

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOKİMYA (VETERİNER)**  
**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**  
**VBY-2020-0001**

**KOYUNLARDA PLAZMA LAKTAT ÖLÇÜMÜNDE**  
**KOLORİMETRİK YÖNTEM İLE HASTA BAŞI TEST**  
**CİHAZININ KARŞILAŞTIRILMASI**

**Harun KAHRAMAN**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Pınar Alkım ULUTAŞ**

Bu proje Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-18035 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2020**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesince Harun KAHRAMAN tarafından hazırlanan ‘Koyunlarda Plazma Laktat Ölçümünde Kolorimetrik Yöntem ile Hasta Başı Test Cihazının Karşılaştırılması’ başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi Olarak Kabul Edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 13/02/2020

Üye (T.D.) : Prof. Dr. Pınar Alkım ULUTAŞ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Funda KIRAL Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Abdülkerim DENİZ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

### ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ...../...../2020 tarih ve ..... sayılı oturumunda alınan ..... Nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisansımın her aşamasında ilgi ve desteğini hiç eksik etmeyerek eğitimime büyük katkı sağlayan, çalışmalarımın her anında yanında olup beni yönlendirerek bu tezin hazırlanmasında büyük emek sarfeden, yanında çalışmaktan onur duyduğum değerli hocam Prof. Dr. Pınar Alkım ULUTAŞ'a,

Yüksek lisansımın her aşamasında mesleki, bilimsel ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK, Prof. Dr. Funda KIRAL, Doç. Dr. Serap Ünübol AYPAK'a, İstatistik analizi yardımlarından dolayı Prof. Dr. Hüsnü Erbay BARDAKÇIOĞLU'na,

Çalışmam için kan örneklerini sağlayan Aydın Büyükşehir Belediyesi Sakız ırkı koyun çiftliği sorumlularına, zor zamanlarımı kolaylaştıran değerli meslektaşlarım Bilgehan AKAR, Emin GÖNÜL'e,

Birçok fedakarlıkla benim bu günlere gelmemi sağlayan, babam Mehmet KAHRAMAN ve annem Ümmühan KAHRAMAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Laktik Asit.....	3
2.2. Glikozun Yıkımı (Glikoliz).....	4
2.3. Oksijenin Önemi.....	5
2.4. Krebs Döngüsü.....	5
2.5. Elektron Taşıma Zinciri.....	7
2.6. Monokarboksilat Taşıyıcı.....	8
2.7. Laktat.....	8
2.7.1. Normal Laktat Konsantrasyonu.....	9
2.7.2. Normal Laktat Metabolizması.....	9
2.8. Laktik Asit ve Laktat.....	10
2.9. D-Laktat ve L-Laktat.....	11
2.10. Hiperlaktatemiye Klinik Yaklaşım.....	13
2.10.1. Klinik Hasta Değerlendirmesi.....	13
2.11. Laktat Sonuçlarının Yorumlanması.....	14
2.11.1. Hiperlaktatemi ve Laktik Asidoz.....	14
2.11.2. Hiperlaktatemi ve Laktik Asidozun Nedeni.....	14
2.11.3. Laktik Asidozun Spesifik Nedenleri.....	15
2.11.3.1. A tipi laktik asidoz.....	15
2.11.3.2. B tipi laktik asidoz.....	16
2.12. Laktik Asidoz ve Sepsis.....	17

2.13. Plazma Laktat Ölçümü.....	17
2.14. Yöntem Karşılaştırma Deneyleri .....	18
2.14.1. Korelasyon.....	20
2.14.1.1. Pearson momentler çarpımı korelasyon katsayısı (R).....	21
2.14.2. Regresyon .....	22
2.14.2.1. En küçük kareler yöntemi .....	22
2.14.3. Bland-Altman Yöntemi .....	23
3.GEREÇ ve YÖNTEM .....	25
3.1. Gereç.....	25
3.1.1. Hayvan Materyali .....	25
3.2. Yöntem .....	25
3.2.1. Kan Alımı, Serum ve Plazma Eldesi.....	25
3.3. Biyokimyasal Analizler.....	25
3.3.1. Erolyser Solo İle Laktat Ölçümü .....	25
3.3.2. ELISA ile Kolorimetrik Laktat Ölçümü.....	26
3.4. İstatistik Analiz: .....	28
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA .....	33
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR .....	40
EKLER.....	48
ÖZGEÇMİŞ .....	49

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Pirüvattan laktat oluşumu ..	3
Şekil 2. Glikoliz.....	5
Şekil 3. Krebs Döngüsü.....	7
Şekil 4. Glikoliz.....	10
Şekil 5. Korelasyon dağılım tipleri ..	21
Şekil 6. En küçük kareler regresyon modeli.....	23
Şekil 7. Laktat standart eğrisi ..	27
Şekil 8. ELISA testi laktat analiz sonucu.....	27
Şekil 9. Kolorimetrik(ELISA) ve Eurolyser Solo cihazında ölçülen laktat konsantrasyonları (mmol/L) arasındaki Passing-Bablok regresyon analizi ..	31
Şekil 10. Kolorimetrik(ELISA) ve Eurolyser cihazında ölçülen Laktat konsantrasyonları (mmol/L) arasındaki Bland Altman plot analizi ..	32

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Korelasyonun açıklanması .....	21
<b>Tablo 2.</b> Plazmada ve Serumda Kolorimetrik ve Eurolyser Solo ile ölçülmüş laktat düzeyleri tanımlayıcı istatistik sonuçları.....	29
<b>Tablo 3.</b> Plazmada ve Serumda ELISA ve Eurolyser cihazları ile ölçülmüş plazma laktat konsantrasyonları Pearson Korelasyon analizi tanımlayıcı istatistik sonuçları .....	29
<b>Tablo 4.</b> Plazmada ve Serumda ELISA ve Eurolyser cihazları ile ölçülmüş plazma laktat konsantrasyonları Paired t-testi analizi tanımlayıcı istatistikleri .....	30
<b>Tablo 5.</b> Plazmada ve Serumda Elısa ve Eurolyser ile ölçülmüş laktat düzeyleri Passing-Bablok istatistik sonuçları.....	30
<b>Tablo 6.</b> Elısa ve Eurolyser Solo ile ölçülmüş laktat düzeyleri Bland&Altman uyum sınırları grafiği.....	31
<b>Tablo 7.</b> Bland Altman uyum sınırları grafiği %95 güven aralıkları .....	31
<b>Tablo 8.</b> Uyumluluk analiz sonuçları özetleri.....	32

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ADP</b>	: Adenozin difosfat
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>FAD</b>	: Flavin adenin dinükleotit
<b>K</b>	: Potasyum
<b>LDH</b>	: Laktat dehidrojenaz enzim
<b>MCT</b>	: Monokarboksilat taşıyıcı
<b>Mmol</b>	: Milimol
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>Ph</b>	: Hidrojen potansiyeli
<b>PGAL</b>	: Fosfogliseralehit

## ÖZET

### KOYUNLARDA PLAZMA LAKTAT ÖLÇÜMÜNDE KOLORİMETRİK YÖNTEM İLE HASTA BAŞI TEST CİHAZININ KARŞILAŞTIRILMASI

**Kahraman H. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Veteriner) Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2020.**

Laktat düzeyi sistemik inflamatorik durumlarda hastalığın ciddiyeti ve mortalite ile doğrudan ilişkili bir parametredir. Bu çalışmada hızlı sonuç veren ve kullanımı oldukça kolay olan hasta başı test cihazı ile standart bir yöntem olan kolorimetrik metot karşılaştırılarak yeni geliştirilen cihazın koyunlarda plazma laktat konsantrasyonunun güvenilir şekilde ölçülebilirliğini test etmektir. Bu amaçla 54 tane Sakız ırkı koyunun (30 erkek 24 dişi) laktat konsantrasyonu kolorimetrik yöntemle dayalı ölçüm yapan test cihazı ve referans metot olarak değerlendirilen ELISA cihazı ile karşılaştırıldı. Her iki cihazla ölçülen laktat konsantrasyonları Shapiro-Wilk normalite testi, Pearson korelasyon testi, Paired t testi, Passing-Bablok regresyon ve Bland-Altman analizleri kullanılarak karşılaştırıldı. Yapılan tanımlayıcı istatistik sonucu cihazda 5,47 mmol/L ELISA cihazında ise 3,52 mmol/L ortalama değerler elde edildi. İki yöntemin değerlendirilmesinde Pearson korelasyon analizi sonucu hesaplandı. Yüksek bir korelasyon (0,626) olduğu sonucuna ulaşıldı. İki yöntem arasındaki farkın belirlenmesinde Paired t testi uygulandı. Paired t testi analiz sonucunda önemlilik belirlendi ve t değeri -8,29 sonucuna ulaşıldı. Passing-Bablok regresyon analizinde denklem Eurolyser mmol/L = -4,75 + 2,58 Colorimetrik mmol/L şeklinde oluşturuldu. Passing-Bablok analizi sonucu %95 güven aralığı kesin ve eğim değerlerinde 0 (sıfır) ve 1 (bir) değerlerini kapsamadığı için sistematik ve orantısız bir yanlılık olduğu sonucuna ulaşıldı. Bland-Altman analizine göre ortalama laktat konsantrasyonu farkının 1,04 mmol/L, değerlerin %96'sının (52/54) uyum sınırları içinde olması nedeniyle iki metot arasında uyumun iyi olduğu sonucuna varıldı.

Sonuç olarak, bu çalışmanın verilerine dayanarak Eurolyser Solo cihazının Sakız ırkı koyunlarda laktat konsantrasyonu değerlendirmesinde kullanılabileceği söylenebilir.

**Anahtar kelimeler:** Laktat, metod karşılaştırma, kolorimetrik, koyun, plazma.

## ABSTRACT

### COMPARISON OF THE CHOLORIMETRIC METHOD IN THE MEASUREMENT OF PLASMA LACTATE AND SHEEP TEST DEVICE IN SHEEP

**Kahraman H. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Biochemistry (Veterinary) Master Thesis, Aydın, 2020.**

Lactate level is a parameter directly related to the severity of the disease and mortality in systemic inflammatory conditions. The aim of this study is to compare the colorimetric method which is fast and easy to use and the standard method of lactate concentration in sheep. For this purpose, lactate concentration of 54 Chios (30 males and 24 females) were compared with the colorimetric tester and ELISA which was evaluated as a reference method. Lactate concentrations measured by both devices were compared using Shapiro-Wilk normality test, Pearson correlation test, Paired t test, Passing-Bablok regression and Bland-Altman analyzes. As a result of descriptive statistics, average values of 5.47 mmol / L in Eurolyser solo device and 3.52 mmol / L in ELISA device were obtained. Pearson correlation analysis was used to evaluate the two methods. There was a high correlation (0.624). Paired t test was used to determine the difference between the two methods. Significance was determined by Paired t test and t value was found to be -8.29. In Passing-Bablok regression analysis, the equation was formed as Eurolyser mmol / L = -4.75 + 2.58 Colorimetric mmol / L. As a result of the Passing-Bablok analysis, it was concluded that there is a systematic and proportional bias since 95% confidence interval does not include 0 (zero) and 1 (one) values. According to the Blant-Altman analysis, it was concluded that the difference between the two methods was good because the difference in mean lactate concentration was 1.04 mmol / l and 96% (52/54) of the values were within the limits of agreement. In conclusion, based on the data of this study, it can be said that Eurolyser Solo can be used for the evaluation of lactate concentration in Sheep.

**Keywords:** Lactate, method comparison, colorimetric, sheep, plasma.

# 1. GİRİŞ

Tıpta tanı amaçlı kullanılan bazı analizlerde çeşitli ölçümler yapılmaktadır. Bu ölçümler genellikle güvenilir olduğu bilinen “altın standart” analiz yöntemiyle, bazen de standart olmasa bile güvenilir olduğu kabul edilen daha hesaplı ve kolay yöntemlerle yapılmaktadır. Yeni bir analiz yönteminin kullanıma girebilmesi için hem geçerli hem de güvenilir olduğunun gösterilmesi gereklidir. Bu nedenle kullanılacak yeni yöntem ile elde edilen ölçümlerin standart yöntemlerle elde edilen ölçüm sonuçlarıyla uyumu değerlendirilir. Yeni analiz yöntemi ile standart ölçüm tekniği arasındaki farklılık klinik yorumu değiştirecek boyutta değil ise, yeni analiz tekniği eskisi yerine kullanılabilir, ya da iki yöntem değişimli olarak tercih edilebilir.

Tıpta pek çok ölçüm yöntemi bulunmaktadır ve aynı niceliği ölçen iki farklı metot karşılaştırması yapılması gereken durumlar ortaya çıkabilir. Bu aslında kalibrasyon için gerekli bir durumdur. Yeni kullanılacak metodun mevcut metoda göre zaman, kullanım kolaylığı ya da ekonomik nedenlerle üstünlüğü olabilir. Dolayısıyla mevcut metot ve yeni geliştirilen metodun karşılaştırılması gerekebilir. Tıbbi laboratuvarlar genellikle iki ölçüm yöntemi arasındaki uyumu değerlendirmek zorundadırlar. Zaman zaman bir ölçüm yöntemini diğerine tercih etmek, yeni ya da alternatif bir yöntemi değerlendirmek gerekebilir ya da iki farklı cihazda yapılan ölçümlerde basit hizalama sorunları yaşlanabilir. Bu nedenle bu farklılıkların değerlendirilebilmesi için bazı ölçme ve değerlendirme araçlarına ihtiyaç duyulur. Klinik bir ölçümün doğrulanması, ilgili değişkenin niceliksel ölçümü için kullanılan belirli bir yöntemin, kullanım amacı için hem güvenilir hem de tekrarlanabilir olduğunu gösteren prosedürlerin tümünü içermelidir. Değişkenlerin ölçümü her zaman bir miktar hataya işaret eder. İki yöntem kıyaslandığında, kesin olarak doğru bir ölçüm sağlamaz, bu yüzden uyum derecesini değerlendirmek gerekir.

Geleneksel olarak anaerobiyozun çıkmaz atık ürünü olarak tanımlanan laktat paradigması son birkaç yılda değişmiştir. İnsan acil ve kritik bakımında laktat, biyobelirteç ve terapötik son nokta olarak kullanılır ve veteriner hekimlikte klinik kullanımını destekleyen kanıtlar artmaktadır. Laktat üretimi, doku hipoperfüzyonu veya hipoksisi sırasında devam eden hücresel enerji sağlayan ve asidozu azaltan koruyucu bir tepkidir (Gillespie ve ark, 2017). Bu nedenle, hiperlaktatemi hastalığın ciddiyeti ile yakından ilişkilidir, ancak vücut kendini korumaya çalıştığında bir göstergesidir. Laktat biyokimyası,

kinetik, patofizyoloji, laktat ölçümünün bazı pratik yönlerinin yanı sıra tanıda, prognozda ve izlemede kullanımını gözden geçirmektedir. Son yıllarda hasta analizlerinin daha pratik bir şekilde yapılmasına gereksinim artmıştır. Hasta başında yapılan testler ile yapılan değerlendirmeler pratik, seri ve ekonomik olmaktadır. Laktat analizi insanlarda yapılmakta olup veteriner hekimliğinde de kullanılabilirliği fark edilmiştir. Küçük hayvan hekimliğinde kan laktat değerlerinin ölçümünden pratikte; hipovoleminin belirlenmesinde, prognoz tayininde ve bazı hastalık gruplarında teşhisin konulmasında yararlanır (Başer ve ark, 2016).

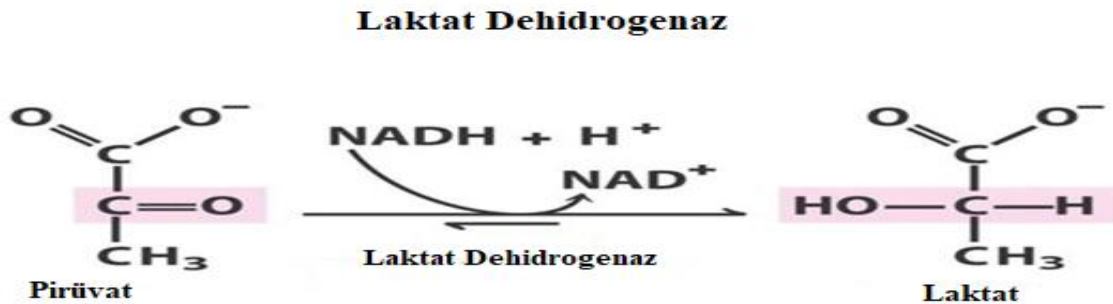
Birçok farklı cihazda (i-STAT, Accutrend Plus, Lactate Pro) laktat analizi yapılmaktadır (Karapınar ve ark, 2013). Eurolyser Smart 700/340 ve Eurolyser Diagnostica cihazları kandaki plazma laktat analizinin değerlendirilmesi köpeklerde (Jasensky ve ark, 2015; Minnaard, 2013) kullanılabilirliği yakın bir zaman önce ortaya konmuştur. Sakız koyunlarda laktat analizi çalışması ölçümünü ortaya koyan benzer bir çalışma bulunmamaktadır. Bu sebeple sunulan çalışmanın amacı, Eurolyser Solo cihazının Sakız ırkı koyunlarda plazma laktat konsantrasyonu ölçümünün kullanılabilirliği değerlendirilmesidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Laktik Asit

Laktik asit ( $\text{CH}_3\text{CHOH-COOH}$ ) veya alfa hidroksipropanoyik asit 1780 yılında Carl Wilhelm Scheele tarafından ilk defa bulunan, birçok amaç için üretilen organik hidroksi asittir (Karakuş ve ark 2018). Endüstriyel anlamda ilk defa büyük bir kısmı ekşimiş süttten eldesi yapıldığı için süt asidi de denir. laktik maya ismi denilen bakteriler tarafından laktoz laktik aside çevrilir. Her canlının vücudunda oluşan doğal bir organik bileşiktir. Kas, kan gibi vücudun birçok değişik organlarında yer alır. Laktat, laktik asit ile benzer anlamda kullanılır fakat laktik asidin sodyum ve potasyum tuzudur. Laktik asidin temel kaynağı glikojendir. Pirüvat üretimi anaerobik glikoliz ile olmaktadır ve kas hücresi pirüvatı aerobik yolla enerji üretimine girmesine çalışır. Pirüvat, kas hücresi yoluyla harcandıysa(aerobik), pirüvat laktata dönüşür (Philip ve ark, 2005; Kasap, 2014; Kasap ve ark, 2018).

Laktat ve laktik asit terimleri sıklıkla eş anlamlı olarak hatalı kullanılmıştır (Andersen ve ark, 2013) (Şekil 1). Laktik asidin pKa'sı 3.8 olduğu için, fizyolojik pH 'ta, laktik asit laktat anyonları ve protonlarına ( $\text{H}^+$ ) tamamen ayrışır (Ewascuk ve ark, 2005). Laktik asit, in vivo olarak üretilmez. Bunun yerine, laktat, karbonhidrat metabolizması sırasında doğrudan iyonize edilmiş formunda üretilir ve laktatın piruvattan üretilmesi, salınmaları yerine protonların tüketimini içerir (Robergs ve ark, 2004).



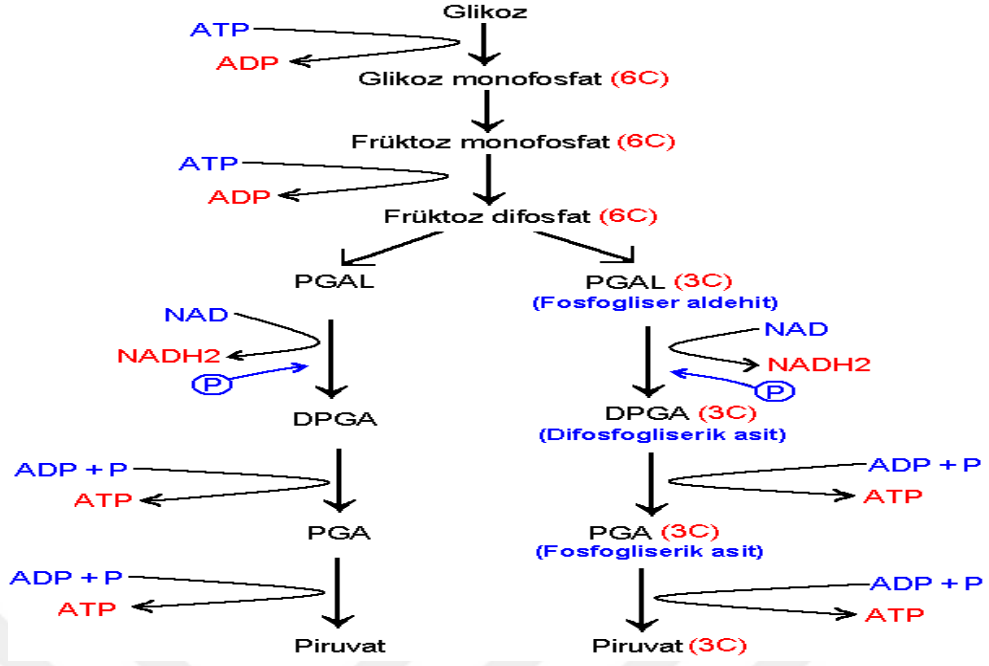
**Şekil 1.** Pirüvattan laktat oluşumu

**Kaynak:** Engelking (2015)'dan modifiye edilmiştir.

## 2.2. Glikozun Yıkımı (Glikoliz)

Glikoliz Yunanca bir kelime olan glykys, 'tatlı' anlamında ve lysis 'parçalanma' anlamındadır ve ATP üretilen, ilk aydınlatılan ve en iyi anlaşılan metabolik yoldur. Glikozdan enerjiyi pirüvatlar adı verilen üç karbonlu iki moleküle bölerek ekstrakte eden bir dizi reaksiyondur. (Şekil 2). Glikolizin birbirini takip eden reaksiyonları esnasında, glukozdan üretilen serbest enerjinin bir kısmı ATP ve NADH şeklinde saklanır. Sonuç olarak glikoliz, Embden Meyerhoff parnas (glikolitik yol) yolu ile glukoz, piruvat ve laktata parçalanmasıdır (Yazar, 2015).

Hücre solunumunun ilk basamakları fosforilasyon reaksiyonlarıdır. Bu reaksiyonlarda, iki fosfat grubu glikoz molekülüne bağlanır. Bu basamaklar enerji ile olmaktadır. Gerekli olan enerji ve fosfat ise iki ATP molekülünün ADP 'ye indirgenmesinden oluşur. fosfatlanmış glikoz molekülü, devamında fosfogliseraldehid (PGAL) adı verilen 2 molekül, 3-karbonlu bileşiğe parçalayan bir kimyasal reaksiyon dizisine girer. Daha sonra, PGAL iki hidrojen atomu kaybederek okside olur ve 3-karbonlu pirüvik asit adı verilen bir farklı bileşiğe dönüşür. Oksidasyonu PGAL enerji bırakır. Buradaki salınan enerjinin az miktarı direkt olarak iki ATP üretmek amacıyla kullanılmaktadır. Bununla birlikte, hidrojen PGAL 'dan ayrılır ve NAD tarafından alınarak NADH<sub>2</sub> oluşturulur. NADH<sub>2</sub>'de daha sonraki reaksiyonlarda ATP oluşturacak bir miktar enerji taşır. İki pirüvik asit molekülü meydana gelmesi için bir glikoz molekülü parçalanır ve oluşan karşılık gelen her bir pirüvik asit molekülüne iki ATP meydana getirilir. Sonuç olarak her bir glikoz molekülü toplamda dört ATP üretilir. İki ATP Glikoz molekülünün aktifleşmesinde harcanır. Sonuç olarak glikolizin net enerji sonucu, her bir glikoz molekülü için iki ATP 'dir (Bingöl, 1976).



Şekil 2. Glikoliz

Kaynak: Higgins (2007)'ten modifiye edilmiştir.

### 2.3. Oksijenin Önemi

Glikozun parçalanmasından pirüvik asit oluşturulması, anaerobik solunum veya fermantasyonda, enerji üreten tek işlemdir. Bu reaksiyon sırasında NAD tarafından alınan hidrojen, pirüvik aside aktarılır. Fermantasyonun son ürünleri, yaklaşık meydana getirildikleri glikoz kadar enerjiye sahiptirler.

Solunum için çevredeki oksijeni kullanabilen bir hücre, bu son ürünlerde kalan enerjiyi açığa çıkarabilir. Oksijen, bu bileşiklerin oksidasyonu sırasında uzaklaştırılan hidrojeni alacağı için, hücre bunu yapabilir (Eroglu, 2019).

### 2.4. Krebs Döngüsü

Aerobik solunumun başlaması iki molekül NAD'ın NADH<sub>2</sub>'ye indirgenmesi ile 2 ATP elde edilir ve bu sırada bir molekül glikozun iki molekül pirüvik aside parçalanır. Hem aerobik hem de anaerobik solunumda bu basamaklar benzerdir. Anaerobik solunumda, pirüvik asit NADH<sub>2</sub>'den hidrojen alırken aerobik solunumda daha başka yıkımlanmaya

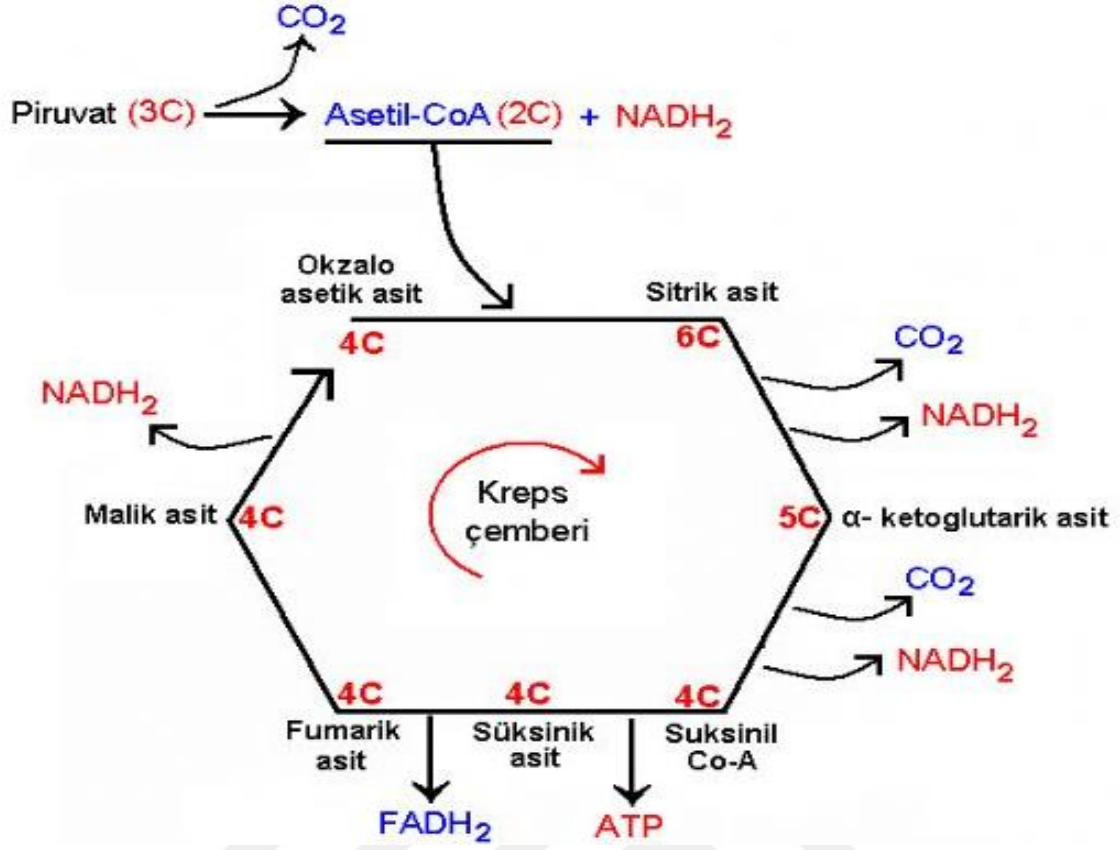
uğrar ve enerji elde edilir. Bu sırada açığa çıkan  $\text{NADH}_2$ 'den de bir miktar enerji elde edilir.

Aerobik solunumun geriye kalan basamakları, mitokondrium hücresinde gerçekleşir. Glikolizde elde edilen pirüvik asit, mitokondriumda karbondioksit,  $\text{NADH}_2$  ve 2-karbonlu bir bileşiğe dönüşür. Bu 2-karbonlu bileşik, art arda gerçekleşecek olan tepkimelerle karbondioksit ve hidrojene yıkılmasıyla sonuçlanan reaksiyonların birincisini geçirir. Artık bir ürün olarak karbondioksit dışarı verilir. NAD veya FAD koenzimleri tarafından hidrojen alınır (Göçen, 2009).

Mitokondrium iki katlı bir membrana sahiptir. İ membran katlanmıştır ve geniş bir yüzey alanına sahiptir. Yapılan alışmalar, aerobik solunum için gerekli enzimler, koenzimler ve diğer özel moleküllerin bu membran yüzeyinde yerleşmiş olduğu bulunmuştur. Membran yüzeyinde bulunan bu moleküller, reaksiyonların tamamına olanak vermektedir (Berg ve ark, 2002).

İngiltere'de Sheffield Üniversitesi'nden Hans Krebs ve William Johnson tarafından keşfedilen çalışmaları yayımladı. Pirüvik asitten meydana gelen 2-karbonlu (2C) bileşiklerle başlayan bu kimyasal tepkimeler dizisine Krebs döngüsü denir. Bu araştırması sonucu 1953 yılında Frits Litman ile birlikte Nobel Ödülüne layık görüldü. Krebs bu reaksiyonların tekrarlanan bir sistem gibi olduğunu göstermiştir. Sistemin parçası olan belirli organik asit molekülleri tekrar tekrar kullanılmaktadır. Bunlar, devirler esnasında farklı bileşiklere dönüştürölür fakat tekrar orijinal şekillerine geri dönüştürölürler (Wilson ve ark, 2010).

Reaksiyonların her “döngüsü”, 2-karbonlu bir bileşiği gerektirir bu ise bir pirüvik asit molekülünden gelir ve dört çift hidrojen atomu ile iki molekül karbondioksit açığa çıkarır. Bununla birlikte, bir hidrojen atom çifti ve bir karbondioksit molekülü pirüvik asit molekülünden uzaklaşır. NAD'lar  $\text{NADH}_2$  oluşturmak için hidrojen atomları tarafından toplanır. Pirüvik asitten açığa çıkan kimyasal enerjinin hemen tamamı hidrojen tarafından taşınır ve geçici olarak indirgenen koenzimlere aktarılır. Krebs emberinin her bir döngüsü ile doğrudan yalnız bir ATP üretilir.



Şekil 3. Krebs Döngüsü

Kaynak: Oğuz ve Akşit (2018)'den modifiye edilmiştir.

## 2.5. Elektron Taşıma Zinciri

Aerobik solunumda, glikozun parçalanmasıyla meydana gelen iki molekül pirüvik asit parçalanarak iki molekül ATP oluşur ve sitrik asit döngüsü her tamamlandığında bir ATP üretilmektedir (iki ATP her bir glikoz molekülü için). Her glikoz molekülünden dört ATP elde edilir. Ayrıca açığa çıkan NADH<sub>2</sub> ve FADH<sub>2</sub> 'de glikozun yıkılmasıyla bulunan tüm enerji hidrojenle taşınır. Bu enerji, enzimlerin ve koenzimlerin yüksek organizasyonlu bir sistem oluşturduğu elektron taşıma zinciri adı verilen bir yolla ATP meydana getirilmesinde kullanılır.

Oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları elektronların elektron taşıma zincirinde meydana gelir. Spesifik substratlarına etki eden dehidrojenazlar açığa çıkardıkları ortak elektron taşıyıcıları olan NADH<sub>2</sub> ve FADH<sub>2</sub> tarafından hidrojen atomları taşınır (Koç ve Sarıca, 2003). Hidrojen atomlarından gelen elektronlar bir bileşikten diğerine geçer. Zincir

boyunca üç noktada, elektronlar bir miktar enerji verir ve ATP molekülleri oluşturulur. Sonuç olarak, her bir glikoz molekülü için hücrelerin pek çoğunda, elektron taşıma zinciri aracılığı ile 32 ATP üretilir. 2 ATP Krebs çemberinden ve 2 ATP direkt glikolizden gelir ve aerobik solunum toplamda her bir glikoz molekülünden toplam 36 ATP üretebilir.

Bu reaksiyonlarda son adım serbest oksijen ihtiyacı vardır çünkü oksijen, birleşerek su oluşturduğu, hidrojenin son alıcısıdır. Hücresel solunumla üretilen suya metabolik su denir. Bu su artık ürün olarak dışarı verilebilir veya hücre tarafından kullanılabilir. Metabolik su kanguru, sıçan gibi çöl hayvanlarının hayatta kalmak için gerekli bir su kaynağıdır (Oğuz ve Akşit, 2018).

## **2.6. Monokarboksilat Taşıyıcı**

MCT1 (bazen MCT2 ve MCT4 ile birlikte), hücreler ve dokular arasında okside olmuş nikotinamid adenin dinükleotidinde indirgenmiş (NADH) nikotinamid adenin dinükleotidindeki değişikliklerin iletişiminde önemli olabilir. Bunun arkasındaki mekanizma, her ikisi de çoğu hücrelerde dengeye yakın olan reaksiyonları katalize eden sitozolik laktat dehidrojenaz (LDH) ve mitokondriyal hidroksibutirat dehidrojenazı içerir. Bu, sitozolik NADH / NAD<sup>+</sup> oranındaki kaymaların laktat / piruvat oranında değişikliklere neden olduğu ve bunun tersi anlamına gelir. Benzer şekilde, mitokondriyal NADH / NAD<sup>+</sup> oranındaki kaymalar, ( $\beta$  - hidroksibutirat) / (asetoasetat) oranındaki değişimlere neden olur. Aynı zamanda bunun tersi de geçerlidir. Bu monokarboksilatlar, MCT1 tarafından hücrelere hızlı bir şekilde hücre içine ve dışına taşındıklarından, kandaki hücre dışı konsantrasyon oranları, hücre içi konsantrasyon oranlarına uyar. Böylece dokular redoks hallerini kandaki bu monokarboksilatların konsantrasyonu yoluyla iletebilir (Halestrap ve Wilson, 2011; Halestrap, 2012 ).

## **2.7. Laktat**

Son yıllarda anaerobiosis'in bir son ve artık ürünü olarak tanımlanan laktat modeli değişmiştir. Laktat, hücresel biyoenerjetik için esansiyel çok yönlü bir metabolik yakıttır. İnsan acilinde ve yoğun bakımda laktat bir biyomarker ve teropatik bir son nokta olarak kullanılır. Bunlarda veteriner kullanımını geliştirmek için kanıttır.

### 2.7.1. Normal Laktat Konsantrasyonu

Eritrositler içerisinde üretilen laktat daha fazla metabolize edilemez ve dolaşımında serbest kalır. Bazı dokularda (örneğin iskelet kası) laktat, metabolize edilebileceğinden daha hızlı üretilir ve bu durumlarda laktat, dolaşımında serbest bırakılır.

Normal laktat seviyeleri 2 mmol / L'den düşüktür; hiperlaktatemi, 2 mmol / l ile 4 mmol / l arasındaki laktat seviyeleri olarak tanımlanır (Foucher ve Tubben 2019). Egzersiz, geçici oksijen borcundaki kas hücreleri tarafından laktat üretimindeki hızlı artış nedeniyle bu dengenin geçici olarak bozulduğu fizyolojik bir süreci temsil eder. Şiddetli egzersizlerde kan laktat 20 mmol / L'yi aşan seviyelere yükselebilir, ancak hızlı laktat bertaraf etme kapasitesi nedeniyle, sağlıkta bu artış sadece geçicidir(Higgins, 2007).

### 2.7.2. Normal Laktat Metabolizması

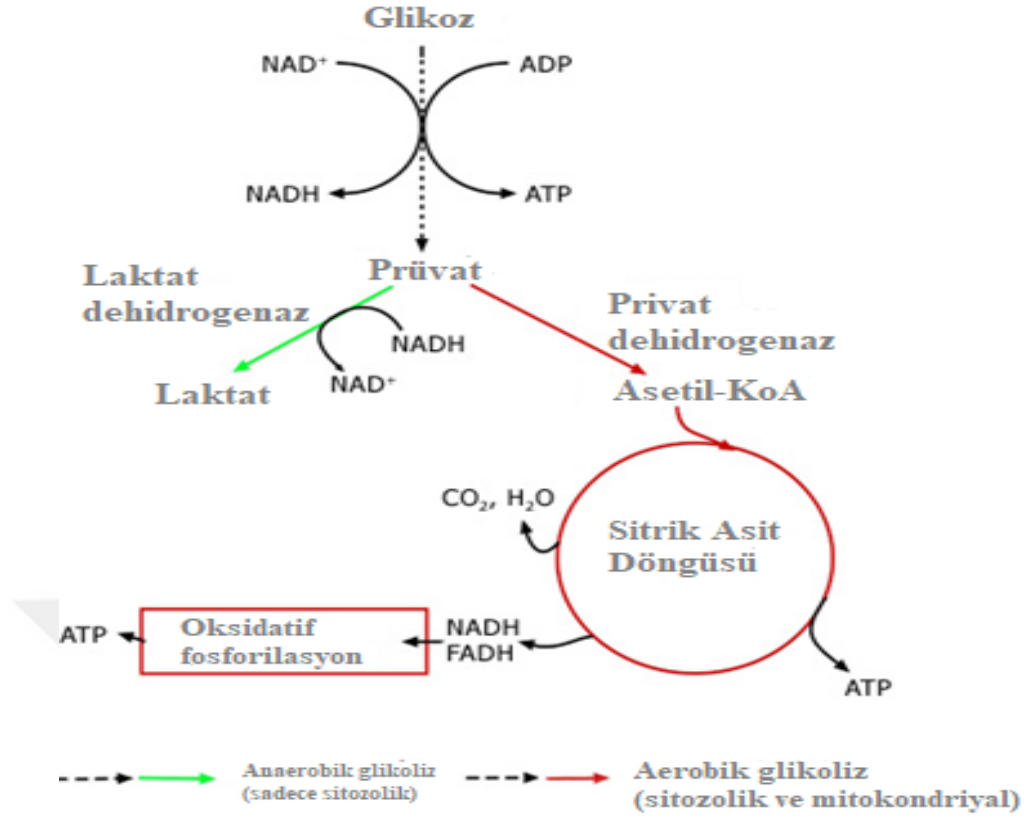
Laktik asidin ayrışmasından kaynaklanan anyon olan laktat, glikoz metabolizmasının bir ürünüdür; özellikle anaerobik glikolizin son ürünüdür. Tüm hücrelerin sitoplazmasında anaerobik olarak ilerleyebilen glikolitik yol, glikozun piruvat'a dönüştürüldüğü 13 enzimik reaksiyon dizisidir.

Bu dönüşüm sırasında, enerji bakımından zengin adenosin trifosfat (ATP), adenosin difosfattan (ADP) ve indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotitinden (NADH), oksitlenmiş NAD'den (NAD + ) üretilir (Foucher ve Tubben, 2019) .

Anaerobik glikolizin son basamağı, laktat dehidrojenaz enzimi tarafından piruvatın laktata dönüştürülmesidir. Bu son reaksiyon, anaerobik glikolizin devam etmesi için gerekli olan bir NAD + kaynağı sağlar . Laktat üretimi, eritrositlerde (mitokondri olmayan) ve kas hücrelerinin (oksijen borcu olan) egzersizinde glikoz kullanımı ve ATP üretimi için tek araçtır.

Mitokondri içeren iyi oksijenlenmiş doku hücrelerinde piruvat, tercihan laktata dönüştürülmez, fakat iki entegre metabolik yol vasıtasıyla mitokondride karbon dioksit ve suya metabolize edilir: sitrik asit döngüsü ve oksidatif fosforilasyon.

Bir glikoz molekülünün laktata (anaerobik glikoliz) dönüştürülmesi, sadece iki ATP molekülü verir; oysa karbon dioksit ve suya dönüşüm (aerobik glikoliz), 38 ATP molekülünden çok daha yüksek bir enerji verimine sahiptir (Gladden, 2004).



**Şekil 4.** Glikoliz

**Kaynak:** Higgins (2007)'den modifiye edilmiştir.

Laktatın tamamı glukoz metabolizmasından elde edilir. Glukoz metabolizmasının aerobik ve nonaerobik son ürünü piruvattır (Cori ve Cori, 1929). Piruvat üç muhtemel yol ile metabolize edilir (Göçen, 2009).

1-Piruvat dehidrogenaz ile asetil koenzimA ya dönüşür. Bu da sitrik asit siklüsüne girer. Reaksiyon geri dönüşümsüzdür.

2-Alanin aminotransferaz ile piruvatı glutamat ile transamine eder, alanin ve L-ketoglutarat oluşur. Bu reaksiyon geri dönüşümlüdür ve karaciğer ve böbrekte glukoneogeneze katılır.

3-Laktat dehidrogenaz ile laktata çevrilir.

## 2.8. Laktik Asit ve Laktat

19. yüzyılın başlarında tükenmiş hayvan kasında belgelenen ilk gözleminden bu

yana, laktat (laktik asit) rolü kas fizyologları ve biyokimyacılara tarafından ilgiyle araştırılm birmolekül olmuştur. Laktat ile ilgili ilk yorum bir atık ürün olarak görüldüğü ve egzersiz sırasında bitkinlikten sorumlu olduğu şeklindedir. Son kanıtlar ve yeni araştırmalar laktatın, bir yakıt olarak okside olabileceği veya piruvat veya glikoz oluşturmak üzere geri dönüştürülebildiği; hücreler, dokular ve organlar arasında hareket edebilen aktif bir metabolit olarak değerlendirmektedir. Bundan sonraki araştırmalar laktatın sistemik ve hücrese düzeyde metabolik süreçler üzerindeki etkileriyle ilgili olmaktadır (Philip ve ark 2005).

Laktik asit ve laktat eş anlamlı değildir (Kafkas, 2019). Laktik asit, formülü  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$  olan pH 3,8 olan kuvvetli bir asittir. Fizyolojik pH'da laktik asitin bir çoğu laktat anyonuna ( $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}^-$ ) ve protona ( $\text{H}^+$ ) dönüşür. Laktatın D ve L formu olmak üzere 2 stereoizomeri vardır. Sağlıklı vücut laktatının %95-98'ini bu formlar oluştur. Kan laktat konsantrasyonunun artması hiperlaktemi olarak adlandırılır. Hiperlaktemi, laktat konsantrasyonunun artışına neden olan asidemi ile eş zamanlı oluşan asit-baz dengesizliği ve tampon rezervlerine bağlı olarak veya olmadan oluşabilir (Mizock, 2018).

İşaretleyici bir bileşik olarak işlev gören laktat kavramı, karşılaştırmalı, hücre ve bütün organizma incelemelerinin bir kombinasyonundan kaynaklanan nispeten yeni bir hipotezdir. Laktatın, monokarboksilat taşıyıcı (MCT) protein mekik sistemi yoluyla hücrelere girebildiği ve laktatın piruvata ve piruvattan dönüştürülmesinin spesifik bir laktat dehidrojenaz izoformları tarafından yönetildiği ve böylece yüksek derecede uyarlanabilir bir metabolik ara sistem oluşturduğu açıkça gösterilmiştir. Laktat araştırmalarının tarihçesini incelnirken bilimsel tekniklerdeki ilerlemelerin bu metabolitin araştırılmasının genişlemesine olanak sağladığı görülmektedir. İlk olarak 1920'lerde ve daha sonra 1980'lerde yapılan gelişmelere benzer şekilde, kararlı izotop, gen mikroarray ve RNA girişim teknolojilerindeki çağdaş gelişmeler, bu bileşiğin rolünün ortaya çıkmasını kolaylaştırmıştır, böylece laktatın temel soruları tüm vücuttaki rol ve lokalize kas fonksiyonu cevaplanabilmektedir (Philip ve ark, 2005).

## **2.9. D-Laktat ve L-Laktat**

Pek çok biyolojik olarak aktif molekülle (örneğin amino asitler, glikoz) laktat ortak olarak, asimetrik bir karbon atomunun varlığından dolayı doğada iki stereoizomerik formda bulunur. Stereoizomerizm gösteren laktat gibi moleküller optik olarak aktiftir, yani iki

izomer düzlemsel polarize ışığı ters yönlerde döndürür (Karakuş ve ark 2018).

İki laktat izomeri, L-laktat ve D-laktat olarak bilinir; L-laktat ışığı saat yönünde (+) ve D-laktat ışığı saat yönünün tersine (-) döndürür. Bu, bazen kullanılan terminolojiye D (-) laktat ve L (+) laktat olarak yansıtılır (Higgins, 2011).

Laktatın her iki formu (stereoizomerleri), laktat dehidrojenaz enziminin (LDH) etkisiyle piruvattan üretilir ve metabolize edilir. Bununla birlikte, enzim izomer spesifiktir, böylece D-laktatın üretimi ve metabolizması D-LDH gerektirir ve L-laktat L-LDH gerektirir (Wanandi ve ark 2018).

Memeli hücreleri sadece L-LDH içerdiğinden insanlarda üretilen laktatın tamamı L-laktattır. Karbonhidrat-fermente eden bakteri türleri (örneğin, lactobacillus spp ), hem D-laktat hem de L-laktat üretme kapasitesine sahiptir. Bazı türler yalnızca D-laktat, bazıları sadece L-laktat ve diğerleri her ikisini de oluşturabilmektedir.

Bir zamanlar normalde insanların kanında çok az miktarda bulunan D-laktat (sağlıklı yetişkinlerde 5-20  $\mu\text{mol} / \text{l}$  konsantrasyonu, 1000  $\text{mmol} / \text{l}$  ile karşılaştırıldığında, yani L için 1.0  $\text{mmol} / \text{l}$  olduğu varsayılmıştır.) yalnızca eksojen kaynaklardan (diyet ve normal olarak gastrointestinal kanalda bulunan karbonhidrat fermente edici bakteriler) elde edilir.

Bununla birlikte, D-Laktat dehidrojenaz bulunmamasına rağmen, küçük miktarlarda da olsa, insan hücrelerinde üretildiği ve metabolize edildiği belirlenmiştir. İnsan hücrelerinde D-laktatın metabolik üretimi, D-laktata dönüştürülen toksik bir ürün olan metilgloksalın nanomolar düzeyde üretimine neden olan, metilgloksal yolun sonucudur (Ewaschuk ve ark.,2005). D-laktat dehidrojenaz'ın yokluğunda, insan hücreleri, mitokondriyal enzim D-2-hidroksiasit-dehidrojenlerin etkisiyle piruvat almak için D-laktatı metabolize edebilir (Higgins, 2011).

L-Laktat, karaciğerde L-laktat dehidrojenaz ile piruvat için hızlı bir şekilde metabolize edilir, ancak memelilerin D-laktat dehidrojenaz içermediği bildirilmiştir. D-Laktatın , yerine D-laktatı L-laktat dehidrojenazın L-laktatı metabolize ettiği oranın beşte birini metabolize eden D-2-hidroksi asit dehidrojenaz enzimi yerine piruvat için metabolize edildiği düşünülmektedir. Yakın zamana kadar, D-laktat dehidrojenazlar sadece düşük organizmalarda izole edildi, ancak yapılan çeşitli çalışmalarda yeni insan ve fare mitokondriyal D-laktat dehidrojenazları tanımlandı. Sığır ve sığan dokuları, in vitro D-laktat kullanımına sahiptir. İnsanlarda, parenteral DL-laktat infüzyonu (3.0  $\text{mmol} / \text{kg}$ ) piruvat, alanin, 3-hidroksibutirat ve asetoasetatta artışlara neden olur (Connor ve ark, 1983).

D-Laktat anaplerotiktir, çünkü mitokondriyal zar içerisine taşınması, oksaloasetat ve malatın sitozole taşınmasıyla sonuçlanır. D-laktatın sitosolden mitokondriyal matrikse

taşınması, D-laktatın, iç mitokondriyal zarın iç yüzünde yer aldığı varsayılan D-laktat dehidrojenaz tarafından oksitlenmesini sağlar. Mitokondriyal zar boyunca D-laktata yer veren üç yeni taşıyıcı tanımlanmıştır (Ewaschuk ve ark, 2005).

D- ve L-Laktat, renal absorpsiyona karşılıklı olarak müdahale eder. Yüksek dozlarda bile, L-laktat'ın % 70'i geri Emilimi, D-laktatınki ise çok düşük dozlarda bile % 50'yi geçmez. 3.0 mmol / L'den daha yüksek D-laktat plazma konsantrasyonlarında, D-laktatın renal tübüler geri Emilimi % 30'a kadar azalır (Bellomo, 2002). Laktatın geri Emilimi, aktif geri Emilimi belirten bir elektrokimyasal gradyana karşı meydana gelir. Hem L hem de D-laktat, L ve D-laktat geri Emilim arasındaki karşılıklı etkileşime katkıda bulunabilecek aynı sodyum kotransport sistemini kullanıyor gibi görünmektedir. Laktatın renal tübüler geri Emilimi, idrar hacminde artışla azalır (Kang ve ark, 2006).

D-Laktat, protona bağlı monokarboksilat taşıyıcıları (MCT-1 ila MCT-8) vasıtasıyla çeşitli dokuların içine ve dışına taşınır. MCT'ler çoğu dokuda eksprese edilir, retina, kas, böbrek, beyin kapiller endotel hücreleri, kardiyak miyositler, enterositler, hepatositler, eritrositler, timositler, plasenta ve sinir dokusunda tanımlanır ve yoğun olarak incelenir. D-Laktat, D-laktat ve karşılıklı inhibe edici etkilerin iki katı L-laktat için bir alım katsayısı sergileyen MCT-1 tarafından ince bağırsak ve kolonik epitel hücreleri tarafından emilir. Sıçan jejunumda hem doyurulabilir hem de doymamış Emilim süreçleri mevcuttur. Doyurulabilir işlem, L-laktat için D-laktattan daha yüksek bir afiniteye sahipken, doymaz hale getirilemeyen işlem için izomerler arasında hiçbir fark yoktur (Pierre ve Pellerin, 2009).

## **2.10. Hiperlaktatemiye Klinik Yaklaşım**

### **2.10.1. Klinik Hasta Değerlendirmesi**

Tüm acil hastalarda başlangıç fiziksel muayene; solunum, kardiyovasküler ve nörolojik ana vücut sistemleri üzerine odaklanır. Kalp hızı, mukoz membran rengi, kılcal dolum süresi, nabız kalitesi, ekstremitte sıcaklığı, idrar çıkışı, arteriyel kan basıncı ve mental durum değerlendirilmesi hastanın genel durumunu ortaya koyar. Laktat düzeyinin ölçülmesi sistemik perfüzyonun ileri düzeyde değerlendirilmesinde monitorizasyon ve teröpatik son nokta amaçlı olarak kullanılabilir (Gillespie ve ark, 2017).

## **2.11. Laktat Sonuçlarının Yorumlanması**

### **2.11.1. Hiperlaktatemi ve Laktik Asidoz**

Hiperlaktatemi, istirahat kan laktat konsantrasyonunun anormal derecede yüksek ( $> 1.5$  mmol / L) olduğu patolojik bir durumdur. Orta ila şiddetli hiperlaktatemi ( $> 3.0$  ila  $> 5.0$  mmol / L), anormal hidrojen iyonu birikimi ( $H^+$ ) ve bunun sonucunda asidoz eğilimi ile ilişkilidir.

Bu hidrojen iyonları, ATP'nin ADP'ye hidrolizinin bir ürünüdür. Oksijen varlığında, ATP hidrolizi sırasında üretilen hidrojen iyonları oksidatif fosforilasyonun mitokondriyal işleminde kullanılır, ancak bu genellikle hiperlaktat üretimi ile ilişkili anaerobik glikoliz bağlamında mümkün değildir (Fall ve Szerlip, 2005).

Hidrojen iyonları kanda birikir ve sonunda kan pH'ını normal sınırlarda tutan bikarbonat ve diğer tamponlama sistemlerini baskılar (7.35-7.45). Hiperlaktatemi ve asidozun kombinasyonuna laktik asidoz denir ve laktik asidozun tanımı için evrensel bir uzlaşma olmamasına rağmen, en yaygın kullanılan pH  $< 7.35$  ile birlikte kan laktat  $> 5.0$  mmol / L'dir (Mizock, 1987). Laktik asidoz, metabolik asidozun en sık nedenidir.

### **2.11.2. Hiperlaktatemi ve Laktik Asidozun Nedeni**

Hiperlaktatemi, laktatın periferik doku hücrelerinden dolaşıma bırakılma hızı karaciğer ve böbrekler tarafından dolaşımdan atılma hızını aştığında gelişir. Hem laktat üretimi artmış hem de laktat metabolizmasında azalma meydana gelebilir (Gomez ve Mizock 2018).

Biyokimyasal bir bakış açısından, merkezi problem genellikle pirüvatın oksidatif veya glukoneojenik yollarda kullanımı azalmış olmasıdır. Bu koşullar altında pirüvat sadece laktata dönüştürülebilir. Örneğin, oksijen pirüvat oksidasyonu için gerekli olduğundan, oksijenin dokularda kullanımının artmasına neden olan herhangi bir durum laktat üretiminin artmasına neden olabilir, bu da karaciğer ve böbrekler tarafından alınabileceğinden daha hızlı bir oranda kanda birikmesine neden olur (Mordes ve Rossini 1999).

Bu sorun asidoz ile birleşir, çünkü karaciğerin dolaşımdan laktatı çıkarma kapasitesi pH'ye bağlıdır ve kandaki pH düzeyi ciddi şekilde azalmıştır. Asidoz böbrek laktat alımını arttırdığından bazı renal kompensasyonlar vardır. Bununla birlikte, bu, nedenini ne olursa olsun, hepatik kaybın ve asidozun yaklaşık% 50'sini telafi edebilir, hiperlaktateminin patogenezinde önemli bir katkı faktörü olabilir (Higgins, 2007).

### **2.11.3. Laktik Asidozun Spesifik Nedenleri**

Geleneksel olarak Cohen ve Woods laktik asidozu iki geniş etiyolojik kategoriye ayırmıştır; Tip A ve Tip B. Tip A, doku hipoksisinden (yukarıda belirtilen biyokimyasal mekanizma) kaynaklanan laktik asidozdur ve Tip B, normal doku perfüzyonu ve yeterli global doku oksijenasyonu sırasında meydana gelen laktik asidozdur (Montagnani ve Nardi, 2016).

#### **2.11.3.1. A tipi laktik asidoz**

Doku hipoksisi ve A Tipi laktik asidoz, hemorajik, kardiyojenik ve septik şokta dokuların yetersiz perfüzyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkar. Hacim tükenmesi ve / veya şiddetli hipotansiyonla ilişkili bu durumlar, büyük travma / cerrahi işlemlerin veya kardiyovasküler çökmeye neden olan akut tıbbi durumların (örneğin, miyokard enfarktüsü, sistemik enfeksiyon) sonucu olabilir.

A Tipi laktik asidoz akut, hayatı tehdit edici (kritik) bir hastalığın özelliğidir. Geleneksel olarak, sepsis ve septik şok sırasında ortaya çıkan laktik asidozun, doku hipoksisinin tek sonucunun olduğu ve durumu enfeksiyonun neden olduğu veya enfeksiyonuyla komplike olan kritik hastalar için Tip A arasındaki ayrım olduğu görüşü kabul edilmektedir.

Perfüzyon, kanda yeterli miktarda oksijene de bağlı olan doku oksijenasyonunun tek belirleyicisi değildir. Doku hipoksisi ve bunun sonucunda A Tipi laktik asidoz, kanın oksijen içeriği veya kanın oksijen taşıma kapasitesi yeterince azalır, yeterli perfüzyona rağmen oluşabilir.

Bu, şiddetli anemi (Essex ve ark, 1997), şiddetli hipoksemi (örneğin solunum yetmezliği) (Aberman ve ark, 1978) ve karbon monoksit zehirlenmesi (Levy, 2015) olan

hastalarda ortaya çıkabilecek A Tipi laktik asidozun mekanizmasıdır. Uygulamada, anemi ve hipoksemi nadiren Tip A laktik asidozun tek nedenleridir. Daha yaygın olarak, yetersiz perfüzyon nedeniyle zaten yatkın olan hastalar arasında A Tipi laktik asidoz gelişiminde katkıda bulunan faktörlerdir.

Nöbetler sırasında meydana gelen kas aktivitesindeki büyük artış, lokal kas dokusu hipoksisine bağlı olarak A tipi laktik asidozise neden olabilir, oksijen ihtiyacı ile oksijen arzı arasında geçici bir uyumsuzluğa (egzersiz sırasında meydana gelen fizyolojik laktik asidoz ile çok benzer) neden olur. Egzersize bağlı laktik asidoz ile ortak olarak, nöbet kaynaklı laktik asidoz sınırlıdır ve nöbetlerin bitiminden birkaç saat içinde kendiliğinden düzelir (Orringer ve ark, 1977).

### **2.11.3.2.B tipi laktik asidoz**

Laktik asidoz, görünüşte yeterli doku oksijenasyonu ve normal hemodinamik süreçlerde (normal kan basıncı, hacim azalması yok , normal kan oksijeni ve oksijen taşıma kapasitesi) ortaya çıkarsa B Tipi laktik asidoz olarak adlandırılır.

Karaciğer ve böbreklerin dolaşımdan laktat alımı sitrik asit döngüsü ve glukoneogenez yoluyla metabolize edilmesinden sonraki dolaşımdan emilimindeki hayati rolü nedeni ne olursa olsun hepatik ve böbrek hastalığının hafif şiddette hiperlaktatemiye ve nadiren Tip B laktik asidoza neden olduğunu belirler. Malign hastalık, hematolojik malignitede (Lösemi, lenfoma) ortaya çıkan çoğu B Tipi laktik asidoz vakası olan laktik asidoz ile ilişkili olabilir (Friedenberg, 2007).

B Tipi laktik asidoz, laktat metabolizmasında (glukoneogenez veya piruvat oksidasyonu) yer alan spesifik enzimlerin eksikliği ile karakterize, bireysel olarak çok nadir görülen çeşitli kalıtsal bozuklukların bir özelliğidir. Bunlar arasında piruvat karboksilaz eksikliği (Farrel ve ark, 1975), glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) eksikliği, fruktoz-1,6-difosfataz eksikliği (Rallison, 1979) ve piruvat dehidrojenaz eksikliği sayılabilir. Bu durumlarda ortaya çıkan laktik asidoz kongenital olarak adlandırılır.

Bazı ilaçlar ve toksinler laktik asidoza neden olabilir. Birlikte alındığında Tip B laktik asidozun en yaygın sebebi olarak tespit edildi. Biguanitler, diyabet tedavisinde kullanılan bir grup kan şekeri düşürücü ilaçtır. Ayrıca sıklıkla reçete edilen metformin laktik asidozla ilişkilendirilmiştir (Stacpoole, 1998). Bununla birlikte, çoğu metformin ile ilişkili laktik asidoz vakasında, hiperlaktatemiye yatkın olan bazı karaciğer veya böbrek yetmezliği kanıtları vardır.

## 2.12. Laktik Asidoz ve Sepsis

Kritik hastalık durumunda ortaya çıkan laktik asidoz (A Tipi) açıkça doku hipoksisinin olduğunu gösterir. Kritik hastaların, B Tipi laktik asidoza yakalanma ihtimali de vardır ve yüksek kan laktatı ile başvuran herhangi bir hastayı (kritik olarak hasta olanlar dahil) değerlendirirken B Tipi laktik asidoz nedenlerine dikkat edilmelidir.

Sepsis, kritik bir hastalığın yaygın bir özelliği olması nedeniyle özel dikkat gerektiren önemli ve karmaşık bir konudur. Sepsis, Tip A ve Tip B laktik asidoz arasındaki ayrımın uygun olmadığı bir durumdur, çünkü sepsisli bazı hastalarda laktat, yeterli doku oksijenlenmesine rağmen birikmektedir (James ve ark, 1999).

Sepsis hastalarında doku hipoksisinin yokluğunda laktat birikimi bazı mekanizmalarla açıklanmıştır. Bunlar arasında karaciğer ve böbrekler tarafından dolaşımdaki laktatın azaltılmış klirensi (Levrant ve ark, 1998); sitrik asit döngüsünde piruvat kullanımını engelleyen piruvat dehidrojenaz enziminde sepsis tarafından indüklenen spesifik bir kusur; ve artan piruvat üretimi sayılabilir (Gore ve ark, 1996).

## 2.13. Plazma Laktat Ölçümü

Plazma laktatını ölçmek için kullanılan rutin yöntemler laktatta enzimatik etki ürününün ölçülmesine dayanır. Analizlerde kullanılan enzimler L-laktat spesifiktir, bunlar L-laktat dehidrojenaz ve L-laktat oksidazdır. Bu elbette sadece L-laktatın ölçüleceği anlamına gelir. Hayvan dokusundan elde edilen laktat dehidrojenaz ve bakterilerden elde edilen laktat oksidaz enzimlerinden biri bu analizler için yaygın olarak kullanılır.

Kan gazı analizörlerinde bulunan laktat sensörleri, bir membran üzerinde immobilize edilmiş laktat oksidaz kullanır. Bu immobilize enzim ile temasında, numunedeki laktat piruvat ve hidrojen peroksit oksitlenir. Üretilen hidrojen peroksit, sensör içinde yer alan bir elektrot düzeneği tarafından amperometrik olarak ölçülür.

Bazı D-laktik asidoz vakalarında, 10 mmol / L'den fazla olabilen plazma D-laktat konsantrasyonundaki büyük artışa rağmen, ölçülen plazma laktat normal aralıkta kalır. Bu nedenle plazma D-laktatın spesifik ölçüm yöntemleri geliştirilmiştir (Ludvigsen ve ark, 1983). Plazma L-laktat analizlerinden çok daha duyarlı olması gereken bu deneyler, çoğunlukla D-laktat dehidrojenazı baz alır ve yaygın olarak bulunmaz.

Her ne kadar bazı klinik laboratuvarlar plazma D-laktat ölçmek için gerekli ölçüm

araçlarına sahip olsalarda D-laktat ölçmek için spesifik hızlı test cihazları yoktur (Herrera ve ark, 2008)

## 2.14. Yöntem Karşılaştırma Deneyleri

Yöntem karşılaştırma deneyleri gerçek hasta örnekleriyle yapılmalıdır. Yeni yöntem ve güvenilirliği kanıtlanmış standart yöntem ile analizler yapıp analiz sonucu ulaşılan verilerin kıyaslanması temeline dayanır. Deney planı aşağıdaki aşamaları içermelidir.

- Alternatif metod ile referans (karşılaştırılacak, kesin) yöntem seçilir
- Homojen dağılım gösteren 40 ila 100 örnek arasında çalışılmalıdır (F test).
- Ardışık ölçüm gereklidir. Her analiz en az iki kez yapılmalıdır
- En az 5 gün çalışılır

-Sonuçların analizi değerlendirilir ve cihazın sonuçları kontrol edilir. Her ölçüm için izin verilen maksimum fark için günlük izleme yapılmalıdır. Bunun için biyolojik değişkenlik belirlenmelidir.

-Kişisel değişim (CVI): Benzer hastaya ait sonuçların her bir gün sonrası değişimini gösterir. Bir hastadan ardarda yapılan analizlerin yorumlanmasında kullanılır.

-Kişiler arası değişim (CVG): Aynı analitin farklı hastalar arası değişimini ifade eder. Referans aralığının belirlenmesinde kullanılır (Altınışık, 2005).

Yöntem karşılaştırma deneylerinde önerilen basamaklar şunlardır.

- 1- Analiz sonuçları grafikte gösterilir.
- 2- Eğim, y kesişim ve  $S_{y/x}$  hesaplanır.
- 3- X verilerinin ortalama ve standart sapmaları hesaplanır.
- 4- Korelasyon katsayısı hesaplanır.
- 5- Regresyon istatistiği uygulanır.
- 6- Blant Altman istatistiği uygulanır ve sonuçlar grafikte gösterilir.

Yönteme karar verilirken tüm istatistik veriler incelenmelidir ve anlamlılık dikkate alınmalıdır. Ancak hangi testin seçileceğinde klinik anlamlılık da önemli rol oynar.

Klinik araştırmalarda, değerlendirilen iki yöntemin birbirine uyumu ve referans tekniğine alternatif olabilecek olan yöntemin geçerliliğini hatta birinci seçenek olarak üstünlüğünü araştırmak amaçlanmaktadır. Bunun sayesinde yeni tekniklerin ortaya çıkmasına olanak sağlanacak ve yeni gelişmeler insan hayatında faydalı bir şekilde yer alacaktır. Farklı istatistiksel ölçüm teknikleri kullanılarak istatistiksel modellemesi meydana getirilerek sonuçların ne kadar doğru olduğu elde edilen sonuçlara oradan yansıtacaktır

(Genç ve ark, 2013).

Klinik laboratuvarlarda yararlanılan ölçüm yöntemleri performanslarına göre üç sınıfa ayrılabilir.

- 1- Kesin yöntemler
- 2- Referans yöntemler
- 3- Rutin yöntemler

Rutin yöntemler, klinik laboratuvar hizmetlerinde sıklıkla uygulanan analizlerdir. Bu analiz yöntemini laboratuvarlar ticari test kitleri ile ya da kendi hazırlayarak yaparlar. Her iki uygulamada da laboratuvar reaksiyon çözeltilerinin kullanıma (analitik ve klinik kullanılabilirlik) uygunluğunu test etmek zorundadır (Altınışık, 2005).

Tıbbi laboratuvarlarda uygulanan analiz sonuçlarının insan ve hayvan sağlığı ile ilişkili olması, tıbbi karara yardımcı olması, kısa zamanda, uygun maliyetle güvenilir sonuç vermesi beklenir. Bu beklentilerden dolayı klinik laboratuvarlarda kullanılacak yöntemlerin seçimi ve değerlendirilmesi önemli bir konudur. Teknolojinin gelişmesi, ölçüm yöntemlerinin artması, hazır kit sayılarının artması yöntem seçimini önemli kılmaktadır. Laboratuvarlarda kullanılacak yeni yöntem yöntemin uygulanabilirlik özelliklerinin incelenmesi açısından değerlendirilir (Granat ve ark, 2011). Bu amaçla hasta ve laboratuvar koşulları açısından araştırılmalıdır. Örnek tipi, hacmi, analiz süresi, personel yada cihaz gereksinimi gibi özellikler dikkate alınmalıdır. Analitik performans değerlendirmesi yapılmalıdır ve bu amaçla validasyon deneyleri uygulanmalıdır. Kesinlik, doğruluk, geri interferans, doğrusallık, sapma sınırı ve reaktif dayanıklılık incelenir (Sayiner ve Toptaş, 2018). Finansal inceleme de test seçiminde önemli bir role sahiptir. Tüm bunların ardından karar kriterlerine göre kullanılması planlanan test referans bir yöntemle veya güvenilirliği kanıtlanmış bir yöntemle karşılaştırılır. İki yöntem ile yapılan ölçümler arasındaki farklılık rastgele bir hatadan kaynaklanabileceği gibi sistematik yanlılıktan da kaynaklanabilir (Hooijberg ve ark, 2012). Sürekli biyolojik bir değişkeni ölçen iki ölçüm tekniğinin karşılaştırılmasındaki amaç, benzerliklerden ziyade sistematik yanlılığı ortaya çıkarmaktır. Sistematik yanlılık, sabit yanlılık ve oransal yanlılık olmak üzere iki şekilde olabilir. Sabit yanlılığa, bir ölçüm tekniğinin tüm ölçüm aralığında diğer ölçüm tekniğinden sabit bir miktarda daha düşük ya da daha yüksek değerler vermesi şeklinde bir örnek verilebilir. Oransal yanlılığa ise bir ölçüm tekniğinin ölçülen değişkenin seviyesi ile orantılı olarak diğer ölçüm tekniğinden daha yüksek ya da daha düşük değerler vermesi olarak bir örnek verilebilir. Tüm bu işlemlere yöntemin değerlendirilmesi deneyleri denir (Burtins ve Burns, 2006).

Literatürdeki çoğu çalışmada iki ölçüm tekniği arasındaki uyumun bir ölçüsü olarak korelasyon katsayısı, saçılım grafikleri ve En Küçük Kareler (EKK) regresyon yöntemleri kullanılmaktadır (Saraçlı ve ark, 2009). Yüksek korelasyon, iki ölçüm tekniğinin mükemmel uyuma sahip olduğunu göstermez. Noktalar herhangi bir regresyon doğrusu üzerinde yer aldığı anda mükemmel bir korelasyon elde edilirken, 45<sup>0</sup>den geçen eşitlik çizgisi üzerinde yer alırsa mükemmel bir uyuma sahip olunur. Klasik saçılım grafikleri ile de uyumu değerlendirmek yanıltıcı olabilmektedir. Bu nedenle Bland ve Altman tarafından önerilen ölçümler arasındaki farkların ortalamalara karşı saçılım grafikleri ölçüm tekniği farklılıklarını değerlendirmede daha sık olarak kullanılan bir yöntem olmaya başlamıştır. Doğrusal regresyon analizinde (model I regresyon) y değerlerinin regresyon doğrusundan dikey sapmalarının kareler toplamı minimize edilir. Ancak uyum çalışmalarında hem x hem de y değerleri belirli bir ölçüm hatası içerdiğinden, bu yöntemin kullanımı uygun değildir. Dolayısıyla bir metodu diğerine göre ayarlamak ya da sistematik ölçüm hatalarını ortaya çıkarmak amacıyla model II regresyon yöntemleri tercih edilmelidir.

#### **2.14.1. Korelasyon**

Korelasyon iki(ya da daha fazla) nicel değişken arasındaki uyumunu belirtmek için kullanılan bir terimdir. İkili ya da basit korelasyon denen korelasyon teknikleriyle iki değişken arasındaki ilişki miktarı hesaplanır. Bir değişkenin iki( ya da daha çok) değişken ile olan uyumu çoklu korelasyon; bu farklı değerlerden birinin sabitlenerek diğer değişkenler ile olan uyumu ise kısmi korelasyon yöntemiyle hesaplanır. Korelasyon katsayısı değişkenler arasındaki ilişkiyi hesaplanmaktadır.

Verilerin ne kadar doğrusal olduğuna göre değişkenlik göstermektedir. Bu iki fark arasındaki ilişkinin doğrusallık derecesini belirlemek için uygulanmaktadır. Korelasyon katsayısı hesaplama yöntemi olarak birçok farklı yöntem bulunmaktadır. Bunlardan en bilineni Pearson Korelasyon Katsayısıdır (Gogtay ve Thatte, 2017).

### 2.14.1.1. Pearson momentler çarpımı korelasyon katsayısı (R)

Pearson ürün-moment korelasyon katsayısı (veya kısaca Pearson korelasyon katsayısı) iki değişken arasındaki doğrusal ilişkinin gücünün bir ölçüsüdür ve R ile gösterilir . Pearson korelasyon katsayısı -1 ile +1 arasında bir değer aralığı alabilir.

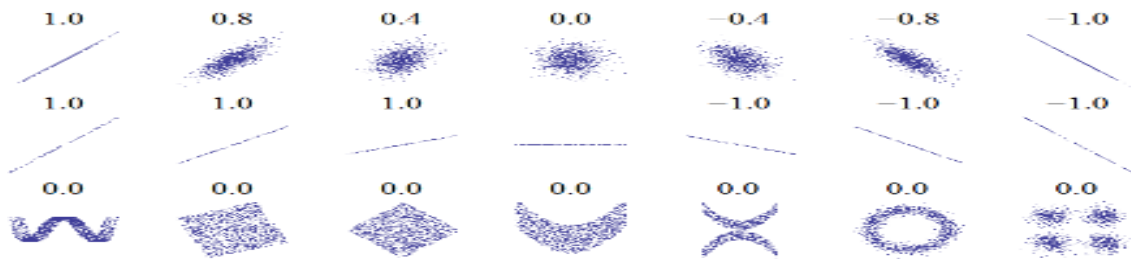
$r = -1$  ise tam negatif doğrusal bir uyum vardır.

$r = +1$  ise tam pozitif doğrusal bir uyum vardır.

$r = 0$  ise iki değişken arasında uyum yoktur.

$$r = \frac{\sum x_i y_i - \frac{\sum x_i \sum y_i}{n}}{\sqrt{\left(\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}\right)} \sqrt{\left(\sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{n}\right)}}$$

Dağılımların tipleri çeşitlilik gösterebilir.



Şekil 5. Korelasyon dağılım tipleri

Kaynak: Mukaka (2012) tarafından modifiye edildi.

Tablo 1. Korelasyonun açıklanması.

Korelasyon	Negatif	Pozitif
Düşük	-0,29/-0,10	0,29 / 0,10
Orta derecede	-0,49/-0,30	0,49 / 0,30
Yüksek	0,50 / -1,00	0,50 / 1,00

Kaynak: Gogtay ve Thatte (2017) tarafından modifiye edildi.

Bu sonuçlar daha çok öznel kabullerdir. Yukardaki kabul psikoloji çalışmalarında yeterli iken bir sosyal bilimci ya da iktisatçı tarafından çok yüksek, ölçüm aletleri ile ilgili

yapılan bir çalışmada ise çok çok düşük bulunabilir.

### **2.14.2. Regresyon**

İki veya daha fazla değişken arasındaki ilişkileri ölçmek için kullanılır. Hem tanımlayıcı hem de çıkarımsal istatistik sağlar. Regresyon analizi, araştırmak istediğimiz bağımlı değişkenin ya da değişkenlerin üzerinde bağımsız değişkenlerin etkisi olup olmadığını ve aralarındaki ilişkiyi araştıran bir yöntemdir (Sarsted ve Mooi, 2014). Veriden öğrenerek stokastik bir model kurulur. Analiz sonuçlarının yapısına göre regresyon yöntemleri de farklılık göstermektedir. Değişken kategorik de olabilir, aralıklı sayılardan da oluşabilir. Deplasman ve deplasman değil (0= deplasman ve 1= deplasman değil) kategorik bir değişkendir. Mikro dizi çipinde üretilen aralıklı (143,5; 132,4;..) bir değişken gibi de olabilir.

Birçok algoritma Regresyon problemlerinde kullanılmaktadır. Regresyon yöntemlerini birbirinden ayıran noktalardan biriside burasıdır. En küçük kareler (EKK) bunlardan en bilineni ve yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Gerçek olaya en yakın fonksiyon eğrisi oluşturmamızı sağlar. Gözlemlerin rastgeleliğinden kaynaklanan hatayı azaltarak uygun eğriyi ve uygun denklem katsayılarını çizilmesini sağlar. Bu işleme optimizasyon da denilmiştir (Akça, 2015).

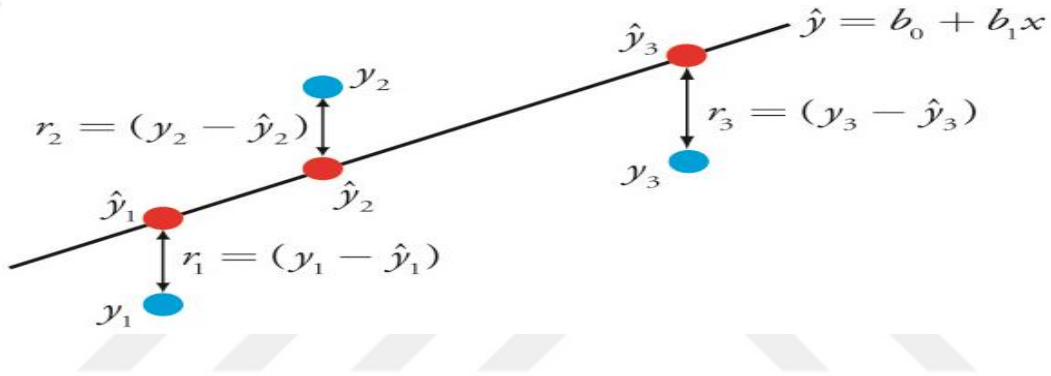
#### **2.14.2.1. En küçük kareler yöntemi**

Gerçek yaşamın çeşitli alanlarında herhangi bir uygulama ile toplanan veriler tablo şekline getirilerek incelenir ve toplanan veriyi modelleyen bir fonksiyon bulunmaya çalışılır. Çoğu zaman bu veri tablosuna tam olarak uyan bir fonksiyon bulmak mümkün olmaz; veri tablosuna en iyi uyan fonksiyon belirlenmeye çalışılır. Bir veri tablosuna en iyi uyan fonksiyonu bulma sürecine regresyon analizi denir.

Büyük matematikçi C. F. Gauss'un 18 yaşındayken (1795) keşfettiği bu yöntem, ilk kez 1801 de Cres astroidinin yörüngesinin belirlenmesinde kullanılmış ve ilk kez Gauss'un toplu eserlerinin yayınlandığı ciltlerden ikincisinde 1809 yılında yayınlanmıştır. Fransız matematikçi A. Legendre 1805 ve Amerikalı matematikçi R. Adrain de 1808 yıllarında aynı yöntemi Gauss'dan habersiz ve bağımsız olarak keşfetmişlerdir. Regresyon analizi yaparken en sık kullanılan yöntemlerden biri en küçük kareler yöntemidir (Akça, 2015).

Belli analizler sonucunda  $i = 1, 2, \dots, n$  için  $(x_i, y_i)$  verileri elde edilmiştir. Burada,

her bir  $y_i$  nin  $x_i$  ye bağılı olarak değışkenlik gösterdiği varsayılmaktadır.  $(x_i, y_i)$  düzlemde noktalar olarak düşünöldüğünde, pratikte bu noktalar düzgün bir eğri üzerinde, başka bir deyimle, bilinen bir fonksiyonun grafiğı üzerinde bulunmazlar. Hatta bazı durumlarda,  $(x_i, y_i)$  ler arasında ne tür bir bağıntı bulunduğı dahi bilinmeyebilir. Fakat, yapılan ölçümlerin doğası gereğı, her  $i = 1, 2, \dots, n$  için  $y_i = f(x_i)$  olacak şekilde denklemin var olduğı, ölçümlerde oluşan hata sebebiyle bu eşitliklerin bazıları veya hepsinin sağlanmadığı kabul edilebilir. Bu nedenle, ölçölen  $y_i$  değeri  $f(x_i)$  için yaklaşık değeri kabul edilerek bu yaklaşımdaki hatanın minimum olduğı  $f$  fonksiyonu belirlenmeye çalışılır. Bu amacı gerçekleştirmek için  $f$  fonksiyonunun bir takım parametrelere bağılı bir ifadesi bulunduğı varsayılıp eldeki veriler yardımıyla bu parametreler belirlenmeye çalışılır.



**Şekil 6.** En küçük kareler regresyon modeli

**Kaynak:** Akça (2015)'ten modifiye edilmiştir.

Yakın sonuç veren katsayıların eğriden uzaklaşması yukarıdaki grafikteki gibi olacaktır. Bu sapmaların karesini en küçük yapan doğrunun katsayıları çözüm olarak en küçük kareler yönteminde seçilmektedir.

### 2.14.3. Bland-Altman Yöntemi

Bland ve Altman, iki niceliksel ölçüm arasındaki anlaşmayı tanımlamak için Bland-Altman (B & A) çizimini tanıtmıştır. İki kantitatif ölçüm arasındaki anlaşmayı, anlaşma sınırlarını oluşturarak ölçmek için bir yöntem oluşturmuşlardır. Bu istatistiksel limitler, iki ölçüm arasındaki farkların ortalama ve standart sapmaları kullanılarak hesaplanmıştır. Farklılıkların ve diğer özelliklerin normallik varsayımlarını kontrol etmek için grafiksel bir

yaklaşım kullanmışlardır.

Elde edilen grafik, Y ekseninin, iki eşleştirilmiş ölçüm (A-B) arasındaki farkı gösterdiği ve X eksenini, bu ölçümlerin ortalamasını  $(A + B) / 2$  temsil ettiği bir dağılım grafiğidir (XY). Diğer bir deyişle, iki eşleştirilmiş ölçümün farkı iki ölçümün ortalamasına göre çizilir. B & A, veri noktalarının ortalama farkın  $\% 95 \pm 2$ 'sinin içinde olması gerektiğini tavsiye etmiştir. Bu, B & A yöntemini çizmenin en yaygın yoludur, ancak farklılıkları yüzdeler veya oranlar olarak çizmek mümkündür ve her iki yöntem birbiri yerine kullanılabilir (Givarina, 2015).

Farklılıkların bir regresyon çizgisinin çizilmesi, orantısal bir farkın belirlenmesinde yardımcı olabilir (Leino ve ark, 2008; Demirezen ve ark, 2016). Parselin görsel incelemesi, iki ölçüm arasındaki küresel anlaşmayı değerlendirmemize olanak sağlar. Örneğimizde, farklılıkların ortalama farkı (d) ve standart sapma ile tahmin edilen önyargı hesaplanarak mutabakat eksikliğini özetleyebiliriz. Farklılıkların çoğu normalde dağılmışsa (Gaussian), farklılıkların çoğunun  $d - 2s$  ve  $d + 2s$  arasında olduğunu veya daha kesin olarak, farklılıkların  $\% 95$ 'inin  $d - 1,96s$  ve  $d + 1,96s$  arasında olacağını bekleriz. Örneğin bir histogram çizerek farklılıkların normal dağılımı her zaman doğrulanmalıdır. Bu eğri ya da çok uzun kuyrukları varsa, normal varsayımı geçerli olmayabilir. Herhangi bir istatistiksel yazılım mevcutsa, normal dağılım için bir test (Shapiro-Wilk testi), D'Agostino-Pearson testi (Mahbudur ve ark, 2017) gibi, Kolmogorov Smirnov testi (Hidenberg ve ark., 2018) yapılabilir. Örneklemden gözlemlerin dağılımının normal olduğu hipotezi için (eğer  $P < 0.05$  ise normalliği reddediyorsa). Farklılıklar normal olarak dağılmazsa, orijinal verinin logaritmik dönüşümü denenebilir.

## 3.GEREÇ ve YÖNTEM

### 3.1. Gereç

#### 3.1.1. Hayvan Materyali:

Bu çalışmaya Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 29 Haziran 2018 tarih ve 2018/VI. oturumunda alınan 64583101/2018/80 nolu etik kurul kararı ile başlanmıştır. Aydın Büyükşehir Belediyesi Sakız Koyunu Çiftliğindeki erişkin yaşta (7-9 aylık) rutin klinik muayeneleri sonucu sağlıklı olarak değerlendirilen 54 adet (30 erkek ve 24 dişi) Sakız ırkı koyun kullanılmıştır.

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Kan Alımı, Serum ve Plazma Eldesi

Kan örnekleri tüm hayvanlardan aynı gün içinde *V. jugularisten* vakumlu serum ve EDTA'lı plazma tüplerine alınmıştır. Örnekler alındıktan sonra bekletilmeden Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarına getirilmiştir. 3500 devirde santrifüj edilen plazma örneklerinde Eurolyser Solo (Avusturya) cihazında ticari test kiti (Eurolyse Lactate VET) kullanılarak laktat ölçümleri hemen yapılmıştır. Santrifüj sonucu elde edilen serum örnekleri ise ELISA cihazında laktat ölçümü yapılncaya kadar -20<sup>0</sup>C derin dondurucuya kaldırılmıştır.

### 3.3. Biyokimyasal Analizler

#### 3.3.1. Erolyser Solo İle Laktat Ölçümü

Kolorimetrik bir testtir. 546 nm dalga boyunda absorbans ölçümünün yapıldığı

fotometrik endpoint bir testtir. Ölçüm aralığı 0,1-15 mmol/l'dir. EDTA'lı kan örnekleri kullanılmış, plazma örnekleri kısa sürede ayrılmış ve bekletilmeden analizler yapılmıştır.

**Laktat yapılışı:**

Eurolyser Solo cihazı koyunlardaki değerlerin ölçümüne göre ayarlandı. Eurolyser lactate VET kiti cihaza yerleştirildi. 3,6 mmol numune 20 µl plazma eklenerek 546 nm'de okundu. Bir test ortalama 7 dakika sürdü, sonuçlar mmol/l türünden okundu.

### **3.3.2. ELISA ile Kolorimetrik Laktat Ölçümü**

#### **Prensip:**

Serum örneklerinden laktat düzeyi ticari test kiti ( Biovision Lactate Colorimetric assay Kit II, K827-100) kullanılarak belirlendi. Laktat, laktat dehidrojenaz enzimi ile okside olan ve 450 nm'de ölçülebilen renkli bir ürün oluşturur.

#### **Kit İçeriği:**

Laktat analiz tamponu, laktat enzim karışımı, laktat substrat karışımı, L(+)- laktat standart(100 mM)

#### **Laktat enzim karışımı:**

Kitin içinden çıkan enzim preparatı 0.22 ml laktat çalışma tamponu içinde çözüldü. Çözülen enzim karışımı aliquatlanarak -20 °C'de saklandı. Saklama süresi 2 aydır.

#### **Laktat Substrat Karışımı:**

0.22 ml laktat çalışma tamponu ile sulandırılarak hazırlandı. Hazırlanan çözelti +4 °C'de 2 ay boyunca stabildir.

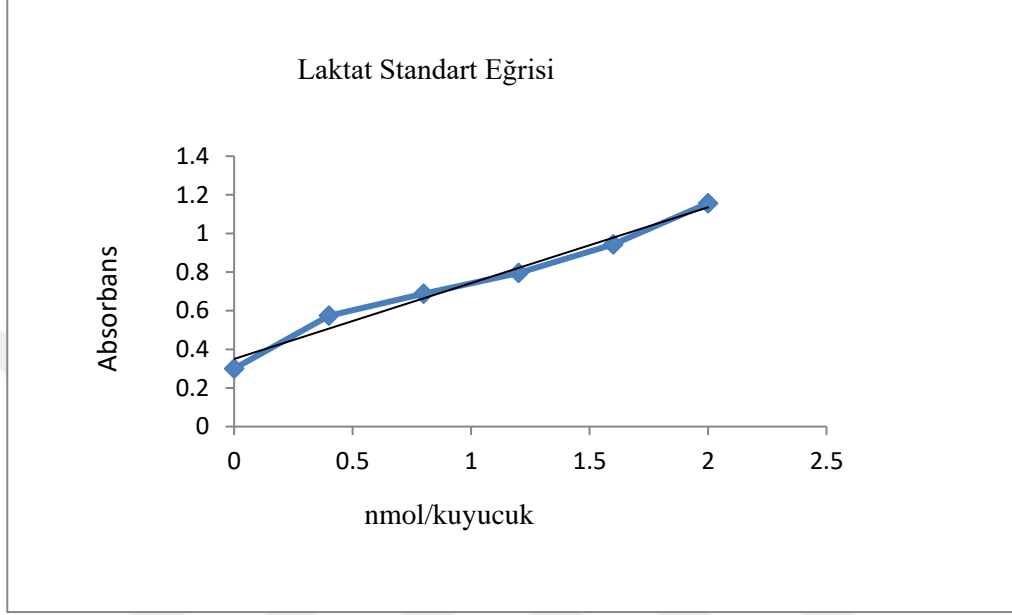
#### **Laktat Analiz Protokolü:**

Standartın için 10 µl laktat solüsyonu 990 µl laktat çalışma tamponu eklenerek 1 mM laktat standartı elde edildi. Laktat standartından 0, 2, 4, 6, 8, 10 µl alınarak her biri 50 ml'ye laktat çalışma tamponu ile tamamlandı. Sonuç olarak sırasıyla 0, 2, 4, 6, 8, 10 nmol/l standartlar elde edildi. Her bir örnek kuyucuğuna 45 µl laktat çalışma tamponuna ile 5 µl örnek eklendi. Hazırlanan örnek kuyucuklarının üzerine 50 µl reaksiyon karışımı (46 µl laktat çalışma tamponu, 2 µl laktat substrat karışımı, 2 µl laktat enzim karışımı ) ilave edildi. Karıştırıldıktan sonra 30 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.

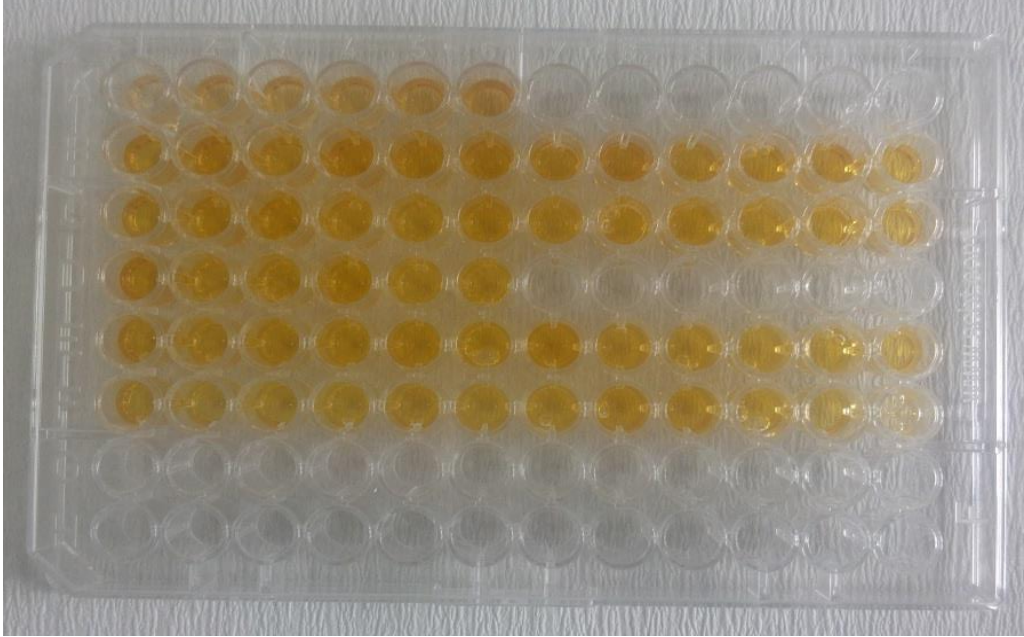
ELISA okuyucunda (Optic İvymen, İspanya) 450 nm'de örnek solüsyonun absorbanası (optik dansite) ölçüldü.

### Sonuçların hesaplanması:

450 nm'de okunan absorbanlardan nmol/kuyucuk olarak standart eğri çizildi. Test örneklerinin laktat konsantrasyonları bu eğriye göre hesaplandı. Elde edilen sonuçlar örnek hacmine bölündü. Sonuçlar mmol/l olarak ifade edildi.



Şekil 7. Laktat standart eğrisi



Şekil 8. ELISA testi laktat analiz sonucu

### 3.4. İstatistik Analiz

Yöntem karşılaştırma çalışmaları Clinical Laboratory Standards Institute tarafından yayımlanan National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)'in EP9-A2 protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. İstatistik analizler için SPSS (19.0) paket program ve XLSTAT 2019 (Trial version) programı kullanıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediklerini anlamak amacıyla Shapiro - Wilk testi yapıldı. Analiz değerlerinin normal dağıldığı sonucuna ulaşıldı ve parametrik testler yapıldı. İki sayısal ölçüm arasında doğrusal bir ilişki olup olmadığını, varsa bu ilişkinin yönünü ve şiddetinin ne olduğunu belirlemek için Pearson Korelasyon analizi uygulandı. ELISA yönteminde verilerin normal dağılım gösterdiği, Eurolyser ile yapılan analizde normal dağılım göstermediği belirlenen sonuçlara ilk karşılaştırma Paired t testi ile yapıldı ve iki ölçüm yöntemi arasındaki fark belirlendi. En iyi doğrusal uyumun belirlenmesi için Passing-Bablok regresyon analiz yapıldı. Son olarak iki yöntem arasındaki uyumun değerlendirilmesi için sistematik, orantılı ve rastgele hataların belirlenmesi amacıyla Blant-Altman testi yapıldı. Bütün değerlendirmelerde istatistiksel önem düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Bu çalışmada toplam 54 adet (30 erkek, 24 dişi) Sakız ırkı koyun kullanıldı. Çalışmada kullanılan koyunlar, klinik muayene sonucu sağlıklı kabul edilen hayvanlardan seçildi. Plazma ve serum Laktat düzeylerine ait tanımlayıcı istatistik sonuçlar Tablo.2’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Plazmada ve Serumda Kolorimetrik ve Eurolyser Solo ile ölçülmüş laktat düzeyleri tanımlayıcı istatistik sonuçları (Ortalama, Median, Min-max değerleri, standart sapma ve standart hatalar).

Laktat mmol/L	Ortalama	Minimum	Maximum	%95 Güven Aralığı	Standart Sapma	Standart Hata
<b>Kolorimetrik</b>	3,52	2,02	5,35	3,38-3,75	0,59	0,08
<b>Eurolyser</b>	4,57	2,28	7,55	4,40-5,20	1,17	0,16

Araştırmadan elde ettiğimiz sonuçlara göre kolorimetrik yöntem kullanılarak ELISA cihazında ölçülen ortalama laktat konsantrasyonu  $3,52 \pm 0,58$  mmol/L (Min-Max: 2,02-5,35mmol/L) ölçülmüşken Eurolyser ile yapılan ölçümlerde ortalama plazma laktat konsantrasyonu  $4,57 \pm 1,47$  (Min-max 2,28-7,55 mmol/L) olarak belirlenmiştir.

**Tablo 3.** Plazmada ve Serumda ELISA ve Eurolyser cihazları ile ölçülmüş plazma laktat konsantrasyonları Pearson Korelasyon analizi tanımlayıcı istatistik sonuçları

	Eurolyser	Kolorimetrik
<b>Eurolyser</b>	1	,626** 0
<b>Kolorimetrik</b>	0	1
	N	54

\*\*  $p < 0,01$

Yapılan person korelasyon analiz sonucunda testin pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca pearson korelasyon değeri 0,626’dır. Yüksek derecede korelasyon elde edilmiştir.

**Tablo 4.** Plazmada ve Serumda ELISA ve Eurolyser cihazları ile ölçülmüş plazma laktat

konsantrasyonları Paired t-testi analizi tanımlayıcı istatistikleri

	<b>Farkın %95 Güven Aralığı</b>	<b>Standart Sapma</b>	<b>Standart Hata</b>	<b>Ortalama</b>
<b>Kolorimetrik - Eurolyser</b>	<b>Alt</b> -1,3	0,92	0,12	-1,04
	<b>Farkın %95 Güven Aralığı</b>	t	-	p
<b>Kolorimetrik - Eurolyser</b>	<b>Üst</b> -0,79	-8,29	-	0

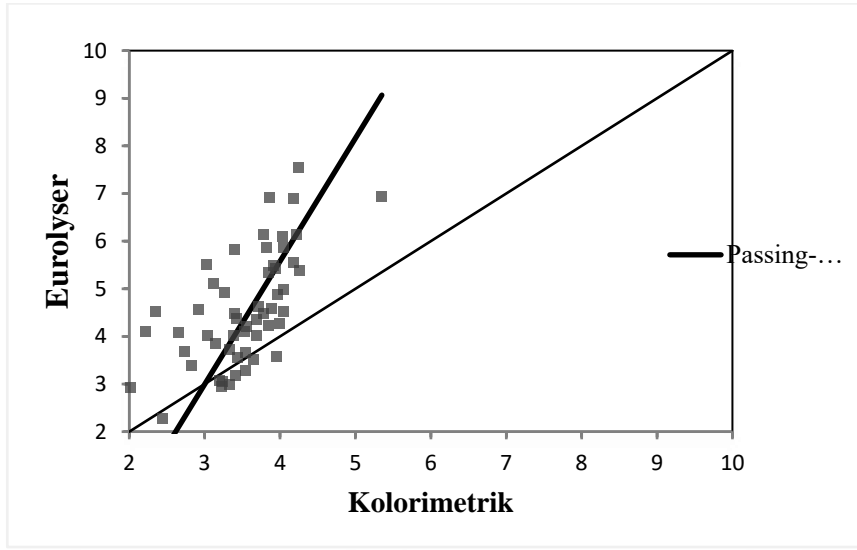
Tablo 4’te test edilen Eurolyser ve referans olarak alınan ELISA cihazlarında kolorimetrik yöntemeye dayalı plazma laktat düzeyi ölçümleri ortalama ve paired t test sonuçları değerlendirildi. Bu analiz sonucuna göre referans metot olan kolorimetrik ölçüm yönteminin ortalama değeri Eurolyser cihazında ölçülen değerden daha küçük çıkmıştır. ELISA cihazı plazma laktat değeri kolorimetrik ölçüm yöntemine dayalı Eurolyser cihazı ile ölçülen laktat konsantrasyonları arasındaki farkın anlamlı olduğu belirlendi. t değeri -8,29 bulunmuş olup iki analiz sonucunun aykırı olduğunu sonucuna ulaşıldı. Yapılan ilk istatistiki değerlendirmede kolorimetrik laktat analizi sonuçlarının Eurolyser’da yapılan ölçüme göre istatistiki olarak daha düşük olduğu belirlenmiştir ( $p<0,001$ ).

**Tablo 5.** Plazmada ve Serumda Elisa ve Eurolyser ile ölçülmüş laktat düzeyleri Passing-Bablok istatistik sonuçları

<b>Parametre</b>	<b>Bias (yanlılık)</b>	<b>%95 Güven Aralığı</b>
<b>Kesim (İntercept)</b>	-4,75	-8,75/-2,12
<b>Eğim (Slope)</b>	2,58	1,84 / 3,64

**Denklem:** Eurolyser mmol/L= -4,75+2,58 Colorimetrik mmol/L

Passing-Bablok regresyon yöntemi kullanılarak Elisa cihazı ile ölçülen laktat konsantrasyonunun analiz sonuçlarına göre regresyon doğrusunun kesim noktası -4,75’tir ve bu değere ait güven aralığı 0(sıfır) değerini içine almamaktadır. Eğim değeri ise 2,58’dir ve bu değere ait güven aralığı 1(bir) değerini içermemektedir. Bu sonuçlara göre Eurolyser Solo ve ELISA cihazları ile ölçülen plazma laktat değerleri arasında sistematik ve orantısız yanlılık gözlemlendiği sonucuna ulaşılmıştır. Passing-Bablok regresyon analizi denklem sonucu ise ; ‘ Eurolyser(Eurolyser Solo) = -4,75 + 2,58Colorimetrik’ olarak çıkarıldı.



**Şekil 9.** Kolorimetrik(ELISA) ve Eurolyser Solo cihazında ölçülen laktat konsantrasyonları (mmol/L) arasındaki Passing-Bablok regresyon analizi

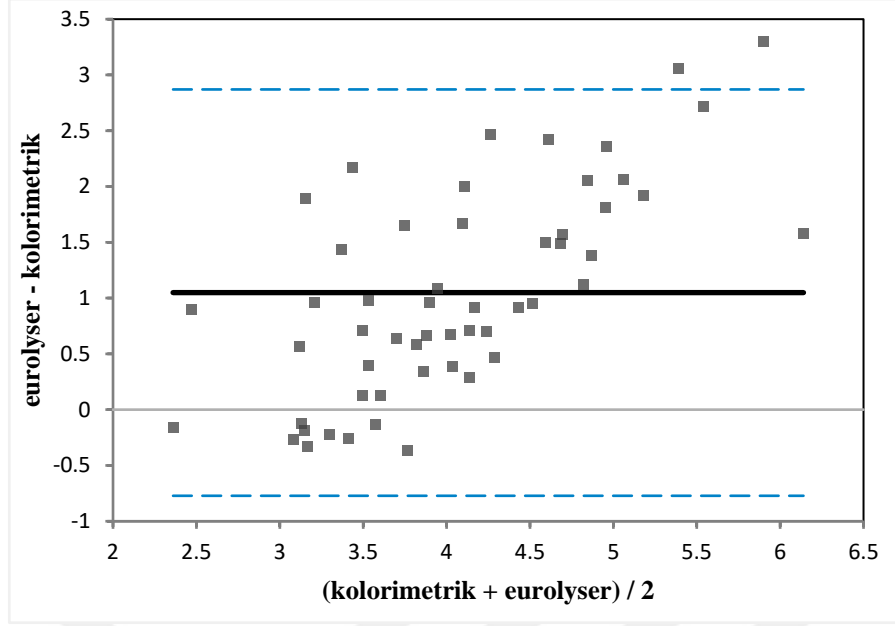
**Tablo 6.** Elisa ve Eurolyser Solo ile ölçülmüş laktat düzeyleri Bland&Altman uyum sınırları grafiği

Parametre	Minimum	Maximum
Kolorimetrik	2,02	5,35
Eurolyser	2,28	7,55
(Kolorimetrik + Eurolyser) / 2	2,36	6,14

**Tablo 7.** Bland Altman uyum sınırları grafiği %95 güven aralıkları

Parametre	Bias( yanlılık)	95% Güven Aralığı	Farklar(Eurolyser solo-ELISA)
Ortalama Fark	1,04	0,79 / 1,30	0,12
Alt Limit	-0,77	-1,2/-0,33	0,21
Üst Limit	2,87	2,43 / 3,30	0,21

Standat Sapma	0,92
---------------	------



**Şekil 10.** Kolorimetrik(ELISA) ve Eurolyser cihazında ölçülen Laktat konsantrasyonları (mmol/L) arasındaki Bland Altman plot analizi

54 denek üzerinden yapılan çalışmada iki metot ile yapılan laktat değerlerinin Bland&Altman yöntemi kullanılarak yapılan kolorimetrik yöntem ile ölçülen laktat konsantrasyonunun farklarına ilişkin ortalama değeri 1,04 olup ortalama farkın standart sapması 0,92 bulundu. Farkların ortalamasına ait %95 güven aralığı 0,79 ile 1,30 olarak elde edilmiştir. Yine bu ölçümlerin değerlerine ilişkin ortalama ve standart sapmaları dikkate alınarak hesaplanan %95 güven seviyesindeki uyum sınırları -0,77( alt sınır) ve 2,87(üst sınır) olarak belirlendi. Ayrıca %95 güven sınırları dışına çıkan 2 tane değer mevcuttur. Bu sonuçlara göre Eurolyser Solo cihazı ile ölçülen plazma laktat değerleri, referans metotla ölçülen(ELISA) serum laktat değerinden 2,87 mmol/l büyük, -0,77 mmol/l küçük bulunabilir.

**Tablo 8.** Uyumluluk analiz sonuçları özetleri

Cihaz (Örnek)	Pearson	Paired t		Passing-Bablok		Bland&Altman		
	r	T	Önemlilik	Kesim (%95GA)	Eğim (%95GA)	Ortalama	Alt limit (%95GA)	Üst limit (%95GA)
<b>ELISA/Eurolyser</b>								
<b>Solo</b>	,626**	-8,29	,000	-4,75	2,58	1,04	-1,2 / -0,33	2,43 / 3,30
<b>Serum/Plazma</b>								

## 5. TARTIŞMA

Kritik hastalarda artmış kan laktat seviyeleri (hiperlaktataemi) yaygın görülen bir semptomdur. Yetersiz doku oksijenasyonunu teşhis etmek için sıklıkla kullanılmasına rağmen, doku oksijenasyonu ile ilgili olmayan olaylar da laktat seviyelerini arttırabilir. Özellikle kritik hastalarda artmış glikoliz, hiperlaktateminin önemli bir nedeni olabilir. Bununla birlikte, artan laktat seviyelerinin varlığı, hiperlaktatemik hastalarda mortalite ve morbiditesi açısından önemli belirleyici bir parametre olmaktadır (Bakker ve ark, 2013).

Laktat, anaerobik metabolizmanın bir ürünüdür. Kandaki laktat konsantrasyonu, hastalık şiddetini belirlemek, tedaviye yanıtı değerlendirmek ve sonucu tahmin etmek için klinik olarak doku hipoperfüzyon ve hipoksinin bir göstergesi olarak kullanılır (Sharkey ve Wellman 2013). Son yıllarda geliştirilen Eurolyser Solo (Veterinary Point-of-Care System, Salzburg/Austuria) tanı amaçlı kullanılacak tam otomatik bir hasta başı cihazdır. Analizör, büyük ölçekli laboratuvar cihazlarının hassasiyeti ile birkaç dakika içinde otomatik olarak test sonuçları sağlar. Bu çalışmanın amacı, belirtilen cihazın koyunlarda plazma laktat konsantrasyonları ölçüm değerlerinin, referans metot ile elde edilen ölçüm değerleri sonuçlarına uyumunun değerlendirilmesidir. Bu değerlendirmeler sonucunda, karşılaştırılan metotların değişimli olarak birbirleri yerine kullanılabilirliği uyumlu olup olmadığı ve test edilen metodun(cihazın) kullanılabilirliği ortaya çıkarılacaktır.

Metot karşılaştırma çalışmalarında örnek sayısı önemli bir faktördür. Genel olarak, yöntem karşılaştırma çalışmalarında geleneksel olarak kullanılan 40-100 örneğin büyüklüğündeki örneklem büyüklükleri gözden geçirilmelidir (Linnet, 1999). Bu çalışmada sağlıklı 30 erkek ve 24 dişi toplamda 54 sakız ırkı koyun kullanılarak yeterli örnek sayısını ulaşılmıştır. Uyumluluk testini yapmadan önce dikkate alınması gereken bir diğer konu ise örneklerin klinik bozuklukları gösterecek bir çalışma aralığında belirlenmesidir (Jensen ve Hansen 2006). Bu çalışmada klinik olarak sağlıklı 30 erkek ve 24 dişi sakız ırkı koyun alınarak çalışmanın serum ve plazmada laktat konsantrasyonunun ortalama bir aralıkta değerlendirilmesi hedeflendi. Tablo 5'te görüldüğü üzere, 54 Sakız ırkı koyunun referans cihazla ölçülen serum ve plazma laktat konsantrasyonları ölçüm aralığı 2,28- 7,55 mmol/L arasında bulunması, laktat klinik bozukluğunun değerlendirilmesini sağlayacak uygun bir çalışma aralığı olduğunu göstermiştir.

Yeni (test) metot/cihazın uyumluluğunu denemeden önce reaksiyon ilkeleri,

hesaplama, sıcaklık, ölçüm aralığı test tekniği ve gereken örnek miktarı hakkında değerlendirme yapılır. Bu ön başlangıç aşamasının amacı yöntem deneyinin karşılaştırılması, gerçek hasta numunelerinde ortaya çıkan sistematik hataların değerlendirilmesi için kritik öneme sahiptir (Westgard, 2008). Bu çalışmada koyunlarda laktat ölçümünde uyumluluğu test edilen Eurolyser cihazıyla daha önce laktat ölçümünün karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Laktat ölçüm metodu değerlendirilen çalışmalar (Karapınar ve ark, 2013; Figueiredo ve ark, 2006; Buczinski ve ark, 2014) mevcut olup bu çalışmalarda i-STAT, ELISA, Lactate pro, Accutred plus ve Lactate Scout, cihazları kullanılmıştır. Yapılan bir çalışmada (Jasensky ve ark. 2015) Eurolyser hem insan hem de köpeklerde önemli akut faz proteini olan CRP konsantrasyonu ölçülmüş ve referans metot olarak ELISA testi kullanılarak karşılaştırma yapılmıştır. Yapılan çalışmada Eurolyser cihazı tarafından analiz edilen yüksek CRP konsantrasyonuna sahip 4 örnek <10 mg/l yanlış düşük değerler vermiş ve bu değerler seyreltilerek tekrarlanmış fakat daha iyi sonuçlar elde edilememiştir. Bu hatalı sonucun nedeni belirlenememiştir. Minnaard ve ark (2013) Eurolyser cihazı da dahil olmak üzere POCT CRP testlerinden beşinin analitik performansını, anlaşma ve kullanımını karşılaştırmışlardır. Bu beş farklı POCT CRP testinin analitik performansını değerlendiren ilk çalışmadır (Minnard ve ark, 2013).

Laktik asidin hızlı ve güvenilir analizi, klinik analizler, gıda endüstrisi ve spor hekimliği gibi alanlarda önemli bir rol oynar. Laktik asit tayini için HPLC, iyon kromatografisi veya enzimatik kitler kullanılmaktadır ancak bu yöntemler genellikle pahalı, zaman alıcı ve zahmetlidir (Çelik, 2014). Günümüzde egzersiz fiziyojisi laboratuvarlarında Yellow Spring Instruments (YSI serisi), Radiometer Copenhagen (ABL serisi), Kodak Ektachem, Analox ve Roche Diagnostics gibi firmaların üretimi olan ve elektro-enzimatik yöntemle çok hassas ( 0.01 mM) ölçüm yapan analizörler kullanılmaktadır. Son yıllarda antrenör ve sporcuların özel beceri gerektirmeden saha ortamında laktik asit konsantrasyonunu ölçebilmelerini sağlayan Accusport Lactate Meter (Boehringer Mannheim, Almanya), Lactate Scout Plus (LSP, SensLab, Almanya), Lactate Pro (Arkray KDK, Japonya), Accutrend Lactate (Roche Diagnostics GmbH, Almanya) ve Lactate Plus (Nova Biomedical, ABD) gibi taşınabilir kompakt laktik asit analizörleri geliştirilmiştir (Hazır ve ark, 2010). İnsan hekimliğinde bu gelişmeye paralel olarak hayvan hekimliğinde de bu cihazların farklı kombinasyonlarda veya benzer ölçüm teknolojilerini kullanan kan gazları cihazları kullanılmaya başlamış olup örnek çalışmalar da uygulanmıştır (Karapınar ve ark., 2013). Ancak koyun keçi hekimliğinde cihazların alım maliyetinin yüksek olması ve kalibrasyon için solüsyon kullanılması, kan gazları kartuşlarının ve kuru sistemin laktat test

striptlerinin pahalı olması, yaşamsal nitelikteki bu elektrolitin ölçümünü sınırlamaktadır. Daha önce sığırlarda tam kan ve plazma laktat konsantrasyonu ölçümünde belirtilen cihazların uyumlu bulunmasından hareketle, söz konusu cihazın uyumluluğunun test edilmesi amaçlandı, bu kapsamda yeni cihazda (Eurolyser Solo) ölçülen plazma laktat konsantrasyonu ile referans yöntem olan kolorimetrik ölçüm yöntemi arasındaki uyumu değerlendirilerek bir analizin diğeri yerine kullanılabilirliği araştırıldı.

Yöntem karşılaştırması, iki yöntemin karşılaştırılmasını değerlendirmek için laboratuvar uzmanları tarafından sıklıkla gerçekleştirilir. Yöntem karşılaştırma çalışmasının kalitesi, sonuçların kalitesini ve sonuçların geçerliliğini belirler. Başarılı bir yöntem karşılaştırmasının anahtarı bu nedenle iyi tasarlanmış ve dikkatlice planlanmış bir deneştir. Yöntem karşılaştırması ile cevaplanması gereken soru, hasta sonuçlarını ve hasta sonuçlarını etkilemeden iki yöntemin birbirinin yerine kullanılıp kullanılmayacağıdır. Başka bir deyişle, iki yöntemi karşılaştırarak, yöntemler arasında bir fark olup olmadığı değerlendirilmektedir. Burada asıl hedef, iki metodun birbiri yerine değişimli olarak kullanılabilmesi ve elde edilen sonuçların yeterli derecede uyumlu olup olmadığını belirlemektir. Yeni test metot/cihazın referans yöntemine alternatif olarak kullanılmasını değerlendirmek amacıyla ortalama ve ortancalarının karşılaştırılması, Bland Altman yöntemi, korelasyon analizi ile Passing Bablok veya Deming regresyon analizi ölçüm teknikleri arasındaki uyumun belirlenmesinde sıklıkla kullanılan istatistiksel yöntemlerdir (Ludbrook, 2010; Simundic 2016; Özen, 2018).

Metot karşılaştırma çalışmasında Passing Bablok regresyon, linear regresyon ve korelasyon yöntemi, yeni metodun/cihazın kullanımının karar verilmesinde birçok yönden problemlili olduğu belirtilmektedir (Ludbrook, 2010; Simundic, 2016; Özen 2018). İki ölçüm arasında anlamlı bir önyargının varlığını değerlendirmek için fark grafikleri kullanılır. Önemli bir önyargı varsa, fark grafikleri, önyargının iki ölçümün ortalama değeriyle nasıl ilişkili olduğunu değerlendirmede yardımcı olabilir. Metotlar arasındaki farklar normal olarak dağılmışsa, belirli bir güven düzeyi ile numuneyi oluşturanlar gibi hastalarda ortalama farkı tahmin edebilir (Hanneman, 2008). Ortalama veya ortanca değerlerin karşılaştırılması iki metodun arasındaki gerçek farkı belirlemek yerine artan veya azalan değerlerin gerçek eğilimini gösterir (Bland Altman, 1999). Bu çalışmada 54 Sakız ırkı koyunun kolorimetrik yöntemine dayalı Eurolyser(Eurolyser Solo) cihazıyla ölçülen ortalama laktat düzeyi 4,57 mmol/L laktat konsantrasyonlarının referans metotla(ELISA) ölçülen ortalama laktat değerinden (3,52 mmol/L) önemli düzeyde düşük bulunması (Tablo 2) artan ve azalan değerlerin sonucu olarak değerlendirilebilir.

Metot karşılaştırma yöntemlerinden biri olan korelasyon testleri iki yöntemin uyumluluğunu belirlemede sıklıkla kullanılmaktadır fakat bu testin olumsuz yönlerine değinilmemiştir (Bland Altman, 1983b; 1986a, Givarina, 2015). İki değişken arasındaki ilişki miktarı, ikili ya da basit korelasyon denilen korelasyon teknikleriyle hesaplanır ve korelasyonun katsayısı verilerdeki dağılım genişliğine bağlıdır. Bu çalışmada Sakız ırkı koyunlarda kolorimetrik yöntem ile yapılan ölçüm sonucu laktat konsantrasyonunun 2,02-5,75 mmol/L Eurolyser cihazı ile ölçülen laktat konsantrasyonunun 2,28-7,55 mmol/L gibi geniş aralıktaki değerleri içerdi. Sonuçların dağılımlarının geniş olması Eurolyser cihazı ile ölçülen plazma laktat konsantrasyonları ile referans metotla ölçülen serum laktat değerleri arasında pozitif yönde korelasyon oluşmuştur. Pearson korelasyon değeri 0,626'dır (Tablo 2). Bu değer kuvvetli bir ilişki (Tablo 1) olduğunu açıklamaktadır. Ancak bu sonucun iki yöntemin tam olarak uyumlu olduğu anlamında değerlendirilmemelidir. Korelasyon analizi, iki bağımsız parametrenin doğrusal ilişkisine ilişkin kanıtlar sağlar, ancak iki ölçüm serisi arasındaki oransal veya sabit yanlılığı saptamak için kullanılamaz (Simundic, 2016). Korelasyon, numunedeki gerçek miktarın aralığına bağlıdır. Bu genişse, korelasyon dar olduğundan daha büyük olacaktır. Linear korelasyon metot karşılaştırma çalışmalarında sıklıkla kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntemde hangi yönteme ait verilerin bağımlı değişken ya da bağımsız değişken olarak kabul edilmesi bilgisi bulunmamaktadır. Regresyon katsayısı da dağılım genişliğinden etkilenmektedir. Bu sebepten dolayı yapılan çalışmada linear regresyon analizi uygulanmamıştır.

Metot karşılaştırma yöntemlerinden biri olan linear regresyon belirtildiği gibi dezavantajlarından dolayı tercih edilmemiştir. Yine klasik yöntem olan korelasyon analizi çalışma sonucuna alternatif olarak kullanılmıştır. Klasik yönteme alternatif olarak geliştirilen Passing Bablok veya Deming regresyon analizi ve Bland Altman yöntemlerinin uygulanmasının gerekliliği vurgulanmıştır (Simundic, 2016; Özen, 2018). Farklı disiplindeki araştırmacılar, ölçün yöntemlerini karşılaştırmak için favori yöntemlere sahiptir fakat Bland ve Altman tarafından geniş kapsamlı genel ve özel tıp dergilerinde yer alan birkaç makalede sunulan farklılık yöntemini tercih etmektedir. Klinik kimyagerler bir yöntemi diğerine göre kalibre etmekle ilgilenir çalışmada sistematik ve/veya orantısız bir yanlılığın bulunması durumunda en sık olarak Passing Bablok regresyon yöntemini tercih etmektedir (Ludbrook, 2010).

Bu çalışmada 54 Sakız ırkı koyunun yeni cihaz (Eurolyser Solo) ile ölçülen serum laktat (Tablo 2,3 Şekil 8,9) konsantrasyonları ile referans metotla (ELISA) ölçülen laktat konsantrasyonlarının uyumu (Tablo 4-7 Şekil 10,11) Passing Bablok ve Bland Altman

yöntemleri ile değerlendirildi. Passing Bablok regresyon analizi, yeni metodu/cihazı olarak Eurolyser Solo ile ölçülen plazma laktat değerleri (Tablo 4,5 Şekil 10) ve referans metot/cihazla (ELISA cihazı) ölçülen serum laktat değerleri arasında, regresyon doğrusunun kesim noktası değerlerine ait güven aralıklarının 0 (sıfır) ve eğim değerine ait güven aralıklarının 1 (bir) değerini içermemesi nedeniyle sistematik ya da orantısız bir yanlılık olduğunu gösterdi (Tablo 5,7 Şekil 10,11).

Bland Altman analiz metodu objektif sonuçlar verir ve yorumu bize rehberlik etmektedir. Bland Altman sadece anlaşmanın aralıklarını tanımlar, bu sınırların kabul edilebilir olup olmadığını söylemez. Kabul edilebilir sınırlar, klinik zorunluluk, biyolojik düşünceler veya diğer hedefler önceden belirlenmelidir (Givarina, 2015). Bland Altman uygulanabilmesi için farkların dağılımları ve farklar ile ortalamalar arasında ilişki olmadığı belirlenmiş ve Bland Altman yönteminin uygulanabilirliği saptanmıştır. Şekil 11 , Tablo 7’da görüldüğü üzere Bland Altman değerlerinin önemli bir kısmı (2 değer hariç) uyum sınırları içinde olduğundan dolayı farklar ve ortalamalar arasında bir ilişki bulunmadığını savunur. İki metodun karşılaştırılması sonucu aradaki farkın veya uyumun değerlendirilmesinde referans metot ile test edilen metodun sonucunun doğruluğu, yakınlık derecesi, %95 güven aralığı ve referans kabul edilen metot ile test edilen metot arasındaki fark (bias: toplam sistematik hata) dikkate alınır (Özen, 2013; Jensen ve Hansen, 2008). Bland Altman analizine göre ortalama laktat konsantrasyonu farkının 1,04 mmol/l ( Tablo 7, Şekil 11), değerlerin %96’sının(52/54) uyum sınırları içinde olması, iki metot arasında uyumun olduğunu belirtmektedir.

Kolorimerik yöntemle bağlı cihazların doğruluğunu ve performansını, alınan numune sayısı, bazı maddeler de antijen antikor oluşumu gibi farklı faktörler etkilemektedir (Jasenky ve ark, 2015; Kangas ve ark, 2017) ve test edilen metotdan elde edilen veriler referans metotdan önemli ölçüde farklı çıkabilmektedir. Bu çalışmada plazma laktat konsantrasyonu ölçümünü etkilemesi olası faktörler değerlendirilmedi. Bununla birlikte laktat ölçümünde kullanılan test yöntemi/metodu Eurolyser Solo ve referans yöntemi/metodu ELISA plazma laktat konsantrasyonu ölçümünü Kolorimerik yöntemle yapıldığı için söz konusu olası faktörlerin etkileri kısıtlı olacağı düşünüldü. Bu çalışmada ortaya çıkan farkın referans yöntem olarak kullanılan ELISA kolorimetrik yönteminde serum; Eurolyser yönteminde plazma kullanılmasından kaynaklanmış olabileceği düşünüldü.

Eurolyser (Eurolyser Solo) cihazıyla ilgili bazı güçlüklerin de belirtilmesi gerekmektedir. Ölçümle ilgili olarak bazı bazı numunelerdeki farklı değerler tekrarlanmıştır. İfade edilen cihazın bir diğer sorunu ise kalibrasyonun manuel yapılmasıdır. Kullanılan

örnek sayısı metot karşılaştırma çalışması için yeterlidir fakat çalışmada kullanılan denek sayısı daha fazla olduğunda elde edilecek değerlendirme ne kadar farklı olabileceği bilinmemektedir.

Sonuç olarak, Eurolyser Solo ve referans metotla ölçülen plazma laktat konsantrasyonu değerleri arasında istatistiksel olarak fark ve yanlılık(bias) bulunmakla birlikte, kabul edilebilir sınırlar içindedir. Bu nedenle, Sakız ırkı koyunlarda Eurolyser Solo ile plazma laktat konsantrasyonu ölçümü değerlendirilebilir. Koyunlarda Eurolyser Solo ile plazma laktat ölçümünün güvenilir olduğu söylenebilir.



## SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışma ile Eurolyser Solo Cihazı ile plazma laktat konsantrasyonu ölçümünün güvenilir, hızlı ve nispeten daha ucuz maliyetle belirlenebileceği ortaya konmuştur.

2. Koyunlarda Eurolyser Solo ile plazma laktat ölçümü sonuçlarını değiştirebilecek farklı hastalık tabloları ile farklı plazma lipid ve protein konsantrasyonlarının olası etkilerinin belirleneceği çalışmaların yapılması yararlı olacaktır.



## KAYNAKLAR

- Aberman A, Hew E.** Lactic Acidosis Presenting as Acute Respiratory Failure, *American Review of Respiratory Disease*, 1978, 118(5)
- Andersen LW, Mackenhauer J, Roberts JC, Berg KM, Cocchi MN, Donnino MW.** Etiology and Therapeutic Approach to Elevated Lactate Levels, *Mayo Foundation for Medical Education and Research*, 2013, 88(10), 1127-40
- Bakker J, Nijten MW, Jansen TC.** Clinical use of Lactate Monitoring in Critically Ill Patients, *Annals of Intensive Care*, 2013, 3(1), 3-12
- Başer DF, Karakaş B, Civelek T.** Kedi ve Köpeklerde Laktatın Klinik Önemi, *Koçtepe Veterinary Journal*, 2016, 9(3), 353-356
- Bellomo R.** Bench to Bedside Review: Lactate and to Kidney, *BioMed Central Critical Care*, 2002, 322(2002)
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L.** The Citric Acid Cycle, *Biochemistry*, 2002, 5(17)
- Bingöl G.** Karbonhidratlar, Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitabı Serisi, 1976, 36
- Buczinski S, Forte G, Francos D, Belanger AM.** Comparison Of Thoracic Auscultation, Clinical Score, And Ultrasonography As Indicators Of Bovine Respiratory Disease In Preweaned Dairy Calves, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2014, 28(1), 234-242
- Burtins C, Burns D.** Tietz Fundamentals Clinical Chemistry, Carbohydrates. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics (4th edition). *St. Louis: Elsevier*, 2006, 976
- Bland JM, Altman DG.** Measuring Agreement in Method Comparison Studies, *Journal of Statistical Methods in Medical Research*, 1999, 8(2), 135-160

**Bland JM, Altman DG.** Measurement in Medicine: The Analysis of Method Comparison Studies, *Journal of the Royal Statistical Society: Series D (The Statistician)* , 1983, 32(3), 307-317

**Bland JM, Altman DG.** Statistical Methods For Assessing Agreement Between Two Methods Of Clinical Measurement, *The Lancet*, 1986, 327(8476), 307-310

**Connor H, Woods HF, Ledingham JGG.** Comparison of the Kinetics and Utilisation of *D*(-)- and *L*(+)-Sodium Lactate in Normal Man, *Annals of Nutrition&Metabolism*, 1983, 27, 481-487

**Cori CF, Cori GT.** The Mechanism Of Epinephrine Action. IV. The Influence Of Epinephrine On Lactic Acid Production And Blood Sugar Utilization, *Journal of Biological Chemistry* , 1929, 685-687

**Çelik AC.** Laktat Tayini için Laktat Oksidaz Temelli Amperometrik Enzim Elektrot Hazırlanması, Yüksek Lisans, Kimya Anabilim Dalı, 2014, 111

**Demirezen, Uzuncan, Bilgili, Akşit, İhtiyar, Esenlik, Bozkaya.** Hba1c Tayininde HPLC Yöntemlerinin Karşılaştırılması, *Türk Klinik Biyokimya Derg* , 2016, 14(2), 73-78

**Engelking LR,** Veterinary Physiogological Chemistry, Introduction to Glycolysis, 3, 2015, 153-158

**Ewaschuk JB, Neylor JM., Zello GoA.** D-Lactate in Human and Ruminant Metabolism, *The Journal of Nutrition*, 2005, 135(7)

**Essex DW, Jin DK, Bradley TP.** Lactic Acidosis Secondary To Severe Anemia İn A Patient Parokxysmal Nosturnal Hemoglobinuria. *American Journal Of Hematology*,1998, 55(2), 110-11

**Fall PJ, Szerlip HM.** Lactic Acidosis: From sour milk to Septic Sock, *Journal of Intensive care medicine*,2005, 20(5)

**Farrel DF, Clark AF, Scott CR, Wennberg AP.** Absence Of Pyruvate Decarboxylase Activity İn Man: A Cause Of Congenital Lactic Acidosis., *Science Webinars*, 1975,187(4181)

**Figueiredo FA, Perez RM, Freitas AA, Kondo M.** Comparison Of Three Methods Of Nutritional Assessment In Liver Cirrhosis: Subjective Global Assessment, Traditional Nutritional Parameters, And Body Composition Analysis, *Journal of Gastroenterology*, 41(5), 2006, 476-482

**Foucher CD, Tubben RE,** Lactic Acidosis, A service of the National Library of Medicine, 2019

**Friedenberg AS, Brandoff DE, Shiffman FC.** Type B Lactic Acidosis As A Severe Metabolic Complication In *Lymphoma And Leukemia: A Case Series From A Single Institution And Literature Review*, 2007, 86(4), 225-232

**Genç Y, Sertkaya D, Demirtaş S.** Klinik Araştırmalarda İki Ölçüm Tekniğinin Uyumunu İncelemede Kullanılan İstatiksel Yöntemler, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 2003, 56(1), 1-6

**Gillespie İ, Rosenstein PG, Hughes D.** Clinical Use of Plazma Lactate, *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 2017, 47(2), 325-342

**Gogtay NJ, Thatte UM.** Principles of Correlation Analysis, *Journal of Physicians of India*, 2017, 65, 78-80

**Gomez H, Mizock BA.** Hyperlactatemia and Lactic Acidosis, *Elsevier*, 2018, 13(67), 394-404

**Gore DC, Jahoor F, Hibbert JM, DeMaria EJ.** Lactic Acidosis During Sepsis is Related to Increased Pyruvate Production, Not Deficits in Tissue Oxygen Availability *Annals of Surgery*, 1996, 224(1), 97-102

**Göçen U.** Konjenital Açık Kalp Ameliyatkarında Perioperatif Serum Laktat ve Kreatinin Seviyelerinin Postoperatif Sonuçlarla Korelasyonu. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana, 2009, 14-19

**Givarina D.** Understanding Bland Altman analysis, *Clinical Chemistry and Hematology Laboratory*, San Bortolo Hospital, Vicenza, Italy, 2015, 25(2), 141-51

**Gladden LB.** Lactate Metabolism, A New Paradigm For The Third Millennium, *The Journal Of Physiology*, 2004, 558(1), 1-30

**Granat F, Geffr'e A, Braun JP, Trumel C.** Comparison Of Platelet Clumping And Complete Blood Count Results With Sysmex XT2000iV In Feline Blood Sampled On EDTA Or EDTA Plus CTAD (Citrate, Theophylline, Adenosine, and Dipyridamole), *Journal Feline Medical Surgery*, 2011,13(12)

**Halestrap AP.** The Monocarboxylate Transporter Family-Structure and Functional characterization *School of Biochemistry, Medical Scientist Building, University of Bristol, Bristol UK*, 2012, 64(1), 1-9

**Halestrap AP, Wilson MC.** The Monocarboxylate Transporter Family Role and Regulation, *IUBMB Life*, 2011, 64, 109-119

**Hanneman SK.** Design, Analysis, And Interpretation Of Method-Comparison Studies, *AACN Advanced Critical Care*, 2008, 19(2), 223-234

**Hazır T, Aşçı A, Cinemre A, Açıkkada C.** Evaluation of a Handheld Lactic Acid Analyser: Reliability And Validity of the Lactate Scout (+), *Hacettepe Journal of Sport Sciences*, 2010, 21 (3), 79–89

**Herrera D, Morris K, Johnston C.** Automated Assay for Plasma D-lactate by Enzymatic Spectrophotometric Analysis with Sample Blank Correction, *Annals Of Clinical Biochemistry*, 2008, 45(12)

**Hidenberg S, Kebler M, Zielinsky S, Langenstein J, Moritz A, Bauer N.** Evaluation of a Novel Quantitative Canine Species-Specific point-of-care assay for C-reactive Protein, *BioMed Central The Open Access Publisher*, 2018, 14(99)

**Higgins C.** Lactate and Lactic Acidosis, *Acute care testing handbook*, 2007,37

**Higgins C.** L-lactate and D-lactate Clinical Significance of the Difference, *Acute care testing handbook*, 2011,4

**Hooijberg E, Leidinger E, Freeman KP.** An Error Management System in a Veterinary Clinical Laboratory, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2012, 24(3), 458-68

**James JH, Luchette FA, Mccarter FD, Fisher JE.** Lactate is an Unreliable Indicator of Tissue Hypoxia in Injury or Sepsis, *Department of Surgery, University of Cincinnati Medical Center, OH, USA.311(9177)*, 1999, 505-8

**Jasensky AK, Klenner S, Einspainer R, Kohn B.** Evaluation of three different point-of-care tests for quantitative measurement of canine C-reactive protein, *An International Journal of Laboratory Medicine*, 2015, 5

**Jensen AL, Hansen MK.** Method Comparison In The Clinical Laboratory, *An International Journal Laboratory Medicine*, 2008, 180

**Kang KP, Lee S, Kang SK.** D-Lactic Acidosis in Humans: Rewiev of Update, *Electrolyte Blood Pressure*, 2006, 4(1), 53-56

**Karapınar T, Kaynar O, Hayırlı B, Kom M.** Evaluation Of 4 Point-Of-Care Units For The Determination Of Blood L-Lactate Concentration İn Cattle, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2013, 27(6), 1596-603

**Kasap M.** Direnç Çalışmalarında Sıvı Alımının Kan Parametreleri ve Performans Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, 2014, 31

**Kasap S, Karakuş AÖ, Dülger H, Temizel EM.** Neonatal Ruminantlarda D-Laktik Asidoz, *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2018, 37(2), 137-42

**Karakuş AÖ, Kasap S, Dülger H, Temizel EM.** Neonatal Ruminantlarda D-Laktik asidoz, *Uludağ University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, 2018, 37(2), 137-142

**Koç F, Sarıca Y.** Mitochondry Biochemistry, 12(1), 2013

**Leino A, Turpeinen U, Koskinen P.** Automated Measurement of 25-OH Vitamin D3 on the Roche Modular E170 analyzer, *Clinical Chemistry*, 2008, 54(12),2059-62

**Levrant J, Ciebiera JP, Chave S, Rabary O, Jambou P, Charles M, Grimaud D.** Mild Hyperlactatemia İn Stable Septic Patients Is Due To Impaired Lactate Clearance Rather Than Overproduction, *American Journal Of Respiratory And Critical Care Medicine*, 1998, 157(4), 1021-6

**Levy RJ.** Carbonmonoxide Pollution and Neurodevelopment: A Public and Concern, *Neurotoxicol Teratol*, 2015, 49(31),40

**Linnet K.** Necessary Sample Size For Method Comparison Studies Based On Regression Analysis, *Clinical Chemistry*, 1999, 45(6), 882-894

**Ludvigsen CW, Thum JR, Plerpont GL, Eckfeldt JH.** Kinetic Ezymic Assay For D(-)-Lactate, With Use Of A Centrifugal Analyzer, *Clinical Chemistry*, 1983, 29(10), 1823-25

**Ludbrook J.** Linear Regression Analysis For Comparing Two Measurers Or Methods Of Measurement, *Clinical And Experimental Pharmacology and Physiology*, 37(7), Austuralia, 2010, 692-699

**Mahbudur R, Mmyung-jin K, Hyeon-kyu G, Won-Dong K, ji hung S, Hee- young K, Do-Young K.** Quantitative Accuarcy Of Selexon Canine CRP Device For C-Reactive Protein Determination İn Dogs, *Biomed Central Veterinary Research*, 2017, 12-240

**Minnard MC, Van de pol AC, Bbroekhuizen BD, Verheij TJ, Hopstaken RM, van Delft S, Koijman-Buiting AM, de Groot JA, de Wit NJ.** Analytical Performance, Agreement And User-Friendliness Of Five C-Reactive Protein Point-Of-Care Tests, *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* , 2013, 73(8)

**Mizock BA.** Controversies in Lactic Acidosis. İmplications in Critically ill Patiens, *JAMA Network*, 1987, 258(4), 497-501

**Montagnani A, Nardi R.** Lactic Acidosis, Hyperlactatemia and Sepsis, *İtalian Journal of Medicine*, 2016, 10(4)

**Mordes J P, Rossini AA.** Lactic acidosis. In: Irwin and Rippe's Intensive Care Medicine (4th edition) Ed: Irwin R, Cera FB, Rippe JM. Philadelphia: Lippincott-Raven, *Radiometer Medical Aps*, 1999, 978-87

**Mukaka MM,** Statistics Corner: A Guide To Appropriate Use Of Correlation Coefficient İn Medical Research, *Malavi Medical Journal*, 2012, 24(3), 69-71

**Oğuz ŞS, Akşit MA.** Elekton Transport/Trasport Sistemi, ATP, Enerji Temini ve Hipoksi, *Türk Dünyası Uygulama ve Araştırma Merkezi Yenidoğan Dergisi*, 2018, 1(1)

**Orringer CE, Eustace JC, Wuncsh CD, Gardner LB.** Natural History of Lactic Acidosis after-grand mal Seizures. A Model Fort He Study of an Anion-Gap Acidosis Not Associated with Hyperkalemia, 2013, 297(15), 796-799

**Özen D.** Evaluation Of Concordance Between Measurement Techniques Using Graphical Methods And Regression Models With An Application, *Eurasian Journal Of Veterinary Sciences*, 2018, 34(4), 265-271

**Philip A, McDonald AL, Watt PW.** Lactate a Signal Coordinating Cell and Systemic Function, *Journal of Experimental Biology*, 2005, 208(24), 4561-75

**Pierre K, Pellerin L.** Monocarboxylate Transporters in the Central Nervous System: Distribution, Regulation and Function, *Encyclopedia of Neuroscience*, 2009, 961-965

**Rallison ML.** Hypoglycemia And Lactic Acidosis Associated With Fructose-1,6-Diphosphatase Deficiency, *Bief Clinical and labaratory observation*, 1979, 94(6), 933-6

**Robergs RA Ghiasvand, F, Parker D.** Biochemistry of Exercise-Induced Metabolic Acidosis, WK. Samson(eds), *American Journal of Psicology Regulatory*, İntegrative and comperative physiology, 2004, 287(3), 502-16

**Saraçlı S, Doğan N, Doğan İ.** Medikal Metot Karşılaştırma Çalışmalarında Deming Regresyon Tekniği, *Türkiye Klinikleri Biyoistatistik Dergisi*, 2009, 1(1), 9-15

**Sarsted M, Mooi E.** Regression Analysis, A Concise Guid to Marked Research, 2014, 193-233

**Sayiner S, Toptaş G.** Veteriner Klinik Labaratuarlarında Pre-Analitik Süreç, *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi dergisi*, 2018, 15(1), 68-76,

**Sharkey LC, Wellman ML.** Use of Lactate in Small Animal Clinical Practice, *Clinics in Laboratory Medicine*, 2015, 35(3), 567-577

**Simundic AM.** Statistical Analysis in Method Comparison Studies, *Acute Care Testing Handbook*, 2016, 1(1)

**Stacpoole PW.** Metformin and lactic acidosis: guilt by association, *American Diabetes Association. Diabetes Care*, 1998, 21(10),1587

**Wanandi SL, Niggish SS, Asikin H, Hosea R, Neolaka GMG.** Metabolic Interplay between Tumour Cells and Cancer-Associated Fibroblasts (CAFs) under Hypoxia versus Normoxia, *Malays Journal Medicine Science*, 2018, 25(3), 7-16

**Wilson BA, Schisler JC, Willis MS.** Sir Hans Adolf Crebs: Architect of Metabolic Cycles, *Labaratory Medicine*, 2010, 41(6), 377-380

WEB\_1(2003).eroglu website.<http://www.ktü.edu.tr/>(22.05.2019)

WEB\_2(2004).altınışik website.<http://docplayer.biz.tr/>( 20.05.2019)

WEB\_3(2015).mustafaakca website.<http://www.mustafaakca.com/>(20.05.2019)

WEB\_4(2015).yazar website.<http://www.docplayer.biz.tr/>20.05.2019

**Wesgart J.** Basic Method Validation, *Clinical Chemistry*, 2008, 54(3)



# EKLER

## Ek-1 Etik Kurul Onay Sayfası



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK  
KURULU  
(ADÜ-HADYEK)



Aydın 29.Haziran. 2018

**Oturum** : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2018 Yılı VI. Oturum  
**Sayı** : 64583101/2018/080  
**Proje Başlığı** : Koyunlarda plazma laktat ölçümünde kolorimetrik yöntem ile hasta başı test cihazının karşılaştırılması.  
**Proje Yürütücüsü** : Pınar Alkım ULUTAŞ  
**Proje Ekibi** : Harun KAHRAMAN

**Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:**

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması  
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması  
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

**Hayvan Çalışması** : İnsanlarda araştırma  
İnsan olmayan primatların kullanılması  
Transgenik hayvanların kullanılması  
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

**Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.**

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGIN  
Başkan

Prof. Dr. Tuhhan DOST  
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Işıl ŞÖNMEZ  
Üye

(Yıllık İzinli)

Prof. Dr. Deniz ÇOBAN  
Üye

Prof. Dr. Yücel KOCA  
Üye

Doç. Dr. Evrim DERELİ FİDAN  
Üye

Vet. Hek. Dr. Serdar AKTAŞ  
Üye

Vet. Hek. Dr. Birgül ÜNAL  
Üye

(Toplantıya Katılmadı)  
Yurdagül ALTINBAŞ  
Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

## ÖZGEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : KAHRAMAN Harun  
**Uyruk** : T.C.  
**Doğum yeri ve tarihi** : Denizli/Merkez, 25.03.1992  
**Telefon** : 5426501133  
**E-mail** : harunkahraman20@hotmail.com  
**Yabancı Dil** : İngilizce

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Y.Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Veteriner)	Devam ediyor
Lisans	Elazığ Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi	30.01.2017
Lise	Cumhuriyet Lisesi	16-07-2010