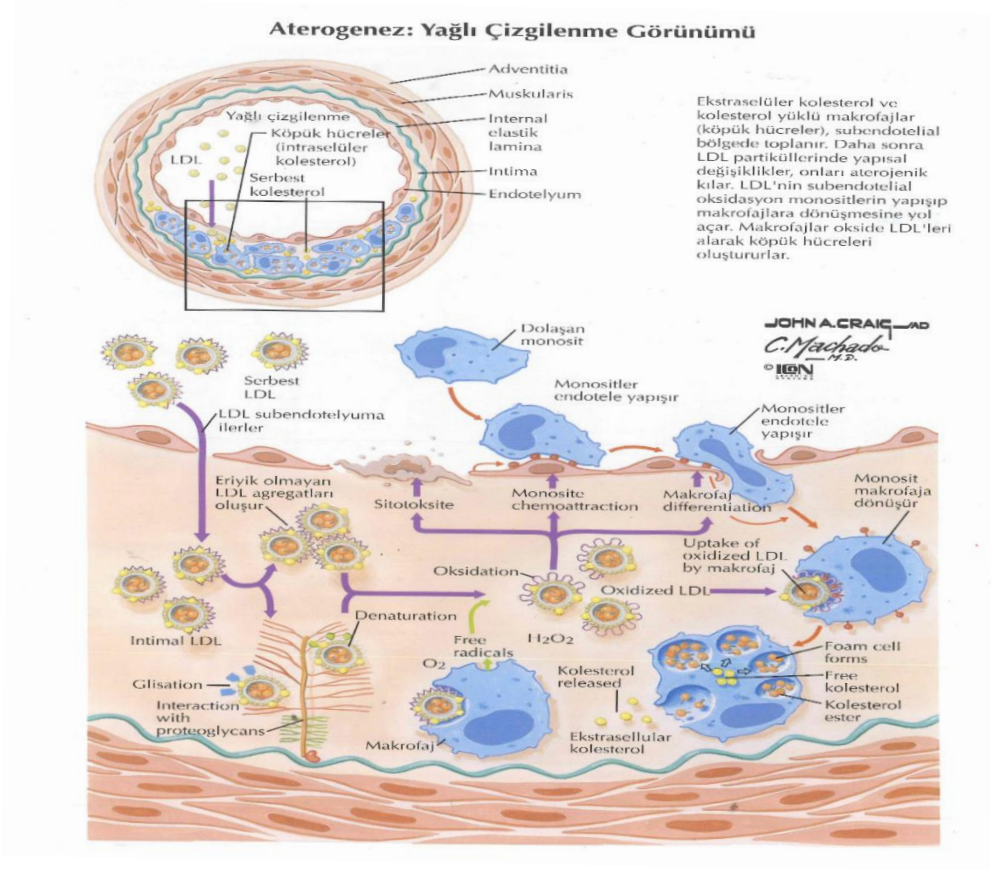
2.4.2 İnflamatuvar Hücreler

Kan dolaşımında bulunan Düşük yoğunluklu Lipoproteinler (LDL) komşu endotel hücrelerin birleşme bölgelerinden difüze olarak endotelde birikmeye başlar. Dolaşımda pasif difüze hızı ortamda bulunan LDL'in miktarının artması ile artmaya başlar. LDL farklı türdeki lipid türevleri ile ateriskleroz ilerlemesine etki etmektedir. Lipoprotein (a) LDL ile benzer metabolik bir yapıya sahip olduğu için Lipoprotein (a) atreskleroz artmasına etki ettiği, arter duvarında biriktiği ve düz kas hücre proliferasyonu arttırdığı bilinmektedir [21], [22], [23], [24]. LDL ve lipoprotein (a) gibi moleküller özellikle subendotelyal tabakada lipid birikmesine ve kısmen okside olduğunda endotel hücrelerin aktivasyonu ve bölgesel inflamatuvar reaksiyonu uyarmaktadır. Aktif olan hücreler selektin ve adhezyon moleküllerinin eksprese ederek ortamda bulunan kemokinlerin varlığında daha büyük ateroskleroz lezyonu oluşturmaktadır. İntimaya inflamatuvar hücre alımının ilk aşaması monositler ve T hücrelerin endotele tutunması ile başlar. Aterosklerozun başlangıcında makrofajlar damar duvarında bulunan zararlı okside lipidleri nötralize etmektedir. Fakat makrofaj köpük hücreleri plak gelişimde çeşitli proinflamatuvar ve büyüme faktörlerini sentezler. Bu büyüme faktörlerinden damar düz kası hücreleri için kemoatraktan büyüme fonksiyonunda görev alır. Bu ve buna benzer sitokinlerin etkisi altında damar düz kas hücreleri medyadan intimaya göç ederek matriks ve fibröz kapsül oluşumu için sentetik fenotipe dönüşür. Bu düz kaslar ile birlikte aktive olmuş makrofajlar yüksek apoptoziz hıza sahip olmalarından dolayı apoptotik ölüm ile içersinde taşıdığı ve büyümesine neden olan lipid içeriği intimaya salınır ve daha fazla

miktarda düz kasın bu bölgeye gelmesini neden olarak intimada daha hızlı proliferasyon ve inflamatuvar hücre birikmesini hızlandırarak duvar kalınlaşmasına sebep olmaktadır [21], [22], [23], [24].

2.4.3 Yağlı Çizgilenmeler

Yağlı çizgilenmeler, aterosklerozun ilk aşamasında meydana gelen, atreskleroz gelişim sürecinde lezyon olarak görünebilirdir. Yağlı çizgilenmeler arter lümen yüzeyinin rengini düzenli olmayan sarı-beyaz renk olarak değişmesine sebep olmaktadır (Şekil 2.6). İntima içinde oluşan yağlı çizgilenmeler, özellikle oksidize lipitleri içerisinde taşıyan makrofajlar ve T lenfositlerden oluşan immün bir yanıttır [25].



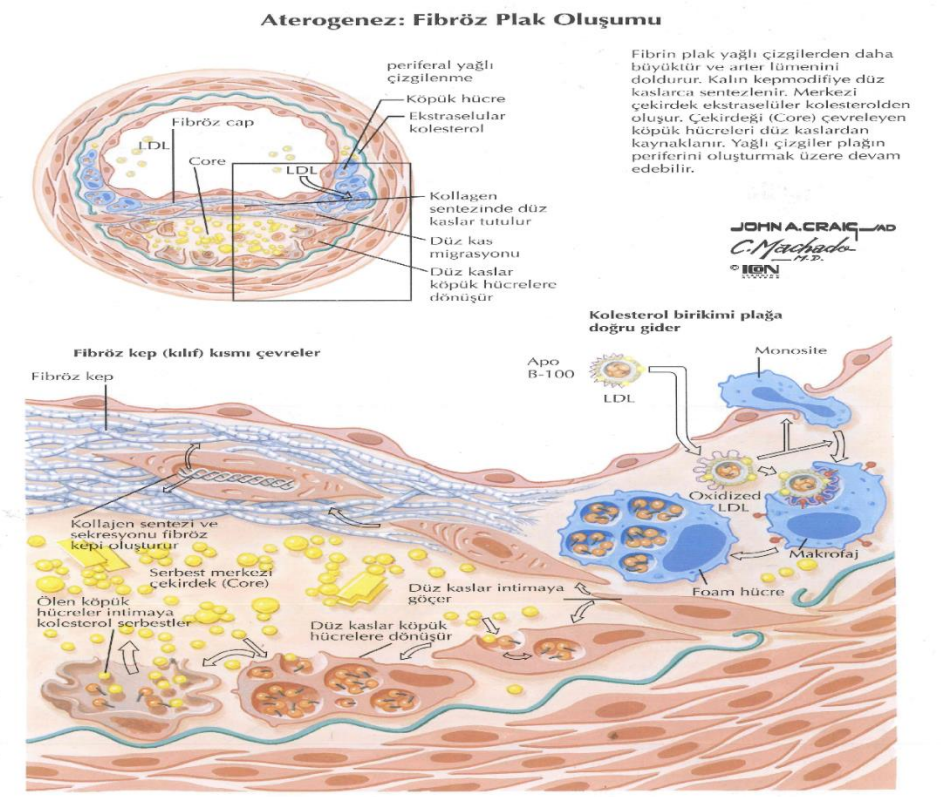
Şekil 2.6 Yağlı çizgilenme oluşumu [3]

Ateroskleroz'da ilk aşamada oluşan yağlı çizgilenmelere köpük hücre oluşturmaktadır, bu köpük hücreler oksidize olmuş LDL moleküllerini içerisinde taşıyan monosit kökenli makrofajların endositozu ile meydana gelir ve intima tabakasında birikmeye başlar. Yağlı çizgilemeler endotel katmanı içerisinde gelişir fakat fibröz plak oluşum aşamasında geçmediği için intimal tabakayı lümene doğru genişletmez. Bazı vakalarda yağlı

çizgilenmeler olgun aterosklerotik plaklara dönüşmesine sebep olmaktadır fakat bazı vakalarda yağlı çizgilenmelerin değişmeden kalmaktadır, her iki durumu sağlayan faktörler tam olarak bilinmemekle birlikte bazı mikroorganizmaların gen ekspresyonlarına etkilediği düşünülmektedir.

2.4.4 Atreoskleroz Plaklar

Aterosklerozun oluşumun ilk dönemlerinde fonksiyon olarak doğru şekilde görev yapan endotel hücreler özellikle monositlerin yüksek okside LDL'i içersinde hapsederek makrofaja dönüşmesi sonucunda başlattığı inflamasyon nedeniyle zarar görmeye başlar, trombositler gibi inflamatuvar hücreler aktive olarak sitokin ekspresyonu yapmaya başlayarak düz kas hücrelerinin çoğalması ve bağ doku sentezinin artmasına sebep olur. Bu faktörler nedeniyle zarar gören endotel tabaka yapması gereken seçiciliğini kaybederek kan ile taşınan lipidler ile birlikte albümin, fibrinojen gibi makromoleküller de taşınarak oluşan plak tabakasının heterojen yapısının artmasına sebep olurlar (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 Ateroskleroz plak oluşumu [3]

Ateroskleroz plaklarda meydana gelen kalsifikasyon sert dokularda olduğundan çok farklı olarak distrofik ve pasif bir yapıdadır, genel olarak yaş arttıkça damarlarda

kalsifikasyonda artar erkekler 45 yaş ve üstünde, kadınlarda ise 55 yaş ve üzerinde bu risk daha fazladır. İlerleyen yaşlarda ortaya çıkan damar kalsifikasyonu ateroskleroz ile birlikte gelişmektedir. Görüntülenme açısından kalsifiye plaklar kalsifiye olmayan plaklara göre daha stabil oldukları için damar içerisinde meydana gelen ateroskleroz plağın büyüklüğünün belirlenmesine imkan sağlamaktadır. Kalsifiye plak görüntülenebilir oldukları için girişimsel olmayan görüntüleme metotları ile büyüklük miktar ve lokasyonu belirlenebilmektedir. Girişimsel olmayan görüntüleme methodlarından elde edilen veri ve bilgiler kalsifikasyon bölgesindeki darlığın derecesini göstermeye tam olarak yardımcı olmasada koroner semptomlar için artan riski göstermeye yardımcı olmaktadır [26].

2.5 Miyokardiyal İskeminin Mekanizmaları

Kalp ve dolaşım sisteminin çalışmasını normal bir şekilde sağlayabilmesi için miyokarda devamlı olarak yeterli oksijen ve diğer metabolik maddelerin kan akımı ile taşınması gerekmektedir. Gerekli kan akımı istenilen metabolitleri ve oksijeni miyokarda taşıyamamaya başladığında miyokardiyal iskemi gözlemlenmeye başlar. Miyokardın fiziksel olarak iş yükünün arttığı durumda eş zamanlı olarak artan oksijen ihtiyacı tıkanan ya da tamamen kapanan lümen, kanda oluşan tromboz ya da epikardiyal koroner arterlerin kasılması, büzülmesi olarak ifade edilen vazokonstrüksiyon sebebi ile koroner arterlerden yeterli kan akışı sağlanamaması durumu miyokardiyal iskeminin en temel gelişim mekanizmasıdır. Miyokardiyal iskemiye sebep olan bu mekanizmalar bazı vakalarda sadece bir tanesi sebep olurken bazı vakalarda ise her iki durumda sebep olabilir.

2.6 Miyokardiyal İskeminin Sonuçları

2.6.1 Metabolik Değişiklikler

İskemi oluştuğunda birçok metabolik değişikler hücrelerde meydana gelmektedir. Adenozin trifosfat (ATP), fosfatlarından ayrılması ile adenozine parçalanarak miyositlerden dışarı bırakılır, arteriyoler dilatasyon ve anjinal ağrıya sebep olur. Hücre içerisinde serbest yağ asitleri ve açiller birikir, protein sentezi ve yıkımında metabolik bozuklar ortaya çıkar. İskemi sonrasında miyokard hücre disfonksiyonuna destek olan metabolizma değişikliği ise miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon ürünlerinden olan serbest oksijen radikalleri, protein, lipit, nükleik asitler ile reaksiyona girmesi ile oluşur.

Miyositlerin kontraktil fonksiyonlarında, kalsiyum (Ca) bağımlı mekanizmaların bozulmasıyla sistolik ve diyastolik fonksiyon bozuklukları meydana gelmektedir. ATP'ye bağımlı olan membran Sodyum-Potasyum (Na-K) pompasının çalışması bozulur, hücre içinde Na birikimi ve K iyonundaki azalma nedeniyle tetiklenmiş aktivite artar, uyarı iletimi bozulur ve aritmilerin gelişme riski ortaya çıkar. İskemi ve reperfüzyonun hasar verici etkileri miyositleri etkilediği gibi aynı zamanda endotel hücre hasarı ve enflamasyon, arter vazokonstriksiyon ve tromboza eğilim de sebebiyet vermektedir.

2.6.2 Koroner Arterlerde Darlık ve İş Yükünde Artış

Hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde koroner arterlerin darlığı fiziksel egzersiz ile kan akımında yaklaşık % 30 azalma saptanmıştır. Arter darlığı ile ilgili olan miyokard duvarındaki sistolik kalınlaşma küçük miktarda bir azalma meydana gelirken perfüze olan miyokard duvarındaki sistolik kalınlaşmada yaklaşık % 20 artma meydana gelmiştir. İskemi meydana geldiği miyokard bölgesinde ki kan akışı iskemi oluşmamış miyokard bölgesi ile kıyas edildiğinde kan akışı % 80 oranda azalma meydana gelmiştir. İskemik bölgedeki miyokardda meydana gelen bu akım azalması sonucunda bölgesel olarak disfonksiyonlar ortaya çıkmaktadır. Koroner kan akımında meydana gelen ciddi azalma ventriküler fonksiyonlarda bozulma ve yetersizliğe sebep olmaktadır.

2.6.3 İskemik Ön Koşullanma

Kalpte oluşan iskemi sonucunda miyokard kasının iskemiye karşı belli bir hassasiyet kazanarak direnç göstermektedir, miyokardın kazandığı bu direnç iskemik ön koşullanma olarak tanımlanmaktadır. İskemik ön koşullanmanın erken ve gecikmiş ön koşullanma olarak iki farklı sınıfı vardır. Erken ön koşullanma miyokardın ilk iki saat içerisinde, gecikmiş ön koşullanmada ise bu süre yaklaşık iki güne kadar çıkabilmektedir. Bu sayede miyokard hücreleri kendilerini iskemiye karşı korumaktadır.

2.7 İskemik Kalp Hastalıklarında Tanısal Testler

2.7.1 Girişimsel Olmayan Tanısal Testler

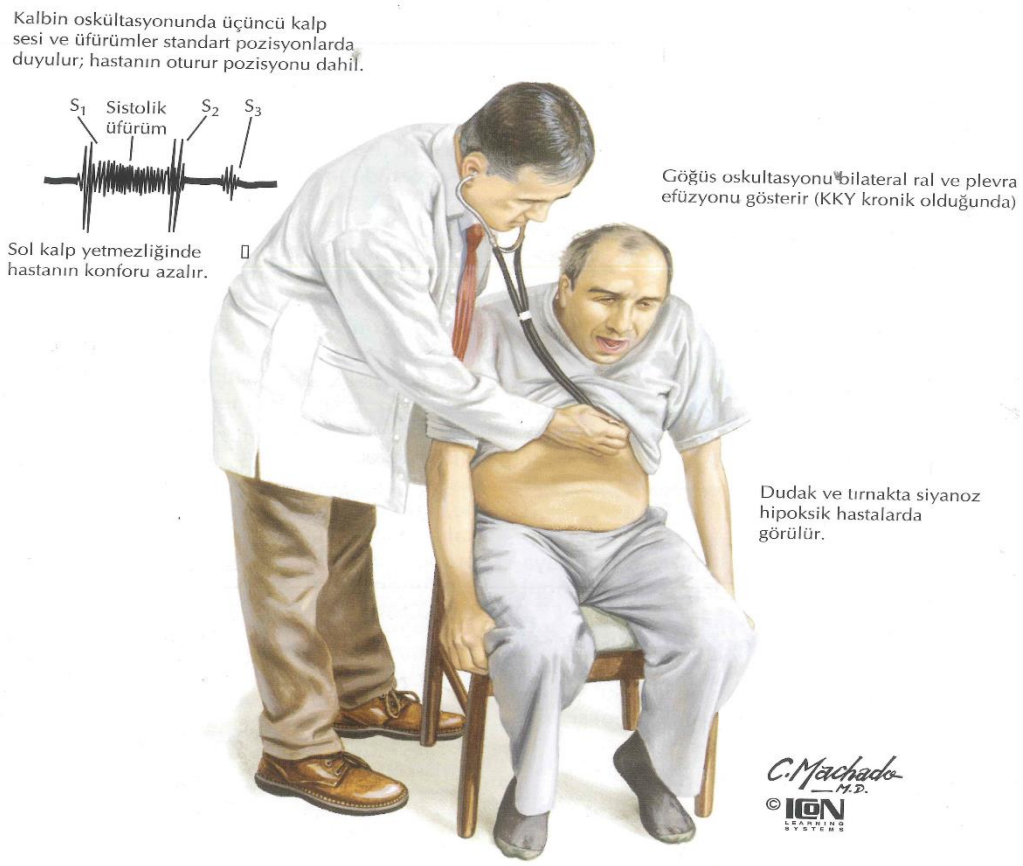
2.7.1.1 Öykü

Hastanın hastalığının kesin bir şekilde teşhis edilebilmesi ve en uygun tedavi şeklinin belirlenebilmesi için hastanın öyküsü oldukça titiz bir şekilde ayrıntılar atlanmadan

alınması en önemli temel bir ilkedir. Hastanın ve hasta yakınlarının sözünü kesmeden dinlemek oldukça zaman alıcı bir durum olsa da hastanın anlatımının, jest ve mimiklerinin doğru anlaşılmasına imkân sağlayarak hekim-hasta iletişiminin doğru bir şekilde kurulmasında ve aynı zamanda aralarında iyi bir iş birliği yapılmasına imkân sağlamaktadır. Tedavi sürecinde hasta-hekim arasında karşılıklı olarak gelişen güven, doğru iletişim ve birbirlerine yardımcı olabileceklerine olan inançları nedeni ile hasta için tam ve doğru bir öyküyü belirlemeye yardımcı olacaktır. Bu iletişim mekanizması sayesinde hastanın doğru tanımlanan öyküsü ile hasta için gerekli olmayan pahalı, zahmetli ve hasta için potansiyel risk taşıyan teşhis ve tedavi yöntemlerinden kaçınmış olacaktır [27], [28]. Hastanın hastalık öyküsünün belirlenmesine yardımcı olacak diğer bir etkende hastanın kalp ve damar hastalığı dışında kalan diğer hastalıklarının öyküsünün bilinmesi oldukça önemlidir. Bu konuda özellikle tiroit, kansızlık, mide kanaması, astım, bronşit ve üst solunum yolu enfeksiyonları ile birlikte hastanın kullanmakta olduğu ilaçlar ve kullandığı dozlar bilinmelidir ki hasta için belirlenecek kardiyovasküler öykü, teşhis ve tedavinin bu ilaçlardan ve hastalıklardan etkilenmeden doğru ve etkin bir şekilde tanımlanabilsin. KAH teşhis ve tedavisinde aterosklerozu tetikleyen risk faktörlerinden olan hipertansiyon, sigara kullanımı, şeker hastalığı, yüksek kolesterol varlığı ve aile öyküsü mutlaka sorgulanmalıdır. Bu sorgulara ek olarak gelişen genetik bilgiler ile ailedeki genç yaşlarda meydana gelen ateroskleroz, koroner arter hastalıkları, hipertrofik kardiyomiyopati ve aritmi geçmişinde sorgulanmalıdır. Ailedeki geçmiş hastalık öyküsüne bakılarak miyokard infarktüs için hastaya net bir yorum yapılamasa da, kardeşlerde meydana gelen kardiyovasküler hastalıklar kişinin hastalanma durumunu ortaya koyması için gerekli bir etmendir [29], [30], [31].

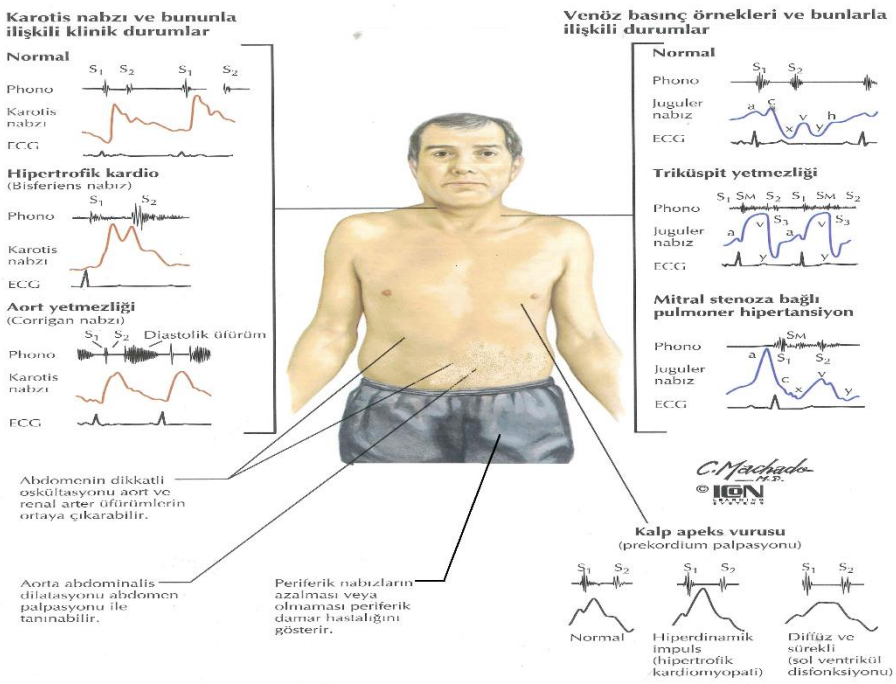
2.7.1.2 Fizik Muayene

Fizik muayene kardiyovasküler hastalıkların değerlendirilmesinde öyküden sonraki en önemli basamaktır (Şekil 2.8, Şekil 2.9). Bu aşamada hastanın yürüyüşü, vücudunun alışkanlıkları, soluk alıp-vermesi, vücudunda oluşan ödemler, deride meydana gelen cilt bozuklukları, göz ve retinadaki fundoskopik incelemeler ve obezite olup olmadığı fiziki muayenin önemli parçalarıdır [32], [33], [34], [35], [36].



Şekil 2.8 Fizik muayene [3]

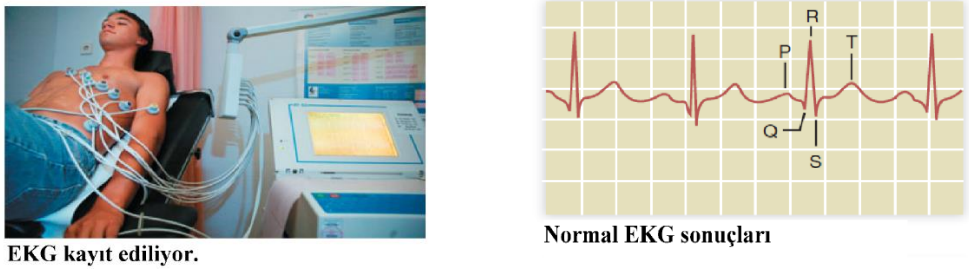
Sistolik kalp sesinde, diyastolik kalp sesinde, birinci kalp sesinde (S1) ya da üçüncül kalp sesinde(S3) meydana gelebilecek artma veya azalmanın belirlenmesi fiziki muayenenin doğru belirlenmesinde önemli bir aşamadır. Toplar damarların, arterlerin basınç ve nabzı, kalp önünün vurusu, kalp sesleri ve üfürümler hastanın anatomik bozuklukları ve aynı zamanda hemodinamik durumu hakkında bilgi verir. Fiziki muayene hastanın hastalık öyküsü ile birleştirilince teşhis ve tedavi için yeterli bilgi vermektedir.



Şekil 2.9 Kalp muayenesinin önemli bileşenleri [3]

2.7.1.3 İstirahat Elektrokardiyografisi

İstirahat halinde çekilen elektrokardiyografisi (EKG) birçok koroner arter hastası için hastalığın olgu tespitine yönelik yapılan testlerden öncelikli ve ilk yapılan testtir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10 EKG uygulaması ve sonuçları [37]

EKG anjina pektoris bulunan hastalarda genelde normal sonuçlar verir fakat bu verilerin normal olması İKH'yi red etmez. EKG'de özellikle hastanın daha önce geçirmiş olduğu infarktüs kanıtları, ST-segment değişimi, anevrizma, T dalga bloğu değişimleri, iç karıncık ileti bozuklukları tespit edilebilir. EKG sonuçları normal olmadığında yani ST segment/T dalgası değişiklikleri, atriyoventriküler ileti bozuklukları İKH belirlemek için yeterli değildir fakat daha önceden geçirilmiş Mİ, Q/QS dalgaları, negatif simetri T dalgası veya ST segment değişiminin tespit edilmesi iskemik kaynaklı olma durumu

kuvvetlendirmektedir. ST segment değişiklikleri toplam miktar büyüklüğü 12 mm büyük olduğu zaman 3 damar veya sol ana koroner arter hastalılığının en belirgin kanıtıdır [38].

2.7.1.4 Egzersiz Elektrokardiyografisi

Egzersiz EKG testi koroner anjina pektoris şüphesi ile kliniğe başvuran hastalara uygulanması için tavsiye edilmektedir. Girişimsel olmayan diğer tanısal testlere göre daha kolay ve düşük maliyeti sebebi ile sınıf I ve sınıf II hastalarda tercih edilmektedir. Egzersiz EKG'si hastaların miyokart iskemi tanısı için kullanılan bir testtir. Sınıf I ve Sınıf II hastalarda kullanılan egzersiz EKG testinin hassasiyeti ortalama % 65 spesifitesi ortalama % 70 olmak ile birlikte arter tıkanıklarında meydana gelen tekrar tıkanıkların belirleme spesifitesi oldukça düşüktür. Egsersiz EKG yapılan hastalar SV hipertrofisi, sol dal bloğu, intraventriküler iletim bozukluğu, depolarizasyon ve iletimi etkileyen ilaçları kullanıyorlar ise EKG'den elde edilen sonuçlar yarar açısından oldukça sınırlıdır. İskemiyi önlemeye yönelik herhangi bir ilaç kullanımı söz konusu olmayan hastalarda ST bloğundaki durum için gerekli olan tanısal bilgiyi kolaylıkla edinmek için egzersiz EKG yapılması daha uygundur. Egzersiz EKG testi sırasında hastada meydana gelen göğüs ağrısı, bu ağrının test süresince ortalama beş dakika sürdüğü ya da ST bloğunun 0,2 mV'dan fazla olan değişimlerde koroner arter hastalığı için pozitif bir kanıt oluşturur [39], [40]. İstirahat EKG'sinde komple sağ dal segmenti olan ya da 1mm 'den daha küçük ST bloğu değişimi olan orta derece KAH olan sınıf I hastalarda ya da anjina'dan şüphelenilen sınıf II hastalara egzersiz EKG önerilmektedir.

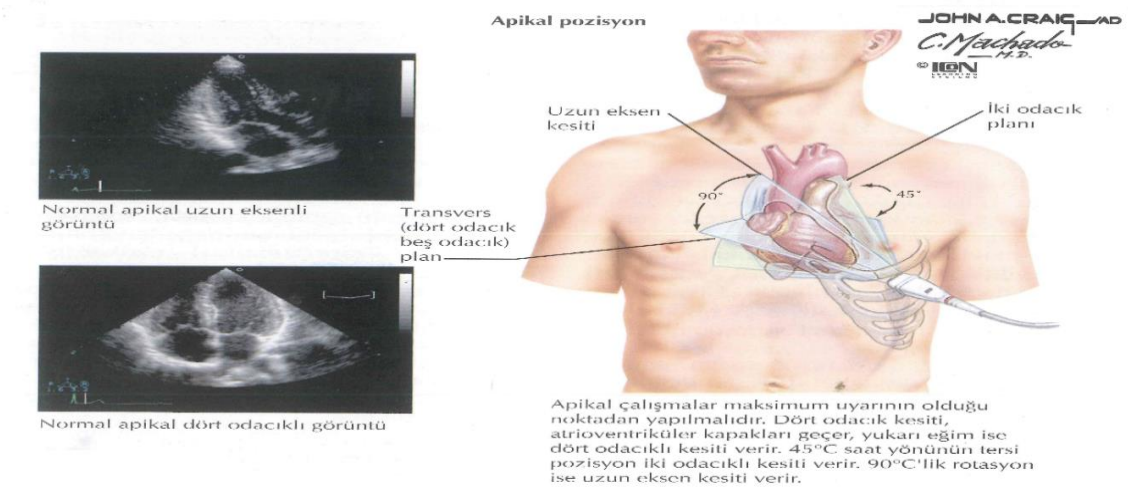
2.7.1.5 Holter EKG

Holter monitorizasyonu hastalık şikâyeti ile kliniğe başvuran kişilerin kardiyovasküler sistemlerinin çeşitli elektriksel aktivitelerini en az 24 saat boyunca kayıt altında tutmaya yarayan monitorizasyon testidir. Holter testi için kullanılan aracın portatif olması hastalık şüphesi taşıyan kişileri farklı sürelerde elektriksel aktivitelerini kayıt edebilmektedir bu süre genellikle bir hafta ya da 2 hafta olabilmektedir. Holter monitorizasyonu özellikle egzersiz EKG'de tanımlanamayan ST bloğu baskılanmasında KAP hastalarında ortalama % 12,5 civarında Mİ tanısı koymaya yardımcı olmaktadır [41].

2.7.1.6 Ekokardiyografisi

Ekokardiyografi sıklıkla kardiyak eko ya da eko olarak ifade edilmektedir. Ekokardiyografi standart iki boyutlu (2B), üç-boyutlu (3B) ve Doppler ultrason kullanarak kalbin anatomik yapısını görüntülemede ve fonksiyonunu değerlendirmede

kullanılan basit bir tanı testidir (Şekil 2.11). Ekokardiyografi herhangi bir şüpheli ya da bilinen kalp hastalıklarında hastanın teşhis, tedavi, kontrol ve tedavi sürecinde takipleri için oldukça yaygın ve rutin bir hale gelmiştir. Ekokardiyografi hastaların kalplerinde meydana gelen doku hasarları ve bölgeleri, kalbin kan pompalama kapasitesi, kalbin şekil ve büyüklüğü hakkında sağlıklı bilgi vererek kararlı anjina şüphesi olan hastalarda teşhis için imkân sağlamaktadır. Mİ oluştuğu bölgenin daha güvenli ve doğru bir şekilde tanımlamaya yardımcı olmaktadır [42], [43], [44]. Ekokardiyografi kardiyomiyopati, hipertrofik kardiyomiyopati, dilate kardiyomiyopati ve diğer miyokartta meydana gelen duvar hareket ve şekil bozukluklarının tespit edilmesine yardımcı olmaktadır [45].



Şekil 2.11 Ekokardiyografi görüntüsü [3]

Ekokardiyografi kalbin şekil ve fonksiyon bozukluklarını belirmesi gibi avantajları olmasına rağmen en önemli dezavantajı bazı hastalarda görüntü kalitesinin yeterli olmaması, elde edilen sonuçları yorumlaması kullanıcıya bağımlı olması ve doğru ve tam bir yorumlama için özel eğitim gerektirmesidir.

2.7.1.7 Nükleer Görüntüleme Testleri

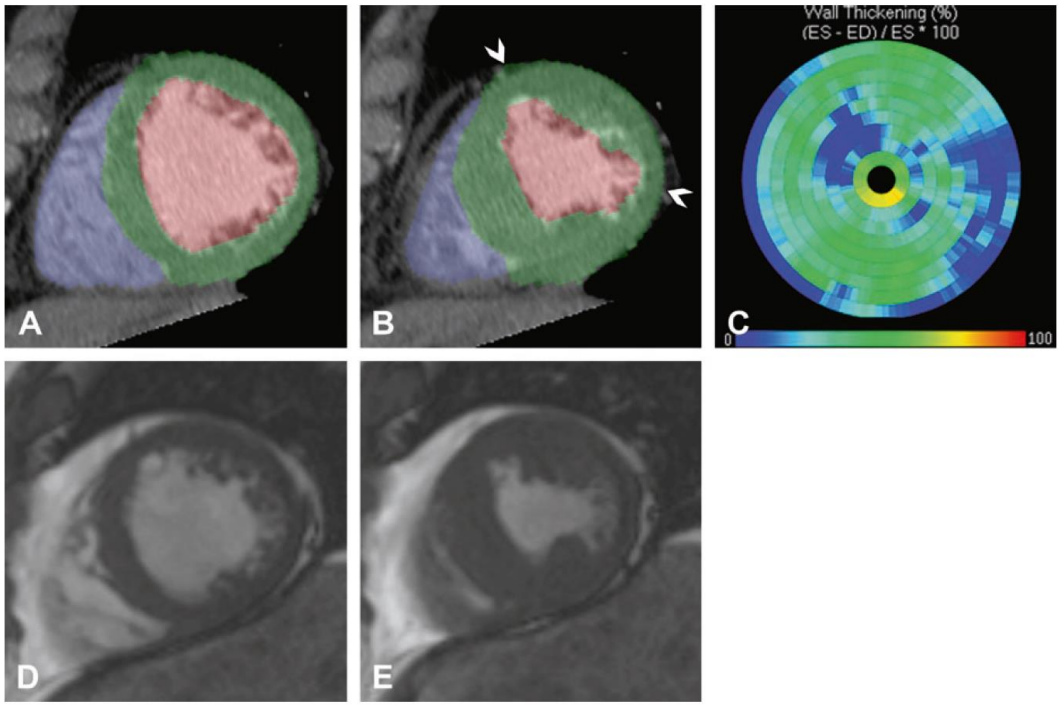
Nükleer Görüntüleme testleri miyokart perfüzyon sintigrafisi (MPS) ve pozitron emisyon tomografisinden (PET) kullanılarak yapılmaktadır. MPS kalp kaslarının(miyokard) fonksiyonların görüntülenmesinde kullanılan girişimsel olmayan tanı yöntemidir. MPS kullanılarak koroner arter hastalıkları, hipertrofik kardiyomiyopati, kalp duvar hareket anormallikleri, miyokardiyal infarktüs, miyokardiyal iskemi, koroner anevrizma ve koroner arter baypas grefti ve anjiyoplasti sonrası revaskülerizasyonu değerlendirilmek amacıyla kullanılmaktadır [46], [47]. MPS testinde kullanılan görüntülemeye yardımcı

radyoaktif ajanlar Talyum 201, Teknisyum 99m ve Rubidyum 82 atomlarıdır. Rubidyum 82 atomu Teknisyum 99m atomuna göre daha az radyasyon maruziyeti sebebi ile daha güvenilirdir [48].

Koroner lümen darlığını tanımlamada duyarlılık ortalama % 80 ve spesifik özelliği ortalama % 70 dir. Tek foton emisyon tomografisi (SPECT) kullanıldığında, duyarlılık % 91'e, spesifik özelliği % 89 olarak belirlenmiştir. PET miyokardın metabolik özelliklerinin tanımlanmasına imkân sağlamaktadır. PET iskemik miyokardiyumun belirlenmesine, hibernasyonda miyokart ile miyokart yaralarını ayırmaya yardımcı olurken aorta, perikart ve kalp kitlesi ile ilgili anatomik bilgileri vermekte yeterli olmamaktadır [49], [50].

2.7.1.8 Manyetik Rezonans ile Görüntüleme

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) tekniği vücudun fizyolojisi ve anatomisinin görüntülenmesinde kullanılan bir yöntemdir (Şekil 2.12). MRG ekokardiyografi, kardiyak bilgisayarlı tomografisi ve nükleer tıp gibi görüntüleme testlerine tamamlayıcı bir görüntüleme yöntemidir. miyokardiyal iskemiyi ve viyabilitesinin değerlendirilmesi, aorta, kardiyomiyopati, perikart, miyokarditis, kalp içi kitleleri, konjenital kalp hastalığı, kalp kapak hastalığı ile ilgili bilgi edinmeye yardımcı olmaktadır. Son teknolojide tek nefes almakla yeterli kalitede görüntüler alınabilmektedir.

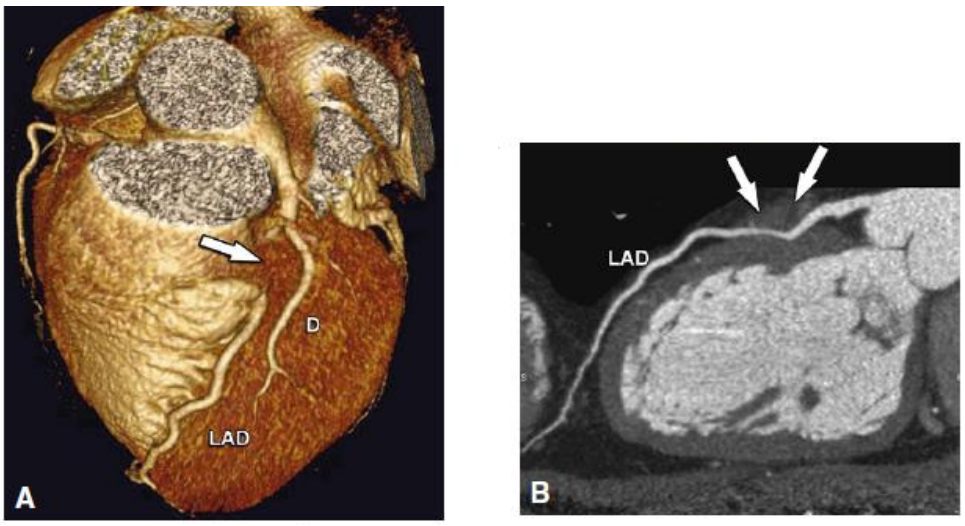


Şekil 2.12 Manyetik rezonans görüntü kesiti [51]

Koroner arterlerin direkt görüntülenmesi de sağlanabilmektedir. MRG ile yapılan anjiyografi çalışmalarında hassasiyeti yaklaşık % 71, spesifikliği yaklaşık % 82 olduğu saptanmıştır. MRG bilgisayarlı tomografi ile kıyaslanınca daha düşük hassasiyet ve spesifikliğe sahip olması, maliyetinin yüksek olması, kurulan sistem taşınabilir olmaması, vücut içinde metal içerikli prostetik araç ve gereç takılan hastaların bu teste girememeleri dezavantajlarıdır [52], [53].

2.7.1.9 Bilgisayarlı Tomografi (BT)

Bilgisayar tomografisinde (BT) X-ray ışınları kullanılarak çok kesitli bölgesel görüntü almaya imkân sağlayan görüntüleme tekniğidir (Şekil 2.13). Spiral BT kullanıldığında yaklaşık her bir rotasyon 1 saniyede tamamlanmaktadır. Spiral BT ile büyük damarların görüntülenmesi ve proksimal pulmoner emboli koymada kullanılmaktadır. Ultrahızlı BT kullanıldığında ise her bir rotasyon süresi yaklaşık 50 milisaniye civarında sürmektedir. Bu sayede kalbin kardiyak anatomisinin ayrıntılı incelemesi yapılabilmektedir. Görüntüleme sırasında kullanılan kontrast maddenin periferik damardan enjeksiyonu ile koroner darlığın girişimsel olmayan metotlar ile tayin edilmesine imkan vermekte ve bu sayede bu yöntem yaygın olarak kullanılmaktadır. BT hastaların arterlerinde ki plak duyarlılığı hakkında bilgi verebilmesi, arter plağındaki kalsiyum ve yumuşak doku oranlarını vermesi avantajlarıdır. Stent uygulaması yapılmış olan hastalarda arter lümeni net bir şekilde değerlendirememesi, baypaslı uygulanmış hastalarda koroner anastomoz bölgesini tam olarak gösterememesi, valvüler akım ve basınç gradiyentlerini iyi göstermemesi BT'nin dezavantajlarıdır [54].

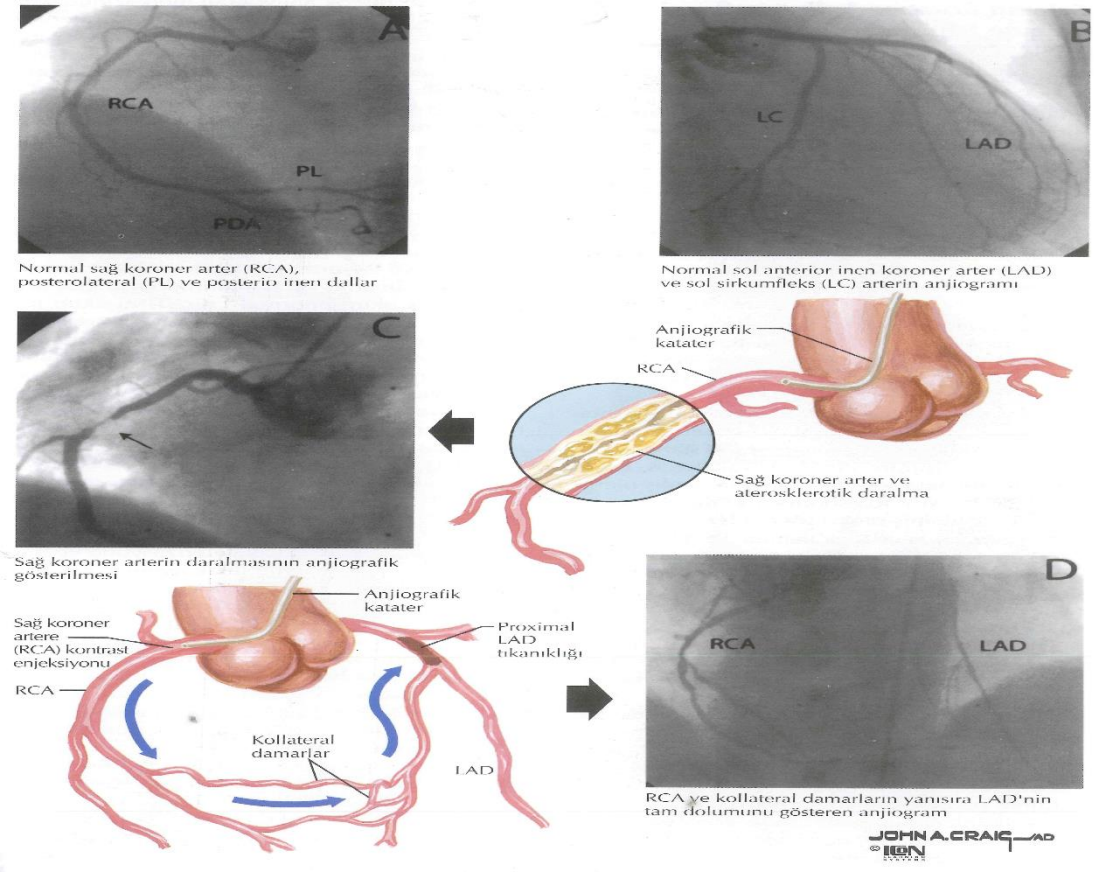


Şekil 2.13 Bilgisayarlı tomografi görüntüsü [51]

2.7.2 Girişimsel Tanı Yöntemleri

2.7.2.1 Koroner Anjiyografi

Koroner arterlerin anatomik yapısı, teşhis ve tedavi metodunun belirlenmesinde kullanılmaktadır. Hastanın elde edilen öykü, fiziki muayene ve uygulanan farklı girişimsel tanı testleri koroner arter hastalığı teşhisinde önemli fakat kesin tanı için kardiyak kateterizasyon ve koroner anjiyografi (KAG) yapılması olguyu değerlendirmek için gereklidir (Şekil 2.14).



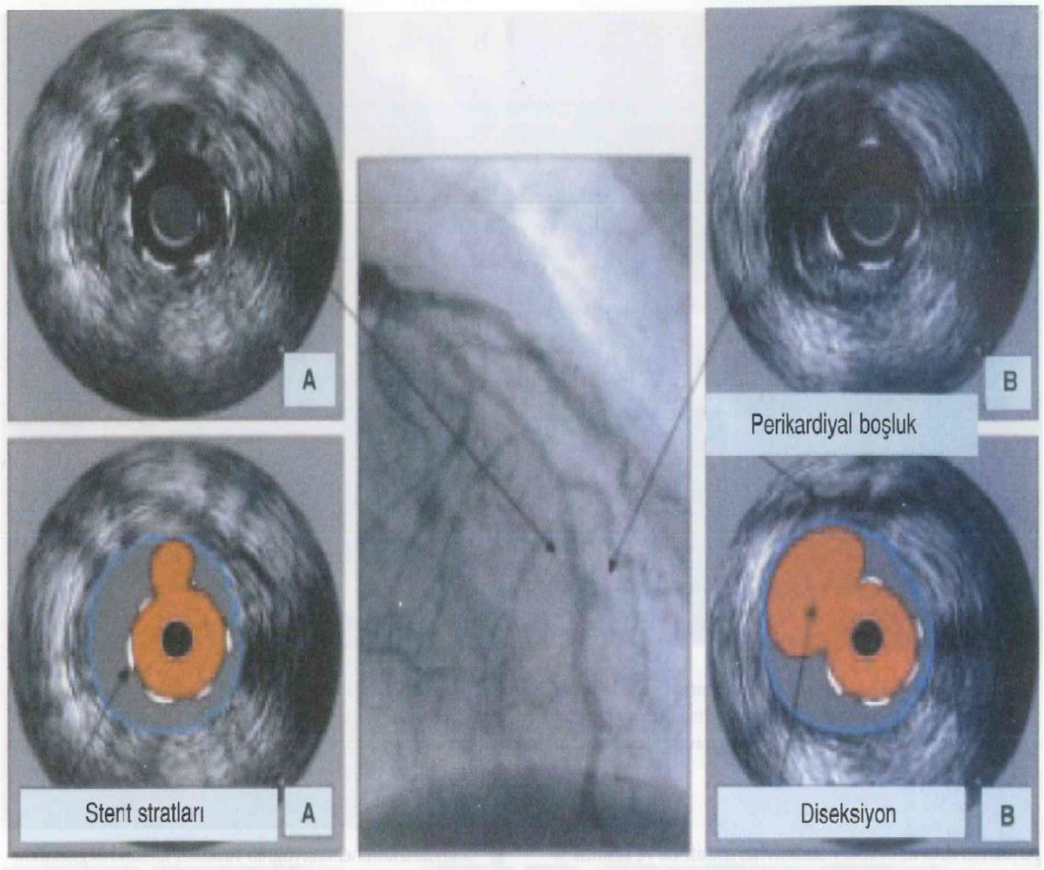
Şekil 2.14 Koroner anjiyografi görüntüleri [3]

KAG genel olarak invaziv olmayan tetkik sonrasında şüpheli olan durumlarda koroner arter hastalığının belirlenmesinde, klinik ve invaziv değerlendirme sonuçlarına göre yüksek risk taşıyan koroner hastalarda, yüksek riskli olmayıp uygun tedavi uygulanan fakat belirgin semptomlar mevcut olan hastalara KAG uygulanmaktadır. Koroner anjiyografi testi uygulanan KAP hastalarında özellikle arter lümenini göstermeye yardımcı olurken arter duvarı içerisinde bulunan büyük plakların tespit edemeyebilir [55]. KAG arterdeki stenozların yayılımı, dağılımı hastaların uzun dönem takibi için gerekli bilgileri sağlamaya yardımcı olmakla birlikte ayrıca arter içinde gelişen ateromun koroner

arter duvarına dağılımı ve büyüklüğü hakkında bilgi vermektedir [56], [57]. KAG yöntemi ile hastaların % 38'lik kısım tek damar hastalığı, % 29'luk kesimi iki damar hastalığı, % 15 hastada üç damar hastalığı görülmektedir.

2.7.2.2 İntravasküler Ultrasonografi

İntravasküler ultrasonografi (IVUS) koroner arter hastalığının yaygınlığı, dağılımı ve plak lezyonun yapısını göstermek amacıyla kullanılmaktadır(Şekil 2.15). IVUS kullanılarak koroner arterlerin kesit görüntülerinin elde edilmesi, arter içerisinde bulunan plağın oranı, arterin lümenin çapı, arter de meydana gelen daralmanın olduğu bölgedeki darlık derecesi, kalsiyum ve lipit skorları, arter içerisindeki plak hakkında kararlı veya kararsız yapısı hakkında bilgi vermektedir.



Şekil 2.15 IVUS görüntüleme [58]

IVUS damar içerisinde belirli bir yer kapladığı için arter lümenin yüzde olarak büyüklüğü önem arz etmektedir, yüzde olarak 50 ile 70 arasındaki damar tıkanıklarında kullanılması daha uygundur [59], [60].

2.7.2.3 Fiberoptik Anjiyoskopi

Atheromatöz lezyonların anatomisinin belirlenmesi için görüntülenmesi, arter plağın rüptür, trombüs tespiti ve Akut koroner sendrom (AKS) hastalıklarının ilerlemesinin takibi için kullanılmaktadır. Test sırasında ölçüm alabilmek için kan akışının kesilmesi gerektiği için risk teşkil etmekte ve aynı zamanda diğer uygulamalar göre pahalı olması dezavantajlarındandır. Anjiyoskopi methodunda özellikle AKS hastalarının teşhisi için kullabılabilir fakat stabil iskemik vakalarda çok kullanılmaz [61], [62].

2.7.2.4 Optikal Tomografi

İntravasküler bir medikal bir donanım ile ışık kullanılarak damar duvarındaki yapıların görüntülenmesine imkân sağlayan bir yöntemdir. Optikal tomografi damar içinde belli bir bölge de kan akışının kesilmesi gerektirmesi ve koroner arterlerde sınırlı bölgelerde kullanılabilir olması kullanım açısından sınırlama getirmektedir [63].

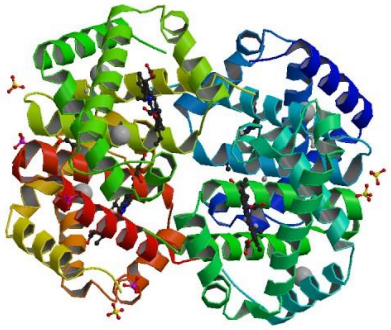
2.8 Kalp Hastalıklarının Tanısında Kullanılan Biyokimyasal Belirteçler

Akut koroner sendrom (AKS) hastalıklarında miyokard üzerinde meydana gelen nekroz sonucunda arter yapısının bozularak hücrelerden enzim ve protein yapıları difüzyona uğrayarak kana karışmaktadır. Miyoglobin, Kreatin Kinaz (CK), Kardiyak Troponinler, B-tipi Natriüretik Peptid (BNP), C-reaktif protein (CRP), Miyeloperoksidaz (MPO), gebelikle ilişkili Plazma Proteinleri, CD40 Ligand ve İskemi Modifiye Albümin (IMA) serum kardiyak belirteçleri olarak adlandırılmaktadır. Serum kardiyak belirteçlerin tanısal özgüllüğünü uygun bir şekilde sağlayabilmesi için miyokard'da oldukça yüksek miktar ve oranda bulunmasına karşılık diğer dokularda bulunmaması ve tespit edilememesi gerekmektedir. Doğru duyarlılık için serum kardiyak belirteçler miyokard hasarının hemen akabinde süratle seruma difüzyon olması ve serumdaki miktar tayini edilmesi ile hasarın büyüklük ve derecesinin belirlenmesi için arasında uygunluk olmalıdır. Kardiyak belirteçlerin diğer bir özelliği de yapılacak test yöntemlerinde kolay ve düşük maliyetli olarak kullanılabilmeli ve serum içerisinde yüksek miktarda uzun süre kalabilmelidir.

2.8.1 Miyoglobin

Miyoglobin, oksijen ve demir iyonlarına bağlanabilen, kaslarda bulunan düşük molekül ağırlıklı bir proteindir (Şekil 2.16). Kanda demir ve oksijene bağlanabilmesi nedeni ile

hemoglobin ile ilişkilidir [64], [65]. Miyoglobin kan akımında sadece kas yaralanmalarından sonra bulunabilir. Miyoglobin küçük bir makromolekük olduğu için kalbin hasar görmüş miyokard hücresinden kan dolaşımına kolaylıkla salınır, Mİ'ün başladığı andan itibaren kan serumunda yaklaşık 2 saat içinde tespit edilmektedir. Kan serumunda yüksek oranda bulunma süresi yaklaşık 12 saat ile 18 saat arasındadır.

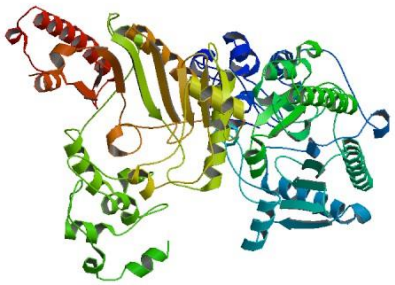


Şekil 2.16 Miyoglobin yapısı [66]

Miyogobin genel olarak kas hücrelerinde bulunduğunda kalbe özgü olmamasına neden olarak iskelet kas hücrelerinde yüksek oranlarda bulunmaktadır bu yüzden Mİ'ün tanısında tanısal özgüllüğü sınırlıdır. Miyoglobinin tanısal özgüllüğü sınırlı olması nedeni ile anjinanın meydana geldiğinden sonraki ilk 4 saat ile 8 saat arasında diğer serum kardiyak belirteçler ile birlikte kullanılmalıdır ki Mİ'ü doğru bir şekilde tanısı konulabilmesine imkân sağlayabilsin [67].

2.8.2 Kreatin Kinaz

Kreatin Kinaz kreatin fosfokinaz ya da fosfo-kreatin kinaz olarak bilinen bir enzimdir (Şekil 2.17). CK ATP'yi kullanarak kreatin katalizlemektedir, ATP kullanarak fosfokreatin (PCr) adenozin difosfatı (ADP) oluşturmaktadır. CK enzimi tersinir olarak da kullanılabildiği için PCr ve ADP kullanarak ATP sentezinde de görev almaktadır. Hücrede ve dokularda enerji dönüşümde görev aldığından oldukça önemli bir enzimdir [68].

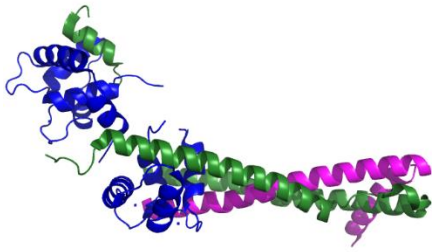


Şekil 2.17 Kreatin kinaz yapısı [69]

Kreatin kinazın iki alt birimi vardır bunlar B(beyin türü) ve M (kas türü) alt birimleridir. Bu alt birimlerin birleşmesi ile farklı izoenzimleri meydana getirmektedir. CK-MM, CK-MB, CK-BB. Hemen hemen tüm dokularda CK-BB çok düşük bir oranda bulunmakta esas olarak beyin ve böbrek dokularında bulunur. İskelet kaslarında CK-MM yaklaşık % 98 ve düşük seviyede CK-MB yaklaşık %1 oranında bulunur. Kalp kası hücrelerinden CK-MM oranı yaklaşık % 70 iken CK-MB oranı %25 ile %30 arasında bulunmaktadır. CK-MB, Mİ oluşumu sonrasında 2 ile 4 saat içinde oluştuğu bölgedeki miyokarddan dolaşıma salınmaya başlar ve 10 ile 36 saat arasında genelde 24 saatte maksimum düzeye çıkar ve normal seviyesine yaklaşık 36-72 saat sonra döner.

2.8.3 Kardiyak Troponinler

Troponinler üçlü düzenleyici protein kompleksidir, bu proteinler troponin C (TnC), troponin I (TnI), troponin T (TnT). Troponin kalp kası ve iskelet kasında ki miyositlerinde aktin ve miyozin arasındaki ilişkiyi düzenleyen yapısal proteinlerdir (Şekil 2.18). Kardiyak Troponin T ile Troponin I kalp kası ve iskelet kasında üretilmeleri farklı genler sorumlu oldukları için farklı amino asit diziliminleri vardır. Kalp hastalıklarında özellikle tanısal özgüllüğü sahip oldukları için kardiyak TnT ve TnI teşhis için güvenilir sonuçlar vermektedir fakat kardiyak TnC düz kaslardaki izoformu ile eş değerli olduğu için tanısal özgüllüğü yoktur [70].

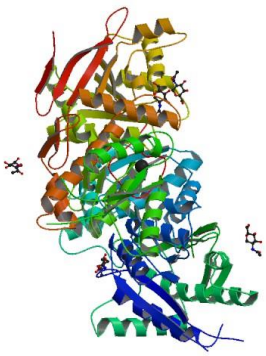


Şekil 2.18 Troponin [71]

Kardiyak troponinler sitozolde ve kontraktil yapıda olmak üzere miyosit hücrelerinde iki farklı yapıda bulunurlar. Sitozolde bulunan troponinler miyokard nekrozu sonrasında plazmaya salınmaya başlar fakat miktar olarak toplam troponin %3'ü ile %5'i arasında bir değerde olduğu için plazmada ki miktarıda oldukça azdır. Kontraktil yapıda bulunan troponinler çok fazla miktardır fakat kardiyak zarar gördükten sonra plazmaya çok yavaş geçtikleri için plazmada uzun süre yüksek değer de kalırlar. Kardiyak TnT miyokard hasarını takiben 3-12 saatte, kardiyak TnI 6-12 saat civarında yükselmeye başlar, her iki troponinde pik değerine yaklaşık olarak 24. saatte ulaşmaktadır. Plazmada ki yüksek değerlerine kardiyak TnI 10 gün kardiyak cTnT ise 14 gün kadar korumaktadır. Troponin T'nin plazma değeri 0,01 ng/ml ile 0,1 ng/mL aralığında ise orta derecede riskli hasta; 0,1 ng/mL'nin değerinden yüksek ise yüksek riskli hasta olarak değerlendirilmektedir. Troponin I için 0,1ng/ml ile 1,5 ng/mL orta derecede riskli hasta; plazma değeri 1,5 ng/mL'nin üstünde ise yüksek riskli hasta olarak değerlendirilmektedir [72], [73]. Kardiyak troponinler KAH dışında miyokard hasarı yapabilen olgularda yükselebileceği ve bu nedenden dolayı istenmeyen sonuçlar verebilir. Plazmadaki Troponin düzeyinin istenmeyen pozitif sonuç verdiği durumlar pulmoner emboli, kardiyomiyopatiler, miyokarditler, kalp cerrahisi, perikarditler, konjestif kalp yetmezliği, göğüs travması, kalp cerrahisi, kronik böbrek yetmezliği olarak ifade edilebilir [74].

2.8.4 B-Tipi Natriüretik Peptid (BNP)

BNP prohormonun N-terminal parçası (NT-proBNP) kalbin ventriküllerinde sentezlenir. Miyositde sentez edilebilen preproBNP, 134 aminoasitten oluşmaktadır (Şekil 2.18). ProBNP 26 aminoasit sinyal peptidinin ayrılması ile oluşur. ProBNP granüllerde depo edilemediği için BNP sentezi ve salgılanmasında gen ekspresyon düzeyinde yapılır.

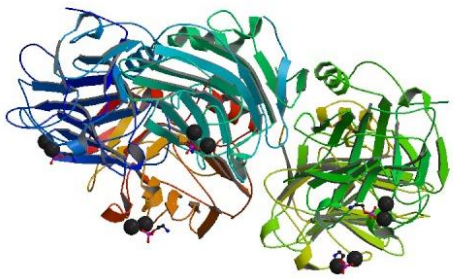


Şekil 2.19 B-tipi natriüretik peptid yapısı [75]

Ventrikül basınç artışı olduğunda, proBNP BNP hormunu ile NTproBNP metabolitine parçalanır. BNP ve NT-proBNP ventrikül miyokardında basıncın arttığı durumlarda önemli bir belirteçlerdir. Sol ventrikül bozukluklarında ve Mİ durumunda miyokard gerilmesine karşı artış gösterdiği için BNP ve NTproBNP tanı için önemli bir parametredir [76]. BNP ve NT-proBNP ölüm ve Mİ önemli prognostik değer taşımaktadır [77], [78].

2.8.5 C-Reaktif Protein (CRP)

CRP 5 alt birimi olan 125 kDa molekül ağırlığında olan pentamerik bir proteindir (Şekil 2.20), özellikle enflamasyona karşı yanıt verdiğinde yüksek seviyede kan plazmasında bulunur [79]. Karaciğerde interlökin-6 kontrolünde sentezlenmektedir. Enflamasyonun etkilediği ateroskleroz ve AKS'un teşhis için CRP kullanılan bir belirteçtir. Diyabet, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar ile enflamasyon ve otoimmün hastalıklarda serumda ki seviyesinde ciddi bir artış olmaktadır. CRP özellikle taburcu edilen hastaların uzun dönem takiplerinde ciddi bir belirteç olarak kullanılmaktadır [80].



Şekil 2.20 C-reaktif protein yapısı [81]

2.8.6 Miyoloperoksidaz (MPO)

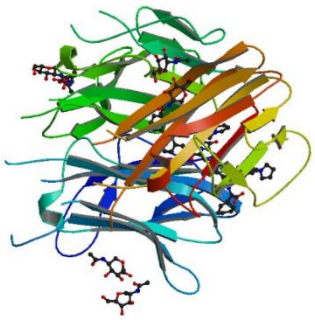
MPO insanda bulunan MPO gen tarafından sentezlenen peroksidaz enzimidir (Şekil 2.21). MPO genellikle neutrofil hücrelerinde bulunmaktadır [82]. Miyokarda hasar oluşmadan plak rüptüründen sonra hemostazın aktivasyonunu ve ya inflamasyon yanıtını gösterebildiği için klinik olarak kullanıbileceği varsayılmaktadır [83]. MPO inflamatuvar ve infeksiyon hastalalıklarında plazmada artış gösterdiği için AKS tanısı belirlemede özgü olmaması dezavantajıdır.



Şekil 2.21 Miyoloperoksidaz yapısı [84]

2.8.7 CD40 ligand

CD40 ligand (Şekil 2.22), CD4+T lenfositinin aktive olması üzerine eksprese olur ve genellikle serumda CD40'ın çözünmüş bir formu mevcuttur. CD40 ligand protrombotik ve proinflamatuvar özelliklere sahiptir [85], [86].

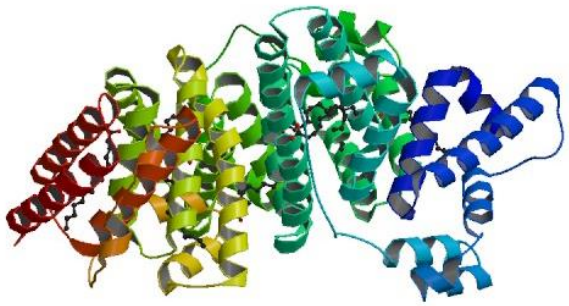


Şekil 2.22 CD40 ligand yapısı [87]

Plateletler, mast hücreler, makrofajlar, bazofiller, NK hücreleri, B lenfositler, düz kas hücreleri, endotel hücreler ve epitel hücrelerde bulunur [88]. CD40'ın yüksek düzeyleri ölüm, Mİ ve iskemi ile ilişkilidir. Sadece IMA karşı tanısal hassasiyeti olmaması ve diğer kalp hastlalıklarında artış göstermesi kullanımını kısıtlanmaktadır [89], [90].

2.8.8 İskemi Modifiye Albümin (İMA)

İnsan serum albümin plazma içerisinde çeşitli metal iyonlarına metal bağlanma bölgesinden bağlanabilmektedir (Şekil 2.23). İMA'nın metal bağlanma bölgesine kobalt iyonu bağlanma kapasitesi albümin-kobalt bağlama testi ile ölçülür. Miyokard iskemi hastaların kan plazmasındaki albüminin N-terminaline kobaltın bağlanabilme kapasitesi düşer [92], [93], [94].



Şekil 2.23 İMA'nın yapısı [91]

Kobalt albümin bağlanma testi sonucunda sonuçlar pozitif çıkarsa iskemi durumunu ortaya çıkarır. İskemi olmayan göğüs ağrısı olan hastalar ile AKS'lu hastaların İMA seviyeleri AKS'lu hastalarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. AKS'lu hastalarda İMA testi dışında troponin testide yapıldığı zaman her iki sonuçla birlikte hem tanısal duyarlılık hem de tanısal özgüllük artmaktadır [92], [93], [94].

2.8.8.1 İskemi Modifiye Albüminin Diğer Belirteçlerle Kıyaslanması

Miyokard kasında oluşan hasarın başlangıç anından hemen sonra kreatin kinaz ve troponin kompleksi plazmada 4 ile 8 saat arasında, miyoglobin molekülü ise bir ile üç saat içerisinde plazmadaki değeri artmaya başlar. Miyoglobin sadece kalp kaslarına özgün olmadığı için vücudun farklı bölgelerinde meydana gelen kas hasarların oluştuğunda da serumdaki seviyesi arttığı farklı kardiyak belirteçler ile birlikte kullanılması gerekmektedir. İskemi meydana geldiği ilk saatlerde erken tanı konulabilmesi için hem tanısal özgünlük hem plazma değerleri hızla ve erken artabilen kardiyak belirtece gereksinim duyulmaktadır (Çizelge 2.1). Bu sebep ile miyoglobinin tanısal özgünlüğünü yeterli olmaması, CK-MB ve troponinlerin ise plazmadaki seviyelerinin ilk defa artması üçüncü saatten sonra gerçekleşmesi nedeni ile erken tanıya olanak sağlamamaktadırlar. Bu durumların dışında AKS'lu hastalarda troponin skorlarının ilk birkaç saat içinde tanısal özgüllüğü oldukça düşüktür (% 30-50). Göğüs

ağrısı ya da AKS düşündürecek diğer semptomlar ile hastaneye başvuran hastalarda iskemi teşhisi için hızlı sonuç verebilen kardiyak belirteçlere ihtiyaç vardır. İMA plazmada erken sürede yükselmesi ve hızlı pik seviyesine çıkması nedeni ile iskeminin erken teşhisinde önemli bir belirteçtir [95].

Çizelge 2.1 İMA'nın diğer biyokimyasal belirteçler ile kıyaslanması

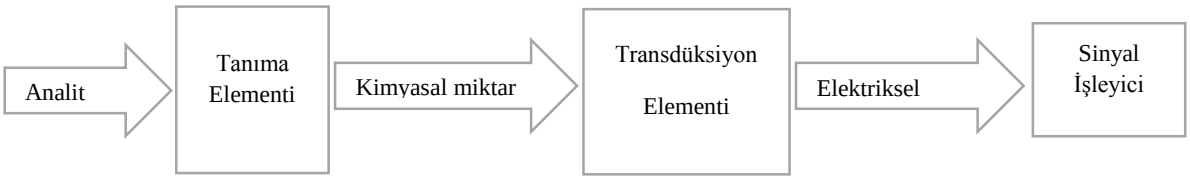
Marker	İlk yükselme	Maksimum değer	Spesifiklik
CK	4-8 saat	24 saat	Hayır
CK-MB	4-8 saat	24 saat	Evet
Troponin T-I	3-12 saat	24 saat	Evet
Miyoglobin	1-2 saat	1-4 saat	Hayır
İMA	1-2 dakika	2-4 saat	Evet

2.9 Elektrokimyasal Elektrotlar

Kimyasal elektrotların tarihsel başlangıcı 20. Yüzyılın başlarına dayanmaktadır. Kimyasal sensörler üzerine yapılan ilk araştırmalar sonucunda, çözelti içerisindeki hidrojen iyonlarına cevap verebilen ince film cam sensörler keşfedilerek pH'ı ölçebilen cam elektrotlar Cremer tarafından bulundu. pH'a duyarlı cam elektrotların günlük hayatta pratik olarak kullanılmaya başlaması 20.yüzyılın ikinci çeyreğini bulmaktadır. Elektrokimyasal sensörler de esas gelişim 20. yüzyılın 3.cü çeyreğin ortasından itibaren başlamıştır, bu yıllardan sonraki süreçte birçok farklı sensör bulunmuştur. Gümüş halojenlere ve çinko oksit'e duyarlı seçici elektrotlar keşfedilmiştir. Sensörlerin gelişimi yeni bulunan birçok malzeme ve membran ile birlikte basınç, akustik ve optik sensörler gibi birçok farklı sensörlerin bulunmasına imkân sağlamaktadır. 20. Yüzyılın son çeyreğinde ise gelişen üretim teknikleri ile daha küçük ve elektronik özellikli sensörler üretilmeye başlanmıştır. Kimyasal sensörler yüksek seçicilik, yüksek hassasiyet, hızlı cevap verme, geniş ölçüm aralığı gibi oldukça etkin avantajları nedeni ile günümüzde çevresel koruma ve gözlem, sanayi ve tarımsal üretimler, gıda testleri, hava tahminleri ve ölçümleri, hastalık teşhis ve tedavi takibi gibi birçok önemli alanda kullanılmaktadır.

2.9.1 Tanımı ve Prensipleri

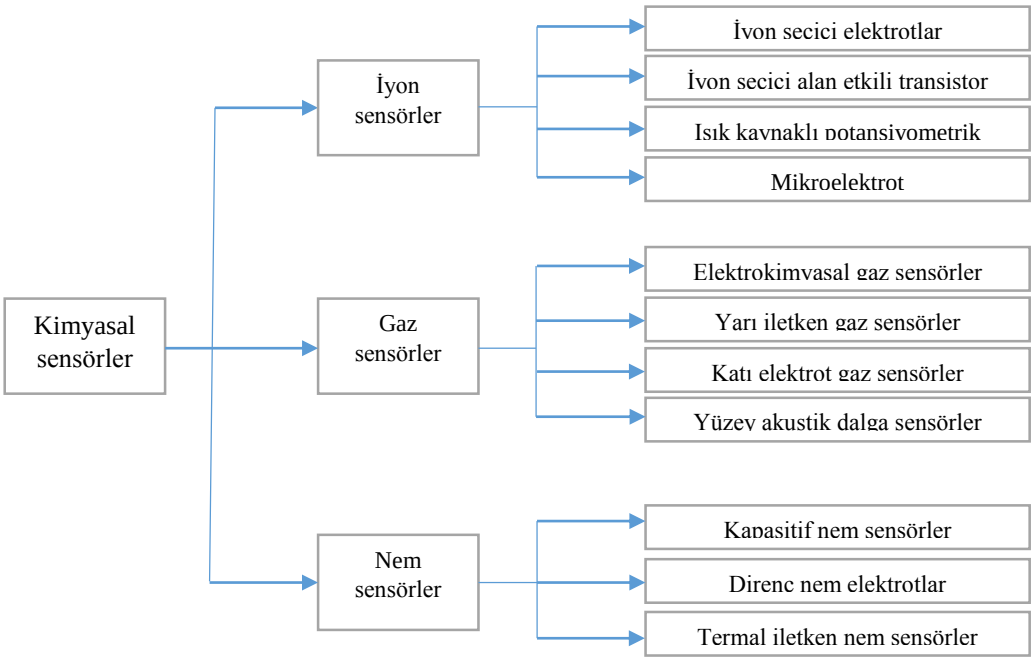
IUPAC'ın 1991 yılında yaptığı tanıma göre: Kimyasal sensörler belirli örnek bileşenlerinin konsantrasyonundan toplam birleştirme analizlerine kadar birçok kimyasal değer ve bilgiyi analitik olarak kullanılabilir sinyallere dönüştürebilen araçlardır. Analitik bir araç olarak kimyasal sensörler oldukça etkilidirler. Bu sensörler karışımdaki belirli molekülleri tespit edebilir. Genel olarak elektrokimyasal elektrotların prensibi şekil 2.24'de olduğu gibi ifade edilmektedir.



Şekil 2.24 IUPAC'a göre elektrotların çalışma prensibi

2.9.2 Sınıflandırılması ve Karakteristik Özellikleri

Doğada birçok kimyasal madde farklı bileşen ve özellikte bulunmaktadır. Bu kimyasal maddeleri tespit etmek için farklı türde kimyasal sensörler kullanılmaktadır. Bu farklı türde ki sensörler IUPAC tarafından özelliklerine göre 3 ana başlık altında toplanmıştır. Genel olarak Kimyasal sensörler: İyon, Gaz ve Nem sensörleri olarak sınıflandırılmaktadır. Her bir sınıfta kendi içinde farklı özelliklerinden dolayı alt birimlere ayrılmıştır (Şekil 2.25).

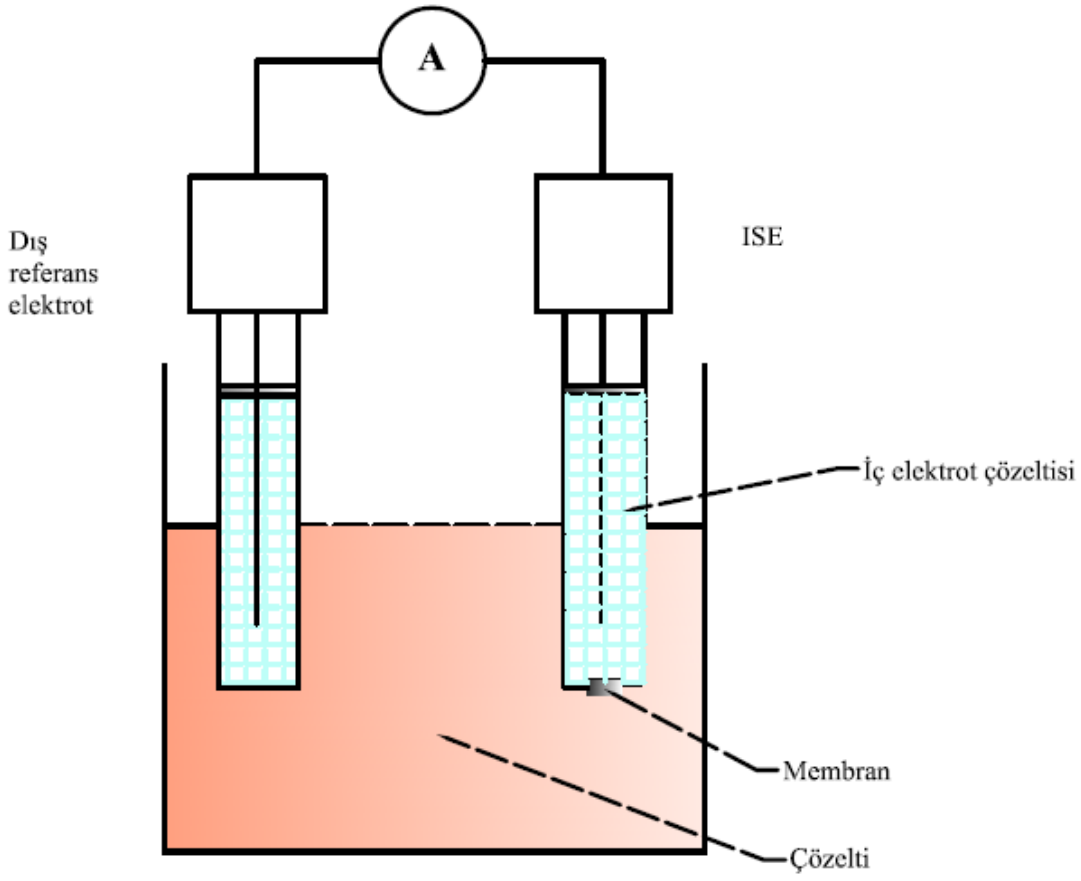


Şekil 2.25 Kimyasal sensörlerin sınıflandırılması

Kimyasal sensörler kimyasal maddeleri doğru bir şekilde ölçebilmeleri için belli karakteristik yapıda olmaları gerekmektedir. Kimyasal sensörler; kimyasal miktarı elektriksel sinyale çevirebilmeli, hızlı yanıt verebilmeli, ölçebilme aktivitesini ve performansını uzun süre koruyabilmeli, boyutsal olarak küçük olmalıdır, maliyet açısından ucuz olmalı, belirli bir kimyasala karşı spesifik olmalı, düşük limitleri tespit edebilmeli ve yüksek hassasiyette olmalıdır [96].

2.10 İyon Seçici Elektrotlar

İyon seçici elektrotlar kimyasal sensörlerin en eski türdür ve aynı zamanda elektrokimyasal sensör olarak bilinmektedir (Şekil 2.26). İyon seçici elektrotlar potansiyometrik sensörlerin bir alt grubunu oluşturmaktadır [97]. ISE'ler analit iyonların aktivitelerine karşı tepki vermektedir.



Şekil 2.26 ISE çalışma prensibi

Bu kimyasal tepki logaritmik değeri referans elektroda karşı membranın ölçtüğü elektriksel orandır. ISE'ler birçok sensör gibi üç farklı bileşenden oluşmaktadır. İlk bileşen iyon seçici membrandır. Bu katman seçici reseptör ve iyon değiştiricinin olduğu

ve potansiyometrik sinyallerin kurulmasına neden olduğu yerdir. İkinci bileşen güç çevirici ya da iyonik akımın elektronik akıma çevrilmesinden sorumlu olan güç çevirici katmandır. Son bileşen ise potansiyometrik hücreler için tespit sistemidir. İyon seçici membranlar cam, polimerler ve kristal malzemeler olarak bilinen birçok farklı türü vardır [98]. Günümüzde çok yönlü ve kabiliyetli iyon seçici membranlar özellikle lipofilik ligand ve lipofilik iyonik türleri içeren organik polimerik matrislerden meydana gelmektedir. Matrislerin en önemli bileşeni lipofilik ligand ve iyonofordur.

2.10.1 İyon Seçici Membran

İyon seçici membran iyon seçici elektrotların temel bir parçasıdır. İyon seçici membranlar, katı-hal membran, cam membran, sıvı iyon değiştirici membran, nötral taşıyıcı sıvı, nötral taşıyıcı polimerik membranıda kapsayacak şekilde geliştirilmektedir [98]. Bu tür iyon seçici membranlar temel olarak polimerik ya da sıvı matrisden, iyonofor ve iyon değiştiriciden oluşmaktadır.

2.10.1.1 Polimerik Matris

Polimerik matris membranın mekanik sağlamlığını sağlamaktadır. Matris suda çözünmeyen, duyarlı iyonlara ile kimyasal reaksiyon vermeyen ve inert özelliğe sahip olmalıdır. Membrandaki iyon dağılımına iki farklı faz eşlik etmektedir ki bunlar hidrofobik membran// su içeren örnektir. Polimerik matris genel olarak plastikleştiricili ya da plastikleştiricisiz poli(vinil klorür) (PVC)'den hazırlanmaktadır. Kokteyl polimerik membranın ağırlıkça 1/3 PVC'den 2/3'ü ise plastikleştiricilerden meydana gelmektedir. En yaygın olarak kullanılan plastikleştiriciler Bis(2-etilhekzil sebakat) (DOS apolar özellikli), ya da nitrofeniloktileter (NPOE-polar özellikli) . Plastikleştiriciler genel avantajları arasında membran bileşenin yüksek hareket kabiliyetini sağlaması ve viskozitesini düşürmesi, organik fazın homojenliğini sağlaması ve sahip oldukları polarite ve dielektrik sabiti ile membranın iyon değiştiriciliğini etkilemektedir ki bu durum da seçicilik olarak ifade edilir. Bu avantajların yanında bazı önemli dezavantajlarıda bazı durumlarda ortaya çıkmaktadır bunlar örneğin kontamine olmasına sebep olmaması, sensörün kullanım ömrünü azaltması ve elektriksel sinyalin kararsızlığını artırmaktadır [99,100]. Bu membranların dışında n-butil akrilat, metil metakrilat ve desil metakrilat yeni nesil membranlar olarak kullanılmaya başlanmıştır [101], [102], [103].

2.10.1.2 Lipofilik İyon Değiştiriciler

Lipofilik iyon ya da iyon değiştiriciler Nerst tepkisini sağlaması ve membranın seçici-geçirgenliğini kararlı halde tutması oldukça önemli bir gerekliliktir. Birincil iyonlar zıt yüklü olan iyonlar ile membrana girmemeli ve membrana ölçülecek iyon ile aynı yüklü iyonların geçmesine izin verecek özellikte olmalıdır bu özelliğe seçici-geçirgenlik denilmektedir. Bu sebeple membran fazı içerisindeki ölçülebilen iyonların toplam konsantrasyonu numuneden bağımsız olmalı sabit ölçüm alabilmelidir. Aynı şekilde Lipofilik iyon olmayan membranlar numune aktivitesindeki değişime yanıt verememektedir [104]. Katyon değiştirici olarak sodyum tetrafenilborat, potasyum tetrakis(p-klorofenil) borat, potasyum tetrakis[3,5-bis(triflorometil)fenil] borat kullanılmaktadır. Anyon değiştirici olarak ise tridodesilmetilamonyum klorür kullanılmaktadır.

2.10.1.3 İyonoforlar

İyonoforlar ISE membranların seçiciliğini etkileyen en temel bileşenidir. İyonoforlar hedef iyon ile tersinir kompleksler oluşturabilmeli ve seçicilik ve güçlü olmakla birlikte ölçülen ve örnek ile membran ayıran katmandaki ayırıcı iyonların arasında iyon değişimi yapmamalıdır. İyonofor yapısı olabilecek en düşük olasılık ile membran fazından örnek fazına kadar süzülme oranını korumak amacıyla özellikle birçok Lipofilik group içermek zorundadır.

2.10.1.4 Lipofilik Tuzlar

İyon değiştirici özelliği olmayan lipofilik tuzlar membranın elektriksel rezistansını düşürmektedir. İyon seçici membranlar, membranın içindeki iyon seçiciliğinin artması ile tek değerli iyonlardan çok daha fazla iki değerli iyonlara karşı seçicidir [105].

2.10.2 İyon Seçici Elektrotların Çalışma Prensibi

ISE'lerin iyon seçici membranları örnek çözeltinin iyonik aktivitesi α_x ve iç referans çözeltisinin farklı iyonik aktivitesi α_0 arasındadır. İyon değişici ve külte difüzyonu membran ara yüzünde meydana gelmektedir. Membranın sadece örnek iyonlar geçiciliğine imkân sağlamaktadır. Membrana karşı potansiyel fark E_{ISE} Nerst denklemi ile tanımlanmaktadır.

$$E_{ISE} = \frac{RT}{ZF} \cdot \ln(\alpha_x/\alpha_0) \quad (2.1)$$

$$E_{ISE} = K + \left(\frac{2{,}303RT}{ZF}\right).\log(\alpha_x) \quad (2.2)$$

$$E_{ISE} = K + S.\log(\alpha_x) \quad (2.3)$$

R gaz sabiti ($8{,}314\ \frac{J}{K\ mol}$)

T mutlak sıcaklık (K)

F Faraday sabiti ($96487\ \frac{C}{mol}$)

Z elektron transfer sayısı

K hücre ölçülen sabit potansiyel farklılıkların toplamı

S $59{,}16/Z$ milivolt

Ölçülen voltaj örnek çözeltinin iyonik aktivitesinin logaritmik orantısıdır. Genel olarak membran potansiyeli direk olarak ölçülememekte bu sebeple ISE'ların elektrolit hücre şeklindeki dış referans elektroda gerek duyulmaktadır. Dış referans elektrot potansiyeli pozitif olduğunda ISE'un potansiyeli negatif olmaktadır. Hücre potansiyel farklılığı $E_{hücre}$, dış referans eletrot potansiyeli E_{ref} ve C sabit olarak ifade edilmektedir.

$$E_{hücre} = E_{ref} - E_{ISE} \quad (2.4)$$

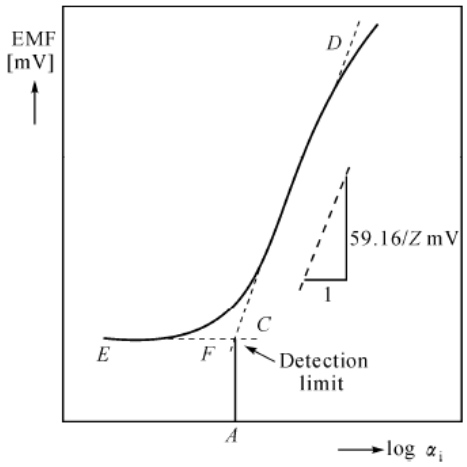
$$E_{hücre} = C - \frac{RT}{ZF} \ln(\alpha_X) \quad (2.5)$$

2.10.3 İyon Seçici Elektrotların Karakteristik Özellikleri

2.10.3.1 Tayin Limiti

IUPAC'ın önerisine göre, tayin limiti iyon seçici elektrot ile elde edilen kalibrasyon eğrisi üzerinde ki ekstrapolasyon edilmiş lineer çizgilerin kesiştiği nokta olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.27) [106]. Elektro potansiyel aktivite küçüldükçe BB' kalibrasyon eğrisinin lineer kısmı dereceli olarak diğer CC' kalibrasyon eğrisinin lineer kısmına doğru yönelmektedir. Tayin limiti BB' ve CC' lineer çizgilerin kesiştiği potansiyel noktasına karşılık gelen A noktasında ki iyonik aktivitedir. Genel olarak ifade etmek gerekir ise, kimyasal elektrotun farklı konsantrasyonlarda ki iyonların elektrik

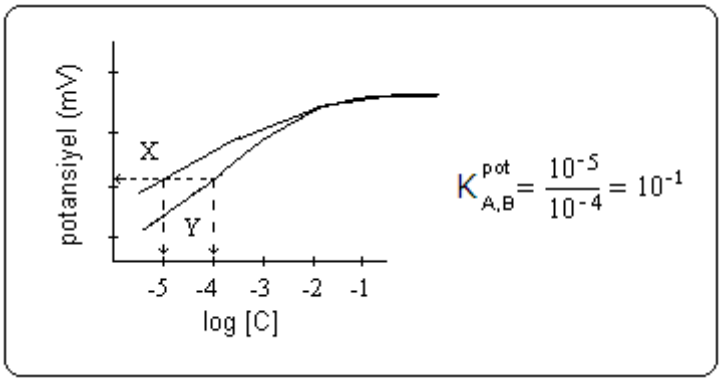
potansiyellerini ölçerken örnek ortamında okuyabildiği en küçük potansiyele karşılık gelen iyon konsantrasyonudur.



Şekil 2.27 Tayin limiti

2.10.3.2 Seçicilik Katsayısı

Seçicilik elektrotun en önemli karakteristik özelliğidir. Seçicilik ortamda ki örneğin güvenilir bir şekilde ölçülmesi mümkün olup olmadığını belirlemektedir (Şekil 2.28). İyon seçici elektrot'ta kullanılan membran tek bir tür iyona karşı doğru bir şekilde seçebilmeli ve ölçebilmelidir fakat seçici olmadığı diğer iyonları ise farklı konsantrasyonları karşısında ölçüm almamalı ve potansiyel olarak bir fark oluşmamalıdır. Örnek çözeltideki ölçülen potansiyel farklı membran ara iyonları etkilenmesi Nikolski-Eisenman formülü ile açıklanmaktadır.



Şekil 2.28 Seçicilik katsayısı kalibrasyon grafiği

$$E = C + \frac{RT}{ZF} \ln\left[\alpha_A + \sum K^{pot}_{AX} (\alpha_X) \frac{Z_A}{Z_X}\right] \qquad (X = B, C \dots .) \qquad (2.6)$$

α_A hedef iyonların aktivitesi

Z_A iyon yükü

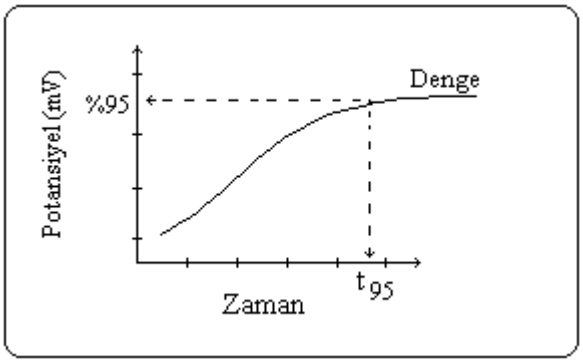
α_B, α_C girişim yapan iyonların aktivitesi

Z_B, Z_C girişim yapan iyonların yükü

K_{AX}^{pot} Seçicilik katsayısı

2.10.3.3 Cevap Zamanı

Cevap zamanı elektrodun geometrik ve dış yapısı ile ilgilidir. İyon seçici membran ile çözelti içerisinde bulunan hedef iyon arasında kimyasal dengenin kurulması için gerekli olan zamandır. IUPAC'ın tanımına göre ise, ilk iyon derişiminden farklı bir iyon derişimine geçildiğinde potansiyel değişim 1 mV civarında ya da denge değerinin % 95'i olarak ifade edilmektedir. Şekil 2.29'de IUPAC'ın tanımına göre cevap zamanının grafiksel gösterimidir.



Şekil 2.29 Cevap zamanı

Nerst denkleminde ifade edilen bir potansiyel fark oluşabilmesi için membran arasına taşınması gereken iyonlar gecikerek elektrotun cevap zamanın artmasına sebep olur.

İyon seçici elektrotların cevap sürelerinin kısaltılması:

I. Çözeltinin homojen ve yeterli karışması

II. Hareketli ortam ise hücre akış hızının artırılması

III. Membran yüzeyinde örnekten dolayı meydana gelen kirlenmenin uzaklaştırılması

IV. Membran yüzeyin alanın küçültülmesi

V. Ölçümlere seyreltik çözeltiden derişik çözeltiye doğru ölçüm alınması

2.10.3.4 İç Direnç

ISE'nin iç direnci elektrot malzemesi tarafından belirlenmektedir. Örneğin cam membran elektrotun iç direnci birkaç yüz mega ohm iken kristal membran elektrot için ise birkaç kilo-ohm olarak belirlenmiştir. ISE, örnek çözelti ve referans çözelti içeren elektrolit hücrenin iç direnci ISE elektrotun direnci olarak tanımlanmakta ve denklem 2.7'de gibi hesaplanmaktadır.

$$R_X = \frac{E_X - V}{V} R_e \qquad (2.7)$$

E_x elektrolit hücrenin potansiyel farkı

V hücreye paralel olan R_e direncinin potansiyeli

R_e direnç

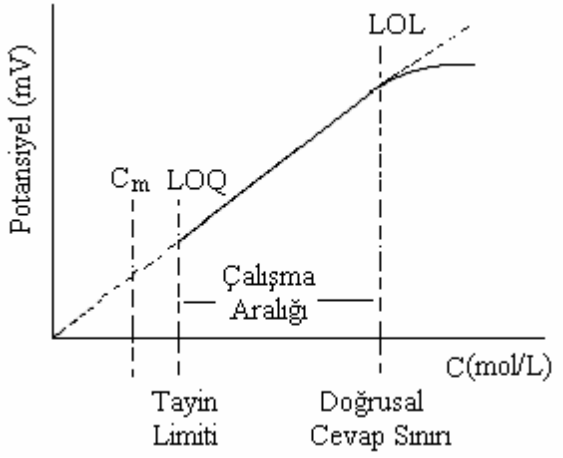
R_X iyon seçici elektrotun direnci

2.10.3.5 Tekrarlanabilirlik

İyon seçici elektrodların farklı molaritedeki standart çözeltileri sırası ile seyreltikten derişiğe, derişikten seyreltiğe giderek ölçüm alınması ile elde edilen elektriksek potensiyellerin aynı konsantrasyonda elde edilen ölçümlerin standart sapması olarak ifade edilebilir [107].

2.10.3.6 Lineer Çalışma Aralığı

Lineer çalışma aralığı, elektrotun cevap verebildiği en küçük molarite derişiminden grafiğin eğrisinin doğrusal ölçümden uzaklaştığı noktadaki derişime kadar olan bölgeye lineer çalışma aralığı olarak ifade edilmektedir. Doğrusal çalışma aralığı Şekil 2.30'da gösterilmiştir.



Şekil 2.30 Doğrusal çalışma aralığı

2.10.3.7 Kullanım Ömrü

Bir ISE için kullanım ömrü en önemli karekteristik özelliklerden birisidir. Elektrotların kullanım ömürleri Nernst cevabı sergiledikleri süre olarak bilinir Elektrotların kullanım ömürleri on katlık konsantrasyon değişiminde belirli periyotlarla sergiledikleri potansiyel farklar incelenerek belirlenir. Ölçülen bu potansiyel farklar kullanılarak zamana karşı grafikler oluşturulur. Eğimde önemli bir farkın meydana geldiği süre, kullanım ömrü olarak verilebilir.

2.10.4 İyon Seçici Elektrotların Avantaj ve Dezavantajları

2.10.4.1 İyon Seçici Elektrotların Avantajları

I. Hedef iyonlara karşı lineer cevap vermektedir.

II. Çözeltide bulunan analit ve numunelere karşı zararlı değildir.

III. Numuneyi kontamine etmez.

IV. İyon konstantrasyon değişimde kısa sürede cevap vermektedir.

V. Spektofotometrik yöntemlerde ölçüm alınamayan renkli ve bulanık çözeltilerden etkilenmez ve kolaylıkla ölçebilir.

VI. Ölçüm alınması zor olan biyolojik ortamlardan ölçüm alabilir.

VII. Üretim ve kullanımı kolay ve düşük maliyetlidir

2.10.4.2 İyon Seçici Elektrotların Dezavantajları

I. Ölçüm hassasiyeti nadiren % 1 den daha iyi olabilmektedir

II. Elektrot özellikle protein ve diğer organik çözeltiler kirletebili

III. Farklı iyonlara karşı hassasiyet gösterebilir

IV. Elektrot kullanım ömrü sınırlı ve elektrotlar kırılgan bir yapısı vardır.

2.11 Akış Enjeksiyon Analizi (AEA)

Akış enjeksiyon analizi (AEA) kompleks olmayan, hızlı ve çok yönlü bir tekniktir. AEA tekniği iyi özellikleri sahip olduğu için kantitatif kimyasal analizlerde çok yaygın olarak kullanılan bir otomasyon sistemidir. IUPAC'ın tanımına göre otomasyon en az bir temel

işlevi insan müdahalesi olmadan kontrol edilen süreçlerin performansında ki insan çabası ve gayretlerinin yerini alması, geliştirmesi, devam ettirmesi ve desteklemesi için mekanik ve enstrümental araçları birleşmesini sağlayarak bu araçların kullanılması olarak tanımlamaktadır [108]. Otomasyon sistemlerinin gelişmesi ile AEA sistemleride gelişmeye başladı ve özellikle Ruzicka ve Hansen'in AEA üzerine yapmış oldukları çalışmalar ile 1975 yılından itibaren bu konuda birçok akademik çalışma yapılmıştır. Bu yapılan çalışmaların özellikle endüstride ve tıp'da yaygın olarak kullanılması ile günümüze kadar bir çok kişinin akış enjeksiyon analizi hakkında makale yayınlamasına imkan sağlamaktadır. Bu methodun kullanım alanı ve konu ile ilgili yapılan çalışmaların artması ile AEA tekniği diğer disiplinlerden daha hızlı büyümektedir bunun en önemli ispatı ise günümüze kadar yazılan makale sayısı on binleri bulmaktadır [109].

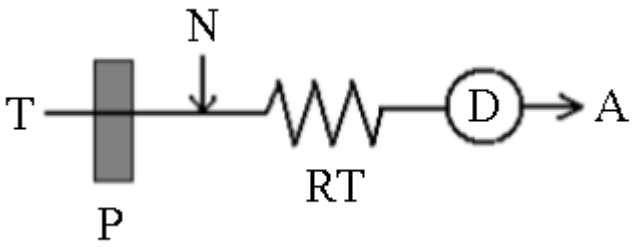
AEA isminde enjeksiyon terimini içermesinin temel nedeni bu tekniğin orijinalde şırınga kullanılarak numunenin bir bölüm içerisinden reaktif akışına doğru enjekte edilerek kullanılması sebebiyledir. Günümüzde bu amaçlar için hareketli dönebilen valf sistemleri kullanılmaktadır.

Farklı numune solüsyonlarının bölünmemiş sürekli akış hattını takiben farklı analitlerin bulunması ile farklı numunelerin dizisel şekilde eklenmesine imkân sağlayan teknik AEA olarak tanımlanmaktadır [110]. AEA için yapılan ilk tanım: Metot hareketli taşıyıcı sıvı içerisine örnek sıvının enjekte edilmesi temeline dayanmaktadır. Enjekte edilen numune ile oluşturulan bölge, absorbans, elektrot potansiyeli ya da herhangi bir fiziksel parametredeki değişiklikleri sürekli olarak kayıt edildiği dedektöre doğru taşınmasıdır [111]. Bu tekniğin tanımı revize edilerek konsantrasyon gradiyenti şeklinde enjekte edilen örneğin bölgesi sürekli bir akımı olan taşıyıcı sıvının içerisine doğru dağılmaktadır. Bu tanım ile birlikte AEA'de yeni gelişmeler başlamıştır, durabilen akış, birleşme-karışma bölgesi, bölge örneklemesi, gradiyent tekniği. Kompleks olmayan akış analiz sistemi farklı işlevler için kullanılabilecek pompa içermektedir. Sistemin içerisinde kullanılan bu pompa ile taşıyıcı sıvıyı küçük çaplı borularda geçirerek, enjeksiyon valfe, mikro reaktöre (numunenin taşıyıcı sıvının bileşenleri ile karışım oluşturmasına ve reaksiyona girmesini yardımcı olduğu bölüm) ve yeni oluşan karışımı dedektöre göndererek sonuçların alınmasına imkan sağlar. AEA tekniğinde fiziksel olarak akış homojenliği dedektöre ulaştığında tam olarak sağlanamaz, karışım farklı oranlarda geçekleşir ve özellikle akış profili sistemin bileşenlerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

AEA kavramı örnek enjeksiyon hacminin tekrar üretilebilir olması, kontrollü örneğin dağılımı, akış sistemi boyunca enjekte edilen numunenin zamanlamasının tekrar üretilebilir olması üzerine üç farklı faktörün birleşmesine bağlıdır. AEA birçok avantajı sağlamaktadır, bu avantajlar numunenin ve reaktiflerin tüketilmesinin azalması, analiz süresi içerisinde daha çok örnek gönderimi, akış sisteminde numunenin bekleme süresinin azalması, tekrar edilebilirlik, esneklik, otomasyonun kolay kullanımıdır. Bu tekniğin en ilgi uyandıran avantajı ise kurulumunun ve deney düzeneğinin kolay olması, bakım ve yatırım maliyetlerinin diğer sistemler ile kıyaslanınca oldukça düşük olmasıdır.

2.11.1 Çalışma Prensibi

AEA'ın (Şekil 2.31) sisteminde numune enjeksiyonu, enjekte edilen numunenin kontrollü dağılımı, ve enjeksiyon noktasından dedektöre doğru enjekte edilmiş olan numunenin hareketinin yeniden tekrarlanabilirliği ve zamanlaması üç önemli prensibini oluşturmaktadır [112].



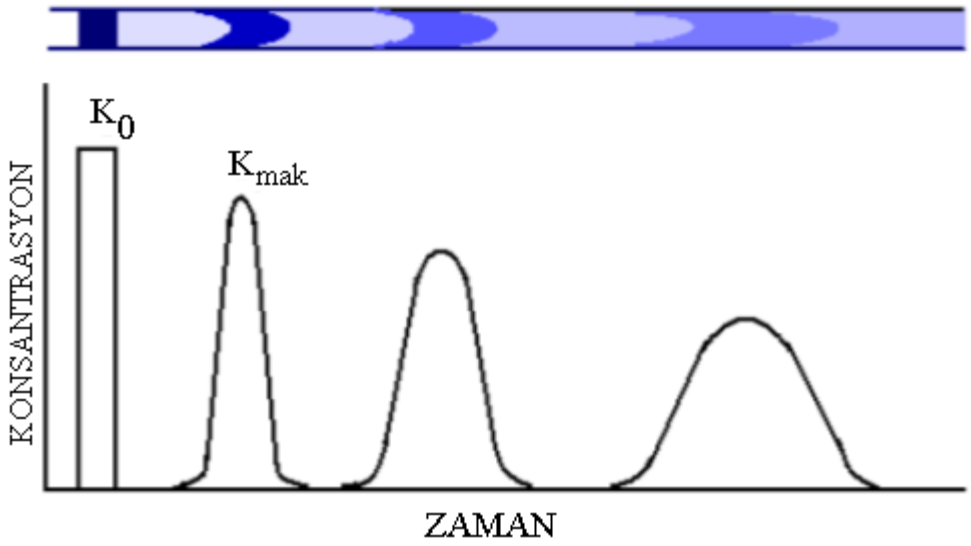
Şekil 2.31 AEA sistemi

Yapılan araştırmalar ile numune dağılımında numune bölgesinin hareket süresi ve bölgesel dağılımı sınırlandırılmadan kontrollü bir dağılıma imkân sağladığı anlaşılmıştır. Numunenin kontrollü dağılımı dengeye ulaşmamış koşullar altındaki analitik sonuçların çıkarılması ile oldukça basittir. AEA'da numune göndermek temel olarak, taşıyıcı sıvıya enjekte edilir, süreç içerisinde akış hattında taşınırken kontrollü dağılımı sağlanarak, dedektöre taşınmasına şeklinde ifade edilir. Numunenin dağılımının kontrolü kullanılan akış borusunun çapına, reaksiyon hücresinin uzunluğuna, taşıyıcı sıvının akış oranına ve enjekte edilen numunenin hacmine bağlıdır.

2.11.2 Numunenin Dağılımı

AEA sistemlerinin en önemli noktası numunenin dağılım kontrolüdür (Şekil 2.32). Akış bölgesinin sürekli akış hattına girerek dedektöre doğru taşınması esnasında tekrar edebilir

dağılımı tüm akış sistemlerinde oldukça önemlidir. AEA'da ki dağılım sürecinin kendine özgü özellikleri akış kanalının geometrik ölçüleri ve akış parametresi değiştirilse bile tekrar edebilirliği ve kontrol edilebilirliği sağlamaktadır. Numunenin taşıyıcı akışa doğru sürüklenmesini sağlayan kuvvetler difüzyon ve konveksiyon kuvvetleridir. Akış ortamında numunenin karşımasında konveksiyon kuvveti baskındır ve moleküler difüzyon bazı durumlarda ihmal edilebilir. Konveksiyon hem kanalın radyal akışı boyunca farklı noktalardaki akış elementlerinin lineer akış oranların farklılaşması hem de düz olmayan kanallarda akış doğrultusunda merkez kaç kuvvetleri etkisi ile oluşan ikincil akışın neticesinde meydana gelmektedir.



Şekil 2.32 Numunenin dağılımı

Numunenin konveks parabolik ön kısmı ve konkav kuyruk kenarları akış hücresine doğru penetrasyonu ile geliştirilmektedir. Bu oluşan konveks-konkav yapı nedeni ile numunenin taşınması oldukça uzun sürmektedir. Bu sebeple AEA sisteminde bulunan belirgin koşullar ve sabit kanal uygulanması sistemde etki eden kuvvetlerin iyi kontrol edilebilirliğini sağlayarak hava burgacı oluşumunu engellemektedir. Bu sonuç aynı çözelti için birden çok ölçümün çok hassas ve benzer sonuçlar vererek grafiksel olarak üst üste gelmesine imkân sağlaması açısından tekrar edilebilirlik imkân sağlamaktadır. Bu özellik temel olarak karışımın hem fiziksel hem de kimyasal olarak denge noktasına ulaşmadığı anda bile dedektörün okumasına imkân sağlamaktadır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Kullanılan Kimyasallar

Katı-kontak referans elektrot hazırlanmasında kullanılan; grafit, polivinil akrilat (PVA) Merck (Darmstadt, Germany) firmasından, tetrahidrofuran (THF) Fluka firmasından (Buchs, İsviçre), epoksi (Ultrapur Su 2227) Henkel (İstanbul A.Ş.) ve sertleştirici (Desmodur RFE) Bayer AG (Almanya) firmasından, potasyum klorür (KCl), sodyum Klorür (NaCl) ve hidrojen nitrat (HNO^3) Sigma-Aldrich (İsviçre) firmasından temin edildi. Kobalt iyon seçici elektrot hazırlanmasında kullanılan grafit, polivinil klorür (PVC), Merck (Darmstadt, Germany) firmasından, tetrahidrofuran (THF), bis(2-etilhekzil)sebacate (DOS) Fluka firmasından (Buchs, İsviçre), epoksi (Ultrapur Su 2227) Henkel (İstanbul A.Ş.) ve sertleştirici (Desmodur RFE) Bayer AG (Almanya) firmasından ve 5-amino-3 metilisotiazolhidroklorit, potasyum tetrakis (4-klorofenil) borat KTClPB, 1-(2-Nitrofenoksil)oktan NPOE, Sigma-Aldrich firmasından temin edildi. Seçicilik tayininde kullanılan klorür tuzları; kalsiyum klorür ($CaCl_2$), kobalt klorür ($CoCl_2$), potasyum klorür (KCl), magnezyum klorür ($MgCl_2$), sodyum klorür (NaCl) ve amonyum klorür (NH_4Cl) ve kobalt nitrat ($Co(NO_3)_2$) Sigma-Aldrich firmasından temin edildi.

3.1.2 Kullanılan Cihazlar

Referans elektrot ve Co^{+2} iyon seçici elektrotların membran ve katı-kontak malzemelerinin tartım işleminde Kern ABS hassas terazisi kullanıldı. Membran ve katı-kontak malzemelerin karıştırılmasında manyetik karıştırıcı Heidoloph MR301 ve mekanik karıştırıcı Heidoloph Type Reax top kullanıldı. Potansiyometrik ölçümler, yüksek giriş empedansına sahip özel yapım 8 kanallı potansiyometre cihazı kullanılarak

alındı. Potansiyel ölçümlerinde referans elektrot olarak özel yapım Ag|AgCl elektrot kullanıldı. Akış Enjeksiyon Analiz testlerinde kullanılan akış pompası olarak GlobalFIA milliGAT pump LF, enjeksiyon vanası ise VICI Valco iki yollu valf kullanıldı. Numunelerin enjeksiyonunda 25 µl Hamilton şırıngası kullanıldı. Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan ultra saf su Purelab flex ultra saf su cihazından temin edildi. Plazma örneklerinin santrifüj edilmesinde Sigma 2-16 PK masaüstü santrifüj cihazı kullanıldı.

3.2 Metot

3.2.1 Kobalt İyon Seçici Elektrotların Hazırlanması

Elektrotun hazırlanması iki aşamadan oluşmaktadır, katı kontak ve membran kaplanmasından oluşmaktadır.

3.2.1.1 Katı Kontak Hazırlanması

Katı kontak ağırlıkça % 50 grafit, % 35 epoksi ve % 15 sertleştiriciden oluşmaktadır. THF içerisinde grafit, epoksi ve sertleştirici iyice karıştırılarak macun haline getirilir. Bakır telin koruyucusu 1 mm kesilerek 1 mm'lik bakır tel açıkta kalacak şekilde korucu boruya yerleştirilir ve içerisine hazırlanan macun sıkıştırılarak doldurulduu, boru ile bakır tel birbirlerine aktivatörlü yapışkan ile yapıştırılıp yaklaşık 1 gün karanlıkta kurumaya bırakıldı.

3.2.1.2 Membran Hazırlanması

Polimerik membran iki farklı iyonofor ile değişen oranlarda PVC'de çözülerek en uygun membran bileşeni belirlenmesi için hazırlandı (Çizelge 3.1). Her bir bileşenin hazırlanması için 2 ml THF içerisine farklı miktarda PVC çözünmeye bırakıldı, PVC iyice çözündükten sonra 1 ve 2 nolu membran bileşeni 4 mg iyonofor IV, 3 mg KTClPB ve 254 mg NPOE eklendi, 3 ve 4 nolu membran bileşeni 10 mg iyonofor, 15 mg Oleik asit ve 300 mg DOS eklenerek iyice çözünmesi için yeterli süre zarfında beklendi. THF ortamdan uzaklaşması için yarım gün oda şartlarında bekletildi. Katı-kontak kaplanmış bakır teller bu membran çözeltisine yeterli miktarda 4 kere daldırılarak yüzeyi kaplandı. Kaplama sonrası kaplamanın kuruması için yarım gün ışık görmeyen karanlık bir dolapta saklandı. Kuruma işleminin hemen takiben 10^{-2} M Co^{+2} çözeltisinde şartlandırması yapıldı.

Çizelge 3.1 Membran içerikleri

Membran No	*İyonofor IV (mg)*	*PVC (mg)*	*KTClPB (mg)*	*NPOE (mg)*
1	4	66	3	254
2	4	132	3	254
Membran No	*İyonofor (mg)*	*PVC (mg)*	*Oleik asit (mg)*	*DOS (mg)*
3	10	180	15	300
4	10	200	15	300

3.2.2 Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Kobalt iyon seçici sensörlerin seçicilik tayinlerinde kullanılmak için klorür tuzlarından (Co^{+2}, Cu^{+2}, Mg^{+2}, Na^{+}, K^{+}, NH_4^{+}, Ca^{+2}) ve kobalt nitrat'dan 0,1 M'lık stok çözeltiler ultra saf suda çözünerek stok çözeltileri hazırlandı. Elde edilen 10^{-1} M'lık stok çözeltiler ultra saf su ile seyreltilerek 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} ve 10^{-5} M'lık seyreltik çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan tüm çözeltiler hava geçirmeyen plastik kapaklı şişelerde ışık görmeyen kapalı dolapta saklandı.

3.2.3 Akış Enjeksiyon Sistemi (AEA)

Akış enjeksiyon sisteminde pompa, enjeksiyon vanası, ölçüm hücresi ve kolondan oluşmaktadır. Pompa sistemi mikro-litre hassasiyette sürekli akış gönderebilen milliGAT pompa kullanılarak kesintisiz akış ortamı oluşturuldu. Enjeksiyon vanası 2-kanallı enjeksiyon vanası yardımı ile numune istenilen miktarda ve istenilen sürede pasif kanalda bekletilerek istenildiğinde akış ortamına aktarılmak amacıyla kullanıldı. Akış hücresi deney düzeneği için hazırlanan referans ve iyon seçici elektrotlara ve akış hattındaki hortumlara uygun geometrik profilde dizayn edilerek polikarbonat malzemeden üretildi.

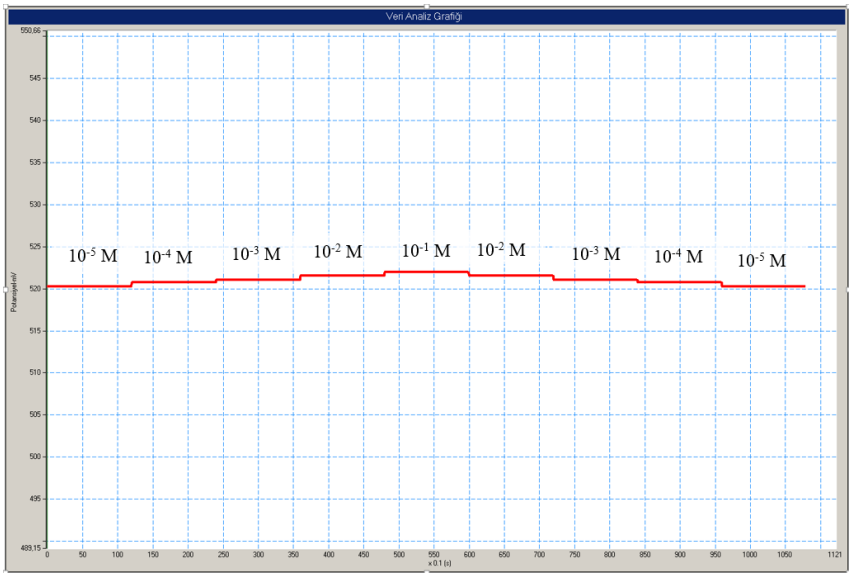
BÖLÜM 4

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

4.1 Referans Sensör

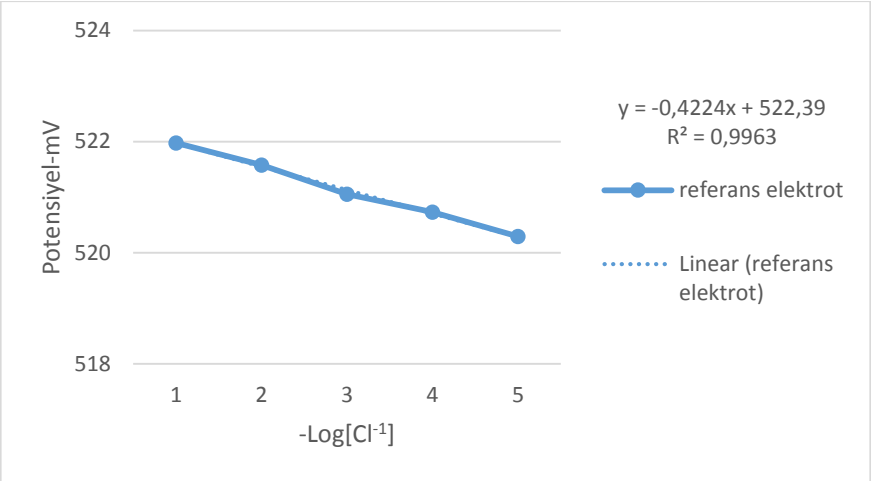
4.1.1 Doğrusal Çalışma Aralığı

Referans sensörün kalibrasyon eğrisi için gerekli olan ölçümler KCl çözeltisinin 10-1 ile 10-5 molar arasında ki derişimler de ölçüm alınan değerlerin sonuçları Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Katı hal Ag|AgCl referans sensörün korelasyon katsayısı 0,9963 olarak saptandı. Ölçümlerden elde edilen sonuçlara göre derişim azaldıkça potansiyel değişim 0,42 mV azalmaktadır. Kalibrasyon hesaplamasında elde edilen sonuç literatür çalışmaları ile kıyaslandığında, Kisiel ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada referans elektrodun potasyum klorür çözeltisinin 10-1M ile 10-5M aralığındaki çözeltilerinde almış oldukları ölçümlerde potansiyel değişimin 1 mV altında olduğunu aptamışlardır [113].



Şekil 4.1 Referans elektrotun potansiyel ölçüm grafiği

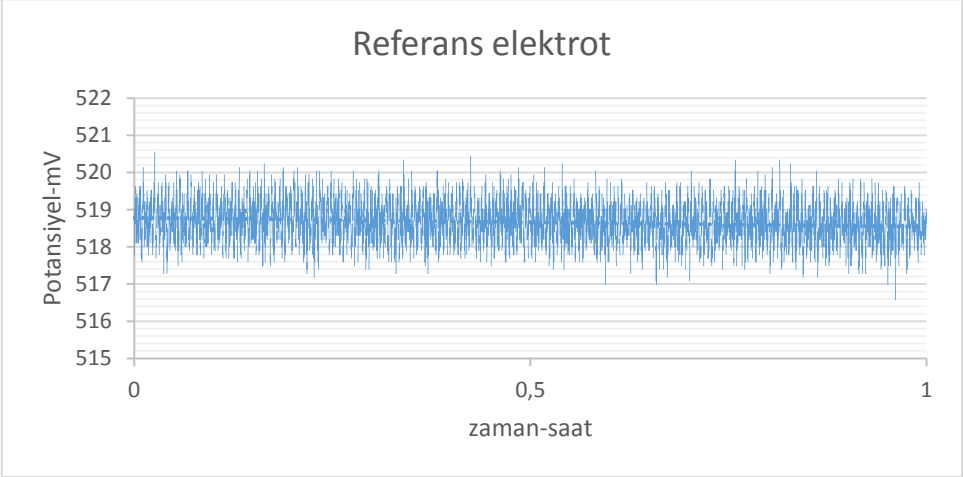
Michalska ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise KCl çözeltisinin 10^{-1}'den 10^{-6} M aralığında ki ölçümünde ise 1,5 mV altında olmak üzere 1,1 mV ve 1,3 mV potensiyel değişim olduğunu saptamışlar [114]. Rius-Ruiz ve arkadaşlarının karbon nanotüpler ve poliakrilat membran ile yaptıkları katı hal Ag|AgCl referans elektrotun potansiyel değişimi 0,7 mV civarında olduğunu tespit etmişlerdir [115].



Şekil 4.2 Referans sensörün kalibrasyon grafiği

4.1.2 Sabit Derişimde Potansiyel Sapması

Ag|AgCl katı kontak referans elektrotun potansiyel sapması 10^{-2} molar KCl çözeltisi kullanarak ölçüldüğünde yaklaşık olarak saatte 1 mV'luk bir değişme saptandı. Elektrotun potansiyel dalgalanması ile ilgili ölçüm Şekil 4.3'de gösterilmektedir. Katı hal referans elektrotun yaklaşık -1 mV/ saatlik sapması literatür çalışmaları ile benzerlikler göstermektedir. Rius-Ruiz ve arkadaşlarının yaptığı deneyde 10^{-2} M KCl çözeltisinde ki sapması -1,1 mV/saat olarak hesaplamışlardır [115].

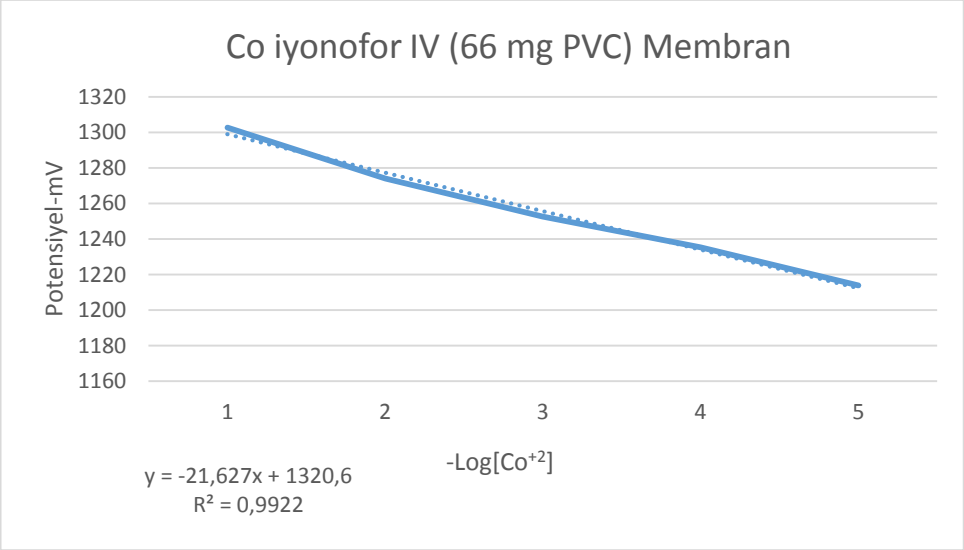


Şekil 4.3 Referans elektrot potansiyel sapma grafiği

4.2 Kobalt Sensörün Sabit Ortam Ölçümleri

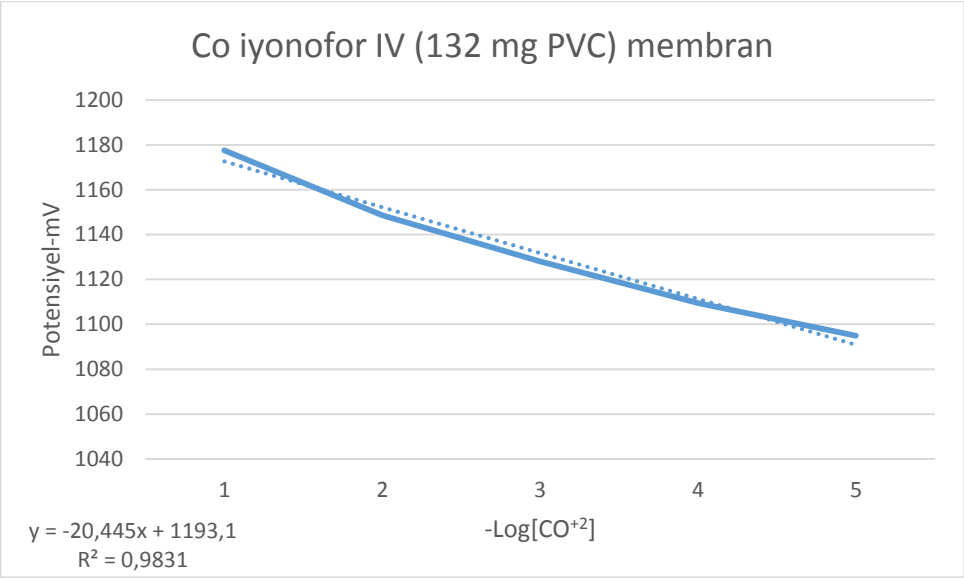
4.2.1 Membran değişimin Sensörün Potansiyometrik Davranışlarına Etkisi

Kobalt iyon seçici elektrotların performansının gözlemlenmesi için içeriği farklı membranlar hazırlandı. Katı kontak olarak hazırlanan elektrotların yüzeyi Co iyonofor IV 66 mg ve 132 mg PVC'de çözünmüş, iyonofor 5-amino-3 metil isotiazol dihidroksil klorid 180 mg ve 200 mg'lik PVC çözünmüş membranlar ile kaplandı. Membranların elektrotun ölçme potansiyelini alınan ölçüm sonuçlarına göre etkilediği tespit edildi. Co iyonofor IV 66 mg ve 132 mg PVC'de çözünmüş, iyonofor 5-amino-3 metil isotiazol dihidroksil klorid 180 mg ve 200 mg'lik PVC çözünmüş membranlar ile kaplanmış olan Kobalt II iyon seçici elektrotun Co^{+2} iyonunun 10^{-1} M'dan 10^{-5} M'a kadar olan derişimlerinde elde edilen potansiyel eğim grafiği Şekil 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7'de, edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de ve potansiyel ölçüm Şekil 4.8'de gösterilmektedir.



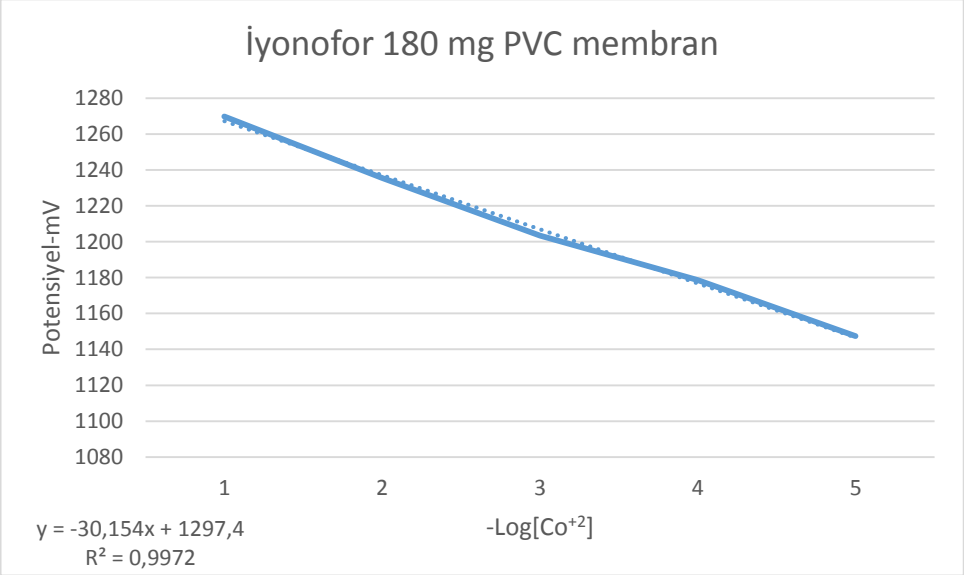
Şekil 4.4 66 mg PVC membran ile elde edilen potansiyel eğim grafiği

66 mg PVC ile hazırlanan iyonofor IV Co^{+2} iyon seçici elektrotun eğimi 21,627 mV, derişim azaldıkça potansiyel derişimi 22,198 ± 4,67 mV ve korelasyonu 0,9922 olarak hesaplandı.



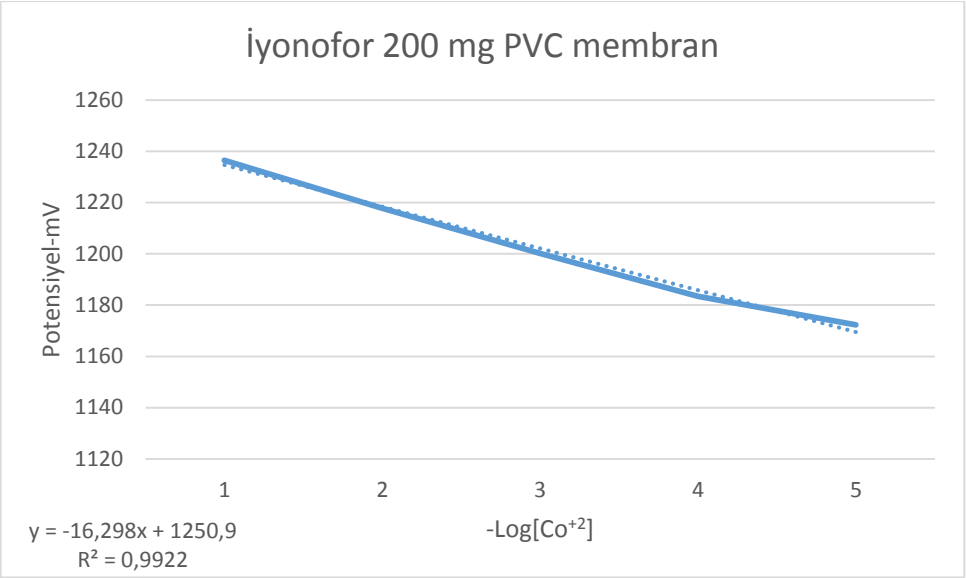
Şekil 4.5 132 mg PVC membran ile elde edilen potansiyel eğim grafiği

132 mg PVC ile hazırlanan Co^{+2} iyon seçici elektrotun eğimi 20, 445 mV, derişim azaldıkça potansiyel değişimi 20,668 ± 6,10 mV ve korelasyonu 0,9831 olarak hesaplandı.



Şekil 4.6 180 mg PVC membran ile elde edilen potansiyel eğim grafiği

180 mg PVC ile hazırlanan Co^{+2} iyon seçici elektrotun eğimi 30,154 mV, derişim azaldıkça potansiyel değişimi 30,575 ± 4,05 mV ve korelasyonu 0,9972 olarak hesaplandı.

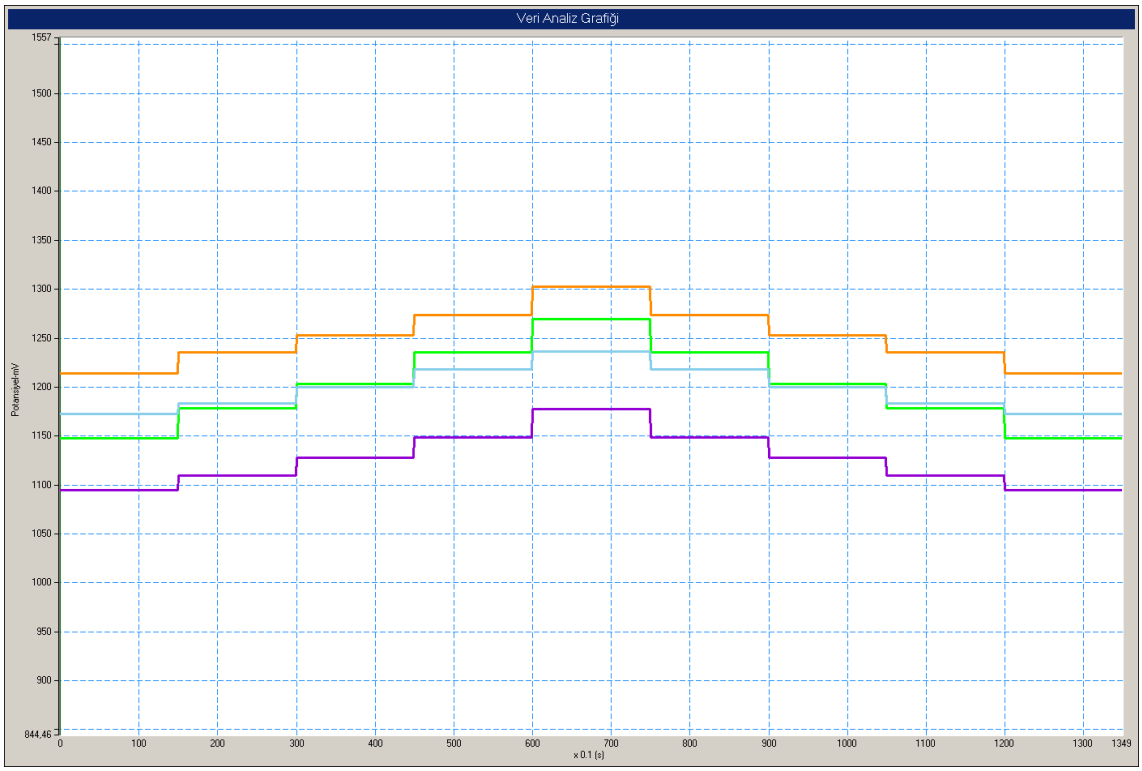


Şekil 4.7 200 mg PVC membran ile elde edilen potansiyel eğim grafiği

200 mg PVC ile hazırlanan Co^{+2} iyon seçici elektrotun eğimi 16,298 mV, derişim azaldıkça potansiyel değişimi 16,075 ± 3,382 mV ve korelasyonu 0,9922 olarak hesaplandı.

Çizelge 4.1 Membranların potansiyel ölçüm değerleri ve potansiyel eğimleri

	66 mg	*132 mg*	*180 mg*	*200 mg*
10^{-1} *M*	1302,60	1177,63	1269,78	1236,57
10^{-2} *M*	1274,02	1148,57	1235,55	1217,81
10^{-3} *M*	1252,70	1127,98	1203,42	1200,14
10^{-4} *M*	1235,33	1109,54	1178,61	1183,43
10^{-5} *M*	1213,81	1094,92	1147,48	1172,27
ΔmV	22,20	20,68	30,58	16,08



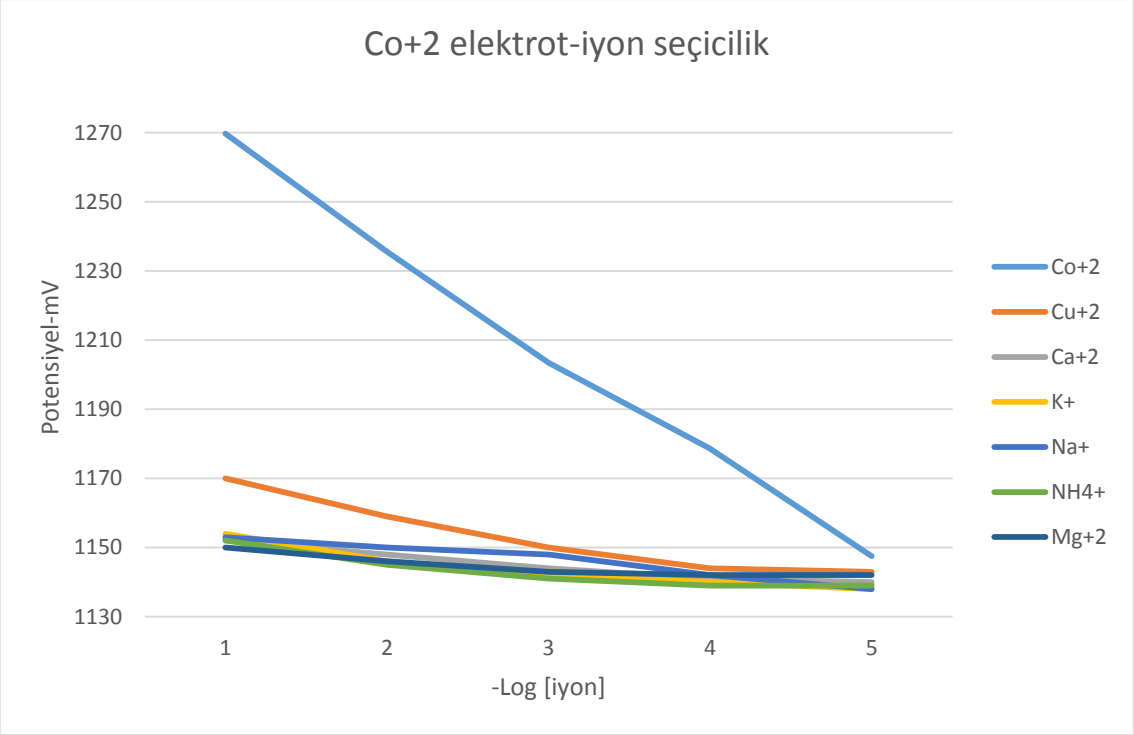
Şekil 4.8 Elektrotların potansiyel ölçüm grafiği

Farklı bileşende hazırlanan membranlar ile kaplanan Co^{+2} iyon seçici elektrotların doğrusal değişim gösterdiği değerler literatür ile kıyaslandığı zaman en iyi eğim, potansiyel değişim ve korelasyon 180 mg PVC ile hazırlanan Co^{+2} iyon seçici elektrotta olduğu tespit edilmiştir. Kumar ve arkadaşlarının geliştirdiği Co^{+2} iyonu doğrusal derişim aralığındaki eğimi 29,0 ± 1 mV olduğunu bulunmuştur [116]. 180 mg PVC içerikli membran ile hazırlanmış Co^{+2} iyonun eğimi 30,575 ± 4,05 mV ile Kumar vd. çalışması ile benzerlik göstermektedir.

4.2.2 Seçicilik

Seçicilik hedef iyon seçici membranın ortamda bulunan diğer iyonlardan potansiyometrik ölçebilme davranışının etkilenmemesi olarak ifade edilmektedir. Seçicilik katsayısı ise iyon seçici elektrotun membranına girişim yapabilen iyonlara karşı potansiyometrik olarak seçiciliğini belirlemede kullanılan miktarsal değerdir. Seçicilik katsayısı büyüdükçe hedef iyon seçici elektrotun girişim yapan iyonlara karşı duyarlığı azalmaktadır. Çalışmamızda seçicilik katsayısı belirlemek için kan plazması içinde en çok bulunabilen elektrolitler seçildi. Bu elektrolitler bir değerli ve iki değerli iyonların oluşturduğu kobalt klorür($CoCl_2$), bakır(II) klorür ($CuCl_2$), kalsiyum klorür($CaCl_2$), potasyum klorür (KCl), sodyum klorür (NaCl), amonyum klorür (NH_4Cl) ve

magnezyum klorür $MgCl_2$ tuzlarından elde edilen çözeltiler kullanıldı. Her bir klorür tuzunun derişimi 10^{-1} M'dan 10^{-5} M'a kadar seyreltildi. Hedef iyonların 10^{-1} M'dan 10^{-5} M'a kadar Co^{+2} iyon seçici elektrot ile gerçekleştirilen ölçümlerin sonuçları Şekil 4.9 ve Çizelge 4.2'de gösterildi. Elde edilen bulguların literatür çalışmaları ile kıyaslanması ise Çizelge 4.3'de verildi.



Şekil 4.9 Co^{+2} İSE'nin iyon seçicilik grafiği

Şekil 4.9'de gösterildiği gibi Co^{+2} iyon seçici elektrotun Co^{+2} iyonuna karşı gösterdiği potansiyel değişimin eğimi 30,154 mV olarak hesaplanmaktadır. Co^{+2} iyon seçici elektrotun girişim yapan diğer iyonlara karşı potansiyel değişimi Cu^{+2} iyonun da 6,9 mV, Ca^{+2} iyonun da 3,1 mV, K^{+} iyonun da 6,9 mV, Na^{+} iyonun da 3,8 mV , NH_4^{+1} iyonun da 6,9 mV ve Mg^{+2} iyonun da 2 mV olarak alınan ölçülerden hesaplandı. Tüm bu eğimler karşılaştırılınca Co^{+2} iyon seçici elektrotun seçiciliği diğer iyonlarda oldukça düşük olduğu gözlenmektedir. Co^{+2} ISE'nin girişim yapan tüm iyonların ve Co^{+2} iyonuna karşı her bir iyonun 10^{-1} M'dan 10^{-5} M'a kadar olan çözeltilerinin ölçülmesi ile elde edilen potansiyel değerleri Çizelge 4.2'de gösterildi.

Çizelge 4.2 Co^{+2} elektrotun farklı iyonlara karşı gösterdiği potansiyel sonuçlar

Çözelti	Potansiyel (mV)						STD sapma
	10^{-1} M	10^{-2} M	10^{-3} M	10^{-4} M	10^{-5} M	Ortalama	
Co^{+2}	1270	1236	1203	1179	1147	1207,0	47,74
Cu^{+2}	1170	1159	1150	1144	1143	1153,2	11,34
Ca^{+2}	1152	1148	1144	1141	1140	1145,0	5,00
K^{+2}	1154	1146	1142	1140	1138	1144,0	6,32
Na^{+}	1153	1150	1148	1142	1138	1146,2	6,10
NH_4^{+}	1152	1145	1141	1139	1139	1143,2	5,50
Mg^{+2}	1150	1146	1143	1142	1142	1144,6	3,44

Çizelge 4.2'de gösterildiği gibi elde edilen potansiyel değerlerin ortalama ve standart sapması göz önünde bulundurulduğunda Co^{+2} ISE'nin ortalaması 1207 mV civarında iken diğer iyonların ortalaması ise 1144 ile 1153 mV aralığında hesaplanmıştır. Potansiyel değişimin standart sapmalarına bakılacak olursa özellikle ISE'nin Co^{+2} iyonuna karşı gösterdiği potansiyel değişim daha yüksek olduğu için standart sapması da diğerlerinden oldukça yüksektir. Diğer iyonlara karşı gösteriği potansiyel değişimlerin standart sapmaları 3,44 ile 11,34 aralığın da değişmektedir. Standart sapma miktarı azaldıkça potansiyel değişimde azalmaktadır ve bunun neticesinde hedef iyon seçici membranın girişim yapan iyonlara karşı hassasiyeti azaldığını göstermektedir. Co^{+2} ISE'un seçicilik katsayıları Çizelge 4.3'de ki potansiyel değerler kullanılarak hesaplandı.

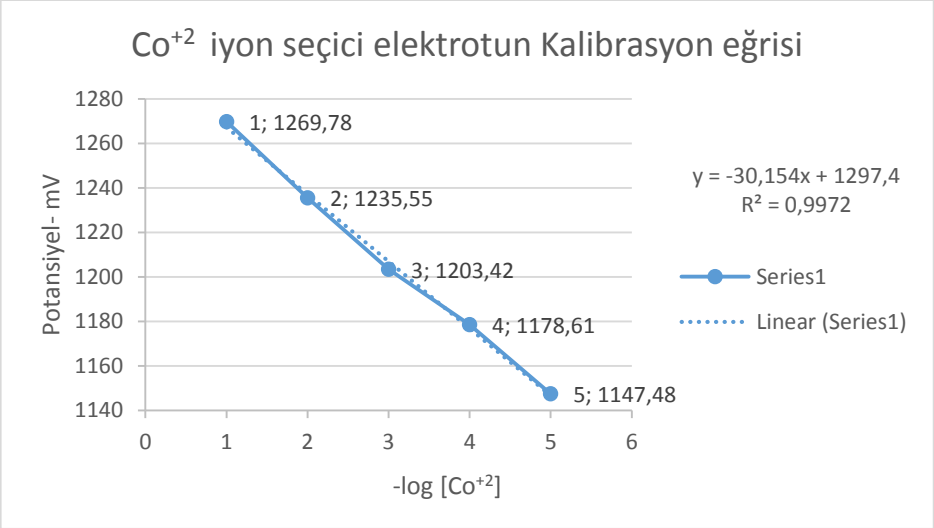
Çizelge 4.3 Seçicilik katsayılarının literatür ile karşılaştırılması

Çözelti	Seçicilik Katsayıları							
	tez sonuçları	[116]	[117]	[118]	[119]	[120]	ortalama	STD sapma
Cu^{2+}	2,17E-02	6,28E-03	9,30E-03	1,48E-02	7,49E-04	2,35E-03	9,19E-03	7,92E-03
Ca^{2+}	3,63E-03	7,98E-03	4,50E-03	1,32E-03			4,36E-03	2,76E-03
K^{+}	8,94E-03	3,82E-03	9,10E-03	4,79E-03	1,62E-03	3,80E-02	1,10E-02	1,35E-02
Na^{+}	6,85E-03	8,02E-03	8,52E-03	3,80E-03			6,80E-03	2,12E-03
NH_4^{+}	5,37E-03	4,02E-03		6,67E-03			5,35E-03	1,33E-03
Mg^{2+}	3,87E-04	5,68E-03	2,06E-04	5,75E-04	2,75E-04	5,37E-04	1,28E-03	2,16E-03

Co^{+2} ISE'un seçicilik katsayıları $3{,}87x10^{-4}$ ile $2.17x10^{-2}$ aralığında değişmektedir. Seçicilik katsayısı 1'den ne kadar küçük ise girişim yapan iyona karşıda o kadar az hassasiyeti olduğunu göstermektedir. Yapılan ölçümlerden hesaplanan seçicilik katsayılarına bakıldığı zaman iyon seçici elektrotun en çok Cu^{+2} en azda Mg^{+2} iyonuna karşı seçici olduğu tespit edildi. Literatürde elde edilen seçicilik katsayıları ile karşılaştırıldığında literatür değerlerine oldukça yakın olduğu anlaşılmaktadır. Seçicilik

katsayıları $K^{pot}_{Co^{+2}.Cu^{+2}}$ 2,17x10^{-2} literatürde 1,48x10^{-2} ile 7,49x10^{-4} aralığında, $K^{pot}_{Co^{+2}.Ca^{+2}}$ 3,63x10^{-3} literatürde 1,32x10^{-3} ile 7,98x10^{-3} aralığında, $K^{pot}_{Co^{+2}.K^{+}}$ 8,94x10^{-3} literatürde 1,62x10^{-3} ile 9,10x10^{-3} aralığında, $K^{pot}_{Co^{+2}.Na^{+}}$ 6,85x10^{-3} literatürde 3,80x10^{-3} ile 8,52x10^{-3} aralığında, $K^{pot}_{Co^{+2}.NH_4^{+}}$ 5,37x10^{-3} literatürde 4,02x10^{-3} ile 6,67x10^{-3} aralığında, $K^{pot}_{Co^{+2}.Mg^{+2}}$ 3,87x10^{-4} literatürde 5,68x10^{-3} ile 5,75x10^{-4} aralığında olduğu tespit edildi[116,117,118,119,120]. Literatür sonuçları ile kıyaslandığı zaman bulunan seçicilik katsayıları literatürde elde edilen değer aralığında olması ve benzerlik göstermesi sebebi ile aralarında yüksek korelasyon bulunmaktadır.

4.2.3 Kobalt İSE'nin Potansiyometrik Ölçüm Kalibrasyonu

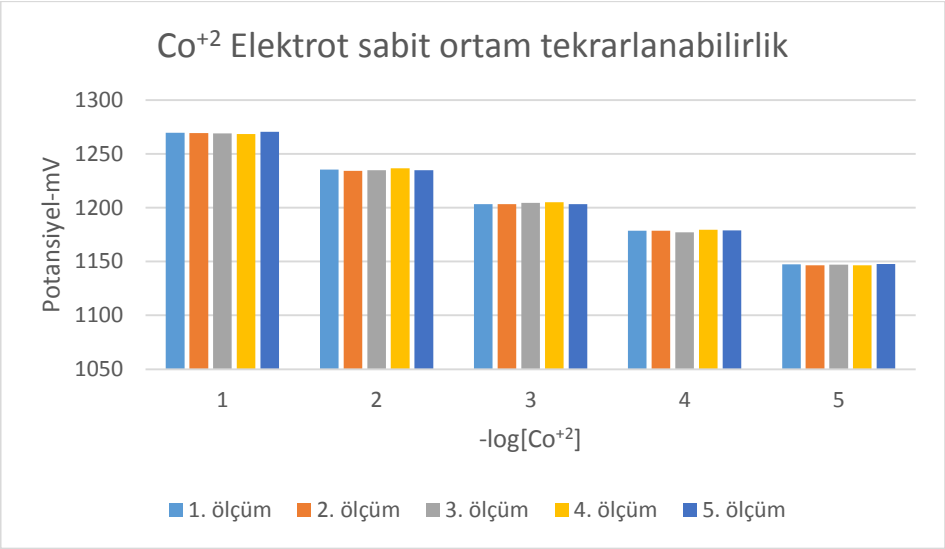


Şekil 4.10 Co^{+2} kalibrasyon eğrisi

Co^{+2} iyon seçici elektrotun kalibrasyon eğrisi için yapılan çalışmada elde edilen sonuç Şekil 4.10'de gösterildiği gibidir. Bu sonuçlara göre potansiyel değişimi 30,445 mV korelasyon değeri 0,9972 olarak hesaplanmıştır. ISE'nin potansiyel değişimi literatür ile kıyaslanınca literatür değeri olan 30 ±1 mV oldukça yakın bir sonuç olduğu gözlenmektedir [116,120].

4.2.4 Kobalt İSE'nin Potansiyometrik Tekrarlanabilirliği

Co^{+2} ISE'nin farklı günlerde yapılan ölçüm değerleri Şekil 4.11 ve Çizelge 4.4'de verilmiştir. Sabit ortamda elde edilen online potansiyel ölçüm ise Şekil 4.12'de verildi.



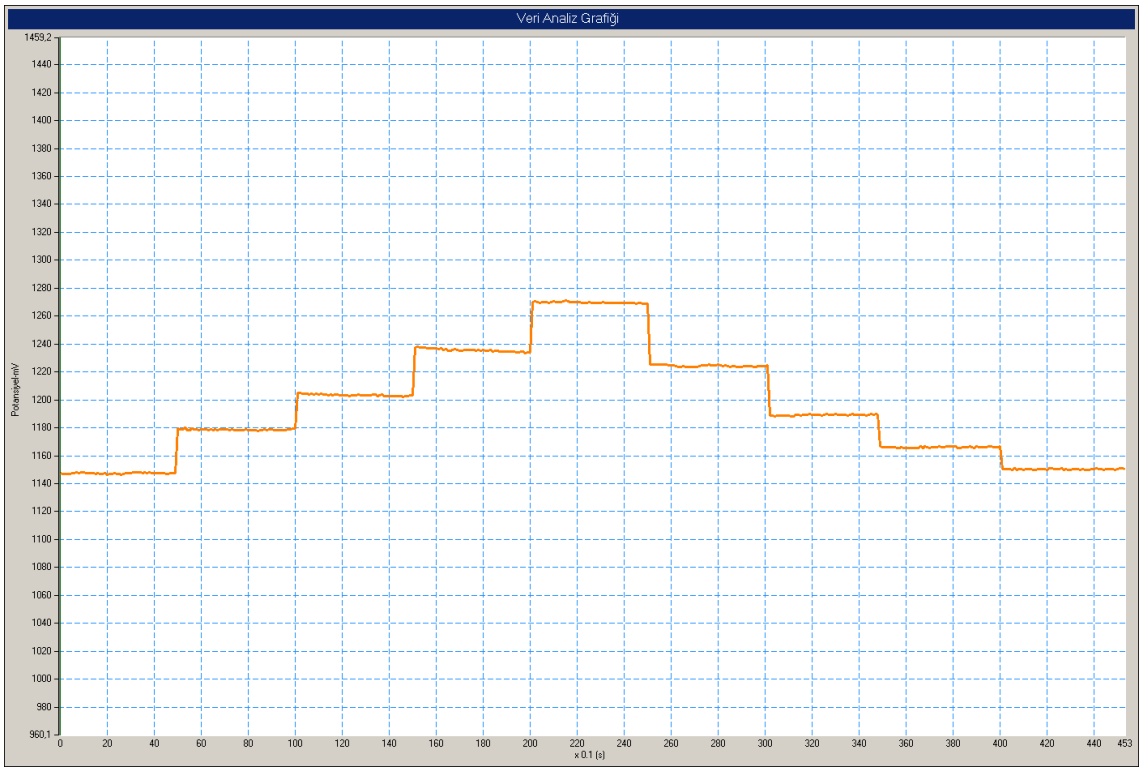
Şekil 4.11 Co^{+2} elektrotun tekrar edebilirlik ölçümleri

Şekil 4.11'de görüldüğü gibi kullanılan Co^{+2} iyonunun 10^{-1} M'dan 10^{-5} M'a aralığında yapılan seri ölçümler sonucunda her bir derişim farklılığında elektrot kayda değer bir değişme göstermekte ve her konsantrasyon için yapılan farklı ölçümlerde birbirine oldukça yakın değerler elde edilmiştir. Çizelde 4.4'de verilen değerler elektrotun oldukça iyi kararlılıkta olduğunu göstermektedir.

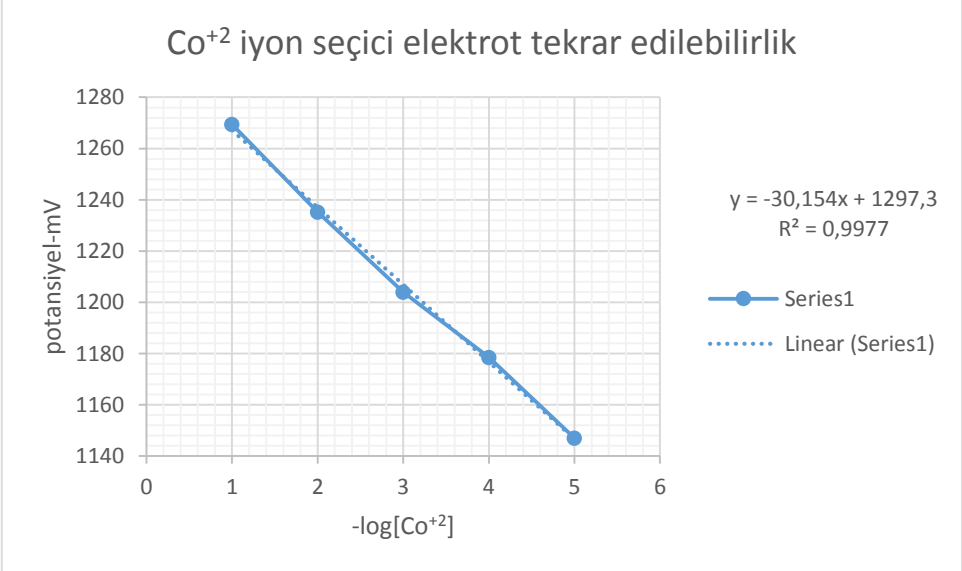
Çizelge 4.4 Co^{+2} elektrotun gün aşırı tekrar edebilirlik sonuçları

Çözelti	Potansiyel (mV)						
	1. ölçüm	2. ölçüm	3. ölçüm	4. ölçüm	5. ölçüm	Ortalama	STD Sapma
10^{-1} M	1269,78	1269,41	1269,1	1268,53	1270,67	1269,50	0,80
10^{-2} M	1235,55	1234,24	1234,91	1236,59	1234,95	1235,25	0,88
10^{-3} M	1203,42	1203,23	1204,59	1205,21	1203,44	1203,98	0,87
10^{-4} M	1178,61	1178,76	1177,13	1179,41	1178,9	1178,56	0,86
10^{-5} M	1147,48	1146,55	1147,04	1146,43	1147,86	1147,07	0,61

Çizelde 4.4'de verilen değerler 10^{-1} M Co^{+2}için ortalama 1269,50 mV, 10^{-2} M Co^{+2}için 1235,25 mV, 10^{-3} M Co^{+2}için 1203,44 mV, 10^{-4} M Co^{+2}için 1178,56 mV ve 10^{-5} M Co^{+2}için 1147,07 olduğu hesaplanmıştır. Hesaplamalardan elde edilen standart sapmalara bakıldığında değerlerin oldukça düşük olduğu görülmektedir. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiği zaman Co^{+2} elektrotun kararlı bir ölçme potansiyeli olduğu ve tekrar edebilirliği oldukça iyi olduğu görülmektedir. Farklı günlerde yapılan ölçümlerin ortalama grafiği ise Şekil 4.12 de gösterilmektedir.



Şekil 4.12 Co^{+2} elektrotun online ölçüm grafiği



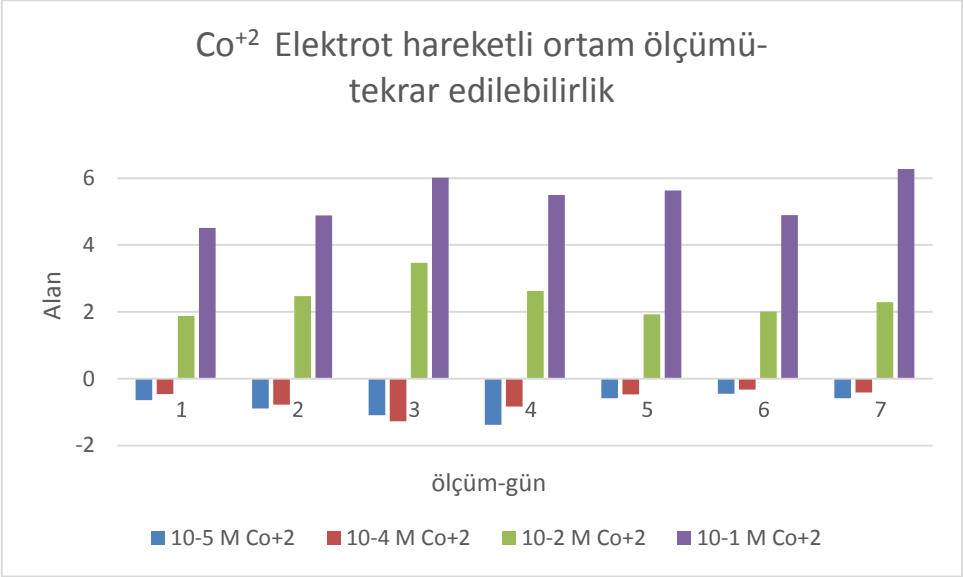
Şekil 4.13 Co^{+2} elektrotun potansiyel eğimi

Şekil 4.13'de gösterilen sonuçların eğimi 30,154 mV ve korelasyonu 0,9977 olarak hesaplanmıştır.

4.3 Kobalt ISE'nin Akış Ortamındaki Potansiyometrik Ölçümleri

4.3.1 Co^{+2} İSE'nin Akış Ortamında Tekrar Edilebilirlik Ölçümü

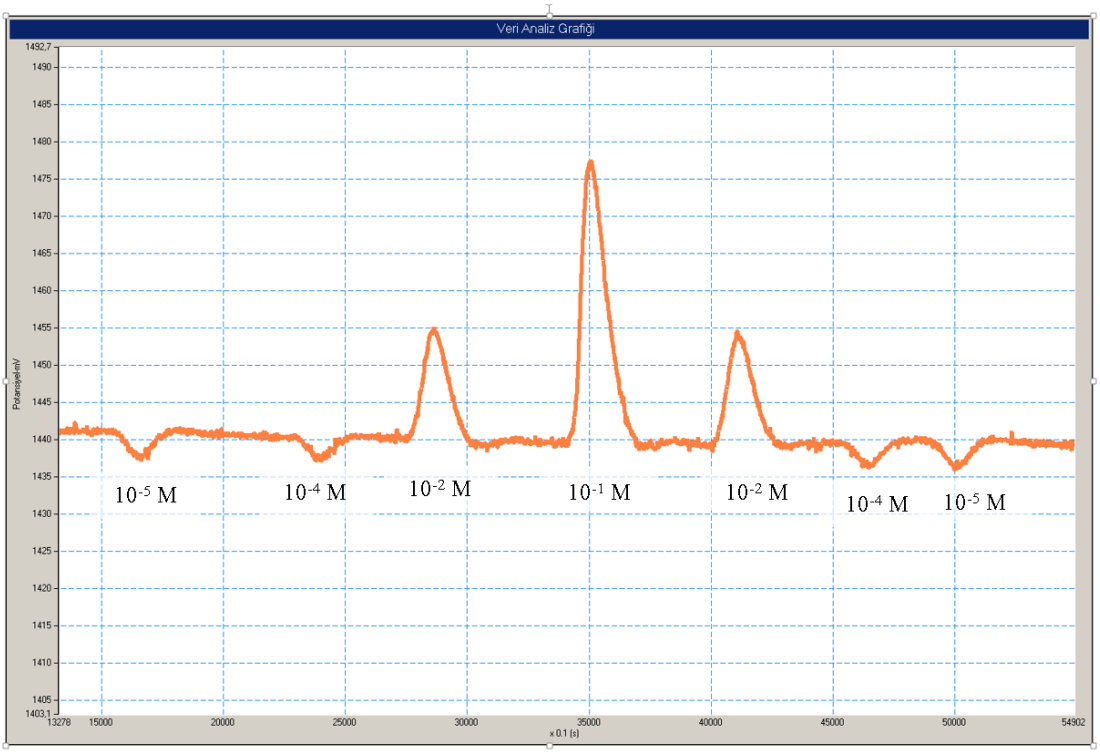
İyon seçici elektrotların sabit faz ölçümleri ile hareketli ortam ölçümlerinde genel olarak korelasyon olsa da hareketli ortamda sensörler daha sık ölçüm yaptıkları için özellikle hareketli ortamda sensörün performansı oldukça önemli hale gelmektedir. Sensörün performansı iyi olduğu sürece hareketli ortam ölçümlerinde hassas ölçümler elde edilmektedir. Akış ortamı için özel olarak tasarlanmış akış hücresinde 10^{-3} M Co^{+2} taşıyıcı çözeltisi kullanılarak 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-2} M ve 10^{-1} M Co^{+2} standart çözeltilerinden yaklaşık 25 µl enjeksiyon vanasına enjekte edilerek sistemden elektrota aktarılması ile hareketli faz ölçümleri yapıldı. Farklı günlerde yapılan bu ölçümlerden elde edilen sonuçların birim alanları hesaplanarak hareketli ortamda sensörün farklı konsantrasyonlara karşı verdiği yanıtlar tespit edilmiştir. Farklı günlerde yapılan ve sensörün hareketli ortamda ki tekrar edilebilirlikle ilgili sonuçları Şekil 4.14 ve 4.15'de verilmiştir. Sayısal olarak birim alan hesapları ise Çizelge 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.14 Co^{+2} akış ortamı tekrar edebilirlik ölçümleri

Şekil 4.14'de gösterilen sonuçlara bakıldığı zaman hareketli ortam çözeltisinden derişik çözeltiler artı yönde pik oluşturmakta seyreltik çözeltiler ise negatif yönde alan oluşturmaktadır. Bu sonuçlara bakıldığı zaman büyüklük olarak 10^{-5} M Co^{+2} standart çözeltisinin oluşturduğu alan 10^{-4} M Co^{+2} standart çözeltisinin oluşturduğu alandan mutlak değer olarak daha büyük olduğu ve 10^{-1} M Co^{+2} standart çözeltisinin oluşturduğu alan 10^{-2} M Co^{+2} standart çözeltisinin oluşturduğu alandan pozitif yönde mutlak değerce

daha büyük olduğu kaydedilmiştir. 10^{-5} M standart çözelti taşıyıcı sıvının karışım bölgesinde konsantrasyonu 10^{-4} M göre daha çok düşüreceği için sensörün okuduğu değer 10^{-5} M da potansiyel olarak daha düşüktür bu sonuca göre oluşan alan büyüklüğü 10^{-4} M'ın oluşturduğundan daha büyüktür. Aynı şekilde 10^{-1} M standart çözeltisi taşıyıcı çözeltinin karşımı bölgesindeki konsantrasyonu daha çok artıracağı için 10^{-2} M standart çözeltisinin oluşturacağı alandan daha büyük bir potansiyel alan oluşturur.



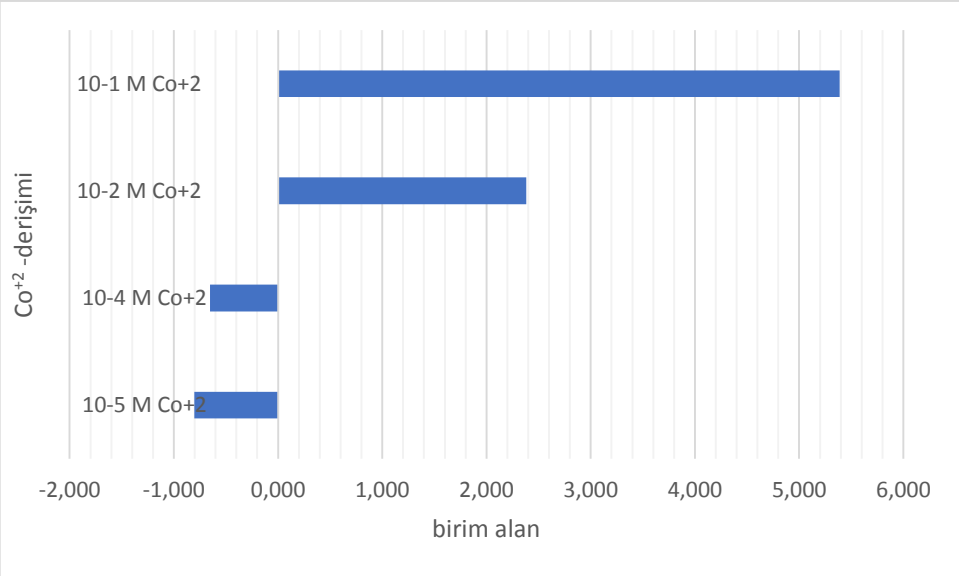
Şekil 4.15 Co^{+2} elektrotun akış ortamı online potansiyel ölçüm sonuçları

Çizelge 4.5 Co^{+2} elektrotun gün aşırı alınan tekrar edebilirlik sonuçları

	Birim Alan								
çözelti	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün	ortalama	STD Sapma
10^{-5} M	-0,646	-0,889	-1,090	-1,376	-0,584	-0,450	-0,588	-0,803	0,332
10^{-4} M	-0,457	-0,778	-1,279	-0,835	-0,469	-0,331	-0,417	-0,652	0,335
10^{-2} M	1,872	2,472	3,471	2,627	1,926	2,010	2,290	2,381	0,558
10^{-1} M	4,515	4,885	6,018	5,496	5,630	4,897	6,277	5,388	0,647

Çizelge 4.5'de gösterilen değerlere bakıldığı zaman numune olarak enjeksiyon vanasına 10^{-5} M Co^{+2} standart çözeltisi verildiğinde elde edilen alan büyüklüğü negatif yönde ortalama 0,803 birim alan, , 10^{-4} M Co^{+2} standart çözeltisi verildiğinde elde edilen alan büyüklüğü negatif yönde ortalama 0,652 birim alan, 10^{-2} M Co^{+2} standart çözeltisi verildiğinde elde edilen alan büyüklüğü pozitif yönde ortalama 2,381 birim alan ve 10^{-1}

M Co^{+2} standart çözeltisi verildiğinde elde edilen alan büyüklüğü pozitif yönde ortalama 5,388 birim alan olarak hesaplanmıştır. Sensörün potansiyel ölçümlerinden elde edilen sonuçlara bakıldığında oldukça az bir standart sapmaya sahip olduğu tespit edilmiş ve bu sonuçlara göre sensörün potansiyel ölçüm performansı iyi olduğu saptanmıştır. Genel olarak seyreltik numune ortama verilince daha az sapma var iken derişik numuneler ortama verilince karışım bölgesinin de etkisi ile sapma ufak bir büyüme kaydedilmektedir. Ortalama alan büyüklüğü Şekil 4.16'da verildiği gibidir ve sayısal büyüklük olarak sensörden beklenen performans ile benzerlik göstermektedir.



Şekil 4.16 Co^{+2} elektrotun potansiyel(mv) birim alan grafiği

4.3.2 Kobalt İSE'nin Bovine Serum Albumin (BSA) Ölçebilirliği

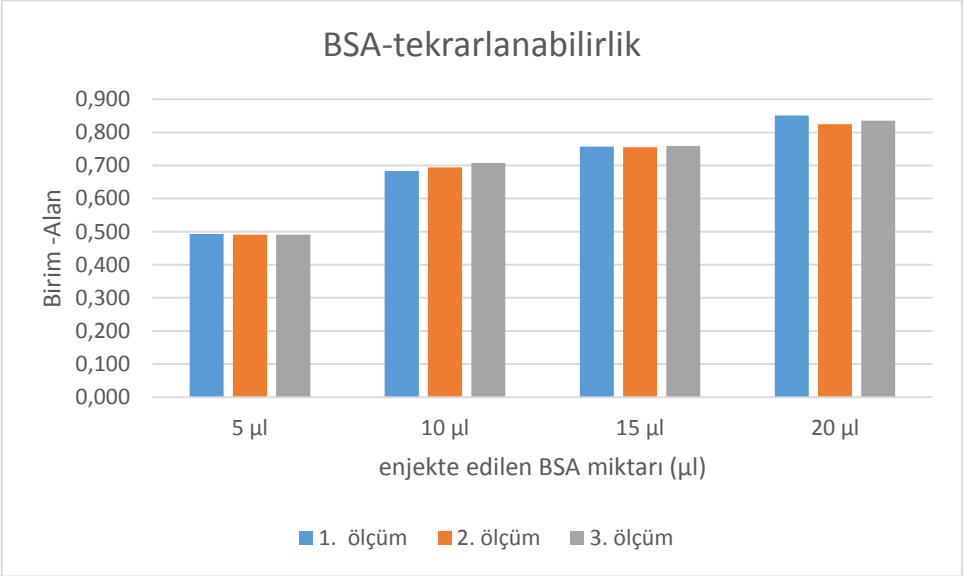
Co^{+2} İyon seçici elektrotun protein türevlerinde ölçüm performansı etkilenmektedir çünkü protein yapıları polimer içerikli membran yüzeyine tutunarak kirlenme oluşturmakta ve sensörün performansını etkileyerek sensörün kullanım ömrünü azaltmaktadır. ISE'ler genel olarak standart çözeltide aylarca kullanılabilirken protein ve enzim kökenli numuneler bu süreyi haftalara hatta günlere düşürmektedir. Bu açıdan özellikle sensörün proteinlere karşı ön testleri yapılarak BSA'ya karşı oluşturduğu potansiyel cevabı, proteinlere karşı kararlılığı ve tekrar edebilirliği tespit edildi. BSA kullanılmasının en önemli nedeni insan serum albümine yapı olarak benzerliği ve işlevsel olarak ağır metallere bağlanabilir özellikle olduğu için özellikle İMA ve Sağlıklı

Numune olarak ortama 3,5 gram/dL konsantrasyonlu BSA Albüminden 5 µl, 10 µl, 15 µl ve 20 µl enjeksiyon vanasına enjekte edilerek karşım bölgesinde dağılım etkisi ile karışarak sensör ile ölçümleri alındı. Ölçümlerden alınan potansiyel farklar Şekil 4.17'de gösterildiği gibidir. Gün aşırı alınan ölçüm sonuçlarının grafiği Şekil 4.18'de ve Çizelge 4.6'da, sensörün online olarak potansiyel ölçüm grafiği Şekil 4.19'da gösterilmiştir.



Şekil 4.17 Sensörün değişen BSA miktarında elde edilen potansiyel fark(mV) grafiği

Şekil 4.17'de gösterildiği gibi ortama enjekte edilen 5 µl, 10 µl, 15 µl ve 20 µl BSA'nın ortamda oluşturduğu potansiyel fark 5 µl albüminde 0,4 mV, 10 µl albüminde 2 mV, 15 µl albümin 2,4 mV ve 20 µl albüminde 3,8 mV olarak hesaplanmıştır.



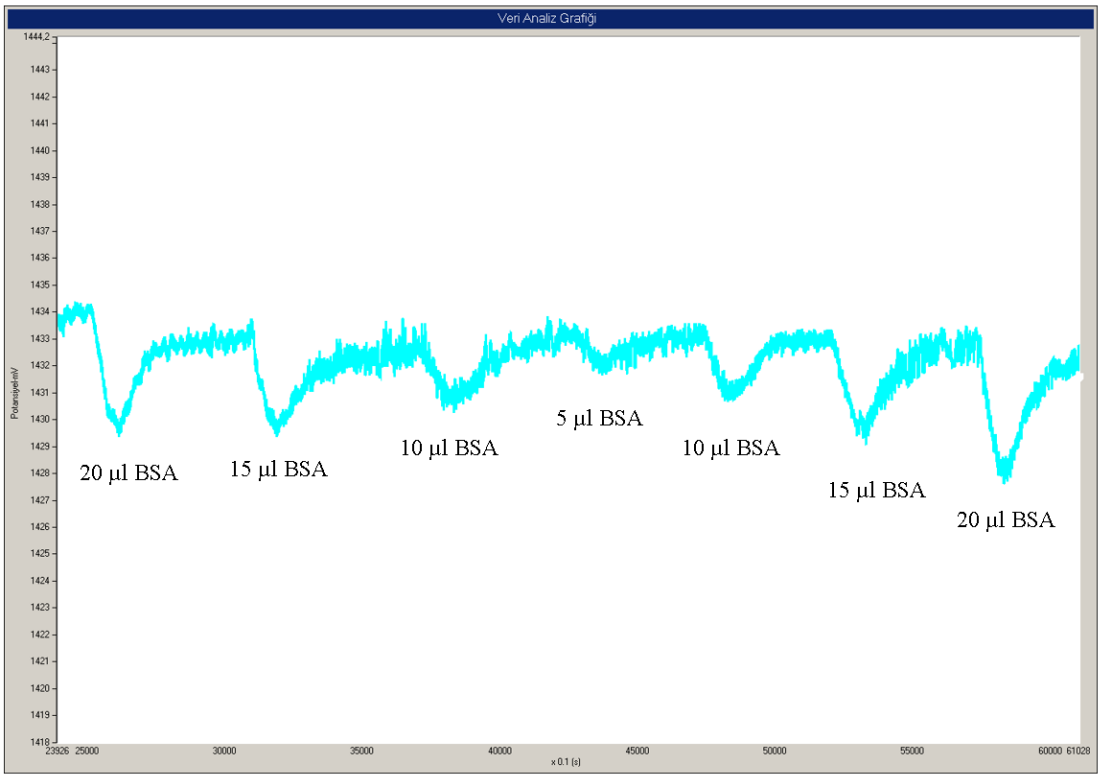
Şekil 4.18 Sensörün gün aşırı BSA ölçüm tekrar edebilirliği

Yapılan tekrar edilebilirlik ölçümlerinin sonuçları Şekilde gösterildiği gibi enjeksiyon miktarına göre 5 µl, 10 µl, 15 µl ve 20 µl kendi içlerinde korelasyon göstermektedir. Farklı günlerde alınan bu sonuçlar sensörün aynı miktar numuneye benzer potansiyel cevap verdiğini göstermektedir.

Çizelge 4.6 Sensörün değişen BSA miktarında hesaplanan pik alanları

BSA miktarı	Birim Alan				
	1. ölçüm	2. ölçüm	3. ölçüm	Ortalama	STD Sapma
5 µl	0,493	0,491	0,491	0,492	0,0009
10 µl	0,684	0,695	0,708	0,695	0,0121
15 µl	0,757	0,755	0,759	0,757	0,0020
20 µl	0,851	0,825	0,836	0,837	0,0129

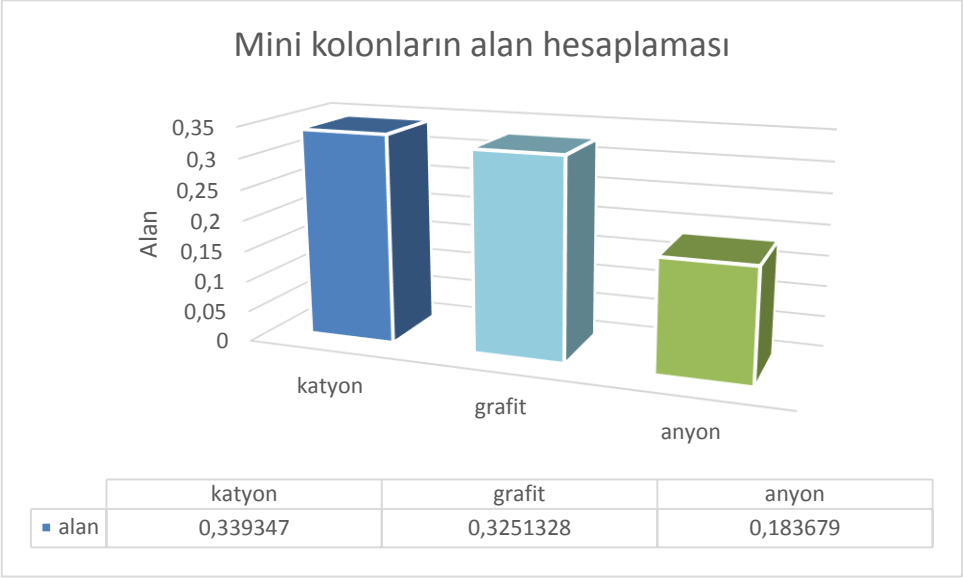
Co^{+2} ISE'nin BSA'ya karşı sergilediği potansiyel ölçüm sonuçlarının sayısal değerleri ortalama olarak 5 µl'de 0,492 birim alan, 10 µl'de 0,695 birim alan, 15 µl'de 0,757 birim alan ve 20 µl'de 0,837 birim alan olarak hesaplanmıştır. Akış ortamına enjekte edilen numune miktarı artıkça elde edilen birim alan miktarda artmaktadır.



Şekil 4.19 Sensörün online ölçüm grafiği

Sonuç olarak BSA ile yapılan ölçümlerde uygun akış oranında sensörün membran yüzeyi temizlenerek aynı miktardaki BSA'nın potansiyel büyüklüğünü yüksek korelasyon ile ölçmektedir.

4.3.3 Mini Kolon AEA Ölçümleri

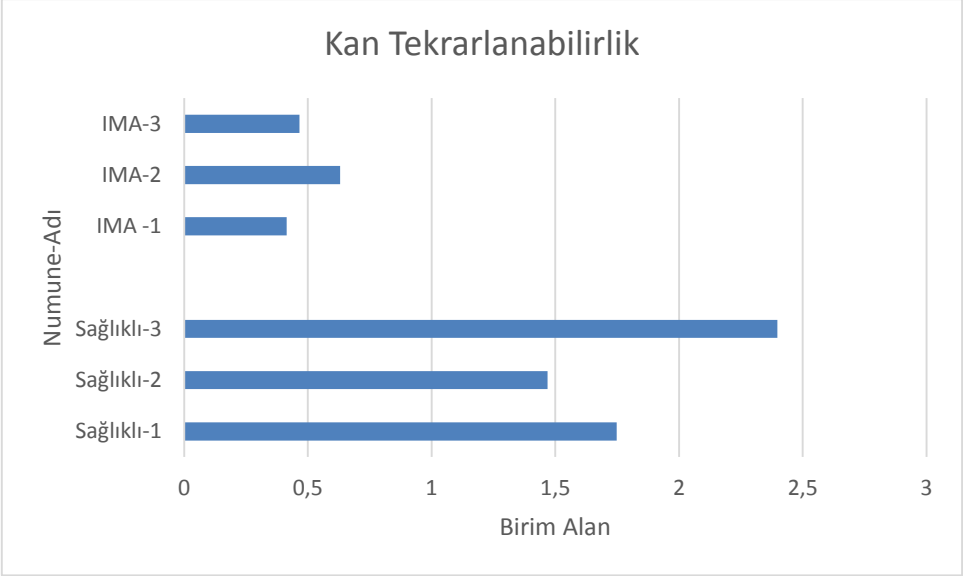


Şekil 4.20 Mini kolon AEA sistemde kolon dolgu maddelerin pik alanına etkisi

İnsan serum albüminin akış ortamında kobalt ile yeterli bir şekilde karışması ve iyi bir şekilde etkileşime girerek sensörden alınan cevabın performansının ve sağlamlığının artmasına imkân sağlamak amacıyla, enjeksiyon bölmesi ile deteksiyon bölmesi arasına 0,5 cm uzunluğunda mini kolonlar yerleştirildi. Mini kolonlar; grafit, Dowex anyon değiştirici ve Dowex katyon değiştirici dolgu malzemeleri kullanılarak hazırlandı. Farklı dolgu maddesine sahip bu mini kolonlar ile yapılan testlerde, aynı miktarda albümin gönderilerek elektrottan okunan potansiyel değerin birim alanları ölçüldü. Kolon kullanılması ile protein kökenli numunenin kobalt ile daha iyi bir şekilde karışması ve hareketli ortamda daha uzun kalarak daha sağlıklı sonuçlar vermesi amaçlandı. Bu hedeflere göre elde edilen birim alan miktarı Şekil 4.20'de gösterildiği gibi en büyük birim alan büyüklüğüne sahip kolon dolgu malzemesi İMA tayininde kullanılmak üzere seçildi. Elde edilen birim alan büyüklükleri katyon kolon 0,339347 birim alan, grafit kolon 0,3251328 ve anyon kolon ise 0,183679 birim alan olarak ölçülerek hesaplandı. Katyon ve grafit kolon özellikle birbirlerine yakın sonuçlar verdiği ve anyon kolondan sayısal değer olarak daha büyük alan oluşturmaya imkân sağladıkları görülmektedir. Birim alanın büyüklüğü albüminin akış ortamında daha uzun kalmasını sağlayarak kobalt II iyonu ile daha iyi etkileşime girmesine imkân sağlamaktadırlar. İMA tayininde özellikle albüminin pozitif yüklü iyonlara tutunma özelliğinden ve sonuçlarda en yüksek birim alan vermesi sebebi ile katyon özellikteki kolon İMA tayini için hareketli ortamda sensörden önce sisteme eklenerek ölçümlerde kullanılmasına karar verildi.

4.3.4 Sağlıklı ve İMA içeren Serum Numunelerinin Tekrarlanabilirliği

Akış ortamında ISE'nin İMA ve sağlıklı Albüminlere karşı verdiği potansiyel cevabın değerlendirilmesi ve farklı zamanlarda alınan ölçümlerde sensörün kararlılığının belirlenmesi amacıyla tekrar edebilirlik çalışması yapıldı. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar Şekil 4.21 ve 4.22'de ve pik alan hesapları Çizelge 4.7'de verilmiştir.

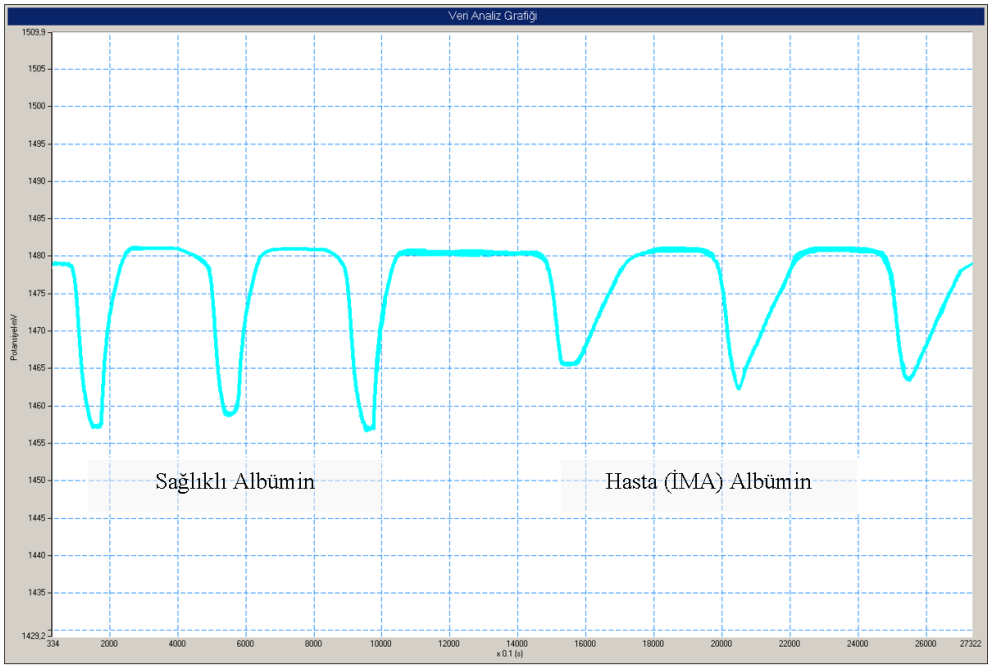


Şekil 4.21 Sağlıklı ve İMA serum içeren numunelerin tekrar edebilirlik grafiği

Şekil' de gösterilen sonuçlara bakıldığında özellikle İskemi modifiye Albüminin serbest Co^{+2} iyonuna bağlanma yeteneği az olduğu için hareketli ortama gönderilen 5 µL İMA'nın ortamda ki serbest kobalt iyonuna daha az bağlanarak 10^{-3} M taşıyıcı çözeltide daha az miktarda potansiyel azalma meydana getirmektedir. Sağlıklı-Albümin ise serbest Co^{+2} iyonuna bağlanma yeteneği yüksek olduğu için hareketli ortama gönderilen 5 µL sağlıklı Albüminin ortamda ki serbest kobalt iyonuna daha çok miktarda bağlanarak 10^{-3} M taşıyıcı çözeltide daha fazla miktarda potansiyel azalma meydana getirmektedir. Co^{+2} iyon seçici elektrotun okuduğu değer taşıyıcı sıvıya İMA enjekte edildiğinde daha az Sağlıklı albümin enjekte edildiğinde ise daha büyük miktarda taşıyıcı çözeltiye seyreltmektedir. Co^{+2} İSE'nin okuduğu değerlerin pik alanları Çizelgede 4.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7 Sensörün sağlıklı ve İMA içeren numunelerde tekrar edebilirliği

	Birim alan				
Numune	1. örnek	2. örnek	3. örnek	Ortalama	STD Sapma
Sağlıklı	1,748	1,469	2,398	1,872	0,476
İMA	0,415	0,630	0,467	0,504	0,112



Şekil 4.22 Sağlıklı ve İMA'lı serum tekrar edebilirlik ölçümü (online)

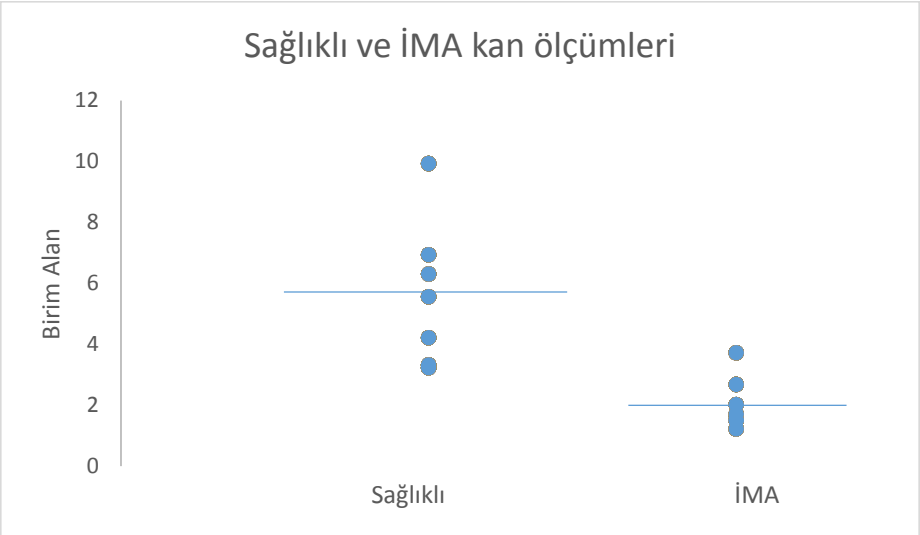
Çizelge 4.7'de gösterildiği gibi sağlıklı albümin değeri ortalama 1,872 birim alan iken İMA değeri 0,504 birim alan olarak hesaplanmaktadır. Elde edilen bu sonuçlar Albüminin sağlıklı ve ya İMA özelliği taşımasına bağlı olarak beklenen cevabı sergilenmektedir.

4.4 İMA Tayini

4.4.1 Kobalt İSE'nin Sağlıklı ve İMA içeren Kan Numunelerinin Tayinleri

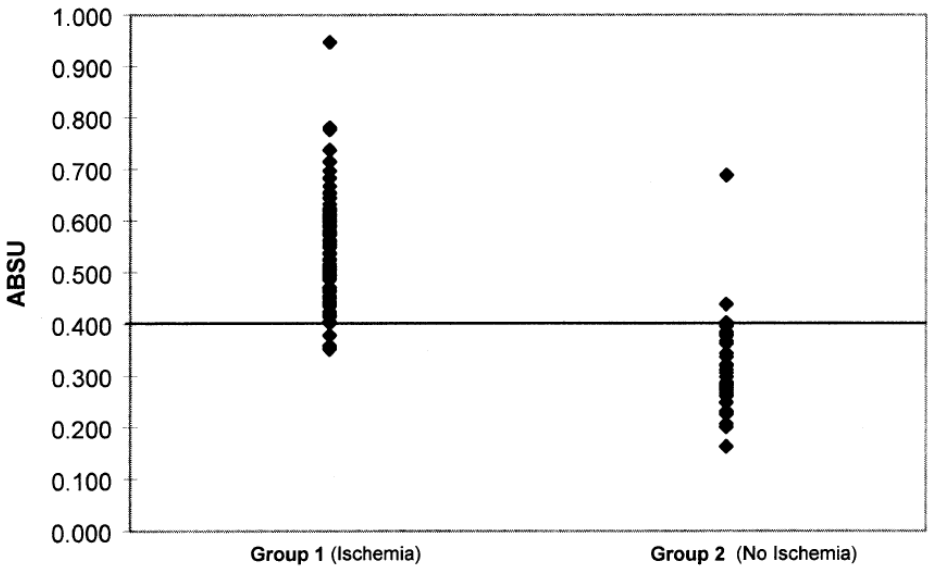
Co^{+2} İSE'nin sağlıklı ve İMA içeren kan numunelerinin ölçümleri için 5 µL kan 20 µL 10^{-3} M Co^{+2} M taşıyıcı çözeltiye eklenerek enjeksiyon vanasından enjekte edilerek taşıyıcı hattan kolon bölgesine taşınarak katyon değiştirici reçine ile doldurulmuş 0,5 cm uzunluğunda ki mini kolonda serum Albümin Co^{+2} ile yeterli bekleme süresi içerisinde etkileşime girerek sensörün bulunduğu akış hücresine doğru taşınmaktadır. Enjekte edilen albümin kolon yardımı ile ortamda ki serbest halde bulunan Co^{+2} ile etkileşime girerek sensörün potansiyel olarak cevap vermesine neden olmaktadır. Sensörün İMA tayini sırasında kullanılacak olan insan serum örnekleri sağlıklı ve iskemi teşhisi ile kliniğe başvuran hastalardan alınan serumlar örnekleri biyokimyasal olarak albümin kobalt bağlanma testi ile albümin kobalt bağlanma aktiviteleri ölçülen kanlar, İMA ve sağlıklı olarak ayrıldıktan sonra akış sisteminde yedi farklı set olarak ölçüm alınmıştır. Elde

edilen ölçümler grafiksel olarak Şekil 4.23'de ve pik alan hesapları Çizelge 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.23 Sağlıklı ve hasta (İMA) serum ölçümü pik alan hesapları

Şekil 4.23'de gösterilen sonuçlara bakıldığında sağlıklı serum albüminin kobalt ile oluşturduğu kompleks miktarı çok fazla olduğu için ortamda bulunan serbest kobalt miktarında ciddi bir düşüş meydana gelerek ölçüm sırasında oluşan potansiyel eğrinin alan büyüklüğü birim alan olarak daha fazla olduğu görülmektedir. İskemi modifiye albümin (İMA)'da ise kobalt ile kompleks oluşturma yeteneği albümin yapısı bozulduğu için serbest kobalta çok az bağlanabilir ve ortamda serbest kobalt miktarına karşılık gelen potansiyel eğrinin alanı sağlıklı serum albümin ile kıyaslayınca daha küçük olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.24 D.bar ve arkadaşlarının elde ettiği sonuç [122]

Çizelge 4.8 Sağlıklı ve hasta (İMA) serum pik alan sonuçları

	Birim Alan								
Numune	1.örnek	2.örnek	3.örnek	4.örnek	5.örnek	6.örnek	7.örnek	Ortalama	STD Sapma
Sağlıklı	3,328	5,564	9,928	4,214	6,305	3,231	6,933	5,643	2,369
İMA	2,688	1,519	3,726	1,491	2,018	1,220	1,706	2,053	0,877

Çizelge 4.8'de verilen sayısal değerlere bakıldığında Sağlıklı serum albüminden ölçülen potansiyel değişim alan olarak büyüklüğü ortalama 5,463 iken iskemi modifiye albüminden ölçülen potansiyel değişim alan olarak büyüklüğü ortalama 2,053 olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar literatürde yapılan kobalt albümin bağlanma testi ile karşılaştırılınca belirli bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.24). Albümin iskemiden dolayı bağlanma kabiliyeti bozulduğu için bağlanma testinde serbest kobalt oranı İMA'dan daha yüksek absorbans değer vermektedir, sağlıklı serum albüminde ise kobalta bağlanma kapasitesi yüksek olduğu için ortamda serbest kobalt miktarı oldukça az olduğu için absorbans değeri oldukça düşüktür [121,122]. Bu sonuçlara bakılınca elektrokimyasal sensör ortamdaki serbest Co^{+2} değerini ölçtüğü için İMA enjekte edildiğinde ortamda ki serbest Co^{+2} miktarında çok az bir azalma olacağı için pik değerinde ki azalma da az olacaktır. Sağlıklı serumun kobalta bağlanma kapasitesi çok olduğu için ortamda ki serbest kobalt miktarında ciddi bir azlama olacaktır bu yüzden elde edilecek pik büyüklüğü daha çok olduğu gözlemlendi. Tüm bu sonuçlar literatür ile kıyaslandığı zaman hazırlanan Co^{+2} iyon seçici elektrot İMA tayini için başarılı sonuçlar vermiştir.

KAYNAKLAR

[1] Bonow R.O., Smaha L.A., Smith S.C.Jr., Mensah G.A. ve Lenfant C., (2002). "World Heart Day 2002: The international burden of cardiovascular disease-responding to the emerging global epidemic", Circulation, 106:1602-1605.

[2] Finegold J.A., Asaria P. ve Francis D.P., (2012). "Mortality from ischaemic heart disease by country, region, and age: Statistics from World Health Organisation and United Nations", International Journal of Cardiology, 168 (2): 934–45.

[3] Buğdacı M.S., (2008). Netter'in Kardiyolojisi, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul

[4] Lozano R., Naghavi M., Foreman K., Lim S., Shibuya K., Aboyans V., Abraham J., Adair T., Aggarwal R. ve Ahn S.Y., (2012). "Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010", Lancet, 380 (9859): 2095–128.

[5] Edmonstone W.M., (1995). "Cardirac chest pain: does body language help the diagnose?", M. B. J., 311: 1660-1661.

[6] Compeau L., (1976). "Granding of angina pectoris", Circulation, 54: 522-523.

[7] Upton M.T., Rercych S.K. ve Newman G., (1980). "Detecting abnormalities in left ventricular function during exercise before angina and ST-segment depression", Circulation, 62: 341-349.

[8] Likoff W., Segal B.L. ve Kasparian H., (1967). "Paradox of normal selactive coronary arteriograms in patients considered to have unmistakable coronary heart diease", N. Engl. J. Med., 276: 1063-1066.

[9] Kemp H.G., Elliott W.C. ve Gorlin R., (1967). "The anginal syndrome with normal coronary arteriography", Trans. Assoc. Amer. Physicians, 80: 59-70.

[10] Prinzmetal M. ve Kennamer R., (1959). "Angina pectoris IA variant form of angina pectoris", Amer. I. Med., 1959;375-388.

[11] Masseri A., Parodi O. ve Severi S., (1976). "Transient transmural reduction of myocardial blood flow, demontsrated by thallium 201 scintigraphy, as a cause of variant angina", Circulation, 54: 280-288.

[12] Mark D.B., Califf R.M. ve Morris K.G., (1984). "Clinical charecteristic and long- term survival of patients with variant angina", Circulation 69: 880-888

[13] Aronery C., Boyden A.N. ve Jelinek M.V., (2000). "Management of unstable angina: guidelines", Med. J. Aust., 173: S65-S88.

[14] David S., Jackie B. ve Ricki L., (2012). Hole's essentials of human anatomy & physiology, Eleventh Edition, McGraw Hill, New York

[15] Koenig W. ve Khuseyinova N., (2007). "Biomarkers of Atherosclerotic Plaque Instability and Rupture", Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 27: 15-26.

[16] Shanahan C.M., Cary N.R. ve Metcalfe J.C., (1994). "High expression of genes for calciluation regulating proteins in human atherosclerotic plaques", J. Clin. Invest., 93: 2393-2402.

[17] Ross R., (1994). "Atherosclerosis- an inflamatory disease", N. Engl. J. Med., 340: 115-126.

[18] Tsao P.S., Wang B. ve Buitrago R., (1996). "Nitric oxide regulates monocyte chemotactic protein- 1", Circulation, 94: 1682-1689.

[19] Stroes E., Koomans H.A. ve De Bruin T.W., (1995). "Vascular function in the forearm of hyper cholesterolamic patients off and on lipid lowering medication" Lancet, 346: 467-471.

[20] Williams S.B., Cusco J.A. ve Roddy M.A., (1996). "Imparied nitric oxide mediated vasodilation in patients with non- insulin- dependent diabetes mellitus", Amer. Coll. Cardiol., 27: 567-574.

[21] Poon M., Zhang X. ve Dunsky K.G., (1997). "Apolipoprotein(a) induces monocyte chemotactic activity in human vascular endothelial cells", Circulation, 96: 2514-2519.

[22] Rath M., Niendorf A. ve Reblin T., (1989). "Detection and quantification of lipoprotein (a) in the arterial wall of 107 coronary bypass patients", Arteriosclerosis, 9: 579-592.

[23] Loscalzo J., Weinfeld M. ve Fless G.M., Scanu M., (1990). "Lipoprotein (a), fibrin binding and plasminogen activation" Arteriosclerosis, 10:240-246.

[24] Grainger D.J., Kirschenlor H.L. ve Metcalfe J.C., (1993). "Proliferation of human smooth muscle cells promoted by lipoproteins(a)", Science , 260: 1655-1658.

[25] Guyton, A.C. ve Hall J.E. (2006). Textbook of Medical Physiology, Elsevier Saunders, Philadelphia

[26] Huang H., Virmani R., Younis H. ve Burke A.P., (2001). "The impact of calcification on the biomechanical stability of atherosclerotic plaques" Circulation, 103: 1051–1056.

[27] Belkin B. ve Neolon F.A., (1992). "The art of observation: William Osler and the method of Zading", Ann. Intern. Med., 116: 863-866.

[28] Sandler G,. (1980). "The importance of the history in the medical clinic and the cost of unneccessary tests", Amer. Heart. J., 100: 928.

[29] Kee F., Tiret L. ve Robo J.Y., (1993). "Reliability of reported familiy history of myocardinal infarction" B. M. J., 307: 1528-1530.

[30] Hunt K., Emslie C. ve Watt G., (2001). "Lay contructions of a familiy history of heart disease: potensial for misunderstanding in the clinical encounter?" Lancet; 357: 1168-1171.

[31] Murabito J., Pencia M. ve Nam B.H., (2005). "Sibling cardiovascular disease as a risk factor for cardivascular disease in middle aged adults" JAMA, 294: 3117-3123.

[32] Chatterjee K. ve Parmley W., (1997). Bedside evolation of the heart: the pyhsical Cardiology, JB Lippincont Co, Philadelphia

[33] O' Rourke R.A., Silverman M.E. ve Schlant R.C., (1994). General examination of the patient Hurts 's the heart, 8th ed. McGraw- Hill, New York

[34] Anker S.D. ve Coats A.J.S., (1997). Syndrome of cardiac cachexia. Heart failure. Churhcill Livingstone, New York

[35] Javaheri S., Parker T.J. ve Limming J.D., (1998). "Sleep apnea in 81 ambulatory male patients with stable heart failure: types and their prevalences" Circulation, 97: 1254.

[36] Lanfranchi P.A., Braghiroli A. ve Bosmini E., (1999). "Prognostic value of noctural Cheyne-Stokes repration in chronic heart failure" Circulation, 99: 1435.

[37] Johnson M.D. Human biology: concepts and current issues, 6th ed. Pearson,

[38] Gorgels A.P.M., Vos M.A. ve Mulleneers R., (1993). "Value of the electrocardiogram in diagnosing the number of severely narrowed coronary arteries in rest angina pectoris" Amer. I. Cardiol., 72: 999-1003.

[39] Hyde T.A., French J.K. ve Wong C.K., (1999). "Four- year survial of patients with acute coronary syndoromes without ST- segment elavation and prognastic significance of 0.5- mm ST- segment depression" Amer. I. Cardiol., 84: 379-385.

[40] Gibbons R.J., Balady G.J., Beasley J.W., Bricker J.T., Duvernoy W.F., Froelicher V.F., Mark D.B., Marwick T.H., McCallister B.D., Thompson P.D., Winters W.L.Jr., Yanowitz F.G., Ritchie J.L., Cheitlin M.D., Eagle K.A., Gardner T.J., Garson A.Jr., Lewis R.P., O'Rourke R.A. ve Ryan T.J., (1997). "ACC/AHA guidelines for exercise testing: executive summary" Circulation, 96: 345-354.

[41] Wolf E., Tzivoni D. ve Stern S., (1974). "Comparison of exercise tests and 24-hour ambulatory electrocardiographic monitoring in detection of ST-T changes" Br. Heart. J., 36:90-95.

[42] Schinkel A.F.L., Bax J.J. ve Poldermans D., (2005). "Clinical assesment of myocardial hibernation", Heart, 91:111-117.

[43] Cheitlin M.D., Alpert J.S., Armstrong W.F., Aurigemma G.P., Beller G.A., Bierman F.Z., Davidson T.W., Davis J.L., Douglas P.S. ve Gillam L.D., (1997). "ACC/AHA Guidelines for the Clinical Application of Echocardiography. A report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Clinical Application of Echocardiography)", Circulation, 95:1686-1744.

[44] Nixon J.V., Brown C.N. ve Smitherman T.C., (1982) "Identification of transient and persistent segmental wall mation abnormalities in patients with unstable angina by two dimensional echocardiography" Circulation, 65: 1497-1503.

[45] Bhatia, S.K., (2010). Biomaterials for clinical applications, Springer, New York

[46] Lee, J.C., West M.J. ve Khafagi F.A., (2013). "Myocardial perfusion scans". Australian family physician, 42 (8): 564–7.

[47] Gibbons R.J., Chatterjee K., Daley J., Douglas J.S., Fihn S.D., Gardin J.M., Grunwald M.A., Levy D., Lytle B.W., O'Rourke R.A., Schafer W.P., Williams S.V., Ritchie J.L., Cheitlin M.D., Eagle K.A., Gardner T.J., Garson A.Jr., Russell R.O., Ryan T.J. ve Smith S.C.Jr., (1999). "ACC/AHA/ACP-ASIM guidelines for the management of patients with chronic stable angina" J. Amer. Coll. Cardiol., 33: 2092-2197.

[48] Michael S.L., (2009). "Perspective: Elements of danger the case of medical imaging", N. Engl. J. Med., 361(9):841.

[49] Tamaki N., Kawamoto M. ve Tadamura E., (1995). "Prediction of reversible ischemia after revascularization: perfusion and metabolic studies with positron emission tomography", Circulation, 91:1697-1705.

[50] Camici P.G., Rosen S.D., Spinks T.J. ve Rimoldi O., (2004). Positron emission tomography. In: Ell PJ, Gambhir SS (eds). Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment, 3rd ED, Churchill-Livingstone, London

[51] Dewey M., (2011). Cardiac CT, first edition, Springer-Verlag, Berlin

[52] Schinkel A.F.L., Bax J.J. ve Poldermans D., (2005). "Clinical assesment of myocardial hibernation", Heart, 91:111-117.

[53] Berman D.S., Hachamovitch R. ve Shaw L.J., (2006). "Roles of Nuclear Cardiology, Cardiac Computed Tomography, and Cardiac Magnetic Resonance: Assesment of Patients with Suspected Coronary Artery Disease", J. Nucl. Med., 47:74-82.

[54] Moller N.R., Cademartiri F. ve de Feyter P.J., (2005). "Non-invasive multislice CT coronary imaging", Heart, 91:401-407.

[55] Kim W.Y., Dannias P.G. ve Stuber M., (2001). "Coronary magnetic resonance angiograpohy for the detection of coronary stenoses", N. Engl. I. Med., 345: 1863-1869.

[56] Savanitto S., Ardissinno D. ve Granger CB., (1999). "Prognostic value of the admission electrocardiogram in acute coronary sydroness" Jama, 281: 707-713.

[57] Connon C.P, Mc Cabe C.H ve Stone P.H., (1997). "The electrocardiogram predicts one year outcome of patients with unstable angina and non Q wawe myocardial infarction: results of the TIMI III registry ECG anciallry study", I. Amer. Coll. Cardiol, 30: 133-140.

[58] Schoenhagen P. ve Nissen S., (2002). "Understanding coronary artery disease tomographic imaging with intravascular ultrasound", Heart, 88:91-96.

[59] Okazaki S., Yokoyama T. ve Miyauchi K., (2004). "Early Statin treatment in patinets with acute corronary synrodome: demonstration of the benefical effect on atherosclerotic lesions by serial volumetric intravascular ultrasound analysis during half a year after coronary event: the Establish study", Circulation, 110: 1061-1068.

[60] Leber A., Knez A. ve Ziegler F.V., (2005). "Quantification of obstructive and nonobstructive coronary lesions by 64-slice computed tomography: a

comparative study with quantitative coronary angiography and intravascular ultrasound", J Am Coll Cardiol, 46:147-154.

[61] Asakura M., Ueda Y. ve Yamuguchi O., (2001). "Extensive devolopment of vulnerable plaques as a pan- coronary prosses in patients with myocardical infafcration an angioscopic study", I. Amer. Coll. Cordiol., 37: 1284-1288.

[62] Buffon A., Biasuci L.M. ve Liuzzo G., (2002). "Widespread coronary inflamation in unstable angina", N. Engl. J. Med., 347: 5-12.

[63] Jan I.K., Bouma B.E. ve Kang D.H., (2002). "Visualization of coronary atherosclorotic plaques in patients using optical coherence tomography: comparions with intravasculer ultra sound", I. Amer. Coll. Cardiol., 39: 604-609.

[64] Nelson D.L. ve Cox M.M., (2000). Lehninger Principles of Biochemistry, 3rd ed, Worth Publishers, New York

[65] Ordway G.A. ve Garry D.J., (2004). "Myoglobin: an essential hemoprotein in striated muscle". J. Exp. Biol., 207(20): 3441–6.

[66] Savino C., Miele A.E., Draghi F., Johnson, K.A., Sciara G., Brunori M. ve Vallone, B., (2009). "Pattern of Cavities in Globins: The Case of Human Hemoglobin", Biopolymers 91: 1097

[67] Weber M., Rau M., Madlener K., Elsaesser A., Bankovic D., Mitrovic V. ve Hamm C., (2005). "Diagnostic utility of new immunoassays for the cardiac markers cTnI, myoglobin and CK-MB mass", Clin. Biochem., 38 (11): 1027–30.

[68] Wallimann T. ve Hemmer W., (1994). "Creatine kinase in non-muscle tissues and cells". Molecular and Cellular Biochemistry, 133–135: 193–220.

[69] Moon, J.H., Bong, S.M., Hwang, K.Y. ve Chi, Y.M., (2008). "Structural studies of human brain-type creatine kinase complexed with the ADP-Mg^{2+}-NO^{3-}-creatine transition-state analogue complex", Febs. Lett., 582: 3959-3965

[70] Jaffe A.S., Ravkilde J. ve Roberts R., (2000). "It 's time for a change to a troponin standard", Circulation, 102: 1216-1220.

[71] Li A.Y., Lee J., Borek D., Otwinowski Z., Tibbits G. ve Paetzel M., (2011). "Crystal structure of cardiac troponin C regulatory domain in complex with cadmium and deoxycholic Acid reveals novel conformation", J. Mol. Biol., 413: 699-711.

[72] Lindahl B., Andren B. ve Ohlsson J., (1997). "Risk stratification in stutable coronary artery disease:additive value troponin T determanations and pre-discharge exercise tests", Eur. Heart. J., 18: 762-770.

[73] Antman E., Tanasijevic M.J. ve Thompson B., (1996). "Cardiac- spesific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes", N. Engl. J. Med., 335: 1333-1341.

[74] Perna E.R., Macin S.M. ve Parras J.I., (2002). "Cardicac tropin T levels are associated with poor short and long term prognosis in patients with acute cardiogneric pulmonary edema", Amer. Heart. J., 143: 814-820.

[75] He X. ve Garcia K.C., (2006). "Structural determinants of natriuretic peptide receptor specificity and degeneracy", J. Mol. Biol., 361: 698-714

[76] Wiese S. ve Breyer D.A, (2000). "Gene expression of brain natriuretic peptide in isolated atrial and verticular human myocardium: influence of angiotensin II and diostalic fiber lenght", Circulation, 102: 3074-1052.

[77] De Lemos J.A., Marrow D.A. ve Bently J.H., (2001). "The prognastic value of B type natruiretic peptide in patients with acute coronary sydronemes", N. Engl. J. Med., 345: 1014-1021.

[78] Omland T., de Lemos J.A. ve Marrow D.A., (2002). "Prognostic value of N terminal proatrial and pro-brain natriuretic peptide in patients with accute coronary syndoremes", Amer. I. Cardiol., 89: 463-496.

[79] Wallimann T., Wyss M., Brdiczka D., Nicolay K. ve Eppenberger H.M., (1992),. "Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the "phosphocreatine circuit" for cellular energy homeostasis", The Biochemical Journal, 281 (1): 21–40.

[80] Biasucci L.M., Liuzzu G. ve Grillo R.L., (1999). "Elaveted levels of C reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability" Circulation, 99: 855-860.

[81] Mikolajek H., Kolstoe S.E., Wood S.P. ve Pepys M.B, (2011). "Structural basis of ligand specificity in the human pentraxins, C-reactive protein and serum amyloid P component", J. Mol. Recognit., 24: 371-377.

[82] Ordway G.A. ve Garry D.J., (2004). "Myoglobin: an essential hemoprotein in striated muscle", J. Exp. Biol., 207(20): 3441–6.

[83] Naka T., Jones D., Baldwin I., Fealy N., Bates S., Goehl H., Morgera S., Neumayer H.H. ve Bellomo R., (2005). "Myoglobin clearance by super high-flux hemofiltration in a case of severe rhabdomyolysis: a case report", Crit. Care., 9(2):90–5.

[84] Forbes, L.V., Sjogren, T., Auchere, F., Jenkins, D.W., Thong, B., Laughton, D., Hemsley, P., Pairaudeau, G., Eriksson, H., Unitt, J.F. ve Kettle, A.J., (2013). "Potent Reversible Inhibition of Myeloperoxidase by Aromatic Hydroxamates", J. Biol. Chem., 288:36636.

[85] Andre P., Prasad K.S. ve Denis C.V., (2002). "CD40L, stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin- dependent mechanism", Nat. Med., 8: 247-252.

[86] Schonbeck U., Sukhova G.K. ve Shimizu K., (2000). "Inhibitation of CD40 signaling limits evoluation of established atherosclerosis in mice", Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 97: 7458-7463.

[87] Silvian, L.F. ve Whitty, A. (2011). "Small Molecule Inhibition of the TNF Family Cytokine CD40 Ligand through a Subunit Fracture Mechanism", Acs. Chem. Biol., 6: 636-647.

[88] Schönbeck U. ve Libby P., (2001). "The CD40/CD154 receptor/ligand dyad", Cell. Mol. Life Sci., 58(1): 4–43.

[89] Heeschen C., Dimmeler S. ve Hamm C.W., (2003). "Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes", N. Engl. I. Med., 348: 1104-1111.

[90] Varo N., de Lemos J.A. ve Libby P., (2003). "Soluble CD40L: risk prediction after acute coronary syndromes", Circulation, 108: 1049-1052.

[91] Sivertsen, A., Isaksson, J., Leiros, H.S., Svenson, J., Svendsen, J., ve Brandsdal, B.O., (2014). "Synthetic cationic antimicrobial peptides bind with their hydrophobic parts to drug site II of human serum albümin", Bmc. Struct. Biol., 14: 4

[92] Bhagavan N.V., Lai E.M., Rios P.A., Yang J., Ortega-Lopez A.M. ve Shinoda H. (2003). "Evaluation of human serum albumin cobalt binding assay for the assessment of myocardial ischemia and myocardial infarction", Clin. Chem., 49:581–5.

[93] Bar-Or D., Winkler J.V., Vanbenthuysen K., Harris L., Lau E. ve Hetzel F.W., (2001). "Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I", Am. Heart. J., 141: 985–91.

[94] Levine RL., (1993). "Ischemia: From acidosis to oxidation", FASEB J., 7:1242–6.

[95] Kehl D.W, Iqbal N., Farda A., Kipper, B.N, Landa A.P. ve Maisel A.S., (2012). "Biomarkers in acute myocardial injury", Translational Research,159:252–264.

[96] Gründler P., (2007). Chemical Sensors. Springer, Germany.

[97] Bobacka J., Ivaska A. ve Lewenstam A., (2008). "Potentiometric ion sensors", Chemical Reviews, 108(2) 329-351.

[98] Bühlmann, P., Pretsch, E. ve Bakker, E., (1998) "Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes: 2. Ionophores for Potentiometrie and Optical Sensors", Chem. Rev., 98, 1593-1687,

[99] Peper, S., I. Tsagkatakis ve E. Bakker,(2001) "Cross-linked dodecyl acrylate microspheres: novel matrices for plasticizer-free optical ion sensing", Analytica Chimica Acta, 442(1):25-33.

[100] Reinhoudt, D.N., J.F.J. Engbersen, Z. Brzozka, H.H. Vandenvlekkert, G.W.N. Honig, H.A.J. Holterman ve U.H. Verkerk, (1994), "Development of durable K+-selective chemically-modified field-effect transistors with functionalized polysiloxane membranes", Analytical Chemistry, 66(21):3618-3623.

[101] Heng, L.Y. ve E.A.H. Hall, (1996), "Methacrylate-acrylate based polymers of low plasticiser content for potassium ion-selective membranes", Analytica Chimica Acta, 324(1):47-56.

[102] Heng, L.Y. ve E.A.H. Hall, (2000), "Producing "self-plasticizing" ion-selective membranes", Analytical Chemistry, 72(1):42-51.

[103] Qin, Y., S. Peper ve E. Bakker, (2002) . "Plasticizer-free polymer membrane ion-selective electrodes containing a methacrylic copolymer matrix", Electroanalysis, 14(19-20):1375-1381.

[104] Buhlmann P., Yajima S., Tohda K., Umezawa K., Nishizawa S., Umezawa Y., (1995). "Studies on the phase boundaries and the significance of ionic sites of liquid membrane ion-selective electrodes", Electroanalysis, 7(9):811-816.

[105] Nägele, M., Mi, Y., Bakker, E. ve Pretsch, E., (1998). "influence of Lipophilic Inert Electrolyte on the Selectivity of PolymerMembrane Electrodes.", Anal. Chem., 70:1686-1691.

[106] Bakker, E. ve Pretsch E., (2007). "Modern Potentiometry". Angewandte Chemie-International Edition, 46(30):5660-5668.

[107] Coldur F., Andac M., Isildak I. ve Saka T., (2009). "A micro-sized PVC membrane Li^+-selective electrode without internal filling solution and its medical applications", Journal of Electroanalytical chemistry, 626 (1-2):30-35.

[108] Stockwell, P.B., (1990). "The role of flow injection analysis within the framework of an automated laboratory", J. Autom. Chem., 12:95–103.

[109] Grupdan K., Christian G.D. ve McKelvie I.D., (2011). "How did flow injection analysis, and its related techniques, develop in various parts of the globe? Reflections of prominent FIA practitioners", Talanta, 84:1200–1204.

[110] Dunec A.F., Cheregi M., Calatayud J.M., Mateo J.V.G. ve Enein H.Y.A., (2001). "Critical Review in Analytical Chemistry", Analytical Chemistry, 31:191.

[111] Ruzicka J. ve Hansen E.H., (1981). Flow Injection Analysis, 1st edition Wiley, New York

[112] Ogbomo I., Kittsteiner-Eberle R., Englbrecht U., Prinzing U., Danzer J. ve Schmidt H.L., (1991). Anal. Chim. Acta, 249:137-143.

[113] Kisiel A., Michalska A., Maksymiuk K. ve Hall E.A.H., (2008). "All –Solid-State Reference Electrodes with Poly(n-butyl acrylate) Based Membranes", Electroanalysis, 20:318-323.

[114] Michalska A., Kisiel A. ve Maksymiuk K., (2012). "All Solid State Reference Electrodes", IMCS 2012 – The 14th International Meeting on Chemical Sensors 683-686.

[115] Rius-Ruiz F.X., Kisiel A., Michalska A., Maksymiuk K. ve Xavier Rius J.R.F., (2011). "Solid-state reference electrodes based on carbon nanotubes and polyacrylate membranes", Anal. Bioanal. Chem., 399:3613–3622.

[116] Singh A.K., Singh R.P. ve Saxena P., (2006). "Cobalt(II)-selective electrode based on a newly synthesized macrocyclic compound", Sensors and Actuators B, 114: 578–583.

[117] Shamsipur M., Poursaberi T., Rouhani S., Niknam K., Sharghi H. ve Ganjali M.R., (2001). "Cobalt(II)-selective membrane electrode based on a recently synthesized benzo-substituted macrocyclic diamide", Anal. Sci., 17: 1049.

[118] Mashhadizadeh M.H., Momeni A. ve Razavi R., (2002). "Cobalt(II)-selective membrane using a recently synthesized compound", Anal. Chim. Acta, 462: 245.

[119] Ganjali M.R., Mizani F., Emami M., Darjezini M., Darvich M.R. ve Yousefi M., (2004). "Synthesis of a new oxime and its application to the construction of a highly selective and sensitive Co(II) PVC-based membrane sensor", Anal. Sci., 20:531.

[120] Singhal D., Singh A.K. ve Upadhyay A., (2014). "Highly selective potentiometric and colorimetric determinations of cobalt (II) ion using thiazole based ligands", Materials Science and Engineering C, 45: 216–224.

[121] Bar-Or D., Lau E. ve Winkler J.V., (2000). "A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report", J. Emerg. Med., 19:311–5.

[122] Christenson R.H., Duh S.H., Sanhai W.R., Wu A.H.B., Holtman V., Painter P., Branham E., Apple F.S., Murakami M.A. ve Morris D.L., (2001). "Characteristics of an Albumin Cobalt Binding Test for Assessment of Acute Coronary Syndrome Patients: A Multicenter Study", Clinical Chemistry, 47:3 464–470.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Hakan TURMUŞ

Doğum Tarihi ve Yeri : 12.04.1986 FATİH/İstanbul

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : hakanturmus@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Genetik ve Biyomühendislik	Fatih Üniversitesi	2012

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2012-	Alvimedica Tıbbi Ürünler Sanayi ve Dış Ticaret A.Ş	Ar-Ge Mühendisi

YAYINLARI

Bildiri

1.Nurullah Arslan, Hakan Turmus, Computational solution of the velocity and wall shear stress distribution inside a left carotid artery under pulsatile flow conditions, International Conference On Analysis And Applied Mathematıcs (ICAAM 2014)

2. Nurullah Arslan, Hakan Turmus, Askin Ali Korkmaz, Mustafa Guden, Computational Solution Of The Velocity And Wall Shear Stress Distribution Inside A Coronary By-Pass Graft To Artery Connection Under Steady Flow Conditions, ISCSE 2011 - Second International Symposium on Computing in Science and Engineering

3. I. Isildak, H. Turmus, A. Hazini, R. Yildirim, O. Tavukcuoglu, I. Agir and M. Cemek A Novel Potentiometric Measurement Method for Rapid, Selective and Sensitive Detection of Myocardial Ischemia" The 5th International Symposium on Sustainable Development (ISSD2014)

4. Ergun Sakalar, M.Fatih Abasiyanik, Burak Yener, Hakan Turmus, Gelatine Production "Proceedings of International Food Congress-Novel Approaches in Food Industry", İzmir/TURKEY, May. 2011, 2, 1068

Proje

1. TÜBİTAK 112S166
Miyokardial İskemide Potansiyometrik İyon Seçici Sensör Kullanarak Yeni Bir Erken Tanı Yöntemi Geliştirilmesi

2. TEYDEB 3120886
Yüksek Mekanik Özelliklere Sahip İlaç Salınımlı Biyoemilebilir Metalik Stent
ALVİMEDICA Tıbbi Ürünler San. Ve Dış Ticaret A.Ş

3.TEYDEB 3110210
Balonla Genişleyebilir Anevrizma Stent Sistemi
ALVİMEDICA Tıbbi Ürünler San. Ve Dış Ticaret A.Ş

4. TEYDEB 3120206
Biyobozunur Stent ALVİMEDICA Tıbbi Ürünler San. Ve Dış Ticaret A.Ş

ÖDÜLLERİ

1.Tübitak BİDEB 2209 Lisans öğrencileri için Araştırma Bursu