

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

TIBBİ LABORATUVAR

**TAM KAN SAYIMI 1
725TTT122**

Ankara, 2011

- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
- Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.
- **PARA İLE SATILMAZ.**

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR.....	iii
GİRİŞ	1
ÖĞRENME FAALİYETİ-1	3
1. MİKROSKOP	3
1.1. Tanımı	3
1.1.1. Mikroskopta Görüntü Oluşumu	4
1.2. Mikroskop Çeşitleri	7
1.2.1. Klasik Işık Mikroskobu	7
1.2.2. Demonstrasyon Mikroskobu	10
1.2.3. Araştırma Mikroskobu	11
1.2.4. Stereoskopik Mikroskop	12
1.2.5. Elektron Mikroskobu	13
1.3. Mikroskop Kullanımı	15
UYGULAMA FAALİYETİ.....	17
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	19
ÖĞRENME FAALİYETİ-2	20
2. ERİTROSİT SAYIMI	20
2.1. Kan Hücrelerinin Oluşumu/Hematopoez	20
2.1.1. Fetal Hayatta Hematopoez	20
2.1.2. Postnatal Dönemde Hematopoez	21
2.2. Eritrositler.....	25
2.2.1. Eritrosit Morfolojisi ve Fizyolojisi	25
2.2.2. Eritrositlerin Görevleri	27
2.2.3. Eritrositlerin Oluşum Safhaları/Eritropoez.....	27
2.2.4. Eritrositlerin Yıkımı.....	31
2.2.5. Eritrositlerdeki Morfolojik Değişiklikler	32
2.3. Eritrosit Sayımı.....	35
2.3.1. Amacı.....	35
2.3.2. Eritrosit Sayımında Kullanılan Malzemeler	36
2.3.3. Eritrosit Sayım Tekniği	39
2.3.4. Eritrosit Sayım Sonucunun Hesaplanması	41
2.3.5. Normal Değerler	42
2.3.6. Eritrositlerin Arttığı ve Azaldığı Durumlar	42
UYGULAMA FAALİYETİ.....	43
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	45
ÖĞRENME FAALİYETİ-3	46
3. LÖKOSİT SAYIMI	46
3.1. Lökositler	46
3.1.1. Lökositlerin Morfoloji ve Fizyolojisi.....	47
3.1.2. Lökositlerin Oluşum Safhaları/Lökopoez	47
3.2. Lökosit Sayımı.....	52
3.2.1. Amacı.....	52
3.2.2. Lökosit Sayımında Kullanılan Malzemeler	53
3.2.3. Lökosit Sayım Tekniği.....	53

3.2.4. Lökosit Sayım Sonucunun Hesaplanması	55
3.2.5. Lökositlerin Arttığı ve Azaldığı Durumlar	55
UYGULAMA FAALİYETİ.....	57
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	59
ÖĞRENME FAALİYETİ-4	60
4. TROMBOSİT SAYIMI.....	60
4.1. Trombositler	60
4.1.1. Trombositlerin Morfoloji ve Fizyolojisi	60
4.1.2. Trombositlerin Görevi.....	61
4.1.3. Trombositlerin Oluşum Safhaları	62
4.2. Trombosit Sayımı	63
4.2.1. Amacı.....	63
4.2.2. Trombosit Sayımında Kullanılan Malzemeler.....	63
4.2.3. Trombosit Sayım Tekniği.....	64
4.2.4. Trombosit Sayım Sonucunun Hesaplanması	64
4.2.5. Trombositlerin Arttığı ve Azaldığı Durumlar.....	65
UYGULAMA FAALİYETİ.....	66
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	68
MODÜL DEĞERLENDİRME.....	69
CEVAP ANAHTARLARI.....	71
KAYNAKÇA	72

AÇIKLAMALAR

KOD	725TTT122
ALAN	Tıbbi Laboratuvar
DAL/MESLEK	Tıbbi Laboratuvar Teknisyenliği
MODÜLÜN ADI	Tam Kan Sayımı 1
MODÜLÜN TANIMI	Hematoloji laboratuvarında; mikroskop kullanarak eritrosit, lökosit ve trombosit sayımlarının teknik ve becerilerinin kazandırıldığı bir öğretim materyalidir.
SÜRE	40/32
ÖNKOŞUL	Tıbbi laboratuvar güvenliği ders modüllerini ve Hematolojik Analizler Öncesi Hazırlık modülünü başarmış olmak.
YETERLİK	Tam kan sayımı yapmak.
MODÜLÜN AMACI	Genel Amaç Hematoloji laboratuvarında; mikroskop kullanarak eritrosit, lökosit ve trombosit sayımlarını yapabileceksiniz. Amaçlar <ol style="list-style-type: none">1. Mikroskop kullanabileceksiniz.2. Eritrosit sayımı yapabileceksiniz.3. Lökosit sayımı yapabileceksiniz.4. Trombosit sayımı yapabileceksiniz.
EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	Ortam: Hematoloji laboratuvarı Donanım: Mikroskop, Kan alma koltuğu, % 70'lik alkol, pamuk, lanset, lökosit ve trombosit pipeti, pipet hortumu, sayım kamarası (thoma lamı), lamel, eritrosit-lökosit-trombosit sayım solüsyonları.
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	Modülün içinde yer alan her öğrenme faaliyetinden sonra verilen ölçme araçları ile kendinizi değerlendireceksiniz. Öğretmen, modülün sonunda ölçme aracı (test, çoktan seçmeli, doğru-yanlış, v.b) kullanarak modül uygulamaları ile kazandığınız bilgi ve becerileri ölçerek sizi değerlendirecektir.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Hematoloji laboratuvarının rutin çalışması olan tam kan sayımı; kan hücrelerinden eritrosit, lökosit ve trombosit sayımı, hemogloblin ve hematokrit tayini ile eritrosit indekslerini kapsamaktadır.

“Tam kan sayımı - I” modülünde mikroskop kullanarak eritrosit, lökosit ve trombosit sayım tekniği becerisini kazanacaksınız.

ÖĞRENME FAALİYETİ-1

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığımız bilgiler ile mikroskop kullanabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Klasik ışık mikroskopunun parçalarını ve işlevlerini araştırınız.
- Mikroskop çeşitleri hakkında araştırma yaparak arkadaşlarınızla paylaşınız.

1. MİKROSKOP

1.1. Tanımı

Mikroorganizmalar, hücreler genel olarak gözle görülemeyecek kadar küçük canlı varlıklardır. İnsan gözü, çapı 200-250 μm (mikron, mikrometre)'den daha fazla olan büyüklükteki cisimleri görebilir. Çıplak gözle 0,1 mm'den daha küçük cisimler görülemez. Mikroorganizmaların ve hücrelerin boyutları genelde 0,1-10 μm arasında değişmektedir.

Mikrometre (μm) = 10^{-3} mm

Nanometre (nm) = 10^{-6} mm

(milimikron)

Pikometre (pm) = 10^{-9} mm

1 nm = 10^0

1 A^0 = 0,1 milimikron = 10^{-4} μm

Bu nedenle hücreleri ve mikroorganizmaları görebilmek için özel ve büyüten sistemlere sahip mikroskoplar kullanılmaktadır. Hollandalı bilim adamı ANTONY van LEEUWENHOEK (1632 – 1723) mikroskobu geliştirerek spermler, kan hücreleri ve protozoonlar üzerinde gözlemler yapmıştır.

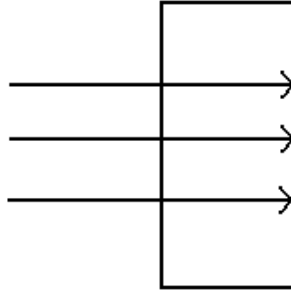
Gözle görülemeyen cisim ve maddeleri, mercek yardımıyla büyütürük görülmelerini sağlayan cihaza, **mikroskop** denir.



Resim 1.1: Mikroskop

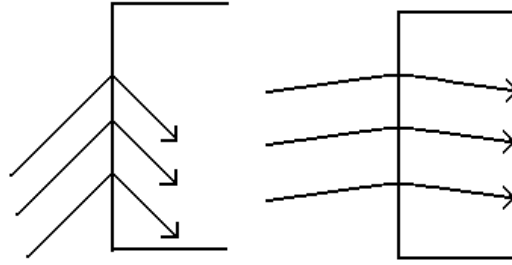
1.1.1. Mikroskopta Görüntü Oluşumu

- Işık dalgaları bir ortamdaki başka bir ortama geçerken kırılır; çünkü her ortamda, o ortamın yoğunluğuna göre ışık dalgalarının taşınma hızı farklı olur.
- Işınların kırılma derecesinde iki faktör rol oynar.
 1. Işınların taşınma hızından doğan farktır. Işınların kırılma derecesi, **kırılma indeksi** ile ölçülür.
 2. Işınların ikinci ortama çarptıkları noktada meydana gelen açıdır. Işınlar ikinci ortamın yüzeyine dik olarak çarparsa düz olarak geçer ve bir kırılma olmaz. İkinci ortamın yüzeyine eğik gelen ışınlar ise kırılır ve kırılma derecesi, gelen ışınların eğikliği arttıkça artar.
- Işınların çarptığı yüzeyin düz veya eğik oluşu da kırılmada rol oynar. Düz bir yüzeye paralel ışınlar, paralel olarak aynı açılarla kırılır ve geçer.



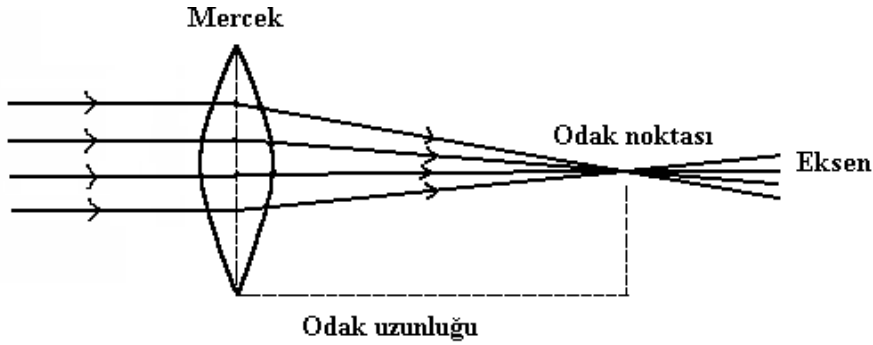
Şekil 1.1: Düz yüzeye gelen paralel ışının kırılması

- Eğik yüzeye gelen paralel ışınların yüzeye çarptığı her noktadaki kırılma açısı farklı olur ve ışınlar yüzeyi geçtikten sonra bir noktada toplanır.



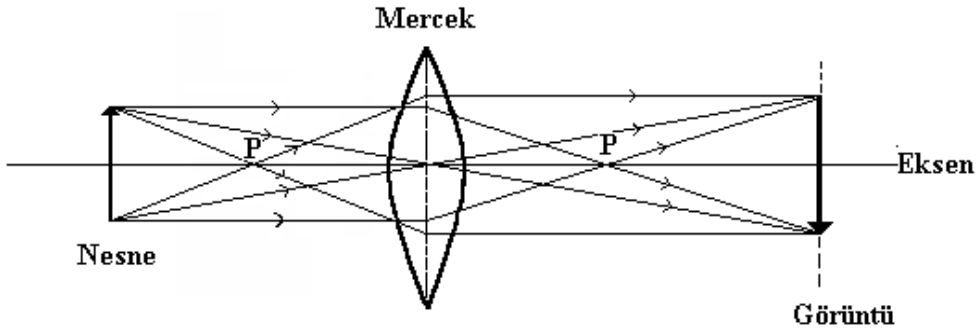
Şekil 1.2: Az eğik ve çok eğik ışınların kırılma açısı farkları

- Kırılan ışınların birleştiği nokta, **odak (foküs) noktasını**; odak noktası ile merceğin merkezi arasındaki uzaklık, odak uzunluğunu oluşturur.



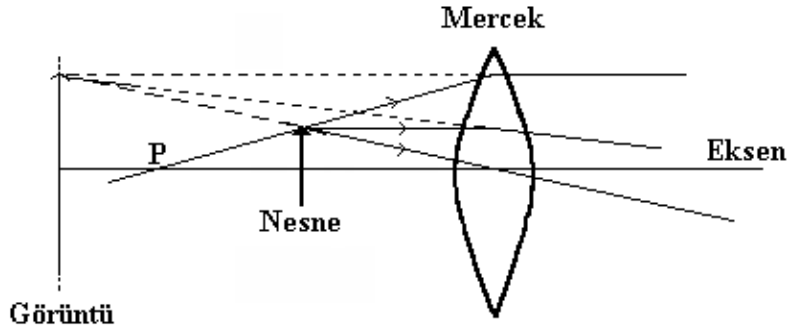
Şekil 1.3: Odak noktası ve odak uzunluğu

- Işın, merceğin eksenini 0° lik bir açı ile geçiyorsa kırılmaz.
- Nesneden gelen bütün ışınlar bir görüntü düzleminde kesişir ve meydana gelen bu görüntü nesnenin ters ve büyük görüntüsü olur. Buna **gerçek görüntü** denir. Nesne odak noktasına yaklaştıkça görüntü düzlemi uzaklaşır ve gerçek görüntü büyür.



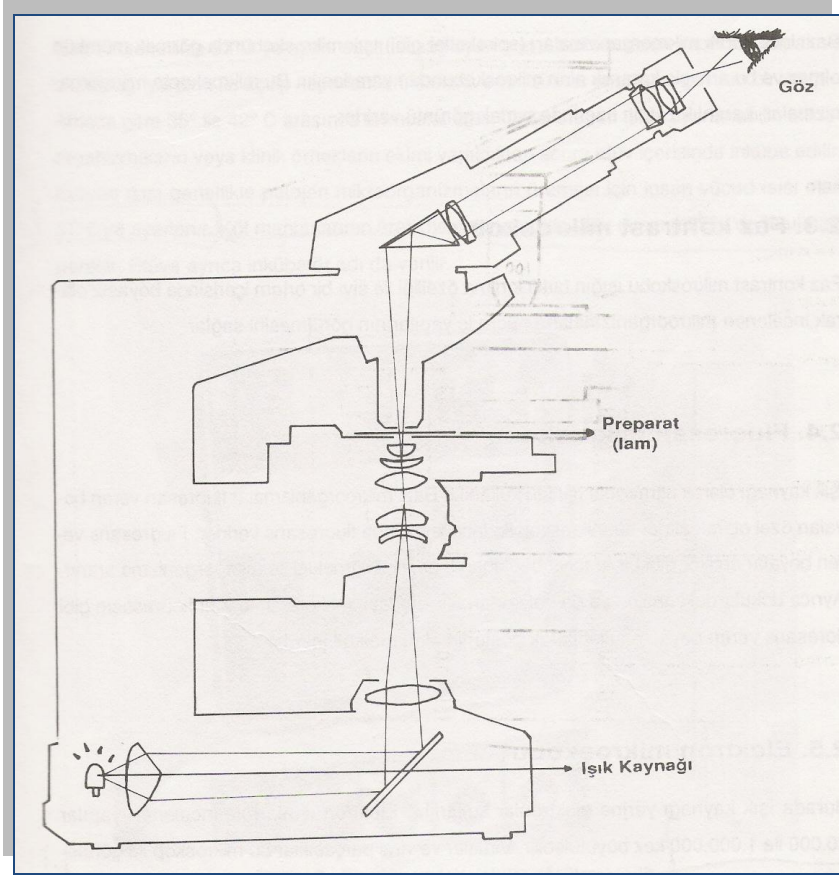
Şekil 1.4: Gerçek görüntü oluşumu

- Odak noktasının iç tarafına konan nesnelere gelen ışınlar merceği geçince birbirinden uzaklaştığı için gerçek görüntü oluşturamaz. Bununla beraber, konveks merceğin zıt tarafında bu ışınlar uzatılırsa, bir yerde birleşir ve bir görüntü oluşturur. Bu görüntüye **virtüel görüntü** denir. Bu görüntü gerçek görüntüden daha büyüktür; fakat nesnenin ters olmayan görüntüsüdür.



Şekil 1.5: Virtüel görüntü oluşumu

- Bu esaslara dayanılarak ve birden fazla mercek kullanılarak ışık mikroskopları geliştirilmiştir. İncelenen konu nesnedir. Nesneye yakın olan **objektif merceğinin** odak uzunluğu çok kısadır. Objektif ile nesnenin **gerçek görüntüsü** elde edilir. Bu gerçek görüntü, nesne gibi kullanılarak ikinci bir mercek grubu olan **oküler merceği** ile bir görüntü daha elde edilir. Elde edilen görüntü **virtüel görüntüdür**. Gözle oküler merceğinden bakılırsa nesnenin son görüntüsü görülür.

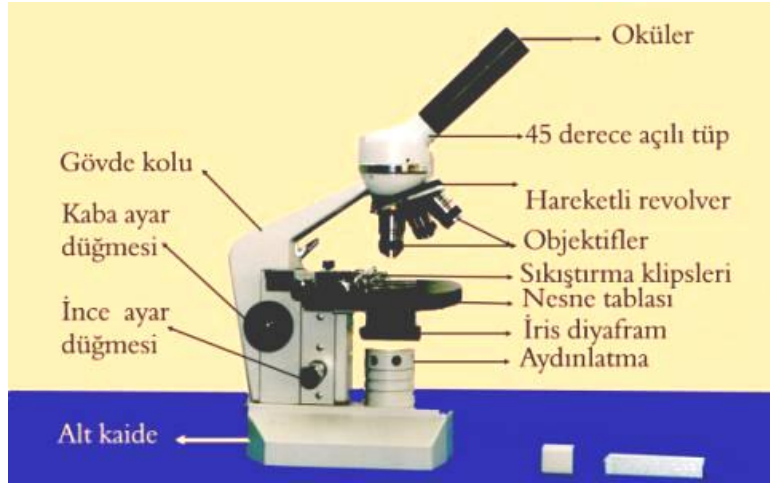


Şekil 1.6: Işık mikroskopunda görüntünün oluşumu

1.2. Mikroskop Çeşitleri

1.2.1. Klasik Işık Mikroskobu

Klinik laboratuvarlarda, teşhis ve araştırma amacıyla en fazla kullanılan mikroskoptur. Işık kaynağı olarak güneş ya da lamba ışığı, büyütme elemanı olarak da cam mercek sisteminin kullanıldığı mikroskoplardır. Büyütme gücü 1000-3000 arasındadır.

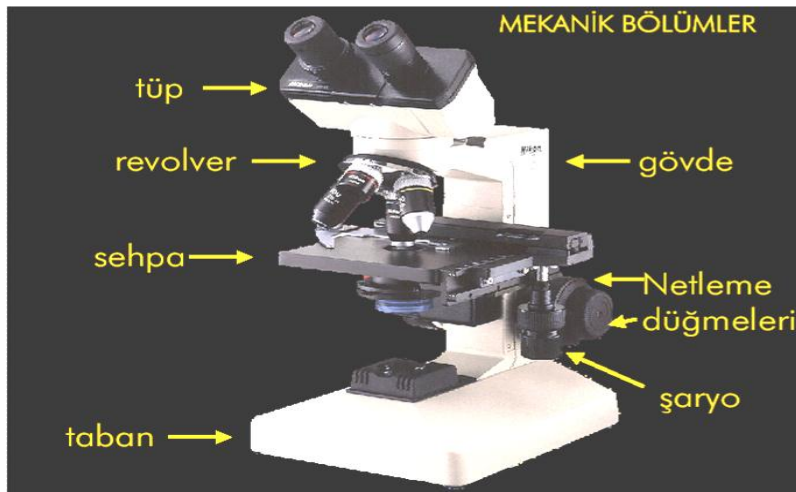


Resim.1.2: Klasik ışık mikroskobu

1.2.1.1. Klasik Işık Mikroskobunun Bölümleri

Mekanik kısım, aydınlatma sistemi ve optik kısım olmak üzere üç bölümden oluşur.

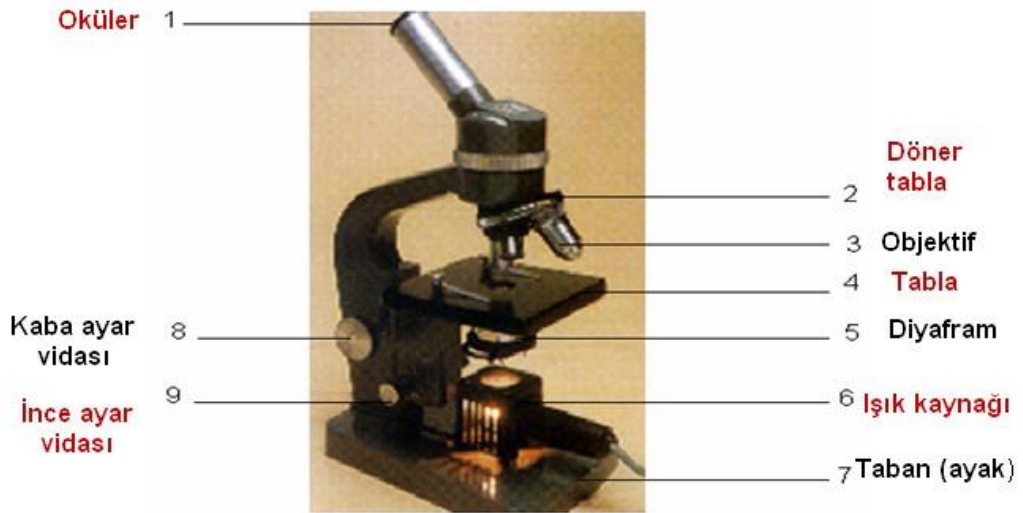
- **Mekanik Kısım:** Mekanik kısım ayak, kol (sap), tüp, tabla ile makro ve mikro vidalardan oluşur.



Resim 1.3: Mikroskobun mekanik kısmı

- **Ayak:** Mikroskobun yere oturmasını sağlar. Ayak kısmı mikroskobun şekil, marka ve modeline göre değişir.
- **Kol:** Ayakla eklem yaparak gövdeye bağlanır. Mikroskobu tutmaya yarar.
- **Tüp:** Genellikle 160 mm uzunluğundadır. Üst kısmında oküler, alt kısmında ise revolveye bağlı objektifler bulunmaktadır.
- **Tabla:** Lamın (objenin) konulduğu kısımdır. Tablanın ortasında kondansörden gelen ışığın geçmesini sağlayan delik bulunur. Tabla üzerinde lamı sabitleştiren 2 maşa ya da gelişmiş şekillerinde lamın hareketini sağlayan şaryo bulunur. Birinci kızaktaki kaba ayar vidası (makrometre) ile objektifin lama yaklaştırılıp uzaklaşmasını, ince ayar vidası (mikrometre) ile görüntünün netliği sağlanır. İkinci kızak kondansörü taşır ve aşağı yukarı doğru hareketini sağlar.
- **Makro ve mikro vidalar:** Kol üzerinde yer alan ve tüpü objeye ya da objeyi tüpe yaklaştıran ve uzaklaştıran vidalardır. Makro vida ile görüntü bulunur, mikro vida ile netlik ayarı yapılır.

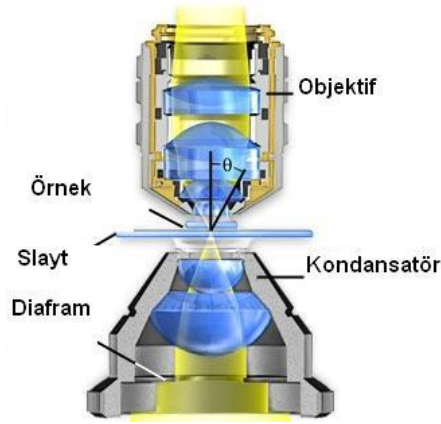
➤ **Aydınlatma Sistemi:** Tablanın alt kısmında yer alır. Işık kaynağı, ayna, kondansör ve diyaframdan oluşur.



Resim1.4: Mikroskop

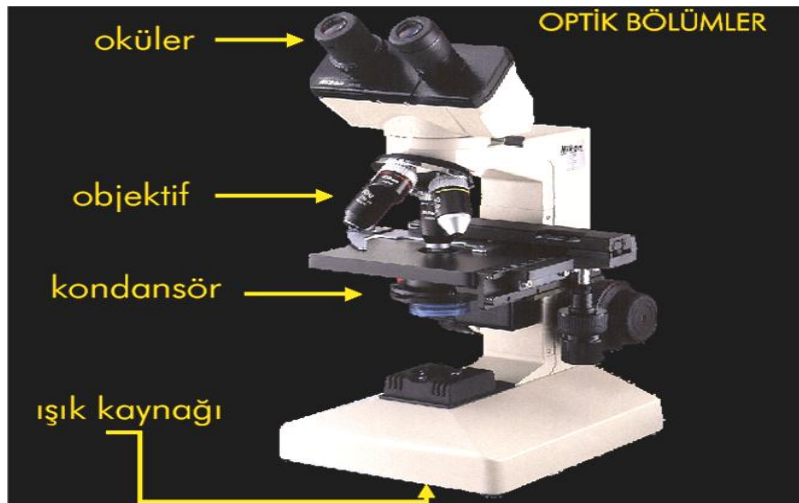
- **Işık kaynağı:** Gün ışığı, mikroskop dışındaki bir lamba ya da mikroskoba monte edilmiş özel lambalar kullanılır.
- **Ayna:** Bir tarafı düz, bir tarafı konkav (içbükey) dir ve her tarafa hareket ettirilebilir. Tabla altında bulunan ayna, dışarıdan gelen ışığın incelenecek objeye yansıtılmasını sağlar. Daha çok kondansör olmadığı ve gün ışığı kullanılacaksa aynanın konkav kısmı kullanılır. Kondansör varsa ve harici ışık kullanılacaksa aynanın düz kısmı kullanılır.

- **Kondansör (Kondansatör):** Tablanın altında, hareketli ve istenildiğinde yerinden çıkartılabilen, madeni bir parçaya yerleştirilmiş merceklerden oluşur. Aynadan yansıyan ışınları, preparat üzerinde toplayarak yeterli derecede aydınlatmayı ve bir vida ile aşağı-yukarı doğru hareket ettirilerek ışığın odaklanmasını (fokuslanmasını) sağlar.



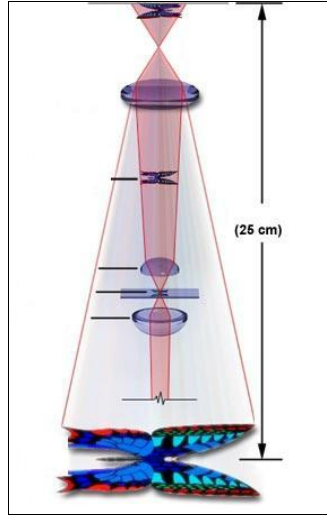
Resim 1.5: Kondansör ve diyafram

- **Diyafram:** Kondansörün alt kısmındadır. Kondansöre giden ışığın az ya da çok olmasını sağlar. Böylece ışık şiddeti ayarlanarak cismin görüntüsünün netleşmesi sağlanır. İmmersiyon objektif kullanıldığında diyafram genellikle tam açılır. Hareket muayenelerinde ise gerektiği kadar kapatılır.
- **Optik Kısım:** Mikroskobun esas görevini yapan merceklerden oluşan kısmıdır. Optik kısım oküler ve objektiflerden meydana gelir.



Resim 1.6: Mikroskobun optik kısmı

- **Oküler:** Tüpün üst ucunda yer alan bir mercek sistemidir. Tek oküleri bulunan mikroskoba monoküler, iki oküleri bulunan mikroskoba binoküler mikroskop denir. Objektifin oluşturduğu ters görüntüyü daha da büyütür ve gerçek ve düz görüntüye çevirir. Üzerlerinde 5x, 7x, 10x, 15x gibi kaç kez büyütme yaptıkları yazılıdır.



Resim 1.7: Oküler

- **Objektifler:** Objenin hemen üstünde yer alan ve revolver denilen döndürme mekanizmasıyla dönebilen mercek sistemidir. Revolver, tüpün alt ucunda, iki veya beş deliği olan, objektiflerin vidalandığı döner parçadır.

Mikroskobun cinsine göre çeşitli objektifler vardır. Genelde mikroskoplarda 10x, 40x ve 100x büyütme yapabilen objektifler kullanılmaktadır. Işık mikroskoplarında en büyük büyütme sağlayan 100x (100'lük) objektiftir. Bu objektifle çalışmak için immersiyon yöntemine başvurmak gerekir. Bu objektif kullanılırken lam ile objektif arasına immersiyon yağı (sedir yağı) damlatılır. Bu nedenle immersiyon objektifi olarak da adlandırılır.

Mikroskobun büyütmesi, kullandığımız objektifin büyütmesi ile oküler büyütmesinin çarpımına eşittir. Örnek: 100x objektif ve 10x oküler kullanılmış ise; $100 \times 10 = 1000x$ büyütme yapılmıştır.

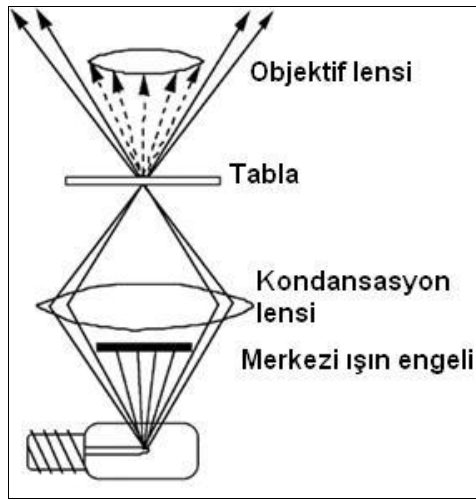
1.2.2. Demonstrasyon Mikroskobu

Demonstrasyon; uygulayarak, göstererek açıklama yapmak anlamına gelen bir kelimedir. Bu tür mikroskoplar aynı görüntüyü aynı zamanda birden çok kişinin izlemesini sağlayan mikroskoplardır. Daha çok eğitim amacıyla veya ortak çalışmalarda kullanılır. Objektiften gelen görüntü aynalar ve değişik optik tüpler yardımıyla değişik oküler sistemlerine gönderilir. Bu okülerden bakan kişiler aynı alanı izlerken preparat hakkında açıklamaları dinler veya tartışmaya imkan bulur. Bazen kuvvetli ışık kaynağı ve oküler üzerine yerleştirilen bir ayna yardımıyla görüntünün bir perdeye yansıtılması şeklinde demonstrasyon olanağı sağlanır.

1.2.3. Araştırma Mikroskobu

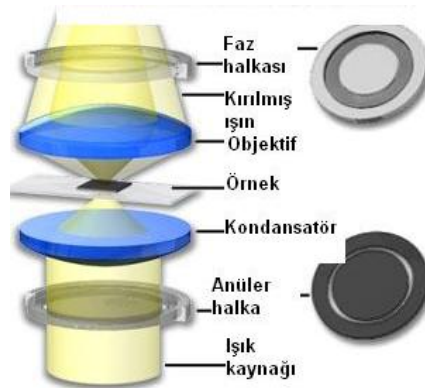
Birden fazla mikroskopik tekniğin kullanılmasına imkan sağlayan gelişmiş mikroskoplardır.

- **Karanlık alan mikroskobu:** Bazı ince yapılı mikroorganizmaları ışık mikroskopunda görmek mümkün olmaz. Bu nedenle karanlık alan mikroskopundan yararlanır. Özellikle spiroketlerin teşhisinde ve mikroorganizmaların hareket muayenelerinde kullanılır. Bu mikroskopta mikroorganizmalar, karanlık zemin üzerinde parlak görüntü verirler.



Şekil 1.7: Karanlık alan mikroskobunda görüntü oluşumu

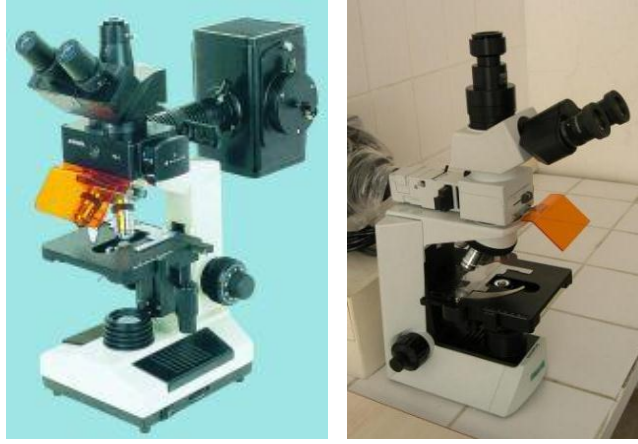
- **Faz-Kontrast mikroskobu:** Sıvı bir ortam içinde boyanmamış canlı hücrelerin iç yapılarının incelenmesinde kullanılır. Kondansör üzerine ilave edilen açıklığı halka biçiminde bir diyafra ve objektifin üst kısmına eklenen bir faz plağının yardımıyla faz-kontrast tekniği uygulanır. Böylece hücre ve hücre içindeki yapıların (hücre içi organellerin) kontrastlığı çevresine göre artmakta ve gözlenebilir hale gelmektedir.



Resim 1.8: Faz - Kontrast mikroskopta ışığın ilerleyişi

- **Flüoresans mikroskobu:** Flüoresans, bir bileşimin absorbe ettiği ultraviyole (UV) ışınları ya da gün ışığını daha uzun dalga boyuna sahip ışın olarak dışarı yayma özelliğidir. Flüoresans mikroskobunda, ışık kaynağı olarak yüksek basınçlı civa lambasıyla elde edilen ultraviyole ışınları kullanılır. Bazı mikroorganizmalar Flüoresans veren boyaları özel olarak alırlar ve mikroskopta incelendiğinde Flüoresans verirler. Ayrıca dokulardaki antijen ya da antikorları, serumdaki antikor varlıklarını Flüoresans veren boyalar kullanarak incelemek mümkündür. Doku, hücre ya da bakteriler Flüoresans verilen boyalarla boyanıp UV ışınları altında mikroskopta incelenirse ışık saçan parlak cisimcikler halinde görülür.

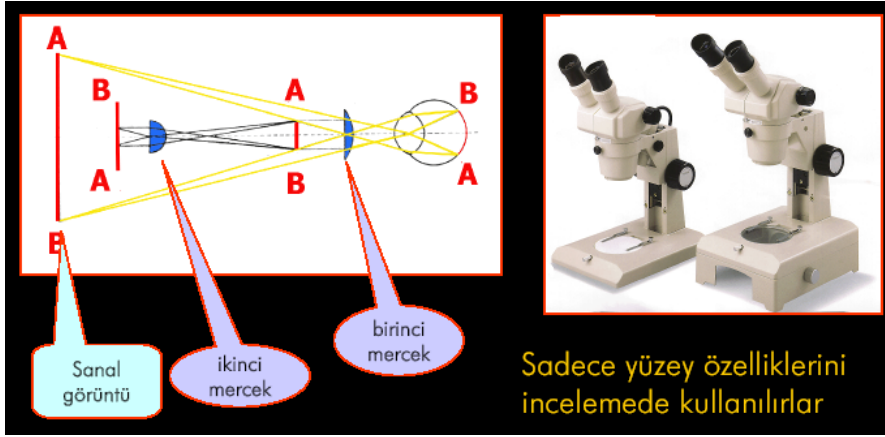
UV ışınları ile çalışırken gözü korumak için okülere ve UV ışını veren kaynağın önüne özel opak filtreler yerleştirilir.



Resim 1.9: Flüoresans mikroskobu

1.2.4. Stereoskopik Mikroskop

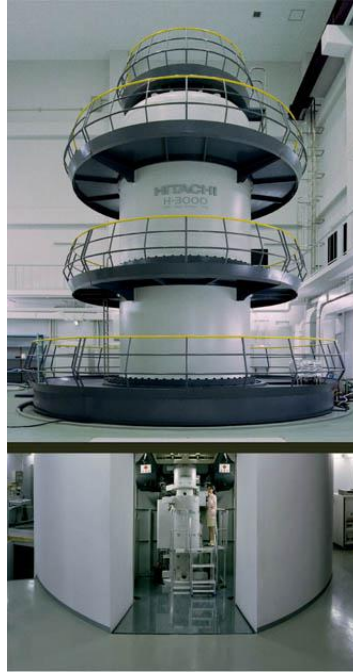
Diğer mikroskoplarda ışık objenin altından gelirken, bu mikroskoplarda ışık incelenecek nesnenin üzerinden yansıtılarak objektife gönderilir. İncelenecek nesnenin yüzey özelliklerini ortaya koyar ve görüntü üç boyutludur. Son dönemlerde bilgisayar destekli olarak mikro cerrahide ameliyathanelerde kullanılmaktadır.



Resim1.10: Stereoskopik mikroskoplara

1.2.5. Elektron Mikroskobu

Çapları 0,001 μm olan cisimleri ve mikroorganizmaları (virüsler vb.) görme olanağı sağlar. İncelenen materyalin kesit özelliklerini ortaya koyan **transmisyon elektron mikroskoplara**, yüzey özelliklerini ortaya koyan ve bunu üç boyutlu bir görüntü şeklinde sağlayan **scanning elektron mikroskoplara** olmak üzere iki farklı tipe ayrılmaktadır.



Resim 1.11: Elektron mikroskopları

➤ **Elektron mikroskobu ile ışık mikroskobu arasındaki farklar;**

- Elektron mikroskobunda ışık kaynağı yerine dalga boyu çok kısa olan elektronlar ve cam mercekler yerine de elektromanyetik kondansörler kullanılır.
- Işık mikroskoplarında ışığın farklı absorpsiyonu sonucu görüntü oluşurken, elektron mikroskobunda farklı sapmalar sonucu görüntü oluşur.

- Işıık mikroskopunda iki bine ulaşamayan büyütme gücüne karşılık, elektron mikroskoplarla yüz binlerle (500.000 kat) ifade edilen büyütme elde edilebilmektedir.

1.3. Mikroskop Kullanımı

Mikroskopta iyi bir görüntü elde edebilmek için mikroskopla çalışma tekniğini ve bu konuda dikkat edilmesi gereken noktaları bilmek gerekir.

➤ Mikroskop kullanırken dikkat edilecek noktalar

- Mikroskop kullanılmadığı durumlarda özel kılıfı ve kutusu içinde, tozsuz ortamda olmalıdır.
- Mikroskop kullanılacağı zaman kutusundan çıkarılır ya da kılıfı açılır.
- Mikroskopun yeri değiştirileceği zaman, ayak ve kol kısımlarından tutularak taşınmalıdır.
- Mikroskopun mercekleri her kullanımdan önce ve sonra ince mercek kağıdı veya temiz ve yumuşak bir bezle temizlenmelidir.
- Optik camlarda çatlak, kırık ve leke olmamalıdır.
- Kullanılan lam ve lameller ince, temiz ve lekesiz olmalıdır.
- Mikroskopun bölümleri hiçbir zaman ıslak bırakılmamalıdır.

➤ Mikroskop kullanma tekniği

- Işıık kaynağı devreye sokulur; uygun özellikte ve uzaklıkta olmalıdır.
- Diyafram sonuna kadar açılır. Kondansör hareketli ise vidasıyla oynayarak en yukarı düzeye kaldırılır.
- Tablanın kenarından bakılarak kondansöre yeterli düzeyde ışığın gelip gelmediği kontrol edilir. Işıık kaynağı ayarlanarak okülere yeterli ışığın gelmesi sağlanır. Mikroskop aynalı ise ayna ayarı yapılır.
- Mikroskop tablasına incelenecek preparat yerleştirilir. Preparat, tablaya daima üst yüzü objektife bakacak şekilde yerleştirilir.
- Kullanılacak objektif belirlenir ve revolver çevrilerek yuvaya oturması sağlanır. Objektifin yuvaya oturması önemlidir.
- Okülerden görüntü almaya çalışılır. Önce küçük büyütme objektifi (10x'luk) ile görüntü aranır. 10x'luk objektifle görüntü bulunduktan sonra bir büyük büyütme objektifi (40x'luk) revolverin yuvasına oturtulur. Tablanın ayar vidalarıyla oynanarak incelenecek kısım görüş alanı hizasına gelecek şekilde preparat hareket ettirilir.
- Makro vida ile incelenecek alan bulunur.
- Mikro vida ile görüntü netleştirilir ve incelemeye geçilir.

- İmmersiyon objektifi ile çalışılıyorsa preparat üzerine bir damla immersiyon yağı damlatılır. Preparat tablaya yerleştirilerek incelenecek kısım görüş alanı hizasına gelecek şekilde ayarlama yapılır. Tablanın kenarından bakarak makro vida yardımıyla immersiyon objektifinin yağa yavaşça dalması sağlanır. Makro vida çevrilerek merceğin preparata teması sağlanır. Makro vida ile görüntü alındıktan sonra mikro vida çevrilerek netlik ayarı yapılır. İmmersiyon objektifi ile çalışılırken, objektifin yağ damlasıyla teması kesilmemelidir. Aksi takdirde görüntü sağlanamaz.
- İnceleme sırasında göz okülerde, bir el daima mikro vidada, diğer el ise tablanın ayar vidalarında olacak şekilde hareket edilir.
- Tablanın ayar vidalarıyla oynanarak, uygun görüş sahaları bulunur ve her biri ayrı ayrı incelenir. İlk ayarlanan görüş alanının incelenmesiyle yetinilmemelidir.
- İmmersiyon objektif ile inceleme yapıldıktan sonra objektif, işin bitimini takiben bekletmeksizin ya ksilol ya da 7 kısım eter ve 3 kısım absölü etil alkol (%100'lük) den oluşan çözeltiye batırılmış yumuşak bir bezle temizlenmelidir.
- İnceleme bittikten sonra mikroskop usulüne uygun olarak temizlenir, kurulanır ve kılıfı geçirilerek kutusu içinde saklanır.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda mikroskobu tekniğine uygun kullanabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Mikroskobun fişini prize takınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Mikroskobu, kullanılacağı zaman kutusundan çıkarınız ya da kılıfını açınız,➤ Mikroskobun yerini değiştireceğiniz zaman, ayak ve kol kısımlarından tutarak taşıyınız,➤ Mikroskop merceklelerini, her kullanımdan önce ve sonra ince mercek kağıdı veya temiz ve yumuşak bir bezle temizleyiniz,➤ Optik camlarda çatlak, kırık ve leke olmamasına dikkat ediniz,➤ Kullanılan lam ve lamellerin ince, temiz ve lekesiz olmasına özen gösteriniz.
➤ Işık kaynağını açınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Işık düğmesini açınız,➤ Işığın uygun özellikte ve uzaklıkta olmasına dikkat ediniz,➤ Diyaframı sonuna kadar açınız.➤ Kondansör hareketli ise vidasıyla oynayarak en yukarı düzeye kaldırmınız,➤ Tablanın kenarından bakarak kondansöre yeterli düzeyde ışığın gelip gelmediğini kontrol ediniz,➤ Işık kaynağını ayarlayarak okülere yeterli ışığın gelmesini sağlayınız,➤ Mikroskop aynalı ise ayna ayarı yapınız.
➤ İncelenecek preparatı tablaya yerleştiriniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ İncelenecek preparatı, tablaya daima üst yüzü objektife bakacak şekilde yerleştiriniz,➤ Lami/preparatı tabla üzerinde şaryo ile sabitleyiniz.
➤ Görüntüyü bulmak için uygun objektifi revolvere yerleştiriniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ İnceleme yapılacak objektifi belirleyiniz,➤ Revolveri çevirerek objektifin yuvaya oturup oturmadığını kontrol ediniz.
➤ Makro vida ile incelenecek görüntü alanını bulunuz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Tablanın ayar vidalarıyla oynayarak incelenecek kısmı görüş alanı hizasına gelecek şekilde preparatı hareket ettiriniz,➤ Okülerden görüntü almaya çalışınız,➤ 10x'luk objektifle görüntü bulduktan sonra bir büyük büyütme objektifi (40x'lık) revolverin yuvasına oturtunuz.

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikro vida ile görüntü netlik ayarını yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikro vidayı çevirerek görüntüyü netleştiriniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tablanın ayar vidalarıyla oynayarak, farklı görüş sahaları bulunuz ve her birini ayrı ayrı inceleyiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskopta hiçbir zaman ilk ayarlanan görüş sahasını incelemeyle yetinmeyiniz, ➤ İnceleme yaparken göz okülerde, bir el daima mikro vidada, diğer el ise tablanın ayar vidalarında olacak şekilde hareket ediniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ İmmersiyon objektifi ile çalışılıyorsa preparat üzerine bir damla immersiyon yağı damlatınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tablanın kenarından bakarak makro vida yardımıyla immersiyon objektifinin yağa yavaşça dalmasını sağlayınız, ➤ Makro vidayı çevirerek merceğin preparata temasını sağlayınız, ➤ İmmersiyon objektifi ile çalışırken, objektifin yağ damlasıyla temasını kesmeyiniz. Aksi takdirde görüntü sağlayamayacağınızı unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ İnceleme bittikten sonra mikroskobu usulüne uygun olarak temizleyip, kurulaınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskop merceklerini, her kullanımdan sonra ince mercek kağıdı veya temiz ve yumuşak bir bezle temizleyiniz, ➤ Mikroskobun bölümlerini hiçbir zaman ıslak bırakmayınız, ➤ İmmersiyon objektifi ile inceleme yaptıktan sonra işin bitimini takiben bekletmeksizin özenle temizleyiniz, ➤ İmmersiyon yağını ya ksilol ya da 7 kısım eter ve 3 kısım absölü etil alkol (%100'lük) den oluşan çözeltiliye batırılmış yumuşak bir bezle temizleyiniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskobun kılıfını geçirerek kutusuna yerleştiriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskobun kılıfını geçirerek daima kutusu içinde muhafaza ediniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi, mikroskobun **optik kısmına** ait bir bölümdür?
A) Ayna
B) Objektif
C) Tabla
D) Kol
E) Mikro ve makro vidalar
2. Aşağıdakilerden hangisi, aynı görüntüyü aynı zamanda birden çok kişinin izlemesini sağlayan, daha çok eğitim amacıyla veya ortak çalışmalarda kullanılan mikroskoptur?
A) Demonstrasyon mikroskobu
B) Klasik ışık mikroskobu
C) Faz kontrast mikroskobu
D) Monoküler mikroskop
E) Binoküler mikroskop
3. Aşağıdakilerden hangisi, aynadan yansıyan ışınları, preparat üzerinde toplayarak yeterli derecede aydınlatmayı sağlayan mikroskop parçasıdır?
A) Tabla
B) Oküler
C) Kondansör
D) Diyafram
E) Objektif
4. Aşağıdakilerden hangisi, mikroskop kullanırken dikkat edilecek noktalardan biri değildir?
A) Makro vida ile incelenecek alan bulunur.
B) Mikro vida ile görüntü netleştirilir.
C) 10x'luk objektifle görüntü (saha) bulunur.
D) İmmersiyon objektifi ile çalışırken, objektifin yağ damlasıyla teması kesilmemelidir.
E) İncelenecek preparat, tablaya daima üst yüzü aynaya bakacak şekilde yerleştirilir.
5. Aşağıdakilerden hangisi, **immersiyon objektif** büyütmesidir?
A) 5x'lik
B) 10x'luk
C) 40x'lik
D) 60x'lik
E) 100x'lük

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgilerle mikroskopta, tekniğine uygun eritrosit sayımı yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Kanın oluşumu hakkında bilgi toplayınız.
- Eritrositlerin görevleri hakkında bilgi toplayınız.
- Eritrositlerin insan yaşamındaki önemini arkadaşlarınızla tartışınız.

2. ERİTROSİT SAYIMI

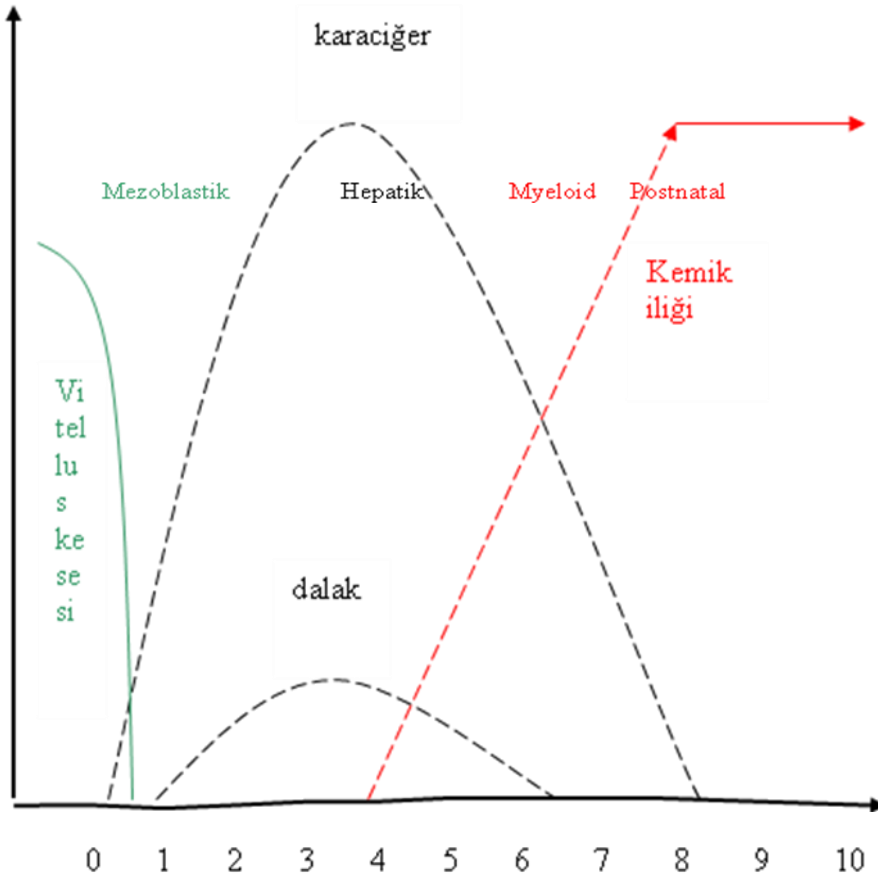
2.1. Kan Hücrelerinin Oluşumu/Hematopoez

Kemik iliğinde kan hücrelerinin oluşmasına **hematopoez** (hemopoez, hemopoiesis) denir. Kemik iliği, insan yaşamının devamlılık gösterebilmesi için en gerekli organlardan biridir. Tüm hücreler için gerekli olan oksijeni taşıyan **eritrositler**, enfeksiyonlardan koruyan **lökositler** ve kanamayı durduran **trombositler** kemik iliğinde üretilmektedir.

2.1.1. Fetal Hayatta Hematopoez

Fetal hayattaki kan oluşumu 3 bölümde incelenir.

- **Mezoblastik Dönem:** Kan üretimi, intrauterin (fetal) hayatta vitellus (göbek) kesesinde başlar. 2. haftada mezenşimal hücrelerin stem cell'e (kök hücre) dönüştüğü ve adacıklar halinde kan hücreleri topluluğunun geliştiği gözlenir.
- **Hepatik Dönem:** Hematopoez, gebeliğin 4-6. haftasında vitellus kesesinde gerilerken bu görevi karaciğer üstlenir. 12. haftada dalakta kan üretimi başlar.
- **Myeloid Dönem:** İntrauterin hayatın 20. haftasında kemik iliğinde kan üretimi başlar. Vitellus kesesinden göçen stem cell'ler kemik iliğinde kan üretimine başlar. Kemiklerde gelişme ilerledikçe iliğin alanı da genişler.



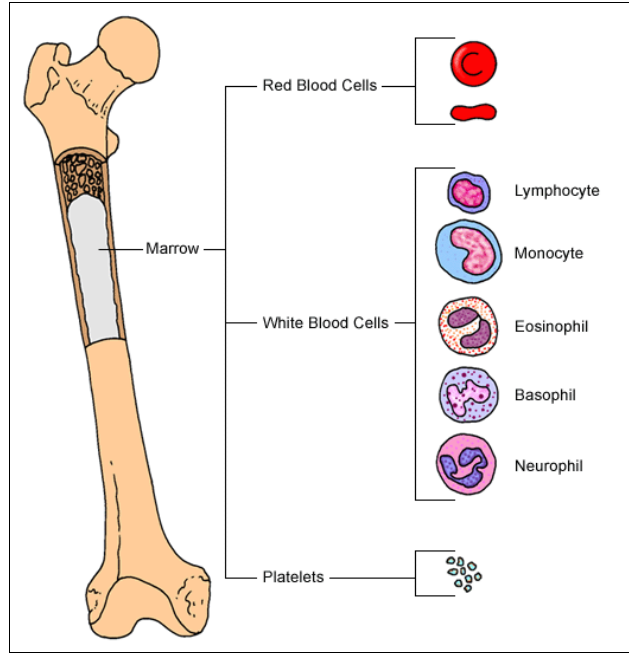
Şekil 2.1: Fetal hayatta hematopoez

2.1.2. Postnatal Dönemde Hematopoez

Doğumdan sonra kan üretimi kemik iliğinde devam eder. Kemik iliğinde; eritrosit, lökosit ve trombositlerin ana hücreleri vardır. Daha sonra olgunlaşarak periferik kana geçer.

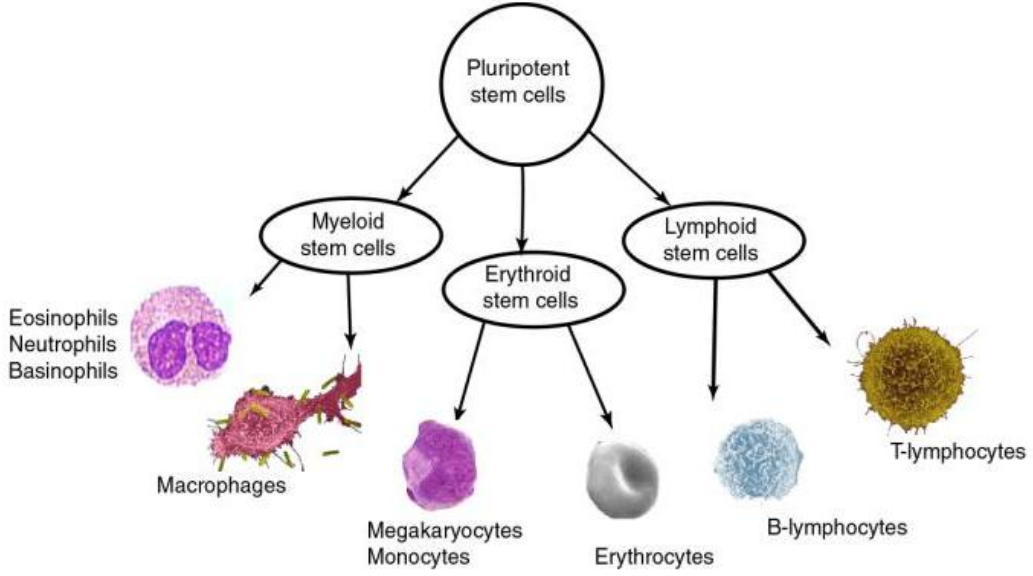
Fetal hayatın 5. ayından itibaren kemik iliğindeki kan üretimi bütün kemiklerdeki kan yapıcı kırmızı ilik ile dolu olduğu halde erişkinlerde sadece; sternum, costa, vertebra, kafatası kemikleri, pelvis ve uzun kemiklerin proksimal uçlarında yapılır.

Normal bir kişide 1500-2000 ml. bulunan kemik iliğinin yarısı yağ dokusu olup hematopoetik aktivite göstermez. Geri kalan yarısı kırmızı ilik olup kan hücrelerinin yapımında aktif rol oynar. Ancak patolojik durumlarda sarı ilik kırmızı ilik haline dönüşerek kan hücreleri yapımına yardım eder.



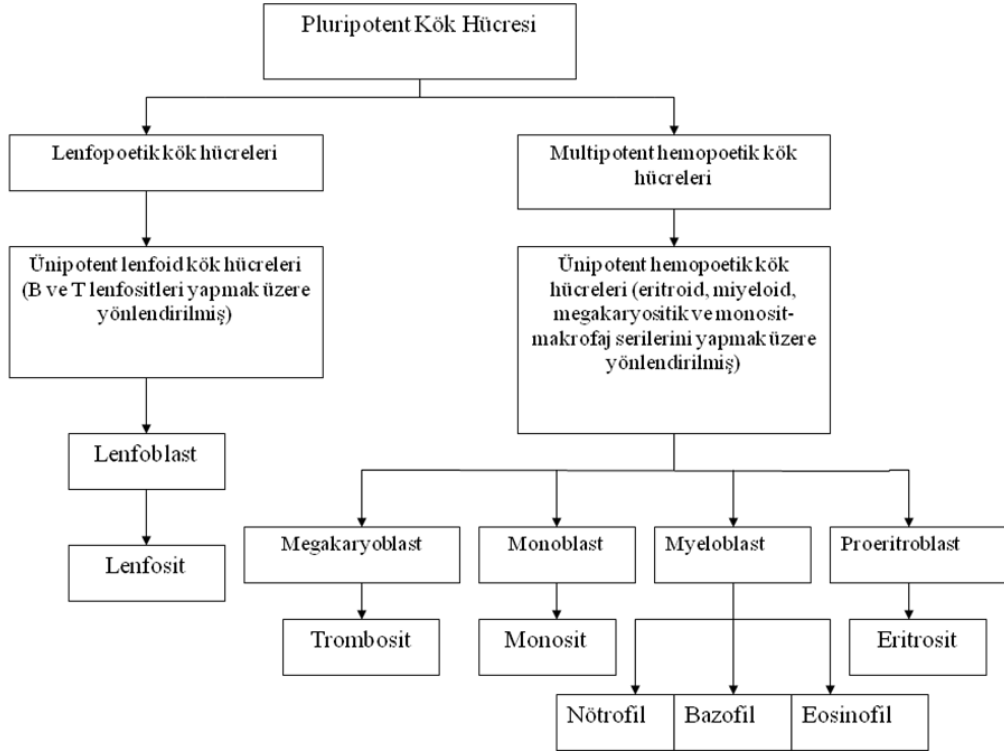
Şekil 2.2:Kemik iliğinde kan hücrelerinin oluşumu

- Bugün bütün kan hücrelerinin kemik iliğinde bulunan **ilkel pluripotent** bir kök hücrelerinden (stem cell) oluştuğu kabul edilmektedir. Yaşam boyu kendi kendini yenileyebilme (yeni bir pluripotent kök hücre yaratabilme) yeteneğine sahip olan ilkel pluripotent kök hücresi farklılaşarak bir taraftan **lenfoid** kök hücrelerini, diğer taraftan da **multipotent hemopoetik hücreleri** meydana getirir.
- **Lenfoid kök hücrelerinin** farklılaşması ile **B ve T lenfositleri** yapmak üzere yönlendirilmiş ünipotent lenfoid kök hücreleri oluşur.
- **Multipotent hemopoetik kök hücreleri** de farklılaşarak **eritroid, granülositik, monositik ve megakaryositik** hücreleri oluşturmak üzere yönlendirilmiş ünipotent kök hücrelerini meydana getirir.



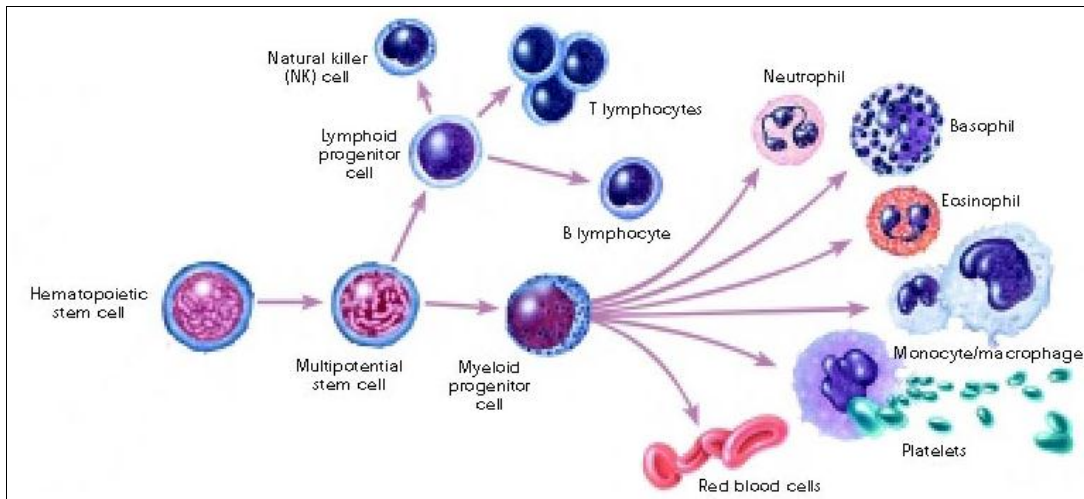
Şekil 2.3:Stem cell'den kan hücrelerinin oluşumu

- Kendi kendilerini yenileyebilme yetenekleri sınırlı olan ünipotent kök hücreleri de her hücre seviyesinin morfolojik olarak birbirinden ayırt edilebilen genç ana hücrelerine, **proeritroblast**, **myeloblast**, **monoblast**, **megakaryoblast** ve **lenfoblast**'a dönüşür.
- Blastik hücreler kendi kendini yenileyebilme yeteneğine sahip değildir. Bu hücrelerin belli aşamalardan geçerek gelişmeleri sonucu olgun kan hücreleri **eritrosit**, **granülositler**, **monosit**, **lenfosit** ve **trombosit** meydana gelir.



Şema 2.1: Stem cell'den kan hücrelerinin oluşumu

Her serinin kemik iliğinde morfolojik olarak tanınabilen ve birbirinden ayırt edilebilen genç ana hücrelerine **blast** adı verilir. (proeritroblast — eritrosit , myeloblast — granülositler , lenfoblast — lenfosit , megakaryoblast — trombosit)



Resim 2.1: Stem cellden kan hücrelerinin oluşumu

Genç blastik hücrelerin bazı ortak özellikleri vardır. Bunlar:

- Blastik hücreler, serilerinin olgun hücrelerine göre daha büyüktür.
- Stoplazma ile çekirdek arasındaki oran çekirdek lehine artmıştır.
- Çekirdek kromatini ince, retiküler yapıdadır.
- Çekirdekte bir ya da birden fazla sayıda nükleol bulunur.
- Stoplazma bazofil boyanır ve içinde granülasyon yoktur.

Kan hücreleri 3 evreden geçerek gelişmelerini tamamlarlar.

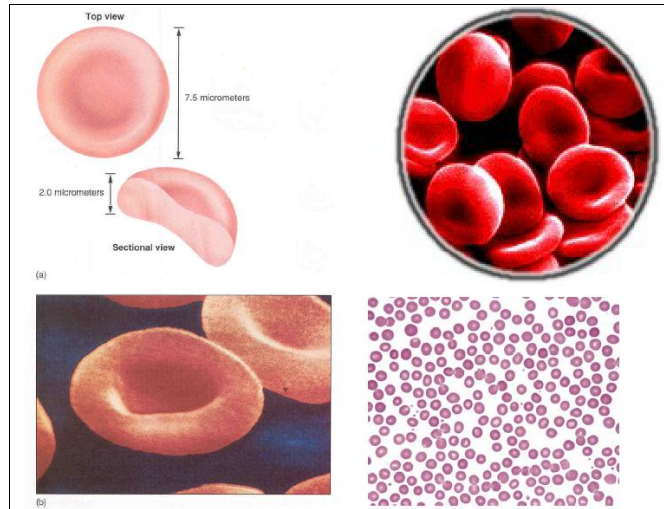
- **Çoğalma:** Mitoz bölünme ile olur.
- **Olgunlaşma:** Bu evrede hücre küçülür, stoplazma bazofilisini yitirir, çekirdek kromatin yapısı kabalaşır, nükleoller kaybolur, çekirdek / stoplazma oranı küçülür.
- **Olgunlaşmış hücrelerin kemik iliğinden dolaşıma verilmesi:** Kemik iliğinde olgunlaşan kan hücreleri kan dolaşımına geçerek gelişimini tamamlar.

2.2. Eritrositler

Eritrositler, oksijen ve karbondioksit taşımakla yükümlü olup yaşam için en gerekli hücrelerdir. Eritrositler erişkinlerin kemik iliğinden yapılır. Toplam vücut ağırlığının %3-6 kadarını oluşturan kemik iliğinin yaklaşık yarısı eritrosit yapımında görev yapan eritropoietik hücrelerdir.

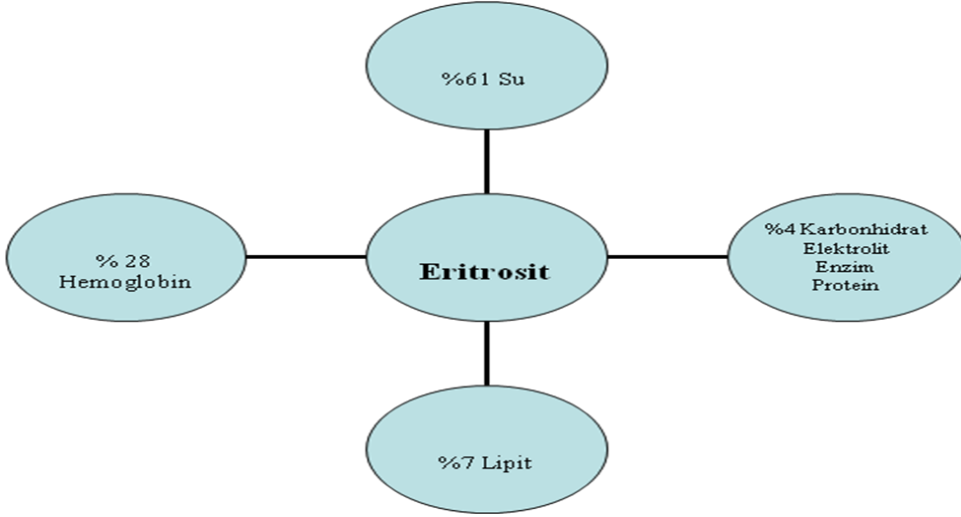
2.2.1. Eritrosit Morfolojisi ve Fizyolojisi

- **Eritrosit morfolojisi**
 - 7-8 mikron (μ) çapında, nükleusu olmayan, disk şeklinde, her iki yüzü konkav (iç bükey) hücrelerdir.
 - Ortalama kalınlığı 2 μ , ortalama hacmi ise 90 μ^3 'tür.



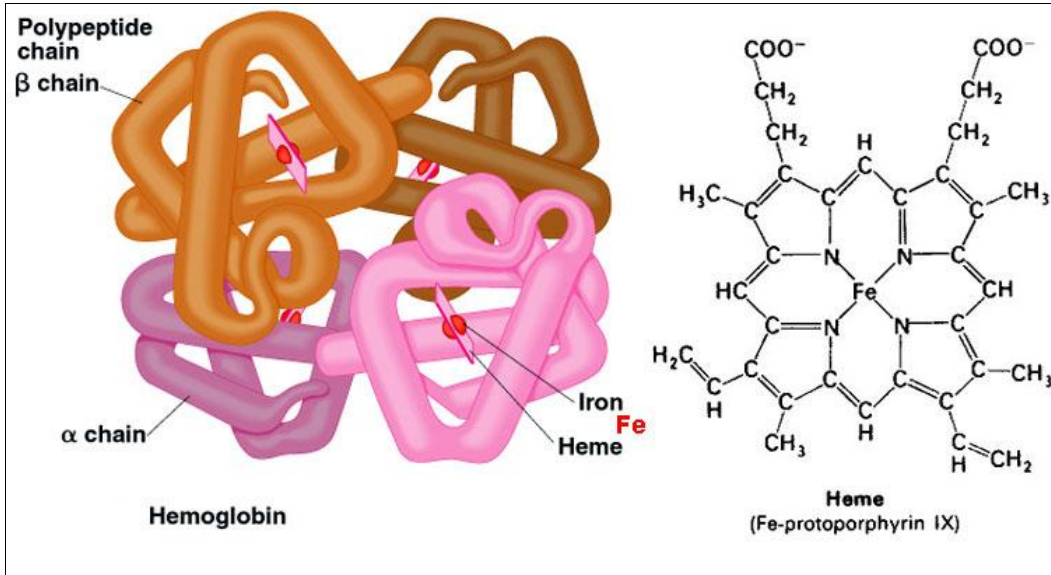
Resim 2.2: Eritrosit

- Eritrositlerin %61'i su, %28'i hemoglobin, %7'si lipit, %4'ü ise karbonhidrat, elektrolit, enzim ve proteinden oluşur. Eritrositler; eritrosit zarı, stroma, hemoglobin, proteinler ve enzimlerden meydana gelir.



Şekil 2.4: Eritrositin yapısı

- Eritrosit zarı, protein ve lipitlerden yapılmış özel yapıya sahiptir. Protein kısmı, su ve elektrolitleri geçirir. Lipit kısmı ise seçici geçirgen olup pozitif (+) yüklüdür. Eritrositler, negatif (-) yüklülerle reaksiyona girerler.
- Stroma, hemoglobin ve kan grubu antijenlerini ihtiva eder.



Resim 2.3: Hemoglobin

➤ Eritrosit fizyolojisi

Eritrositlerin en önemli görevi, oksijen ve karbondioksit taşımaktır. Pulmoner kapiller içinde bulunan eritrositler, alveolo-pulmoner kapiller aracılığı ile oksijeni eritrosit içine alır. Karbondioksiti ise alveollere geri verir. Eritrositlerin pulmoner kapillerde kalış süresi ortalama 1.78 saniyedir.

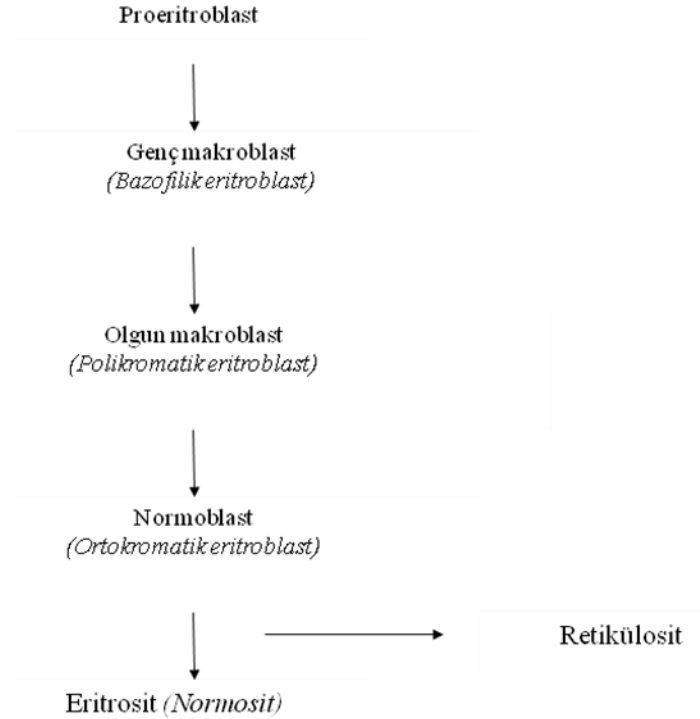
Olgun eritrositlerin periferik kanda yaşama süresi 120 ± 20 gündür. Tüm ömrü boyunca oksijen taşımak amacıyla 255 km. dolaşmaktadır.

2.2.2. Eritrositlerin Görevleri

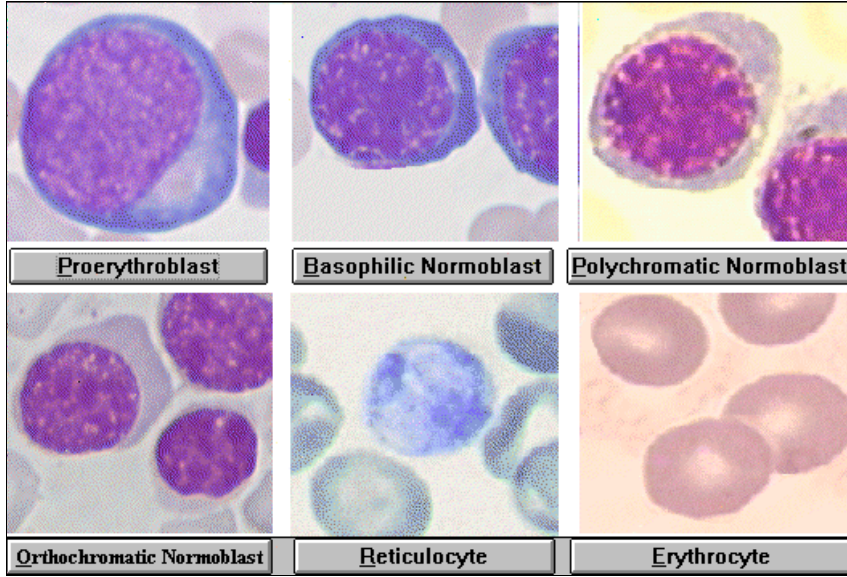
- Yapısındaki hemoglobin sayesinde oksijen ve karbondioksit taşımak,
- Aerobik ve anaerobik glikoliz yoluyla enerji temin etmek,
- Asit-baz dengesini düzenlemektir.

2.2.3. Eritrositlerin Oluşum Safhaları/Eritropoez

Eritropoez, eritrositlerin olgunlaşmasını içeren bir fazdır.

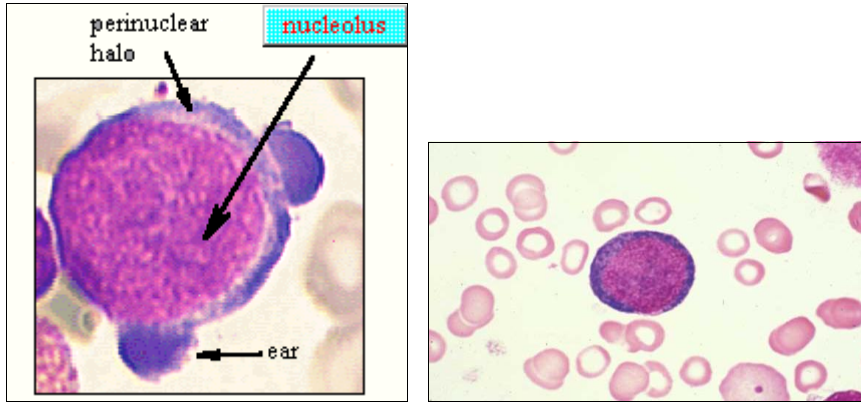


Sema 2.2: Eritrositlerin oluşum safhaları



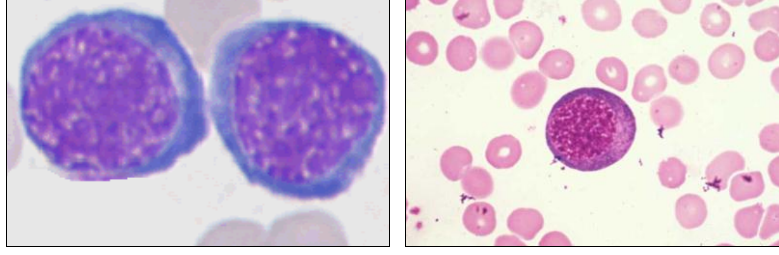
Resim 2.4: Eritrositlerin oluşum safhaları

- **Proeritroblast:** Kemik iliğinde meydana gelen eritroid serinin ana hücresi, proeritroblast (pronormoblast) tır. Proeritroblastın apı 14-18 μ kadardır, çekirdeği oldukça büyüktür, ince kromatin yapısına sahip ve kırmızı-mor renktedir, stoplazma koyu bazofilik boyanır ve çekirdeğin etrafını darca saran bir band gibidir.



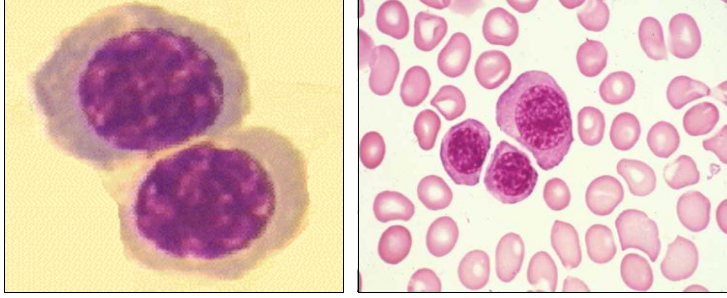
Resim 2.5: Proeritroblast

- **Genç makroblast:** Proeritroblasttan oluşan genç makroblast (bazofilik normoblast) daha küçük çaplıdır (10-15 μ), kromatin yapısı kabalaşmaya başlamıştır, ekirdeik yoktur.



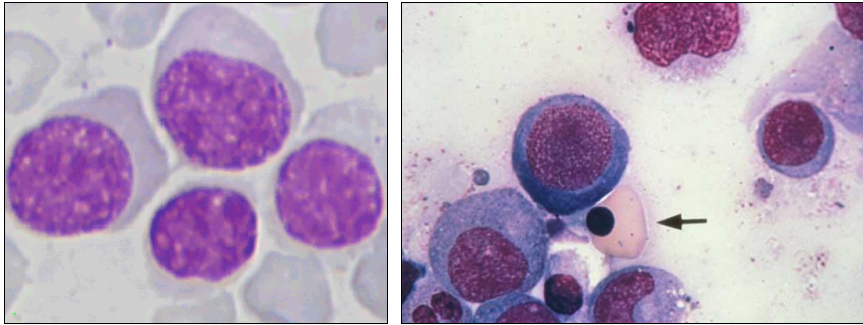
Resim 2.6: Genç makroblast

- **Olgun makroblast:** Genç makroblasttan oluşan olgun makroblast (polikromatik normoblast) 8-14 μ çapındadır. Hücrede hemoglobin yapımı başlamıştır. Buna bağlı olarak stoplazmanın rengi mavi-griden pembe-gri tonlara değişir. Çekirdek küçülmüştür, kromatin yapısı kaba ve kümelidir.



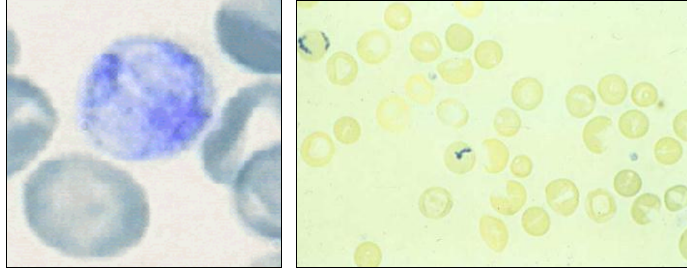
Resim 2.7: Olgun makroblast

- **Normoblast:** Olgun makroblasttan oluşan normoblast (ortokromatik normoblast) 7-10 μ çapındadır, rengi pembeleşmiştir. Stoplazma oranı artmıştır. Çekirdek homojen koyu mavi kromatin kitlesi halinde görülür. Daha sonra çekirdek dışarı atılarak retikülosit meydana gelir.



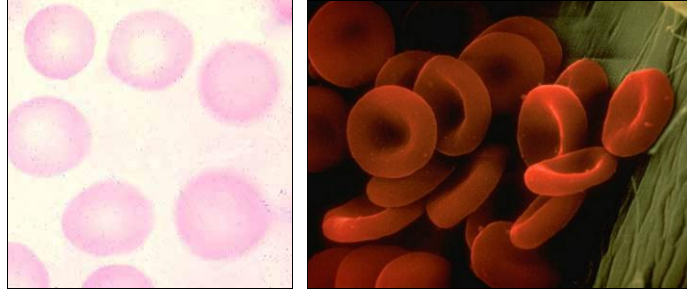
Resim 2.8: Normoblast

- **Retikülosit:** Normoblasttan oluşan retikülosit; genellikle olgun eritrositten daha büyüktür, pembe-gri renge boyanır, çekirdeği yoktur. Ancak retikülosit boyaları ile hücre içinde ince bazofilik boyanan RNA artıklarına rastlanır.



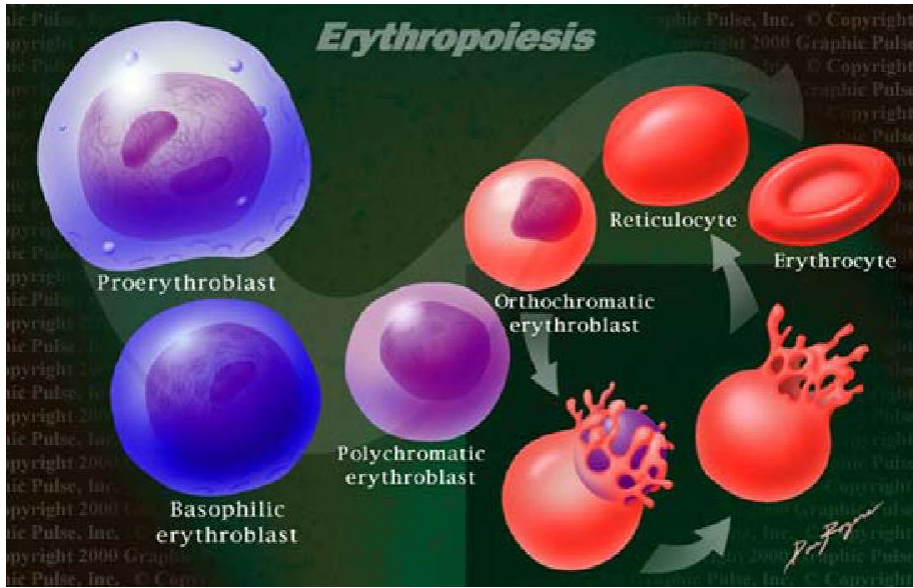
Resim 2.9: Retikülosit

- **Normosit:** Son olarak retikülositten oluşan normosit (eritrosit) ortalama 6,5-7,5 μ çapındadır, stoplazması pembe renktedir, çekirdeği yoktur, yuvarlak bikonkav bir hücredir. Boyandığında çökük olan orta kısmı çevreye göre daha açık renktedir ki bu, merkezi solukluk olarak ifade edilir.



Resim 2.10: Eritrosit

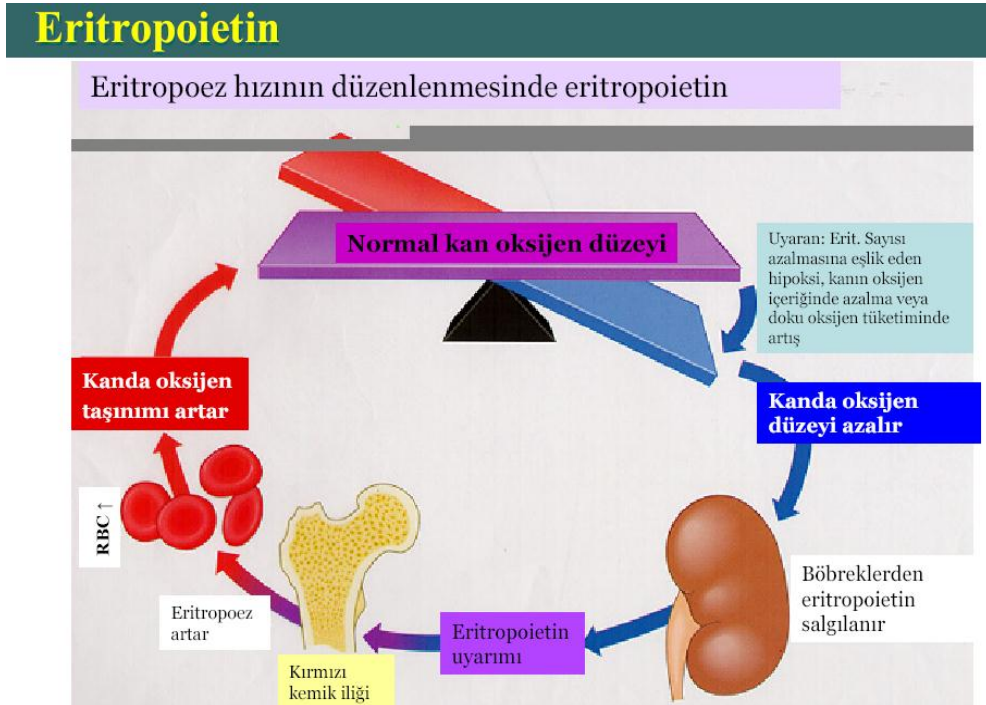
- Kana geçen retikülositler olgun eritrositlere dönüşür. Normal kanda yalnız olgun eritrositler bulunur.



Resim 2.11: Eritropoez

2.2.3.1. Eritropoeze Etki Eden Maddeler

- Eritrositlerin oluşumunda etkili olan hormon, %85-90'ı böbreklerden, %10-15'i ise ekstra renal olarak karaciğerden salgılanan **eritropoetindir**. Normalde eritropoetin az miktarda devamlı olarak yapılır. Ancak dokulara gelen oksijen ihtiyacı karşılayamayacak miktarda ise (hipoksi durumlarında) eritropoetin fazla miktarda salgılanır. Eritropoetin yapımı, dokulardaki O₂ basıncı aracılığıyla kontrol edilir.



Şekil 2.5: Eritropoez hızının düzenlenmesinde eritropoietinin rolü

- Eritropoetin dışında eritrosit yapımı için gerekli olan maddeler demir (Fe), vitamin B₁₂ (kobalamin) ve folik asittir (B₁₀, B₁₁). Bunların yanında B₆ (pidoksal), B₂ (riboflavin), pantotenik asit, nikotinik asit, C vitamini (askorbik asit), E vitamini, bakır, çinko, kobalt gibi maddelere de ihtiyaç vardır.
- Eritrositlerin protein ihtiyacı ise vücuttaki aminoasitlerden sağlanır.

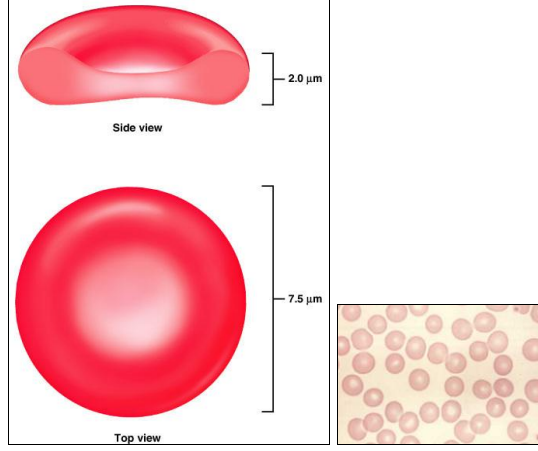
2.2.4. Eritrositlerin Yıkımı

- Olgun eritrositlerin periferik kanda yaşama süresi 120±20 gündür. Ortalama yaşam süreleri sonunda eritrositlerdeki metabolik sistemler zamanla daha az aktif hale gelir ve yaşamsal olaylar zayıfladığı için hücre daha kırılğan (frajil) olmaya başlar.
- Eritrositlerin **120** günlük yaşamları sonunda fragilitesi çok arttığında, hücre zarları yırtılır ve serbest hale geçen hemoglobin (Hb) bütün vücutta bulunan doku makrofajları tarafından fagosite edilir.

- Yaşlandıktan sonra günde ortalama %1'i sirkülasyonu terk ederek kemik iliğinde ve Retikulo Endotelial Sistemde (RES) yıkıma uğrar.

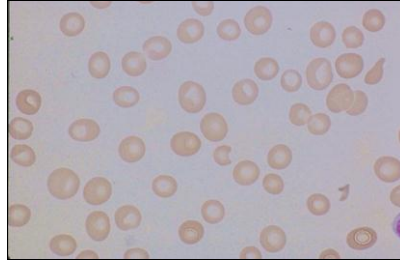
2.2.5. Eritrositlerdeki Morfolojik Değişiklikler

- Eritrositler çaplarının uzunluğuna göre şu şekilde isimlendirilir:
 - **Normosit:** Çapları ortalama 7.5 μm olan eritrositlerdir.



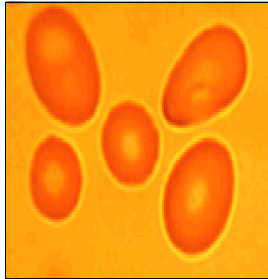
Resim 2.12: Normosit

- **Mikrosit:** Çapları 6 mikronun altında olan eritrositlerdir.



Resim 2.13: Mikrosit

- **Makrosit:** Çapları 9 mikronun üzerinde olan eritrositlerdir.

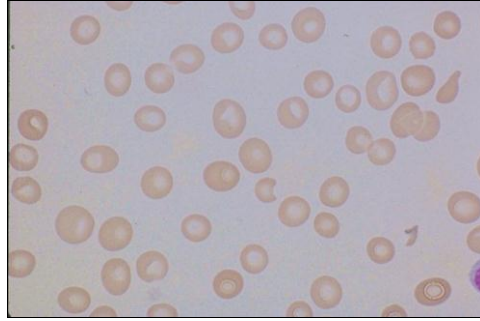


Resim 2.14: Makrosit

- **Anizositoz:** Birbirinden oldukça farklı çapta eritrositlerin bulunmasıdır.
- **Poikilositoz:** Şekilleri farklı eritrositlerin bulunmasıdır.

➤ **Eritrositler yapılarındaki hemoglobin miktarına göre şu şekilde isimlendirilirler:**

- **Normokromi:** Eritrositlerdeki hemoglobinin normal olmasıdır.
- **Hipokromi:** Eritrositlerdeki hemoglobin miktarının düşük olmasıdır.

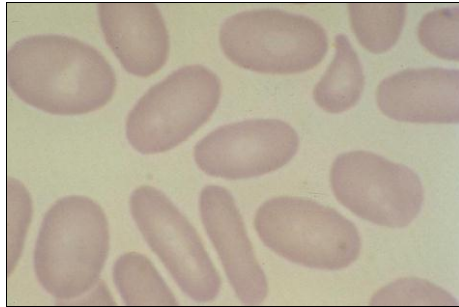


Resim 2.15: Hipokromi ve mikrosit

- **Hiperkromi:** Eritrositlerdeki hemoglobin miktarının fazla olmasıdır.
- **Anizokromi:** Eritrositlerdeki hemoglobin miktarının eşit olmamasıdır.

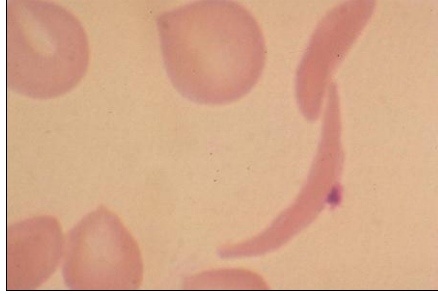
➤ **Eritrositler morfolojik değişikliklere göre şu şekilde isimlendirilirler:**

- **Polikromazi:** Eritrositlerin az çok bazık boya almasıdır.
- **Eritroblastoz:** Kanda devamlı ve çok miktarda çekirdekli kırmızı hücrelerin (eritroblast) bulunmasıdır.
- **Elipsoid:** Elipse benzeyen eritrositlerdir.



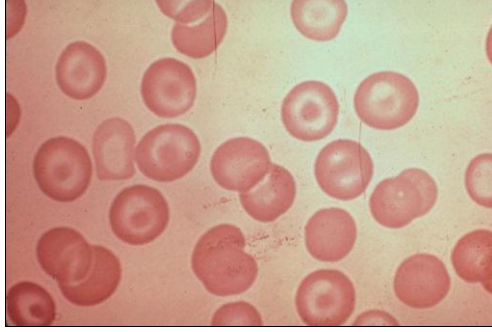
Resim 2.16: Elipsoid

- **Orak hücre:** Yarım ay veya orağa benzeyen eritrositlerdir.



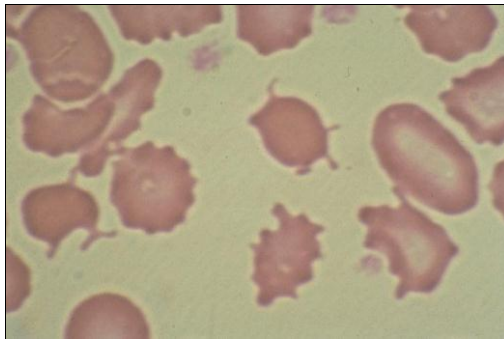
Resim 2.17: Orak hücre

- **Rozet şekilli eritrositler:** Rozet gibi görünenlerdir.
- **Target hücre:** Hedef tahtasına benzeyen, hemoglobin dağılımının bozulduğu eritrositlerdir.



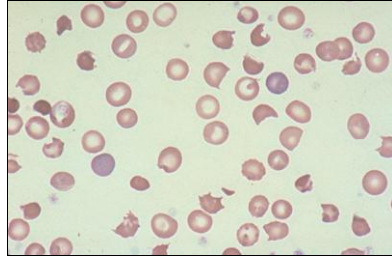
Resim 2.18: Target hücresi

- **Burr hücresi:** Aynı boyda çıkıntılara sahip (tavuk ayağına benzer) hücrelerdir.



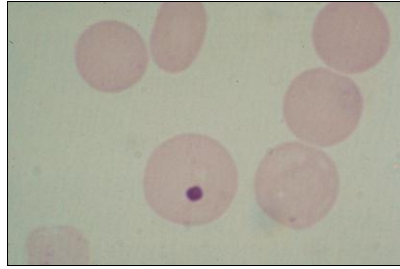
Resim 2.19: Burr hücresi

- **Cabot halkası:** Eritrositte yüzük, sekiz şeklinde kırmızı-pembe renkte boyanan oluşumlardır.
- **Heinz cisimciği:** Eritrositteki enzim eksiklikleri nedeniyle denatüre hemoglobinin çökmesinden ileri gelen taneciklerdir.



Resim 2.20: Heinz cisimciği

- **Howell-Jolly cisimciği:** Eritrositlerde 1-3 mikron büyüklüğünde, yuvarlak RNA artıklarından oluşan inklüzyonlardır.



Resim 2.21: Howell-Jolly cisimciği

- **Siderositik granüller:** Eritrositlerde demir ihtiva eden küçük partiküllerdir.
- **Sferosit:** Küre şeklinde, çapları 4-6 mikron, merkezi solukluğu kaybolmuş, normal eritrosite göre daha kalın hücredir.



Resim 2.22: Sferosit

2.3. Eritrosit Sayımı

2.3.1. Amacı

Eritrositleri saymaktır. Eritrosit sayımı, bir milimetreküp periferik kandaki eritrositlerin sayısının bulunmasıdır. Anemi durumlarında, aneminin tipinin tayin edilmesi ve eritrosit indekslerinin hesaplanmasında yararlıdır. Günümüzde, eritrosit sayımı kan sayım cihazları ile yapılmaktadır.

2.3.2. Eritrosit Sayımında Kullanılan Malzemeler

- Alkollü pamuk
- Lanset ya da enjektör
- Eritrosit pipeti ve hortumu
- Sayım kamarası (Thoma veya Bright-Line sayım lamı)
- Eritrosit sayım solüsyonu
- Mikroskop
- **Eritrosit pipeti:** Pipet uzunluğu yaklaşık 12 cm dir. Üst kısma yakın bir yerde içinde **kırmızı boncuğu** olan bir hazne bulunur. Pipet üzerinde, çekilen kan miktarını göstermek amacıyla **0,5 ve 1 çizgileri** vardır. Haznenin üst kısmında dilüsyon hacmini gösteren **101 çizgisi** bulunur.

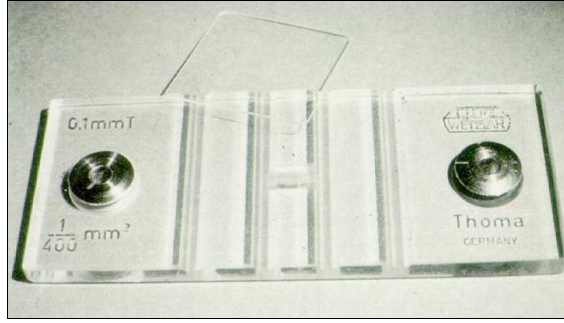
Eritrosit pipeti, trombosit sayımında da kullanılır.



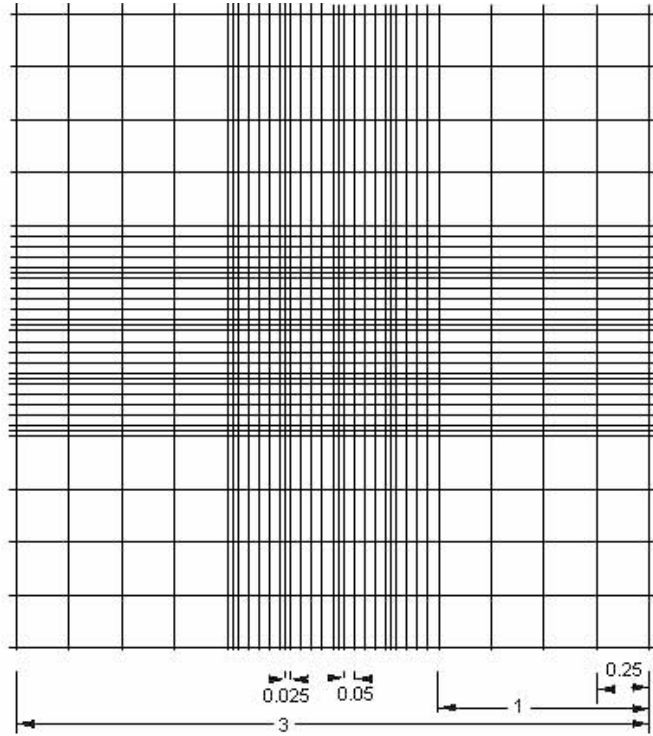
Resim 2.23: Eritrosit pipeti ve hortumu

- **Sayım kamarası:** Kan sayım lamı, hemositometre de denilen sayım kamaralarının Thoma, Bright-Line ve Neubauer lamı gibi değişik tipleri vardır.

Thoma sayım lamı; kenarları 1mm ve yüksekliği 0,1 mm olan bir odacıktan oluşur. Bu odacığın hacmi $1 \times 1 \times 0,1 \text{ mm}^3$, yani $0,1 \text{ mm}^3$ tür. Kenarları 1mm olan büyük kare enine ve boyuna üçlü çizgilerle 16 kareye bölünmüştür.(Üçlü çizgiler arasındaki hücreler sayılmaz.) Bu karelerden her birinin kenarı 0,2 mm.dir. Bu kareler de tekrar 16 küçük kareye ayrılmıştır. Bu karelerin her bir kenarı da 0,05 mm dir. En küçük karenin hacmi $0,05 \times 0,05 \times 0,1 \text{ mm}^3$, yani $0,00025 \text{ mm}^3$ tür.

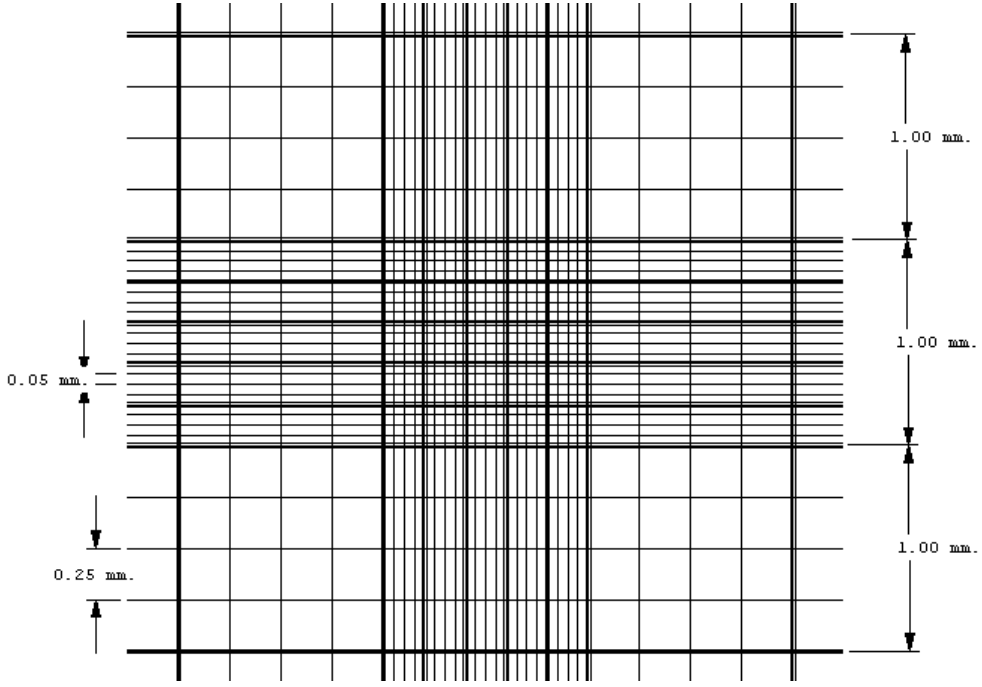


Resim 2.24: Thoma Lamı



Şekil 2.6: Thoma Lamının mikroskopta görünümü

- **Bright-Line ya da Neubauer lamı:** Ortada 25 küçük kare vardır. Bu karelerin her birinin kenarı 0,2 mm ve yüksekliği 0,1 mm' dir. Bir küçük karenin hacmi $0,2 \times 0,2 \times 0,1 \text{ mm}^3$, yani $0,004 \text{ mm}^3$ tür.



Şekil 2.7: Bright-Line lamının mikroskopta görünümü

- **Eritrosit sayım solüsyonu:** Kan hücrelerinin sayımında kullanılan solüsyonların izotonik olması, yani farklı iki eriyiğin osmotik basınçlarının eşit olması ve koagülasyonu önlemesi gerekir. Eritrosit sayımında bu özelliklere sahip şu çözeltilerden birisi kullanılır.
 - %0,9'luk serum fizyolojik (SF)
9 gram NaCl_2 bir miktar distile suda eritilerek 1000 ml'ye tamamlanır.
 - Hayem solüsyonu
Sodyum sülfat 2.5 gram
Sodyum klorür 0,5 gram
Civa klorür 0,25 gram tartılır ve distile suyla 100ml.ye tamamlanır.

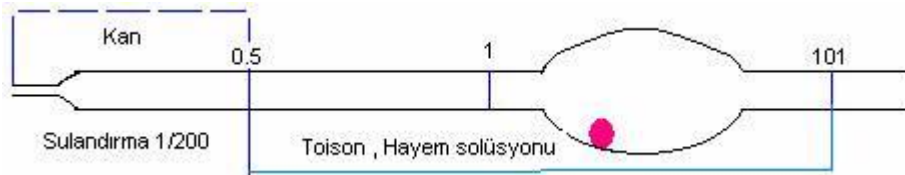
Gower solüsyonu
Sodyum sülfat 12.5 gram
Asetik asit 33.3 ml
Distile suyla 200 ml'ye tamamlanır.
 - Toissin solüsyonu
Sodyum sülfat 8 gram
Sodyum klorür 1 gram
Metil violet 0,025 gram
Gliserin neutre 30 ml
Distile su 160 ml ile hazırlanır.

Sayım solüsyonları koyu renkli cam şişelere konup üzerine solüsyonun adı, hazırlanış tarihi yazılarak uygun ortamlarda saklanır.

2.3.3. Eritrosit Sayım Tekniği

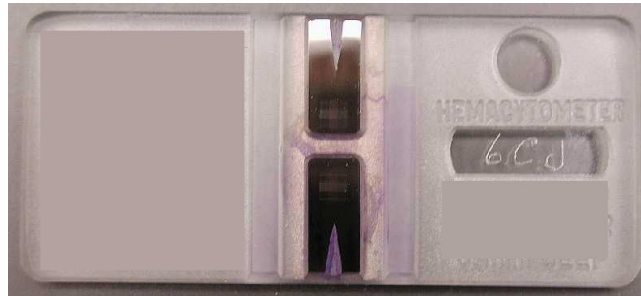
Eritrosit sayımında antikoagülanlı venöz kan ya da kapiller kan kullanılır.

- Kapiller kan alma tekniğine uygun olarak parmak ucu alkollü pamukla temizlenir. Kuru pamukla kurulanır.
- Steril lansetle parmak ucu delinir.
- Çıkan ilk kan damlası kuru pamukla silinir.
- Eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekilir.
- Pipetin dış kısmına bulaşan kan silinir.
- Pipetin 101 işaretine kadar eritrosit sayım solüsyonu çekilir. Kan ve sayım solüsyonu çekerken hava kabarcığı olmamasına dikkat edilir.



Şekil 2.8: Eritrosit pipetine çekilen kan ve sayım solüsyonu oranları

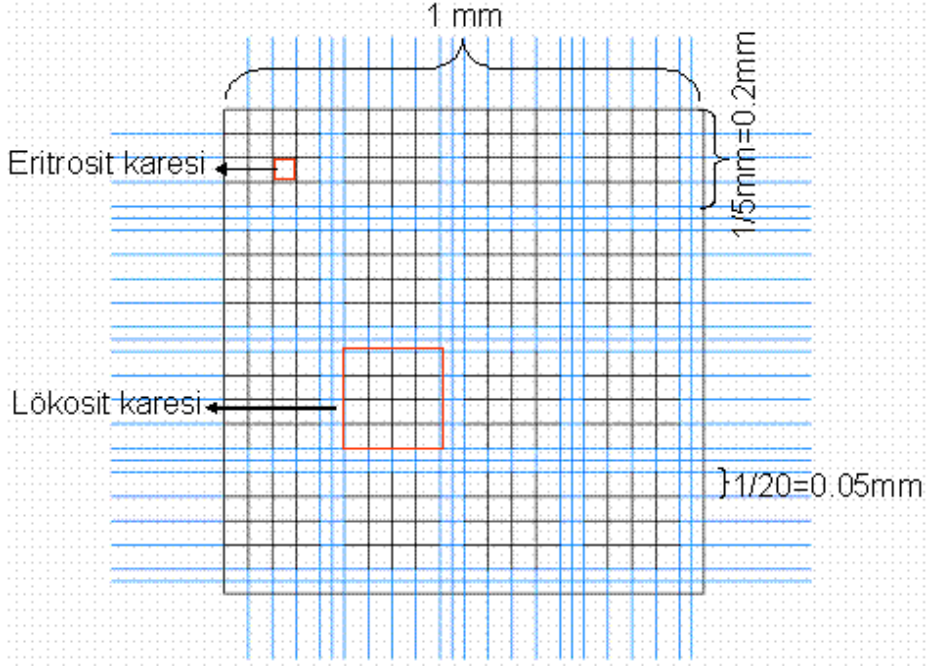
- Pipetin her iki ucu kapatılarak 30 saniye yavaşça sallanır. Eğer otomatik sallayıcı var ise 3 dakika sallamaya bırakılır. Bu sırada pipetin haznesindeki boncuk serbestçe hareket etmelidir.
- Sayım kamarasının üzerine lamel kapatılır.
- Pipetteki karışımın 2-3 damlası dışarı atılır. Sonra sayım kamarasının sayma odacıklarına (lam ile lamel arasındaki boşluğa), dışarı taşmayacak şekilde karışım doldurulur. Hava kabarcığı olmamasına dikkat edilir.



Resim 2.25: Thoma lamı ile lamel arasındaki boşluğa konan karışım

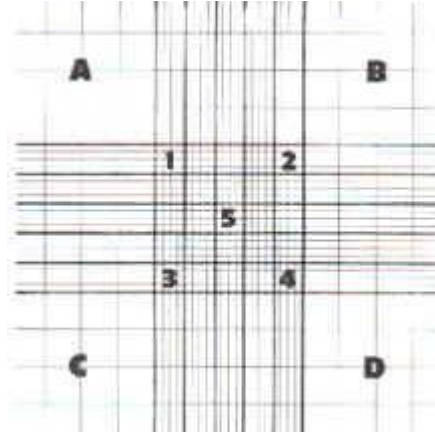
- Karışımın sayım kamarasına dağılımı için birkaç dakika beklenir.
- Sayım kamarası mikroskopun tablasına yerleştirilir.

- Mikroskopta önce küçük büyütme (10x'luk) ile saha bulunur.Revolver çevrilerek 10'luk objektif sayım kamarasının ortasındaki karenin üzerine getirilir.Şaryo ve makro vida yavaş yavaş çevrilerek sayım yapılacak alan bulunur.
- 10'luk objektifle saha bulunduktan sonra revolver çevrilerek 40'luk objektif sayım kamarasının ortasındaki karenin üzerine getirilir. 40x'luk objektifle sayıma başlanır. Mikro vida yavaş çevrilerek sayım yapılacak alanda görüntü netleştirilir.



Şekil 2.9: Mikroskopta thoma lamında eritrosit sayımı yapılacak kareler

- Sayım prensibine uyarak tüm alandaki hücrelerin sayımı yapılır.
 - Sayıma sol en üst kareden başlanır. Sağa doğru karelerdeki hücreler sayılır. Sonra alt sağ kareye geçilerek sola doğru, sonra sol kareden alt sol kareye geçilir ve sağa doğru sayıma devam edilir.
 - Sayım kamarasındaki sol ve üst çizgilere isabet eden hücreler sayılır. Alt ve sağ çizgilere isabet eden hücreler sayılmaz.
- 40x'luk objektifle içlerinde 16'şar küçük kare bulunan birbirinden uzak 5 büyük karedeki eritrositler sayılır. Karenin içindeki, sol ve üst kenardaki eritrositler sayıma dahil edilir; böylece 80 küçük karedeki eritrositler sayılmış olur.



Şekil 2.9: Mikroskopta Bright-Line lamında eritrosit sayımı yapılacak 5 büyük kare (80 küçük kare)

2.3.4. Eritrosit Sayım Sonucunun Hesaplanması

1 mm³ kandaki eritrosit sayısını bulmak için hacim ve sulandırma(dilüsyon) katsayısını hesaplamak gerekir.

- **Sulandırma katsayısı:** Eritrosit pipetinde kan 0,5 çizgisine kadar çekilir ve 101 çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanırsa 200 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 200'dür. Eğer kan 1 çizgisine kadar çekilir ve 101 çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanırsa 100 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 100'dür.
- **Hacim katsayısı:** 5 büyük karedeki (80 küçük kare) eritrosit sayımı yapıldığı için 5 büyük karenin hacmi hesaplanır.
 $V = a^2 \cdot h$
 $V = 0,2 \times 0,2 \times 0,1$
 $V = 0,004 \text{ mm}^3$

1 büyük karenin hacmi 0,004 mm³'tür. 5 büyük karenin hacmi ise 0,004 x5=0,02 mm³'tür. 1 mm³'deki eritrosit sayısını bulmak için :

$$\begin{aligned} 0,02 \cdot X &= 1 \\ X &= 1 : 0,02 \\ X &= 50 \text{ (Hacim katsayısı)} \end{aligned}$$

80 küçük karenin hacmi 0.02 mm³ tür. Bir mm³ için sayı 50 ile sonra kan 200 defa dilüe edildiğinden 200 ile çarpılır.

1 mm³ kandaki eritrosit sayısı = Sayılan eritrosit sayısı x hacim katsayısı x sulandırma katsayısı

1 mm³ kandaki eritrosit sayısı = Sayılan eritrosit sayısı x 50 x 200
1 mm³ kandaki eritrosit sayısı = Sayılan eritrosit sayısı x10000

Örneğin; kan eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar çekilip 5 büyük karede 45 eritrosit sayılırsa;

1 mm³ kandaki eritrosit sayısı =45 x 50 x 200
1 mm³ kandaki eritrosit sayısı =4.500.000/ mm³ sonucu verilir.

2.3.5. Normal Değerler

- Erişkin erkekte ♂ : 4.500.000-6.000.000 / mm³ kan
- Erişkin kadında ♀: 4.000.000-5.000.000 / mm³ kan
- Eritrosit sayısının normal değerlerin üzerinde olmasına **polisitemi**, eritrosit sayısının normal değerlerin altında olmasına **anemi** denir.

2.3.6. Eritrositlerin Arttığı ve Azaldığı Durumlar

- Eritrosit sayısı, çeşitli tip anemilerde azalır.
- Polisitemi, konjenital kalp hastalıklarında ve yüksek yerlerde yaşayanlarda artar.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda mikroskopta tekniğine uygun eritrosit sayımı yapabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Kişisel güvenlik önlemlerini alınız.	➤ Önlük, eldiven giyiniz.
➤ Analize başlamadan önce araç, gereç ve malzemelerini hazırlayınız.	➤ Alkol, pamuk, lanset, eritrosit pipeti ve hortumu, eritrosit sayım solüsyonu, thoma lamı ve mikroskobu hazırlayınız. ➤ Eritrosit pipeti, thoma lamı ve lamelin kuru ve temiz olduğundan emin olunuz. ➤ Eritrosit sayım solüsyonunun kullanım süresini kontrol ediniz.
➤ Kapiller kan alma tekniğine uygun olarak parmak ucunu alkollü pamukla temizleyip kuru pamukla kurulayınız.	➤ Hijyen kurallarına uyunuz. ➤ Kirli pamukları tıbbi atık kutusuna atınız.
➤ Steril lansetle parmak ucunu deliniz.	➤ Lansetle parmağı delerken derinliğin 2,5 mm.yi geçmemesine dikkat ediniz.
➤ Çıkan ilk kan damlasını kuru pamukla siliniz.	➤ Çıkan ilk kan damlasına doku sıvılarının karışacağını, bunun da kanı dilüe ederek sayım sonucunu etkileyeceğini hatırlayınız.
➤ Eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekiniz.	➤ Kanı pipete çekerken hava kabarcığı olmamasına dikkat ediniz. ➤ Parmağa aşırı basınç uygulamayınız.
➤ Pipetin dış kısmına bulaşan kanı siliniz.	➤ Pipetin dış kısmına bulaşan kanı pamukla ya da gazlı bezle siliniz.
➤ Pipetin 101 işaretine kadar eritrosit sayım solüsyonu çekiniz.	➤ Sayım solüsyonu çekerken hava kabarcığı olmamasına dikkat ediniz. ➤ Pipetteki kanın sayım solüsyonuna karışmamasına dikkat ediniz. Eğer bulaşırsa yeni solüsyon hazırlayınız.
➤ Pipetin her iki ucunu kapatarak 30 saniye yavaşça sallayınız. Eğer otomatik sallayıcı var ise 3 dakika sallamaya bırakınız.	➤ Pipetin haznesindeki boncuğun serbestçe hareket etmesine dikkat ediniz
➤ Sayım kamarasının üzerine lamel kapatınız.	➤ Sayım kamarası ve lamelin temiz, lekesiz olmasına özen gösteriniz.

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pipetteki karışımın 2-3 damlasını dışarı atıp sayım kamarasının sayma odacıklarına (lam ile lamel arasındaki boşluğa) dışarı taşmayacak şekilde karışımı doldurunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Hava kabarcığı olmamasına dikkat ediniz. ➤ Karışımı lam ve lamel arasındaki boşluğa(sayım odacığına) dışarı taşmayacak şekilde doldurunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Karışımın sayım kamarasına dağılımı için birkaç dakika bekleyiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Karışımın sayım odacığına eşit dağılımı için bekleme süresine uyunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sayım kamarasını mikroskopun tablasına yerleştiriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskopun fişini takıp ışık ayarını yapınız. ➤ Sayım kamarasını yere paralel tutarak, eğmeden mikroskopun tablasına yerleştiriniz. ➤ Tablanın kısaçaları ile lamı tespit ediniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskopta önce küçük büyütme (10x'luk) ile sahayı bulunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Revolveri çevirerek 10'luk objektifi sayım kamarasının incelenecek kısmı üzerine getiriniz. ➤ Gözünüzle okülerden bakarken makro vidayı yavaş yavaş çevirerek (sahayı) görüntüyü bulunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Büyük büyütme (40x'lık) ile sayıma başlayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Görüntüyü bulduktan sonra revolveri çevirerek 40'luk objektifi sayım kamarasının incelenecek kısmı üzerine getiriniz. ➤ Mikrovidayı yavaş yavaş çevirerek görüntüyü netleştiriniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sayım prensibine uyararak tüm alandaki hücrelerin sayımını yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sayıma sol üst köşeden başlayınız. ➤ Sol üst köşeden sağa doğru sayıma devam ediniz. ➤ Sağ köşeden bir alt karedeki hücreleri sayarak sola doğru sayıma devam ediniz. ➤ Thoma lamında birbirinden uzak 5 büyük karedeki eritrositleri sayım prensibine uyararak sayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Formüle göre eritrosit sayısını hesaplayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Eritrosit sayısı, sulandırma katsayısı ve hacim katsayısını çarparak 1mm³ kandaki eritrosit sayısını bulunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sonucu rapor ediniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Anormal sonuçları (çok düşük veya yüksek) tekrar çalışınız. ➤ Anormal sonuçları uzmana bildiriniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi, eritrositlerin kemik iliğinde stem cell'den oluşan ilk ve **genç ana hücre**sidir?
A) Retikülosit
B) Normosit
C) Genç makroblast
D) Proeritroblast
E) Olgun makroblast
2. Fetal hayatta kan yapımı **ilk** nerede başlar?
A) Kemik iliği
B) Dalak
C) Karaciğer
D) Lenf bezi
E) Vitellus kesesi
3. Aşağıda, kan hücrelerinin genç ve olgun formları eşleştirilmiştir. Eşleştirmelerden hangisi **yanlıştır**?
A) Megakaryoblast - Monosit
B) Lenfoblast - Lenfosit
C) Myeloblast - Nötrofil
D) Proeritroblast - Eritrosit
E) Megakaryoblast - Trombosit
4. Eritrositlerdeki hemoglobinin miktarının **düşük** olmasına ne denir?
A) Normokrom
B) Hipokromi
C) Hiperkromi
D) Anizokromi
E) Polikromazi
5. Eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekilip Thoma Lamının 5 büyük karesinde 60 eritrosit sayıldığında, 1 mm³ kandaki eritrosit sayısı aşağıdakilerden hangisidir?
A) 3.000.000 /mm³
B) 3.600.000 /mm³
C) 6.000.000 /mm³
D) 600.000 /mm³
E) 63.000 / mm³

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz

ÖĞRENME FAALİYETİ-3

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgilerle mikroskopta tekniğine uygun lökosit sayımı yapabileceksiniz.

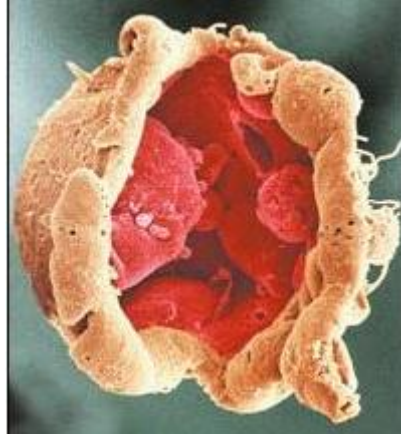
ARAŞTIRMA

- Lökositlerin görevi hakkında bilgi toplayınız.
- Lökositlerin bağışıklık sistemiyle ilişkisini arkadaşlarınızla tartışınız.

3. LÖKOSİT SAYIMI

3.1. Lökositler

- Eritrositlerden daha büyük, çekirdekli, pigmentleri olmayan ve renksiz hücrelerdir.



Resim 3.1: Lökosit

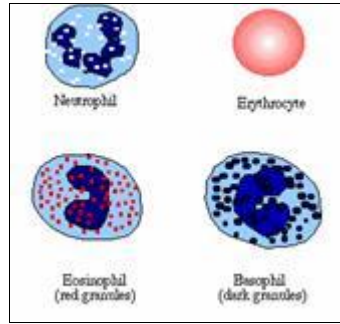
- Lökositler kemik iliğinde yapılmaktadır; ancak lenfositler kemik iliği ile beraber dalak ve lenf nodüllerinde de yapılmaktadır.
- Lökositler, periferik (dolaşım) kanda 6-7 saat kaldıktan sonra dokulara geçerler.
- Görevi; vücudu enfeksiyonlara vb. dış etkenlere karşı korumak, vücudun savunma mekanizmasında rol oynamaktır.
- Periferik kanın 1mm^3 ünde 4.000-10.000 lökosit bulunur.
- Lökosit sayısının 1mm^3 kandaki değerinin 4.000'in altına düşmesine **lökopeni**, 10.000'in üstünde olmasına **lökositoz** denir.

3.1.1. Lökositlerin Morfoloji ve Fizyolojisi

Periferik kanda bulunan lökositler stoplazmalarında özel boyalarla beliren granüllerin bulunup bulunmadığına ve çekirdek yapılarına göre, **granülosit** (parçalı) ve **agranülosit** (parçasız) olarak ikiye ayrılır.

Granülositler, kemik iliğinde myeloid seriden gelişir. Çekirdekleri parçalı ya da loblu olduğu için **polimorf nüveli lökositler** de denir.

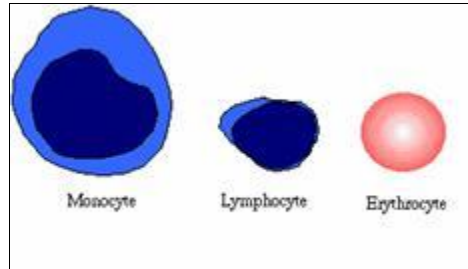
- Granülositler / Polimorf Nüveli Lökositler (PNL)
Nötrofiller
Bazofiller
Eozinofiller



Resim 3.2: Granülositler

Agranülositlerde tek nüve (çekirdek) olduğu için bunlara **mononükleer lökositler** de denir.

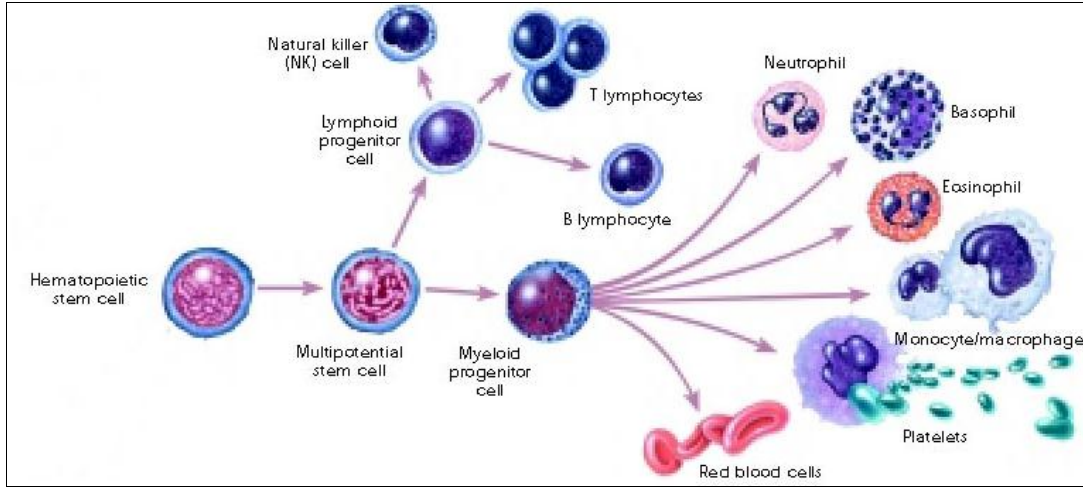
- Agranülositler / Mononükleer Lökositler (MNL)
Lenfositler
Monositler



Resim 3.3: Agranülositler

3.1.2. Lökositlerin Oluşum Safhaları/Lökopoez

Bütün kan hücreleri mezanşimal bir hücreden (stem cell) oluşturulmaktadır.



Resim 3.4: Lökositlerin oluşum safhaları

Parçalı lökositler kemik iliğinde yapıldıkları halde, lenfosit ve monositler lenfoid dokularda yapılır.

Parçalı lökositlerin kemik iliğinde yapılmasında ilk basamak, iliğin retikulum hücrelerinden stem cell oluşmasıdır.

Stem cell'den parçalı lökositlerin ilk ana hücresi olan **myeloblast** yapılıdır. Parçalı lökositlerin kemik iliğinde yapılmasında **myeloblast**tan sonra ilk olgunlaşma kademesini **promyelosit**, daha sonra ise **myelosit**, **metamyelosit**, **çomak** ve **parçalılar** izler. Bu dizide myeloblast dışındaki hücrelerin stoplazmaları granülasyonludur. Bu nedenle parçalı lökositlere **granülositler** de denir.

Granülositer serinin gelişimi:

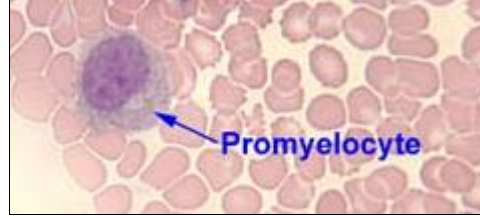
Myeloblast → Promyelosit → Myelosit → Metamyelosit → Granülositler (Nötrofil – Basofil – Eosinofil)

- **Myeloblast:** Stem cell'den oluşan granülositer serinin ilk ve genç hücresidir. 14-18 μ çapında, yuvarlak ya da oval hücrelerdir. Çekirdek 1-4 tane olup hücrenin 4/5'ini kaplar. Stoplazma dar ve granülsüz olup basofilitir. Koyu mavi boyanır.



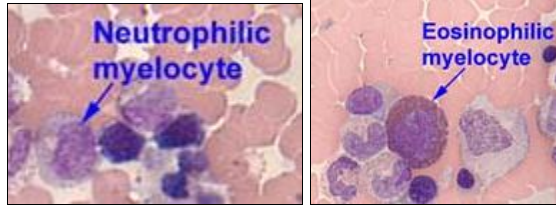
Resim 3.5: Myeloblast

- **Promyelosit:** Granulositer serinin en büyük hücresidir. Myeloblasttan daha büyüktür. 15-21 μ çapındadır. Stoplazması myeloblasta göre daha geniştir. Stoplazmada granüller oluşmaya başlar. Çekirdek hücrenin $\frac{1}{2}$ 'sini kaplar. 2 ya da 3 çekirdeğe sahiptir.



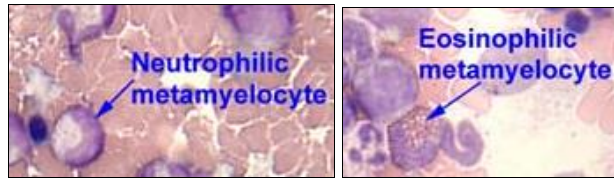
Resim 3.6: Promyelosit

- **Myelosit:** Çapları 8-12 μ 'dur. Stoplazması geniştir. Çekirdekçik görülmez. Stoplazmada, içinde lizozomal enzimlerin bulunduğu spesifik granüller bulunur. Granüllerin tipine göre hücre; nötrofilik myelosit, basofilik myelosit ve eosinofilik myelosit adını alır.



Resim 3.7: Myelosit

- **Metamyelosit:** Bu evrede artık DNA sentezi, mitoz bölünme ve çoğalma olmaz. Hücrenin çapı 10- 15 μ 'dur. Stoplazma miktarı çoktur. Çekirdek; böbrek ya da fasulye şeklindedir. Spesifik granüller vardır.



Resim 3.8: Metamyelosit

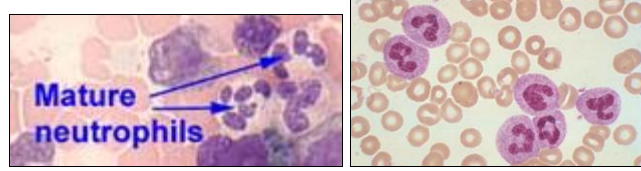
Myelositer serinin metamyelositten sonraki farklılaşması genç şekilleri (nötrofil, eosinofil, basofil) oluşturur.

- **Nötrofil:** 12-15 μ çapında, çekirdekleri 2-5 (3) loblu, kırmızı-mor (pembe) granüllere sahiptir. Granülleri alkalin fosfataz, kollajenaz ve lizozomları ihtiva eder. Görevi, fagositoz ile antijenik yapıları içlerine alarak sindirip yok etmektir. Nötrofillerin mikroorganizma invazyonlarına karşı muhtelif devreleri vardır:
- Kemotaksis
 - Fagositoz

- İntrasellüler öldürme
- Sindirme

Nötrofiller, kanda 7-8 saat dolaştıktan sonra GİS, akciğer, tükürük bezleri, üriner sisteme geçerek 4-5 gün sonra RES tarafından harap edilirler.

Dolaşımdaki nötrofil sayısının artmasına **nötrofili**, azalmasına **nötropeni** denir.



Resim 3.9: Nötrofil ve nötrofili

- **Eosinofil:** 9-15 μ çapında, çekirdek lobları 2'den fazla, parlak sarı-kırmızı (portakal) renginde belirgin granülleri vardır. Kan dolaşımında 6-7 saat dolaştıktan sonra bağ dokusu, deri ve GİS'te toplanır. Dolaşımda eosinofil sayısının artmasına **eosinofili**, azalmasına **eosinopeni** denir. Eosinofili, allerjik reaksiyonlar, paraziter hastalıklar ve bazı deri hastalıklarında görülür.



Resim 3.10: Eosinofil

- **Basofil:** 9-15 μ çapında, büyük kaba pembe-siyah çekirdeği bile örtecek ölçüde stoplazmik granülleri vardır. Boyama sırasında granüller kaybolur ya da az görülür. Eriyen granüllerin yerini stoplazmada vakuoller alır. Granüller heparin, histamin, asit fosfataz, alkale fosfataz ve peroksidaz enzimlerini ihtiva eder.



Resim.3.11: Basofil

- **Monosit:** Monositler, RES veya retikulo-histiositer sistemde yapılan histiositlerin periferik kanda dolaşan şekilleri olarak kabul edilir. Kemik iliğinde monoblasttan promonosit ve monositler oluşur. Büyük monositler 20-30 μ çapında, fasulye, at nalı, böbrek biçiminde çekirdek ve ince yapıda kromatine sahiptir. Küçük monositler 15-20 μ çapında, yuvarlak ya da oval çekirdekli, kromatini daha belirgin, stoplazma koyu mavi renkte, birkaç granülasyon içerir. Granüllerinde lizozim enzimi (asit hidrolaz ve peroksidaz enzimler) içerir.

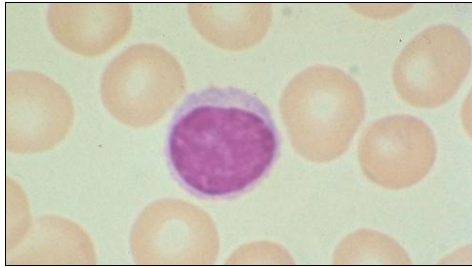


Resim 3.11: Normal monosit ve büyük lenfosit

Monositlerin periferdeki ömürleri çok kısadır. Değişik organ ve dokulara geçerek makrofajları oluşturur. Dokudaki makrofajlara **histiosit** denir. Daha uzun ömürlüdür. Karaciğerde **Kupffer** hücresi, akciğerde **alveoler makrofaj**, beyinde **mikroglia** hücresi, dalak ve lenf bezlerinde **sinüs makrofajları** gibi.

Dokulardaki makrofajlar RES'i oluşturur.

- **Lenfositler:** Kemik iliği, lenf bezleri, dalak, timus ve bağırsağın peyer plağında yapılıdır. Lenfoid dokularda retikulum hücrelerinin bölünmesi sırasında bir yandan retikulum hücreleri diğer taraftan lenfoblastlar oluşur. Daha sonra lenfoblastlardan prolenfositler ve bunlardan da lenfositler meydana gelir. 10-12 μ çapında, stoplazma soluk mavi renkte, kromatin koyu mavi renkte boyanan, çift zardan oluşmuş çekirdek ve çekirdeğin bir tarafında çentikleşme olan hücredir.



Resim 3.12: Lenfosit

Lenfositlerin görevi, antijenik uyanarlara immün cevap vermektir. İki şekilde olur:

- Humoral immünite- B lenfositlerle
- Hücresele immünite- T lenfositlerle

Humoral bağışıklık, antikorlar aracılığıyla sağlanan bağışıklıktır. Bu antikorlar IgA, IgD, IgM, IgG ve IgE'dir.

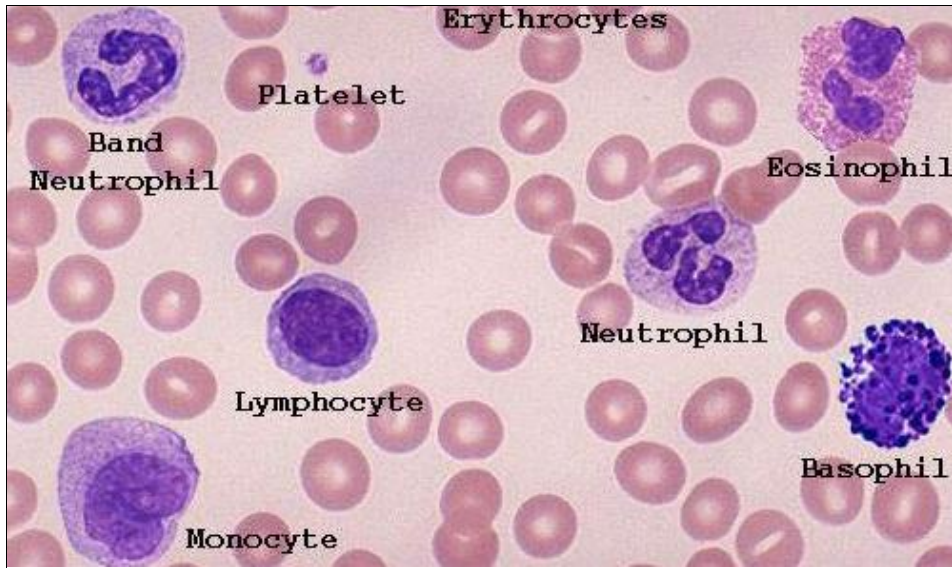
B lenfositleri, antijenik uyarıyı makrofajlardan alıp önce **immünoblast** sonra **plazma hücrelerine** (plazmosit) dönüşür. Antikorları üreten hücreler, plazma hücreleridir.

B lenfositleri kısa ömürlüdür (gün- hafta). Lenfoid dokularda sirküle olur.

Hücresele bağışıklıkta ise timusta üretilen T lenfositleri, antijeni fagosite eden makrofajların içine bir takım uzantılar gönderir. Antijenle tanıştıktan sonra makrofajdan ayrılan T lenfositleri lenfokin denen bir madde salgılayarak immün sistemi harekete geçirir.

B lenfositlerini uyararak immünoblast sonra plazma hücreesine dönüşerek antikor (Ig) yapımını düzenler. Böylece hücresele bağışıklığı sağlar.

T lenfositlerinin yaşam süreleri uzundur (ay-yıl).



Resim 3.13: Lökositler

3.2. Lökosit Sayımı

3.2.1. Amacı

Lökositleri saymaktır. Lökosit sayımı, bir milimetre küp periferik kandaki lökositlerin sayısının bulunmasıdır.

3.2.2. Lökosit Sayımında Kullanılan Malzemeler

- Alkollü pamuk
 - Lanset ya da enjektör
 - Lökosit pipeti ve hortumu
 - Sayım kamarası (Thoma veya Bright-Line sayım lamı)
 - Lökosit sayım solüsyonu
 - Mikroskop
- **Lökosit pipeti:** Pipet uzunluğu yaklaşık 12 cm.dir.Üst kısma yakın bir yerde ve içinde **beyaz boncuğu** olan bir hazne bulunur.Pipet üzerinde, çekilen kan miktarını göstermek amacıyla **0,5 ve 1 çizgileri** vardır. Haznenin üst kısmında dilüsyon hacmini gösteren **11 çizgisi** bulunur.



Resim 3.14: Lökosit pipeti

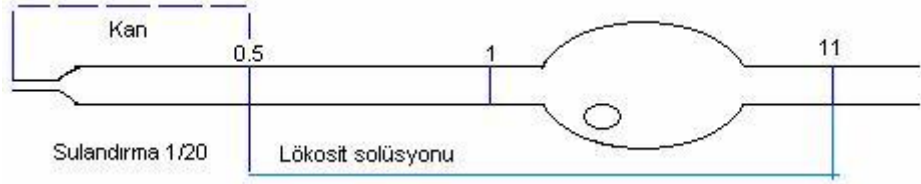
- **Lökosit sayım solüsyonu:** Lökosit sayımında Türk solüsyonu kullanılır. Glasial asetik asit 3 ml
Gentian violet 1ml konarak distile suyla 100 ml'ye tamamlanır.

3.2.3. Lökosit Sayım Tekniği

Lökosit sayımında antikoagülanlı venöz kan ya da kapiller kan kullanılır.

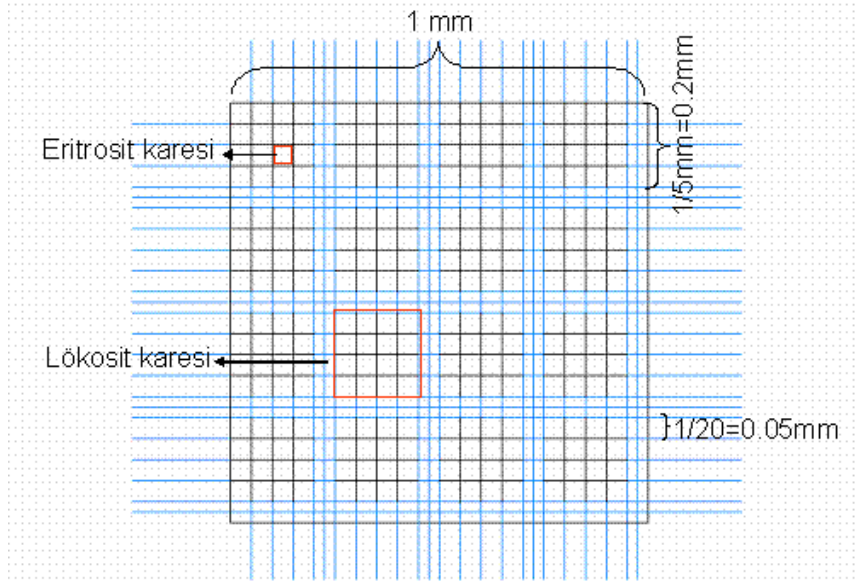
- Kapiller kan alma tekniğine uygun olarak parmak ucu alkollü pamukla temizlenir, kuru pamukla kurulanır.
- Steril lansetle parmak ucu delinir.
- Çıkan ilk kan damlası kuru pamukla silinir.
- Lökosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekilir.

- Pipetin dış kısmına bulaşan kan silinir.
- Pipetin 11 işaretine kadar lökosit sayım solüsyonu çekilir. (Kan ve sayım solüsyonu çekerken hava kabarcığı olmamasına dikkat edilmelidir.)



Şekil 3.1: Lökosit pipetine çekilen kan ve sayım solüsyonu oranları

- Pipetin her iki ucu kapatılarak 30 saniye yavaşça sallanır. Eğer otomatik sallayıcı var ise 3 dakika sallamaya bırakılır. Bu sırada pipetin haznesindeki boncuk serbestçe hareket etmelidir.
- Sayım kamarasının üzerine lamel kapatılır.
- Pipetteki 2-3 damla dışarı atılır. Sonra sayım kamarasının sayma odacıklarına (lam ile lamel arasındaki boşluğa) dışarı taşmayacak şekilde karışım doldurulur. Hava kabarcığı olmamasına dikkat edilmelidir.
- Sayım kamarasına karışımın dağılımı için birkaç dakika beklenir.
- Sayım kamarası mikroskopun tablasına yerleştirilir.
- Mikroskopta önce küçük büyütme (10x'lık) ile saha bulunur.
- Büyük büyütme (40x'lık) ile sayıma başlanır.
- Sayım prensibine uyarak tüm alandaki (thoma lamında 16 büyük karedeki) lökositlerin sayımı yapılır.



Şekil 3.2: Mikroskopta thoma lamında lökosit sayımı yapılacak kareler

3.2.4. Lökosit Sayım Sonucunun Hesaplanması

1 mm³ kandaki lökosit sayısını bulmak için hacim ve sulandırma(dilüsyon) katsayısını hesaplamak gerekir.

- **Sulandırma katsayısı:** Lökosit pipetinde kan 0,5 çizgisine kadar çekilir ve 11 çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanır 20 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 20'dir. Eğer kan 1 çizgisine kadar çekilir ve 11 çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanır 10 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 10'dur.
- **Hacim katsayısı:** 16 büyük karedeki lökosit sayımı yapıldığı için 16 büyük karenin yani laminın tamamının hacmi hesaplanır.

$$V = a^2 \cdot h$$

$$V = 1 \times 1 \times 0,1$$

$$V = 0,1 \text{ mm}^3$$

16 büyük karenin hacmi 0,1 mm³'tür.

1 mm³'deki lökosit sayısını bulmak için :

$$0,1 \times X = 1$$

$$X = 1 : 0,1$$

$$X = 10 \text{ (Hacim katsayısı)}$$

16 büyük karenin hacmi 0,1 mm³ tür. Bir mm³ için sayı 10 ile ve sonra kan 20 defa dilüe edildiğinden 20 ile çarpılır.

1 mm³ kandaki lökosit sayısı = Sayılan lökosit sayısı x hacim katsayısı x sulandırma katsayısı

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kandaki lökosit sayısı} = \text{Sayılan lökosit sayısı} \times 10 \times 20$$

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kandaki lökosit sayısı} = \text{Sayılan lökosit sayısı} \times 200$$

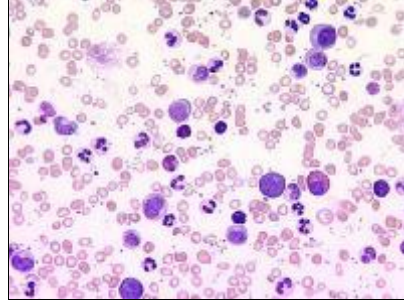
Örneğin; kan lökosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar çekilip 16 büyük karede 45 lökosit sayılırsa;

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kandaki lökosit sayısı} = 45 \times 10 \times 20$$

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kandaki lökosit sayısı} = 9000 / \text{mm}^3 \text{ sonucu verilir.}$$

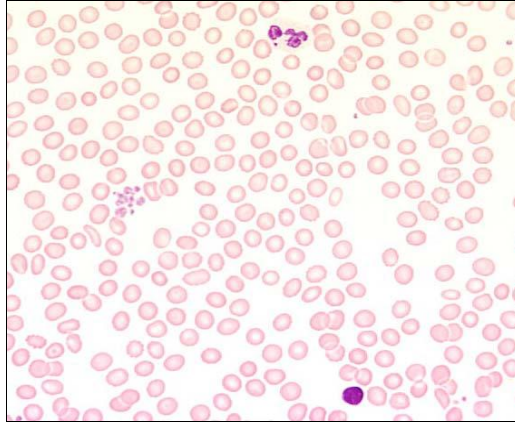
3.2.5. Lökositlerin Arttığı ve Azaldığı Durumlar

- Apandisit, tonsillit, menenjit, apseler, romatizma gibi bakteriyel infeksiyonlarda, lösemide, gebelikte, ülserlerde ve yeni doğanlarda **lökositoz** görülür.



Resim 3.15: Lökositoz

- Kızamık, brucellozis, agranülositoz, hepatit, kemik iliği hastalıkları gibi durumlarda **lökopeni** görülür.



Resim 3.16: Lökopeni

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda mikroskopta tekniğine uygun lökosit sayımı yapabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Kişisel güvenlik önlemlerini alınız.	➤ Önlük, eldiven giyiniz.
➤ Analize başlamadan önce araç, gereç ve malzemelerini hazırlayınız.	➤ Alkol, pamuk, lanset, lökosit pipeti ve hortumu, lökosit sayım solüsyonu, thoma lamı ve mikroskobu hazırlayınız. ➤ Lökosit pipeti, thoma lamı ve lamelin kuru ve temiz olduğundan emin olunuz. ➤ Lökosit sayım solüsyonunun kullanım süresini kontrol ediniz.
➤ Kapiller kan alma tekniğine uygun kan alınız.	➤ Kapiller kan alma tekniğine uygun olarak parmak ucunu alkollü pamukla temizleyip kuru pamukla kurulayınız. ➤ Steril lansetle parmak ucunu deliniz. ➤ Çıkan ilk kan damlasını kuru pamukla siliniz. ➤ Hijyen kurallarına uyunuz.
➤ Lökosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekiniz.	➤ Pipetin dış kısmına bulaşan kanı pamukla ya da gazlı bezle siliniz.
➤ Pipetin 11 işaretine kadar lökosit sayım solüsyonu çekiniz.	➤ Kanı ve solüsyonu pipete çekerken hava kabarcığı olmamasına dikkat ediniz.
➤ Pipetin her iki ucunu kapatarak 30 saniye yavaşça sallayınız.	➤ Eğer otomatik sallayıcı var ise 3 dakika sallamaya bırakınız. ➤ Pipetin haznesindeki boncuğun serbestçe hareket etmesine dikkat ediniz
➤ Sayım kamarasının üzerine lamel kapatınız.	➤ Sayım kamarası ve lamelin temiz, lekesiz olmasına özen gösteriniz.
➤ Pipetteki karışımın 2-3 damlasını dışarı atıp sayım kamarasının sayma odacıklarına dışarı taşmayacak şekilde karışımı doldurunuz.	➤ Hava kabarcığı olmamasına dikkat ediniz. ➤ Karışımı lam ve lamel arasındaki boşluğa(sayım odacığına) dışarı taşmayacak şekilde doldurunuz.

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Karışımın sayım kamarasına dağılımı için birkaç dakika bekleyiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bekleme süresine uyunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sayım kamarasını mikroskopun tablasına yerleştiriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tablanın kıskaçları ile lamı tespit ediniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskopta önce 10x'luk objektifle sahayı bulunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Revolveri çevirerek 10'luk objektifi sayım kamarasının incelenecek kısmı üzerine getiriniz. ➤ Gözünüzle okülerden bakarken makrovidayı yavaş yavaş çevirerek (sahayı) görüntüyü bulunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ 40x'lik objektifle sayıma başlayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Görüntüyü bulduktan sonra revolveri çevirerek 40'luk objektifi sayım kamarasının incelenecek kısmı üzerine getiriniz. ➤ Mikrovidayı yavaş yavaş çevirerek görüntüyü netleştiriniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sayım prensibine uyararak tüm alandaki lökosit sayımını yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sayım prensibine uyararak thoma lamındaki 16 büyük karedeki lökositleri sayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Formüle göre lökosit sayısını hesaplayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lökosit sayısı, sulandırma katsayısı ve hacim katsayısını çarparak 1mm^3 kandaki lökosit sayısını bulunuz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi, granülositlerin kemik iliğinde stem cellden oluşan **ilk ana** hücrelidir?
A) Myeloblast
B) Lenfoblast
C) Monoblast
D) Myelosit
E) Metamyelosit
2. Lökosit sayısının 1mm^3 kandaki değerinin 4.000'in altına düşmesine ne denir?
A) Lökositoz
B) Lökopeni
C) Lökopoez
D) Granülositoz
E) Nötropeni
3. Aşağıdakilerden hangisi, antikorların oluşumunda rol alan **humoral ve hücrel bağışıklığı** sağlayan hücredir?
A) Nötrofil
B) Eosinofil
C) Bazofil
D) Lenfosit
E) Monosit
4. Aşağıdakilerden hangisinde, lökositoz görülmez?
A) Bakteri infeksiyonları
B) Tonsillit
C) Apse
D) Menenjit
E) Kızamık
5. Lökosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekilip Thoma Lamının tamamında (16 büyük karede) 35 lökosit sayıldığında 1mm^3 kandaki lökosit sayısı aşağıdakilerden hangisidir?
A) $3500/\text{mm}^3$
B) $35000/\text{mm}^3$
C) $7000/\text{mm}^3$
D) $700/\text{mm}^3$
E) $14000/\text{mm}^3$

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz

ÖĞRENME FAALİYETİ-4

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgilerle mikroskopta, tekniğine uygun trombosit sayımı yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Trombositlerin görevi hakkında bilgi toplayınız.
- Trombositlerin kanamaların durmasındaki rolünü arkadaşlarınızla tartışınız.

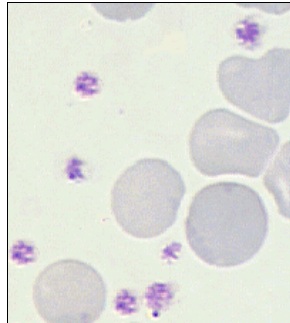
4. TROMBOSİT SAYIMI

4.1. Trombositler

- Sağlıklı kişilerde küçük-büyük damarların kanamaması, damarların duvarlarının yapısal bütünlüğü; **trombositler** ve plazmadaki **koagülasyon faktörlerinin** birlikte fonksiyonu ile başılır.
- Damar bütünlüğünün bozulmasına bağlı olarak meydana gelen kanamanın kısa sürede durması olayı, yani **hemostaz**, trombosit ve plazma koagülasyon faktörleri arasında olan işbirliği ile başılır.

4.1.1. Trombositlerin Morfoloji ve Fizyolojisi

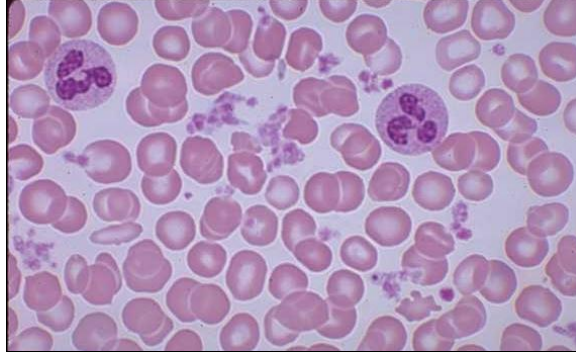
- 2-5 μ çapında, stoplazması açık mavi, granülleri mor-kırmızı, kenarları irregüler (düzensiz), çekirdeği olmayan yuvarlak ya da oval hücrelerdir.



Resim 4.1: Trombosit

- Kemik iliğinde megakaryositlerin stoplazmalarının parçalanması sonucu periferik kana verilen en küçük hücrelerdir.
- Trombositlerin 2/3'si periferde, 1/3'i dalakta depo edilir.

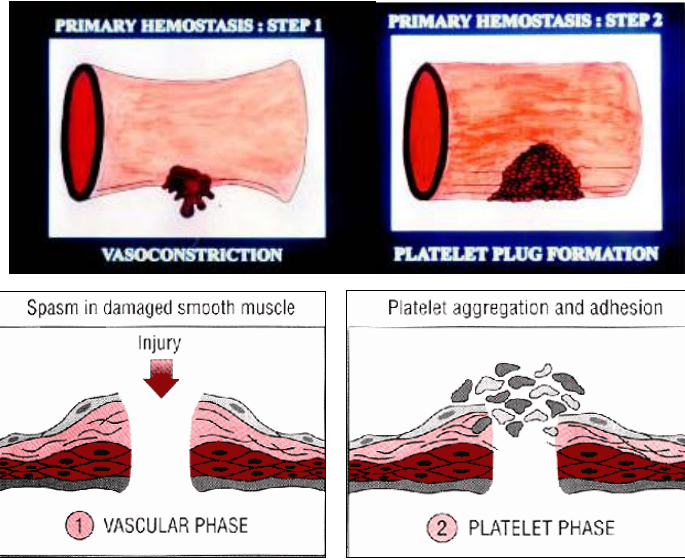
- Periferde ortalama 6-9 gün yaşar. Ömrü dolan trombositler dalak tarafından parçalanır.
- 1 mm³ kanda 150.000-400.000 arasında trombosit vardır.
- Trombosit sayısının azalmasına **trombositopeni**, artmasına **trombositoz** denir.



Resim 4.2: Trombositoz

4.1.2. Trombositlerin Görevi

- Trombositlerin en önemli görevi, **hemostaz**dır. Sağlam damarlarda dolaşan kanın dışarıya çıkmasını önleyen ve damarda bir hasar olduğunda kanamayı durduran mekanizmaya **hemostaz** ya da **pıhtılaşma mekanizması** denir.
- Sağlam damarlardan kan kaybı, damar duvarının bütünlüğü ve trombositlerle önlenir. Bu faktörler birbiriyle iç içedir. Trombositler, endotel hücrelerini beslemek suretiyle damar endotelinin bütünlüğünün korunmasını sağlar. Trombositopeni durumlarında endotel hücreleri incelmektedir. Trombositler ayrıca endotel hücrelerinin kontraksiyonu sırasında açığa çıkan bazal membrana yapışmak suretiyle de kanın damar dışına geçmesini önler.
- Bir kan damarı travmaya uğradığı zaman, önce refleks yolla vazokonstriksiyon olur ve kan akımı yavaşlar. Trombosit adezyonu (yapışma), trombosit agregasyonu (kümeleşme) ve koagülasyon faktörlerinin harap olan damarda **tıkaç** oluşturmasıyla kanama durur.



Resim 4.3: Pıhtılaşma mekanizması

- Koagülasyon faktörlerinden **protrombin trombine** dönüşür. Oluşan trombin **fibrinojeni fibrin liflerine** dönüştürerek trombosit agregasyonu ile kanamayı durdurur.

4.1.3. Trombositlerin Oluşum Safhaları

Trombositler, kemik iliğinde bulunan **megakaryositlerden** meydana gelir. Megakaryositlerin ana hücresi, stem cell'den oluşan **megakaryoblasttır**.

Trombositlerin oluşum safhaları:

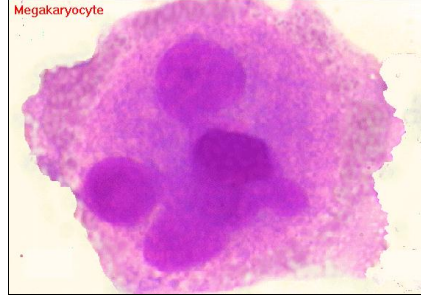
Megakaryoblast → Promegakaryosit → Megakaryosit → Trombosit

- **Megakaryoblast:** Trombositlerin ana hücresidir. 20-30 μ çapında, büyük çekirdekli, stoplazması mavi, granül ihtiva etmeyen yuvarlak ya da oval hücredir. Hücre olgunlaştıkça stoplazma miktarı artar.



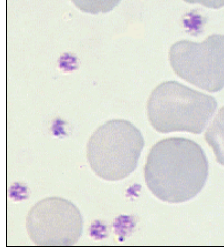
Resim 4.4: Megakaryoblast

- **Promegakaryosit:** Daha büyük bir hücredir. Koyu bazofil (mavi) olan stoplazmada ince granüller görülmeye başlar. Çekirdek, loblu bir görünümde ve çekirdek kromatini kabalaşmıştır. Birkaç çekirdekçik görülür.
- **Megakaryosit:** Kemik iliğinin en büyük hücresi olup 30-90 μ çapındadır. Stoplazma miktarı fazla, sınırları irregülerdir. Çekirdek çok loblu olup kromatin kabalaşmıştır ve çekirdekçik görülmez. Stoplazma trombositlerden oluşan uzantılar yapar. Granüllerin 10-12 tanesi bir araya gelir ve her bir küme dar bir stoplazma ile çevrilerek trombosit meydana getirir. Ortalama 1 megakaryosit stoplazmasından 3-4 bin trombosit oluşur.



Resim 4.5: Megakaryosit

- **Trombosit:** 2-5 μ çapında, stoplazması açık mavi, granülleri mor-kırmızı, kenarları irregüler, çekirdeği olmayan yuvarlak ya da oval hücrelerdir.



Resim 4.6: Trombosit

4.2. Trombosit Sayımı

4.2.1. Amacı

Trombositleri saymaktır. Trombosit sayımı, bir milimetreküp periferik kandaki trombositlerin sayısının bulunmasıdır.

4.2.2. Trombosit Sayımında Kullanılan Malzemeler

- Alkollü pamuk
- Lanset ya da enjektör
- Eritrosit pipeti ve hortumu
- Sayım kamarası (Thoma veya Bright-Line sayım lamı)

- Trombosit sayım solüsyonu
- Mikroskop
 - **Trombosit sayım solüsyonu**
 - Ress Ecker solüsyonu
Sodyum sitrat 3,8 gram
Parlak krezil mavisi 0,05 gram
Nötral formaldehit (% 38) 0,2 ml

Distile suyla 100 ml'ye tamamlanır. Bu karışım 2500 rpm de 30 dakika santrifüj edilir ve ağzı kapalı şişelere konarak buzdolabında 4 °C'de saklanır. Kullanmadan önce filtre kağıdı ile süzülmesi gerekir.

4.2.3. Trombosit Sayım Tekniği

Trombosit sayımında antikoagülanlı venöz kan ya da kapiller kan kullanılır.

- Kapiller kan alma tekniğine uygun olarak parmak ucu alkollü pamukla temizlenir, kuru pamukla kurulanır.
- Parmak ucu steril lansetle delinir.
- Çıkan ilk kan damlası kuru pamukla silinir.
- Eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekilir.
- Pipetin dış kısmına bulaşan kan silinir.
- Pipetin 101 işaretine kadar trombosit sayım solüsyonu çekilir. (Kan ve sayım solüsyonu çekerken hava kabarcığı olmamasına dikkat edilir.)
- Pipetin her iki ucu kapatılarak 30 saniye yavaşça sallanır. Eğer otomatik sallayıcı var ise 3 dakika sallamaya bırakılır. Bu sırada pipetin haznesindeki boncuk serbestçe hareket etmelidir.
- Sayım kamarasının üzerine lamel kapatılır.
- Pipetteki 2-3 damla dışarı atılır. Sonra sayım kamarasının sayma odacıklarına (lam ile lamel arasındaki boşluğa) dışarı taşmayacak şekilde karışım doldurulur. (Hava kabarcığı olmamasına dikkat edilir.)
- Bir petri kutusuna ıslak filtre kağıdı yerleştirilir ve sayım kamarasının üzerine kapatılarak karışımın dağılımı için 10-15 dakika beklenir.
- Sayım kamarası mikroskobun tablasına yerleştirilir.
- Mikroskopta önce 10x'luk objektifle saha bulunur.
- 40x'luk objektifle sayıma başlanır.
- Sayım prensibine uyarak tüm alandaki trombositlerin sayımı yapılır.

4.2.4. Trombosit Sayım Sonucunun Hesaplanması

1 mm³ kandaki trombosit sayısını bulmak için hacim ve sulandırma katsayısını hesaplamak gerekir.

- **Sulandırma katsayısı:** Trombosit sayımında eritrosit pipeti kullanılır.

Pipete 0,5 çizgisine kadar kan çekilip 101 çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanır 200 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 200; 1 çizgisine kadar kan çekilip 101 çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanır 100 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 100 olur.

- **Hacim katsayısı:** 16 büyük karedeki trombositlerin sayımı yapıldığı için lökosit sayımındaki gibi 16 büyük karenin hacmi hesaplanır.

16 büyük karenin hacmi $0,1\text{mm}^3$ tür. Bir mm^3 için sayı 10 ile ve sonra kan 200 defa dilüe edildiğinden 200 ile çarpılır.

- **1mm^3 kandaki trombosit sayısı** = Sayılan trombosit sayısı x hacim katsayısı x sulandırma katsayısı
- 1mm^3 kandaki trombosit sayısı = Sayılan trombosit sayısı x 10 x 200
- 1mm^3 kandaki trombosit sayısı = Sayılan trombosit sayısı x 2000

Örneğin; kan eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar çekilip 16 büyük karede 90 trombosit sayılırsa

1mm^3 kandaki trombosit sayısı = $90 \times 10 \times 200$

1mm^3 kandaki trombosit sayısı = 180000/ mm^3 sonucu verilir

4.2.5. Trombositlerin Arttığı ve Azaldığı Durumlar

- Trombositlerin arttığı durumlar
 - Polisitemi
 - Splenektomi yapılanlarda
 - Kanama esnasında
- Trombositlerin azaldığı durumlar
 - Kemik iliği yetmezliği
 - Vitamin B_{12} ve folik asit eksikliği
 - Hipersplenizm
 - Transfüzyon sonrası
 - Şua (ışın) tedavisi
 - Radyoaktif maddeler sonucu kemik iliğinin zarar görmesi

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda mikroskopta tekniğine uygun trombosit sayımı yapabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Kişisel güvenlik önlemlerini alınız.	➤ Önlük, eldiven giyiniz.
➤ Analize başlamadan önce araç, gereç ve malzemelerini hazırlayınız.	➤ Alkol, pamuk, lanset, eritrosit pipeti ve hortumu, trombosit sayım solüsyonu, thoma lamı ve mikroskobu hazırlayınız. ➤ Eritrosit pipeti, thoma lamı ve lamelin kuru ve temiz olduğundan emin olunuz. ➤ Trombosit sayım solüsyonunun kullanım süresini kontrol ediniz.
➤ Kapiller kan alma tekniğine uygun kan alınız.	➤ Kapiller kan alma tekniğine uygun olarak parmak ucunu alkollü pamukla temizleyip kuru pamukla kurulayınız. ➤ Steril lansetle parmak ucunu deliniz. ➤ Çıkan ilk kan damlasını kuru pamukla siliniz. ➤ Hijyen kurallarına uyunuz.
➤ Eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekiniz.	➤ Pipetin dış kısmına bulaşan kanı pamukla ya da gazlı bezle siliniz.
➤ Pipetin 101 işaretine kadar trombosit sayım solüsyonu çekiniz.	➤ Kanı ve solüsyonu pipete çekerken hava kabarcığı olmamasına dikkat ediniz.
➤ Pipetin her iki ucunu kapatarak 30 saniye yavaşça sallayınız.	➤ Eğer otomatik sallayıcı var ise 3 dakika sallamaya bırakınız. ➤ Pipetin haznesindeki boncuğun serbestçe hareket etmesine dikkat ediniz
➤ Sayım kamarasının üzerine lamel kapatınız.	➤ Sayım kamarası ve lamelin temiz, lekesiz olmasına özen gösteriniz.
➤ Pipetteki karışımın 2-3 damlasını dışarı atıp sayım kamarasının sayma odacıklarına dışarı taşmayacak şekilde doldurunuz.	
➤ Bir petri kutusuna ıslak filtre kağıdı yerleştirip sayım kamarasının üzerine	➤ Hava kabarcığı olmamasına dikkat ediniz.

<p>kapatarak karışımın dağılımı için 10-15 dakika bekleyiniz.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bir petri kutusuna ıslak filtre kağıdı yerleştirip sayım kamarasının üzerine kapatınız. ➤ Karışımı lam ve lamel arasındaki boşluğa dışarı taşmayacak şekilde doldurunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sayım kamarasını mikroskopun tablasına yerleştiriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tablanın kısıkaçları ile lamı tespit ediniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskopta önce 10x'luk objektifle sahayı bulunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Revolveri çevirerek 10'luk objektifi sayım kamarasının incelenecek kısmı üzerine getiriniz. ➤ Gözünüzle okülerden bakarken makro vidayı yavaş yavaş çevirerek (sahayı) görüntüyü bulunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ 40x'lik objektifle sayıma başlayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Görüntüyü bulduktan sonra revolveri çevirerek 40'luk objektifi sayım kamarasının incelenecek kısmı üzerine getiriniz. ➤ Mikro vidayı yavaş yavaş çevirerek görüntüyü netleştiriniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sayım prensibine uyararak tüm alandaki trombositlerin sayımını yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sayım prensibine uyararak thoma lamındaki 16 büyük karedeki trombositleri sayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Formüle göre trombosit sayısını hesaplayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Trombosit sayısı, sulandırma katsayısı ve hacim katsayısını çarparak 1mm^3 kandaki trombosit sayısını bulunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sonucu rapor ediniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Anormal sonuçları (çok düşük veya yüksek) tekrar çalışınız. ➤ Anormal sonuçları uzmana bildiriniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi, trombositlerin kemik iliğinde stem cellden oluşan **ilk ana** hücresidir?
A) Megakaryosit
B) Megakaryoblast
C) Promegakaryosit
D) Myelosit
E) Proeritroblast
2. Sağlam damarlarda dolaşan kanın dışarıya çıkmasını önleyen ve damarda bir hasar oluştuğunda kanamayı durduran mekanizmaya ne denir?
A) Hemostaz
B) Fibrin
C) Trombin
D) Koagülasyon faktörleri
E) Protrombin
3. Aşağıdakilerden hangisi, trombositlerin azaldığı durumlardan biri değildir?
A) Kemik iliği yetmezliği
B) Vitamin B12 ve folik asit eksikliği
C) Şua tedavisi
D) Hipersplenizm
E) Polisitemi
4. Bir damarda travma sonucu oluşan kanamanın başlayıp durmasına kadar geçen fazda hangisi yanlıştır?
A) Vazokonstriksiyon
B) Trombosit adezyonu
C) Trombosit agregasyonu
D) Trombinin protrombine dönüşmesi
E) Fibrinojenin fibrine dönüşmesi
5. Eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekilip Thoma lamının tamamında 150 trombosit sayıldığında, 1 mm³ kandaki trombosit sayısı aşağıdakilerden hangisidir?
A) 150000/ mm³
B) 1500/ mm³
C) 15000/ mm³
D) 300000/ mm³
E) 3000/ mm³

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise “Modül Değerlendirme”ye geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruyu cevaplandırınız.

1. Mikroskobun tanımını yapınız.

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

2. Mikroskopta bir vida ile aşağı-yukarı doğru hareket ettirilerek ışığın odaklanmasını ve aynadan yansıyan ışınları, preparat üzerinde toplayarak yeterli derecede aydınlatılmasını sağlayan optik parçaya, denir.
3. %85-90'ı böbreklerden, %10-15'i ise ekstra renal olarak karaciğerden salgılanan eritrositlerin oluşumunda etkili olan hormon,.....' dir.
4. Kemik iliğinde kan hücrelerinin oluşmasına, denir.
5. Periferdeki ömürleri çok kısa olan monositler değişik organ ve dokulara geçerek ları oluştururlar.
6. 2-5 μ çapında, stoplazması açık mavi, granülleri mor-kırmızı, kenarları irregüler, çekirdeği olmayan yuvarlak ya da oval kan hücresi,..... dir.
7. Kanama esnasında koagülasyon faktörlerinden protrombin trombine dönüşür. Oluşan trombin fibrinojeni e dönüştürerek trombosit agregasyonu ile kanamayı durdurur.

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

8. Aşağıdakilerden hangisi; 7-8 mikron çapında, nükleusu olmayan, disk şeklinde, her iki yüzü konkav kan hücresidir?
A) Lenfosit
B) Monosit
C) Lökosit
D) Eritrosit
E) Trombosit
9. Aşağıdakilerden hangisi, lökosit sayımında kullanılan bir solüsyondur?
A) %0.9'luk serum fizyolojik
B) Türk solüsyonu
C) Ress-Ecker solüsyonu
D) Hayem solüsyonu
E) Toission solüsyonu

10. Işığın incelenecek nesnenin üzerinden yansıtılarak objektife gönderildiği, nesnenin yüzey özelliklerini ortaya koyan ve görüntünün üç boyutlu olduğu son dönemlerde bilgisayar destekli olarak mikro cerrahide ameliyathanelerde kullanılan mikroskop hangisidir?
- A) Stereoskopik mikroskop
 - B) Demonstrasyon mikroskobu
 - C) Klasik ışık mikroskobu
 - D) Faz kontrast mikroskobu
 - E) Flüoresans mikroskop

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki modüle geçmek için öğretmeninize başvurunuz.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ 1'İN CEVAP ANAHTARI

1	B
2	A
3	C
4	E
5	E

ÖĞRENME FAALİYETİ 2'NİN CEVAP ANAHTARI

1	D
2	E
3	A
4	B
5	C

ÖĞRENME FAALİYETİ 3'ÜN CEVAP ANAHTARI

1	A
2	B
3	D
4	E
5	C

ÖĞRENME FAALİYETİ 4'ÜN CEVAP ANAHTARI

1	B
2	A
3	E
4	D
5	A

MODÜL DEĞERLENDİRME CEVAP ANAHTARI

1	Gözle görülemeyen cisim ve maddeleri, mercek yardımıyla büyütürken görülmelerini sağlayan cihaza mikroskop denir.
2	kondansör
3	eritropoetin
4	hematopoez
5	makrofaj
6	trombosit
7	fibrin
8	D
9	B
10	A

KAYNAKÇA

- AÇIKGÖZ Sebahat, **Klinik Hematoloji X.Sınıf**, Türk Sağlık Eğitimi Vakfı, Ankara, 2001.
- ALTINIŞIK Mustafa, **Biyokimya Ders Notları**.
- BAYINDIR Ülkü, Cemil DEMİROĞLU, İsmail DİNÇ, H. Hüsrev HATEMİ, Kaya KILIÇTURGAY, Aydoğan ÖBEK, Ahmet TUNALI, İrfan URGANCIOĞLU, Nuran YAZICIOĞLU, **İç Hastalıkları**, TAŞ Kitapçılık-Yayıncılık Limited Şirketi, Bursa, 1987.
- BERK Önder, **Atlash Kan Hastalıkları Tanı ve Tedavi İlkeleri**, Hekimler Birliği Vakfı Türkiye Klinikleri Yayınevi, 1.Baskı, Ankara, 1989.
- MEHMETOĞLU İdris, **Klinik Biyokimya XI. Sınıf**, Türk Sağlık Eğitimi Vakfı, Ankara, 2002.
- MÜFTÜOĞLU Ekrem, **Klinik Hematoloji ve İmmünoloji**, 2. Baskı, Diyarbakır, 1987.
- MÜFTÜOĞLU Ekrem, **Klinik Hematoloji**, Şahin Yayıncılık ve Dağıtım, 3. Baskı, Diyarbakır, 1995.
- ÖZGÜR Nilgün, **Klinik Hematoloji XI. Sınıf**, Türk Sağlık Eğitimi Vakfı, Ankara, 2001.
- TANYER Gülten, **Hematoloji ve Laboratuvar**, Ayyıldız Matbaası, Ankara, 1985.