

ELEKTROSEDİMENTASYON YENİ BİR YÖNTEM

Gürler İLİÇİN*

Ziya GÜNER**

Cihan YURDAYDIN***

Vecihi BATUMAN

Ferit PEHLİVAN**

İlk kez 1918' de Fahraeus tarafından klinik uygulamaya sokulan sedimentasyon tayininde(4), bazı yöntemler tarif edilmiştir (32). Bunlar arasında en çok tanınanları Westergreen (2,32), Rourke Ernstene (24), Wintrobe (31,32) ve bazı mikroyöntemlerdir (26,32). Sedimentasyon yöntemleri ile ilgili çalışmaların tümünde, ya yeni bir yöntem teklif edilmekte veya varolan gözden geçirilmekte, ya bilinen yöntemlerin klinik uygulamaları sunulmakta veya sedimentasyon hızını etkileyen faktörler gözden geçirilmektedir. Eldeki yöntemlerle eritrosit sedimentasyonu bir sonuç olgu olarak belirlenmekte ve hastalıklar hakkında kalitatif bilgi elde edilememektedir.

1973'den beri geliştirdiğimiz, elektrosedimentasyon diye adlandırdığımız bu yeni yöntemle yüzlerce olgu üzerinde çalışmaktayız (7,12). Burada "elektrosedimentasyon" yöntemi sunulacak ve hastalıklarla ilgili verdiği kalitatif bilgi gözden geçirilecektir.

MATERYEL

Araştırma toplam 170 olguda uygulanmıştır. Çalışmanın uygulandığı birinci grupta organik hastalığı olmayan 50 normal insan bulunmaktadır. Yaşları, 18-60 arasında değişmekte ve ortalama 32'dir. 28'i kadın, 22'si erkektir. İkinci grupta Jones kriterlerine göre seçilmiş 57 romatizmal aktiviteli hasta vardır. Bu hastaların yaşları, 9-42 arasında değişmekte ve ortalama 24'dür. 33'ü kadın, 24'ü erkektir. Üçüncü grupta kan kültürleri ile tanısı kesinleştirilmiş 33 infektif endokarditli hasta bulunmaktadır. Yaşları, 11-39 arasında değişmekte ve ortalama 26'dır. 20'si erkek, 13'ü kadındır. Dördüncü grupta β talassemia minör'lü 30 hasta bulunmaktadır. Hastaların hepsinde hemoglobin elektroforezi yapılarak β talassemia minör tanısı konul-

* Ondokuz Mayıs Ü.T.F. Kardiyoloji Bilim Dalı Profesörü

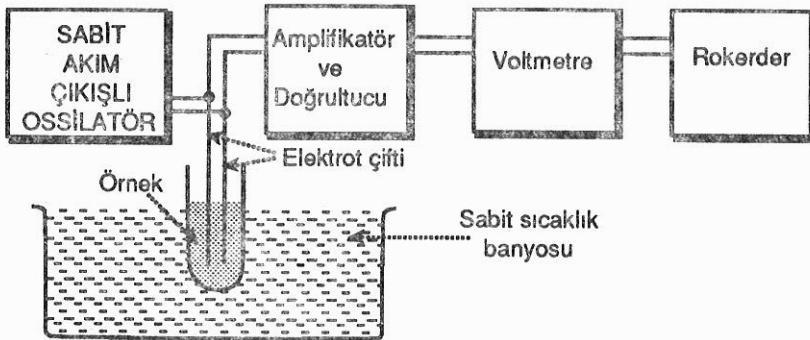
** A.Ü.T.F. Biyofizik Anabilim Dalı Profesörü

*** A.Ü.T.F. Gastroenteroloji Anabilim Dalı Doçenti

muştur. Bu gruptaki olguların yaşı ortalama 29 olmak üzere 28-44 arasında değişmektedir. Hastaların 16'sı kadın, 14'ü erkektir.

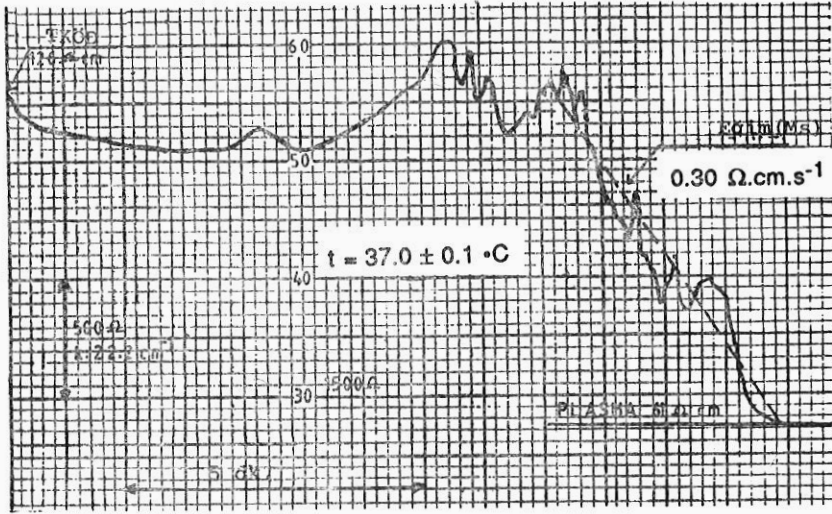
METOT

Elektrosedimentasyon ölçümü için kullanılan sistem, sabit akım çıkışı ossilatör, amplifikatör ve doğrultucu, voltmetre ve rekorder'den oluşmaktadır (Şekil 1). Rekorder, Heath Schlumberger (SR 255 A/E) servo rekorder'dir. Sistemde kullanılan elektrik akımı sinüzoidal, akım şiddeti 8 mikroamperdir. Elektrot/çözelti arayüzüne ait elektriksel çift tabakanın (double layer) kapasitif etkilerini(17) gidermek için akımın frekansı 42 000 Hz olarak seçilmiştir. Sisteme bir dipol elektrot bağlanmıştır. Dipol elektrot, platinden yapılmıştır. Elektrot uçları arasındaki mesafe 1 mm ve elektrot yüzölçümü 0.3 mm²'dir, platin teller akrilik ile yalıtılmış ve 3 mm çaplı silindirik çubuk şeklinde biçimlenmiştir. Rekorder kağıdı üzerindeki 100 bölme, 5000 Ohm'u gösterecek şekilde kalibre edilmiştir. Sisteme ayrıca 37 °C 'a ayarlanmış sabit ısı banyosu ilave edilmiştir.

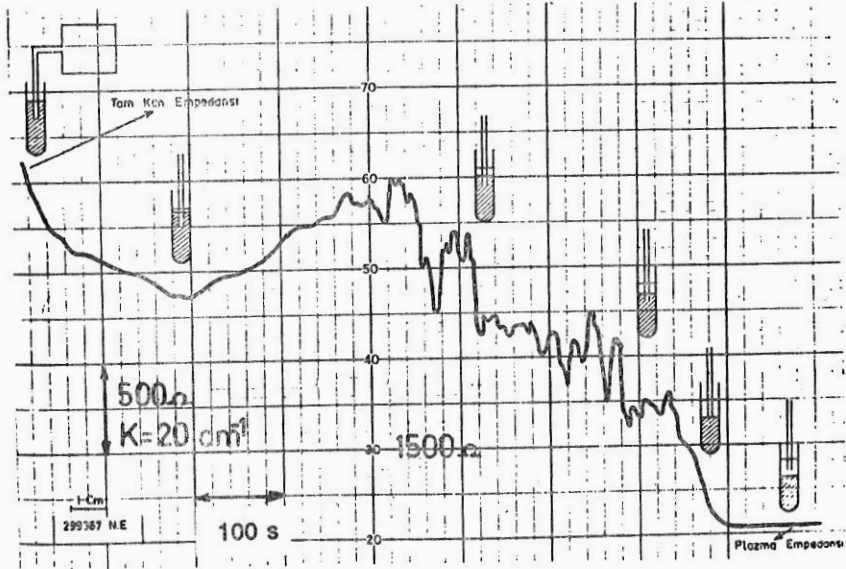


Şekil 1. Elektrosedimentasyon yöntemi blok şeması.

Hastalardan alınan 4 ml heparinize kan, 1 cm çaplı standart tüplere konulmaktadır. Tam kan usulüne göre karıştırılarak sabit ısı banyosuna yerleştirilmekte ve dipol elektrot kan yüzeyinden 5.5 mm derine batırılmaktadır. Düşey olarak konumlanmış tüpte şekilli elemanların çöküşü ile birlikte rekorder kağıdında empedans değişikliklerini aksettiren bir eğri oluşmaktadır. Normal grubun karakteristiğini ve empedans gözlem tüpü içinde olayın gelişimini belirleyen bir eğri Şekil 2'de sunulmuştur. Eğri, tam kan empedansının ölçümü ile başlamakta ve elektrodun zaman içinde plazmaya çıkışı ve plazma empedansının ölçümü ile son bulmaktadır (Şekil 3). Bu yöntemle hesaplanan empedans ölçüm yoluyla, aşağıda sunulan fiziksel temele dayalı olarak, seçilen ortamın lokal öz direnci tayin edilmektedir.



Şekil 2. Normal grubun karakteristiğini örnekleyen bir elektrosedimentasyon eğrisi (TKOD: Tam kan özdirenci).



Şekil 3. Normal grubun karakteristiğini belirleyen tam kan elektrosedimentasyon eğrisi.

Bir ortamdan, noktasal ve birbirine yakın iki elektrot ile akım geçirilerek bulunan rezistif empedans değeri ile ortamın fiziksel özellikleri arasındaki ilişki,

$$Z_R = \frac{V}{I} = \frac{\epsilon_0 \epsilon}{C} \rho \quad (1)$$

şeklinde ifade edilebilir (7). Bu bağıntıda ϵ_0 , ortamın permittivitesi, ϵ , ortamın dielektrik sabiti, C , elektrot sisteminin sığası, ρ , ortamın öz direnci, Z , ortamın rezistif empedansı, V , elektrot uçlarında gözlenen potansiyel farkı, I ise ortamdan geçen toplam akım şiddetidir. Elektrot takımının sığa değeri, ortamın dielektrik sabiti ile oranlı olduğundan kısaca rezistif empedans ile ortamın öz direnç ilişkisi,

$$Z_R = \frac{V}{I} = K \rho \quad (2)$$

bağıntısıyla gösterilebilir. Ölçülen rezistif empedans değerinin ortamın öz direnci ile oranlı olduğunu ortaya koyan bu bağıntıdaki K , elektrot boyutlarına ve konumlarına bağlı olan, bir elektrot takımı için sabit bir katsayıdır. Bu temel özelliği nedeniyle noktasal ve birbirine yakın elektrot çiftleri (dipol elektrot) kullanarak ortamın lokal öz direnç tayinlerinin yapılabilmesi mümkündür.

Elde edilen sedimentasyon eğrileri üzerindeki çalışmalar şu şekilde özetlenebilir:

1. Eğrinin kendini tekrarlayıp tekrarlamadığını belirlemek ve parametrik incelemeler için hastaların büyük bir kısmında eğri en az iki kez çizdirilmiştir.

2. Westergreen yöntemine göre, 43 hastada oda sıcaklığında sedimentasyon hızı belirlenmiş (mm/saat) ve elektrosedimentasyonla sedimentasyon zamanı (saniye) arasında korelasyon eğrisi geliştirilmiştir (Şekil 4).

3. Eğrilerin hastalıklarla ilgili kalitatif bilgi verip vermediğini belirlemek ve elde edilen eğrinin anlamını analiz etmek üzere aşağıda sunulacak parametreler geliştirilmiştir. Daha sonra bu parametreler arasında fonksiyonel ilişki bulunup bulunmadığı araştırılmıştır. Bu parametrelerden eğri üzerinde belirtilebilenler Şekil 5'de gösterilmiştir.

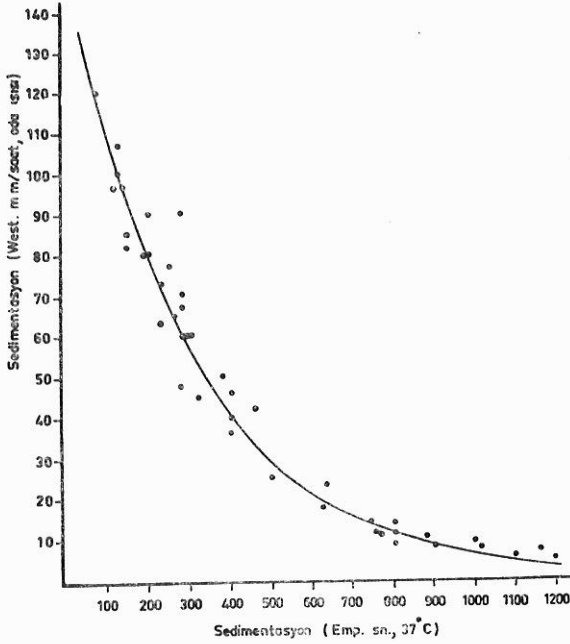
Elektrosedimentasyon eğrilerinin değerlendirilmesinde kullanılan parametrelerin anlamları aşağıda sunulmuştur:

α : Tam kan öz direnci/plazma öz direnci olarak tanımlıdır ($\alpha = Z_{RTK}/Z_{RP}$).

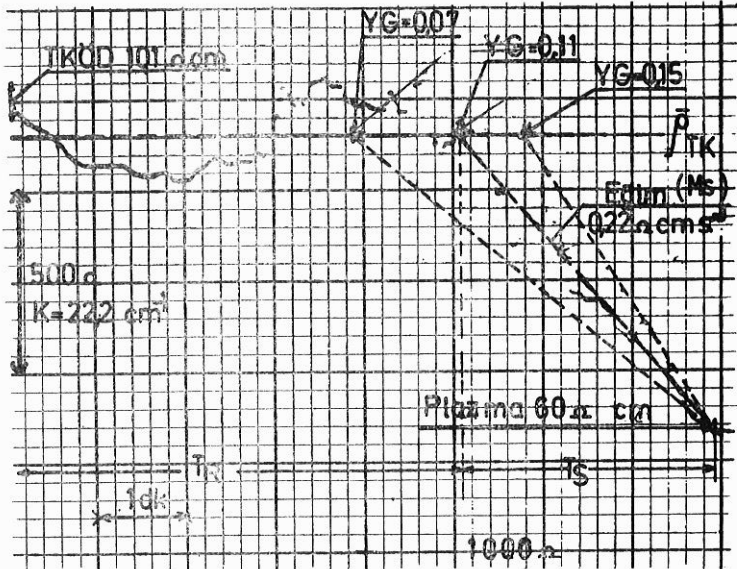
ϕ : Bir ortamda bulunan şekilli elemanların volüm kesridir (yani, örnek içindeki şekilli elemanların toplam hacminin örneğin toplam hacmine oranıdır). Bu parametre ile α parametresi arasında,

$$\phi = \frac{\alpha - 1}{\alpha + 0.5} \quad (3)$$

şeklinde bir ilişki vardır ve bu ilişkinin çıkarılışı ileride verilmiştir.



Şekil 4. Westergreen ve elektrosedimentasyon yöntemleri ile belirlenen sedimentasyon hızları arasındaki ilişkiyi belirleyen korelasyon eğrisi.



Şekil 5. Elektrosedimentasyon eğri analizinde kullanılan çeşitli parametrelerin bir örnek eğri üzerinde tanımları (TKÖD: Tam kan öz direnci; diğer terimler metin içinde açıklanmıştır).

β : Eritrosit sedimentasyonunun başlangıç evresinde eritrositlerin rulolar oluşturdukları ve daha sonra çökmeye başladıkları bilinmektedir. Eğrinin biçiminden (Şekil 5) muhtemelen eritrositlerin rulo-

laşmaları için geçen süreyi belirleyen T_T ve oluşan ruloların hızlı çökme süresi T_S ayırdedilebilmektedir. T_T 'nin T_S 'ye oranı β parametresini verir ($\beta = T_T / T_S$).

M_S : Elektrosedimentasyon eğrisi hızlı çökme sürecinde yaklaşık sabit bir eğimle azalış göstermekte ve üzerinden ortalama bir doğru geçirilebilmektedir. M_S parametresi bu doğrunun eğimi olarak hesaplanmıştır. Sayısal olarak, $M_S = (\rho_{TK} - \rho_p) / T_S$ dir. Burada ρ_{TK} ortalama tam kan özdirenci, ρ_p , plazma özdirenci ve T_S , ruloların hızlı sedimentasyon süresini belirlemektedir.

T_t : Eğrinin tamamlanması için geçen total süredir. Ruloleşma süresi olarak kabul edilen T_T ile hızlı sedimentasyon süresi T_S 'nin toplamıdır ($T_t = T_T + T_S$).

YG: M_S ve α parametrelerinin hesaplanmasında bulunan değerler, M_S 'in α 'ya bağımlı olduğunu tekin etmiştir. Bu ilişkinin, $M_S = YG(\alpha) + n$ biçiminde olduğu saptanmıştır. YG, korelasyon doğrusunun eğim katsayısıdır. Bu parametre, hızlı sedimentasyon süresinin hematokrit değerine göre değişimini belirlemektedir.

Bu araştırmada toplam 170 olguda tanımlanan elektrosedimentasyon eğrisi ikişer defa çizdirildi. Toplam 15 normal ve 43 romatizmal aktiviteli hastanın hematokrit değerleri, mikrosantrifüj yöntemi ve sedimentasyon eğrisinden tam kan ve plazma rezistif empedansları ölçülerek [3] formülüne göre hesaplandı ve aralarındaki korelasyon eğrisi belirlendi. Toplam 57 romatizmal aktiviteli, 33 infektif endokarditli ve 50 normal olguda elektrosedimentasyon eğrisi çizdirildi. Romatizmal aktiviteli ve infektif endokarditli hastaların eğrilerinin birbirinden ayrılabilirliği, yine her iki hastalık grubuna ait eğrilerin normal olguların eğrilerinden ayrılabilirliği araştırıldı. Nihayet 30 talassemia minör'lü kişinin elektrosedimentasyon eğrisi normal olguların eğrileriyle karşılaştırıldı.

Çalışmada istatistikî değerlendirme "unpaired student's t testi" ne göre yapıldı.

Şekliil Elemanların Volum Kesri ile Bağıl Empedans İlişkisi

Elektrolitik bir ortamın iletkenliği, iyon konsantrasyonları ve mobiliteleri cinsinden en genel şekilde,

$$\sigma = \sum (n^+_i Z^+_i e \mu^+_i + n^-_j Z^-_j e \mu^-_j) \quad (4)$$

bağıntısıyla ifade edilebilir. Burada n iyon konsantrasyonunu, μ iyon mobilitelerini, Z iyon değerliliğini ve e de bir elektron yükünü göstermektedir. i ve j harfleri farklı iyon çeşitlerini belirleyen indislerdir.

Başlıca Na, Cl ve az miktarda başka anyon ve katyonları ihtiva eden vücut sıvıları için iletkenlik,

$$\sigma = n^+_{Na} e \mu^+_{Na} + n^-_{Cl} e \mu^-_{Cl} + \sum (n^+_{Ka} Z^+_{Ka} e \mu^+_{Ka} + n^-_A Z^-_A e \mu^-_A) \quad (5)$$

şeklinde yazılabilir (A: Anyon, Ka: Katyon). Plazma sıvısında sodyum ve klorun kon-

santrasyon ve mobiliteyi yanında diğer iyon ve şekilli elemanların konsantrasyon ve mobiliteyi çok düşük olduğundan, [5] denkleminde diğer terimler ihmal edilerek ve $(n^+_{Na} e \mu^+_{Na})$ parantezine alınarak, iyi bir yaklaşımla,

$$\sigma = n^+_{Na} e \mu^+_{Na} \left(1 + \frac{n_{Cl} \mu_{Cl}}{n_{Na} \mu_{Na}} \right) \quad (6)$$

denklemini oluşturulabilir. Bu denklem plazma sıvısında akımın başlıca Na ve Cl iyonları tarafından oluşturulduğunu göstermektedir. Bu bağıntının parantez terimi n^-_{Cl} (105 mEq/l), n^+_{Na} (144 mEq/l), μ^-_{Cl} ($6.5 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{V.s}$) ve μ^+_{Na} ($4.3 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{V.s}$) için ortalama değerler alınarak, plazma sıvısında 1.92 olarak bulunmuştur (3).

Bir elektrolit içine yalıtkan şekilli elemanlar katıldığında ortamın iletkenliğinin ve viskozluğunun değiştiği bilinmektedir (22). Bu özelliğin şekilli eleman içeren tam kan sıvısı için geçerli olduğu ve kan sıvısı viskozluğu ile hematokrit değeri arasında kesin bir ilişki bulunduğu Pirofsky (19) tarafından gösterilmiş ve şekilli eleman volüm kesri ile iletkenlik değişimi ilişkisi belirlenmiştir.

Belli bir volüm kesrinde şekilli eleman içeren bir ortamın elektriksel iletkenliğini σ^x ve şekilli elemanları arıtıldıktan sonra ölçülen iletkenliğini σ_0 ile gösterelim. Kan sıvısı, şekilli eleman içeren bir elektrolitik ortam olduğundan tam kan ve plazmanın iletkenlik değerlerinin farklı olacağı açıktır. İçinde yalıtkan ve süspansiyon halinde cisimcikler bulunan bir elektrolitin elektriksel iletkenliğinin ve viskozluğunun değişmesi olayının nedeni birçok araştırmacı tarafından inceleme konusu yapılmış ve deney sonuçları ile kısmen tutarlı çözümler vermişlerdir (5,28). Biz, kan sıvısında toplam şekilli eleman hacim kesri ile iletkenlik değişimi arasındaki ilişkiyi araştırırken obstrüksiyon modeline (22) uyararak,

a) yalıtkan cisimcikler içeren bir elektrolit süspansiyonunda bu cisimcikler arası elektrolitin birim hacimdeki iyon sayısı ve bu iyon mobilitelerindeki değişimin ihmal edilebilir bir düzeyde olduğu,

b) cisimciklerin başlıca etkin iletim kesit alanında ve etkin iletim uzunluğunda değişiklik meydana getirdiği (22), postülatlarını temel alarak şekilli elemanlar volüm kesri ile ortam iletkenlikleri arasındaki ilişkinin değişik morfolojideki (silindirik, küresel, kübik) cisimcikler için yaptığımız hesaplamalarda,

$$\frac{\sigma_0}{\sigma^x} = \frac{1 + \beta \phi}{1 - \gamma \phi} \quad (7)$$

şeklinde ifade edilebileceği sonucuna vardık. Burada β ve γ obstrüksiyon yapan cisimciklerin biçimine göre değişen parametrelerdir. Yaptığımız karşılaştırmalı deneylerde kan sıvısı için $\gamma = 1$ ve $\beta = 0.5$ yaklaşımının geçerli olduğunu saptayarak,

$$\frac{\sigma_0}{\sigma^x} = \frac{1 + 0.5 \phi}{1 - \phi} \quad (8)$$

bağıntısını kurduk.

Alınan bir tam kan örneğinin öz direnç değerini ρ_{TK} ve plazmanın öz direncini de ρ_P ile gösterelim. Öz direnç ve iletkenlik arasındaki $\rho = 1/\sigma$ ilişkisi, iletkenliklerle ϕ kan hücreleri volüm kesri arasındaki [7] bağıntısı ve [2] bağıntısı birlikte dikkate alınarak,

$$\alpha = \frac{Z_{RTK}}{Z_{RP}} = \frac{\rho_{TK}}{\rho_P} = \frac{1 + 0.5 \phi}{1 - \phi} \quad (9)$$

bağıntısı elde edilir. Burada Z_{RTK} tam kan rezistif empedansı, Z_{RP} ise plazmanın empedansıdır. $Z_{RTK}/Z_{RP} = \alpha$ ile gösterilerek ve [10] denkleminde ϕ çözümlenerek,

$$\phi = \frac{\alpha - 1}{\alpha + 0.5} \quad (10)$$

bağıntısı bulunur. İnsan kanındaki hücrelerin çok büyük bir kısmı eritrosit olduğuna göre tam kanda bu yöntemle bulunan volüm kesri hematokrit değerine eşit sayılabilir.

BULGULAR

1. Eğriler "reproducibile" dir. Kanın standart çalkalanmasına dikkat edilir ve elektrot konumuna titizlikle uyulursa, eğriler benzer olarak tekrarlanmaktadır.

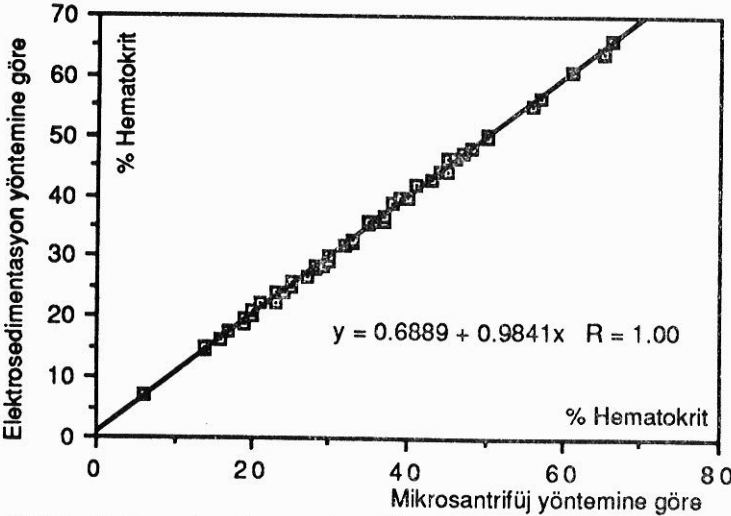
2. Westergreen ve empedans yönteminden 43 hastada elde edilen total sedimentasyon süresi arasında korelasyon vardır (Şekil 3).

3. Eğrilerin hastalık grupları arasında farklılık gösterip göstermediğini araştırmak amacıyla yapılan araştırmaların sonucu şöyle özetlenebilir:

a. Hematokrit değerleri geniş bir aralıkta değişen normal ve patolojik 61 kan örneğinin mikrosantrifüj yöntemi ile hesaplanan hematokrit değerleri ile elektrosedimentasyon eğrisinden geliştirdiğimiz formülle hesaplanan değerleri arasında tam bir tutarlılık saptanmış (8), Şekil 6 da görüldüğü gibi korelasyon katsayısı $R=1.00$ bulunmuştur.

b. Tablo I 'de elektrosedimentasyon eğrilerinin değerlendirilmesinde tanımlanan parametrelerin ortalama değerleri, Tablo II de ise dört gruba ait bu parametrelerin istatistiksel karşılaştırılması sunulmuştur.

Tablo III 'de romatizmal aktiviteli hastaların parametreleri ile in-



Şekil 6. Elektrosedimentasyon yöntemi ile belirlenen hematokrit değerlerinin mikrosantrifüj yöntemi ile belirlenen hematokrit değerleri ile karşılaştırılması.

Tablo I. Eğrilerin değerlendirilmesinde kullanılan parametrelerin ortalamaları ve standart sapmaları (SD).

	$\alpha = \frac{Z_{TK}}{Z_p}$	$\beta = \frac{T_R}{T_s}$	M_s $\Omega. cm. s^{-1}$	YG $\Omega. cm. s^{-1}$	T_t dak.
Grup I (Normal)	2.50 ± 0.30	1.50 ± 0.30	0.32 ± 0.05	0.11 ± 0.02	17 ± 3
Grup II (R. A.)	1.70 ± 0.20	1.20 ± 0.50	0.16 ± 0.05	0.07 ± 0.02	7.5 ± 3
Grup III (I.E.)	1.80 ± 0.22	2.00 ± 0.70	0.30 ± 0.05	0.15 ± 0.02	8 ± 2
Grup IV (Th. Min.)	1.98 ± 0.25	<1	0.06 ± 0.03	--	19 ± 4

R.A.: Romatizmal aktivite, I.E.: İnfektif endokardit, Th.Min.: Talassemia minör

Tablo II. Parametrelerin istatistiksel karşılaştırılması

	α	β	M_s	YG
Grup I - II (N. ve R.A.)	$p < 0.01$	$p < 0.05$	$p < 0.01$	$p < 0.001$
Grup I - III (N. ve I.E.)	$p < 0.01$	$p < 0.05$	$p > 0.40$	$p < 0.01$
Grup I - IV (N. ve Th. Min.)	$p > 0.40$	$p < 0.01$	$p < 0.001$	--

N. : Normal, R.A. : Romatizmal aktivite,
I.E.: İnfektif endokardit, Th.Min. Talassemia minör

Tablo III. Romatizmal aktivite - infektif endokardit ayırımında parametrelerin istatistiksel karşılaştırılması

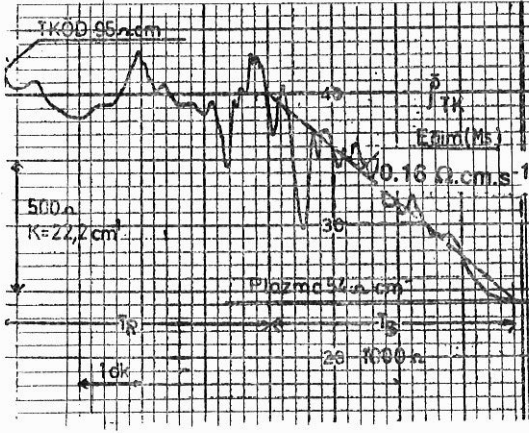
	α	β	M_s	YG
Grup II - III (R.A. ve I.E.)	$p < 0.50$	$p < 0.05$	$p < 0.01$	$p < 0.001$

R.A.: Romatizmal aktivite, I.E.: İnfektif endokardit

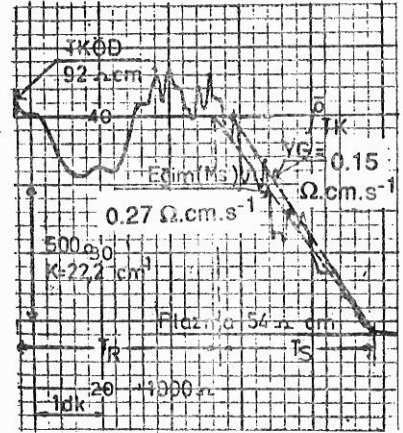
infektif endokarditlilerin parametrelerinin istatistiksel karşılaştırılması sunulmuştur.

İstatistiksel verilerden anlaşılacağı gibi normal olguların eğrileri diğer gruplardan ayrılabilir. Romatizmal aktiviteli hastaların β , M_s ve YG parametreleri infektif endokarditlilerden anlamlı şekilde farklıdır. Bunlar arasında YG parametresi en belirleyici olanıdır. Genel seride romatizmal aktivite, infektif endokardit ayırımı % 86 oranında yapılabilmektedir. Şekil 7 de romatizmal aktiviteli, Şekil 8 de ise infektif endokarditli hastalara ait birer örnek sunulmuştur.

Normal olguların elektrosedimentasyon eğrileri ile β talassemia minör'lü hastaların eğrileri % 92 oranında birbirinden ayrılabilir. Olguların % 57'sinde parametrik değerlendirmeye dahi gerek kalmadan



Şekil 7. Romatizmal aktiviteli bir hastaya ait elektrosedimentasyon eğri örneği. (TKÖD: Tam kan öz direnci; diğer terimler metin içinde açıklanmıştır).



Şekil 8. İnfektif endokarditli bir hastaya ait elektrosedimentasyon eğri örneği (TKÖD: Tam kan öz direnci; diğer terimler metin içinde açıklanmıştır).

gözle ayırım yapılabilir. Parametrelerden en belirleyici olanı M_s 'dir.

Hastalık gruplarının kan örnekleri için M_s ve α değerleri arasında bulunan doğrusal ilişki denklemi ve istatistik parametre değerleri Tablo IV'da verilmektedir. Bu parametrelerden r korelasyon katsayısı, n istatistik değerlendirmeye giren öge sayısı, p anlamlılık düzeyi, S_{xy} , $M_s = f(\alpha)$ ilişkisinde M_s ölçü değerlerinin istatistik korelasyon doğrusu dolaylarında dağılımını belirleyen parametredir.

Tablo IV. Hastalık gruplarının kan örnekleri için M_s ve α parametreleri arasında bulunan ilişki denklemi ve istatistik parametreler

	İlişki denklemi	r	n	p	S_{xy}
Grup I (N.)	$M_s = 0.11 \alpha + 0.04$	0.80	50	< 0.01	± 0.04
Grup II (R.A)	$M_s = 0.07 \alpha + 0.04$	0.39	42	< 0.05	± 0.05
Grup III (I.E.)	$M_s = 0.15 \alpha + 0.03$	0.80	33	< 0.01	± 0.04
Grup IV (Th. Min.)	$M_s = f(\alpha)$	belirlenemedi.			
N. : Normal,		R.A. : Romatizmal aktivite,			
I.E.: İnfektif endokardit,		Th.Min. Thalassemia minor			

TARTIŞMA

Bugün tıpta sedimentasyon denilince, belirli bir zaman içinde eritrositlerin çökme hızını belirleyen ve hastalıklar hakkında kalitatif bilgi vermeyen bir yöntem akla gelmektedir. Gerçekten 1918'de Fahrae-

us (4) tarafından uygulamaya sokulduktan sonra üzerinde yoğun araştırmalar yapılmış, Westergreen (2,32), Wintrobe (31,32), Rourke Ernstene (24) ve bazı mikroyöntemler (26,32) tanımlanmıştır. Hangi yöntem olursa olsun, bunların tümünde, ya belirli bir zamanda eritrositlerin çökme hızı mm/h olarak saptanmakta veya eritrositlerin belirli bir mesafede çökmesi için geçen süre değerlendirilmektedir. Elde edilen sonuç ise non spesifiktir.

Sedimentasyon olayı, eritrositlerin birbirlerine yapışarak rulolar oluşturmaları ile başlamaktadır (1,29). Normal hızlardaki sedimentasyonda ilk beş dakika içinde ruloların oluştuğu bilinmektedir (1). İlk 5-15 dakika içinde büyük rulolar oluşur (1,29).. 1957'de Washburn ve Meyers (29)'ın mikroskopik tetkikle sedimentasyon olayını inceledikleri çalışmada 300-400 hücre içeren ruloların 32 saniyede 1 mm, 50-60 hücrelik ruloların 75 saniyede 1 mm çöktüğü gösterilmiştir. Sedimentasyonu hızlı olan olgularda rulo formasyonu da hızlı olmakta ve ilk dakika içinde 20-30 hücrelik rulolar gelişmektedir. Elektrosedimentasyon eğrisi, sedimentasyonu normal olan kişilerde 15-20 dakikada sonuçlanmaktadır. Eğrilerin incelenmesinden anlaşılacağı gibi geçen sürenin yaklaşık 1/3'ünde empedansta büyük bir değişiklik olmamaktadır. Bu dönemde muhtemelen rulolar oluşmakta ve bu rulolar daha sonra yoğunluk farklarına göre karakteristik eğriyi oluşturmaktadır. Eğrinin standart çalkalama ve dipol elektrodun konumuna göre titizlikle uyulması halinde 'reproducible' olması, girinti ve çıkıntılarının rastgele sıralanmadığını göstermektedir. Daha ayrıntılı gözlem tetkikleri ile rulolar hakkında daha ayrıntılı bilgi almak kuşkusuz olasıdır.

Elektrosedimentasyon eğrisi ile Westergreen metodundan elde edilen 43 hastaya ait sonuçlardan geliştirilen korelasyon eğrisi Şekil 4'de sunulmaktadır. Şekilde düşey ekseninde mm/saat olarak Westergreen sonuçları, yatay ekseninde ise saniye olarak empedans sonuçları verilmiştir. Kuşkusuz, belirlediğimiz gözlem koşullarının dışında değişik sıcaklık ve elektrot derinliğinin kullanılması ile yeni korelasyon eğrileri geliştirilebilir.

Doku iletkenliği gözlemleri, tıp ve biyoloji bilimlerinde uygulama ve araştırma amaçlarıyla ve otomatikleştirilmiş hematolojik ölçümlerle kullanılmaktadır (6,25).

Değişik model "Coulter Counter" larda ve SMA gibi araçlarda elektriksel iletkenlik ölçümlerinden belirli hücre sayımları ve hematokrit tahminleri güvenilir yöntemler olarak günlük uygulamaya girmiştir (18,30).. Ancak bu yöntemlerin hepsinde verilen kan örneğinde sadece tam kan iletkenlik ölçümü yapılmakta ve hazırlanmış dönüşüm tablolarından belirli iletkenlik ölçümlerine korele edilmiş olan hematokrit

veya diğer bir hematolojik indis değeri okunmaktadır (18,30).

Bizim çalışmamızda ise elektrosedimentasyon eğrisinde hem tam kanın, hem de plazmanın rezistif empedans değeri ölçülmekte ve kurduğumuz [3] bağıntısı ile hematokrit değeri bir korelasyon tablosuna gerek kalmadan tayin edilebilmektedir. Bu yöntemle bulunan hematokrit değerleri ile mikrosantrifüj yöntemi ile belirlenen değerler arasında mükemmel bir tutarlılık saptanmıştır (2). Tam kan ve plazma rezistif empedans değerleri arasında oranlama yapıldığından, geliştirdiğimiz yöntemle yapılan ölçümler elektrot şartlarındaki herhangi bir değişimden bağımsızdır. Halbuki yalnız tam kan iletkenlik ölçümünü esas alan yöntemlerde elektrot şartlarındaki değişimler sonuçlarda sapmalara yol açmaktadır. Ayrıca diğer elektronik yöntemlerle Lappin'in (27) üzerinde çok durduğu hatalardan ve sıkıştırılmış hücre topluluğu içinde tutuklanan plazmanın yol açtığı yanılmalardan kurtulmak mümkün olmuştur.

Literatürde Ponder'in (20), plazma ve tam kan rezistif empedans ölçümlerinden yola çıkarak bir hematokrit tayin yöntemini ileri sürdüğünü biliyoruz. 1935'de bildirilen bu çalışmayı takip eden yayınlarda 1948'de Rosenthal ve Tobias (23), Ponder'in tanımladığı formülle elde edilen hematokrit hesabının diğer yöntemlere göre % 7.7 daha düşük değer verdiği ileri sürmüştür.

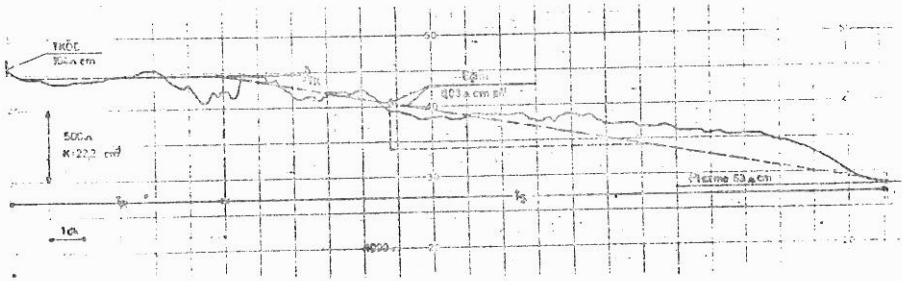
Rezistif empedans değerleri ile hematokrit ilişkisini belirleyen [3] bağıntısından elde edilen hematokrit değerlerinin mikrosantrifüj yöntemiyle tayin edilen değerlerle tam bir tutarlılık göstermesi, heparinlenmiş kan örneklerinde eritrosit gruplarının plazma iletkenliğini sferoid veya silindirik nötr ve yalıtkan kümeler tarzında etkilediği ve çok küçük akım şiddetlerinde (mikroamper düzeyinde) elektriksel iletimta başlıca Na ve Cl iyonlarıyla oluştuğu sonucunu ortaya koymaktadır.

Araştırmamızda elektrosedimentasyon eğrisinin yorumlanması açısından kullanılan parametrelerin önemli bir kısmı (T_r , T_s , M_s) rulo oluşumu süresi ve ruloların sedimentasyonunu belirlemektedir. Hematokrit değeri eğrinin görünümünü etkilediği için M_s parametresi, α ile bağımlılık göstermektedir. M_s ile α arasındaki ilişki denklemi ile belirlenen YG parametresi tayini ile elde edilen değerlendirme, sadece M_s 'e bağlı değerlendirmeden gelen güçlükleri aşmakta ve yöntemi daha güvenilir hale getirmektedir.

Romatizmal aktiviteli hastalarla, infeksiyöz endokarditlilerin elektrosedimentasyon eğrileri % 86 oranında birbirinden ayrılabilir. Sunulan parametrelerden β , M_s ve YG istatistiksel bakımdan ayırtıcıdır. Bunların içinde en belirleyici olanı YG'dir ($p < 0.001$). Hematokrit'in % 25'in üzerinde bulunduğu olgularda bu ayırımı gözle rahatlıkla yapılabilmektedir. Hematokrit'in düşük olduğu hastalarda ise parametrik değerlendirme gereksinim vardır.

Daha önceki araştırmalarımızda, akut romatizmal ateş ve diğer kollajen doku hastalığı olan olguların eğrilerinin birbirlerine benzediğini ve parametrik analizde dâhil ayırlamadığını saptamıştık (10). Aynı şekilde infektif endokarditli hastaların elektrosedimentasyon eğrileri de genel infeksiyonlu diğer olguların eğrilerine benzemekle ve parametrik olarak dahi ayırlanamamaktadır. Düşüncemize göre otoimmün ve bakteriyel orjinli hastaların eğrilerinin birbirlerinden farklılık göstermesi muhtemelen bu hastalıklar arasında eritrosit rulo-laşma fenomenlerinin aynı olması ile açıklanabilir.

Elektrosedimentasyon eğrisi üzerinde çalıştığımız yıllarda bazı "atipik" görünümlü eğriler buluyor ve bunları bir kenara ayırıyorduk. Bu eğrilerde (Şekil 9) sedimentasyon daha uzun sürüyor ve eğri muhtemelen küçük ruloların elektrot gözlem sahasından geçişine bağlı olarak daha az girintili ve çıkıntılı seyrediyordu. Bir gün normal bir kana gereksinin duyduğumuz için çalışma ekibinden Dr. Yurdaydın'ın kanını inceleyince benzer eğriyi görmemiz üzerine "atipik" dediğimiz eğriler "tipik" hale dönüştü, çünkü Dr. Yurdaydın kendisinde β talasemia minör olduğunu biliyordu.



Şekil 9. Talasemia minör'lü bir hastaya ait elektrosedimentasyon eğri örneği (TKÖD: Tam kan özürenci; diğer terimler metin içinde açıklanmıştır).

β talasemia minör'lü 30 hastanın eğrilerinin % 92'sinde "tipik" talasemia minör eğrisi elde edilmiştir. Bu durum özellikle sedimentasyon hızının yavaş olduğu talasemia minör hastalar için parametrik değerlendirilmeye gerek duyulmadan gözle ortaya konulabilmektedir. 16 olguda (% 57) bu böyledir. 11 olguda (% 39) parametrik değerlendirme gerekmiş, üç olguda ise ayırım yapılamamıştır. Parametrik analizde en belirleyici parametre M_S 'dir ($p < 0.0001$).

Talasemia minör'lü hastaların normalden kolayca ayrılabilen tipik görünümlü eğrileri muhtemelen bu kişilerde anizositoz, poikilositoz ve mikrositoz nedeniyle ruloların daha küçük olmaları ile açıklanabilecektir. Çalışmamızla uyumlu olarak Stasiw ve arkadaşları

(27) thalassemia minör'lü hastalarda sedimentasyon yarılanma süresinin anlamlı olarak uzun olduğunu belirtmişlerdir.

"Ayırimsız" kan örnekleri, romatizmal aktivite-infektif endokardit ayırımında % 14, normal - β thalassemia minör ayırımında ise % 8'dir. Bu olguların % 90'ında hematokrit % 25'den aşağı değerlerdedir.

Elektrosedimentasyon eğrisinin konvansiyonel metotlara göre dezavantaj ve avantajları aşağıda özetlenmiştir.

Dezavantajlar:

1. Birkaç ögeli bir gözlem sistemine ihtiyaç vardır.
2. Teknik hatalardan kaçınmak için belirli kan miktarı ve elektrot konumu gibi koşullara titizlikle uyulmalıdır.
3. Özel eğitilmiş teknik personele ihtiyaç göstermektedir.

Avantajlar:

1. Sedimentasyon fenomeni daha çabuk değerlendirilebilmektedir.
2. Sabit sıcaklıkta çalışma zorunluluğu olduğu için diğer yöntemlerde olduğu gibi sıcaklık düzeltme nomogramlarına gerek yoktur.
3. Sedimentasyon eğrisinden hematokrit hesaplanabilmektedir.
4. Geliştirilen korelasyon eğrisiyle sedimentasyon hızı kolayca mm/saat olarak belirlenebilmektedir.
5. En önemli avantajı ise sedimentasyonun tekrarlanabilen bir eğri ile belirlenebilmesi ve bu eğrilerin hastalıklarla ilgili kalitatif bilgi verebilmesi olanağıdır.

Kanımızca sedimentasyon olayını tüpün dışından değil içinden bakılmalıdır. Konu, kuşkusuz daha ileri araştırmalara açıktır.

ÖZET

Eritrositlerin çökme olgusunu belirleyen yeni bir yöntem (elektrosedimentasyon) sunuldu. Elektrosedimentasyon ölçüm ve eğri analizinden sedimentasyon hızı ve hematokrit tayini ile birlikte, hastalıklar hakkında kalitatif bilgi çıkarılabileceği saptandı. 120 olguyu kapsayan incelemede romatizmal aktiviteli hastaların eğrilerinin infektif endokarditlilerden % 86, β thalassemia minör'lü hastaların ise normal olgulardan % 92 oranında ayrılabilirdiği anlaşıldı. Bu farklılığın bahsedilen hastalarda eritrosit rulolaşma karakteristiklerinin değişikliğine bağlı olabileceği görüşü öne sürüldü. Yeni yöntemin sedimentasyon fenomeni kavramına getirdiği yenilikler tartışıldı.

SUMMARY

**Electrosedimentation
A New Method**

A new method (electrosedimentation) for measuring the erythrocyte sedimentation rate (ESR) was presented. The ESR and hematocrit values determined by means of this method were in good agreement with those obtained with conventional methods. It was further shown that electrosedimentation may as well provide qualitative information that could be used for differential diagnosis of certain diseases. In this study on 120 patients and 50 normals, rheumatic activity could be differentiated from infective endocarditis in 80 %, and β -thalassemia from normals in 92 % of the cases. It was suggested that the different curves obtained were due to different rouleaux formation characteristics. Advantages and disadvantages of employing this new ESR determination method in clinical practice were discussed.

KAYNAKLAR

1. Cutts JH: Cell Separation, Methods in Hematology, First edition, Academic Press, New York-London, p.39, 1970.
2. Dawson JB: The ESR in a new dress. *Br Med J*, 1:1697, 1960.
3. Documenta Geigy: Scientific tables, 6th edition, ed.:Konrad Diem JR, Geigy SA, Basle, Switzerland, p.568, 1962.
4. Fahraeus R: The suspension stability of the blood. *Acta Med Scand*, 55:1, 1921.
5. Fricke H: The Maxwell-Wagner dispersion in a suspension of ellipsoids. *J Physic Chem*, 57:934, 1965.
6. Green AE, Signy AG: Determination of the hematocrit using SMA-4. *J Clin Pathol*, 21:533, 1968.
7. Güner Z: Elektrolitlerde ve biyolojik materyelde lokal öz direnç ve mobilite değişim oranı tayini. *AÜ Tıp Fak Mec*, 26:1099, 1973.
8. Güner Z, Batuman V, Iliçin G: Tam kan ve plazma rezistif empedans ölçümlerinden yeni bir hematokrit tayin yöntemi. *AÜ Tıp Fak Mec*, 26:593, 1973.
9. Güner Z, Iliçin G, Yurdaydın C, Sorkun M: Eritrosit empedans sedimentasyon eğrisinin romatizmal aktivite ve infektif endokardit ayırıcı tanısındaki değeri. *Ankara Tıp Bülteni*, 2:257, 1980.
10. Iliçin G, Güner Z: Empedans yöntemi ile elde edilen sedimentasyon eğrisinin subakut bakteriyel endokardit ve romatizmal aktivitede değerlendirilmesi. *Türk Kard Der Arş*, 6:145, 1976.
11. Iliçin G, Güner Z, Karamehmetoğlu A: Recording of red blood cell sedimentation (ESR) as a curve by impedance method and its value in differential diagnosis. *7th European Congress of Cardiology, Abstract Book II*, 288, 1976.
12. Iliçin G, Güner Z, Yurdaydın C: Eritrosit empedans sedimentasyon eğrisinin β talassemia minör tanısındaki değeri. *Ankara Tıp Bülteni*, 2:303, 1980.
13. Lappin TRJ, Lamont A: A cause of error in the determination of the hematocrit using the SMA-4. *J Clin Pathol*, 21:114, 1968.

14. Lappin TRJ, Lamont A, Nelson MG: An evaluation of the auto analyser SMA-4. *J Clin Pathol*, 22:11, 1969.
15. Lappin TRJ, Lamont A, Nelson MG: An evaluation of the Fisher Hemalyser. *J Clin Pathol*, 23:60, 1970.
16. Nelson MG: Multichannel continuous flow analysis on the SMA-4/7. *J Clin Pathol (Suppl 3)*, 22:20, 1969.
17. Pehlivan F: Comparative study of the conductivity and the complex dielectric constant of the metal-solution interface for biological and alkali halide solutions. *Chem Abst*, 87: 610, 1977.
18. Pinkerton PH, et al: An assessment of the coulter counter model S. *J Clin Pathol*, 23:68, 1970.
19. Pirofsky B: The determination of blood viscosity in man by a method based on Poiseuille's law. *J Clin Invest*, 32:292, 1935.
20. Ponder E: The measurement of red cell volume. Conductivity measurements. *J Physiol*, 85:439, 1935.
21. Ranoff OD, Menzie C: A new method for the determination of fibrinogen in small samples of plasma. *J Lab Clin Med*, 37:316, 1951.
22. Robinson RA, Stokes HA: *Electrolyte Solutions*, 2nd edition, Butterworths, London, p.310, 1968.
23. Rosenthal RL, Tobias CW: Measurement of the electric resistance of human blood. Use in coagulation studies and cell volume determinations. *J Lab Clin Med*, 33:1110, 1948.
24. Rourke MD, Ernsteni AC: A method for correcting the erythrocyte sedimentation rate for variations in the cell volume percentage of blood. *J Clin Invest*, 8:545, 1930.
25. Sipe CR, Crankite EP: Studies on the application of the coulter electronic counter in enumeration of platelets. *Ann NY Acad Sci*, 99:262, 1962.
26. Smith CH: A method for determining the sedimentation rate and red cell volume in infants and children with the use of capillary blood. *Am J Med Sci*, 197:73, 1936.
27. Stasiw DM, et al: Some hemorheological and hematological parameters in heterozygous B-thalassemia. *Biorheology*, 14:1, 1977.
28. Wang JH: Theory of the self diffusion of water in protein solutions. *J Am Chem Soc*, 76:4755, 1968.
29. Washburn AH, Meyers AJ: The sedimentation of erythrocytes at an angle of 45 degrees. *J Lab Clin Med*, 49:318, 1957.
30. Williams JW, Beutler E, Erslew JA, Rundles RW: *Hematology*, McGraw Hill Book Co., New York, 1972.
31. Wintrobe MM, Lansberg JW: A standardized technique for the blood sedimentation test. *Am J Med Sci*, 189:102, 1935.
32. Wintrobe MM: *Clinical Hematology*, Fifth edition, Lea, Febiger, Philadelphia, 407, 1961.