



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**AKUT MİYOKARD ENFARKTÜSÜ BİYOGÖSTERGELERİNDEN
HOMOSİSTEİN, MİYOGLOBİN VE YAĞ ASİTİ BAĞLAYICI
PROTEİNİN (FABP) GİRİŞİMSİZ TAYİNİ İÇİN TERS
İYONTOFOREZ TABANLI ELEKTROKİMYASAL
İMMÜNOSENSÖRÜN GELİŞTİRİLMESİ**

Doktora Tezi

Fatma Gülay DER

Analitik Kimya AbD.

İzmir
2024

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**AKUT MİYOKARD ENFARKTÜSÜ
BİYOGÖSTERGELERİNDEN HOMOSİSTEİN,
MİYOGLOBİN VE YAĞ ASİTİ BAĞLAYICI PROTEİNİN
(FABP) GİRİŞİMSİZ TAYİNİ İÇİN TERS
İYONTOFOREZ TABANLI ELEKTROKİMYASAL
İMMÜNOSENSÖRÜN GELİŞTİRİLMESİ**

Fatma Gülay DER

Danışman
Prof. Dr. M. Emrah KILINÇ

Analitik Kimya AbD.
Doktora

İzmir
2024

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

	(Adı Soyadı)	(İmza)
Başkan (Danışman)	: Prof.Dr. M. Emrah KILINÇ	
Üye	: Prof.Dr. Özlem SÖĞÜT	
Üye	: Prof.Dr. Zekerya DURSUN	
Üye	: Prof.Dr. Selehattin YILMAZ	
Üye	: Prof.Dr. A. Olcay SAĞIRLI	
Üye	: Dr. Öğr. Gör. Saniye ÖZCAN	

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 02.09.2024

Önsöz

Bilim hakkında öğrendiğim ilk şey; bilimin sonsuz bir derya olduğudur. Yani ne kadar çok şey öğrenirsek öğrenelim bildiklerimiz bilmediklerimiz karşısında deryada bir damla gibi kalacaktır. Ayrıca öğrenmenin yeri, zamanı, yaşı ve sonu yoktur. İkinci şey ise bilimin merakla başladığı olmuştur. Çocukluğun saf öğrenme isteğini barındıran merakla...

Benim bilim yolculuğum, çocukluğumda “Bu nedir? Neden böyle?” gibi etrafımdakilere fazlasıyla sormuş olduğum meraklı sorularla başladı. Daha çocuklukta başlayan bilim insanı olma hayalim, insanlığa faydalı olmuş bilim insanlarının ilham kaynağı olması sayesinde, beni bugünlere getirdi. Ben de hayatımıza ışık tutan, bize yol gösteren bilim insanları gibi bir şeyler keşfetmek ve üretmek, daha fazla insana fayda sağlamak isteğiyle akademik yolculuğuma başladım.

Pandemi dönemine denk gelen tez çalışmamı, insanların ölüm nedenlerinin başında gelen kalp ve damar hastalıklarından biri olan akut miyokard enfarktüsünün erken teşhisi ile çok sayıda insanın hayatının kurtarılmasına yardımcı olması amacıyla gerçekleştirdim. Maddi ve manevi açıdan çeşitli zorluklarla karşılaştım da tecrübesiyle, bilgisiyle, sabrıyla, olumsuz sonuçların da bir sonuç olduğunu söyleyerek pes etmeden sonuca giden başka çözüm yolları bulma konusunda bizi teşvik etmesiyle, en önemlisi de vatani bir görev olarak gördüğü o sonsuz öğrenme ve öğretme isteğini bize aşılmasıyla her zaman destek olan danışman hocam sayesinde yolculuğuma devam ederek tez çalışmamı tamamladım. Edindiğim tecrübeler sayesinde bundan sonra da çocukluğumda duyduğum aynı istek ve heyecanla insanlığa faydalı olacak çalışmalar yaparak akademik hayatıma devam etme arzusundaım. Bu çalışmamın tıpkı değerli hocamın bana açtığı yol gibi ileride birçok kişiye yollar açacak bir ilham kaynağı olmasını temenni ederim.

İzmir, 28.08.2024

Fatma Gülay DER

Özet

Akut miyokard enfarktüsü biyogöstergelerinden homosistein, miyogloblin ve yağ asiti bağlayıcı proteinin (FABP) girişimsiz tayini için ters iyontoforez tabanlı elektrokimyasal immünosensörün geliştirilmesi

Dünyadaki ölüm nedenlerinin en başında kalp hastalıkları gelmektedir. Geleceğe yönelik yapılan tahminlemelerde uzun bir süre daha en önemli ölüm sebebi olmaya devam edeceği öngörülmektedir. Dünyada 2023 yılında gerçekleşen toplam ölüm sayısı 57 milyon civarındadır. DSÖ İstatistikleri 2023 raporunda; Birleşmiş Milletlerin 2048 yılındaki küresel ölüm sayısının tahmini olarak 90 milyona yaklaşacağını, DSÖ'nün ise bu sayının 77 milyonunun BOH ölümlerinden kaynaklanacağını öngördüğü ve 2019 yılındaki ile kıyaslandığında bu sayının mutlak sayılarda %90'a varan bir artışı temsil ettiği bildirilmiştir. DSÖ 2019 verilerine göre; 57 milyon ölüm sayısının 17,9 milyonu kardiyovasküler hastalıklardan ve bunun da 8,9 milyonu iskemik kalp hastalığından, 6,12 milyonu ise inmeden kaynaklanmaktadır. AME kaynaklı ölüm ilk bir saat içinde gerçekleşmektedir. AME teşhisinde ilk 6 saatte müdahale edilmesi hayat kurtarıcıdır. Bu durum erken tanının ne denli önemli olduğunu gözler önüne sermektedir. Ölümlerin %80'i düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana gelmiştir. Bilinçli şekilde sağlıklı beslenme, sağlıklı yaşam tarzı ve çeşitli tedaviler ile önlenabilir olan kalp damar hastalıklarından kaynaklı ölüm oranlarının bu denli yüksek olması; insan hayatı için önem arz eden bu hastalığın erken tanı, teşhis ve zamanında tedavi ile korunma stratejilerinin geliştirilmesine yönelik çalışmaların devam etmesine neden olmaktadır.

Bu çalışma, EKG ve kan testleri gibi günümüzde kullanımda olan AME tanı ve teşhis yöntemlerinden farklı olarak, AME teşhisinde önemli olan bazı biyogöstergelerin (HMS, MYG ve YABP) ters iyontoforez yöntemiyle girişimsiz olarak tayininin yapılmasını ve kalp krizinin erken tanısına katkı sağlanmasını amaçlamıştır. Böylece bazı fizyolojik parametrelerin (biyogöstergelerin) sürekli monitörize edildiği girişimsiz tayin yöntemleri geliştirilmiş olacak ve standart tayin yöntemleriyle de mukayesesi yapılabilecektir.

Bu amaç doğrultusunda AME için belirlenen biyogöstergelerin; elektrokimyasal olarak ölçülmesi için KPE'ler tasarlanmış, DPV ve CV yöntemleri ile tayinleri yapılmış; ayrıca ters iyontoforez yöntemi kullanılarak özütleme işlemi gerçekleştirilip

ölçümleri alınmıştır. Yapılan kalibrasyon işlemleri sonrasında 1-50 ng/mL derişim aralığı YABP için 3 ng/mL, 5-100 µM derişim aralığı HMS için 15 µM, 20-100 ng/mL derişim aralığı MYG için 40 ng/mL düzeylerine kadar tayin edilebilen ölçüm sonuçları elde edilebilmiştir. Ayrıca stabilite, girişim, inkübasyon sıcaklığı gibi optimizasyon çalışmaları da gerçekleştirilmiştir.

Dünyadaki ölüm nedenlerinin en başında gelen ve önlenebilir ölüm nedenleri arasında yer alan kardiyovasküler hastalıklar ve akut koroner sendrom olgularından dolayı hastalık, sakatlık, iş göremezlik, hayat konforunda düşüş, birçok ilaç kullanımı, hastanelerde yoğunluk, tedavi masrafları gibi sonuçlar doğmakta; bu durum bireyleri ve ülke ekonomisini olumsuz yönde etkilemektedir. Bundan dolayı hastalanmadan önce önlem almak, erken tanı ve erken müdahale ile hem bireyler hem de ülke için zararı en aza indirmek mümkün olabilmektedir. Ayrıca ülkemiz dahil birçok ülkede tele-tıp uygulamalarına geçiş süreçleri, stratejik planlara dahil edilmektedir.

Yapılan alanyazın taramasında biyogöstergelerin TI yöntemiyle girişimsiz olarak tayinine yönelik 1 adet doktora tezi ve yayımlanan makalemiz dışında başka çalışmalara rastlanılmamaktadır. Bu çalışmanın bu konudaki alanyazın açığını kapaması ve bu konu üzerinde çalışmak isteyenlere örnek teşkil etmesi temenni edilmektedir.

Anahtar Kelimeler; Akut Miyokard Enfarktüsü, Girişimsiz Analiz Yöntemleri, Ters İyontoforez, Kardiyak Biyogösterge

Abstract

Development of a reverse iontophoresis-based electrochemical immunosensor for the noninvasive determination of homocysteine, myoglobin and fatty acid binding protein (FABP), biomarkers of acute myocardial infarction.

Heart diseases are the uppermost cause of death in the world. According to the forecasts made prospectively, it is predicted that it will continue to be the leading cause of death for a long time longer. The total number of deaths in 2023 in the world was around 57 million. In the WHO Statistics 2023 report, it was reported that the United Nations estimated that the number of global deaths in 2048 will approach 90 million, and that WHO predicted that 77 million of this number will be due to NCD deaths, and that this number represents an increase of up to 90% in absolute numbers compared to 2019. According to WHO 2019 data, 17.9 million of the 57 million deaths are due to cardiovascular diseases, 8.9 million of these are due to ischemic heart disease, and 6.12 million of these are due to stroke. Deaths from AMI occur within the first hour. Intervention in the first 6 hours of AMI diagnosis is life-saving. This situation reveals how important early diagnosis is. 80% of the deaths occurred in low and middle-income countries. The fact that the mortality rates due to cardiovascular diseases, which can be prevented with a conscious healthy diet, healthy lifestyle and various treatments are so high causes the studies on early detection, diagnosis, timely treatment and development of prevention strategies for this disease, which is important for human life to continue.

Unlike the currently used AMI diagnostic methods such as ECG and blood tests, this study aimed to determine some biomarkers (HMC, MYG and FABP) that are important in the diagnosis of AMI non-invasively using reverse iontophoresis and to contribute to the early diagnosis of heart attack. Thus, non-invasive determination methods for continuous monitoring of some physiological parameters (biomarkers) will be developed and comparisons can be made with standard determination methods.

For this purpose, CPEs were designed for electrochemical measurement of biomarkers identified for AMI, and these biomarkers were determined using DPV and CV methods. Additionally, extraction was performed using the reverse iontophoresis method and measurements were taken. After the calibration process, measurement results could be obtained as 3 ng/mL for FABP in the 1-50 ng/mL concentration range,

15 μM for HMC in the 5-100 μM concentration range, and 40 ng/mL for MYG in the 20-100 ng/mL concentration range. In addition, optimization studies such as stability, interference, and incubation location were also carried out.

Due to cardiovascular diseases and acute coronary syndrome cases, which are among the leading causes of death in the world and are preventable, results arise as illness, disability, incapacity to work, decreased comfort of life, use of many medications, congestion in hospitals, and treatment costs. This situation negatively affects individuals and the country's economy. Therefore, it is possible to minimize the damage for both individuals and the country by taking precautions before getting sick, early diagnosis and early intervention. In addition, in many countries, including ours, the transition process to telemedicine applications is included in strategic plans.

In the literature search, no other studies were found except for one doctoral thesis and our published article on the non-invasive determination of biomarkers with the TI method. It is hoped that this study will fill the gap in the literature and set an example for those who want to work on this subject.

Keywords; Acute Myocardial Infarction, Non-invasive Analysis Methods, Reverse Iontophoresis, Cardiac Biomarkers

İçindekiler

Önsöz	II
Özet.....	III
Abstract.....	V
İçindekiler	VII
Tablolar Dizini.....	XII
Şekiller Dizini	XVI
Grafikler Dizini	XX
Kısaltma Listesi	XXV
Giriş	1
1.1. Araştırmanın Problemi.....	4
1.2. Araştırmanın Sorusu	5
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	5
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	5
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları	5
1.6. Araştırmanın Amacı	6
Genel Bilgiler	7
2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar ve Akut Koroner Sendrom Olguları	7
2.1.1. Akut Miyokard Enfarktüsü Kavramı	8
2.1.2. Akut Miyokard Enfarktüsü Çeşitleri.....	9
2.1.3. Akut Miyokard Enfarktüsü Tanısı, Tedavisi ve Tanıda Kullanılan Enzimler	12
2.2. AME İçin Tanı, Teşhis, İzleme ve Tahminlemede Kullanılabilecek Biyogöstergeler	14
2.3. Stratum Korneum	15
2.4. Girişimsiz (Non-Invasive) Analiz Yöntemleri	15
2.4.1. Biyomedikal Cihaz Tasarımlarında Kullanılan Girişimsiz Ölçüm Teknolojileri:	15
2.4.1.1. Ters İyontoforez (Reverse Iontophoresis).....	16
2.5. İmmünosensörler	17
2.5.1. İmmünosensör Tanımı ve Sınıflandırılması	17
2.5.2. Antikorlar	19
2.5.3. Antikor-Antijen Bağlanma Özellikleri ve Kinetiği	19
2.6. DSÖ'nün Yayımladığı Biyogöstergeler	20

2.6.1. Homosistein.....	20
2.6.2. Miyogloblin	22
2.6.3. Yağ Asidi Bağlayıcı Protein-YABP	23
2.7. Elektroanalitik Yöntemlerin Sınıflandırılması.....	25
2.7.1. Elektroanalitik Yöntem Çeşitleri.....	25
2.7.1.1. Amperometri	26
2.7.1.2. Potansiyometri.....	26
2.7.1.3. Voltametri	27
2.7.1.3.1. Voltametri ve Polarografi.....	27
2.7.1.3.2. Voltametrinde Uyarma Sinyalleri.....	28
2.7.1.3.2.1. Doğrusal Taramalı Voltametri (LSV)	29
2.7.1.3.2.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV).....	29
2.7.1.3.2.3. Döngüsel (Cyclic) Voltammetri (CV)	30
2.7.1.3.2.4. Kare Dalga Voltametrisi (SWV)	31
2.8. ICHQ2(R1)'e Göre Yöntem Geçerliliği	32
2.8.1. ICHQ2(R1) Kılavuzu	32
2.8.2. Tanımlar	32
2.8.2.1. Doğrusallık.....	33
2.8.2.2. Tayin Aralığı.....	33
2.8.2.3. Doğruluk	34
2.8.2.4. Kesinlik	34
2.8.2.5. Tespit Sınırı	34
2.8.2.6. Tayin Sınırı	35
Gereç ve Yöntem	36
3.1. Kullanılan Maddeler ve Araç-Gereçler	36
3.1.1. Kullanılan Maddeler	36
3.1.1.1. Kullanılan Sarf ve Kimyasal Maddeler	36
3.1.1.2. Kullanılan Maddelerin Hazırlanışları.....	37
3.1.1.2.1. Kullanılan Standart Çözeltilerin Hazırlanışları.....	37
3.1.1.2.2. Kullanılan Diğer Çözeltilerin Hazırlanışları	38
3.1.1.2.3. Gümüş Kaplama Çözeltisinin Hazırlanışı	39
3.1.1.2.4. Metil Selüloz Jelin Hazırlanışı	39
3.1.1.2.5. Karbon Pastasının Hazırlanışı.....	39
3.1.2. Araç – Gereçler	39

3.1.2.1. Hücre ve Elektrot Tasarımları.....	41
3.1.2.1.1. Ters İyontoforetik Hücre Tasarımı	41
3.1.2.1.2. Elektrot (Özütleme ve Ölçüm Elektrodu) Tasarımları	42
3.1.2.1.2.1. Özütleme Elektrodu (Baskı Devre Elektrodu – BDE) Tasarımı	42
3.1.2.1.2.2. Ölçüm Elektrodu (Karbon Pasta Elektrodu-KPE) Tasarımı	43
3.2. Yöntemler.....	44
3.2.1. TI Özütleme Yöntemi	44
3.2.1.1. Geçirgenlik Arttırıcı Ajan Kullanımının TI'e Etkisi.....	46
3.2.2. Elektrokimyasal Yöntemler (CC, DPV ve CV)	46
3.2.2.1. KPE Ölçümü Deneyisel İşlem Basamakları.....	46
3.3. AME Parametrelerine Ait Tayin Yöntemleri.....	48
3.3.1. ANSON Ölçümleri	48
3.3.2. Deneyisel Optimizasyon Parametreleri.....	49
3.3.2.1. Ön İşlem Çalışmaları	49
3.3.2.2. KPE Islatma ve Yıkama Süreleri.....	49
3.3.2.3. Bağlayıcı (Linker) Derişimleri	49
3.3.2.4. İnkübasyon Sıcaklığı.....	50
3.3.2.5. Stabilite	50
3.3.2.5.1 Sıcaklık Etkisi.....	51
3.3.2.6. Girişim (Interference) Etkisi.....	51
3.3.3. Kalibrasyon İşlemleri	52
3.3.4. TI Özütleme Sonrası DPV ve CV Ölçümleri	52
3.6. Yöntem Geçerliliği	52
Bulgular.....	53
4.1. AME Parametrelerinin Tayin Yöntemlerine Ait Bulgular	53
4.1.1. KPE Yüzey Alanları İçin ANSON Ölçümlerine Ait Bulgular	53
4.1.2. Deneyisel Optimizasyon Parametrelerine Ait Bulgular	59
4.1.2.1. KPE Islatma ve Yıkama Sürelerine Ait Bulgular	60
4.1.2.2 Bağlayıcı (Linker) Derişimlerine Ait Bulgular.....	66
4.1.2.3. İnkübasyon Sıcaklığına Ait Bulgular	70
4.1.2.4. Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular	74
4.1.2.4.1. Homosistein Stabilitesine Ait Bulgular	74
4.1.2.4.2. Miyogloblin Stabilitesine Ait Bulgular.....	82
4.1.2.4.3. YABP Stabilitesine Ait Bulgular.....	89

4.1.2.5. Girişim (Interference) Etkisi	98
4.1.2.5.1. Homosistein İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular	98
4.1.2.5.2. Miyogloblin İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular	102
4.1.2.5.3. YABP İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular	105
4.1.3. Kalibrasyon İşlemlerine Ait Bulgular	109
4.1.3.1. HMS Standardına Ait Bulgular	109
4.1.3.2. HMS Standart Çözeltisine Ait Kalibrasyon Eğrisi Bulguları	112
4.1.3.3. MYG Standardına Ait Bulgular	115
4.1.3.4. MYG Standart Çözeltisine Ait Kalibrasyon Eğrisi Bulguları	117
4.1.3.5. YABP Standardına Ait Bulgular	120
4.1.3.6. YABP Standart Çözeltisine Ait Kalibrasyon Eğrisi Bulguları	123
4.1.4. TI Özütleme İşlemi Sonrası DPV Ölçümlerine Ait Bulgular	125
4.1.4.1. Homosistein İçin TI Özütleme İşlemi Sonrasına Ait Bulgular	125
4.1.4.2. Miyogloblin İçin TI Özütleme İşlemi Sonrasına Ait Bulgular	126
4.1.4.3. YABP İçin TI Özütleme İşlemi Sonrasına Ait Bulgular	127
4.1.4.4. Üç Farklı Standart Madde için TI Özütleme İşlemi Sonrasına Ait DPV Sonuçlarının Karşılaştırılması	128
4.1.5. Yöntem Geçerliliğine Ait Bulgular	128
Tartışma	132
5.1. MI Parametrelerinin Tayin Yöntemlerine Ait Bulguların Tartışılması	132
5.1.1. KPE Yüzey Alanları İçin ANSON Ölçümlerine Ait Bulguların Tartışılması	132
5.1.2. Deneysel Optimizasyon Parametrelerine Ait Bulguların Tartışılması ...	133
5.1.2.1. KPE Islatma ve Yıkama Sürelerine Ait Bulguların Tartışılması	133
5.1.2.2. Bağlayıcı (linker) Derişimlerine Ait Bulguların Tartışılması	134
5.1.2.3. İnkübasyon Sıcaklığı Optimizasyonu Bulgularının Tartışılması	135
5.1.2.4. Stabilitate Çalışmalarına Ait Bulguların Tartışılması	135
5.1.2.4.1. HMS Stabilitesi Ait Bulguların Tartışılması	135
5.1.2.4.2. MYG Stabilitesine Ait Bulguların Tartışılması	137
5.1.2.4.3. YABP Stabilitesine Ait Bulguların Tartışılması	138
5.1.2.5. Girişim (Interference) Etkisine Ait Bulguların Tartışılması	138
5.1.2.5.1. HMS İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular	138
5.1.2.5.2. MYG İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular	139
5.1.2.5.3. YABP İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular	140
5.1.3. Kalibrasyon İşlemlerine Ait Bulguların Tartışılması	140

5.1.3.1. HMS Standardına Ait Bulgular	141
5.1.3.2. HMS Standart Çözeltisine Ait Kalibrasyon Grafiği Bulguları.....	141
5.1.3.3. MYG Standardına Ait Bulgular	141
5.1.3.4. MYG Standart Çözeltisine Ait Kalibrasyon Grafiği Bulguları	141
5.1.3.5. YABP Standardına Ait Bulgular	142
5.1.3.6. YABP Standart Çözeltisine Ait Kalibrasyon Grafiği Bulguları.....	142
5.1.4. TI Özütleme İşlemi Sonrası DPV Ölçümlerine Ait Bulguların Tartışılması	142
5.1.4.1. HMS İçin Özütleme İşlemi Sonrasına Ait Bulgular.....	142
5.1.4.2. MYG İçin TI Özütleme İşlemi Sonrasına Ait Bulgular.....	143
5.1.4.3. YABP İçin TI Özütleme İşlemi Sonrasına Ait Bulgular.....	143
5.1.4.4. Üç Farklı Standart Madde İçin TI Özütleme İşlemi Sonrasına Ait DPV Sonuçlarının Karşılaştırılması	143
5.1.5. Yöntem Geçerliliğine Ait Bulgular	143
Sonuç ve Öneriler	148
Kaynaklar	149
Teşekkür	157
Özgeçmiş	158

Tablolar Dizini

Tablo 1. DSÖ'nün MI Tanısında Kullandığı Biyogöstergeler.....	20
Tablo 2. TI Özütleme ve Diğer Tüm Elektrokimyasal Ölçümler İçin Kullanılan Elektrokimyasal Yöntemlerin Teknik Özellikleri.....	47
Tablo 3. Stabilitate Çalışmalarında Uygulanan Sıcaklık ve Bekleme Süresi Koşulları.....	51
Tablo 4. KPE'lara Ait Ölçülen Yüzey Alan ve Yarıçap Değerleri	56
Tablo 5. Üç Farklı Grupta KPE'lerin Ölçülen Yüzey Alanlarına Ait Karşılaştırmalar.....	58
Tablo 6. Üç Farklı Grupta KPE'lerin Ölçülen Yarıçaplarına Ait Karşılaştırmalar.....	58
Tablo 7. HMS İçin Farklı Yıkama Süreleri Uygulamalarına Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları ..	62
Tablo 8. HMS İçin Farklı Yıkama Süreleri Uygulamalarına Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	62
Tablo 9. MYG İçin Farklı Yıkama Süreleri Uygulamalarına Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları	63
Tablo 10. MYG İçin Farklı Yıkama Süreleri Uygulamalarına Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	64
Tablo 11. YABP İçin Farklı Yıkama Süreleri Uygulamalarına Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları	64
Tablo 12. YABP İçin Farklı Yıkama Süreleri Uygulamalarına Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	65
Tablo 13. Üç Farklı Bağlayıcı Derişimi için KPE Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	69
Tablo 14. Üç Farklı Derişimde Bağlayıcı Kullanımına Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	69
Tablo 15. Üç Farklı Derişimde Bağlayıcı Kullanımına Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları.....	70
Tablo 16. Üç Farklı İnkübasyon Sıcaklığı İçin KPE Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	72
Tablo 17. Üç Farklı İnkübasyon Sıcaklığı Koşullarında HMS'ye Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	73
Tablo 18. Üç Farklı İnkübasyon Sıcaklığı Koşullarında HMS'ye Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	73

Tablo 19. HMS İçin 0°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlar.....	74
Tablo 20. HMS İçin 4°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları..	75
Tablo 21. HMS İçin 25°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	76
Tablo 22. HMS İçin -20°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	76
Tablo 23. HMS İçin -80°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	77
Tablo 24. HMS İçin 0°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları.....	78
Tablo 25. HMS İçin 4°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları.....	79
Tablo 26. HMS İçin 25°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	79
Tablo 27. HMS İçin -20°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	80
Tablo 28. HMS İçin -80°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları.....	81
Tablo 29. MYG İçin 0°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	82
Tablo 30. MYG için 4°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	82
Tablo 31. MYG İçin 25°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	83
Tablo 32. MYG İçin -20°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	84
Tablo 33. MYG İçin -80°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	84
Tablo 34. MYG İçin 0°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	85

Tablo 35. MYG İçin 4°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	86
Tablo 36. MYG İçin 25°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	87
Tablo 37. MYG İçin -20°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	87
Tablo 38. MYG İçin -80°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	88
Tablo 39. YABP İçin 0°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	89
Tablo 40. YABP İçin 4°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	90
Tablo 41. YABP İçin 25°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	90
Tablo 42. YABP İçin -20°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	91
Tablo 43. YABP İçin -80°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	92
Tablo 44. YABP İçin 0°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	93
Tablo 45. YABP İçin 4°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları.....	93
Tablo 46. YABP İçin 25°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları.....	94
Tablo 47. YABP İçin -20°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları..	95
Tablo 48. YABP İçin -80°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları..	95
Tablo 49. Beş Farklı Sıcaklık Koşulunda 1, 2 ve 7 Gün İçin Üç Farklı Biyogöstergeye Ait KPE Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	97
Tablo 50. Anti-HMS Ekimli KPE Üzerine Ekilen Farklı Etken Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları	98

Tablo 51. Anti-HMS Ekimli KPE Üzerine Ekilen Farklı Etken Maddelere Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	99
Tablo 52. Anti-MYG Ekimli KPE Üzerine Ekilen Farklı Etken Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları	102
Tablo 53. Anti-MYG Ekimli KPE Üzerine Ekilen Farklı Etken Maddelere Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	103
Tablo 54. Anti-YABP Ekimli KPE Üzerine Ekilen Farklı Etken Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları	105
Tablo 55. Anti-YABP Ekimli KPE Üzerine Ekilen Farklı Etken Maddelere Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları	106
Tablo 56. Altı Farklı HMS Standart Derişimi İçin KPE Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	112
Tablo 57. Dört Farklı HMS Derişimi İçin DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	113
Tablo 58. Dört Farklı HMS Derişimi İçin DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları.....	115
Tablo 59. Beş Farklı MYG Standart Derişimi İçin KPE Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	117
Tablo 60. Dört Farklı MYG Derişimi İçin DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	118
Tablo 61. Dört Farklı MYG Derişimi İçin DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları.....	119
Tablo 62. Altı Farklı YABP Standart Derişimi İçin KPE Sonuçlarının KPE Karşılaştırılması	123
Tablo 63. Üç Farklı YABP Derişimi İçin DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	124
Tablo 64. Üç Farklı YABP Derişimi İçin DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları.....	124
Tablo 65. Üç Farklı Standart Madde İçin DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları.....	128
Tablo 66. Üç Farklı Standart Madde İçin DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları.....	129
Tablo 67. Yöntem Geçerliliğine Ait DPV Yöntemi Bulgularının Özeti.....	130

Şekiller Dizini

Şekil 1. Ters iyontoforez sisteminin şematik gösterimi.....	17
Şekil 2. Homosistein yapısına ait görsel	21
Şekil 3. Miyogloblin yapısına ait görseller.....	23
Şekil 4. YABP yapısına ait görsel	24
Şekil 5. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması.....	25
Şekil 6. Uyarma sinyallerine göre voltametrik yöntem çeşitleri	29
Şekil 7. Döngüsel voltamograma ait anodik ve katodik pik potansiyelleri ile pik akımları.....	30
Şekil 8. Tarama hızına bağlı olarak pik maksimumlarında oluşan kaymalar	31
Şekil 9. Analite ait elektrot tepkimelerinin tersinir olup olmadığını gösteren pik şekilleri.....	31
Şekil 10. TI özütleme işleminde kullanılan güç kaynağı (A) ve elektrokimyasal ölçümlerde kullanılan potansiyostat (B)	40
Şekil 11. Elektrotların fan altında kurutulmasına ait görsel	40
Şekil 12. TI özütleme hücresinin üst kapağının (A) ve rezervuarın (B) fiziksel boyutları	41
Şekil 13. Açık ve kapalı şekildeki ince ve kalın TI özütleme hücrelerine ait görseller.....	41
Şekil 14. TI özütleme için tasarlanmış üçlü elektrot sistemli baskı devre elektrotlarına (BDE) ait görseller.....	43
Şekil 15. TI özütleme elektroduna potansiyel uygulanarak (A) ve uygulanmadan (B) yapılan kaplamalara ait görseller.....	43
Şekil 16. Teflondan yapılmış KPE elektrot ve karbon pasta doldurulmasına ait görsel.....	44
Şekil 17. TI özütleme sisteminin sabit akım uygulanma anına ait görsel	45
Şekil 18. TI özütleme işlemi sonrası anot ve katoda ait görseller	45
Şekil 19. ANSON-1 ölçümlerinde 0,1mM KCl+1,1mM K ₃ [Fe(CN) ₆] için KPE 1'in kronokulometrik örnek yanıtı	53
Şekil 20. ANSON-2 ölçümlerinde 0,1mM KCl+1,1mM K ₃ [Fe(CN) ₆] için KPE 2'in kronokulometrik örnek yanıtı	54
Şekil 21. ANSON-3 ölçümlerinde 0,1mM KCl+1,1mM K ₃ [Fe(CN) ₆] için KPE 3'in kronokulometrik örnek yanıtı	55

Şekil 22. HMS için KPE 7 elektrodunun 0,1 M KCl (KCLCV7)'ye karşı 1M KCl+5mM $K_4[Fe(CN)_6]$ ile DPV ölçümünün Anti-HMS (HALDPV7), HMS (HCLDPV7), bağlayıcı (HLLDPV7) ve sade elektrot (HSDPV7) karşılaştırması.....	59
Şekil 23. HMS için KPE 7 elektrodunun 0,1 M KCl (KCLCV7)'ye karşı 1M KCl+5mM $K_4[Fe(CN)_6]$ ile CV ölçümünün Anti-HMS (HALCV7), HMS (HCLCV7), bağlayıcı (HLLCV7) ve sade elektrot (HSCV7) karşılaştırması.....	60
Şekil 24. HMS için KPE 23 elektrodunun antijen ölçümünün sırasıyla 1 dk, 2 dk ve 3 dk boyunca FTÇ'e daldırılması ile ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması.....	61
Şekil 25. HMS için KPE 14 elektrodunun antijen ölçümünün sırasıyla 1 dk, 2 dk, 3 dk ve 5 dk boyunca FTÇ'e daldırılması ile ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması.....	61
Şekil 26. 5mM EDC+8mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 6 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HALDPV6) ve HMS (HCLDPV6) karşılaştırması.....	66
Şekil 27. 5mM EDC+8mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 1 elektrodunun DPV ölçümünün olumsuz yanıtı.....	66
Şekil 28. 50mM EDC+20mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 13 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HALDPV13) ve HMS (HCLDPV13) karşılaştırması.....	67
Şekil 29. 50mM EDC+20mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 16 elektrodunun DPV ölçümünün olumsuz yanıtı.....	67
Şekil 30. 1mM EDC+3mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 25 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HALDPV25) ve HMS (HCLDPV25) karşılaştırması.....	68
Şekil 31. 1mM EDC+3mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 22 elektrodunun DPV ölçümünün olumsuz yanıtı.....	68
Şekil 32. 100 μ M HMS standardı için KPE 36 elektrodunun oda koşulundaki DPV ölçümünün Anti-HMS (HAUDPV36) ve HMS (HCURDP36) karşılaştırması.....	70
Şekil 33. 100 μ M HMS standardı için KPE 41 elektrodunun etüv koşulundaki DPV ölçümünün Anti-HMS (HAUDPV41) ve HMS (HCUEDP41) karşılaştırması.....	71
Şekil 34. 100 μ M HMS standardı için KPE 45 elektrodunun etüv koşulundaki DPV ölçümünün olumsuz yanıtı.....	71
Şekil 35. 100 μ M HMS standardı için KPE 53 elektrodunun fan koşulundaki DPV ölçümünün Anti-HMS (HAUDPV53) ve HMS (HCUFDP53) karşılaştırması	72

Şekil 36. 100 µM HMS standardı için KPE 51 elektrodunun fan koşulundaki DPV ölçümünün olumsuz yanıtı	72
Şekil 37. Girişim çalışması için 15 µM HMS ekimli KPE 15 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması	100
Şekil 38. Girişim çalışması için 150 µM Albumin ekimli KPE 16 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması	101
Şekil 39. Girişim çalışması için 150 µM Parasetamol ekimli KPE 7 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması.....	101
Şekil 40. Girişim çalışması için 72 ng/mL MYG ekimli KPE 32 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması.	104
Şekil 41. Girişim çalışması için 720 ng/mL Parasetamol ekimli KPE 13 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması.....	105
Şekil 42. Girişim çalışması için 19 ng/mL YABP ekimli KPE 61 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması	108
Şekil 43. Girişim çalışması için 190ng/mL Askorbik asit ekimli KPE 43 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması.....	108
Şekil 44. Girişim çalışması için 190 ng/mL Albumin ekimli KPE 36 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması.....	109
Şekil 45. 5µM HMS standardı için KPE 61 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDP61) ve HMS (HCCBDP61) karşılaştırması	109
Şekil 46. 10µM HMS standardı için KPE 49 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDP49) ve HMS (HCCBDP49) karşılaştırması	110
Şekil 47. 15µM HMS standardı için KPE 37 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDP37) ve HMS (HCCBDP37) karşılaştırması	110
Şekil 48. 30µM HMS standardı için KPE 26 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDP26) ve HMS (HCCBDP26) karşılaştırması	111
Şekil 49. 50µM HMS standardı için KPE 16 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDP16) ve HMS (HCCBDP16) karşılaştırması	111
Şekil 50. 100µM HMS standardı için KPE 1 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDPV1) ve HMS (HCCBDPV1) karşılaştırması	112
Şekil 51. 20 ng/mL MYG standardı için KPE 2 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MACBDPV2) ve MYG (MCCBDPV2) karşılaştırması	115

Şekil 52. 40 ng/mL MYG standardı için KPE 20 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MACBDP20) ve MYG (MCCBDP20) karşılaştırması.....	115
Şekil 53. 60 ng/mL MYG standardı için KPE 28 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MACBDP28) ve MYG (MCCBDP28) karşılaştırması.....	116
Şekil 54. 80 ng/mL MYG standardı için KPE 44 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MACBDP44) ve MYG (MCCBDP44) karşılaştırması.....	116
Şekil 55. 100 ng/mL MYG standardı için KPE 49 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MACBDP49) ve MYG (MCCBDP49) karşılaştırması.....	117
Şekil 56. 1 ng/mL YABP standardı için KPE 61 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDP61) ve YABP (FCCBDP61) karşılaştırması	120
Şekil 57. 3 ng/mL YABP standardı için KPE 44 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDP44) ve YABP (FCCBDP44) karşılaştırması	120
Şekil 58. 5 ng/mL YABP standardı için KPE 35 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDP35) ve YABP (FCCBDP35) karşılaştırması.....	121
Şekil 59. 10 ng/mL YABP standardı için KPE 21 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDP21) ve YABP (FCCBDP21) karşılaştırması.....	121
Şekil 60. 20 ng/mL YABP standardı için KPE 14 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDP14) ve YABP (FCCBDP14) karşılaştırması.....	122
Şekil 61. 50 ng/mL YABP standardı için KPE 3 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDPV3) ve YABP (FCCBDPV3) karşılaştırması	122
Şekil 62. TI özütlemeye sonrası 2,5 µg/mL HMS standardı için KPE 14 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HAZDPV14) ve HMS (HCZDPV14) karşılaştırması.....	125
Şekil 63. TI özütlemeye sonrası 2,5 µg/mL MYG standardı için KPE 19 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MAZDPV19) ve MYG (MCZDPV19) karşılaştırması.....	126
Şekil 64. TI özütlemeye sonrası 2,5 µg/mL YABP standardı için KPE 7 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FAZDPV7) ve YABP (FCZDPV7) karşılaştırması.....	127

Grafikler Dizini

Grafik 1. HMS için Hazırlanan KPE 1-61 Numaralı Elektrotların Yüzey Alanı Karşılaştırması.....	58
Grafik 2. HMS için Hazırlanan KPE 1-61 Numaralı Elektrotlara Ait Yarıçapların Karşılaştırması	59
Grafik 3. HMS'ye Ait Farklı Yıkama Süreleri için DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	62
Grafik 4. HMS'ye Ait Farklı Yıkama Süreleri için DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	63
Grafik 5. MYG'ye Ait Farklı Yıkama Süreleri için DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	63
Grafik 6. MYG'ye Ait Farklı Yıkama Süreleri için DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	64
Grafik 7. YABP'ye Ait Farklı Yıkama Süreleri için DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	65
Grafik 8. YABP'ye Ait Farklı Yıkama Süreleri için DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	65
Grafik 9. Üç Farklı Bağlayıcı Derişimleri için DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	69
Grafik 10. Üç Farklı Bağlayıcı Derişimleri için DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	70
Grafik 11. 100 μ M HMS için Farklı İnkübasyon Koşullarındaki DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	73
Grafik 12. 100 μ M HMS için Farklı İnkübasyon Koşullarındaki DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	74
Grafik 13. HMS için 0°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	75
Grafik 14. HMS için 4°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	75
Grafik 15. HMS için 25°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	76
Grafik 16. HMS için -20°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	77

Grafik 17. HMS için -80°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	77
Grafik 18. HMS (FARK) için Farklı Stabilite Koşullarındaki DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	78
Grafik 19. HMS için 0°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	78
Grafik 20. HMS için 4°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	79
Grafik 21. HMS için 25°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	80
Grafik 22. HMS için -20°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	80
Grafik 23. HMS için -80°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	81
Grafik 24. HMS (FARK) için Farklı Stabilite Koşullarındaki DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması	81
Grafik 25. MYG için 0°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	82
Grafik 26. MYG için 4°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	83
Grafik 27. MYG için 25°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	83
Grafik 28. MYG için -20°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	84
Grafik 29. MYG için -80°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	85
Grafik 30. MYG (FARK) için Farklı Stabilite Koşullarındaki DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	85
Grafik 31. MYG için 0°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	86
Grafik 32. MYG için 4°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	86

Grafik 33. MYG için 25°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	87
Grafik 34. MYG için -20°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	88
Grafik 35. MYG için -80°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	88
Grafik 36. MYG (FARK) için Farklı Stabilite Koşullarındaki DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması	89
Grafik 37. YABP için 0°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	89
Grafik 38. YABP için 4°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	90
Grafik 39. YABP için 25°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	91
Grafik 40. YABP için -20°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	91
Grafik 41. YABP için -80°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması	92
Grafik 42. YABP (FARK) için Farklı Stabilite Koşullarındaki DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	92
Grafik 43. YABP için 0°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	93
Grafik 44. YABP için 4°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması..	94
Grafik 45. YABP için 25°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	94
Grafik 46. YABP için -20°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	95
Grafik 47. YABP için -80°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	96
Grafik 48. YABP (FARK) için Farklı Stabilite Koşullarındaki DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması	96

Grafik 49. HMS ile Olası Girişimci Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	98
Grafik 50. HMS ile Olası Girişimci Maddelere Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.	99
Grafik 51. HMS ile Olası Girişimci Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) ve DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması ..	100
Grafik 52. MYG ile Olası Girişimci Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması..	102
Grafik 53. MYG ile Olası Girişimci Maddelere Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması..	103
Grafik 54. MYG ile Olası Girişimci Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) ve DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması ..	104
Grafik 55. YABP ile Olası Girişimci Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması..	106
Grafik 56. YABP ile Olası Girişimci Maddelere Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması..	107
Grafik 57. YABP ile Olası Girişimci Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) ve DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması ..	107
Grafik 58. Altı Farklı HMS Derişimi İçin DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Kıyaslanması.....	112
Grafik 59. Altı Farklı HMS Derişimi İçin DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Kıyaslanması.....	113
Grafik 60. Dört Farklı HMS Derişiminde DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) İçin Kalibrasyon Grafiği.....	114
Grafik 61. Dört Farklı HMS Derişiminde DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) İçin Kalibrasyon Grafiği	114
Grafik 62. Beş Farklı MYG Derişimi için DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Kıyaslanması.....	117
Grafik 63. Beş Farklı MYG Derişimi İçin DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması	118
Grafik 64. Dört Farklı MYG Derişiminde DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) İçin Kalibrasyon Grafiği.....	119

Grafik 65. Dört Farklı MYG Derişiminde DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) için Kalibrasyon Grafiğı.....	119
Grafik 66. Altı Farklı YABP Derişimi İçin DPV-Pik Yüksekliğı (DPV-ip) Sonuçlarının Kıyaslanması.....	123
Grafik 67. Altı Farklı YABP Derişimi İçin DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	123
Grafik 68. Üç Farklı YABP Derişiminde DPV-Pik Yüksekliğı (DPV-ip) İçin Kalibrasyon Grafiğı.....	124
Grafik 69. Üç Farklı YABP Derişiminde DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) İçin Kalibrasyon Grafiğı.....	125
Grafik 70. 2,5 µg/mL HMS Standart Derişimindeki TI Özütleme DPV Ölçümleri için Pik Yüksekliğı (ip) ve Pik Alanlarının (Ap) Karşılaştırılması.....	126
Grafik 71. 2,5 µg/mL MYG Standart Derişimindeki TI Özütleme DPV Ölçümleri için Pik Yüksekliğı (ip) ve Pik Alanlarının (Ap) Karşılaştırılması.....	127
Grafik 72. 2,5 µg/mL YABP Standart Derişimindeki TI Özütleme DPV Ölçümleri için Pik Yüksekliğı (ip) ve Pik Alanlarının (Ap) Karşılaştırılması..	128
Grafik 73. 2,5 µg/mL Standart Derişimindeki TI Özütleme DPV Ölçümleri için Pik Yüksekliklerinin (ip) Karşılaştırılması	128
Grafik 74. 2,5 µg/mL Standart Derişimindeki TI Özütleme DPV Ölçümleri için Pik Alanlarının (Ap) Karşılaştırılması.....	129

Kısaltma Listesi

ABD	: Amerika Bileşik Devletleri
Ag ^o	: Metalik gümüş
AKS	: Akut Koroner Sendromlar
AME	: Akut Miyokard Enfarktüsü (Acute Myocardial Infarction)
ANSON	: Prof. Dr. Fred C. ANSON tarafından tanımlanan denklem kullanılarak yapılan elektrot aktif yüzey alanına ait ölçüm
Ar-Ge	: Araştırma-Geliştirme
ATP	: Adenozin Trifosfat
BDE	: Baskı Devre Elektrodu
Bkz.	: Bakınız
BOH	: Bulaşıcı olmayan hastalıklar (Noncommunicable disease-NCDs)
KA	Karbonik Anhidraz
SE	: Selüloz Ester
CK	: Kreatin Kinaz (CK-MB, CK-MM)
KPE	: Karbon Pasta Elektrodu
cTn	: Kardiyak Troponin
CV	: Döngüsel Voltametri
DPV	: Diferansiyel Puls Voltametrisi
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization-WHO)
EDK	: N-(3-Dimetilaminopropil)-N-etilkarbodiimit

EKG	: Elektrokardiyogram
YABP	: Yağ Asidi Bağlayıcı Protein (Fatty Acid Binding Protein – FABP)
ABD-GİD	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration - FDA)
FTÇ	: Fosfat tamponu çözeltisi
HMS	: Homosistein (Homocysteine – HMC)
ICH	: İnsanlarda Kullanılan İlaçların Ruhsatlandırılması İçin Teknik Gerekliliklerin Belirlenmesi Uluslararası Konferansı (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)
MS	: Metil selüloz
MYG	: Miyoglobin
NHS	: N-hidroksisüksinimid
TI	: Ters iyontoforez (Reverse iontophoresis - RI)
vb.	: ve benzeri

Giriş

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yayımlanan Dünya Sağlık İstatistikleri 2023 Raporuna göre, bulaşıcı olmayan hastalıklar (BOH) nedeniyle yaklaşık 41 milyon ölüm meydana gelmiştir. Bu rakam tüm dünyadaki toplam ölümlerin %74'ünü oluşturmaktadır. Tüm dünyadaki BOH ölümlerinin oranına bakıldığında ise; %77 (31,4 milyon) ile en çok, düşük ve orta gelire sahip ülke insanların etkilendiği görülmektedir. Yıllık 17,9 milyon ölüm oranıyla kardiyovasküler hastalıklar, 9,3 milyon ölüm oranıyla kanserler, 4,1 milyon ölüm oranıyla kronik solunum yolu hastalıkları (KOA ve astım gibi) ve diyabet kaynaklı böbrek hastalıkları dahil 2 milyon ölüm oranıyla diyabet; %80'in üzerindeki bütün erken BOH ölümlerinden sorumlu olan başlıca BOH türleridir (WHO, 2023).

DSÖ'nün "2030 Sürdürülebilir Kalkınma Hedefi (3.4)" 30-70 yaşta bahsi geçen başlıca dört BOH türünün herhangi birinin ölüm oranını önleme, erken teşhis ve zamanında tedavi ile 2030 yılına kadar 1/3'ü kadar azaltmayı içermektedir. Devletler tarafından kalkınma için zor bir etken olarak kabul edilen BOH'ların uzun süren maliyetli tedavileri ve gelişmemiş ülkelerdeki düşük gelir seviyesi nedeniyle bu hedefin gerçekleşmesi ve ülkelerin kalkınması olumsuz yönde etkilenmektedir (WHO, 2023).

2019'da, 2013-2020'yi kapsayan "DSÖ Küresel Eylem Planı" 2030'a kadar genişletilmiş ve BOH'ların önlenmesi ile kontrolüne yönelik dokuz küresel hedefe ulaşılmasında hızlı bir ilerleyiş için "Uygulama Yol Haritası"nın 2023'ten 2030'a kadar geliştirilmesi çağrısı yapılmıştır (WHO, 2023).

Sigara ve alkol kullanımı, yetersiz fiziksel hareket, sağlıksız beslenme, yaşlanma, hava kirliliği, plansız kentleşme gibi risk faktörleri BOH olasılığını arttırmakta; hipertansiyon, hiperlipidemi, hiperglisemi ve obezite gibi metabolik risk faktörleri ise kardiyovasküler hastalıkları tetiklemektedir (WHO, 2023).

Günümüz koşullarındaki hızlı gelişmelere rağmen kardiyovasküler hastalıklar (MI ve felç gibi), bütün dünyadaki ölümlerin yaklaşık %40'ını oluşturmaktadır. Bu ölüm oranının %60'ını ise AME ve koroner arter tıkanıklığı oluşturmaktadır. Ölüm oranları erkeklerde %46, kadınlarda %32 şeklinde görülmektedir. AME veya kardiyovasküler hastalıkların kadınlarda görülme yaşı 50'lerde iken, erkeklerde 40'a kadar düşmektedir (Tetra, tt).

Türkiye’de Sağlık Bakanlığı bünyesinde gerçekleşen, Toplum Sağlığı Merkezleri tarafından 2011’de yürütülen “Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışması”nda erkek bireylerin %2,3’ünün, kadın bireylerin ise %1,1’inin AME öyküsüne sahip olduğu saptanmıştır (Doğan, 2018).

Gelişmiş ülkelerde tanı ve tedavideki gelişmeler sayesinde AME kaynaklı ölümlerde son yirmi yılda %30’luk bir azalma görülse de AME vakalarının %25’inde ölüm gerçekleşmekte ve bu ölümlerin nerdeyse yarısı ilk bir saatin içerisinde görülmektedir (Akağaç Ethem, 2011).

Gelişmiş ülkeler kadar gelişmekte olan ülkeler için de toplum sağlığını tehdit eden bir unsur haline gelen ateroskleroz ve koroner kalp hastalıkları, günümüzde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir.

Ayrıca dört ana BOH içinde en düşük ölüm oranına sahip olmasına rağmen giderek artan ölüm oranıyla diyabet; diğer hastalıklar için tetikleyici bir risk faktörü olmakta, sağlığı tehdit eden bir problem haline gelmektedir.

DSÖ’nün (World Health Statistics, 2019) ve Uluslararası Diyabet Federasyonu’nun (IDF diyabet atlası-8. baskı) yayımlamış oldukları raporlarda diyabet prevalansının giderek arttığına dikkat çekilmiştir.

Dünya çapında sağlık politikalarının ana konularından biri haline gelen diyabet için kan şekeri seviyesinin ölçümü, konvansiyonel girişimsel yöntemler ile yapılmakta; girişimsiz glikoz tayinine yönelik çeşitli sensör teknolojilerinin kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur.

Onlarca yıllık çalışmaları kapsayan bu süreç; Cincinnati Çocuk Hastanesi’nden Clark ve Lyons’ın, glikoz düzeylerini ölçmek amacıyla bir biyosensör olan enzim elektrodu terimini 1962 yılında ilk kez kullanmasıyla başlamıştır (Yengin, 2019).

Glikozun algılanmasında girişimsiz yaklaşım tekniği olarak transdermal ve çoğunlukla spektroskopik yöntemler kullanılmıştır. ABD-GİD tarafından 26 Ağustos 2002’de onaylanan ilk ticari biyomedikal glikoz sensörü; Cygnus, Inc. (Redwood City, CA, ABD) tarafından giyilebilir saat şeklinde tanıtılan GlucoWatch olmuştur. Bu cihaz, interstisyel sıvının TI tarafından transdermal özütlemesini kullanmaktadır. Yenilikçi tasarımına rağmen satış rakamları tatmin edici seviyede olmamıştır. Bu durum RI’nın doğası gereği cihazın dengeye gelmek ve ısınmak için zamana ihtiyaç duyması,

konvansiyonel yöntemlere göre doğruluğun daha düşük olması, epidermiste hassasiyet ve tahriş durumu, terlemeye bağlı rahatsızlık hissetme gibi sorunlardan kaynaklı olabilmektedir.

Tüm bu sorunlara rağmen girişimsiz bir biyomedikal cihaz tasarımı fikrinin gelişimi üzerinde çok emek sarfedilerek önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Yine de tam olarak doğru, kesin ve tekrarlanabilir bir girişimsiz glikoz ölçüm cihazı hala ticari olarak temin edilememektedir. Young ve arkadaşlarına (2017) göre; yayımlanmış olan bir raporda, girişimsiz bir glikoz ölçüm cihazını ticari olarak geliştirebilmek için minimal girişimsel sistemler, ışık tabanlı yöntemler, kulak memesi kelepçeleri, akıllı kontakt lensler ve ter yamaları olmak üzere beş stratejinin varlığından bahsedilmektedir. Bu rapora göre RI; minimal girişimsel sistemlere dahil edilmiştir (Yengin, 2019).

RI; düşük bir elektrik akımı kullanılmasıyla deriden glikoz gibi moleküllerin dışarıya çekildiği bir yöntemdir. TI üzerine yapılan araştırmalar 1990'ların sonlarından bu yana devam etmektedir. İlk defa araştıranlar Guy ve arkadaşları olmuş; daha sonra Connoly ve arkadaşları, bazı analitler için TI yöntemini direkt veya dolaylı olarak etkileyen birtakım parametrelere yönelik çalışmalar yapmış, sonrasında diğer bir araştırma grubu ise taşınabilir ve programlanabilir TI cihaz tasarımları yapmışlardır.

Glikoz için TI yöntemiyle girişimsiz tayin yapılması bizim için bir emsal teşkil etmektedir. Asıl amacımız; glikoz yerine AME tanısında biyogösterge olarak kabul gören homosistein (HMS), miyogloblin (MYG) ve yağ asidi bağlayıcı protein (YABP) gibi biyobelirteçler kullanılarak TI yöntemiyle girişimsiz olarak tayinlerinin yapılabilirliği ve MI erken tanısına yönelik yeni bir biyosensör tasarımının gerçekleştirilmesi şeklindedir. Bu bağlamda, Doktora tez çalışması esnasında; MI tanısında kullanılan biyogöstergelerin kullanılması ile çeşitli deneysel parametreler optimize edilmiş, elde edilen bulgular ve deneysel verilerin yeni olduğu gösterilmiştir. Bu kapsamda; iyontoforetik hücre tasarımları, ölçüm ve özütleme elektrodu tasarımları, deneysel optimizasyon çalışmaları, özütleme parametreleri ve tayin parametreleri ile ilgili optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen bulgular ve deneysel veriler, bir çok konuda ilk verileri teşkil etmekte olup yapılan alanyazın taramasında; AME tanısına yönelik konvansiyonel (kan tahlili, EKG) yöntemlere çokça rastlanmakla birlikte, Yengin'in (2019) Doktora tezi ve SCI-Expanded veritabanında taranan bir uluslararası dergide yayımlanan makalemiz

(Yengin, Kilinc, Der, Sezgin, ve Alcin, 2019) dışında, AME tanısında kullanılan biyobelirteçlere (HMS, MYG, YABP) ait TI ile girişimsiz tayin yöntemi veya cihaz tasarımına yönelik deneysel parametreleri detaylıca tartışan bir literatüre rastlanmamıştır. Bu doktora tezi; akut miyokard enfarktüsü biyogöstergelerinden bir kaçı olan HMS, MYG ve YABP için girişimsiz yöntem geliştirilmesine yönelik bir ilk olmayı amaçlamaktadır.

Dünyadaki ölüm nedenlerinin en başında gelen ve önlenabilir ölüm nedenleri arasında yer alan kardiyovasküler hastalıklar ve akut koroner sendrom olgularından dolayı hastalık, sakatlık, iş göremezlik, hayat konforunda düşüş, birçok ilaç kullanımı, hastanelerde yoğunluk, tedavi masrafları gibi sonuçlar doğmakta; bu durum bireyleri ve ülke ekonomisini olumsuz yönde etkilemektedir. Bundan dolayı hastalanmadan önce önlem almak, erken tanı ve erken müdahale ile hem bireyler hem de ülke için zararı en aza indirmek mümkün olabilmektedir. Ayrıca ülkemiz dahil birçok ülkede tele-tıp uygulamalarına geçiş süreçleri stratejik planlara dahil edilmektedir. Hem hastalıkla hem de tele-tıp uygulamalarıyla ilgili olarak gerçekleştirilecek Ar-Ge çalışmaları ve geliştirilecek yeni teknolojilere olan ihtiyaç gözler önüne serilmekte, hayat kurtaran teknolojilerin gündelik hayatta kullanıma sunulmasının önemi vurgulanmaktadır.

1.1. Araştırmanın Problemi

Yapılan alanyazın taraması sonucunda AME biyogöstergelerine (HMS, MYG ve YABP) yönelik çok fazla konvansiyonel tayin yöntemi mevcut olsa da; EKG vb. dışındaki tüm ölçümlerde kandan tahlil yapılması söz konusu olduğundan, IR yöntemi kullanılarak girişimsiz tayin yapılan çalışmaya literatürde hiç rastlanılmaması araştırma konumuzun güncelliğini ortaya koymaktadır. AME vakalarında ilk 6 saat içinde erken müdahale hayat kurtarıcıdır. Aksi takdirde kalp kasında oluşan nekroz, geridönüşümsüz olmaktadır. Yaptığımız çalışma AMI'nin erken tanısına olanak sağlayacaktır. Çalışma; buna ilaveten hastalık, sakatlık, iş gücü kaybı, fazla ilaç kullanımı, hastanede aşırı yoğunluk, tedavi masrafları gibi etkenler düşünüldüğünde sadece insan hayatına değil, sağlık ekonomisine ve ülke ekonomisine de katkıda bulunacaktır. Ayrıca çalışma sürekli monitörizasyon ve tele-tıp uygulamaları açısından değerlendirildiğinde, hastalık riskinin veya durumunun seyri; erken tanı, teşhis ve tedavi süreci; hastaneye gidilme oranının hasta, doktor ve hastane yoğunluğu açısından azaltılması dolayısıyla zamandan ve ekonomiden tasarruf; girişimsel tanı yöntemlerine

karşı yaşanabilen stres ve korkunun ortadan kalkması; gereksiz veya fazla ilaç kullanımının önüne geçilmesi gibi avantajlar sağlayacaktır.

1.2. Araştırmanın Sorusu

Akut miyokard enfarktüsü biyogöstergeleri olan homosistein, miyoglobin ve yağ asidi bağlayıcı proteinin ters iyontoforez yöntemi ile girişimsiz olarak tayini yapılabilir mi?

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

H-1: Ters iyontoforez yöntemi kullanılarak akut miyokard biyogöstergesi olan homosisteinin girişimsiz tayini yapılabilir.

H-2: Ters iyontoforez yöntemi kullanılarak akut miyokard biyogöstergesi olan miyoglobinin girişimsiz tayini yapılabilir.

H-3: Ters iyontoforez yöntemi kullanılarak akut miyokard biyogöstergesi olan yağ asidi bağlayıcı proteinin girişimsiz tayini yapılabilir.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Elektrokimya çalışmaları yanıtlarında; sade elektrot ölçümünün en yüksek çıkması, antikorun yüksekliğinin ikinci sırada olması ve antijenin ise en düşük olması beklenirken sade elektrodun düşük kalmış olması antikor bağlanmasıyla birlikte elektrot yüzey alanında artış olduğunu düşündürmektedir.

Ayrıca, bu çalışma sonucunda geliştirilen yöntemin başarılı olduğu ve başka parametreler için de kullanılabileceği düşünülmektedir.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Çalışmada protein ve amino asit yapılı biyolojik madde kullanımı, sıcaklık parametresinin çalışılmasını kısıtlamıştır. 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklara çıkılamamaktadır.

Pandemi dönemine denk gelinmesi ile sağlık önlemleri açısından evden çıkma yasağı kararının alınmış olması nedeniyle çalışmanın bir dönem kadar durdurulması gerekmiştir.

Yine pandemi dönemi nedeniyle kimyasal madde alımı aşamasında bazı maddelerin üretiminin durması, gümrükte uzun süre beklemesi gibi etkenlerden dolayı 5 ay kadar bir zaman kaybı yaşanmıştır.

1.6. Araştırmanın Amacı

Bu alışma kapsamında; EKG ve kan testleri gibi günümüzde kullanımda olan MI tanı ve teşhis yöntemlerinden farklı olarak, AME teşhisinde önemli olan bazı biyogöstergelerin (HMS, MYG ve YABP) ters iyontoforez yöntemiyle girişimsiz olarak tayininin yapılması ve kalp krizinin erken tanısına katkı sağlanması amaçlanmıştır. Böylece bazı fizyolojik parametreleri (biyogöstergeleri) sürekli monitörize eden girişimsiz tayin yöntemleri geliştirilmiş olacak ve standart tayin yöntemleriyle de mukayesesi yapılabilir.



Genel Bilgiler

2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar ve Akut Koroner Sendrom Olguları

Kalp yapısında oluşan herhangi bir rahatsızlık; kalp kapak hastalıklarına, miyokard hastalıklarına, koroner arter hastalıklarına veya kalp dokularındaki iltihaplanmalara (miyokardit, endokardit gibi) neden olabilmektedir (Medical Park, tt; Başer, 2020).

Günde ortalama 100 bin defa kasılarak vücuda 8 bin litre (dakikada ~5 L) kanı pompalama gücüne sahip olan kalp, çoğunlukla kas dokusundan oluşmakta; dışında bir bağ dokusu katmanı, içinde ise ince bir zar bulunmaktadır. Kadınlarda ortalama 300-320, erkeklerde 340 gram ağırlığa sahip olan kalp; üç ana arterin ve dışarıdan kas tabakasının içerisine doğru ilerleyen, bu koroner arterlerden çıkmış arter dallarının aracılığıyla beslenmektedir (Medical Park; Başer, 2020; Gesund, tt; Acıbadem, 2019; Gerçekoğlu, 2017).

Kalbi besleyen koroner arterlerde kalitesiz hayat tarzı, sağlıksız beslenme, kötü alışkanlıklar, kronik hastalıklar gibi çeşitli nedenlere bağlı olarak birikimler ve yıpranmalar meydana gelmekte, bu durum plak oluşumuna neden olmaktadır. Bu plaklar sadece damarlarda daralmaya neden olursa, kalbe giden oksijenin azalması sebebiyle “**anjina pectoris**” denilen göğüs ağrısı ve sıkışma hissi durumları oluşturmaktadır. Eğer plaklar damarlarda kan akışını engelleyecek şekilde tıkanmaya neden olursa, oksijensiz kalan miyokarda geri dönüşümsüz olabilen hasarlar meydana getirebilmektedirler. Bunun sonucunda hasarın büyüklüğüne bağlı olarak iskemi, nekroz ve ilerisinde enfarktüs durumları meydana gelebilmektedir (Tetra, tt; Gerçekoğlu, 2017; Ashorobi ve ark, 2023).

Global düzeydeki ölümcül hastalıklara bakıldığında kalp ve damar hastalıkları, ölüm nedeni olarak ilk sırada bulunur.

Yeryüzünde en çok görülen ölüm sebepleri; AME ve inmedir (Medical Park, tt).

Sadece ABD’de yılda 1,5 milyon kişide AME kaynaklı ölüm görülüyorken AMI’nın dünyadaki prevalansı 3 milyona ulaşmaktadır (Mechanic ve ark, 2023).

DSÖ’nün tahminine göre, 2030 yılına gelinceye kadar yılda 23,6 milyon kişi kalp damar rahatsızlıkları nedeniyle hayatını kaybedecektir (Medical Park, tt).

Son yıllarda Türkiye’de yapılmış araştırmalar kardiyovasküler sistem kaynaklı ölümlerin toplam %40 oranında olduğunu; bu toplam oranın neredeyse %60’ının AME

ve koroner arter tıkanıklığına bağlı olduğunu; bunun da %46 oranında erkeklerde, %32 oranında kadınlarda görüldüğünü bildirmiştir (Tetra, tt).

Koroner arter hastalıkları önemli bir mortalite ve morbidite sebebi olsa da önlenebilmekte ve tedavi edilebilmektedir (Bansal, 2022).

Eryılmaz ve arkadaşlarına (2014) göre koroner kan akışının aniden azalmasına bağlı olarak gelişen miyokard iskemisinin ortaya çıktığı klinik tablolara akut koroner sendromlar (AKS) denilmektedir. Bunların içinde ST segment yükselmeli AKS'nin önemli bir yeri bulunmaktadır. Taburcu edilen hastanın riskini tayin etmede iskemik alanine yaygınlık, iskeminin hemodinamik sonuçları ve koroner aterosklerozun derecesi önemlidir. Miyokard hasarı biyogöstergeleri bu konularda yeterli gelemeyebilir (Yengin, 2019).

2.1.1. Akut Miyokard Enfarktüsü Kavramı

Halk dilinde **kalp krizi** olarak bilinen, hayati tehlike oluşturan, ani ölümlere yol açan ve her beş ölümün birinden sorumlu olan miyokard enfarktüsü; iskemik kalp hastalığının veya koroner arter hastalığının ortak bir sonucudur (Alpman, tt).

Koroner arterler, kalbe oksijen ve besin açısından zengin kan akışı sağlayan damarlardır. Kalbi besleyen koroner arterlerde çeşitli nedenlerle yağlar (trigliserit, LDL), kalsiyum, atık maddeler, ölü hücreler vb. maddelerin birikimi plak oluşumuna neden olmakta ve bu durum damarlarda sertleşme (ateroskleroz) ya da kalınlaşma oluşturarak daralma veya tıkanma ile sonuçlanmaktadır (Güven Sağlık Grubu, 2022; Acıbadem, 2019).

Kurt ve ark. (2016), AME'yi "aterosklerotik plak rüptürü sonrası oluşan intrakoronertrombosa bağlı gelişen klinik tablo" şeklinde ifade etmiştir (Kurt ve ark, 2016).

Aterosklerotik plak yırtıldığında monosit ve makrofajların oluşturduğu enflamatuar yanıt trombüsün (pıhtının) meydana gelmesine sebep olmakta, bir veya daha fazla koroner arterin daralması veya tıkanması sonucu ATP üretilmemesi ile miyokardda oluşan şiddetli ve uzun süreli iskekiye bağlı olarak geri dönüşümsüz hasar veya nekroz (hücre ölümü) meydana gelebilmekte, bu durum **miyokard enfarktüsü** olarak tanımlanmaktadır (Yöntem ve ark, 2017; Mechanic ve ark, 2023; Güvenen, 2008). AMI'da bu tıkanma durumu akut olarak gerçekleşmekte ve ciddi sonuçlar doğurmaktadır (Mechanic ve ark, 2023; Güzel, 2008; Yöntem ve ark; 2017).

Miyokard hasar gördüğünde kasılma yetisi kaybolmakta ve bütün işi kalan hasarsız kısım üstlenmektedir. Yaşamı devam ettirebilmek, hasar görmeyen kısmın büyüklüğüne bağlıdır (Alpman, tt).

ABD’de yılda 1,5 milyona yakın hasta AME geçirmekte ve 300-400 bin kişi hayatını kaybetmektedir (Sattar ve Alraies, 2023; MSD Manuals, Sweis ve Jivan, 2024).

Türkiye’de ise AME, yılda 200 bin kişinin yaşamını yitirmesine neden olmaktadır ve bu sayı trafik kazasında ölenlerin sayısının 30 katına yakındır (Medical Park, tt).

Ölümlle sonuçlanan AME vakalarının neredeyse %70’ine aterosklerotik plakların sebep olduğu tıkanmalar neden olmaktadır.

Kanlanmanın olmadığı her saniyede kalıcı hasarın oluşabileceği ve ölümün ilk bir saatlik süre içinde gerçekleştiği göz önüne alındığında, erken zamanda doğru müdahale ile hızlı reperfüzyon (kan akışının yeniden sağlanması) sağkalım açısından son derece önemlidir (Mechanic ve ark; 2023)

Miyokard enfarktüsü; sistolik ve diyastolik fonksiyonu aksatarak aritmi riskinde artışa ve birçok ağır komplikasyonlara neden olabilmektedir.

Hastalık, risk faktörlerinin ortadan kaldırılması veya azaltılması ile önlenabilir. Önlenabilir risk faktörleri arasında; aterosklerotik hastalık riskleri (hiperlipidemi), aşırı kilo, hipertansiyon, sigara ve alkol kullanımı, stres, öfke, kaygı, yorgunluk, tedavi edilebilir başka hastalıklar vb. gelmektedir (Mechanic ve ark, 2023; Alpman, tt; Gesund, tt).

2.1.2. Akut Miyokard Enfarktüsü Çeşitleri

Nekrozun transmural derinliği klinik olarak kesin olarak belirlenemediğinden, enfarktler genellikle EKG’de ST segment elevasyonu veya Q dalgalarının varlığına ya da yokluğuna göre ST segment yükselmeli miyokard enfarktüsü veya ST segment yükselmeli olmayan miyokard enfarktüsü olmak üzere genel olarak iki şekilde sınıflandırılmaktadır.

Farklı bir sınıflandırma şekli olarak;

1) ST segment yükselmesiz miyokard enfarktüsü (NSTEMI, subendokardiyal AME); Kısmi tıkanıklıktan meydana gelen, akut ST segment yükselmesi olmaksızın gerçekleşen miyokard nekrozudur. Kandaki kardiyak belirteçler ile kanıtlanmaktadır; troponin I veya troponin T ve CK yükselecektir. ST segment depresyonu, T dalgası inversiyonu ya da her ikisinin de görüldüğü EKG

değişiklikleri mevcut olabilmektedir. Kararsız angina, NSTEMI'ya benzese de normal kalp belirteçleriyle NSTEMI'dan ayrılmaktadır. Bu enfarkt çeşidinde acil reperfüzyon; perkütan girişim ya da koroner arter baypas greft ameliyatı yolu ile yapılmaktadır (Mechanic, 2023; MSD Manual, tt).

2) ST segment yükselmeli miyokard enfarktüsü (STEMI, transmural AME); tam tıkanıklıktan meydana gelen, nitrogliserin ile hızlıca geri dönüşümsüz ST segment yükselmesi gösteren EKG değişiklikleriyle birlikte gelişen miyokard nekrozudur. AME'lerinin %25-40'ını oluşturmaktadır. Troponin I veya troponin T ve CK yükselmiştir. Bu enfarkt çeşidinde ise acil reperfüzyon; fibrinolitik ilaçlar, perkütan girişim ya da bazen koroner arter baypas greft ameliyatı yolu ile yapılmaktadır. STEMI için risk faktörleri; yaş, cinsiyet, ailede erken koroner arter hastalığı öyküsü, sigara kullanımı, dislipidemi, diyabet, hipertansiyon, abdominal obezite, hareketsiz yaşam tarzı, meyve ve sebze fakir diyet ve psikososyal stres faktörleri vb. verilmektedir. Kokain kullanımı, risk faktörlerinden bağımsız şekilde STEMI'ya sebep olabilmektedir (Mechanic, 2023; MSD Manual, 2024; Akbar ve ark, 2023).

3) Koroner arter hastalığı (MINOCA) yokluğunda miyokard enfarktüsü; koroner anjiyografi yapılan akut AME hastalarının yaklaşık %5-6'sında obstrüktif koroner arter hastalığı (MINOCA) olmaksızın miyokard enfarktüsü bulunmaktadır. MINOCA'lı hastalar genellikle daha genç, kadın ve dislipidemisi olmayan kişiler olmakta; önemli koroner ateroskleroz olmaksızın miyokardiyal nekroza sahip olma eğilimi göstermektedirler. MINOCA'da plak bozulması ve koroner vazospazm yaygındır. Koroner tromboz veya emboli ve spontan koroner arter diseksiyonu MINOCA'nın nedenleridir. Tıbbi tedavi, her hastada MINOCA'nın altında yatan mekanizmaya dayanmalıdır (MSD Manual, tt).

Başka bir sınıflandırma olarak;

- 1) **Transmural enfarktüsler;** epikardiyumdan endokardiyuma kadar miyokardın tüm kalınlığını içermekte ve genel olarak EKG'de anormal Q dalgaları ile karakterize edilmektedir.
- 2) **Transmural olmayan (nontransmural) enfarktüsler (subendokardiyal dahil);** ventriküler duvarı aşmaz ve yalnızca ST segmenti ile T dalgası (ST-T) anormalliklerine sebep olmaktadır.

- 3) **Subendokardiyal enfarktüsler;** genellikle duvar geriliminin en yüksek olduğu ve miyokardiyal kan akışının dolaşım değişikliklerine karşı en savunmasız olduğu miyokardın iç kısmının üçte birini içermektedir. Bu enfarktüsler uzun süreli hipotansiyonu takip edebilmektedir (MSD Manual, tt).

AME, etiyolojiye ve koşullara göre 5 tip sınıfa ayrılmaktadır:

- **Tip 1:** Birincil koroner olaya bağlı iskeminin neden olduğu spontan AME (örn. plak yırtılması, erozyon ya da çatlama, koroner diseksiyon)
- **Tip 2:** Artan oksijen ihtiyacına (örn. hipertansiyon) veya azalmış arza (örn. koroner arter spazmı ya da emboli, aritmi, hipotansiyon) bağlı iskemi
- **Tip 3:** Troponin yükselmesi olmaksızın beklenmedik ani kalp ölümüyle ilgili AME
- **Tip 4a:** Perkütan koroner girişimle ilişkili AME (cTn değerleri $>5 \times 99$. persentil URL ile AME'nün belirti ve semptomları)
- **Tip 4b:** Belirlenmiş stent trombozu ile ilişkili AME
- **Tip 5:** Koroner arter baypas greftlemesi ile ilişkili AME (cTn değerleri $>10 \times 99$. persentil URL ile AME'nün belirti ve semptomları) (MSD Manual, tt).

AME için diğer bir sınıflandırma aşağıdaki şekilde yapılmaktadır:

AME, genel olarak sol ventrikülde gerçekleşse de hasar sağ ventriküle ya da atriyuma doğru yayılabilmektedir.

- 1) **Sağ ventriküler enfarktüs;** çoğunlukla sağ koroner ya da baskın sol sirkumfleks arterin tıkanmasıyla meydana gelmektedir. Sıklıkla ciddi triküspit yetersizliği ve azalmış kalp debisi ile birlikte, yüksek sağ ventrikül dolum basıncı ile karakterize edilmektedir.
- 2) **İnfero-posterior enfarktüs;** hastaların yaklaşık yarısında bir dereceye kadar sağ ventrikül fonksiyon bozukluğuna ve %10-15'inde hemodinamik anormalliğe sebep olmaktadır. İnferoposterior enfarktüsü ve hipotansiyon ya da şokla birlikte yüksek juguler venöz basıncı olan her hastada sağ ventrikül disfonksiyonu düşünülmelidir. Sol ventrikül enfarktını komplike eden sağ ventrikül enfarktüsü, mortalite riskini önemli ölçüde artırmaktadır.
- 3) **Ön enfarktılar;** daha büyük olma eğiliminde olup alt-arka enfarktılardan daha kötü prognoza neden olmaktadır. Bunlar genellikle sol koroner arter tıkanıklığından, özellikle de ön inen arterden kaynaklanmaktadır; inferoposterior enfarktılar sağ

koroner ya da baskın sol sirkumfleks arter tıkanıklığını yansıtmaktadır (MSD Manual, tt).

2.1.3. Akut Miyokard Enfarktüsü Tanısı, Tedavisi ve Tanıda Kullanılan

Enzimler

AME, kısaca bir veya daha fazla koroner arterin akut tıkanması (oklüzyonu) sonucu oluşan miyokard nekrozu şeklinde tanımlanabilir. AME sonrası saniyeler içinde miyokardda aritmiler meydana gelmektedir. “Sol ön arterin tıkanmasıyla oluşan enfarktüs; sol ventrikülün apikal ve anterior bölgelerinde, interventriküler septumda, anterolateral duvardaki papiller kaslarda ve sol ventrikülün inferoapikal duvarında gelişir. Sirkumfleks artere bağlı enfarktüsler ise; sol ventrikülün lateral ve inferioposterior duvarını tutar. Sağ koroner arter tıkanmalarında; sol ventrikülün inferioposterior duvarında, interventriküler septumun inferior kısmında, posteromedial papiller kaslarda ve sağ ventrikülde gelişebilmektedir” (Yengin, 2019). AME başlangıçta endokardda iken 20 dakikadan fazla süren tıkanmalarda 4-6 saat içerisinde epikarda doğru yayılmış olur. Bu esnada oluşan hasarlar geri dönüşümsüz olmaktadır. Bundan dolayı ilk 6 saat müdahale için son derece kritiktir (Yengin, 2019). Son yıllardaki gelişmelerle AME’ye bağlı ölüm oranlarında bir azalma olmasına rağmen mortalite oranı %25’tir (Akağaç Ethem ve ark, 2011).

ABD’de yılda 1,5 milyona yakın hasta AME geçirmekte ve bu hastalardan 300-400 bin kadarı hayatını kaybetmektedir (Sattar ve Alraies, 2023; MSD Manuals, Sweis ve Jivan, 2024). Üstelik bu ölümlerin %50’si enfarktüsün ilk bir saati içinde gerçekleşmektedir. Bu durumun etkeni olarak ventriküler fibrilasyona bağlı ölümcül aritmiler gösterilmektedir. Ayrıca iyileşen hastalarda da %4 oranında hasta tekrarlayan AME nedeniyle bir yıl içinde hayatını kaybetmektedir (Yengin, 2019).

AME’den günler ya da haftalar öncesinde kararsız anjina, nefes darlığı, yorgunluk görülebilmektedir. Genel olarak ilk semptom; çoğunlukla sırt, çene, sol kol, omuzlar veya bu bölgelerin tümüne yayılan derin ağrı veya baskı şeklinde ifade edilmektedir. Anjina pektoris göre daha şiddetli ve uzun süren (en az 20 dk) ağrı görülmekte; göğüste rahatsızlık hissi/ağrı/yanma, bulantı ve/veya terlemeye eşlik eden veya etmeyen sık nefes darlığı şeklinde belirtiler vermektedir. Bazı hastalarda hazımsızlık, şişkinlik gibi semptomlar görülebilmektedir. Diğer semptomlar; hırıltı, öksürük, taşikardi, senkop (bayılma), baş dönmesi, sebepsiz kaygı şeklinde verilebilir.

Genellikle görülmemekle birlikte, bazen nitrogliserin kullanımı veya dinlenme ile kısa süreli geçici rahatlama görülebilmektedir.

AME'lerin %20'si genellikle diyabetik veya yaşlı bireylerde rastlanan asemptomatik şekilde olmaktadır. STEMI ve NSTEMI'nin semptomları aynı olsa da STEMI uyarı vermeden birdenbire olabilir.

AME tanısında, hastanın öyküsü/şikayeti, elektrokardiyografi (EKG) ve serolojik biyogösterge testleri bulgularından yararlanılmaktadır (MSD Manual, tt).

AME tanısı için klasik olarak DSÖ tarafından belirlenmiş kriterler kullanılmaktadır. EKG ve serolojik biyogöstergelerin ilk ölçümünden sonra, STEMI (ilk EKG tanısaldır) ve NSTEMI'yı ayırt etmek için EKG ve biyobelirteçlerin seri ölçümleri yapılmaktadır. STEMI veya komplikasyonları görülen hastalara acilen koroner anjiyografi; komplikasyonsuz olan NSTEMI hastalarına gecikmiş koroner anjiyografi (24-48 saat içinde) uygulanmalıdır (MSD Manual, tt).

Düzöz'e (2003) göre seri EKG sonuçlarında değişiklikler olması; kreatin kinaz, troponin-I, miyogloblin gibi kalp için spesifik olan enzim ve biyogöstergelerdeki artış veya düşüşler; miyokard iskemisi için tanı kriterleridir (Yengin, 2019).

Kardiyak biyogöstergelere daha çok dikkat çekmek için DSÖ kriterleri, 2000 yılında yeniden düzenlenmiştir. Yeni tanımlara göre kardiyak biyogöstergelerin (tercihen cTn) üst referans sınırının 99. persentilin üzerine çıkmış olması ve aşağıdaki belirtilerden en az birinde artış olması durumu AME için tanı koydurucu kriterler olarak bildirilmiştir. Bunlar:

- İskemi belirtileri,
- Yeni iskeminin göstergesi olan EKG değişiklikleri (önemli ST/T segment elevasyonu/depresyonu veya yeni sol dal bloğu),
- Patolojik Q dalgalarının gelişimi,
- Yeni miyokard kaybının ya da yeni bölgesel duvar hareketi anormalliğinin görüntülenmesi,
- Anjiyogramda ya da otopside intrakoroner trombusün gösterilmesidir.

Perkütan koroner girişim ya da koroner arter bypass ameliyatı sırasında ya da sonrasında AME tanısı koymak için veya ani ölüm nedenini bulmak için kullanılan kriterler farklılık göstermektedir (**Bkz. AME Çeşitleri**) (MSD Manual, tt).

Ayırıcı tanı olarak da; gastrointestinal sistem hastalıkları olan ösefageal reflü, ösefagus spazmı, hiatus hernisi, safra koliki, splenik pleksus distorsiyonu, peptik ulcus, pankreatit, göğüs hastalıkları olan kostosternal sendrom, servikal radikülitis, interkostal nevralji, miyositis, perikardit, dissekan aort anevrizması, pulmoner emboli, solunum sistemi hastalıkları olarak plörezi, pnömoni, spontan pnömotoraks ve omuz eklemi hastalıkları belirlenmiştir (Güzel, 2008).

Hasar alan miyokardın hacmi, CK yükselmesinin kapsamı ve süresine ya da daha yaygın olarak ölçülen kardiyak troponinlerin pik seviyelerine göre kabaca tahmin edilebilmektedir. Hasarın büyüklüğünü ortaya koymak için koroner anjiyografi, EKG, EKO, nükleer ventrikülografi testleri kullanılabilmektedir (Alpman, tt).

6 saat sonunda hasar en yüksek düzeyde olmaktadır (Medipol, tt). Erken tanı ve zamanında müdahale son derece önemlidir. Çünkü kalp kası hücreleri hasar gördüğünde geri dönüşü olmamakta; hasarlı doku miktarı artarken, kalp yetmezliği ve özellikle aritmiden kaynaklı olarak yaşam tehlikeye girmektedir (Medipol, tt).

Kalp krizi hastaneye yatışı ve yoğun bakımı gerektiren acil bir durumdur.

Tedavi ile; AME'nin ilerlemesinin durdurulması, hasarının en düşük seviyede tutulması, hızlı iyileşmenin sağlanması için kalbin taleplerinin en aza indirilmesi ve komplikasyonların önlenmesi sağlanmaktadır. Eğer hasta ilk 6 saat içinde gelirse; trombolitik tedavi veya stent ile tıkalı damarlar açılarak kaslardaki nekroz önlenmektedir (Alpman, tt).

2.2. AME İçin Tanı, Teşhis, İzleme ve Tahminlemede Kullanılabilecek

Biyogöstergeler

Kardiyovasküler hastalıklar ve akut koroner sendrom olgularının tanısı, teşhisi, izlemesi ve seyri hakkında tahminleme yapılabilmesinde kullanılabilecek model bileşikler olarak; Kardiyak Troponin (cTnI, cTnT), C-Reaktif Protein (CRP), Myoglobin (MYG), Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL), Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL), Okside Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (oxLDL), Homosistein (HMS), Miyeloperoksidaz (MPO), Kreatin Kinaz (CKMM, CK-MB), L-karnitin, Yağ Asidi Bağlayıcı Protein (H-YABP, YABP), Glikoz ve Glikolize Hemoglobin (HbA1c) olarak belirlenmiştir. Bu tez kapsamında; HMS, MYG ve YABP biyogöstergeleri model bileşik olarak çalışılmıştır.

2.3. Stratum Korneum

Stratum korneum (SC), alternatif lipid katmanlarından ve korneositlerden oluşan çok katmanlı bir dokudur. 0,1 – 0,5µm kalınlığında, çokgen bir şekle sahip ve yanal boyutu 30 ile 50µm arasında, terminal olarak farklılaşmış hücrelerdir. S. Gou'ya (2019) göre; bir korneosit, yüksek oranda çapraz bağlanmış bir protein zarfıyla çevrilidir ve komşu hücrelerine korneodesmosomlarla yapışır. SC derinin dış tabakası (epidermis) olup, sürekli dökülen bir dizi ölü hücre katmanından oluşmuştur. Hücrelerin çoğundan daha sert yapıdadır. Bir keratinosit SC'ye girdiğinde korneosite dönüşür ve iki haftalık süre içinde dökülmektedir. SC, cildin iç katmanlarını koruma görevini üstlenmiştir. Vücut ve çevre arasında ana bariyer görevi görmekte; ayrıca vücut ısını koruma ve düzenlemeye yardımcı olma, vücudu dış etkilere koruma ve transepidermal su kaybını kesin olarak sınırlama görevlerini de üstlenmiştir (Yengin, 2019).

2.4. Girişimsiz (Non-Invasive) Analiz Yöntemleri

Klasik girişimsel yöntemler olan konvansiyonel yöntemler; cilt bütünlüğünü bozarak bir süre sonra acı, ağrı, his kaybı gibi etkenlerle hasta konforunu bozmakta, stres ve korkuya neden olabilmektedir. Bu durum, ihtiyaçlar doğrultusunda yeni buluşların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu ihtiyaçlara; kan ve doku örneği alımında enfeksiyon riski, küçük çocuklarda acı ve ağrı, sürekliliği olmayan sadece bir defalık örnek alınması, diyabet gibi anlık ölçüm alınan hastalık durumlarında aşırı sarf malzemesi kullanımı, vb. örnek verilebilir.

Girişimsiz yöntemler ise cilt bütünlüğünü koruyarak yukarıda bahsedilen stres, korku, enfeksiyon riski gibi durumları azaltırken; geliştirilen aparat, cihaz vb. sayesinde anlık veya sürekli ölçüme, çoklu ölçümlere, bir defada farklı parametre ölçümlerine olanak sağlayabilir.

2.4.1. Biyomedikal Cihaz Tasarımlarında Kullanılan Girişimsiz Ölçüm

Teknolojileri:

- 1) Yakın Kızılötesi Spektroskopisi (Near Infrared Spectroscopy – NIR)
- 2) Orta Kızılötesi Spektroskopisi (Mid-Infrared Spectroscopy – MidIR)
- 3) Optik Uyum Tomografisi (Optical Coherence Tomography)

- 4) Lokalize Reflektans Spektroskopisi (Localized Reflectance Spectroscopy)
- 5) Raman Spektroskopisi (Raman Spectroscopy)
- 6) Polarizasyon Değişimi Teknikleri (Polarization Changes Technics)
- 7) Ultrason Teknolojisi (Ultrasound Technology)
- 8) Floresans Spektroskopisi (Fluorescence Spectroscopy)
- 9) Termal Spektroskopi (Thermal Spectroscopy)
- 10) Oküler Spektroskopi (Ocular Spectroscopy)
- 11) Empedans Spektroskopisi (Impedance spectroscopy)
- 12) Elektromanyetik Algılama (Electromagnetic Sensing)
- 13) Sıvı Toplama Teknikleri (Fluid Harvesting Technics)
- 14) Ters İyontoforez (Reverse Iontophoresis)

Bu tez kapsamında; yukarıda bahsi geçen girişimsiz ölçüm yöntemlerinden sadece Ters İyontoforez yöntemi kullanıldığından, bu konu detaylandırılmıştır.

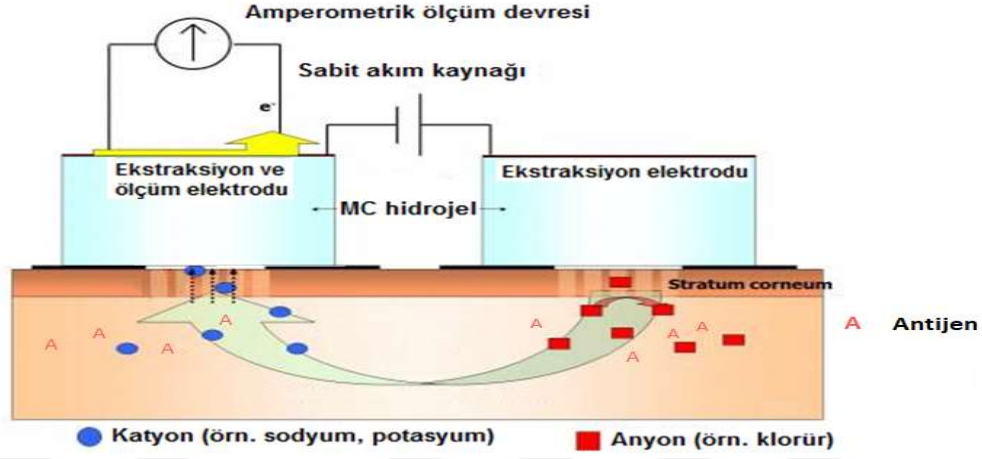
2.4.1.1. Ters İyontoforez (Reverse Iontophoresis)

Ters iyontoforez, anot ve katot arasında deri içerisinde düşük elektrik akımı geçirilmesi ile deri altı sıvıdan ve mikrovasküler sistemden istenen iyonların girişimsiz bir şekilde çıkarılması işlemine dayalı bir yöntemdir. Bu amaçla, belli bir referans elektroduna karşı, anot – katot arasına sabit bir potansiyel uygulanarak cildin altından yüklü iyonlardan anyonların anota ve katyonların katota göç etmesi sağlanmaktadır. Bu yöntem, pasif difüzyondan farklı olarak, deri yüzeyinde iyonların geçişine olanak sağlamaktadır. Böylece cildin içindeki tayini yapılacak moleküllerin cilt bütünlüğünü bozmadan dışarıya çekilmesi, oradaki jelde biriktirilmesi ve ilgili enzim ya da antijen-antikor etkileşimi ile bu moleküllerin tayininin yapılması hedeflenmektedir. Böylece ters-iyontoforez sistemi; girişimsiz bir şekilde teşhisi ve hasta görüntülemeyi mümkün kılmaktadır.

Kurnik ve arkadaşlarına (1999) göre; glikoz gibi yüksüz moleküller ise yüklü iyonlarla beraber katota taşınabilmektedir (elektroozmozis). Böylece sadece belirli düzeyde glikoz cildi geçerek katot yüzeyine ulaşmaktadır (Yengin, 2019).

Oluşan elektrokimyasal sinyalin ölçümü kalibre bir sensör ile yapılır. Bu yöntemde katot; salt bir metal elektrottan çok bir antijen biyosensörüdür. Bu nedenle katota antijen tayinine yönelik ayrı bir potansiyel daha uygulandığında, yükseltgenen

hidrojen peroksit (H_2O_2) veya mediyatörün oluşturduğu akım miktarı ile dolaylı yoldan elektrokimyasal olarak antijen tayini gerçekleştirilmektedir. Antijen ekstraksiyonu; akımın yoğunluğu ve uygulama süresi ile doğru orantılıdır.



Şekil 1. Ters iyontoforez sisteminin şematik gösterimi

Yöntemin dezavantajı; deri üzerine sürekli bir potansiyel uygulanmasıyla oluşan sabit akım nedeniyle ciltte iritasyona veya alerjik reaksiyona neden olabilmektedir. Akım daha kısa aralıklarla uygulandığında, iritasyon problem azalabilmektedir. Ancak glikozun deri dışına taşınabilmesi için uygulama süresi kısaltılamamaktadır. Diğer bir dezavantaj ise; kan şekeri düzeylerinde meydana gelen ani değişiklikler aynı hızla tayin edilememektedir.

2.5. İmmünosensörler

2.5.1. İmmünosensör Tanımı ve Sınıflandırılması

Klasik elektrokimyasal yöntemlerle hazırlanan sensörler ile sadece anyonlar ve katyonlar belirlenebiliyorken, biyolojik materyaller de eklendiğinde tayin edilebilecek bileşen çeşidi artmaktadır. Biyolojik materyal eklenmiş bu sensörler **biyosensör** adını almıştır. Dönüştürücü, okuyucu ve biyolojik bir unsurdan oluşan; biyolojik süreçlerdeki değişiklikleri ölçerek bu ölçümleri elektrik sinyali haline getirebilen analitik araca biyosensör denir. 1950'lerin ortalarında Leland C. Clark tarafından geliştirilen, elektron alıcısı olarak oksijen kullanılmasıyla kandaki oksijen miktarının ölçüldüğü ilk biyosensör ortaya çıkmıştır. Daha sonra ise 1962'de Cincinnati Çocuk Hastanesi'nden Clark ve Lyons'ın bu elektrodu glikoz oksidaz enzimiyle

birleştirmesiyle ikinci nesil biyosensörler geliştirilmiştir (Keskin ve Arslan, 2020). Biyomedikal alanda kullanılan ilk sensör bu ikinci nesil enzim biyosensörleridir.

Bahsedilen biyolojik unsur; antikor, enzim ya da nükleik asit olabilir. Bu biyolojik unsur; test edilmek istenen analit ile etkileşime girdiğinde biyolojik tepkiler açığa çıkarak dönüştürücü sayesinde elektrik sinyalleri meydana gelir.

Antikorların biyokomponent şeklinde kullanılmasıyla biyosensörler; antikor temelli biyosensör veya immünosensör olarak isimlendirilirler.

Antikor ve antijen etkileşime girdiğinde bu etkileşimi ölçmek amacıyla immünosensörlere ihtiyaç duyulur (Yeğenoğlu, H. ve ark; 2013).

Antijen ve antikorların etkileşimleri sayesinde immünosensörler ile maksimum seviyede duyarlı analizler yapılabilir.

Toksikoloji ve patojen algılama gibi farklı alanları da içine alan çok geniş uygulama alanına sahip çeşitli immün analiz yöntemleri bulunmaktadır.

Kullanım alanlarına göre; biyosensörler, immünosensör, optrodes, biyoçip, glükometre ve biyobilgisayar şeklinde farklı şekillerde adlandırılırken insan sağığı için erken teşhiste, hastane yatış sayısının azaltılmasında, veterinerlikte, orduda, terapötik psikoterapide vb. rahatlıkla kullanılabilir. Ayrıca tıpta; diyabet hastalarında glikozu düzenlemek amacıyla da kullanılmaktadır (Turgut, 2023, s.2493).

Ang ve arkadaşları çalışmalarında tip 2 Diyabet için geliştirdikleri immünosensörden bahsetmektedirler (Yengin, 2019).

Mattos ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya bakıldığında; insanlarda serum cTnT'nin belirlenmesi için amperometrik bir immünosensör kullanılmıştır (Yengin, 2019).

Yukarıdaki örneklerde de görüldüğü gibi farklı işlevler için farklı sensörler geliştirilmiştir. Bunlar aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir (Yengin, 2019):

- 1) Elektrokimyasal sensörler: Potansiyometrik esaslı immünosensörler, Amperometrik esaslı immünosensörler
- 2) Optik sensörler: Floresans immunosensörler, Çift yollu fiberoptik sensörler, Tek yollu fiberoptik sensörler, Arka alan (evanescent-field) immünosensörler, Yüzey plazmon rezonans (SPR) immünosensörler, Diğerk optik sensörler
- 3) Piezoelektrik immünosensörler
- 4) Yarı iletken immünosensörler
- 5) Termal immünosensörler

2.5.2. Antikorlar

Canlıların vücuduna girerek onlara zarar verebilecek, onları savunmasız bırakabilecek olan yabancı maddeler (antijenler) için oluşturulan glikoprotein formunda olan moleküllere antikor denilmektedir. Antikorların, vücuda zarar veren antiyene bağlanıp onun yapısını deforme etmek ve onu tamamen yok etmek gibi görevleri vardır (Bartlett ve ark, 2008).

2.5.3. Antikor-Antijen Bağlanma Özellikleri ve Kinetiği

Analitle etkileşip başka maddelerle etkileşmeyen bir moleküler tanıma ögesi kullanarak sensörler türe özgü hale getirilebilir. Antikorlar, analitlere karşı büyük bir özgünlük gösterdikleri için immünosensörlerde moleküler tanıma ögesi olarak kullanılabilirler.

Vücut, düşmanı olarak algıladığı her maddeye (antijene) karşı tek tip olmamakla birlikte uygun antikorlar oluşturabilir. Oluşturulan bu antikorlar antijeni etkisiz hale getirebilmek içindir. Fakat oluşturulan antikorlar sadece tehdit algılanan hastalık içindir; diğer hastalıklarda etki göstermez. Bir antikorun diğer hastalıklarda da aynı etkiyi göstermesi için antijeni çok iyi tanınması, antijenin yapısını çok iyi bilmesi gerekmektedir. Yüz milyona yakın farklı antikorların oluşturulabileceği söylenmektedir. Bu kadar fazla sayıda antikor üretebilmek için immüoglobulin genlerinin düzeltilerek farklı kombinasyonlar oluşturulması gerekmektedir (Yengin, 2019).

Antijen-antikor bağlanmalarında birbirine benzeyen toplulukların oluşmasına çapraz reaksiyon denilmektedir. Antijen-antikor parçacıkları tam olarak tepkimeye girdiklerinde parçalanmazlar. Antijen-antikor bağlanmaları tersinir bir olay olmakla birlikte; birleşmelerinde pH, ısı ve tuz değişiminin de etkisi bulunmaktadır (Bartlett ve ark, 2008).

Antikorlar kompleks bir ortamda hedefi tanır ve epitop denen özel antijenik bölgelere yüksek afinite ile bağlanır (Banada ve Bhunia, 2008). Antikorlar; kalitatif ve kantitatif antijen ölçümlerinde kullanılmaktadır. İyi bir immünosensör tasarımı uygun antikor seçimi ile mümkün olmaktadır. Antikor seçimi proteinlere ve maliyete bağlıdır (Liddell, 2005). Çeşitli tür ve alt tür barındıran bir antikor, birden fazla antijeni ya da birden fazla epitopu tanıyabilmektedir. Bu antikora poliklonal denir. Tek antijen veya tek tanılayana ise monoklonal antikor denilmektedir. Poliklonal antikorlar

bakterileri tanıma için üretilmiş olduğundan pek çok ticari analiz yöntemlerinde kullanılmaktadırlar.Çökeltme ya da ELISA ile analiz edilmekte ve hedef molekülleri yakalayıp konsantre hale getirmektedirler (Kovacs-Nolan, ve ark, 2005).

2.6. DSÖ'nün Yayımladığı Biyogöstergeler

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre dünyadaki ölüm sebeplerinin başında kalp krizi gelmektedir (WHO 2019). Kalp krizinin neden olduğu ölüm sayısını azaltmak için alınacak önlemlerin yanında erken tanı, teşhis ve tedavi de bir o kadar önem arz etmektedir. Günümüzde kullanılmakta olan MI tanı ve teşhis yöntemleri (EKG gibi) ile tanının koyulamadığı durumlarda, kalp kasının hasarlanması sonucu ortaya çıkan kalp enzimlerinin kan tahlili ile ölçülmesiyle de tanı konulabilmektedir (WHO Statistics 2021). DSÖ'nün AME tanısında kullandığı enzim ve biyogöstergeler **Tablo 1**'deki gibidir:

Tablo 1. DSÖ'nün AME Tanısında Kullandığı Biyogöstergeler

• Troponinler (I, T, C) • Kreatin kinaz (CK-MB, CK-MM) • Miyogloblin • Laktat dehidrojenaz (LDH) • Aspartat Aminotransferaz (AST)	• Glikojen fosforilaz (GPBB) • Miyozin ağır zinciri (MHC) • Miyozin hafif zinciri (MLC) • YABP (Faty Acid Binding Protein) • C-Reaktif protein (CRP)	• Yüksek ve düşük yoğunluklu lipoprotein (HDL, LDL) • Miyeloperoksidaz (MPO) • L-karnitin • Glikoz • Glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c)
---	--	--

Dünya Sağlık Örgütü'nün AME tanısında kullandığı enzimler ile biyogöstergelerden ve incelenen literatürden yola çıkarak homosistein, miyogloblin ve yağ asidi bağlayıcı protein (YABP) biyogöstergeleri belirlenmiştir.

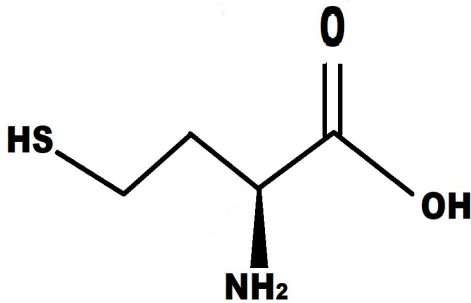
2.6.1. Homosistein

Homosistein; vücudumuza et, balık, yumurta ve tahıl gibi proteince zengin besinlerle dışarıdan günlük alınan Metiyonin aminoasitinin demetilasyonu sonucu tüm vücut hücrelerinde oluşan, esansiyel olmayan, sülfür yapılı bir aminoasittir. Kanda %70-80 oranında albümine bağlanarak dolaşmaktadır.

Homosistein; vücut yağlarının metabolik olarak yakımını hızlandıran, lipotropik bir molekül olan metiyonin aminoasitinin, glutatyona dönüşmesini sağlayan bir ara dönüştürücüdür. Vücuttaki metilasyon döngüsünün en üst düzeyde çalışmasını sağlamaktadır. Bu döngünün hızlanması, kalp damar bölgesinin endotel tabakasındaki

baskının azalmasına sebep olur. Yapılan çalışmalarda homosisteinin endotel dokuda glutatyon peroksidaz ekspresyonunu suprese ettiği ve bu durumun lipid peroksidasyonunu arttırdığı belirtilmiştir. Vücutta doğal olarak sentezlenmediğinden; fazlalığı gibi homosistein eksikliği de bazı rahatsızlıklara neden olabilmektedir (Synevo, Hürriyet, tt).

Hiperhomosisteinemi ile ilişkili olan aterojenik olaylar; endotel hasarıyla bunu takip eden trombosit aktivasyonu ve trombüs formasyonu ile bağlantılıdır. Homosistein yüksekliğinin kan kolesterolünü etkileyerek arterlere daha zararlı olan okside forma (okside LDL) dönüştürdüğü saptanmıştır. Ayrıca Von-Willebrand faktörü düzeyini, trombomodülinin düzeyini ve faktör V aktivasyonunu arttırdığı; antitrombin III'ün hücre yüzeyine bağlanmasını doz ve zaman bağımlı bir şekilde azalttığı belirtilmiştir. Homosistein; kanın daha çabuk pıhtılaşmasına neden olmakta, bu da damarların tıkanma riskini arttırmaktadır. Homosisteinin yüksek olması kalp, beyin ve sinir hastalıkları riskini artırır. Kalp hastalığı olanların %30'unda yüksek homosistein değerleri saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada koroner arter hastalığı olanların %28'inde hiperhomosisteinemi görülmüştür. Norveçli bir grubun yaptığı çalışmada ise; her 4 µmol/L'lik homosistein artışının, miyokard enfarktüsü riskini %40 arttırdığı saptanmıştır. Başka bir çalışmada; beyin damar hastalığı olanların %42'sinde, periferik damar hastalığı olanların %28'inde homosistein düzeyi yüksek bulunmuştur. Yine başka bir çalışmada ise; beyin damar hastalığı olanların %42'sinde, periferik damar hastalığı olanların %40'ında homosistein düzeyi yüksek saptanmıştır. Ayrıca homosistein yüksekliği; bunama, demans, Parkinson ve tekrarlayan düşüklere neden olmaktadır. Folik asit/folat, B6 ve B12 vit , magnezyum eksikliği de homosistein yüksekliğine neden olabilmektedir (Yaşam; Tetra, tt).



Şekil 2. Homosistein yapısına ait görsel (Kaynak: www.medchemexpress.com)

- **Açlıkta** normal seviyesi: **5-15 $\mu\text{mol/L}$** 'dir. Erkeklerde 1 $\mu\text{mol/L}$ daha yüksektir.
- **İdeali** 10 $\mu\text{mol/L}$ ve altında olmasıdır.
- **Hafif** (15-30 μM), **ortalama** (30-100 μM) ve **şiddetli** (100 μM) hiperhomosisteinemi

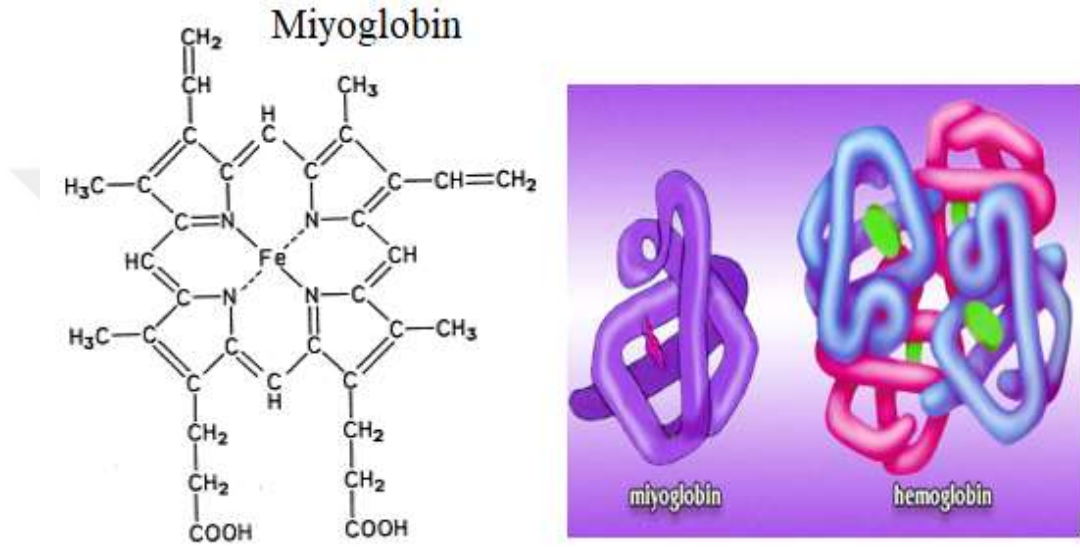
2.6.2. Miyoglobin

Miyoglobin; vücuttaki tüm çizgili kaslarda ve kalp kasında bulunan ve kas kitlesinin %2'sini oluşturan bir hem proteindir. Hemoglobinden ayrı olarak, sadece kas hücrelerindeki oksijen depolanması ve taşınmasından sorumludur. Vücuda alınan oksijenin kas dokularına taşınması, depolanması ve demir ile oksijenin bir kompleks içerisinde bağlanması miyoglobinin asıl görevleridir.

Yaralanma, travma, MI gibi travmatik veya patolojik herhangi bir olgu ortaya çıkmadığı sürece kanda tespit edilemeyen, sadece kas dokusunda bulunan miyoglobin; düşük molekül ağırlığına sahip olduğundan kas hasarlarında hızla kan dolaşımına salınır. Bu salınım sonucu kandaki düzeyinde artış meydana gelmektedir. Kanda hangi düzeyde olduğunda AME biyogöstergesi sayılacağı konusunda farklı görüşler bulunmakta; 50-120 $\mu\text{g/mL}$ düzeyi, AME biyogöstergesi kabul edilmektedir. Miyokarda özgü olmamakla birlikte diğer kardiyak belirteçlere göre en erken dönemde yükseldiği için hassas bir biyogösterge olarak kabul edilir. Göğüs ağrısı başladıktan sonraki 30 dk içerisinde görülen kan düzeyindeki artış; 2-4 saat sonra ölçülebilir hale gelmekte, 6-10 saat arasında her AME hastası için yüksek sonuç vermekte ve 12 saatte pik noktasına ulaşmaktadır. 24-36 saatte normale dönen MYG yapısı böbreklerden süzülerek idrarla atılmaktadır. Bu süzülme durumunun sık tekrarlanması ileriki dönemlerde böbreklerde deformasyona ve yetmezliğe sebep olmaktadır.

Miyoglobin düzeyi, özellikle enfarktüsün büyüklüğünün ve tedavi sonrası doku kanlanmasının değerlendirilmesinde yararlı olmaktadır. Miyokard hasarını belirlemedeki duyarlılığı anlamlı şekilde büyük olmasına rağmen, kanda yer alan düzeyinin iskelet kası sebebiyle de artmasından dolayı kardiyak özgüllüğü düşüktür. MYG özgüllüğü, majör olarak çizgili kasta bulunan karbonik anhidraz III (KA-III) ek biyogöstergesi ile artırılabilir. Çizgili kas hasarında ikisi birden artış göstermekteyken; kardiyak doku hasarında büyük oranda MYG artış göstermektedir.

AME olması durumunda MYG/KA-III oranı çok daha kritik olmaktadır. KA-III'ün normal koşullardaki serum düzeyleri 13-29 µg/L aralığındadır. Serum MYG değeri >110 µg/L, MYG/CA-III oranı >3,21 olan bir hastada AME oluşmuştur. Serumda MYG düzeyindeki artış özellikle reperfüzyon sonrası hızlanmaktadır. Sadece serum MYG değerini kullanıyor olmak AME teşhisi koymada tek başına yetersizdir. Dolayısıyla olası tanının CK-MB, Troponin T ve Troponin I düzeyleri ile desteklenmesi gerekmektedir (Uzmandoktor, tt).



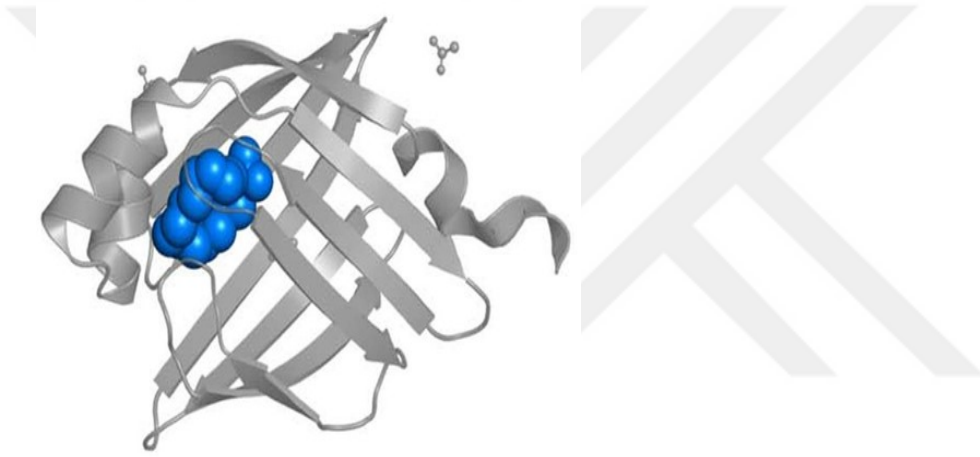
Şekil 3. Miyoglobin yapısına ait görseller (Kaynak: akademiksunum.com)

- Sağlıklı bir yetişkinin kanındaki miyoglobin seviyesi ortalama olarak **9-72 ng/mL**, idrardaki miyoglobin seviyesi ise yaklaşık olarak **0-200 ng/mL**'dir.
- Kalp krizi riski durumunda; **12 saat boyunca her 2-3 saatte bir** kan örneği alınır.

2.6.3. Yağ Asidi Bağlayıcı Protein-YABP

YABP; kalp, karaciğer ve sindirim kanalında major olarak bulunan, 15 kD ağırlığındaki intraselüler proteinler olup uzun zincirli yağ asitlerine geri dönüşümlü şekilde bağlanmaktadır. Doku dağılımına özgü patern gösteren belirlenmiş dokuz farklı tipi bulunmaktadır. 1988 yılında ilk defa hasarlı miyokarddan salınım yaptığı belirlenmiş ve miyokard hasarının belirlenmesinde bir biyogösterge olarak

kullanılmak üzere birçok çalışmada YABP'dan faydalanılmıştır. YABP; kardiyomiyositlerde, çizgili kasta, distal tüpte, beynin belirli bölümlerinde, süt bezlerinde ve plesentada üretilmektedir. Normal şartlarda kanda bulunmaz. Sağlıklı bireylerdeki normal plazma derişimi $<5\mu\text{g/L}$ olup AME ile birlikte hızla kana salınmaktadır. Böbrek fonksiyonu normal olan ve AME teşhisi alan olgularda belirtilerin ortaya çıkmasını takip eden ilk 24 saat içinde farklı saatlerde yapılan plazma H-YABP/MYG analizlerinin sonuçları, infarkt boyutu ile korelasyon göstermektedir. H-YABP ölçümü AME tanısında avantaj sağlar. MYG 'ye alternatif olarak düşünülse de kardiyak özgüllüğündeki zayıflık 24-30 saatlik kısa tanı aralığı, böbrek yetmezliği olan hastalarda yanlış pozitif sonuç vermesi nedeniyle önemi azalmıştır.



Şekil 4. YABP yapısına ait görsel (Kaynak: joe.bioscientifica.com)

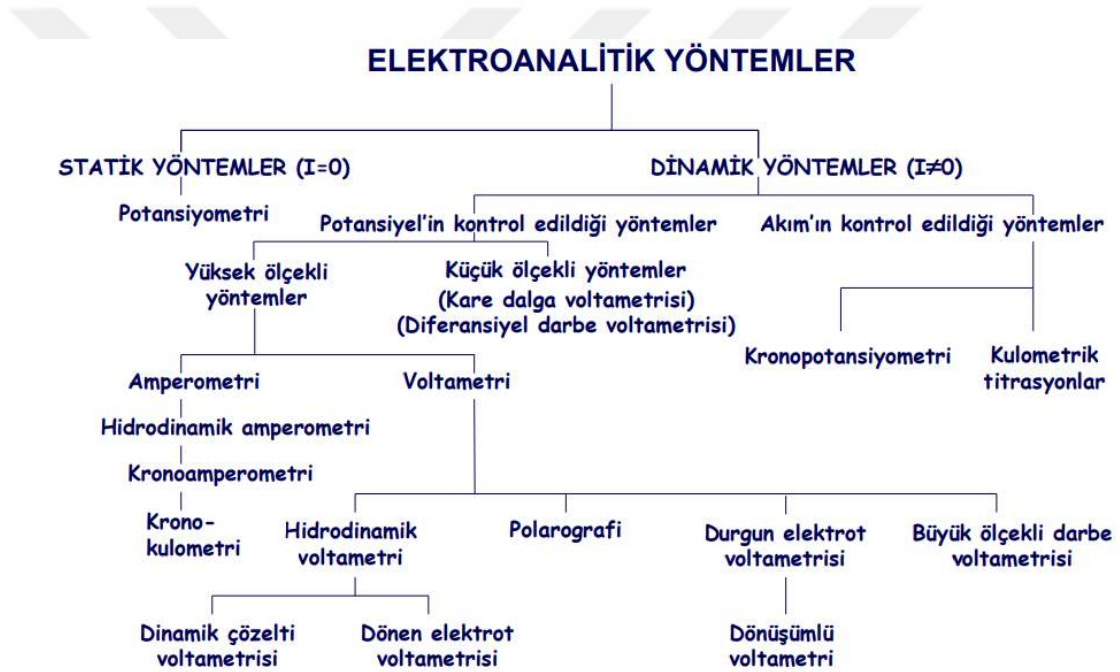
- H-YABP'nin normal seviyeleri, çeşitli kardiyovasküler hastalık çalışmalarında **1,6 ng/mL'den 19 ng/mL'lik bir üst seviyeye kadar değişmektedir.**
- Normal koşullar altında, H-YABP plazmada veya interstisyel sıvıda bulunmaz, ancak kardiyak hücrel hasar üzerine kana salınır. H-YABP, **semptom başlangıcından 2 saat sonra plazmaya salınır** ve yaklaşık **4-6 saatte pik** yaptığı ve **20 saatte normal başlangıç düzeyine döndüğü** bildirilmektedir.
- **$>8 \text{ ng/mL}$** yükselmiş sayılıyor.

Kyung Su Kim ve arkadaşlarına göre; kantitatif POCT (hasta başı testi) ile ölçülen ilk H-YABP, MI'nın erken teşhisi için ilk kardiyak troponinlere ek olarak, ilk miyogloblin veya ilk CK-MB'den daha iyi bir tanı değerine sahiptir (jacc, ahajournals, cardiab, tt).

2.7. Elektroanalitik Yöntemlerin Sınıflandırılması

“Maddelerin elektriksel davranışlarını ve elektrik enerjisi ile kimyasal tepkimeler arasındaki ilişkileri inceleyen bilim dalına **elektrokimya**, maddelerin elektrokimyasal özelliklerini analiz etmek amacıyla kullanılan yöntemlere de **elektroanalitik yöntemler**” denilmektedir (Tural ve ark, 2010).

Elektroanalitik yöntemler çeşitli kaynaklarda farklı şekillerde sınıflandırılmakla birlikte **Şekil 5’de** verilmiş olan sınıflandırma yaklaşımı genel olarak kabul görmüştür. Ayrıca elektroanalitik yöntemler hala gelişmekte olan bir alan olduğu için, yeni yöntem adları ilave edildikçe daha kapsamlı yeni bir sınıflandırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 5. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması (Yengin, 2019)

2.7.1. Elektroanalitik Yöntem Çeşitleri

Çok çeşitli elektroanalitik yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler; ara yüzeyde ve tüm ölçüm çözgeni içerisinde gerçekleştirilen yöntemler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Elektrot yüzeyleri ve bu yüzeylere bitişik olan ince çözelti tabakası arasındaki yüzeyde gerçekleşen olaylara dayanan ara yüzey yöntemleri daha genel bir kullanım alanına sahipken, tüm ölçüm çözgeni yöntemleri çözeltinin tamamında oluşan olaylara

dayanmaktadır ve bu yöntemde ara yüzey etkilerinden kaçınmak için değişik yollara başvurulmaktadır.

Ara yüzey yöntemleri, elektrokimyasal hücreden bir akımın geçip geçmediğine bağlı olarak; statik yöntemler ve dinamik yöntemler olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmaktadır. (Bkz. Şekil 5). Potansiyometrik ölçümleri içeren statik yöntemler, sahip oldukları hızları ve seçicilikleri sebebiyle önemli iken; dinamik ara yüzey yöntemlerinde ise elektrokimyasal hücredeki akımlar, hayati bir rol oynamaktadır.

Çeşitli türleri bulunan dinamik ara yüzey yöntemleri, oldukça duyarlı olup 10^{-3} - 10^{-8} M gibi geniş bir çalışma aralığına sahiptir. Bu yöntemlerle birçok analiz mikrolitre ve nanolitre hacimlerindeki numunelerle gerçekleştirilebilmekte, tayin sınırı (LOD) pikomol seviyelerine inebilmektedir (Holler-Skoog, 2013).

2.7.1.1. Amperometri

Amperometri denilen yöntemde; çalışma elektrodu potnsiyeli, analitin voltamogramdaki belirli bir potansiyele sabitlenerek elektrottan geçecek sınır akımı, analit derişiminin bir fonksiyonu olarak ölçülmektedir. Polarizasyonu arttırmak için genellikle birkaç mm^2 , μm^2 veya daha küçük yüzey alanına sahip çalışma elektrodu kullanılmaktadır. Ölçülen akımın derişim ile doğru orantılı olmasından dolayı kolayca yapılabilen amperometrik nicel analiz, aşağıdaki şekilde üç alt başlık altında verilmektedir:

- 1) Amperometrik titrasyonlar
- 2) Kronoamperometri
- 3) Hidrodinamik amperometri

2.7.1.2. Potansiyometri

Potansiyometri; galvanik bir pil sisteminde, polarizasyonun olmadığı şartlarda, analit çözeltisine daldırılmış iki elektrot arasındaki potansiyel farkının, sıfır yada çok küçük bir akım altında ölçülmesi prensibine dayalı olarak yapılan enstrümental bir elektrokimya dalıdır.

Potansiyometrik analizlerde kullanılabilecek tipik bir hücrenin potansiyel eşitliği aşağıdaki gibi ifade edilebilir:

$$E_{\text{hücre}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}} + E_j$$

E_{ref} : referans elektrot potansiyeli

E_j : tuz köprüsü potansiyeli

E_{ind} : indikatör elektrot potansiyeli

Potansiyometride kullanılan pillerde; elektrotlardan birinin potansiyeli değişmez tutulurken, diğerinin potansiyeli ölçülen analitin derişimiyle orantılı olarak değişmektedir. Potansiyeli değişmeyen elektroda **referans elektrot**, potansiyeli değişken olana da **çalışma (indikatör) elektrodu** denir. Ölçülen potansiyel farkından gidilerek analit derişiminin hesaplanması; iyon şiddeti sabit tutulmak koşuluyla, doğrudan ya da dolaylı olarak iki şekilde yapılmaktadır (Tural ve ark, 2010):

- 1) **Doğrudan potansiyometrik saptamalar:** Doğrudan Nernst eşitliğinden gidilerek derişim saptanır. Taşınmaz ya da sıvı-sıvı değme potansiyeli (e_a) değerinin en aza indirildiği taşınmaz piller kullanılarak doğrudan potansiyel ölçümüyle denge sabitleri, iyonların etkinlikleri, derişimleri ve çözelti pH'ları saptanabilmektedir.
- 2) **Dolaylı potansiyometrik saptamalar (Potansiyometrik titrasyonlar):** Bu ölçüm yönteminde eşdeğerlik noktasını yakalamak amacıyla indikatör kullanılarak potansiyeldeki değişim izlenmektedir. İyon-seçici membran elektrodun doğrudan potansiyelinin ölçülmesi ile iyon derişimleri tayin edilmeye başlanmıştır. Bu elektrotlar, önemli ölçüde girişimlere neden olmaksızın, çok sayıda anyon ve katyonun nicel tayininin hızlı ve uygun olarak yapılmasına imkan sağlar (Holler-Skoog, 2013). Kimyasal indikatörle yapılan titrasyonlardaki bulanıklık vb. sorunların ortadan kalktığı ve bu titrasyonlara kıyasla titrasyon sonunun daha fazla doğruluk, duyarlılık ve tekrarlanabilirlikle saptandığı titrasyonlardır. Ayrıca doğruluk, doğrudan potansiyometrik saptamalara göre de daha yüksektir (Tural ve ark, 2010).

2.7.1.3. Voltametri

2.7.1.3.1. Voltametri ve Polarografi

Voltametri yöntemi, 1920'li yılların başında Çekoslovak kimyager Jaroslav Heyrovsky'nin bulduğu polarografi yöntemine dayanarak geliştirilmiştir. Genelde sulu çözgen sistemlerinde anorganik iyonların ve bir takım organik maddelerin tayinleri için kullanılan **polarografi**; voltametriden farklı olarak damlayan cıva elektrodunun çalışma elektrodu olarak kullanıldığı yöntemlerdir.

Genellikle 1cm^2 'den küçük (birkaç mm^2 , μm^2 veya daha küçük) yüzey alanına sahip çalışma elektrodunun potansiyele karşı yanıt akımının ölçüldüğü ve analit derişiminin nicel analizinin yapıldığı elektroanalitik yöntemlere ise **voltametri** denilmektedir. Bu yöntemde çok az analit tüketilir. Akım-gerilim eğrileri, ikili veya üçlü elektrot sistemleriyle elde edilmekte olup bu sistemlerde çalışma elektroduna ilaveten ikinci elektrot olarak polarlanmayan özellikteki referans elektrodu kullanılırken, üçlü elektrot sisteminde üçüncü elektrot olarak yardımcı elektrot kullanılmaktadır. Voltametrde farklı çalışma elektrodu türleri kullanıldığı gibi, farklı akım türleri ve farklı türden gerilim kaynakları da kullanılabilir. İncelenen akım çeşitine ve çalışma elektrodu çeşitine bağlı olarak “doğru akım voltametrisi, doğru akım polarografisi, alternatif akım voltametrisi, alternatif akım polarografisi, kare dalga akım voltametrisi, puls voltametrisi, differansiyel puls voltametrisi, döngüsel voltametri” gibi isimler almaktadır (Tural ve ark, 2010).

Voltametrik cihazlar; istenilen türde bir potansiyel üretmeli, ürettiği bu potansiyeli kontrol etmeli, potansiyelin zamana bağlı değişimini sağlamalı ve elektrokimyasal pile uygulandıktan sonra ise devreden geçen akımı belli zaman aralıklarında veya sürekli ölçmelidir (Tural ve ark, 2010).

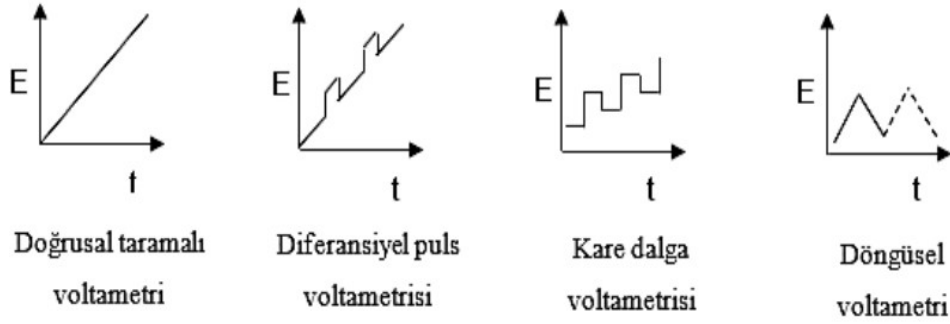
Voltametri, analitik uygulamaları dışında, çeşitli ortamlarda elektrot yüzeyinde meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin incelenmesi (polarize elektrodun yüzeyinde bir yükseltgenme veya indirgenmenin gerçekleşmesi için, Nernst denkleminde hesaplanan gerilimden biraz daha fazlasının uygulanması gerekmekte), yüzeydeki adsorpsiyon olaylarının araştırılması ve kimyasallarla modifiye edilmiş elektrot yüzeylerinde oluşan elektron aktarım mekanizmalarının aydınlatılması gibi amaçlar için kimyacılar tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır (Holler-Skoog, 2013).

Voltametrik yöntemlerle; çözeltideki moleküler oksijenin tayini yapılırken duyarlılığın ve seçiciliğin artmasıyla özellikle farmasötik, çevre ve biyolojik açıdan önemli türlerin tayinleriyle alakalı çalışmalara olan ilgi artmıştır (Holler-Skoog, 2013).

2.7.1.3.2. Voltametrde Uyarma Sinyalleri

Voltametrde, ölçümlerin gerçekleştirildiği hücreye ayarlanabilir potansiyel sinyali uygulanır. Bu uyarma sinyali yöntemin temelini teşkil eden özgün akım yanıtları

oluşturur. Uyarma sinyaline bağlı olarak voltametrik yöntemleri dört başlık altında gruplamak mümkündür (Bkz. Şekil 6).



Şekil 6. Uyarma sinyallerine göre voltametrik yöntem çeşitleri

2.7.1.3.2.1. Doğrusal Taramalı Voltametri (LSV)

En basit voltametrik yöntem olup elektrokimyasal hücreye, zamanın fonksiyonu olarak doğrusal şekilde artan bir doğru akım (DC) potansiyeli uygulanır. Bu esnada hücrede oluşan akım, zamanın (uygulanan potansiyelin) fonksiyonu olarak kaydedilirken oluşan grafikler **voltamogram** olarak adlandırılır. Potansiyel tarama hızı genel olarak $5-20 \text{ mV s}^{-1}$ aralığındadır. Bu yöntemde elde edilen akım-potansiyel eğrileri elektrodun türüne göre değişmektedir. Oluşan akım kütle taşınım türüne bağlıdır (Tural ve rk, 2010).

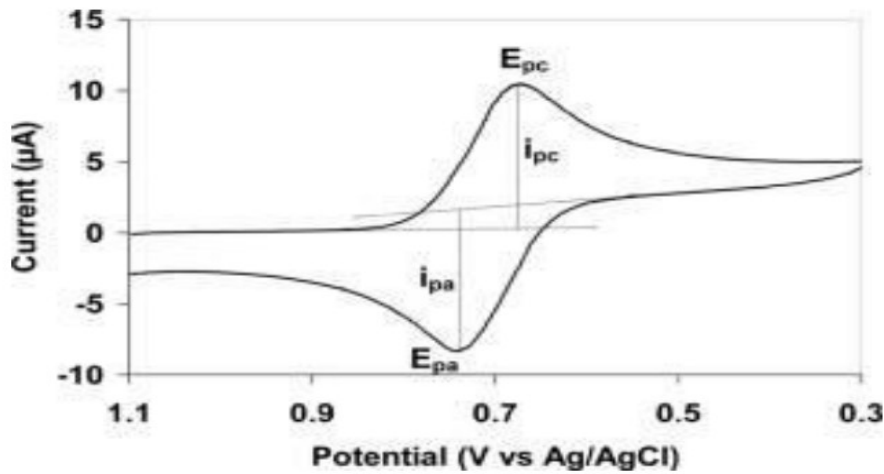
2.7.1.3.2.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)

LSV yönteminin uygulanmasında birçok sınırlamayla karşılaşılırken puls voltametrik yöntemlerinin gelişmesiyle bu durum sona ermiştir. Puls voltametrik yöntemleri prensibinin temeli; faradayik akımın en yüksek ve faradayik olmayan kapasitif akımının en düşük olduğu andaki akımı ölçmeye dayanmaktadır. Normal puls voltametrisinde ölçülen akımın az da olsa sıvağ bileşeni içermesinin önüne geçebilmek için puls başı ve sonunda akımlar ölçülerek aradaki farkın alınmasıyla seçiciliğin artırılması amaçlanmıştır. Bu işlemin yapıldığı yönteme **diferansiyel puls voltametrisi** denir. Bu yöntemde doğrusal tarama sırasında periyodik darbenin oluşturulmasıyla uyarıcı sinyaller elde edilmektedir. Pik maksimumları için LSV'deki yarı dalga potansiyel farkı en az 0,2 V iken DPV'de bu farkın 0,05 V civarında olması DPV'yi açıkça avantajlı kılmaktadır. Diğer bir üstünlüğü ise $10^{-7}-10^{-8} \text{ M}$ aralığında, LSV'ye göre 1000 kata kadar daha düşük tayin sınırına ve yüksek duyarlılığa sahip

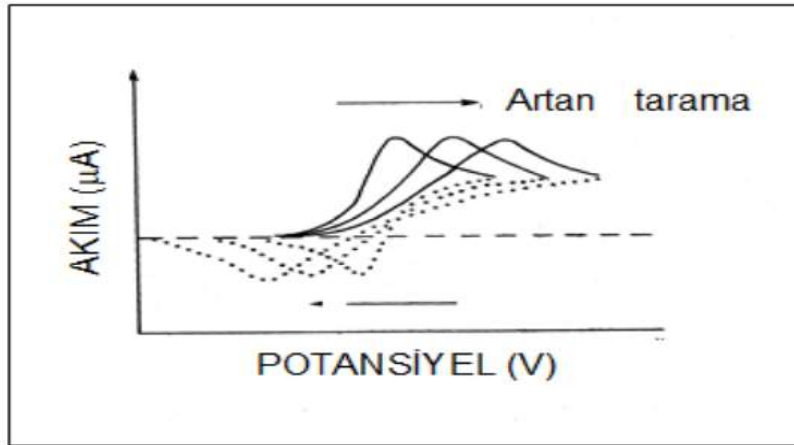
olmasıdır. Puls voltametri yönteminde çeşitli katı elektrotlar, HMDE ve döner elektrotlar kullanılmaktadır (Holler-Skoog, 2013; Tural ve ark, 2010).

2.7.1.3.2.3. Döngüsel (Cyclic) Voltammetri (CV)

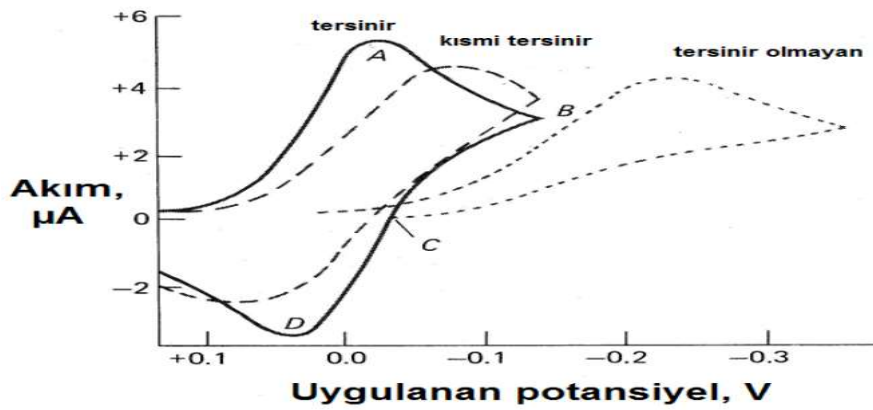
Döngüsel bir taramanın yapıldığı yöntemde, tarama tek bir döngüyle yapıldığı gibi defalarca da yapılabilir. Sabit hızda potansiyel ilk değerinden ikinci değerine belirli bir hızla taranarak ters yönde tarama ile tekrar ilk değerine döner (Bkz. Şekil 7). Anodik ve katodik pik potansiyeli her analit için kendine özgü olmakla birlikte, anodik ve katodik tarama hızları genellikle eşit tutulur. Elektrokimyasal tepkimeyle oluşan ürünün, ters döngüyle elektrokimyasal davranışını inceleme olanağı ortaya çıkar. Kinetik veriler ancak ilk taramanın analizinden doğru olarak elde edilebilir. Nicel analizlerle uygulamaları sınırlıdır. Bunun dışında, başlangıç ve bitiş potansiyelleri seçilebilmekte, örneğin; bitiş potansiyeli farklı olabilmektedir. Döngü hızı da değiştirilebilir. Tarama hızının değiştirilmesi pik maksimumlarında, şekil değişikliğine ve kaymalara neden olabilmektedir (Bkz. Şekil 8). Çalışılan potansiyel aralığı ve tarama hızı değiştirilerek piklerin belirmesi ve kaybolması, pik potansiyellerinin tarama hızına bağımlılığı saptanabilir; elektrot tepkimesiyle eşleşmiş (coupled) homojen tepkimelerin varlığı ve adsorbsiyon gibi diğer olaylar da tanımlanabilir. Yükseltgenme-indirgenme tepkimelerinin mekanizmaları hakkında bilgi verir. Ayrıca ardışık taramalardaki döngüler arasındaki farklanmalardan yararlanılarak da elektrot tepkime mekanizmalarına ilişkin ipuçları elde edilebilir (Bkz. Şekil 9) (Tural ve ark, 2010).



Şekil 7. Döngüsel voltamograma ait anodik ve katodik pik potansiyelleri ile pik akımları



Şekil 8. Tarama hızına bağlı olarak pik maksimumlarında oluşan kaymalar



Şekil 9. Analite ait elektrot tepkimelerinin tersinir olup olmadığını gösteren pik şekilleri

2.7.1.3.2.4. Kare Dalga Voltametrisi (SWV)

Darbe yöntemlerinden biri olup, hızlı ve duyarlı olma açısından üstündür. Tayin sınırları 10^{-7} - 10^{-8} M arasındadır. 10ms'den daha kısa sürede voltamogram elde edilmektedir. Birkaç voltametrik tarama yapıp sinyal ortalamasını almak, kesinliği artırmaktadır. Hızlı olduğundan bu duruma elverişlidir. Darbenin basamak sinyali üzerine bindirilmesiyle uyarıcı sinyal elde edilmektedir. Basamaklı sinyalde her basamak boyu ve darbe periyodu 5ms'dir. Potansiyel; periodun bir yarısında pozitif değer alırken, diğer yarısında negatif değer alır. Kare dalga voltamogramları elde

etmek için, dalganın anodik ve katodik bölgesindeki iki noktaya ait akım değerlerinin farkı (ΔI), potansiyele karşı grafiğe geçirilir (Tural ve ark, 2010). Hızlı ve yüksek duyarlıklı oluşu nedeniyle, daha çok HPLC’de dedektör olarak da kullanılabilir (Holler-Skoog, 2013; Tural ve ark, 2010).

2.8. ICHQ2(R1)’e Göre Yöntem Geçerliliği

2.8.1. ICHQ2(R1) Kılavuzu

Avrupa Komisyonu, Japonya ve Amerika’daki düzenleyicilerin farklı görüşleri savunmalarından dolayı bu farklılıkları gidermek ve iletişimi sağlamak maksadıyla yöntem geçerliliğini esas alan birtakım terim ve tanımlar, ICHQ2(R1) kılavuzunda açık bir şekilde belirtilmiştir. Bu kılavuzda yer alan parametreler örnek alındığında; analitik prosedür geçerliliğindeki hedefin, istenilen sonuç için geliştirilen yöntemin uygunluğunun gösterilmesi olduğu anlaşılmaktadır ("Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)," October 1994/November 1996).

2.8.2. Tanımlar

Kullanılan analitik yöntemin nasıl işlediği, analitik prosedürlerde açıkça görülmektedir. Tüm analitik testler için gereken işlem basamakları en ayrıntılı şekilde belirtilmelidir. Örneklerin, referans standartlarının ve reaktiflerin nasıl hazırlandıklarının ifade edilmesi, cihazların nasıl kullanılacağına açıklanması, kalibrasyon eğrilerinin meydana getirilmesi, hesap yapabilmek için kullanılan formüllerin yöntemlerinin açıklanması gerekmektedir.

Florea (2011)’ ya göre, maddi ve manevi finansal dataların güven verici şekilde oluşturulmasında analitik prosedürler etkili rol oynamaktadır (Florea, 2011, s. 354). Başka bir tanıma göre ise analitik prosedürler; klasik bir oran kullanılarak yapılan, müşterinin mali datalarını denetçinin isteklerine, piyasadaki rakamlara ya da geçmiş yılın başarılarına, kazanımlarına göre inceleyerek önemli oynamaları belirtmek için bakiyelerin karşılaştırılmasıdır (Feroz, Kim ve Raab, 2005, s. 18; Salari ve Akçalı, 2018).

Yöntem geçerlilik göstergeleri; kesinlik, doğruluk, doğrusallık, özgüllük, seçicilik, sağlamlık, tayin sınırı, ölçüm sınırı ile ölçüm aralığı ve duyarlılıktır. Yöntem geçerliliği; bir yöntemin deneysel olarak ilk defa uygulanması, miktar tayini için yeni bir yöntem geliştirilmesi, halihazırda çalışan bir yöntemde değişiklik yapılması,

geçerli kabul edilmiş yöntemin başka laboratuvarında uygulanması, operatör veya cihazda değişiklik yapılması, kalite kontrol test sonuçlarına göre yöntem başarısının zamanla değişmesi durumlarında yapılmalıdır (Söğüt ve Kayalı, 2005).

2.8.2.1. Doğrusallık

Analitik prosedürün belirlenmesi için doğruluk parametresinin kullanılması gerekmektedir. Analit derişimin bir görevi olan yanıt sinyallerinin gözlenmesinde doğrusallık izlenebilir. Doğrusallık görüldüğünde, test sonuçları uygun olan istatistiki yöntemle irdelenir. Yapılan işlemlerin standardizasyonunda belirli datalardan belirli değerler elde edilir ve ulaşılan bu sonuçlar aritmetik ortalamaya bölünür.

Doğrusallık; regresyon doğru denklemi ve korelasyon katsayısı ile belirlenebilir. Korelasyon katsayısı, y eksenini kesişme noktası, regresyon doğrusunun eğimi, karelerin artık toplamı gibi datalar yardımıyla doğrusallık, grafik haline getirilebilir. İlâveten; reel data noktalarının regresyon doğrusunda saptığını gösteren analizler, doğrusallığın incelenmesinde oldukça fazla yardımcı olmaktadır. Genellikle dataların dönüştürülmesinden sonra immünoassay gibi analitik yöntemler, doğrusallık belirtmedikleri için; analitin derişiminin benzer bir fonksiyonu olarak analitik yanıt gösterilebilmektedir. ICH tarafından doğrusallığın incelenmesinde yanlışlık yapılmaması için 5'ten fazla farklı derişim değerleri olması gerekliliği belirtilmektedir (Söğüt ve Kayalı, 2005; Yengin, 2019). Ayrıca bir analitik yöntemin sınırları; yöntemin doğruluğu, doğrusallığı ve kesinliği kullanılarak bulunan en düşük ve en yüksek değerlerin aralığıdır (Söğüt ve Kayalı, 2005).

2.8.2.2. Tayin Aralığı

Analitik bir prosedürün tayin aralığını anlamak için; örnekteki analitin tanımlanmış olan doğruluk ve kesinliklerinin belirlenebilen üst ve alt derişimleri arasındaki farka bakmak gerekmektedir. Analitik prosedürün seviyelerindeki kesinlik, doğruluk ve doğrusallık; tayin aralığını belirtir. Analitli bir örneğe tayin aralığı uygulandığında ya da analitik yöntemin belirlenen uç noktalarında çalışıldığında; doğrusallığı, doğruluğu ve kesinliğinin kabulü derecesinin sağlandığında onay alır.

2.8.2.3. Doğruluk

Reel ya da önerilen bir değer ile analiz sonucunda elde edilmiş değerin benzerlikleri, analitik prosedürün belirlenmiş tayin aralığında gösterilmiş olan doğruluktur.

2.8.2.4. Kesinlik

Belirli şartlara sahip olan çoklu benzer örneklerden elde edilen birtakım ölçümler arasındaki yakınlık ölçüsü, analitik prosedürün kesinliğini verir. Kesinlik; tekrarlanabilirlik, günler arası kesinlik ve tekrar edilebilirlik unsurları tarafından üç aşamalı olarak ortaya çıkmaktadır. Saf örneğe ulaşılma imkanı olmayan hallerde, yapay/suni örnekler kullanılabilir. Çoğunlukla da birtakım ölçümlerin varyansları, standart sapmaları ya da varyasyon katsayıları ile de analitik prosedürün kesinliği ortaya konulabilir.

A. Tekrarlanabilirlik

Aynı analiz şartlarındaki kesinlik, kısa bir sürede yapılmışsa tekrarlanabilirlik olarak ifade edilebilmektedir. Ayrıca analiz içi kesinlik de tekrarlanabilirliği gösterir.

B. Günler arası kesinlik

Farklı günler, farklı analist, farklı ekipmanlar gibi laboratuvardaki varyasyonlar; günler arası kesinlik olarak adlandırılır.

C. Tekrar edilebilirlik

Farmakopelerdeki prosedüre eklenmek amacıyla analitik bir prosedürün standardizasyonunun yapılması halinde “laboratuvarlar arası kesinlik” olarak ifade edilen kesinlikte; standart sapma, bağıl standart sapma ve güven aralığı her bir parametre için raporlanmalıdır.

2.8.2.5. Tespit Sınırı

Örnek içindeki analitin nicel olarak tam bir değer belirtmesine gerek kalmaksızın belirlenebilen minimum miktar, analitik prosedürün tayin sınırıdır. Tespit sınırının belirlenebilmesi amacıyla birden çok uygulama bulunmaktadır. Bunlar;

A. Görsel değerlendirme baz alınarak

Görsel değerlendirme enstrümental ve enstrümental olmayan yöntemlerin her ikisi için de kullanılabilmektedir. Tespit sınırı, analitin bilinen derişimleri ile örnek analizi yapılarak ve güvenilir seviyede tayin edilebilen analitin minimum seviyesinin bulunmasıyla belirlenmektedir.

B. Sinyal/gürültü baz alınarak

Bu yaklaşım sadece “baseline” çizgisinde gürültü olan analitik prosedürlere uygulanabilmektedir. Sinyal/gürültü; analitin bilinen en düşük derişimlerini içeren örnek ile kör örnek sinyallerinin karşılaştırılması, analitin güvenle tespit edilebilen minimum derişiminin belirlenmesi ile bulunmaktadır. Tespit sınırı tahmini için bu oranın 3:1 ya da 2:1 aralığında olduğu kabul edilmektedir.

C. Eğrinin ve cevabın standart sapması baz alınarak

Tespit sınırı (LOD) aşağıdaki şekilde ifade edilebilir:

$LOD = 3,3 \sigma / S$ şeklinde gösterilen formülde; σ = cevabın standart sapması, S = kalibrasyon eğrisinin eğimini belirtmektedir. Eğime (S), analitin kalibrasyon eğrisinden ulaşılabilir.

2.8.2.6. Tayin Sınırı

Analitik prosedürün tayin sınırı, uygun kesinlik ve doğruluk ile kantitatif olarak tespit edilebilen örnek içindeki analitin minimum miktarına bakılarak anlaşılabilir. Matristeki düşük seviyedeki bileşikler kullanılarak yapılan kantitatif analizin bir göstergesi de; safsızlık ve bozunma ürünlerini tayin etmek amacıyla kullanılan tayin sınırıdır. Bu sınırın belirlenmesi amacıyla enstrümental veya enstrümental olmayan prosedürlere dayalı çok fazla uygulama bulunmaktadır. Bunlar;

A. Görsel değerlendirme baz alınarak

Enstrümental ve enstrümental olmayan yöntemler için de görsel değerlendirme yapılabilir. Analitin bilinen derişimleri ile örnek analizi yapıldığında ve kabul edilebilir/geçerli doğruluk ve kesinlikte ölçülebilen analitin en düşük seviyesi bulunduğunda; tayin sınırı belirlenir.

B. Sinyal/gürültü yaklaşımı baz alınarak

Yalnızca “baseline”da gürültü olan analitik prosedürlerde uygulanabilen yaklaşımda sinyal/gürültü oranı tayini, analitin bilinen düşük derişimlerini içeren örnekler ile kör örnek sinyallerinin karşılaştırılıp analitin güvenilir şekilde tespit edilebilen en küçük derişiminin ortaya konulmasıyla yapılır. Tipik sinyal/gürültü oranı ise 10:1’dir.

C. Eğrinin veya cevabın standart sapması baz alınarak

Tayin sınırı (LOQ); $LOQ = 10 \sigma / S$ formülü ile bulunur.

Buradaki, σ = cevabın standart sapmasını, S = kalibrasyon eğrisinin eğimini belirtir. Eğime (S), analitin kalibrasyon eğrisinden ulaşılabilir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada veri toplama yöntemi olarak, yayımlanmış kaynaklardan ve deneylerden elde edilen veriler kullanılmıştır. Bu çalışmada bahsi geçen biyogöstergelerin girişimsiz tayinine yönelik literatür bulunmayıp, kalp krizi teşhisine yönelik EKG ile ilgili çok sayıda literatür bulunmakla birlikte, AME tanısında kullanılan bazı biyogöstergelerle ilgili kan tahlili gibi girişimsel yöntemlerin yer aldığı literatürler mevcuttur. Deneylerden elde edilen veriler, BAS 100B/W cihazının yazılımındaki “analiz” seçeneği kullanılarak alınmış ve MS Office Excel programına aktarılarak analize uygun hale getirilmiştir. Ayrıca şekillerde verilen voltamogramlar, aynı cihazın yazılımı kullanılarak çizilmiş olan grafiklerdir.

3.1. Kullanılan Maddeler ve Araç-Gereçler

3.1.1. Kullanılan Maddeler

3.1.1.1. Kullanılan Sarf ve Kimyasal Maddeler

Potasyum klorür (KCl, 12636 – 1kg) ve sodyum hidroksit (NaOH, 06230) Sigma-Aldrich’ten; dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4 , 60356) ve potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4 , 60230) Fluka Inc.’den; potasyum ferrisiyanür ($K_3[Fe(CN)_6]$, P-232 Lot: 751205) Fisher Scientific’ten; potasyum ferrosiyanür ($K_4[Fe(CN)_6]$, CAS: [13943-58-3]) Merck’ten; 4000 cPS viskoziteli metil selüloz (MC, 77440/9) La Pine Scientific’ten; grafit tozu (sentetik, Cat. No: 28.286-3) ise Aldrich’ten temin edilmiştir.

Çalışmada yapay deri olarak kullanılan 14000 Dalton MWCO değerine sahip olan diyaliz membranı (D9527-100 ft selüloz membran) Sigma-Aldrich’ten satın alınmıştır. N-(3-Dimetilaminopropil)-N'-etilkarbodiimid hidroklorür (EDC, Lot#S6440507 44I) Merck KGaA’dan, N-Hidroksisüksinimid (NHS, CAS#6066-82-6) Sigma-Aldrich’ten temin edilmiştir.

HMS (L-Homosistein, FH52361 – 50mg) Biosynth’ten; 0,01 M FTC (pH 7,4), %0,05 ProClin-300 ve %50 gliserol içerisinde 1 mg/mL derişime sahip tavşan poliklonal antikoru olan Anti-HMS (acx100806 – 100µL) Abbexa’dan; at iskelet kasından üretilen MYG (100 mg) ve E.coli’den üretilen rekombinant insan YABP4 proteini (15 kDa – 50µg) Beijing Solarbio Science and Technology Co. Ltd.’den; %0,1 jelatin ve <%0,1 sodyum azit içeren 1,0 mL FTC içerisinde 200 µg IgG1 kappa hafif zinciri

içeren fare monoklonal antikoru olan Anti-MYG (Miyogloblin (A-9): sc-74525 – 17 kDa – 200 µg/mL) ve %0,1 jelatin ve <%0,1 sodyum azit içeren 1,0 mL FTÇ içerisinde 200 µg IgG₁ kappa hafif zinciri içeren Anti-YABP4 (B-YABP (F-6): sc-374588 – 200 µg/mL) Santa Cruz Biotechnology Inc.’den satın alınmıştır.

D(+)-Glikoz (1.08337.1000) Merck KGaA’dan temin edilmiştir.

Girişim etkisini incelemek için kullanılan parasetamol (CAS#103-90-2, Lot#115K0098), klorfeniramin maleat (CAS#113-92-8, Lot#058K0097V) ve fenilefrin hidroklorür (CAS#61-76-7, Lot#031M1736V) Sigma-Aldrich’ten; ürik asit (CAS#69-93-2, Lot#045K01791) Sigma’dan, Albumin (Pierce BSA, 2 mg/mL ampul) Thermo Scientific’ten satın alınmıştır.

Toplam organik bileşik seviyesi (TOC) 10 ppb ve iyon direnci >18,2 MΩ.cm olan ultra saf su, tüm sulu çözeltileri hazırlamak üzere Elga Classic UV sistemi tarafından taze olarak üretilmiş; üretilen su 0,45 µm filtreden süzöldükten sonra kaynatılıp soğutularak kullanılmıştır.

3.1.1.2. Kullanılan Maddelerin Hazırlanışları

3.1.1.2.1. Kullanılan Standart Çözeltilerin Hazırlanışları

Çalışma esnasında kullanılan standart maddeler aşağıda belirtildiği gibi seyreltilerek hazırlanmıştır:

- -20°C’de saklanan 50 mg’lık HMS’den 2 mg tartım alınıp 1 mL FTÇ ile çözöndüröldükten sonra son derişim 2,5 µg/mL olacak şekilde seyreltme yapılmıştır (2000 µg/mL→200 µg/mL→20 µg/mL→10 µg/mL→5 µg/mL→2,5 µg/mL).
- -20°C’de saklanan ve 1000 µg/mL derişiminde olan 100µL’lik Anti-HMS; 1:9 oranında FTÇ ile seyreltildikten sonra son derişim 5 µg/mL olacak şekilde seyreltmeye devam edilmiştir (1000 µg/mL→100 µg/mL→10 µg/mL→5 µg/mL).
- -20°C’de saklanan 100 mg’lık MYG’den 2 mg tartım alınıp 1 mL FTÇ ile çözöndüröldükten sonra seyreltilerek 2,5 µg/mL’lik son derişim elde edilmiştir (2000 µg/mL→200 µg/mL→20 µg/mL→10 µg/mL→5 µg/mL→2,5 µg/mL).

- +4°C’de dondurulmadan saklanan ve 200 µg/mL derişiminde olan 1mL’lik Anti-MYG; 1:9 oranında FTÇ ile seyreltildikten sonra son derişim 5 µg/mL olacak şekilde seyreltmeler yapılmıştır (200 µg/mL→20 µg/mL→10 µg/mL→5 µg/mL).
- -20°C’de saklanan 50 µg’lık YABP4’ten; 1 mL FTÇ ile çözündürüldükten sonra seyreltme ile son derişim olan 2,5 µg/mL elde edilmiştir (50 µg/mL→5 µg/mL→2,5 µg/mL).
- +4°C’de dondurulmadan saklanan ve 200 µg/mL derişiminde olan 1mL’lik Anti-YABP4; 1:9 oranında FTÇ ile seyreltildikten sonra son derişim 5 µg/mL olacak şekilde seyreltmeye devam edilmiştir (200 µg/mL→20 µg/mL→10 µg/mL→5 µg/mL).

Buradan da anlaşılacağı üzere bu çalışmada genel olarak antikorlar 5 µg/mL’lik, antijenler ise 2,5 µg/mL’lik derişimlerde kullanılmışlardır. Antikor ve antijen standart çözeltileri ile, farklı derişimlerin kullanıldığı standart kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanışında ve seyreltilmelerinde sadece 10 mM FTÇ (pH 7,4) tamponu kullanılmıştır. Çözünmenin tam olarak gerçekleşmediği durumlarda 10 sn kadar ultrasonik banyo uygulanmıştır. Bu standart çözeltiler KPE elektrotlarının inkübasyonu aşamalarında kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

3.1.1.2.2. Kullanılan Diğer Çözeltilerin Hazırlanışları

- 10 mM FTÇ (pH 7,4) tamponu hazırlamak için 0,139 g KH_2PO_4 ve 0,696 g K_2HPO_4 tartılıp ultra saf su ile 500 mL’ye,
- Yüzey alanı ölçümleri için 0,1 M KCl (0,7455 g) ve 1,1 mM $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (0,0362 g) ultra saf su ile 100 mL’ye,
- Elektrokimyasal ölçümler için 1 M KCl (7,455 g) ve 5 mM $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (0,7367 g) ultra saf su ile 100 mL’ye,
- Bağlayıcı (linker) çözeltisi hazırlamak için ise 5 mM EDC (0,0048 g) ve 8 mM NHS (0,0046 g) 10 mM FTÇ ile 5 mL’ye tamamlanarak çözündürülmüştür. Farklı bağlayıcı derişimleri hazırlamak için 100 mM’lık stok EDC (0,096 g) ve 100 mM’lık stok NHS (0,092 g) 5 mL’lik çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmıştır. Bu stoklardan hareketle 2 mL’lik ependorf tüpüne 1mL EDC, 400 µL NHS ile 600 µL FTÇ koyularak 50mM EDC+20mM NHS; ikinci bir tüpe 20 µL EDC, 60 µL NHS ile 1920 µL FTÇ koyularak 1mM EDC+3mM NHS kombinasyonları elde edilmiştir.

Belirtilen kombinasyonlarda hazırlanan bağlayıcı çözeltileri oda sıcaklığında bekletilmiş, kullanılmadığı zamanlarda +4°C’de buzdolabında bekletilmiştir.

3.1.1.2.3. Gümüş Kaplama Çözeltisinin Hazırlanışı

Kaplama çözeltisi için ilk olarak AgNO₃ (8,75g), (NH₄)₂SO₄ (37,5g), sitrik asit (1,0g) ve FeSO₄ (0,375g) tartılıp yaklaşık 200 mL ultra saf suda çözündürüldü. NH₃ ile pH 10,0’a ayarlandı. Ardından ultra saf su ile 250 mL’ye tamamlanarak bazik gümüş çözeltisi hazırlanmış oldu. Birbirine değmeyecek şekilde uygun bir kaba yerleştirilen elektrotlar, bazik gümüş çözeltisi içerisinde oda sıcaklığında 1 saat (pasif) bekletildikten hemen sonra 5 sn saf su ile yıkanarak kullanıma hazır hale getirildi.

3.1.1.2.4. Metil Selüloz Jelin Hazırlanışı

80°–90°C’ye ısıtılmış 300 mL ultra saf suyun yaklaşık 100 mL’si, beherde bulunan 4 g MC üzerine yavaş yavaş ilave edilirken dikkatli bir şekilde karıştırılmalıdır. Aksi takdirde jelde hava kabarcıkları oluşmaktadır. Daha sonra bu jelin üzerine 81,6 mg KH₂PO₄ ve 417,6 mg K₂HPO₄ tartımları da ilave edilip tekrar dikkatlice karıştırılır. Ardından kalan sıcak ultra saf su jelin üzerine eklenerek karıştırılmaya devam edilir. Böylece 10 mM FTÇ’de çözünen MC jeli hazırlanmış olur. Sonra jel 30 dk dinlenmeye bırakılarak kullanıma hazır hale getirilmiş olur.

3.1.1.2.5. Karbon Pastasının Hazırlanışı

Saat camında tartılan 2 g grafit tozu üzerine 1400 µL mineral yağ eklenerek spatülün düz kısmı ile homojen oluncaya kadar karıştırılmıştır.

3.1.2. Araç – Gereçler

Çalışmada özütleme işlemleri için bakır levhalar kullanılarak tasarımı elde yapılan (home-made) TI özütleme elektrotları; elektrokimyasal ölçüm işlemleri için tasarımı laboratuvarında yapılan 61 adet KPE kullanılmıştır. TI özütleme elektrodunun gümüş kaplanması aşamasında kullanılmak üzere bazik gümüş çözeltisi hazırlanması esnasında karıştırma işlemleri için Nüve MK 418 manyetik karıştırıcı kullanılmıştır. TI özütleme işlemleri; UNIT UTP3315TFL-II güç kaynağı (Portable DC Power Supply) kullanımı ile 1 mA uygulanarak gerçekleştirilmiştir. TI özütleme sonrasında ve diğer tüm elektrokimyasal ölçümlerde (CC, DPV, CV) Bioanalytical Systems Inc (West Lafayette, Indiana, ABD) BAS100B/W elektrokimyasal potansiyostat cihazı

kullanılmıştır. İnkübasyon yeri çalışmasında nüve marka etüv ve laboratuvar ortamında yapılan fan sistemi kullanılmıştır (Bkz. Şekil 10 ve 11).



Şekil 10. TI özütleme işleminde kullanılan güç kaynağı (A) ve elektrokimyasal ölçümlerde kullanılan potansiyostat (B)



Şekil 11. Elektrotların fan altında kurutulmasına ait görsel

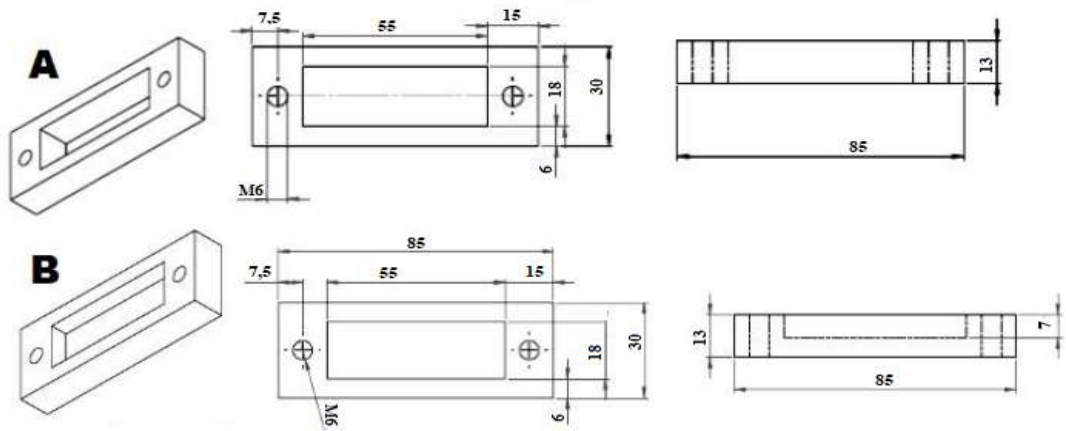
Hazırlık işlemleri sırasında çözeltilerin karışması için Bandelin Sonorex RK 52 marka ultrasonik banyo kullanılmıştır. Seyreltme işlemleri farklı hacimlerdeki otomatik pipetler (100-1000 μL VITLAB ve 10-100 μL Eppendorf) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.1. Hücre ve Elektrot Tasarımları

3.1.2.1.1. Ters İyontoforetik Hücre Tasarımı

TI ölçümleri için tasarlanan hücrenin alt kısmında rezervuar hücresi (6 mL), üst kısmında ise kapak hücresi (17 mL) ve ikisi arasında sızdırmazlık için bir conta bulunmaktadır (Bkz. Şekil 12). Hücreler teflon malzemeden yapılmıştır. Rezervuar denilen kısma ölçülecek tayin çözeltisi (antijen) konulmaktadır. Üzerine yapay deri modeli olan selüloz ester (CE) membran konularak üst kapak kapatılır. Kapak hücresi içerisine alttaki antijen çözeltisini jel ortamına çekecek olan MC jeli doldurulup üzerine özütleme elektrodu konularak vidalarla kapatılmaktadır. Özütleme elektrodu yüzeyi ortalama 45 mm² olup işlem esnasında 3 saat boyunca 1 mA sabit akım uygulanmıştır.

İlk başta tasarlanan hücrelerin fazla miktarda çözelti harcanmasına neden olması sebebiyle tasarlanan hücrenin kapak kısmı ve rezervuarı ½ oranında (sırasıyla 8,6 mL ve 3 mL) küçültülmüştür (Bkz. Şekil 13).



Şekil 12. TI özütleme hücresinin üst kapağının (A) ve rezervuarın (B) fiziksel boyutları



Şekil 13. Açık ve kapalı şekildeki ince ve kalın TI özütleme hücrelerine ait görseller

3.1.2.1.2. Elektrot (Özütleme ve Ölçüm Elektrodu) Tasarımları

Çalışmada TI yöntemiyle özütleme işlemi yapmak için bakır levhalardan özütleme elektrotları, elektrokimyasal ölçümleri yapmak için ise karbon pastasından ölçüm elektrotları tasarımları gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.1.2.1. Özütleme Elektrodu (Baskı Devre Elektrodu – BDE) Tasarımı

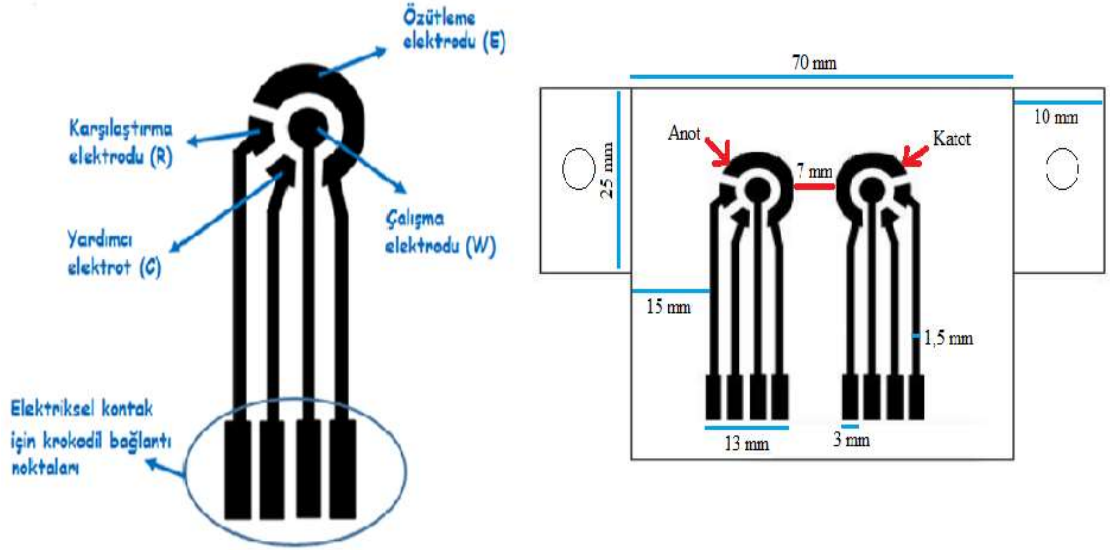
RI hücreleri için kullanılan baskı devre elektrotları laboratuvar ortamında tasarlanmıştır. İnce kuşe kağıda çıkarılan kalıp, ütöleme işlemi ile ısı uygulanarak 1mm kalınlığındaki geleneksel bakır (Cu^0) levhalara basılmıştır. Kağıt kaldırma işleminde 10 dk boyunca musluk suyu ile muamele edilmiş; ardından 5 dk boyunca 6M HCl ve H_2O_2 'ın %4'lük karışımına yatırılan levha, kaplanmayacak olan bakır kısımlarından arındırılmıştır. Hemen sonrasında yaklaşık 20 sn musluk suyu ve ardından 10 sn saf su ile yıkanmıştır. Kalan toner bulaşık süngerini yardımıyla temizlenmiştir. Baskılanan plaket levhalar mini-drill ile kesilerek ve vida delikleri açılarak kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Her bir baskıda aralarında 7 mm olan iki adet elektrot bulunmaktadır. Özütleme elektrodu (E), Ag/AgCl referans elektrodu (R), yardımcı elektrot (C), çalışma elektrodu (W) olmak üzere her elektrotta dört adet bölüm tasarlanmıştır. **Şekil 14'**de çalışmada kullanılan BDE elektrotlarına ait ölçüler, anot ile katot bölgeleri, elektrotlar arası mesafe ve elektroda ait bağlantı bölgeleri gösterilmektedir.

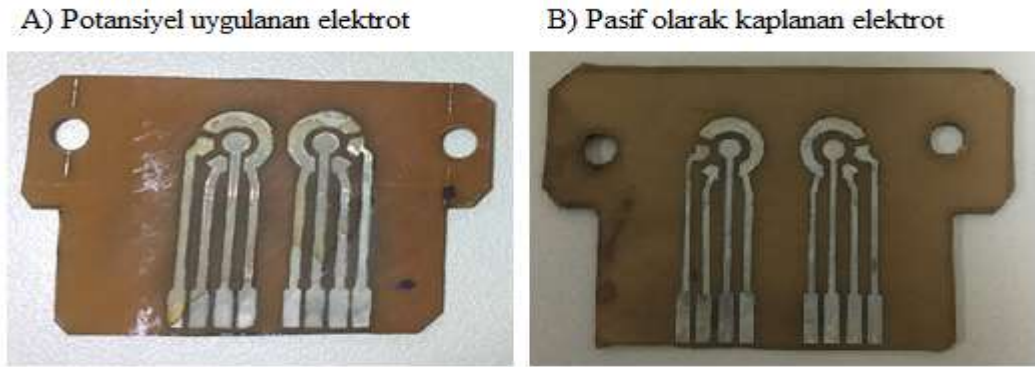
Özütlemeyi etkileyecek parametrelerden biri olan elektrotlar arası mesafe parametresi Yengin'in Doktora tezinde farklı ölçülerle çalışılmış, 7 mm aralığı bu çalışma için uygun bulunmuştur (Yengin, 2019).

Hazırlanan bu BDE elektrotlar TI özütleme yapmak için gümüş ile kaplanmıştır.

Kaplama işlemi için; ilk olarak bölüm 3.1.1.2.3'te belirtildiği şekilde hazırlanan 250 mL'lik bazik gümüş çözeltisi kullanılarak Ag/AgCl'e karşı $0,5 \text{ mA/cm}^2$ akım yoğunluğunda, 25°C 'de 1 saat boyunca -2,0 V gerilim uygulanarak elektro-biriktirme (electrodeposition) yöntemi uygulanmıştır (Sriveeraraghan, Krishnan, & Natarajan, 1989). Kaplamaların bazılarının tam gerçekleşmemesi nedeniyle pasif kaplama denenmiştir. Oda sıcaklığında 1 saat (pasif) bekletilerek gümüş kaplama yapılmıştır (**Bkz. Şekil 15**). Kaplanan elektrotlar bekletilmeden 5 sn kadar ultra saf su ile yıkanmıştır.



Şekil 14. TI özütlemeye için tasarlanmış üçlü elektrot sistemli baskı devre elektrotlarına (BDE) ait görseller

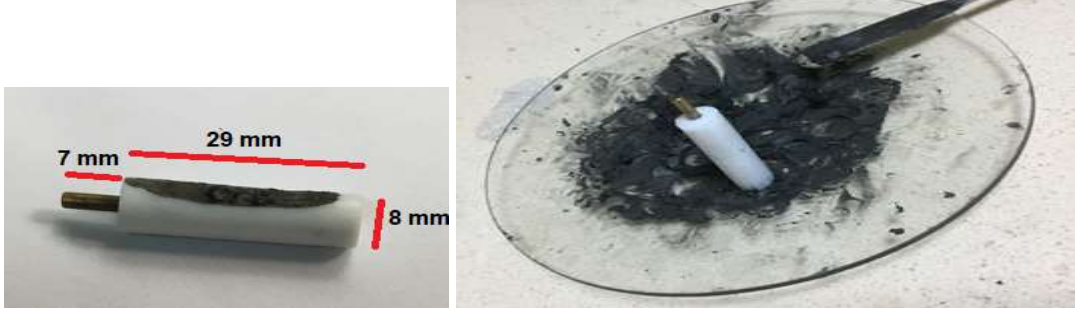


Şekil 15. TI özütlemeye elektroduna potansiyel uygulanarak (A) ve uygulanmadan (B) yapılan kaplamalara ait görseller

3.1.2.1.2.2. Ölçüm Elektrodu (Karbon Pasta Elektrodu-KPE) Tasarımı

Çalışmada 61 adet KPE elektrot kullanılmıştır. İç çapı 2,5 mm, dış çapı 8,0 mm ve boyu 29 mm olacak şekilde teflon çubuklar kestirilmiştir. Yaklaşık 2,5 mm çaplı pirinç tel; dolgu kısmı 3,0 mm derinlikte kalacak ve cihaza tutturulan sap kısmı 7 mm olacak şekilde teflon çubuk içine yerleştirilmiştir. Çubukların uçlarında bulunan dolgu kısımları, bölüm 3.1.1.2.5.'te anlatıldığı şekilde hazırlanan karbon pastası ile doldurularak ölçüm işlemi gerçekleştirilmiştir (**Bkz. Şekil 16**). 61 elektrodun tamamı 1 set olarak değerlendirilmektedir. Her ölçüm seti bittiğinde elektrot içleri boşaltılıp taze hazırlanmış karbon pastası ile yeniden doldurulmuştur. Elektrotların el yapımı olması göz önüne alındığında yüzey alanı farklılıklarının, elde doldurmadan kaynaklı

hataların, vb. olabileceği öngörülüp tümünün olumlu sonuç vermesi beklenmemektedir. Çoğunun (>%60) olumlu sonuç vermesi ise çalışmanın uygulanabilir olduğunu göstermektedir.



Şekil 16. Teflondan yapılmış KPE elektrot ve karbon pasta doldurulmasına ait görsel

Yengin (2019), çalışmasında KPE dolgu maddesi olarak kullanılan grafit tozu ve mineral yağının farklı miktarlardaki bileşimini incelemiş ve direnç ölçümlerini gerçekleştirmiştir (Yengin, 2019). Bu çalışma için 2 g grafit tozu ve 1400 µL mineral yağ oranı uygun bulunmuştur.

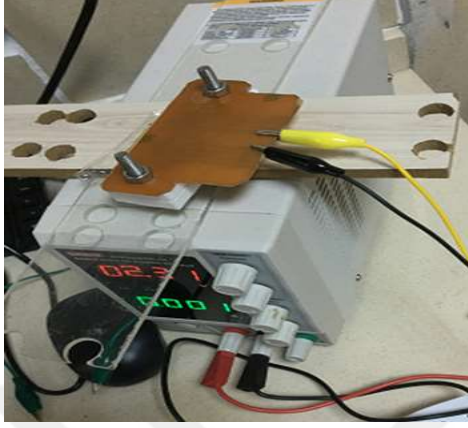
3.2. Yöntemler

3.2.1. TI Özütleme Yöntemi

TI özütlemelerinde, tayini yapılacak olan MI parametresine ait standart çözelti (HMS, MYG veya YABP4 – her biri 2,5 µg/mL) hücrenin altında bulunan rezervuara (3 mL) konulup üzerine 14 kDa SE diyaliz membranı (yapay deri modeli) rezervuarın üstünü tamamen kapatacak şekilde yerleştirilmiştir. Membranın üzerine kapak hücresi konularak içi MC jel (8,6 mL) ile doldurulmuştur. Daha sonra bu dolu hücre, gümüş kaplı kısmı MC jele temas edecek şekilde yerleştirilen BDE özütleme elektrodu ile kapatılarak sızıntı yapmayacak şekilde vida yerlerinden sıkıştırılmıştır. Kapanan özütleme hücresi taşınabilir DC güç kaynağına yerleştirilmiş ve 3 saat boyunca 1 mA sabit akım uygulanarak TI özütleme işlemleri gerçekleştirilmiştir (**Bkz. Şekil 17**).

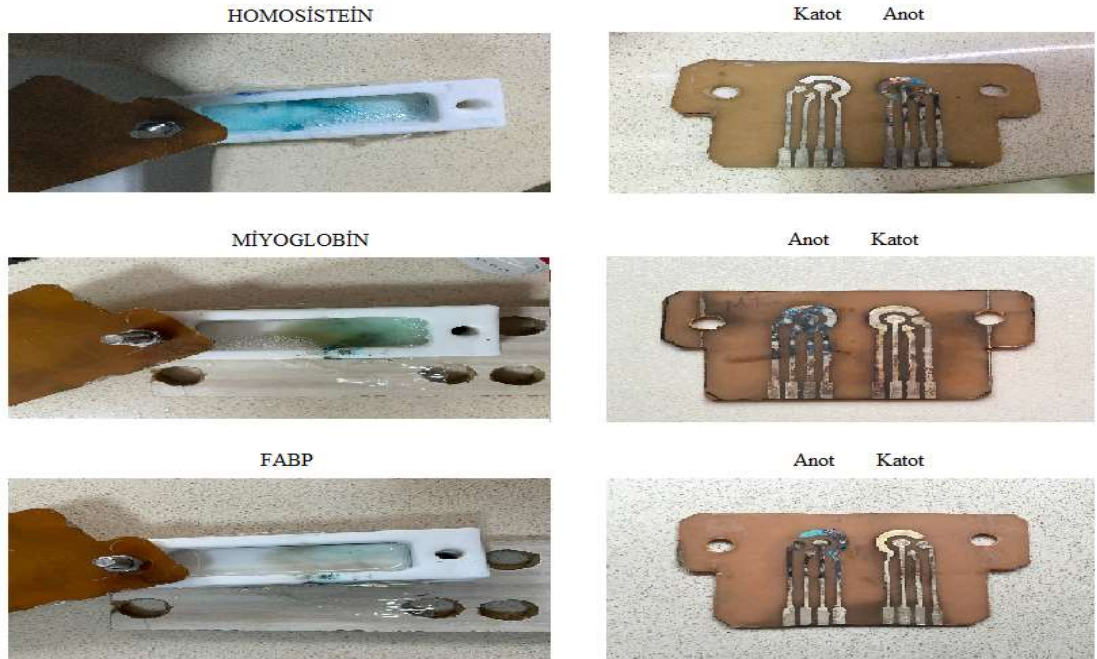
İşlem sonunda hücre açılarak MC jel özütü, kapak hücresi denilen üst kısımdan anot ve katot uçları ayrı ayrı olacak şekilde ependorf tüplerine alınıp KPE elektrot ölçümlerindeki işlem basamaklarına göre elektrot yüzeylerine 20 µL olacak şekilde pipetlenerek konulmuştur (**Bkz. Şekil 18**). Ölçümler özütler bekletilmeden gerçekleştirilmiştir. Kalan jel özütlerini saklamak için derin dondurucu (-20°C)

kullanılmıştır. TI özütleme işlemlerine ait elektrokimyasal yöntemler olan diferansiyel puls voltametrisine (DPV) ve döngüsel voltametriye (CV) ait özellikler **Tablo 2**'de özetlenmiştir.



Şekil 17. TI özütleme sisteminin sabit akım uygulanma anına ait görsel

TI özütleme işlemleri sırasında taşınabilir DC güç kaynağı kullanılmış; TI özütleme sonrasında ve diğer tüm elektrokimyasal ölçümlerde (CC, DPV, CV) ise Bioanalytical Systems Inc (West Lafayette, Indiana, ABD) BAS100B/W elektrokimyasal potansiyostat cihazı kullanılmıştır (**Bkz. Şekil 10,17**).



Şekil 18. TI özütleme işlemi sonrası anot ve katoda ait görseller

3.2.1.1. Geçirgenlik Arttırıcı Ajan Kullanımının TI'e Etkisi

Yengin'in çalışmasında belirttiği gibi geçirgenlik arttırıcı ajanların kullanımı, cildi hassas olan bireylerde alerjik reaksiyona veya iritasyona sebep olabilmektedir (Yengin, 2019). Bu nedenle gerekmedikçe kullanımları pek tercih edilmemektedir. Laboratuvar çalışmalarında kullanılan yapay membranların geçirgenlikleri (14 kDa) uygun olduğu için çalışmamızda bu ajanlara gerek duyulmamıştır. Ayrıca potansiyel uygulama esnasında porlar genişleyebilmektedir.

3.2.2. Elektrokimyasal Yöntemler (CC, DPV ve CV)

Biyosensör bileşenlerinden biri olan dönüştürücü sistemi olarak elektrokimyasal ölçüm cihazı olan BAS 100B/W kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan elektrokimyasal yöntemlerin özellikleri **Tablo 2**'de gösterilmektedir.

3.2.2.1. KPE Ölçümü Deneysel İşlem Basamakları

KPE ölçümlerinin deneysel protokolü olarak aşağıdaki işlem basamakları sırayla uygulanmıştır.

- 1) Boş olan KPE'ler yeni karbon pastası ile doldurulur.
- 2) Doldurulan KPE yüzeyleri, kuşe kağıdı veya aydınır kağıdı üzerinde "8" işareti çizilerek pürüzsüz hale getirilerek parlatılır.
- 3) Ölçümde kullanılacak çözeltiler (tampon, bağlayıcı, antikor vb.) hazırlanır.
- 4) KPE yüzey alanı hesaplaması için 0,1 M KCl ve 1,1 mM $K_3[Fe(CN)_6]$ çözeltisi ile ANSON ölçümleri yapılır. Ölçümü yapılan elektrot ultra saf suya batırılarak yıkanır.
- 5) 1 M KCl ve 5 mM $K_4[Fe(CN)_6]$ çözeltisi ile sade (bare) elektrot ölçümleri gerçekleştirilir. Sonrasında elektrotlar 1 defa ultra saf suya batırılıp çıkarılarak yıkanır ve oda koşullarında kurumaya bırakılır.
- 6) Sade ölçümü gerçekleşen elektrotların kuru yüzeyine 20 μ L bağlayıcı (linker) ilavesi yapılarak oda sıcaklığında 30 dk bekletilir. Bekleme süresi sonunda elektrotlar 5 defa FTÇ'ye daldırılarak yıkanır. Yıkanan elektrotların DPV ve CV ölçümleri alınıp 1 defa ultra saf suya daldırılarak tekrar yıkama yapılır ve kurumaya bırakılır.
- 7) Bağlayıcı ilavesi yapılmış elektrotların kuru yüzeyine 20 μ L ölçümü yapılacak maddeye ait antikor çözeltisi eklenip oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona

bırakılır. Süre sonunda elektrotlar 5 defa FTÇ'ye ve ardından 1 defa ultra saf suya daldırılıp çıkarılarak yıkanır. Yıkanan elektrotların DPV ve CV ölçümleri alınıp 1 defa ultra saf suya daldırılarak tekrar yıkama yapılır ve kurumaya bırakılır.

- 8) Kuruyan antikoru KPE yüzeylerine 20 µL ölçümü yapılacak maddeye ait antijen (veya TI özütü) eklenerek oda sıcaklığında 2 saat boyunca inkübasyona bırakılır. Süre sonunda elektrotlar 5 defa FTÇ'ye ve ardından 1 defa ultra saf suya daldırılıp çıkarılarak yıkanır. DPV ve CV ölçümleri alınıp ultra saf suya batırılarak tekrar yıkama yapılır.
- 9) Yeni ölçüme hazırlamak için elektrot içleri boşaltılarak temizlenir.

Tablo 2. TI Özütlemesi ve Diğer Tüm Elektrokimyasal Ölçümler İçin Kullanılan Elektrokimyasal Yöntemlerin Teknik Özellikleri

Kullanılan Cihazlar	Kullanılan Elektrokimyasal Yöntemler	Yöntem Özellikleri
Taşınabilir DC güç kaynağı	Sabit akım uygulaması (RI özütlemesi)	- Alt hücreye konulan antijen miktarı: 3,0 mL - Üst hücreye konulan jel miktarı: 8,6 mL - Uygulanan ekstraksiyon akımı : 1 mA - Uygulama süresi: 3 saat - Özütleme elektrodu yüzeyi: ort. 45 mm²
BAS 100B/W	CC (ANSON)	- Elektrotların yüzey alanlarını hesaplayabilmek için kronokulometrik ölçüm alınmıştır. - Başlangıç E: 600 mV, Bitiş E: 0 mV - Darbe genişliği: 250 Ms ; Duyarlılık: 1x10⁻⁶ C/V - Basamak sayısı: 2 ; Durgun zaman: 2 sn
	DPV	- Başlangıç E: -300 mV, Bitiş E: +700 mV (vs SCE) - Genlik darbesi: 50 mV - Darbe genişliği: 20 mS ; Darbe periyodu: 50 mS - Örnek genişliği: 17 mS - Artış oranı: 4 mV - Duyarlılık: 10 mA/V - Tarama hızı: 20 mV/sn - Durgun zaman: 2 sn

	CV	• Başlangıç E: -400 mV, Yüksek E: +800 mV (vs SCE) • Düşük E: -400 mV • Başlangıç Yönü: Pozitif • Segment Sayısı: 2 • Duyarlılık: 100 µA/V • Tarama hızı: 20 mV/sn • Durgun zaman: 2 sn • Örnek Intervalı: 1 mV
--	----	--

3.3. AME Parametrelerine Ait Tayin Yöntemleri

Yapılan çalışmada AME biyogöstergelerinden olan HMS, MYG ve YABP kullanılmıştır. Elektrokimyasal yöntemler olan DPV ve CV yöntemlerinin her ikisi de art arda sırayla uygulanmış olup daha hassas olmasından dolayı çalışmada sadece DPV ölçüm sonuçlarına yer verilmiştir (**Bkz. Şekil 22, 23**). Ölçümlerden önce CC yöntemi ile ANSON tekniği kullanılarak KPE yüzey alanları hesaplanmıştır. Ayrıca KCl+K₄[Fe(CN)₆] çözeltisi dışında elektrotların iletkenliğinin gösterilmesi amacıyla sadece KCl içeren kör çözeltisi kullanılarak sade (bare) elektrot ölçümleri de alınmıştır. AME biyogöstergelerinin herbiri için en az üç noktalı kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Bunların dışında TI yöntemiyle özütleme işlemi de yapıp jel özütünün DPV ve CV ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Hesaplamalarda gösterilmemiş olsa da sade elektrot ve bağlayıcılar için de DPV ve CV ölçümleri alınmıştır.

3.3.1. ANSON Ölçümleri

Karbon pasta elektrotlarının yüzey alanlarını hesaplayabilmek için 0,1 M KCl ve 1,1 mM K₃[Fe(CN)₆] çözeltisinin kullanıldığı kronokulometrik ölçümler alınmıştır. ANSON tekniği ile $Qt = 2nFACD^{1/2} t^{1/2} \pi^{1/2} + Qdl + nFA\Gamma^o$ denklemi kullanılarak yüzey alanları hesaplanmıştır (Qt= Zamana karşı olası toplam yük Qdl= Kapasitif yük).

61 adet (1 set) elektrot her doldurulduğunda bu ölçüm gerçekleştirilmiş olup yüzey alanı hesaplamalarında alınan 3 set ölçüm sonuçları kullanılmıştır (**Bkz. Tablo 4**).

3.3.2. Deneysel Optimizasyon Parametreleri

Bu çalışmadaki optimizasyon işlemleri HMS kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.2.1. Ön İşlem Çalışmaları

Ön işlem çalışmaları elektrokimyasal ölçüme geçilmeden önce denenilen birçok parametreyi içermektedir.

Yengin çalışmasında; glukoz kullanarak özütleme zamanı (3h, 4h, 5h, 6h, 9h, 12h, 15h ve 24h), özütleme elektrotları arası mesafe, ortam pH'sı, yapay membranın hazırlanışı (tek veya çift kat olması, ıslatma işlemleri), MC türü ve MC oranları, elektrot kaplama materyali gibi parametreleri çalışmıştır (Yengin, 2019). Yengin'in çalışması baz alınarak bu çalışmadaki parametreler; özütleme zamanı için 3 saat, özütleme elektrotları arası mesafe 7 mm, özütleme esnasında uygulanan akım 1mA, yapay membran çift katlı ve sadece birkaç saniye saf su ile ıslatılmış, jel olarak 4 g MC'nin 300 mL 10 mM FTC içindeki çözeltisi optimum olarak belirlenmiştir. İmmünoensörün kullanılma amacı kandan AME parametrelerini çekebilmek olduğundan kanın pH'sı olan 7,4 en uygun pH olarak kabul edilmiştir. Yine Yengin'in yapmış olduğu çalışmada özütleme elektrodunun kaplanması için birçok materyal denenmiş, toksisite olasılığı da düşünülerek bu çalışma için uygun kaplama materyalinin gümüş olmasına karar verilmiştir.

Ayrıca Yengin'in çalışmasında KPE karbon pastası için denenilen oranlara bakıldığında 2 g grafit tozu ile 1400 µL mineral yağ oranı bu çalışma için uygun kabul edilmiştir (Yengin, 2019).

3.3.2.2. KPE Islatma ve Yıkama Süreleri

Antijen inkübasyonu sonrasında kuruyan KPE yüzeyleri için elektrokimyasal ölçümden önce yapılan FTC'e daldırma işlemi; 1 defa, 1 dk, 2 dk, 3 dk ve 5 dk boyunca olmak üzere farklı şekillerde denenmiştir (Bkz. Şekil 24).

3.3.2.3. Bağlayıcı (Linker) Derişimleri

Bağlayıcı derişimlerinin etkisini görebilmek için derişimleri arttırmak veya azaltmak suretiyle 5mM EDC+8mM NHS (EDC'nin yaklaşık 1,5 katı NHS), 50mM EDC+20mM NHS (NHS'nin 2,5 katı EDC), 1mM EDC+3mM NHS (EDC'nin 3 katı NHS) şeklinde 3 farklı kombinasyon denenmiştir. Bu kombinasyonların derişimleri

100 mM'lık stok çözeltilerden hareketle hazırlanmıştır. Ardından deneysel işlem basamağına göre DPV ve CV ölçümleri alınmıştır.

3.3.2.4. İnkübasyon Sıcaklığı

Antijen ekimi yapılmış elektrotların inkübasyonu için hangi ortamın daha elverişli olduğuna yönelik yapılan çalışmada elektrotlar oda sıcaklığında, desikatörde, etüvde (30°C) ve oda koşullarında bulunan fan sistemi altında kurumaya bırakılmıştır (**Bkz. Şekil 11**). Kuruyan KPE'lerin deneysel işlem basamağına göre DPV ve CV ölçümleri alınmıştır.

100 µM HMS ekimi yapılmış elektrotların oda koşullarında yaklaşık 195 dk, etüvde 90 dk, fan sisteminde 105 dk sürelerinde kuruduğu gözlemlenmiştir. 61'er adet elektrot antijen ekiminden sonra inkübasyon süresi belirlenmeden oda sıcaklığında kendi halinde kurumaya bırakıldığında HMS'nin 4 saatte, MYG'nin 4 günde ve YABP'nin yaklaşık 1,5 ayda kuruduğu gözlemlenmiş, kuruyana kadar geçen süre inkübasyon süresi olarak dikkate alınmıştır. Desikatöre konulduğunda ise HMS yaklaşık 1,5 saat, MYG 10 saat, YABP 4 gün sonunda kurumuştur. Etüvde 130°C 1 saat kurutulmuş olan CaCl₂, 80°-90°C sıcaklığa geldiğinde elektrotlar desikatöre yerleştirilmiştir. 4 gün gibi uzun sürelerde CaCl₂ ara ara etüve konarak değiştirilmiştir.

Yengin çalışmasında 1, 2 ve 3 saat olmak üzere farklı inkübasyon süreleri denemiş ve 2 ile 3 saat inkübasyon sonuçları arasında önemli bir fark olmadığını belirtmiştir (Yengin, 2019). Bu çalışmada ise desikatörde 2 saatlik inkübasyon süresi optimum süre olarak kabul edilmiştir.

3.3.2.5. Stabilite

Deneysel işlem basamağına göre antijen inkübasyonu yapılmış elektrotlar; kuruduktan sonra stabilite çalışması için belirli sıcaklık (0°C, +4°C, 25°C, -20°C, -80°C) koşullarında belirli sürelerde (t₀, 24 saat, 48 saat ve 7 gün) tutulmuş, süre sonlarında DPV ve CV ölçümleri alınmıştır (**Bkz. Tablo 3**).

Tablo 3. Stabilité çalışmalarında uygulanan sıcaklık ve bekleme süresi koşulları

Sıcaklık	Bekleme Süresi			
0°C	t=0 saat	t=24 saat	t=48 saat	t=168 saat
+4°C				
25°C				
-20°C				
-80°C				

3.3.2.5.1 Sıcaklık Etkisi

In vitro koşullarda istenilen sıcaklık değeri çalışılsa da in vivo koşullarda yüksek sıcaklıkta biyolojik yapıllı maddelerin bozunmasından dolayı sıcaklık parametrelerinin tam olarak çalışılması pek mümkün olmamaktadır. Antijen ve antikor gibi protein ve amino asit yapıllı maddelerin yapısı 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda bozulmaya başlamaktadır. Ayrıca amacımız TI yöntemi ile deriden AME biyogöstergelelerinin ölçümü olduğu için 50°C ve üzeri sıcaklıklar ciltte hasara sebep olabilmektedir. Hassas ciltlerde bu hasar durumunun gözlenmesi daha düşük sıcaklıklarda da mümkün olabilmektedir. Bu nedenle yüksek sıcaklıklarda çalışmak anlamsız olacaktır. Bu çalışmada 0°C, +4°C, 25°C, -20°C, -80°C sıcaklık koşullarında bekletilen antijen ekimli elektrotlarla çalışılmıştır (Bkz. Tablo 3).

3.3.2.6. Girişim (Interference) Etkisi

Girişim etkisini araştırmak için yapılan çalışmada biyogöstergelelerin girişimsel işlemlerle ölçülen ve sağlıklı kabul edilen düzeylerinin üst sınırı alınmıştır. Bu düzeyler; HMS için 15 µM, MYG için 72 ng/mL ve YABP için 19 ng/mL olarak belirlenmiştir. Girişim etkisinin araştırılacağı etken maddeler ise her bir biyogösterge düzeyi için 10 kat olacak derişimlerde ultra saf su ile hazırlanmıştır. Etken madde olarak albumin, glikoz, askorbik asit, ürik asit, parasetamol, klorfeniramin maleat ve fenilefrin hidroklorür kullanılmıştır. Deneysel işlemler sırasında biyogöstergeye ait antikor ölçümünden sonra etken madde ekimi yapılarak DPV ve CV ölçümleri yapılmıştır.

3.3.3. Kalibrasyon İşlemleri

Her bir AME parametresi için aşağıda açıklandığı gibi farklı derişimlerde ayrı ayrı kalibrasyon çalışmaları yapılmıştır. Seyreltmeler için 10 mM FTÇ tamponu kullanılmıştır. Her bir derişim için en az 10 adet KPE elektrodu kullanılmıştır.

- HMS için kalibrasyon eğrisi oluşturulması amacıyla 5 µM, 10 µM, 15 µM, 30 µM, 50 µM ve 100 µM derişimlerinde;
- MYG için kalibrasyon eğrisi oluşturulması amacıyla 20 ng/mL, 40 ng/mL, 60 ng/mL, 80 ng/mL ve 100 ng/mL derişimlerinde;
- YABP için kalibrasyon eğrisi oluşturulması amacıyla 1 ng/mL, 3 ng/mL, 5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL ve 50 ng/mL derişimlerinde standart madde çözeltileri hazırlanmıştır.

Ardından KPE yüzeyine 20 µL hacminde eklenerek DPV ve CV ölçümleri gerçekleştirilmiş ve AME göstergesi olabilecek düzeyler dikkate alınarak kalibrasyon eğrileri çizilmiştir.

3.3.4. TI Özütleme Sonrası DPV ve CV Ölçümleri

TI özütleme işlemleri gerçekleştirildikten sonra ependorf tüplerine alınan MC jel özütleri bekletilmeden KPE ölçümlerindeki deneysel işlem basamaklarına göre antijen olarak KPE yüzeylerine 20 µL olacak şekilde pipetlenerek konulmuştur. Ardından DPV ve CV ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.6. Yöntem Geçerliliği

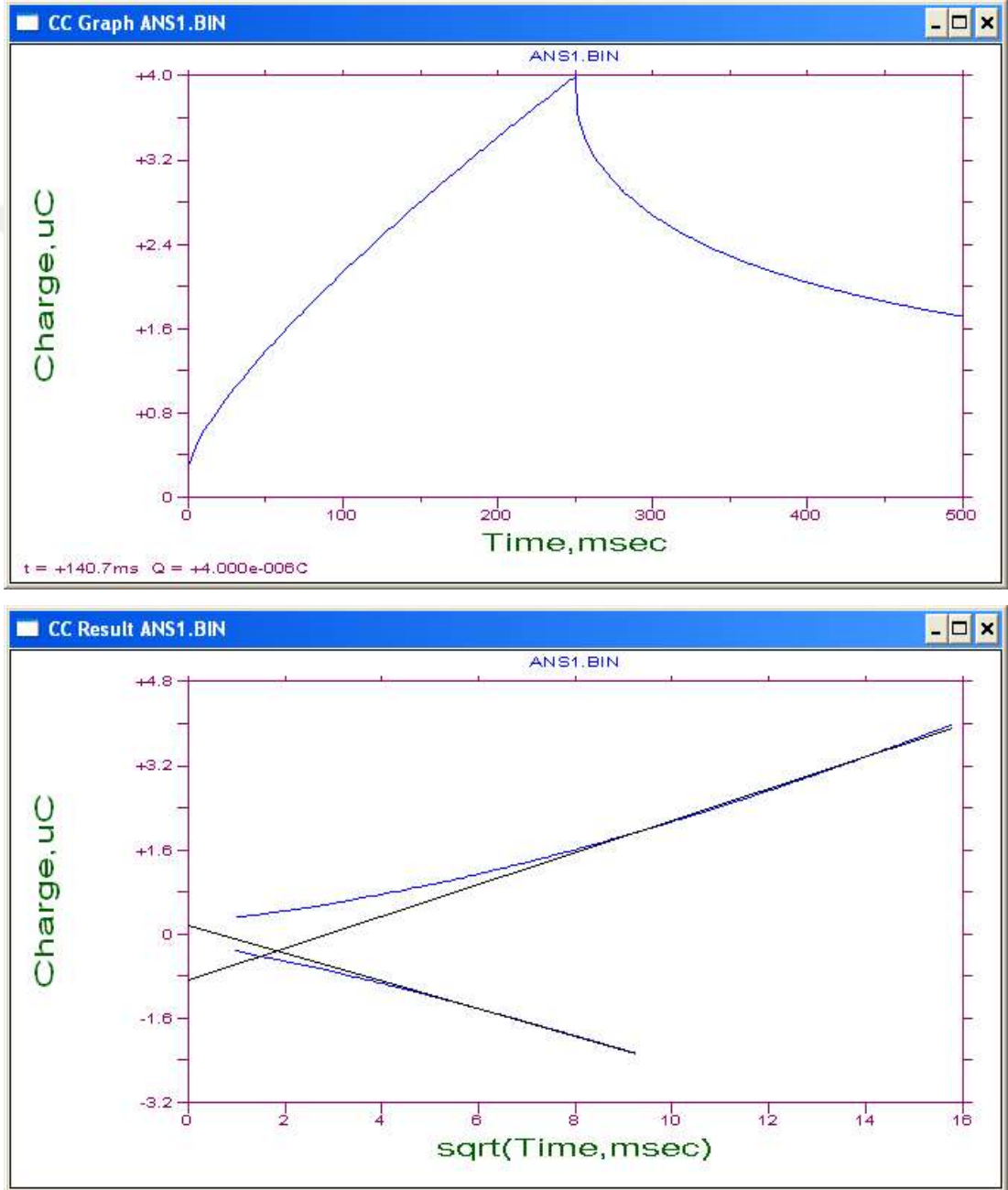
ICHQ2(R1) kılavuzuna göre doğruluk, kesinlik, tekrar edilebilirlik, tespit sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ) gibi yöntem geçerliliği parametrelerine ait bilgiler “bulgular” bölümünde yer alan **Tablo 65**’te belirtilmiştir.

Bulgular

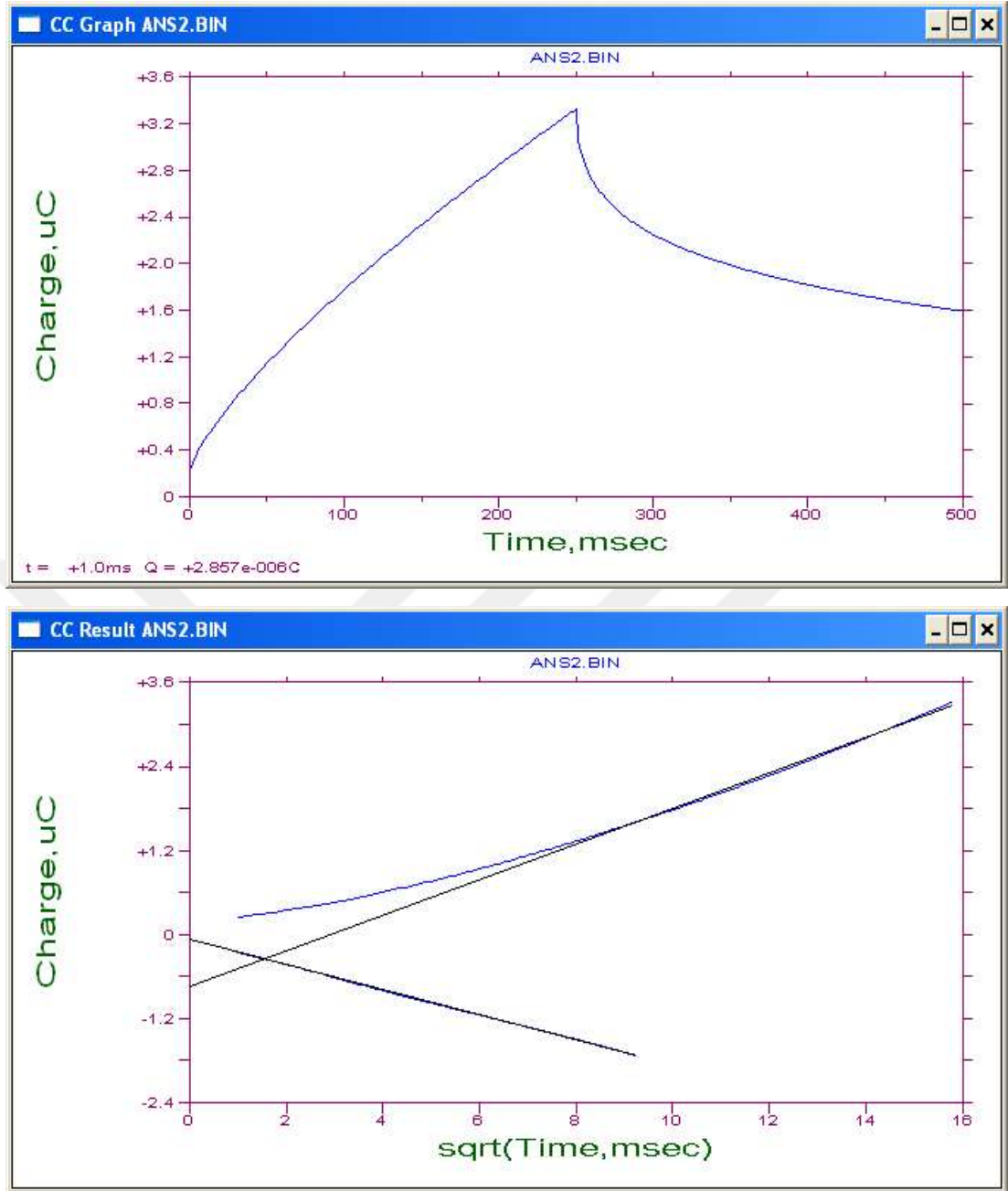
4.1. AME Parametrelerinin Tayin Yöntemlerine Ait Bulgular

4.1.1. KPE Yüzey Alanları İçin ANSON Ölçümlerine Ait Bulgular

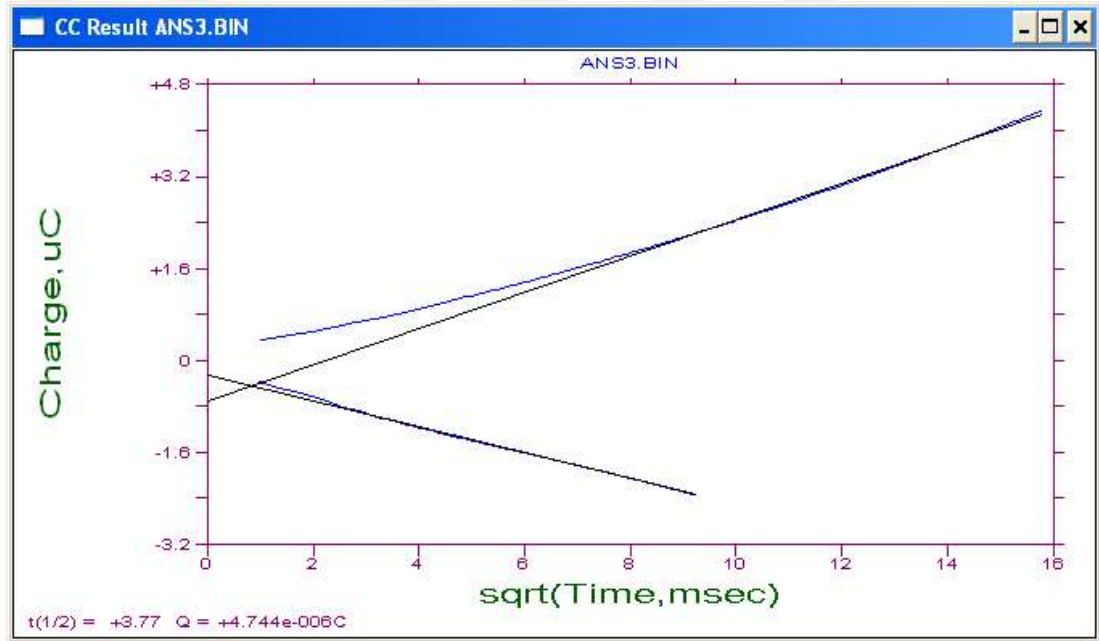
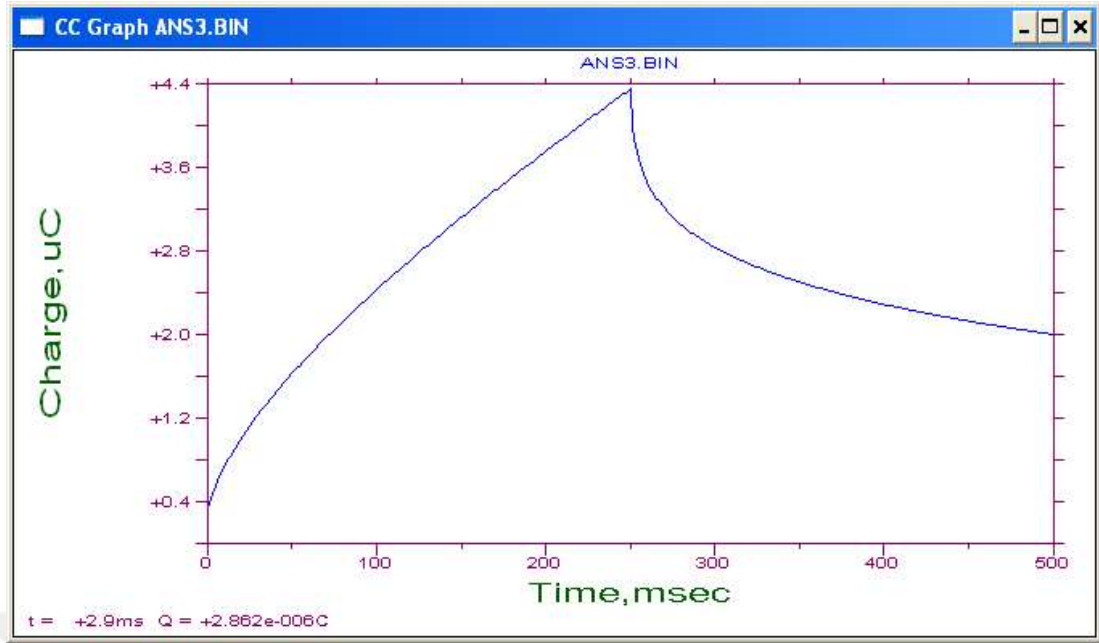
Her ANSON ölçümü için birer adet elektrodun kronokulometrik bulguları örnek olarak verilmiştir.



Şekil 19. ANSON-1 ölçümlerinde 0,1 mM KCl+1,1 mM $K_3[Fe(CN)_6]$ için KPE 1'in kronokulometrik örnek yanıtı



Şekil 20. ANSON-2 ölçümlerinde 0,1 mM KCl+1,1 mM $K_3[Fe(CN)_6]$ için KPE 2'in kronokulometrik örnek yanıtı



Şekil 21. ANSON-3 ölçümlerinde 0,1 mM KCl+1,1 mM $K_3[Fe(CN)_6]$ için KPE 3'in kronokulometrik örnek yanıt

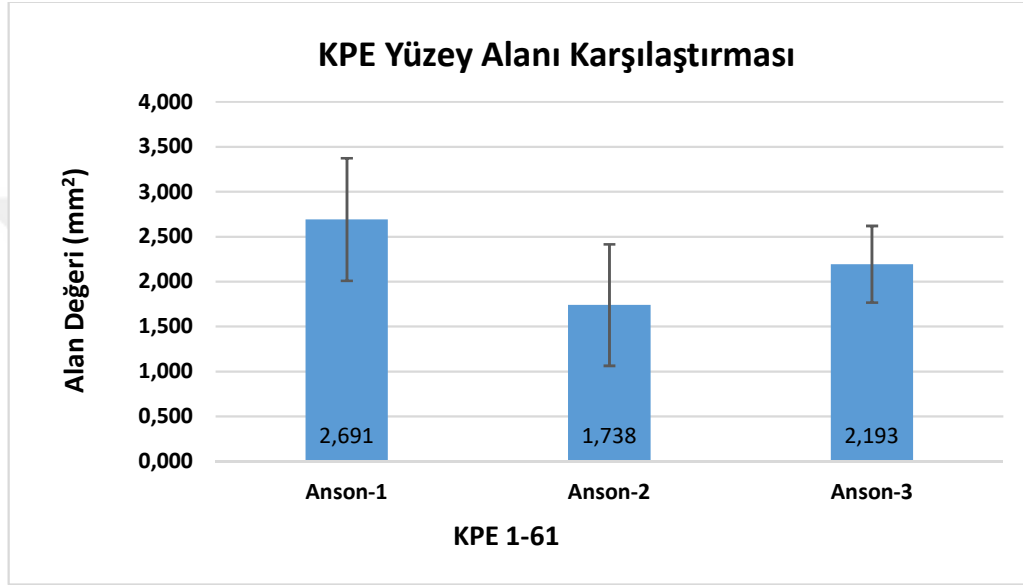
Tablo 4. KPE'lara ait ölçülen yüzey alan ve yarıçap değerleri

Elektrot No:	Anson Ölçümü-1		Anson Ölçümü-2		Anson Ölçümü-3	
	Alan Değeri (mm ²)	r (mm)	Alan Değeri (mm ²)	r (mm)	Alan Değeri (mm ²)	r (mm)
1	2,694	0,926	2,463	0,885	2,906	0,962
2	3,902	1,114	2,428	0,879	3,057	0,987
3	3,790	1,098	3,024	0,981	2,294	0,855
4	2,622	0,913	2,003	0,798	2,315	0,858
5	2,543	0,900	2,057	0,809	2,622	0,913
6	1,597	0,713	1,529	0,698	2,334	0,862
7	1,963	0,790	1,949	0,788	2,523	0,896
8	1,854	0,768	1,463	0,682	2,371	0,869
9	3,078	0,990	2,686	0,925	2,884	0,958
10	4,674	1,220	1,816	0,760	2,865	0,955
11	3,880	1,111	2,220	0,841	2,244	0,845
12	3,227	1,013	1,263	0,634	2,099	0,817
13	2,467	0,886	1,762	0,749	2,093	0,816
14	3,783	1,097	2,023	0,802	2,944	0,968
15	2,098	0,817	1,914	0,780	2,647	0,918
16	1,973	0,793	1,504	0,692	1,814	0,760
17	1,960	0,790	2,108	0,819	1,864	0,770
18	2,411	0,876	2,219	0,840	1,875	0,773
19	2,886	0,958	1,105	0,593	2,230	0,842
20	2,466	0,886	1,968	0,792	2,519	0,895
21	3,431	1,045	1,400	0,668	1,935	0,785
22	3,106	0,994	0,749	0,488	1,942	0,786
23	3,115	0,996	1,669	0,729	1,358	0,658
24	2,559	0,903	0,891	0,533	1,642	0,723
25	3,476	1,052	1,785	0,754	2,278	0,851
26	1,908	0,779	1,626	0,720	1,723	0,741
27	1,635	0,721	1,877	0,773	1,672	0,730
28	2,948	0,969	3,056	0,986	2,355	0,866
29	2,373	0,869	4,127	1,146	2,303	0,856

30	1,441	0,677	1,509	0,693	1,668	0,729
31	3,267	1,020	1,728	0,742	2,277	0,851
32	3,277	1,021	1,241	0,629	2,345	0,864
33	3,716	1,088	2,025	0,803	2,538	0,899
34	2,272	0,850	1,997	0,797	2,511	0,894
35	—	—	1,865	0,770	2,776	0,940
36	3,123	0,997	3,445	1,047	2,156	0,828
37	3,214	1,012	1,714	0,739	1,887	0,775
38	2,190	0,835	1,924	0,783	2,115	0,820
39	2,990	0,976	1,588	0,711	2,768	0,939
40	1,861	0,770	2,075	0,813	2,561	0,903
41	2,254	0,847	1,988	0,796	1,839	0,765
42	2,498	0,892	1,727	0,741	2,421	0,878
43	2,009	0,800	1,549	0,702	1,578	0,709
44	2,830	0,949	2,507	0,893	2,496	0,891
45	3,151	1,002	1,064	0,582	1,408	0,669
46	2,420	0,878	1,101	0,592	2,663	0,921
47	—	—	1,571	0,707	2,181	0,833
48	2,708	0,928	1,261	0,634	1,742	0,745
49	2,362	0,867	2,682	0,924	1,800	0,757
50	1,883	0,774	1,160	0,608	2,366	0,868
51	2,864	0,955	1,192	0,616	2,211	0,839
52	—	—	0,774	0,496	2,174	0,832
53	3,010	0,979	1,191	0,616	1,835	0,764
54	—	—	0,665	0,460	2,114	0,820
55	2,827	0,949	1,033	0,573	2,726	0,932
56	—	—	1,199	0,618	1,502	0,691
57	2,396	0,873	0,586	0,432	1,325	0,649
58	—	—	0,777	0,497	2,050	0,808
59	2,779	0,940	1,142	0,603	2,234	0,843
60	1,647	0,724	1,652	0,725	2,269	0,850
61	2,596	0,909	1,401	0,668	1,515	0,694

Tablo 5. Üç farklı grupta KPE'lerin ölçülen yüzey alanlarına ait karşılaştırmalar

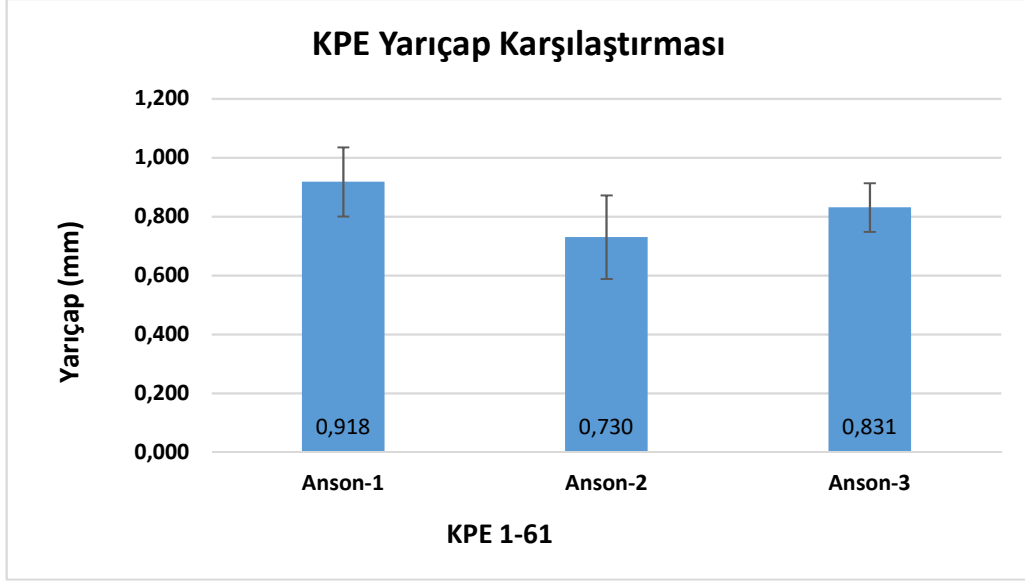
	Alan Değeri (mm ²)					
	Anson Ölçümü-1		Anson Ölçümü-2		Anson Ölçümü-3	
Elektrot No:	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
KPE 1-61	2,691	25,39	1,738	38,89	2,193	19,45



Grafik 1. HMS için imal edilen KPE 1-61 numaralı elektrodun yüzey alanı karşılaştırması

Tablo 6. Üç farklı grupta KPE'lerin ölçülen yarıçaplarına ait karşılaştırmalar

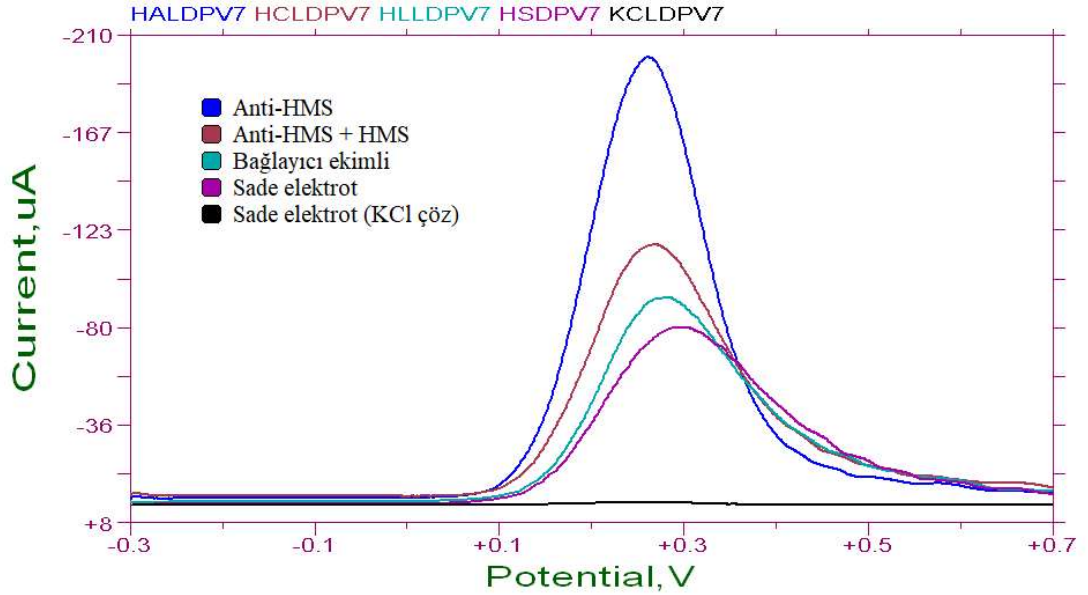
	Yarıçap (mm)					
	Anson Ölçümü-1		Anson Ölçümü-2		Anson Ölçümü-3	
Elektrot No:	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
KPE 1-61	0,918	12,77	0,730	19,41	0,831	9,95



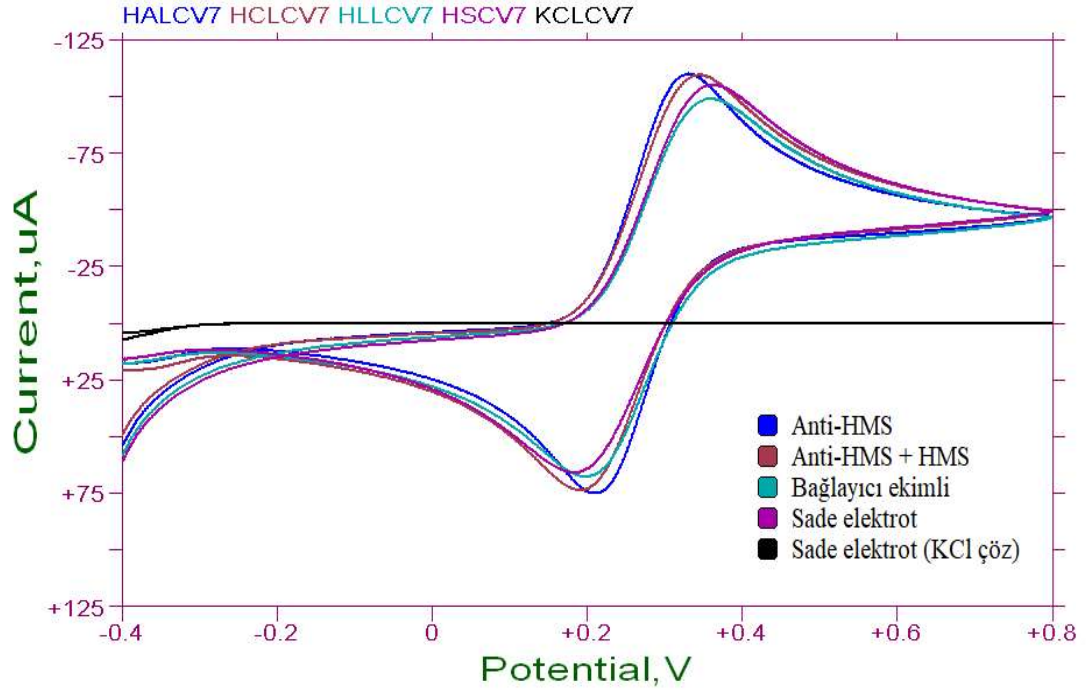
Grafik 2. HMS için imal edilen KPE 1-61 Numaralı elektrodun yarıçaplarının karşılaştırması

4.1.2. Deneysel Optimizasyon Parametrelerine Ait Bulgular

Elektrotların iletkenliğinin gösterilmesi amacıyla bir defaya mahsus olmak üzere, sadece KCl içeren kör çözeltisi kullanılarak sade (bare) elektrot ölçümleri alınmıştır.



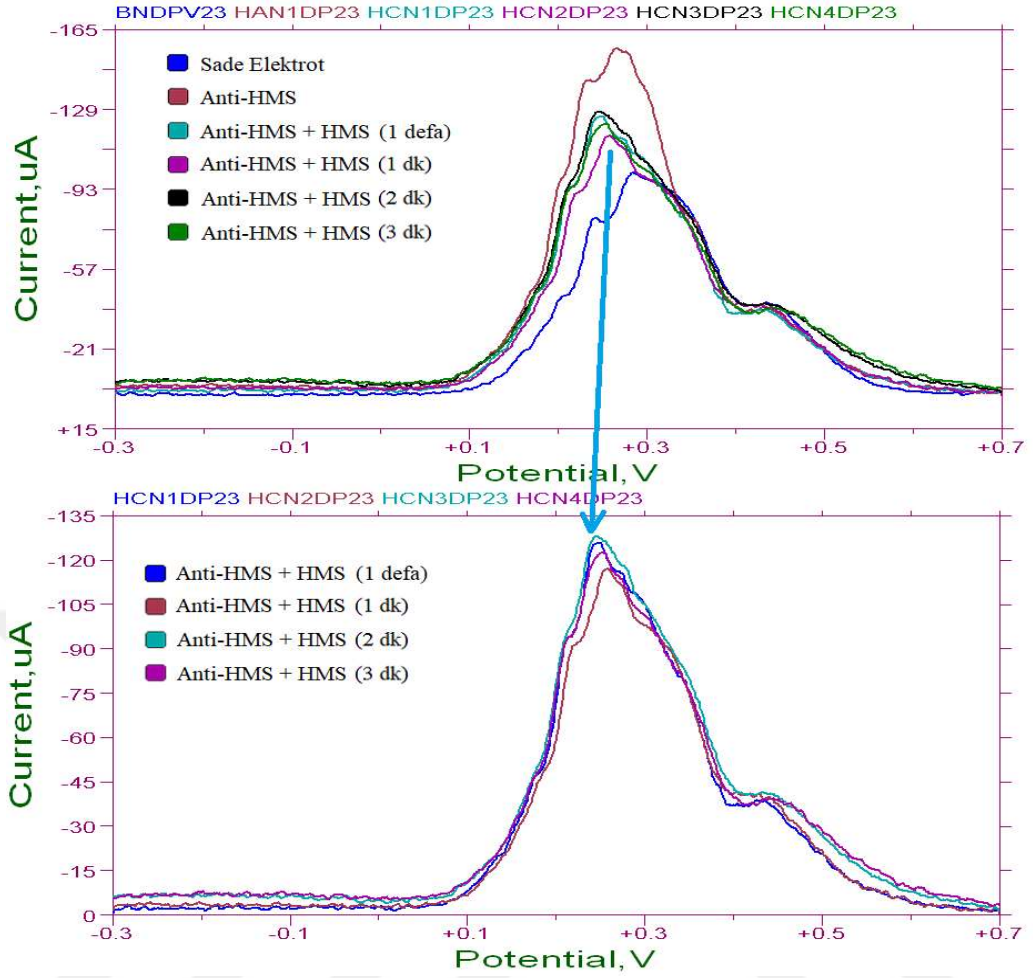
Şekil 22. HMS için KPE 7 elektrodunun 0,1 M KCl (KCLCV7)'ye karşı 1 M KCl+5 mM $K_4[Fe(CN)_6]$ ile DPV ölçümünün Anti-HMS (HALDPV7), HMS (HCLDPV7), bağlayıcı (HLLDPV7) ve yalın elektrot (HSDPV7) karşılaştırması



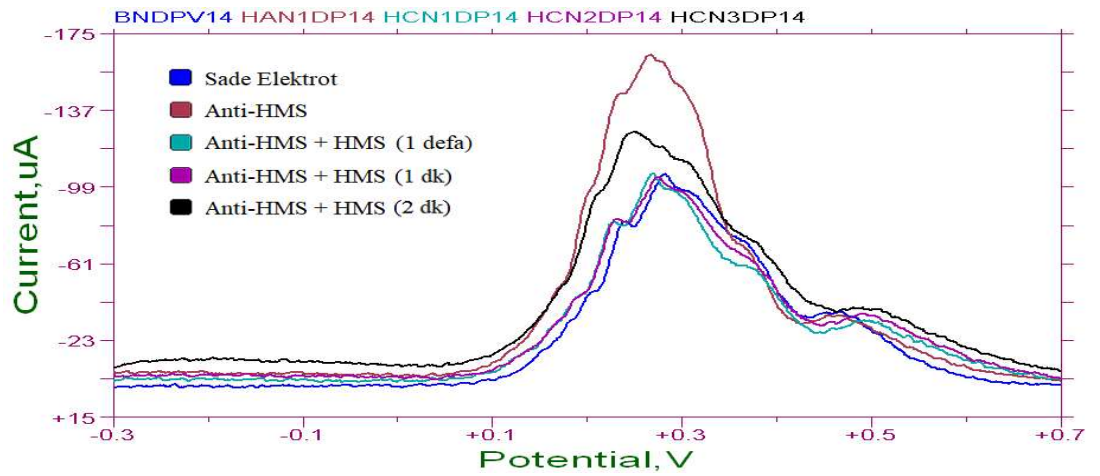
Şekil 23. HMS için KPE 7 elektrodunun 0,1 M KCl (KCLCV7)'ye karşı 1 M KCl+5 mM $K_4[Fe(CN)_6]$ ile CV ölçümünün Anti-HMS (HALCV7), HMS (HCLCV7), bağlayıcı (HLLCV7) ve sade elektrot (HSCV7) karşılaştırması

4.1.2.1. KPE Islatma ve Yıkama Sürelerine Ait Bulgular

Antijen inkübasyonu sonrasında kuruyan KPE yüzeyleri için elektrokimyasal ölçümden önce 1 defa, 1 dk, 2 dk, 3 dk ve 5 dk boyunca olmak üzere farklı şekillerde daldırma işlemi denenmiştir. 5 dk boyunca tampon yıkaması uygulanan elektrotun yüzeyi deforme olmuştur. Bu nedenle ölçüm alınamamıştır. HMS ile deneme sonucunda 1 dk'nın uygun olduğuna karar verilmiştir. Diğer biyogöstergeler için yıkama süresi 1 dk olarak uygulanmıştır.



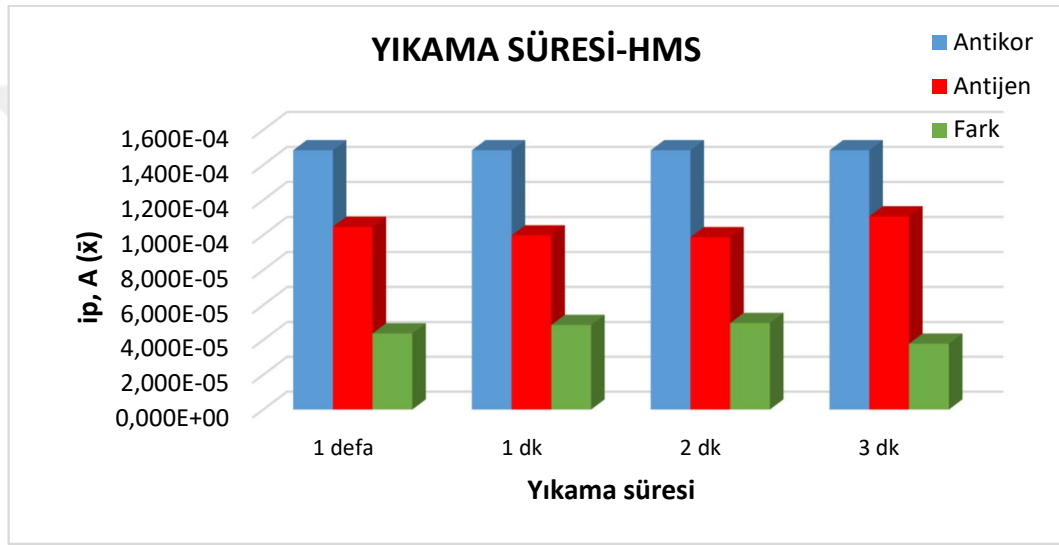
Şekil 24. HMS için KPE 23 elektrodunun antijen ölçümünün sırasıyla 1 dk, 2 dk ve 3 dk boyunca FTC'e daldırılması ile ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması



Şekil 25. HMS için KPE 14 elektrodunun antijen ölçümünün sırasıyla 1 defa, 1 dk ve 2 dk boyunca FTC'e daldırılması ile ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması

Tablo 7. HMS için farklı yıkama süreleri uygulamalarına ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

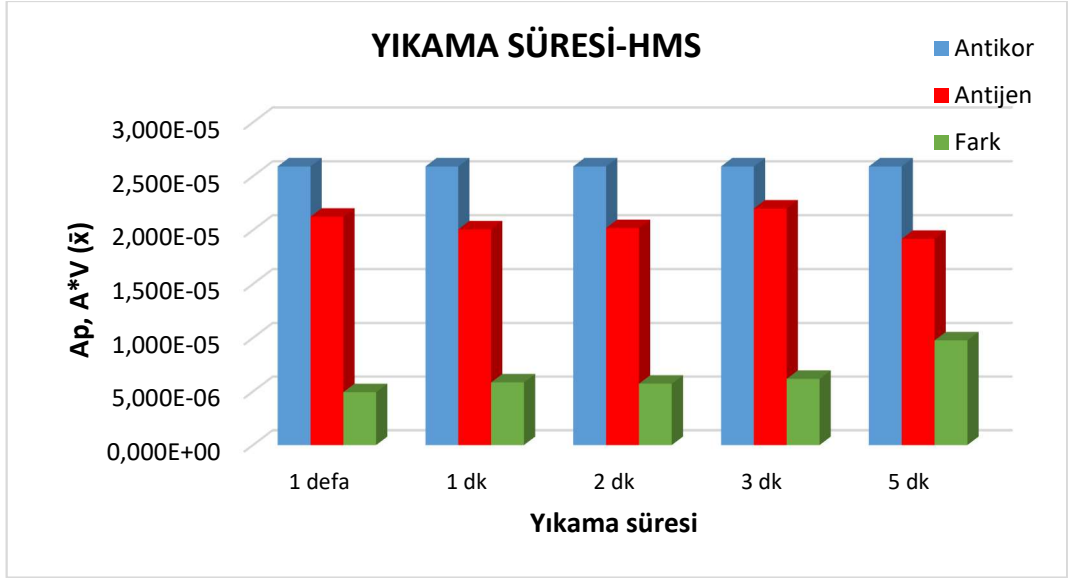
	HMS, ip (A)					
	Antikor		Antijen		FARK	
Yıkama Süresi	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
1 defa, n=11	$1,483 \times 10^{-4}$	19,45	$1,046 \times 10^{-4}$	10,46	$4,374 \times 10^{-5}$	52,67
1 dk, n=11			$9,973 \times 10^{-5}$	18,59	$4,862 \times 10^{-5}$	36,87
2 dk, n=11			$9,865 \times 10^{-5}$	21,52	$4,970 \times 10^{-5}$	47,25
3 dk, n=2			$1,106 \times 10^{-4}$	7,09	$3,780 \times 10^{-5}$	101,94



Grafik 3. HMS'ye ait farklı yıkama süreleri için DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 8. HMS için farklı yıkama süreleri uygulamalarına ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

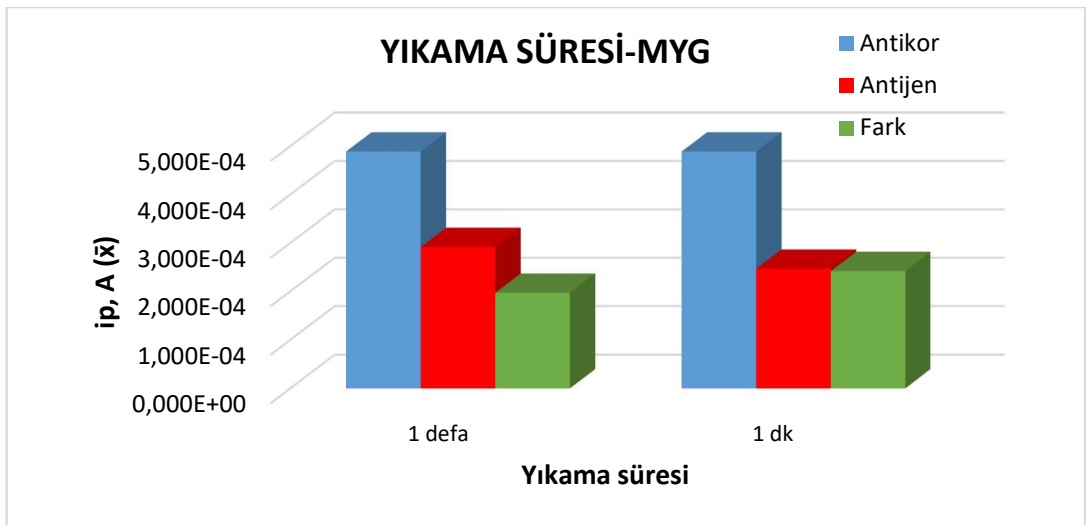
	HMS, Ap (A*V)					
	Antikor		Antijen		FARK	
Yıkama Süresi	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
1 defa, n=11	$2,591 \times 10^{-5}$	9,82	$2,124 \times 10^{-5}$	10,05	$4,935 \times 10^{-6}$	50,25
1 dk, n=11			$2,007 \times 10^{-5}$	10,77	$5,839 \times 10^{-6}$	32,71
2 dk, n=11			$2,019 \times 10^{-5}$	13,76	$5,719 \times 10^{-6}$	50,81
3 dk, n=3			$2,200 \times 10^{-5}$	7,52	$6,175 \times 10^{-6}$	44,55
5 dk, n=3			$1,919 \times 10^{-5}$	12,41	$9,760 \times 10^{-6}$	21,08



Grafik 4. HMS'ye ait farklı yıkama süreleri için DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 9. MYG için farklı yıkama süreleri uygulamalarına ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

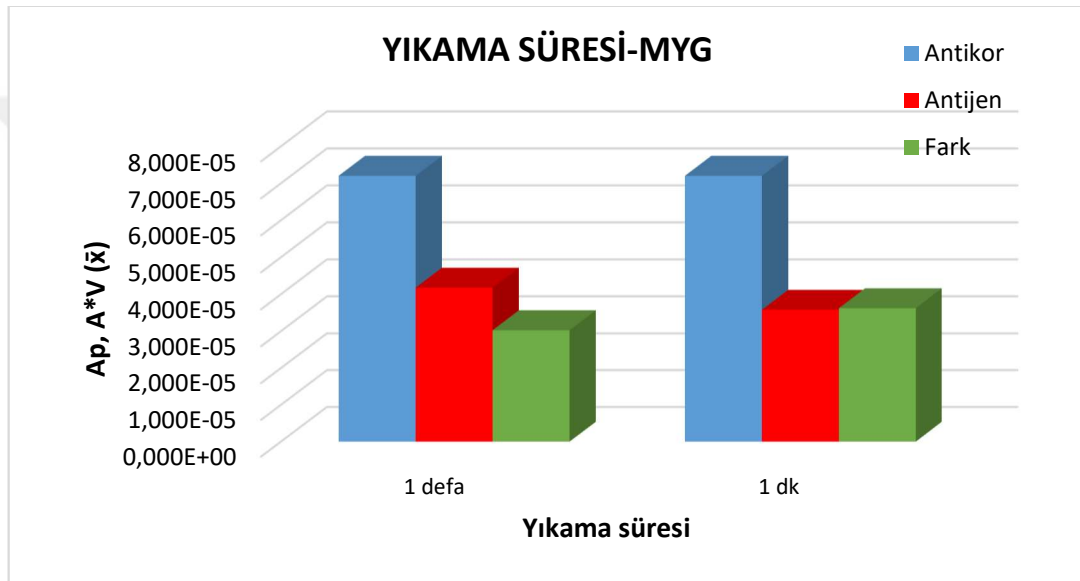
MYG, ip (A), n=24						
Yıkama Süresi	Antikor		Antijen		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
1 defa	4,891 x10 ⁻⁴	55,39	2,919 x10 ⁻⁴	32,65	1,972 x10 ⁻⁴	105,73
1 dk			2,470 x10 ⁻⁴	26,96	2,422 x10 ⁻⁴	94,72



Grafik 5. MYG'ye ait farklı yıkama süreleri için DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 10. MYG için farklı yıkama süreleri uygulamalarına ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

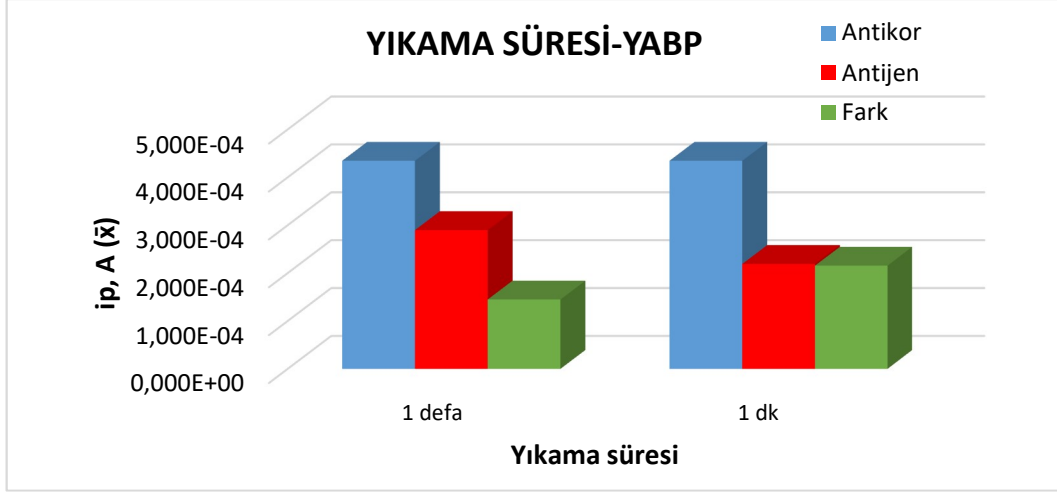
Yıkama Süresi	MYG, Ap (A*V), n=24					
	Antikor		Antijen		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
1 defa	$7,204 \times 10^{-5}$	85,42	$4,177 \times 10^{-5}$	102,64	$3,027 \times 10^{-5}$	61,59
1 dk			$3,580 \times 10^{-5}$	86,59	$3,624 \times 10^{-5}$	84,25



Grafik 6. MYG'ye ait farklı yıkama süreleri için DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 11. YABP için farklı yıkama süreleri uygulamalarına ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

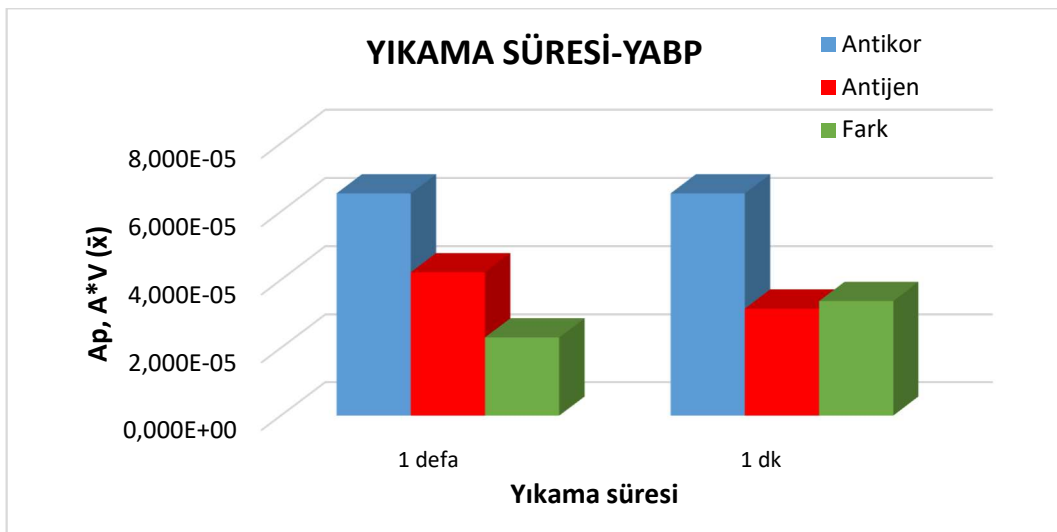
Yıkama Süresi	YABP, ip (A), n=26					
	Antikor		Antijen		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
1 defa	$4,347 \times 10^{-4}$	45,02	$2,898 \times 10^{-4}$	37,06	$1,449 \times 10^{-4}$	85,16
1 dk			$2,191 \times 10^{-4}$	31,31	$2,156 \times 10^{-4}$	63,82



Grafik 7. YABP'ye ait farklı yıkama süreleri için DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

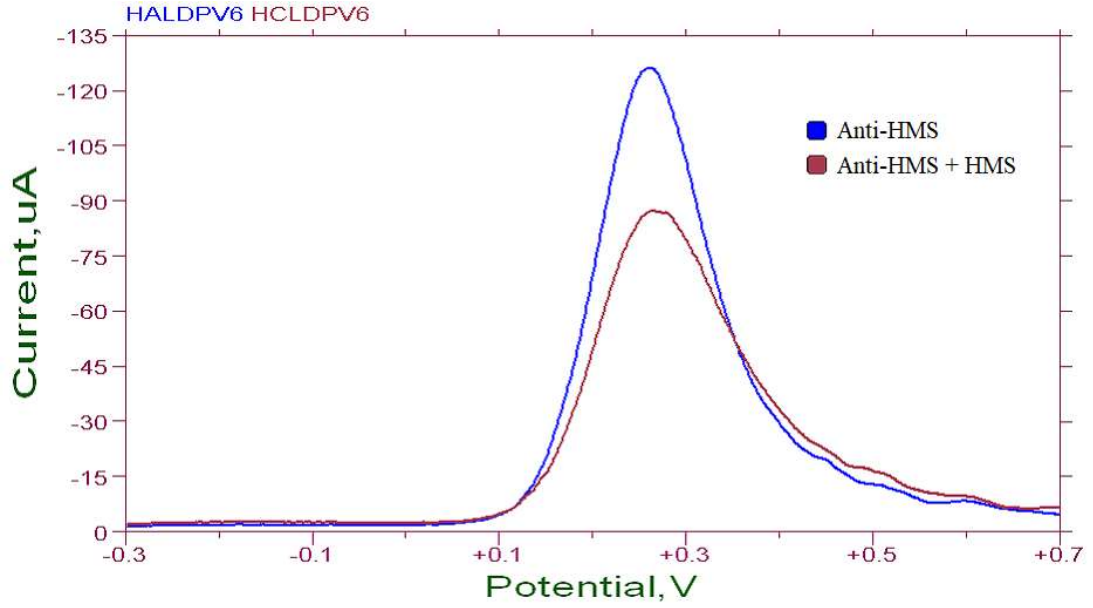
Tablo 12. YABP için farklı yıkama süreleri uygulamalarına ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

YABP, Ap (A*V), n=26						
Yıkama Süresi	Antikor		Antijen		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
1 defa	$6,534 \times 10^{-5}$	43,19	$4,223 \times 10^{-5}$	32,23	$2,311 \times 10^{-5}$	83,12
1 dk			$3,156 \times 10^{-5}$	26,67	$3,378 \times 10^{-5}$	63,20

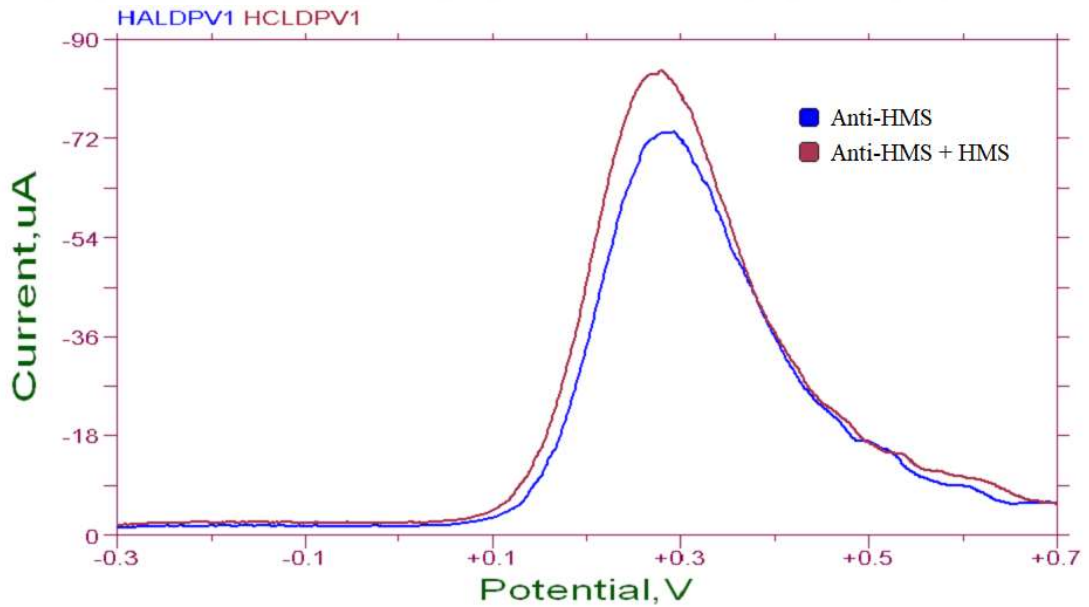


Grafik 8. YABP'ye ait farklı yıkama süreleri için DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

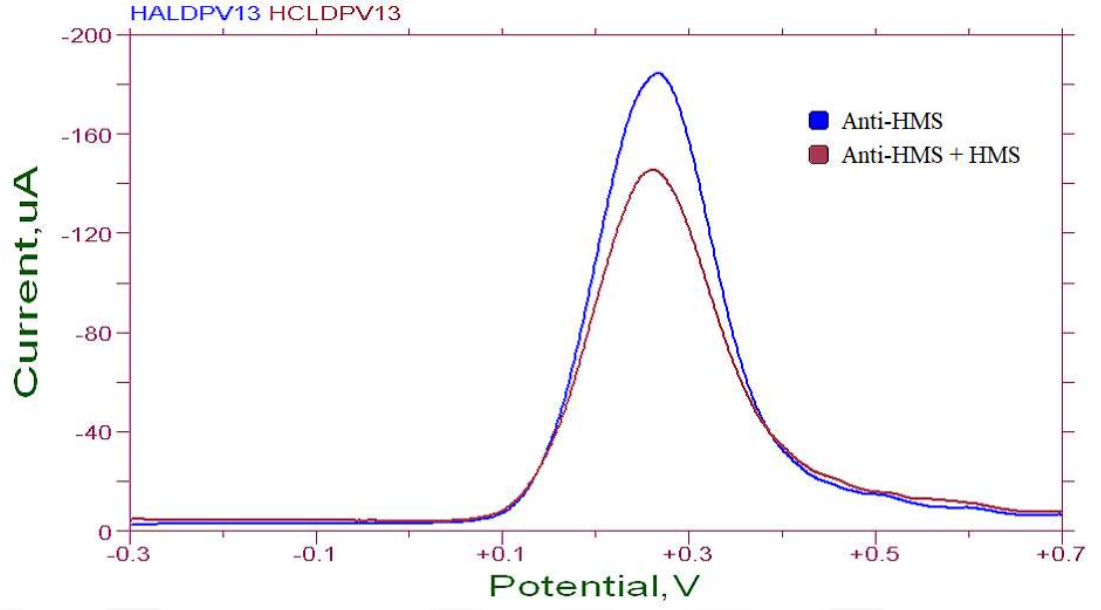
4.1.2.2 Bağlayıcı (Linker) Derişimlerine Ait Bulgular



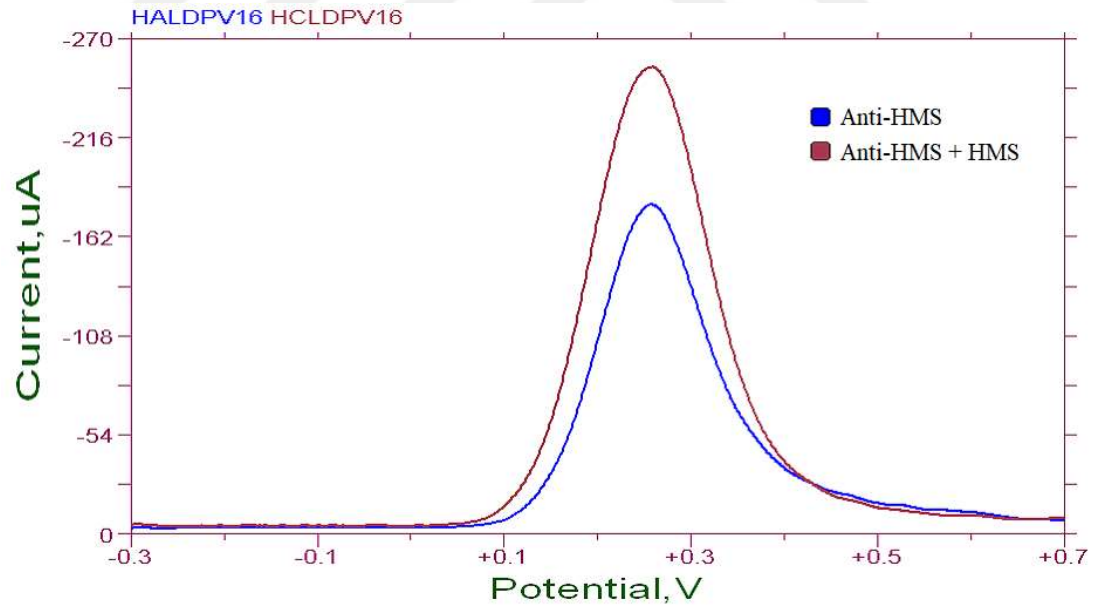
Şekil 26. 5mM EDC+8mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 6 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HALDPV6) ve HMS (HCLDPV6) karşılaştırması



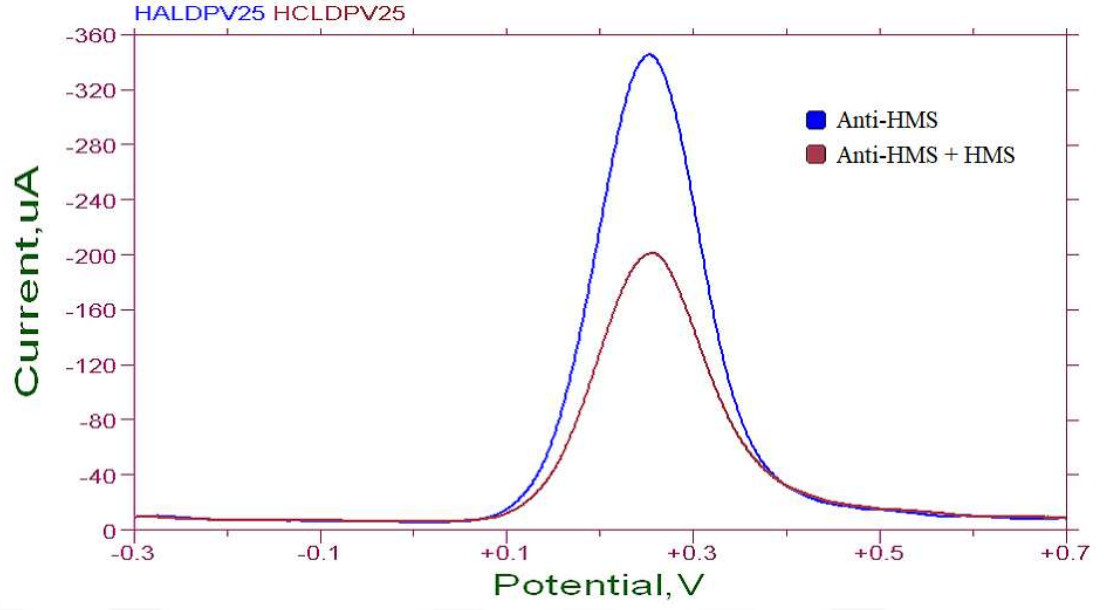
Şekil 27. 5mM EDC+8mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 1 elektrodunun DPV ölçümünün olumsuz yanıtı



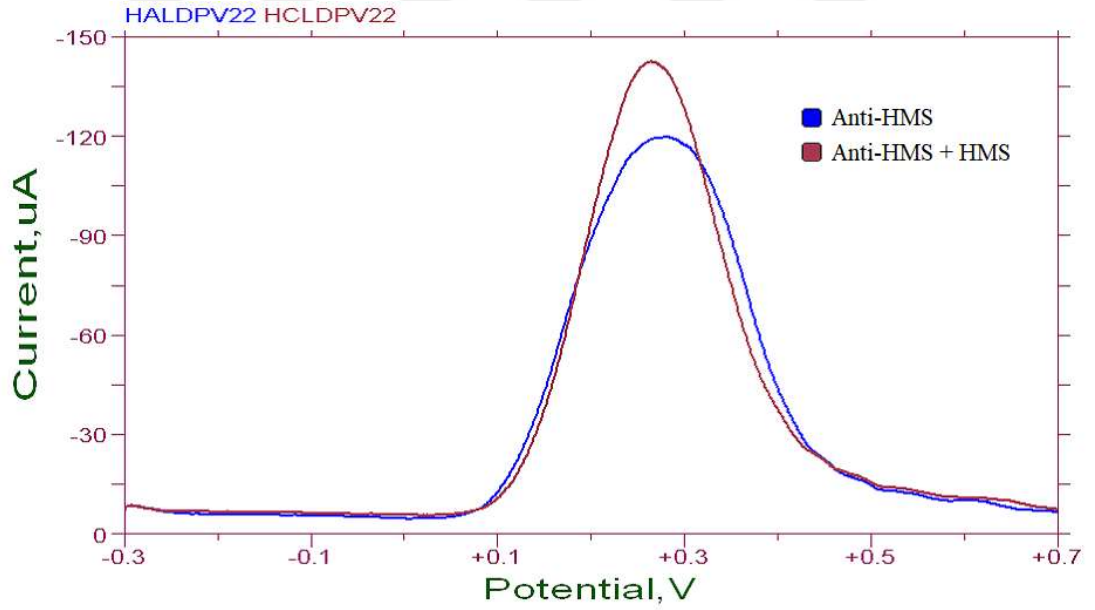
Şekil 28. 50mM EDC+20mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 13 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HALDPV13) ve HMS (HCLDPV13) karşılaştırması



Şekil 29. 50mM EDC+20mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 16 elektrodunun DPV ölçümünün olumsuz yanıtı



Şekil 30. 1mM EDC+3mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 25 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HALDPV25) ve HMS (HCLDPV25) karşılaştırması



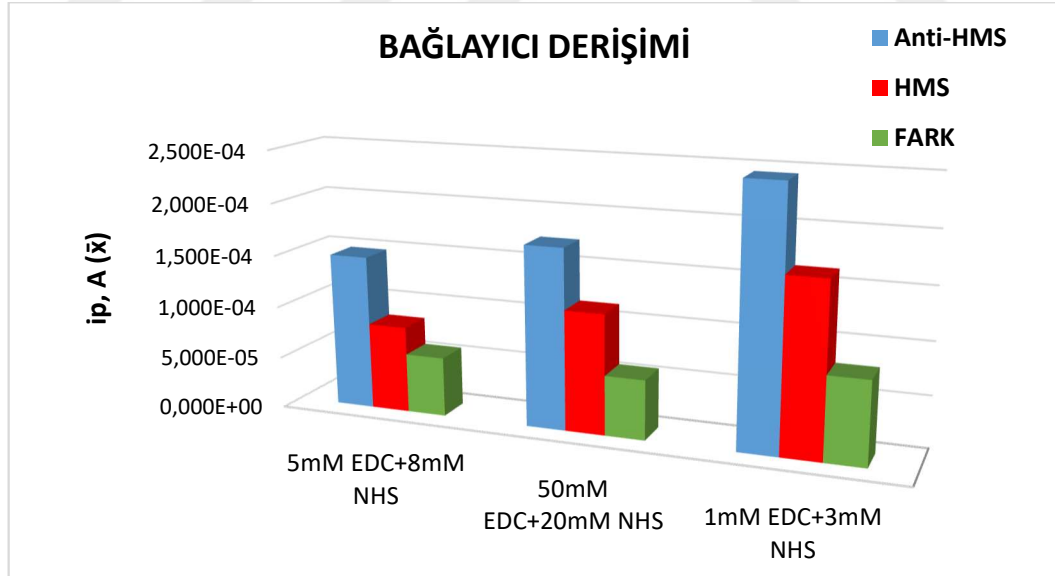
Şekil 31. 1mM EDC+3mM NHS derişimindeki bağlayıcı için 100 μ M HMS standardına ait KPE 22 elektrodunun DPV ölçümünün olumsuz yanıtı

Tablo 13. Üç Farklı Bağlayıcı Derişimi İçin KPE Sonuçlarının Karşılaştırılması

100 µM HMS	5mM EDC +8mM NHS	50mM EDC +20mM NHS	1mM EDC +3mM NHS
Olumlu Sonuç Sayısı	n=7	n=7	n=4
Toplam Elektrot Sayısı	n=10	n=10	n=10

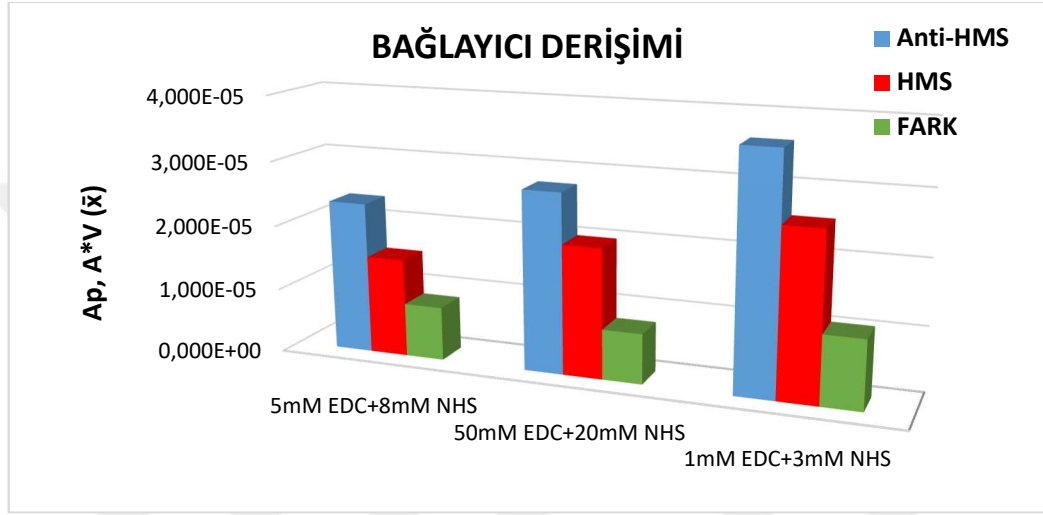
Tablo 14. Üç farklı derişimde bağlayıcı kullanımına ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

ip, A ($\bar{x}$)	5mM EDC+8mM NHS, n=7	BSS (%)	50mM EDC+20mM NHS, n=6	BSS (%)	1mM EDC+3mM NHS, n=4	BSS (%)
Anti-HMS	1,4826 x10 ⁻⁴	49,53	1,7280 x10 ⁻⁴	44,85	2,4493 x10 ⁻⁴	62,23
HMS	8,320 x10 ⁻⁵	52,04	1,1517 x10 ⁻⁴	48,57	1,6470 x10 ⁻⁴	52,82
FARK	5,711 x10 ⁻⁵	95,27	5,763 x10 ⁻⁵	77,60	8,023 x10 ⁻⁵	88,40

**Grafik 9.** Üç farklı bağlayıcı derişimleri için DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

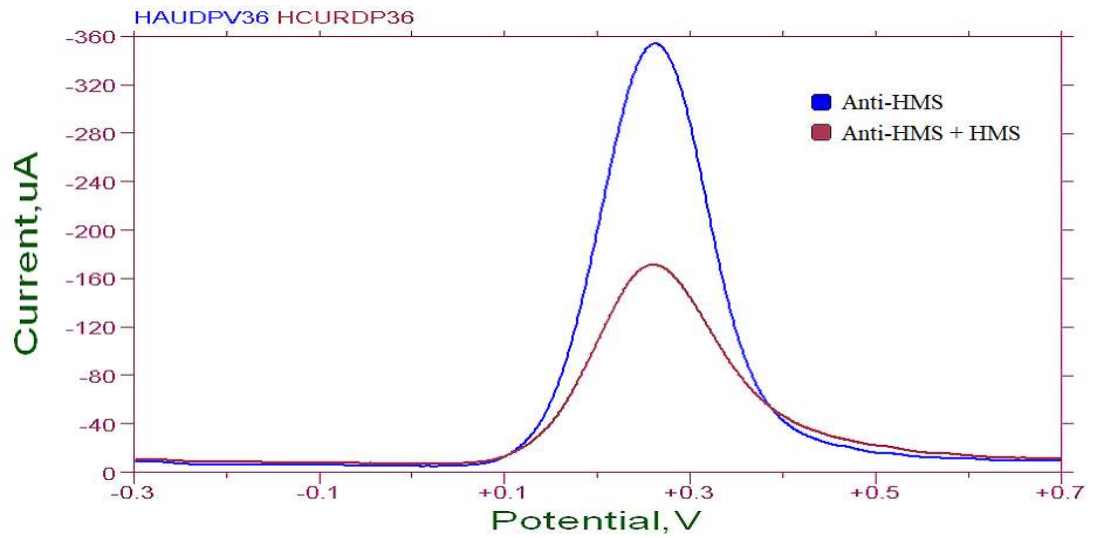
Tablo 15. Üç farklı derişimde bağlayıcı kullanımına ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

Ap, A*V ($\bar{x}$)	5mM EDC+8mM NHS, n=7	BSS (%)	50mM EDC+20mM NHS, n=6	BSS (%)	1mM EDC+3mM NHS, n=4	BSS (%)
Anti-HMS	$2,342 \times 10^{-5}$	39,74	$2,766 \times 10^{-5}$	34,42	$3,618 \times 10^{-5}$	53,46
HMS	$1,515 \times 10^{-5}$	49,01	$1,993 \times 10^{-5}$	36,18	$2,555 \times 10^{-5}$	41,18
FARK	$0,828 \times 10^{-5}$	79,27	$0,773 \times 10^{-5}$	66,23	$1,063 \times 10^{-5}$	88,68

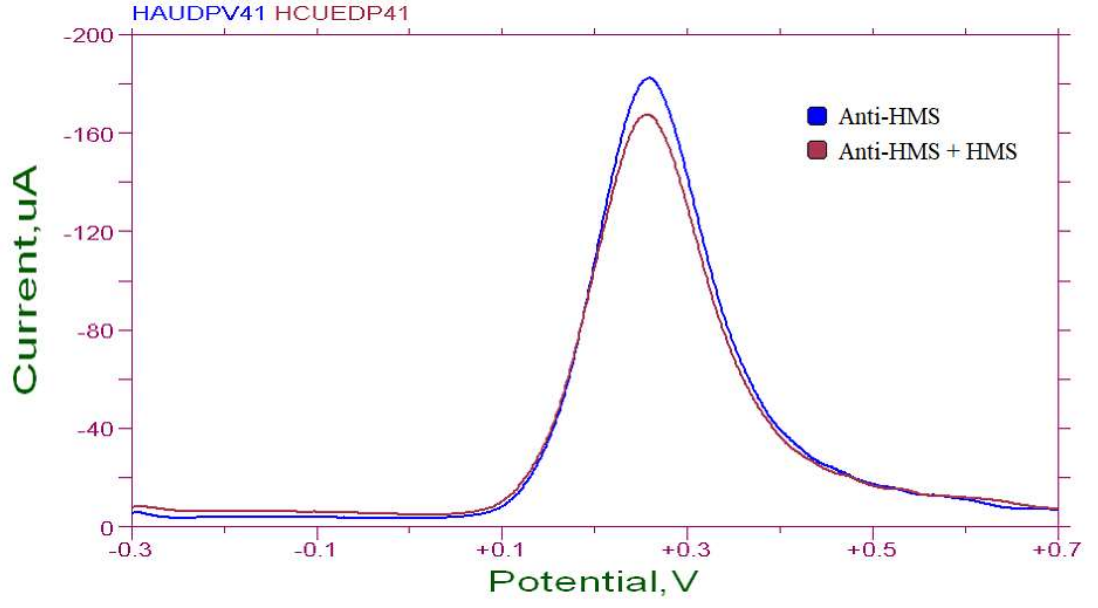


Grafik 10. Üç farklı bağlayıcı derişimleri için DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

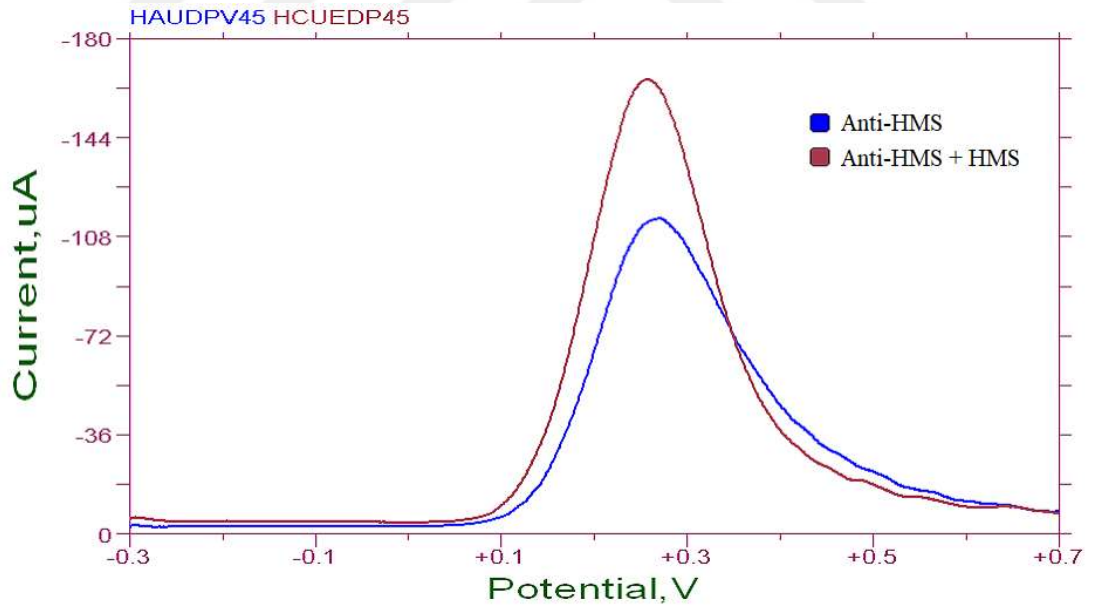
4.1.2.3. İnkübasyon Sıcaklığına Ait Bulgular



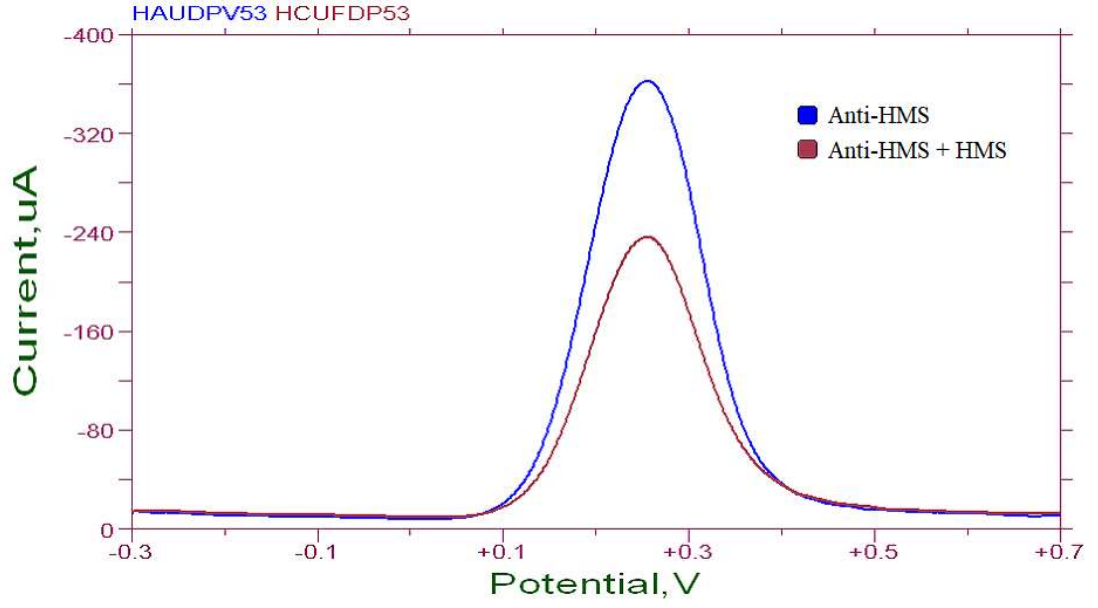
Şekil 32. 100 μ M HMS standardı için KPE 36 elektrodunun oda koşulundaki DPV ölçümünün Anti-HMS (HAUDP36) ve HMS (HCURDP36) karşılaştırması



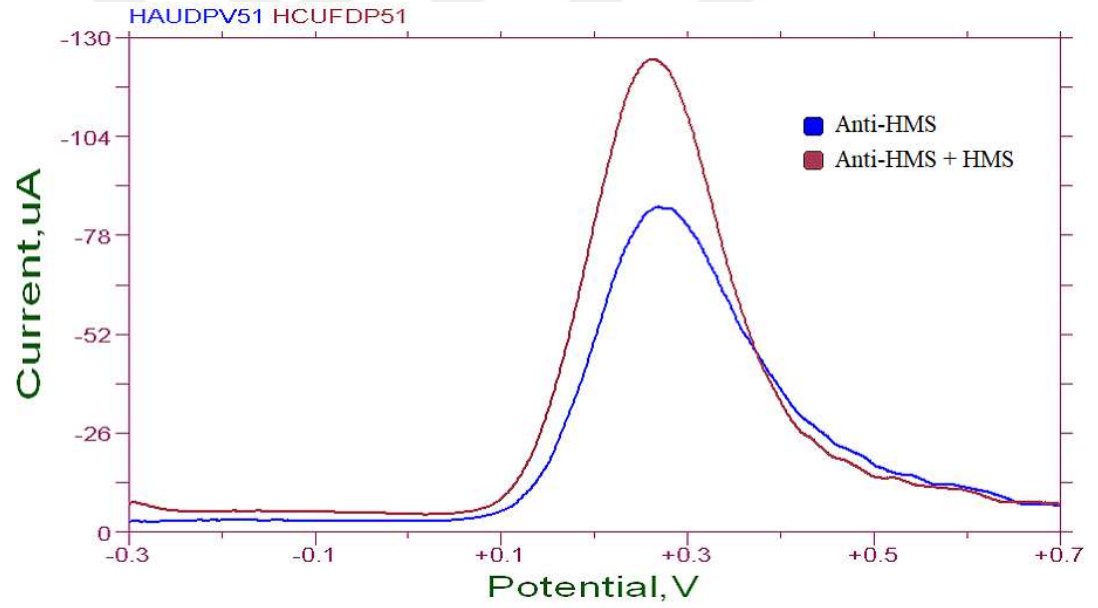
Şekil 33. 100 μM HMS standardı için KPE 41 elektrodunun etüv koşulundaki DPV ölçümünün Anti-HMS (HAUDPV41) ve HMS (HCUEDP41) karşılaştırması



Şekil 34. 100 μM HMS standardı için KPE 45 elektrodunun etüv koşulundaki DPV ölçümünün olumsuz yanıtı



Şekil 35. 100 μ M HMS standardı için KPE 53 elektrodunun fan koşulundaki DPV ölçümünün Anti-HMS (HAUDPV53) ve HMS (HCUFDP53) karşılaştırması



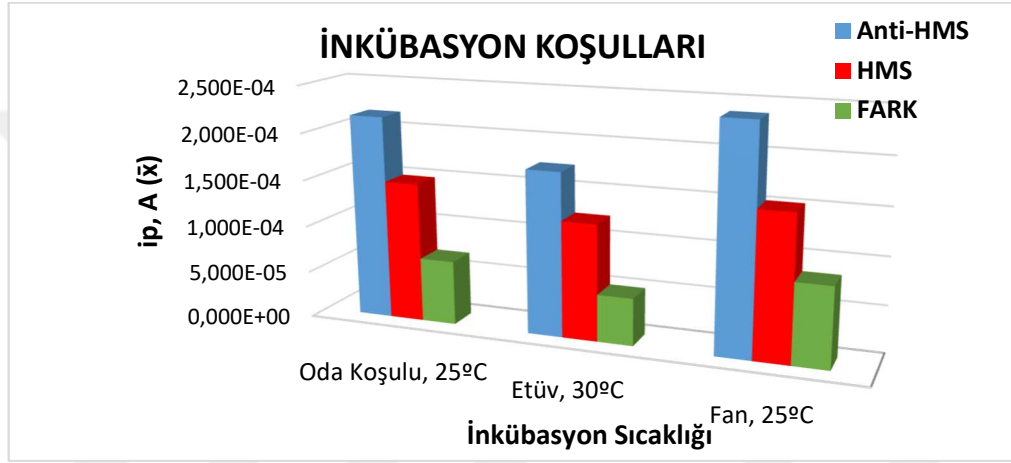
Şekil 36. 100 μ M HMS standardı için KPE 51 elektrodunun fan koşulundaki DPV ölçümünün olumsuz yanıtı

Tablo 16. Üç farklı inkübasyon sıcaklığı için KPE sonuçlarının karşılaştırılması

100 μ M HMS	Oda Koşulu	Etüv	Fan
Olumlu Sonuç Sayısı	n=6	n=7	n=5
Toplam Elektrot Sayısı	n=8	n=11	n=11

Tablo 17. Üç farklı inkübasyon sıcaklığı koşullarında HMS'ye ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

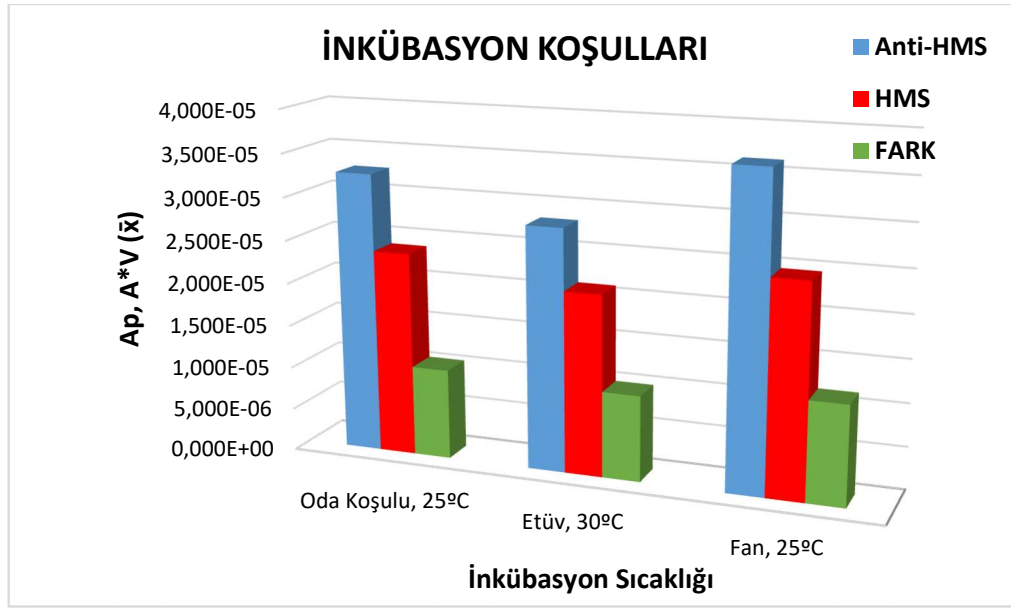
ip, A ($\bar{x}$)	Oda Koşulu, 25°C, n=6	BSS (%)	Etüv, 30°C, n=7	BSS (%)	Fan, 25°C, n=5	BSS (%)
Anti-HMS	2,1700 x10 ⁻⁴	53,13	1,7372 x10 ⁻⁴	40,82	2,3818 x10 ⁻⁴	43,34
HMS	1,4853 x10 ⁻⁴	50,98	1,2345 x10 ⁻⁴	28,20	1,5301 x10 ⁻⁴	38,17
FARK	6,847 x10 ⁻⁵	92,25	5,027 x10 ⁻⁵	111,75	8,517 x10 ⁻⁵	58,28



Grafik 11. 100 µM HMS için farklı inkübasyon koşullarındaki DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 18. Üç farklı inkübasyon sıcaklığı koşullarında HMS'ye ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

Ap, A*V ($\bar{x}$)	Oda Koşulu, 25°C, n=4	BSS (%)	Etüv, 30°C, n=4	BSS (%)	Fan, 25°C, n=5	BSS (%)
Anti-HMS	3,266 x10 ⁻⁵	42,94	2,821 x10 ⁻⁵	34,04	3,635 x10 ⁻⁵	38,84
HMS	2,380 x10 ⁻⁵	36,97	2,111 x10 ⁻⁵	18,48	2,466 x10 ⁻⁵	29,27
FARK	1,052 x10 ⁻⁵	90,48	1,005 x10 ⁻⁵	96,00	1,169 x10 ⁻⁵	62,93



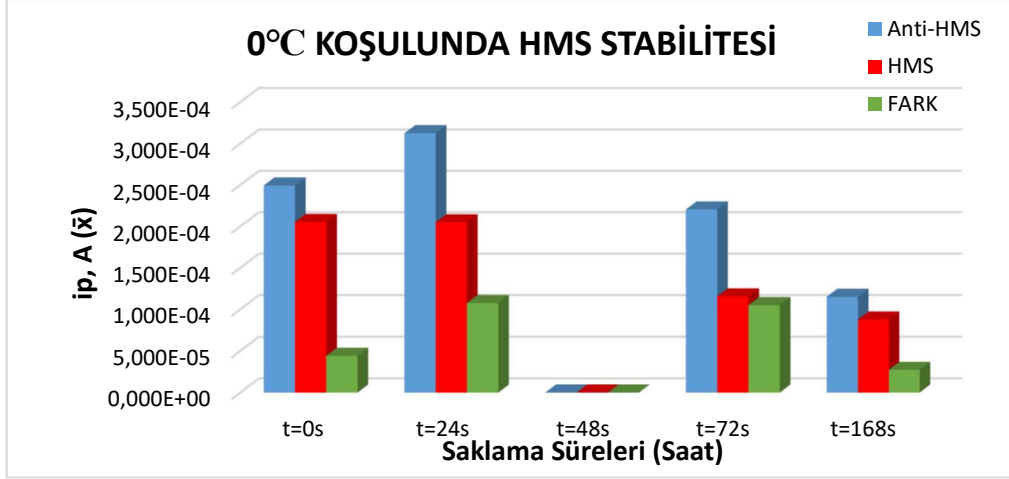
Grafik 12. 100 μ M HMS için farklı inkübasyon koşullarındaki DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

4.1.2.4. Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular

4.1.2.4.1. Homosistein Stabilesine Ait Bulgular

Tablo 19. HMS için 0°C stabilite koşulundaki saklama sürelerine ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

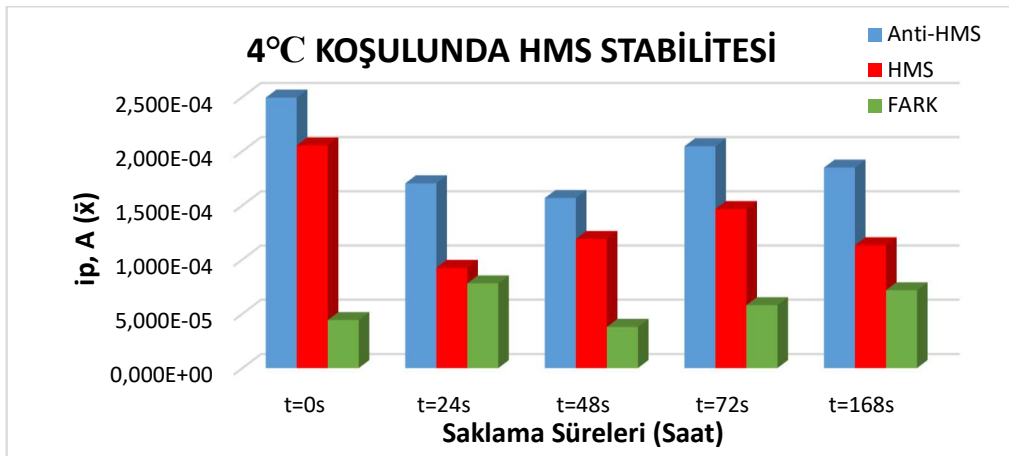
	ip (A), 0°C KOŞULU					
	Anti-HMS		HMS		FARK	
Saklama Süresi(saatt)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	2,494x10 ⁻⁴	51,80	2,053x10 ⁻⁴	58,01	4,413x10 ⁻⁵	71,20
t=24s	3,125x10 ⁻⁴	33,12	2,050x10 ⁻⁴	29,66	1,075x10 ⁻⁴	61,67
t=48s	-	-	-	-	-	-
t=72s	2,205x10 ⁻⁴	21,68	1,155x10 ⁻⁴	9,18	1,050x10 ⁻⁴	54,95
t=168s	1,150x10 ⁻⁴	43,04	8,770x10 ⁻⁵	61,80	2,733x10 ⁻⁵	34,43



Grafik 13. HMS için 0°C koşullundaki farklı saklama sürelerine ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 20. HMS için 4°C stabilite koşullundaki saklama sürelerine ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

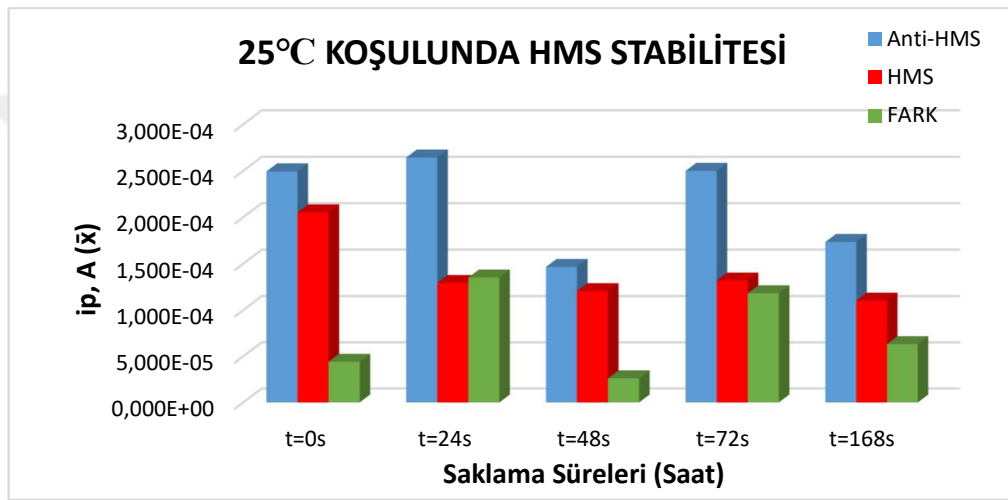
Saklama Süresi(saat)	ip (A), 4°C KOŞULU					
	Anti-HMS		HMS		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	2,494x10 ⁻⁴	51,80	2,053x10 ⁻⁴	58,01	4,413x10 ⁻⁵	71,20
t=24s	1,703x10 ⁻⁴	26,89	9,233x10 ⁻⁵	14,84	7,797x10 ⁻⁵	41,85
t=48s	1,567x10 ⁻⁴	15,76	1,188x10 ⁻⁴	17,76	3,790x10 ⁻⁵	28,76
t=72s	2,044x10 ⁻⁴	35,67	1,465x10 ⁻⁴	32,76	5,792x10 ⁻⁵	84,11
t=168s	1,848x10 ⁻⁴	49,13	1,131x10 ⁻⁴	20,16	7,164x10 ⁻⁵	103,49



Grafik 14. HMS için 4°C koşullundaki farklı saklama sürelerine ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 21. HMS için 25°C stabilite koşulundaki saklama sürelerine ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

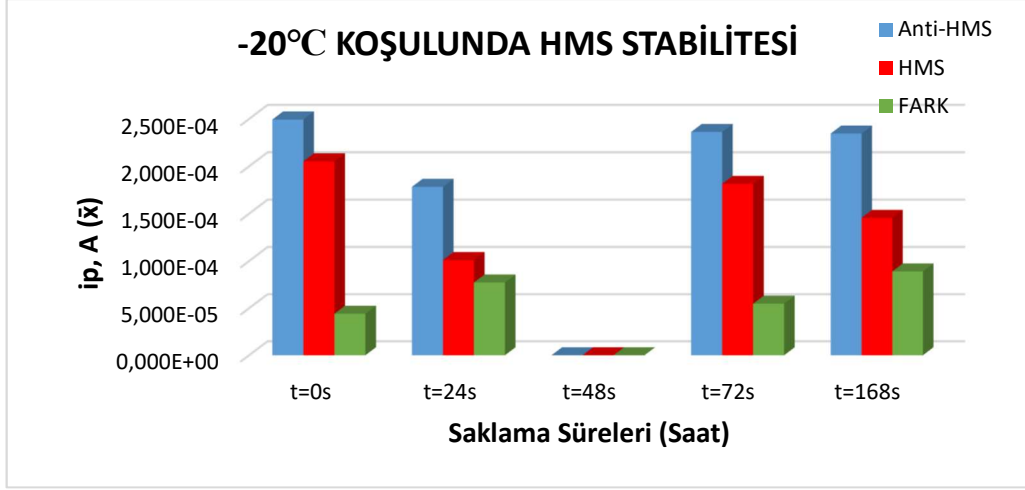
Saklama Süresi(saat)	ip (A), 25°C KOŞULU					
	Anti-HMS		HMS		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	2,494x10 ⁻⁴	51,80	2,053x10 ⁻⁴	58,01	4,413x10 ⁻⁵	71,20
t=24s	2,644x10 ⁻⁴	12,25	1,293x10 ⁻⁴	7,04	1,351x10 ⁻⁴	30,72
t=48s	1,465x10 ⁻⁴	15,90	1,204x10 ⁻⁴	15,45	2,610x10 ⁻⁵	21,07
t=72s	2,500x10 ⁻⁴	21,32	1,318x10 ⁻⁴	24,20	1,182x10 ⁻⁴	29,70
t=168s	1,735x10 ⁻⁴	13,37	1,103x10 ⁻⁴	10,52	6,320x10 ⁻⁵	18,20



Grafik 15. HMS için 25°C koşulundaki farklı saklama sürelerine ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 22. HMS için -20°C stabilite koşulundaki saklama sürelerine ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

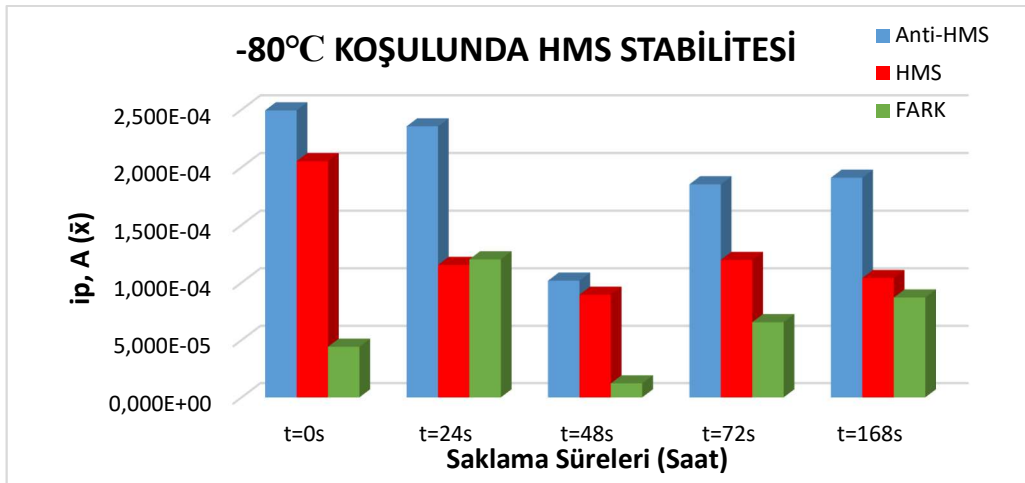
Saklama Süresi(saat)	ip (A), -20°C KOŞULU					
	Anti-HMS		HMS		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	2,494x10 ⁻⁴	51,80	2,053x10 ⁻⁴	58,01	4,413x10 ⁻⁵	71,20
t=24s	1,784x10 ⁻⁴	25,50	1,010x10 ⁻⁴	48,71	7,734x10 ⁻⁵	23,80
t=48s	-	-	-	-	-	-
t=72s	2,363x10 ⁻⁴	20,02	1,815x10 ⁻⁴	49,86	5,480x10 ⁻⁵	79,93
t=168s	2,346x10 ⁻⁴	35,04	1,456x10 ⁻⁴	10,03	8,900x10 ⁻⁵	85,62



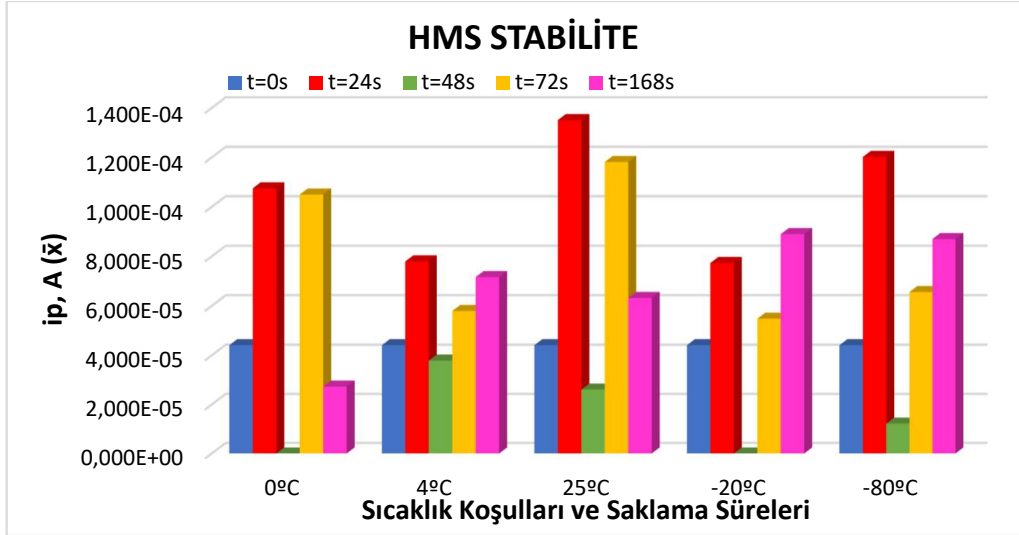
Grafik 16. HMS için -20°C koşulundaki farklı saklama sürelerine ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 23. HMS için -80°C stabilite koşulundaki saklama sürelerine ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

ip (A), -80°C KOŞULU						
Saklama Süresi(saat)	Anti-HMS		HMS		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	2,494x10 ⁻⁴	51,80	2,053x10 ⁻⁴	58,01	4,413x10 ⁻⁵	71,20
t=24s	2,355x10 ⁻⁴	21,32	1,153x10 ⁻⁴	53,86	1,202x10 ⁻⁴	30,95
t=48s	1,017x10 ⁻⁴	9,44	8,946x10 ⁻⁵	3,58	1,221x10 ⁻⁵	54,92
t=72s	1,852x10 ⁻⁴	22,46	1,197x10 ⁻⁴	45,28	6,557x10 ⁻⁵	25,95
t=168s	1,909x10 ⁻⁴	29,28	1,039x10 ⁻⁴	73,05	8,702x10 ⁻⁵	22,99



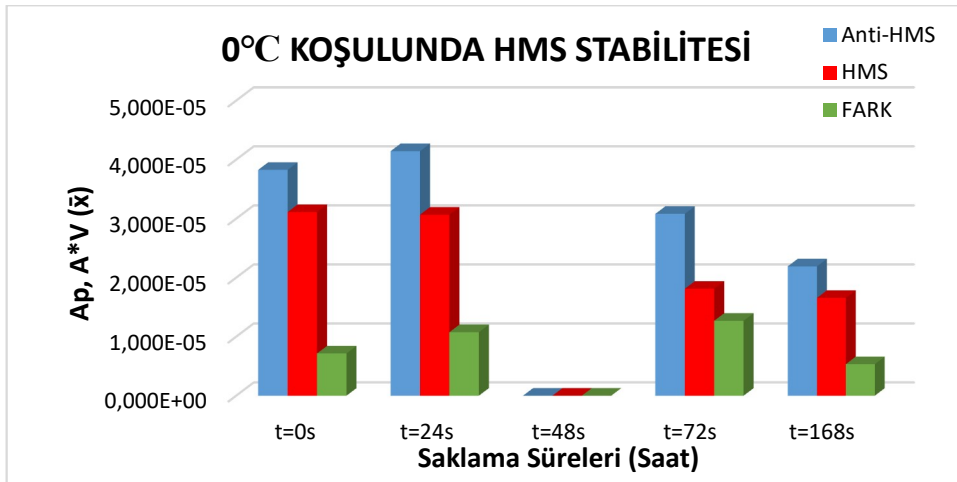
Grafik 17. HMS için -80°C koşulundaki farklı saklama sürelerine ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması



Grafik 18. HMS (FARK) için farklı stabilite koşullarındaki DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 24. HMS için 0°C stabilite koşulundaki saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

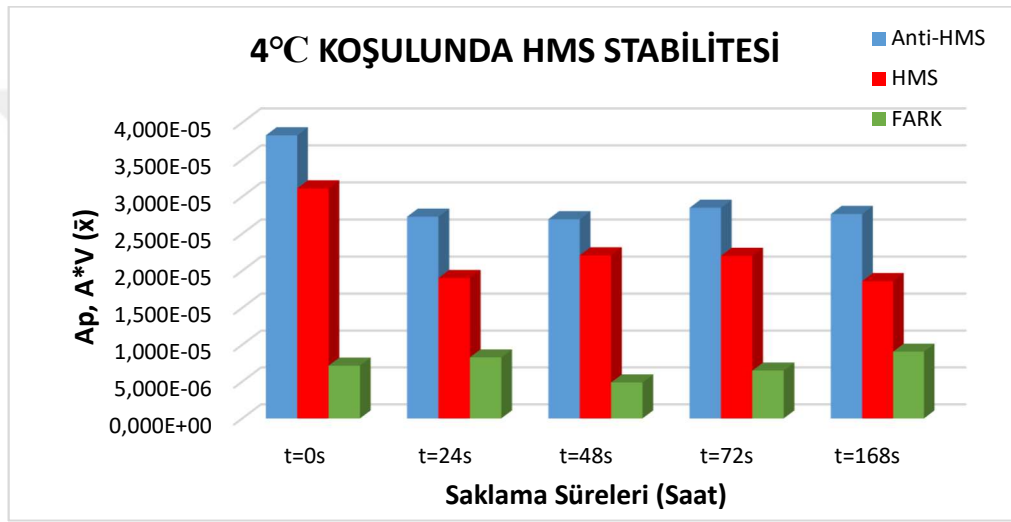
Ap (A*V), 0°C KOŞULU						
Saklama Süresi(saat)	Anti-HMS		HMS		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	$3,827 \times 10^{-5}$	43,98	$3,112 \times 10^{-5}$	46,62	$7,159 \times 10^{-6}$	66,20
t=24s	$4,144 \times 10^{-5}$	26,33	$3,067 \times 10^{-5}$	20,26	$1,077 \times 10^{-5}$	51,40
t=48s	-	-	-	-	-	-
t=72s	$3,082 \times 10^{-5}$	18,18	$1,812 \times 10^{-5}$	9,39	$1,270 \times 10^{-5}$	57,48
t=168s	$2,192 \times 10^{-5}$	19,63	$1,657 \times 10^{-5}$	44,24	$5,349 \times 10^{-6}$	64,15



Grafik 19. HMS için 0°C koşulundaki farklı saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 25. HMS için 4°C stabilite koşulundaki saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

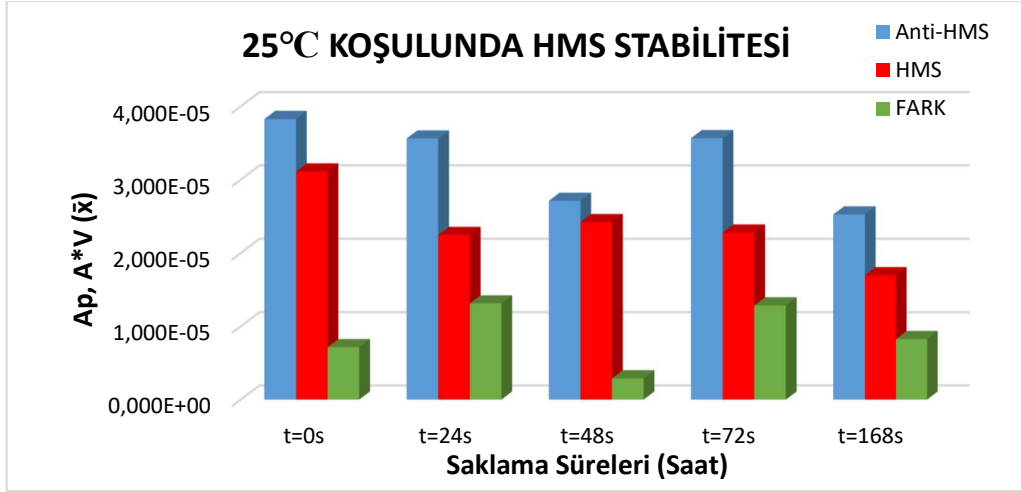
	Ap (A*V), 4°C KOŞULU					
	Anti-HMS		HMS		FARK	
Saklama Süresi(saatt)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	$3,827 \times 10^{-5}$	43,98	$3,112 \times 10^{-5}$	46,62	$7,159 \times 10^{-6}$	66,20
t=24s	$2,729 \times 10^{-5}$	28,31	$1,901 \times 10^{-5}$	25,26	$8,280 \times 10^{-6}$	53,66
t=48s	$2,695 \times 10^{-5}$	11,52	$2,207 \times 10^{-5}$	17,27	$4,878 \times 10^{-6}$	27,08
t=72s	$2,850 \times 10^{-5}$	32,98	$2,201 \times 10^{-5}$	26,82	$6,490 \times 10^{-6}$	89,06
t=168s	$2,766 \times 10^{-5}$	39,49	$1,861 \times 10^{-5}$	16,67	$9,055 \times 10^{-6}$	98,89



Grafik 20. HMS için 4°C koşulundaki farklı saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 26. HMS için 25°C koşulundaki saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

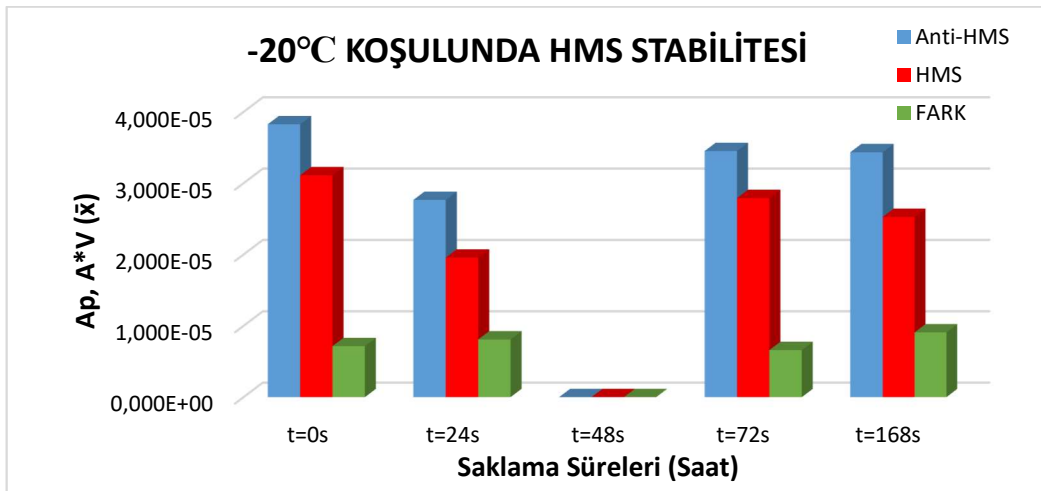
	Ap (A*V), 25°C KOŞULU					
	Anti-HMS		HMS		FARK	
Saklama Süresi(saatt)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	$3,827 \times 10^{-5}$	43,98	$3,112 \times 10^{-5}$	46,62	$7,159 \times 10^{-6}$	66,20
t=24s	$3,562 \times 10^{-5}$	11,80	$2,247 \times 10^{-5}$	11,61	$1,316 \times 10^{-5}$	12,21
t=48s	$2,712 \times 10^{-5}$	10,33	$2,421 \times 10^{-5}$	10,74	$2,910 \times 10^{-6}$	6,90
t=72s	$3,567 \times 10^{-5}$	19,94	$2,280 \times 10^{-5}$	18,86	$1,287 \times 10^{-5}$	39,84
t=168s	$2,526 \times 10^{-5}$	9,92	$1,698 \times 10^{-5}$	10,65	$8,280 \times 10^{-6}$	7,32



Grafik 21. HMS için 25°C koşulundaki farklı saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 27. HMS için -20°C stabilite koşulundaki saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

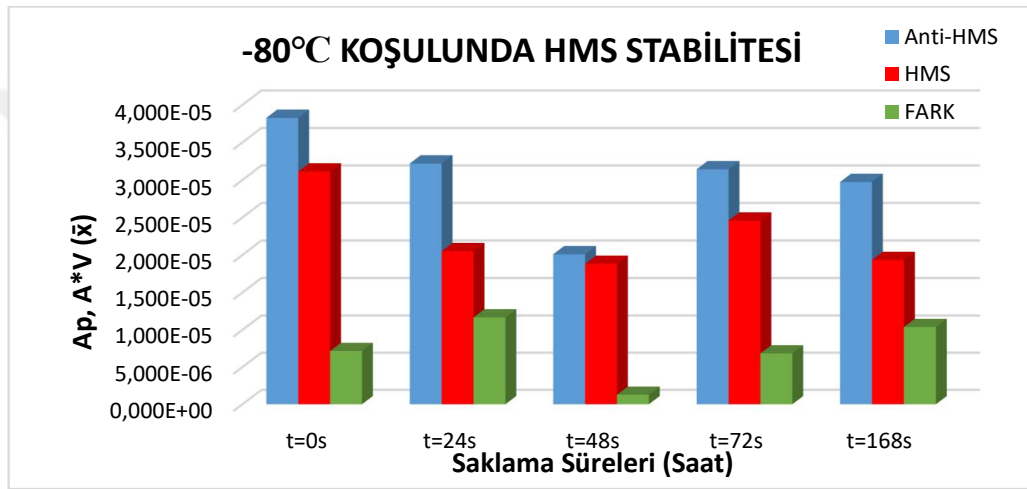
Ap (A*V), -20°C KOŞULU						
Saklama Süresi(saat)	Anti-HMS		HMS		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	$3,827 \times 10^{-5}$	43,98	$3,112 \times 10^{-5}$	46,62	$7,159 \times 10^{-6}$	66,20
t=24s	$2,766 \times 10^{-5}$	14,86	$1,95 \times 10^{-5}$	34,36	$8,088 \times 10^{-6}$	38,75
t=48s	-	-	-	-	-	-
t=72s	$3,452 \times 10^{-5}$	16,52	$2,792 \times 10^{-5}$	42,65	$6,607 \times 10^{-6}$	96,97
t=168s	$3,435 \times 10^{-5}$	25,36	$2,527 \times 10^{-5}$	12,70	$9,080 \times 10^{-6}$	106,67



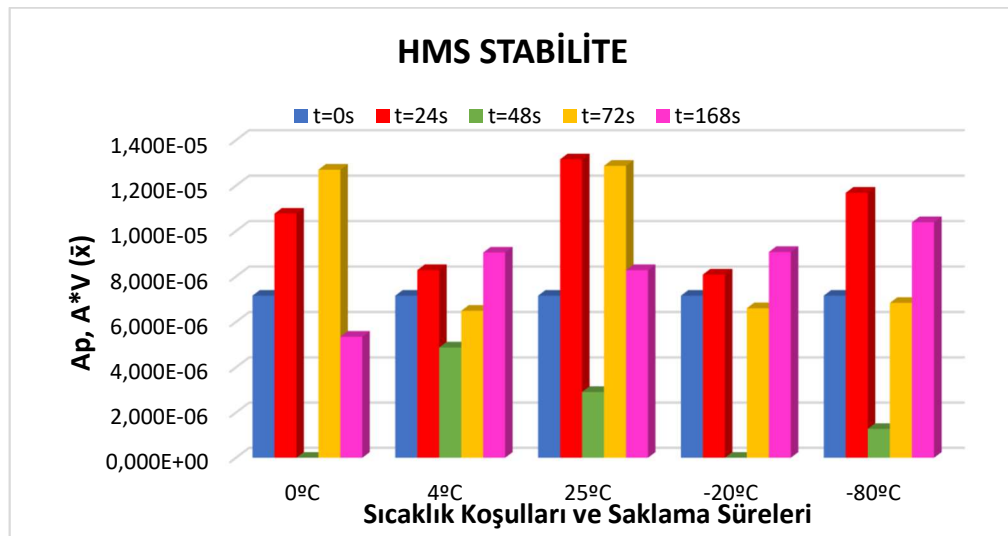
Grafik 22. HMS İçin -20°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 28. HMS İçin -80°C Stabilité Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

Saklama Süresi(saat)	Ap (A*V), -80°C KOŞULU					
	Anti-HMS		HMS		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	3,827x10 ⁻⁵	43,98	3,112x10 ⁻⁵	46,62	7,159x10 ⁻⁶	66,20
t=24s	3,219x10 ⁻⁵	15,89	2,051x10 ⁻⁵	33,17	1,169x10 ⁻⁵	32,76
t=48s	2,010x10 ⁻⁵	5,97	1,883x10 ⁻⁵	9,04	1,277x10 ⁻⁶	83,33
t=72s	3,143x10 ⁻⁵	14,65	2,459x10 ⁻⁵	26,53	6,840x10 ⁻⁶	54,41
t=168s	2,973x10 ⁻⁵	18,18	1,934x10 ⁻⁵	56,48	1,039x10 ⁻⁵	56,31



Grafik 23. HMS için -80°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması

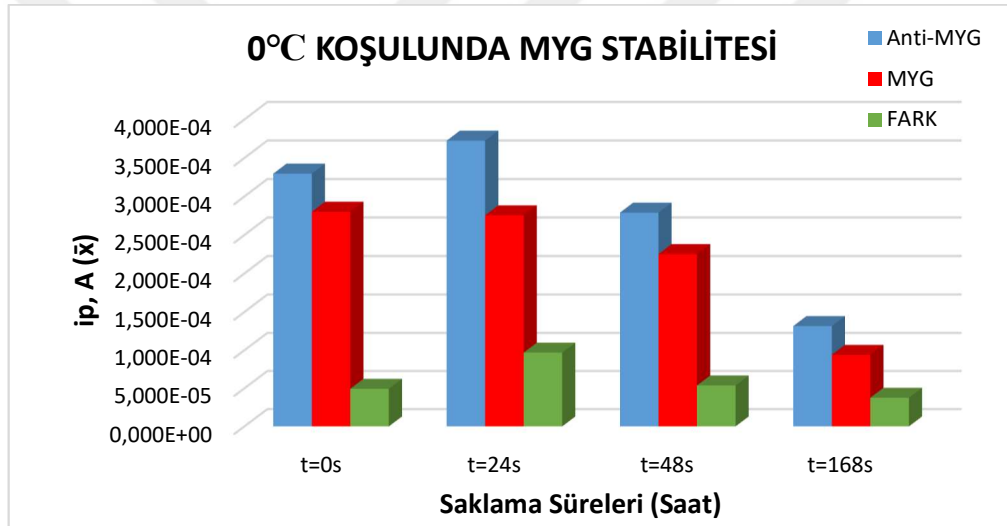


Grafik 24. HMS (FARK) İçin Farklı Stabilité Koşullarındaki DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması

4.1.2.4.2. Miyogloblin Stabilitesine Ait Bulgular

Tablo 29. MYG İçin 0°C Stabilitate Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

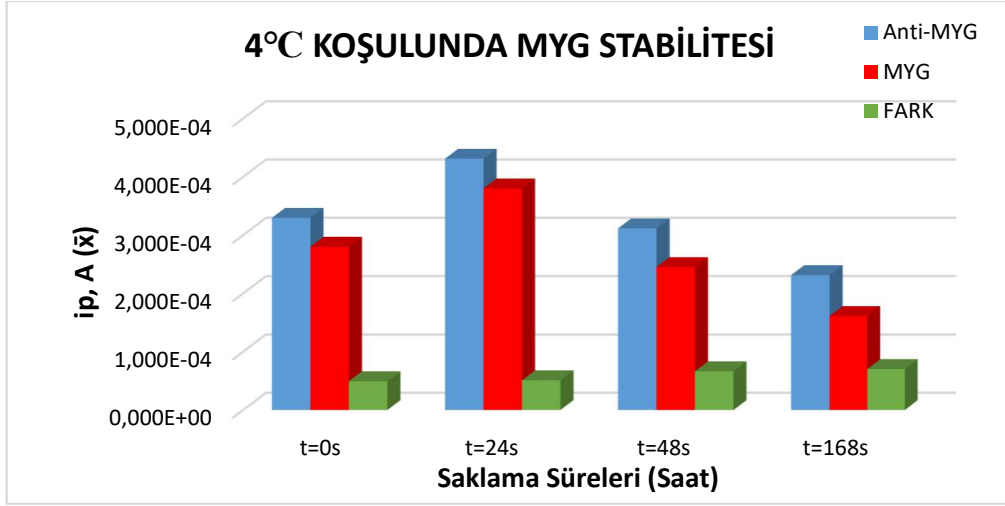
	ip (A), 0°C KOŞULU					
	Anti-MYG		MYG		FARK	
Saklama Süresi(saatt)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	$3,297 \times 10^{-4}$	61,63	$2,802 \times 10^{-4}$	62,03	$4,947 \times 10^{-5}$	62,15
t=24s	$3,725 \times 10^{-4}$	69,53	$2,756 \times 10^{-4}$	53,77	$9,690 \times 10^{-5}$	114,24
t=48s	$2,790 \times 10^{-4}$	75,52	$2,252 \times 10^{-4}$	77,13	$5,380 \times 10^{-5}$	85,13
t=168s	$1,318 \times 10^{-4}$	-	$9,408 \times 10^{-5}$	-	$3,772 \times 10^{-5}$	-



Grafik 25. MYG İçin 0°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 30. MYG için 4°C Stabilitate Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

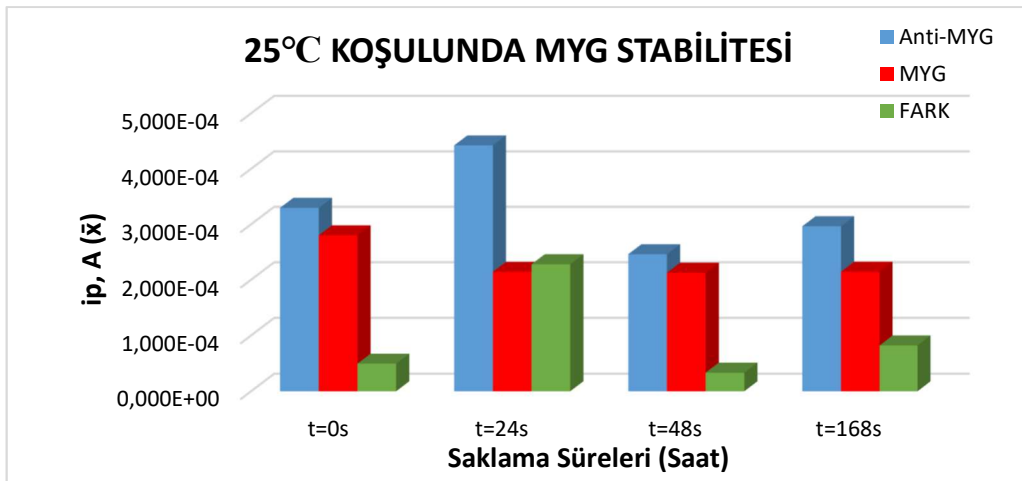
	ip (A), 4°C KOŞULU					
	Anti-MYG		MYG		FARK	
Saklama Süresi(saatt)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	$3,297 \times 10^{-4}$	61,63	$2,802 \times 10^{-4}$	62,03	$4,947 \times 10^{-5}$	62,15
t=24s	$4,312 \times 10^{-4}$	17,49	$3,802 \times 10^{-4}$	23,41	$5,100 \times 10^{-5}$	26,47
t=48s	$3,117 \times 10^{-4}$	38,47	$2,452 \times 10^{-4}$	27,69	$6,650 \times 10^{-5}$	80,00
t=168s	$2,315 \times 10^{-4}$	24,54	$1,613 \times 10^{-4}$	29,82	$7,027 \times 10^{-5}$	38,18



Grafik 26. MYG İçin 4°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 31. MYG İçin 25°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

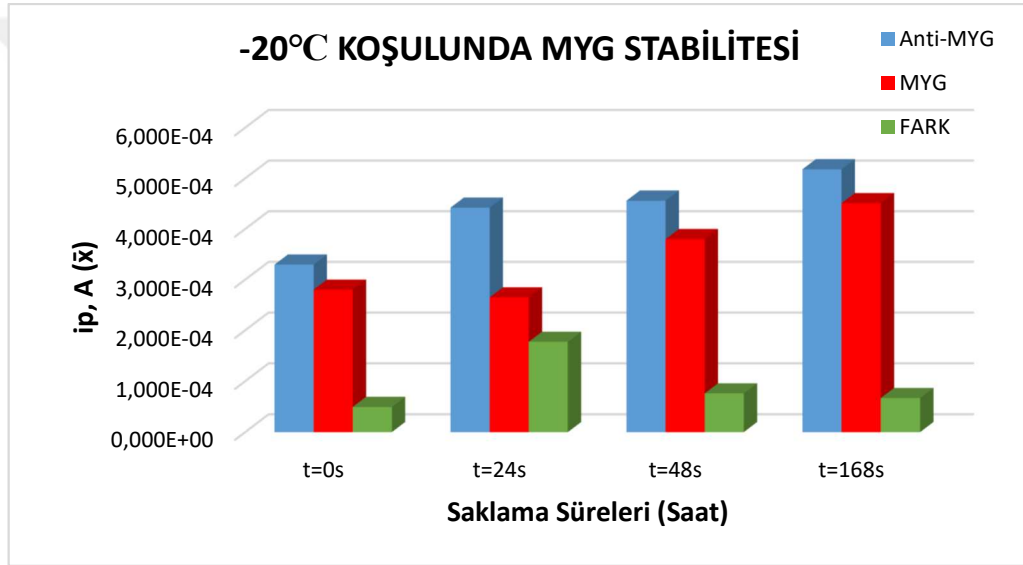
ip (A), 25°C KOŞULU						
Saklama Süresi(saat)	Anti-MYG		MYG		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	$3,297 \times 10^{-4}$	61,63	$2,802 \times 10^{-4}$	62,03	$4,947 \times 10^{-5}$	62,15
t=24s	$4,423 \times 10^{-4}$	-	$2,143 \times 10^{-4}$	-	$2,280 \times 10^{-4}$	-
t=48s	$2,461 \times 10^{-4}$	30,84	$2,128 \times 10^{-4}$	48,97	$3,335 \times 10^{-5}$	84,98
t=168s	$2,965 \times 10^{-4}$	-	$2,145 \times 10^{-4}$	-	$8,200 \times 10^{-5}$	-



Grafik 27. MYG İçin 25°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 32. MYG İçin -20°C Stabilité Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

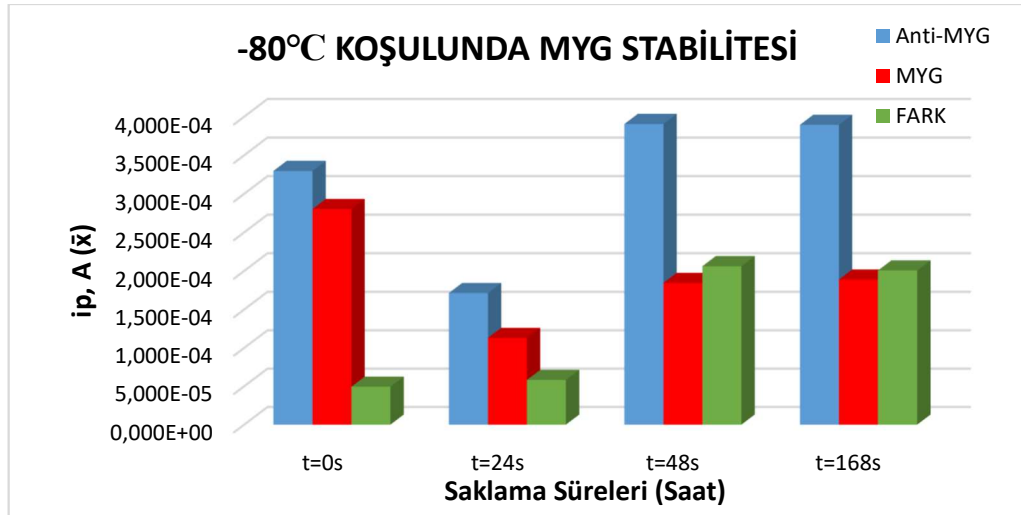
	ip (A), -20°C KOŞULU					
	Anti-MYG		MYG		FARK	
Saklama Süresi(saat)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	3,297x10 ⁻⁴	61,63	2,802x10 ⁻⁴	62,03	4,947x10 ⁻⁵	62,15
t=24s	4,421x10 ⁻⁴	64,04	2,648x10 ⁻⁴	79,00	1,773x10 ⁻⁴	41,74
t=48s	4,559x10 ⁻⁴	84,21	3,799x10 ⁻⁴	79,63	7,600x10 ⁻⁵	107,11
t=168s	5,179x10 ⁻⁴	-	4,510x10 ⁻⁴	-	6,690x10 ⁻⁵	-



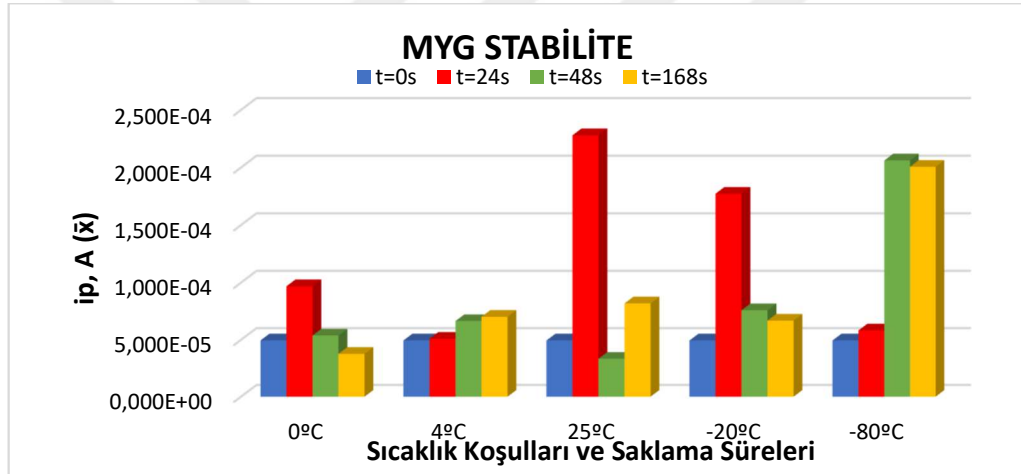
Grafik 28. MYG İçin -20°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 33. MYG İçin -80°C Stabilité Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

	ip (A), -80°C KOŞULU					
	Anti-MYG		MYG		FARK	
Saklama Süresi(saat)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	3,297x10 ⁻⁴	61,63	2,802x10 ⁻⁴	62,03	4,947x10 ⁻⁵	62,15
t=24s	1,714x10 ⁻⁴	60,39	1,131x10 ⁻⁴	35,81	5,828x10 ⁻⁵	112,71
t=48s	3,906x10 ⁻⁴	39,73	1,844x10 ⁻⁴	98,05	2,062x10 ⁻⁴	36,32
t=168s	3,894x10 ⁻⁴	43,27	1,888x10 ⁻⁴	48,46	2,006x10 ⁻⁴	43,67



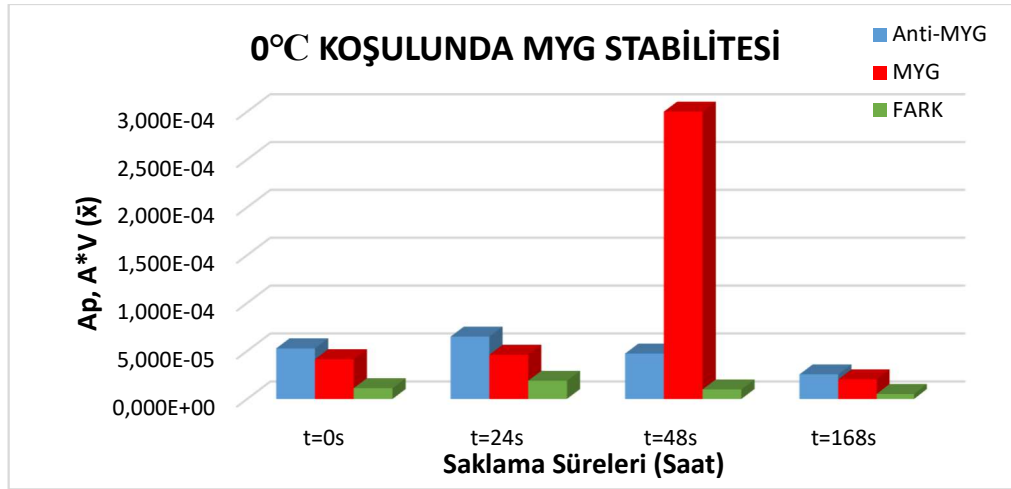
Grafik 29. MYG İçin -80°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması



Grafik 30. MYG (FARK) İçin Farklı Stabilitate Koşullarındaki DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 34. MYG İçin 0°C Stabilitate Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

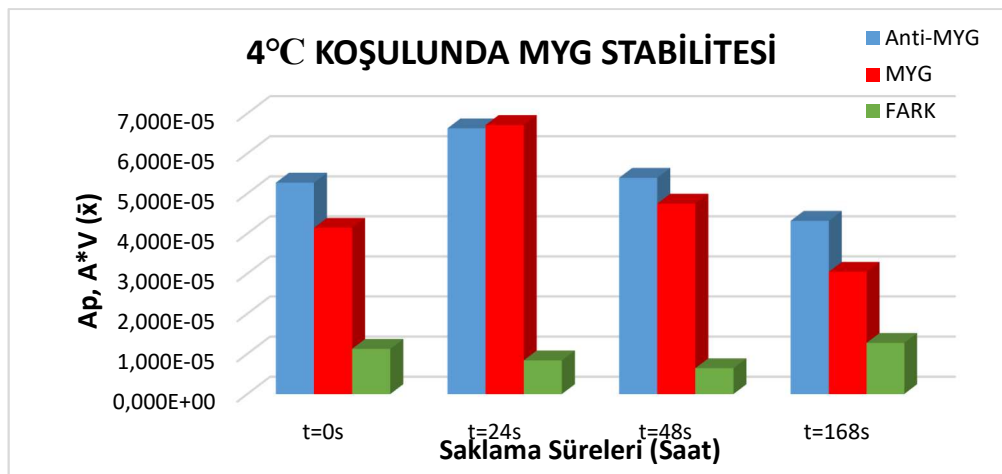
	Ap (A*V), 0°C KOŞULU					
	Anti-MYG		MYG		FARK	
Saklama Süresi(saat)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	5,272x10 ⁻⁵	44,40	4,145x10 ⁻⁵	49,28	1,127x10 ⁻⁵	44,64
t=24s	6,505x10 ⁻⁵	79,23	4,608x10 ⁻⁵	59,13	1,897x10 ⁻⁵	128,57
t=48s	4,730x10 ⁻⁵	63,42	3,000x10 ⁻⁴	8,53	9,960x10 ⁻⁶	75,76
t=168s	2,562x10 ⁻⁵	-	2,044x10 ⁻⁵	-	5,180x10 ⁻⁶	-



Grafik 31. MYG İçin 0°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 35. MYG İçin 4°C Stabilitate Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

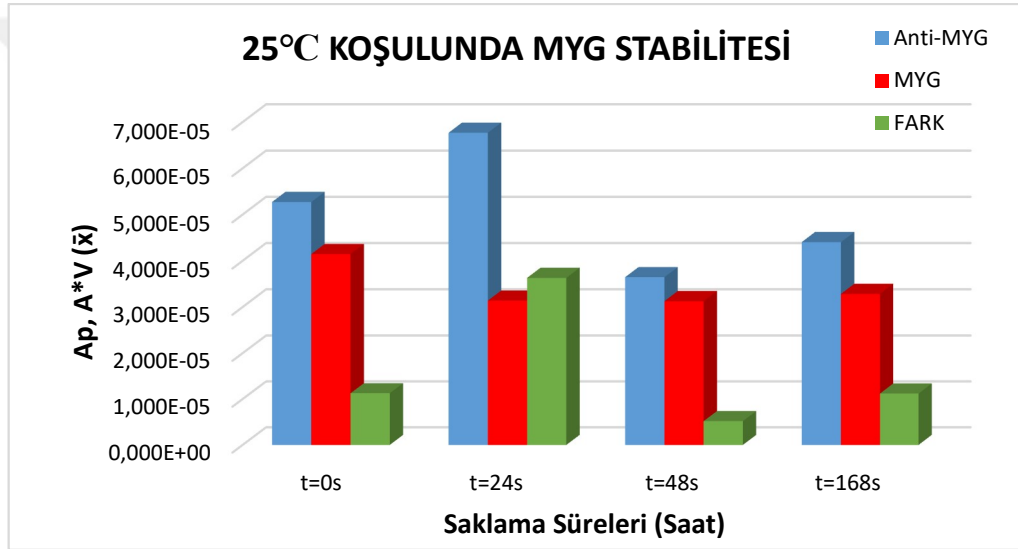
Saklama Süresi(saat)	Ap (A*V), 4°C KOŞULU					
	Anti-MYG		MYG		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	$5,272 \times 10^{-5}$	44,40	$4,145 \times 10^{-5}$	49,28	$1,127 \times 10^{-5}$	44,64
t=24s	$6,629 \times 10^{-5}$	19,64	$6,712 \times 10^{-5}$	-	$8,390 \times 10^{-6}$	-
t=48s	$5,393 \times 10^{-5}$	22,63	$4,749 \times 10^{-5}$	14,35	$6,440 \times 10^{-6}$	125,00
t=168s	$4,319 \times 10^{-5}$	20,88	$3,047 \times 10^{-5}$	25,33	$1,273 \times 10^{-5}$	19,69



Grafik 32. MYG İçin 4°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 36. MYG İçin 25°C Stabilité Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

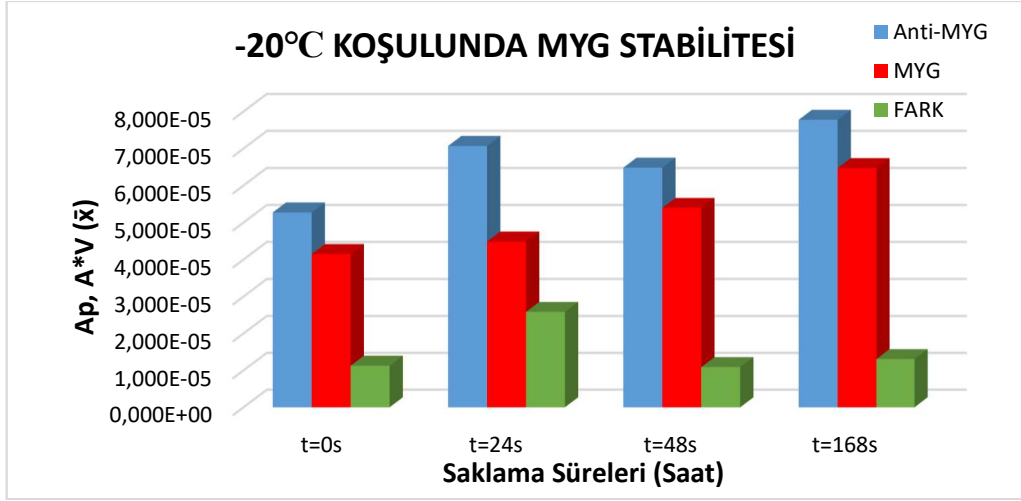
	Ap (A*V), 25°C KOŞULU					
	Anti-MYG		MYG		FARK	
Saklama Süresi(saatt)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	5,272x10 ⁻⁵	44,40	4,145x10 ⁻⁵	49,28	1,127x10 ⁻⁵	44,64
t=24s	6,770x10 ⁻⁵		3,139x10 ⁻⁵		3,631x10 ⁻⁵	
t=48s	3,647x10 ⁻⁵	26,10	3,128x10 ⁻⁵	40,71	5,190x10 ⁻⁶	60,78
t=168s	4,405x10 ⁻⁵	-	3,284x10 ⁻⁵	-	1,121x10 ⁻⁵	-



Grafik 33. MYG İçin 25°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 37. MYG İçin -20°C Stabilité Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

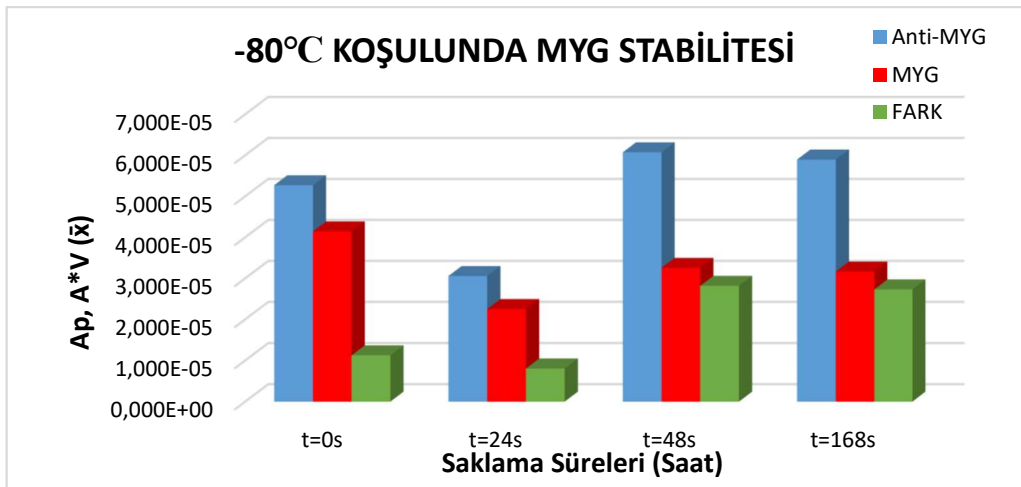
	Ap (A*V), -20°C KOŞULU					
	Anti-MYG		MYG		FARK	
Saklama Süresi(saatt)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	5,272x10 ⁻⁵	44,40	4,145x10 ⁻⁵	49,28	1,127x10 ⁻⁵	44,64
t=24s	7,069x10 ⁻⁵	58,22	4,484x10 ⁻⁵	71,65	2,585x10 ⁻⁵	39,53
t=48s	6,483x10 ⁻⁵	48,30	5,394x10 ⁻⁵	51,21	1,089x10 ⁻⁵	77,78
t=168s	7,776x10 ⁻⁵	-	6,470x10 ⁻⁵	40,0000	1,306x10 ⁻⁵	-



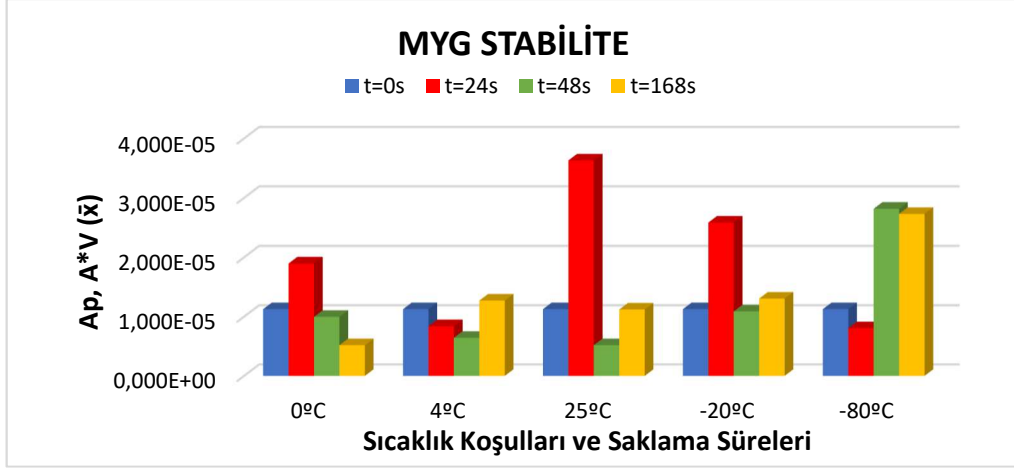
Grafik 34. MYG İçin -20°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 38. MYG İçin -80°C Stabİlİte Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

Saklama Süresi(saat)	Ap (A*V), -80°C KOŞULU					
	Anti-MYG		MYG		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	5,272x10 ⁻⁵	44,40	4,145x10 ⁻⁵	49,28	1,127x10 ⁻⁵	44,64
t=24s	3,058x10 ⁻⁵	62,30	2,253x10 ⁻⁵	52,44	8,060x10 ⁻⁶	90,00
t=48s	6,075x10 ⁻⁵	24,05	3,257x10 ⁻⁵	78,46	2,818x10 ⁻⁵	58,01
t=168s	5,898x10 ⁻⁵	37,52	3,167x10 ⁻⁵	40,51	2,731x10 ⁻⁵	49,82



Grafik 35. MYG İçin -80°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması

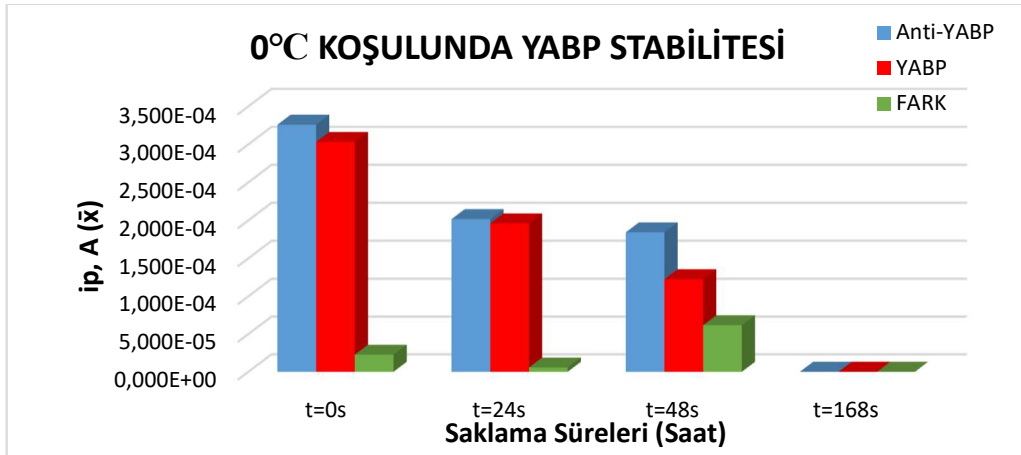


Grafik 36. MYG (FARK) İçin Farklı Stabilite Koşullarındaki DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması

4.1.2.4.3. YABP Stabilesine Ait Bulgular

Tablo 39. YABP İçin 0°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

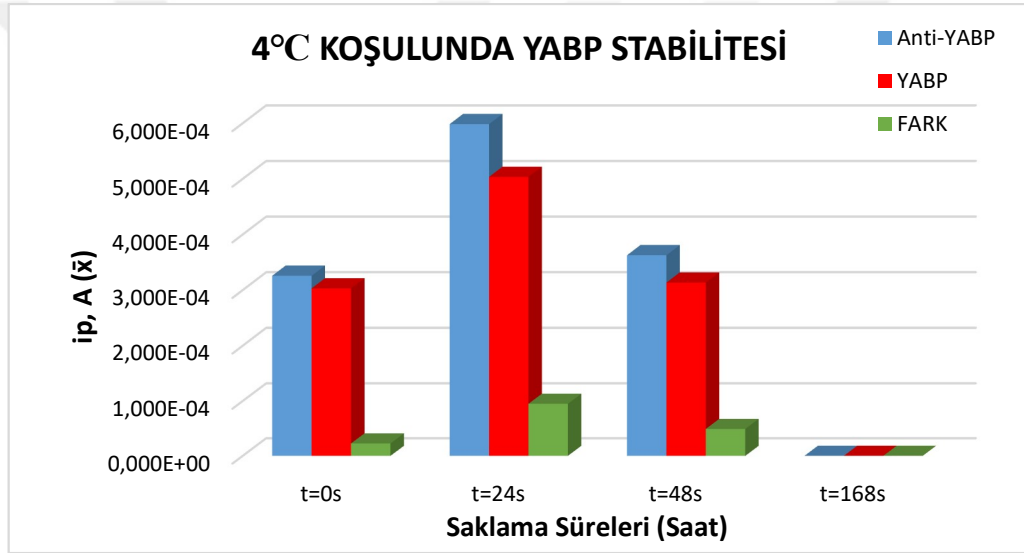
ip (A), 0°C KOŞULU						
Saklama Süresi(saat)	Anti-YABP		YABP		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	$3,259 \times 10^{-4}$	-	$3,032 \times 10^{-4}$	-	$2,270 \times 10^{-5}$	-
t=24s	$2,017 \times 10^{-4}$	-	$1,960 \times 10^{-4}$	-	$5,700 \times 10^{-6}$	-
t=48s	$1,842 \times 10^{-4}$	41,21	$1,225 \times 10^{-4}$	53,31	$6,173 \times 10^{-5}$	17,02
t=168s	-	-	-	-	-	-



Grafik 37. YABP İçin 0°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 40. YABP İçin 4°C Stabilité Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

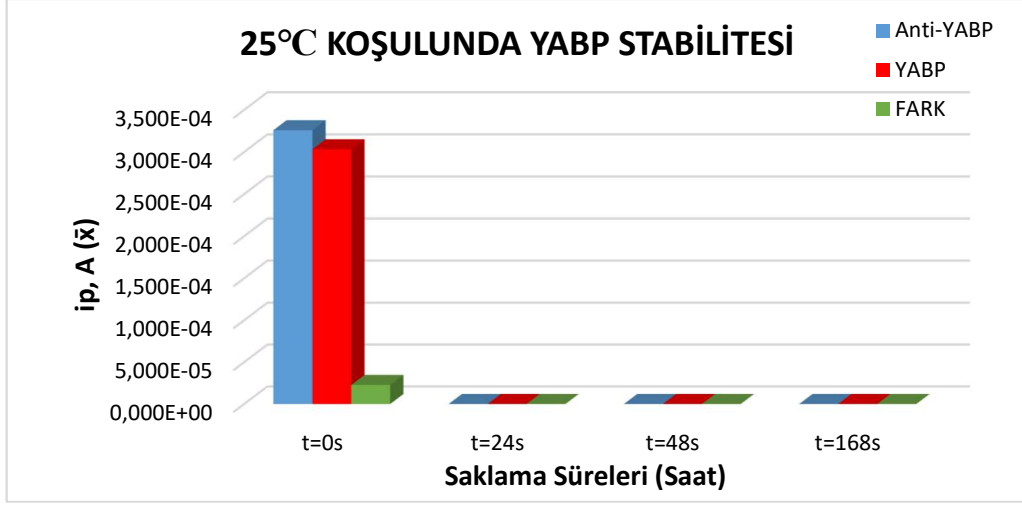
	ip (A), 4°C KOŞULU					
	Anti-YABP		YABP		FARK	
Saklama Süresi(saatt)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	$3,259 \times 10^{-4}$	-	$3,032 \times 10^{-4}$	-	$2,270 \times 10^{-5}$	-
t=24s	$5,985 \times 10^{-4}$	-	$5,036 \times 10^{-4}$	-	$9,490 \times 10^{-5}$	-
t=48s	$3,628 \times 10^{-4}$	77,51	$3,136 \times 10^{-4}$	72,54	$4,915 \times 10^{-5}$	109,16
t=168s	-	-	-	-	-	-



Grafik 38. YABP İçin 4°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 41. YABP İçin 25°C Stabilité Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

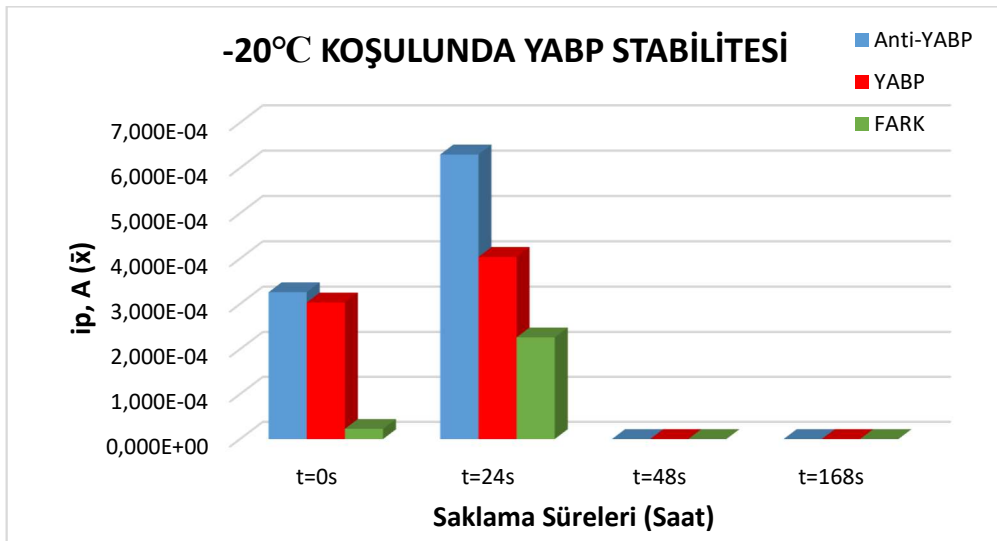
	ip (A), 25°C KOŞULU					
	Anti-YABP		YABP		FARK	
Saklama Süresi(saatt)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	$3,259 \times 10^{-4}$	-	$3,032 \times 10^{-4}$	-	$2,270 \times 10^{-5}$	-
t=24s	-	-	-	-	-	-
t=48s	-	-	-	-	-	-
t=168s	-	-	-	-	-	-



Grafik 39. YABP İçin 25°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 42. YABP İçin -20°C Stabilitate Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

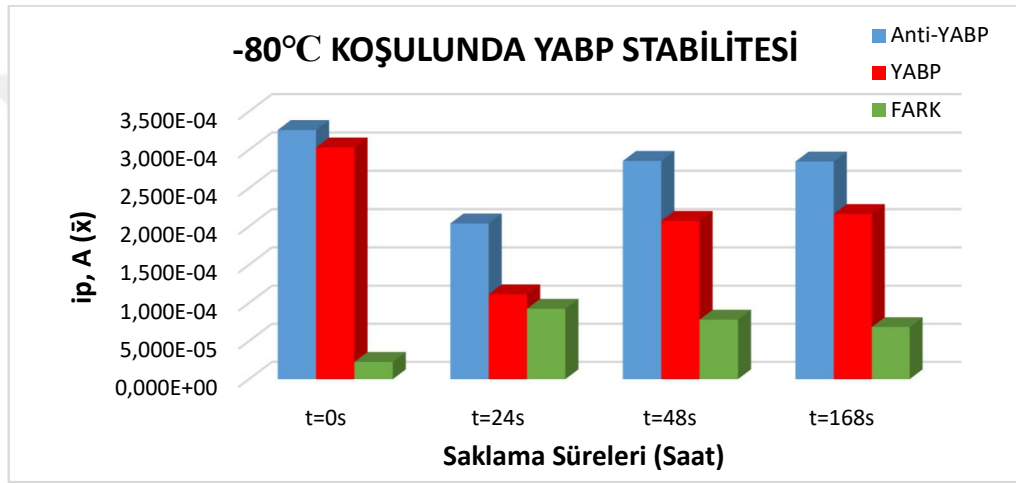
ip (A), -20°C KOŞULU						
Saklama Süresi(saat)	Anti-YABP		YABP		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	3,259x10 ⁻⁴	-	3,032x10 ⁻⁴	-	2,270	-
t=24s	6,299x10 ⁻⁴	-	4,037x10 ⁻⁴	-	2,262x10 ⁻⁴	-
t=48s	-	-	-	-	-	-
t=168s	-	-	-	-	-	-



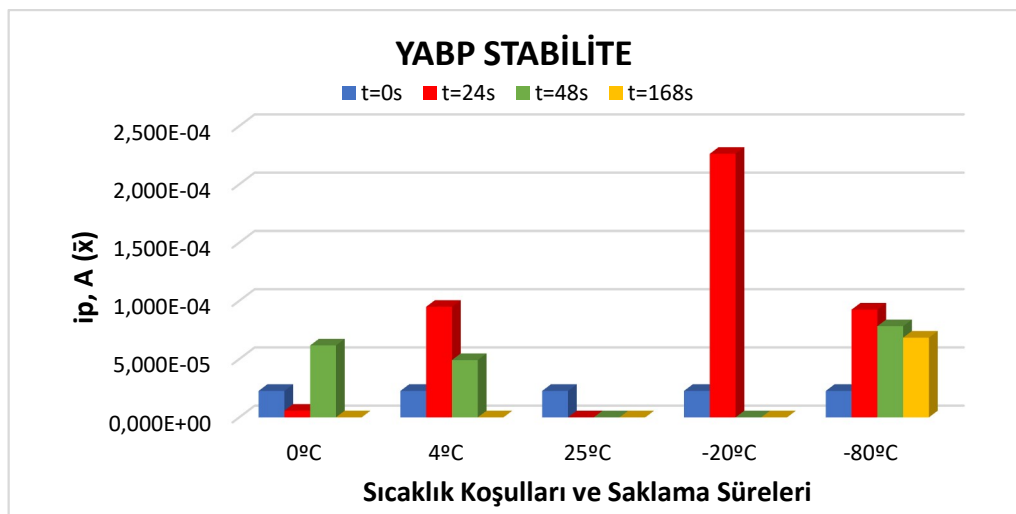
Grafik 40. YABP İçin -20°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 43. YABP İçin -80°C Stabilité Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

Saklama Süresi(saat)	ip (A), -80°C KOŞULU					
	Anti-YABP		YABP		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	3,259x10 ⁻⁴	-	3,032x10 ⁻⁴	-	2,270x10 ⁻⁵	-
t=24s	2,039x10 ⁻⁴	11,77	1,115x10 ⁻⁴	36,95	9,245x10 ⁻⁵	26,41
t=48s	2,855x10 ⁻⁴	14,22	2,073x10 ⁻⁴	14,57	7,823x10 ⁻⁵	66,75
t=168s	2,847x10 ⁻⁴	12,26	2,163x10 ⁻⁴	21,87	6,840x10 ⁻⁵	25,29



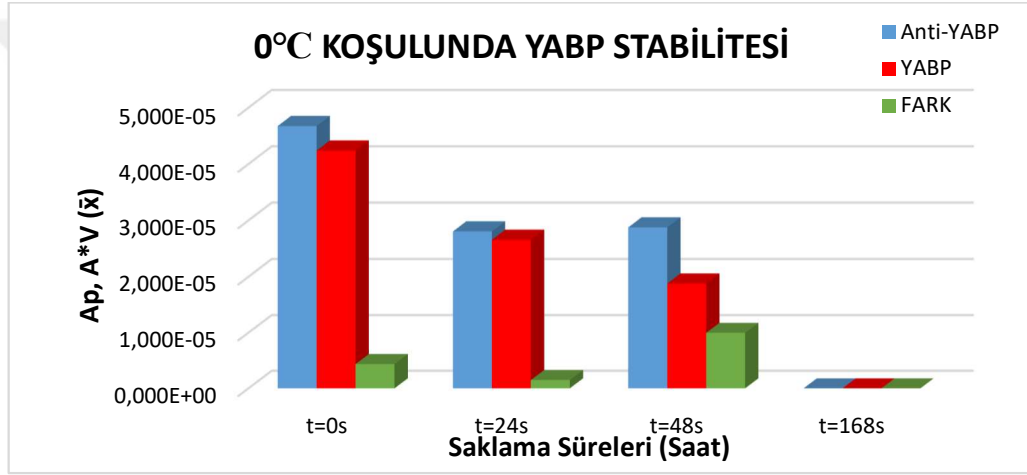
Grafik 41. YABP İçin -80°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması



Grafik 42. YABP (FARK) İçin Farklı Stabilité Koşullarındaki DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 44. YABP İçin 0°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

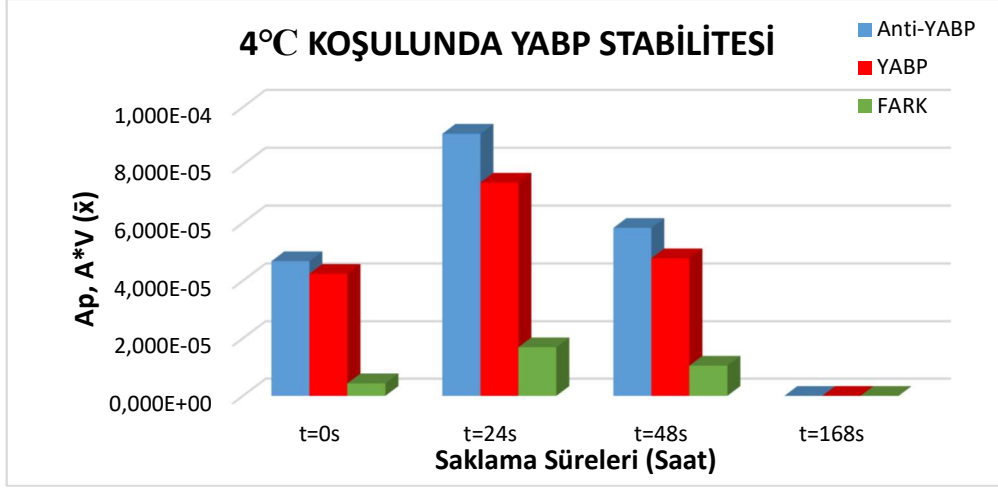
	Ap (A*V), 0°C KOŞULU					
	Anti-YABP		YABP		FARK	
Saklama Süresi(saat)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	4,674x10 ⁻⁵	-	4,238x10 ⁻⁵	-	4,360x10 ⁻⁶	-
t=24s	2,804x10 ⁻⁵	-	2,655x10 ⁻⁵	-	1,490x10 ⁻⁶	-
t=48s	2,876x10 ⁻⁵	17,77	1,879x10 ⁻⁵	25,67	9,970x10 ⁻⁶	2,02
t=168s	-	-	-	-	-	-



Grafik 43. YABP İçin 0°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 45. YABP İçin 4°C Stabilite Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

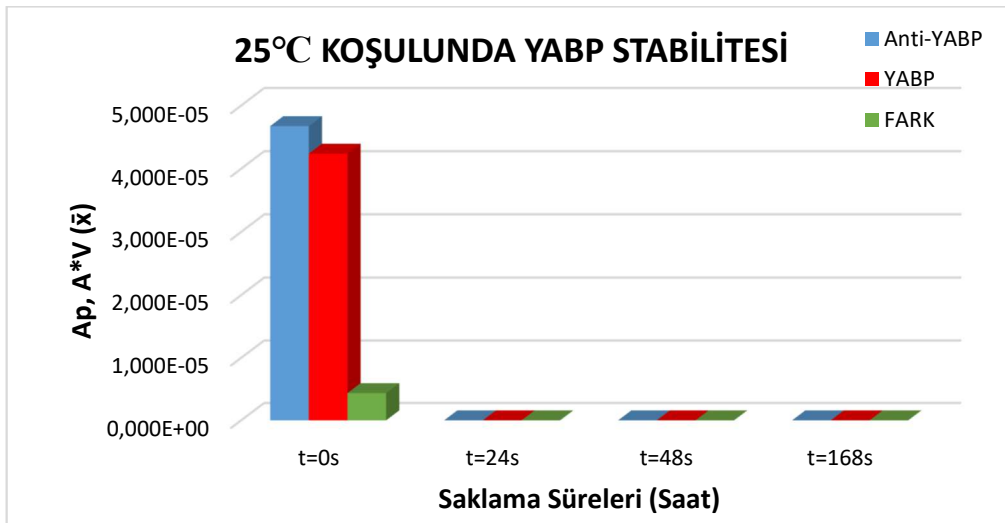
	Ap (A*V), 4°C KOŞULU					
	Anti-YABP		YABP		FARK	
Saklama Süresi(saat)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	4,674x10 ⁻⁵	-	4,238x10 ⁻⁵	-	4,360x10 ⁻⁶	-
t=24s	9,079x10 ⁻⁵	-	7,389x10 ⁻⁵	-	1,690x10 ⁻⁵	-
t=48s	5,824x10 ⁻⁵	84,02	4,774x10 ⁻⁵	77,78	1,050x10 ⁻⁵	112,38
t=168s	-	-	-	-	-	-



Grafik 44. YABP İçin 4°C Koşulundaki Farklı Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 46. YABP İçin 25°C Stabilitate Koşulundaki Saklama Sürelerine Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

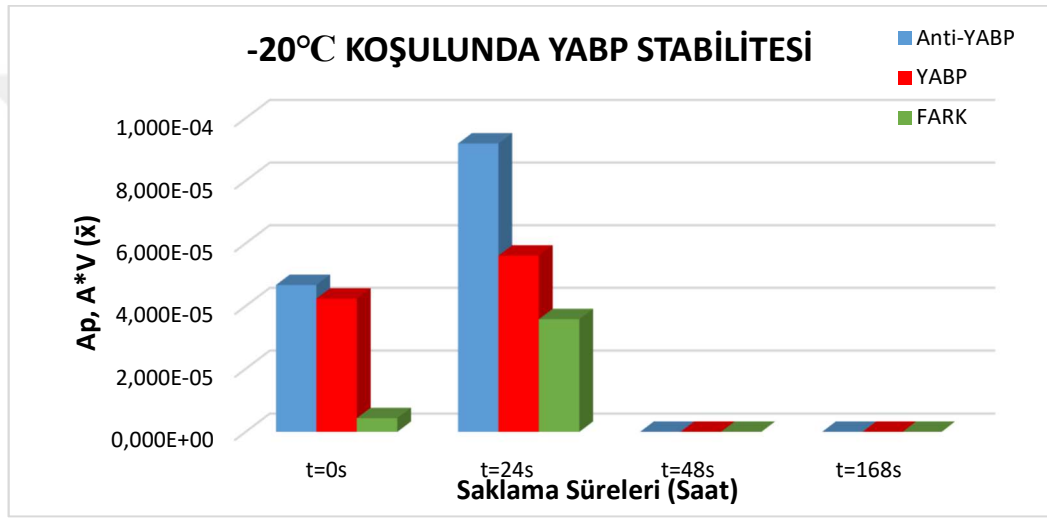
Ap (A*V), 25°C KOŞULU						
Saklama Süresi(saat)	Anti-YABP		YABP		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	4,674x10 ⁻⁵	-	4,238x10 ⁻⁵	-	4,360x10 ⁻⁵	-
t=24s	-	-	-	-	-	-
t=48s	-	-	-	-	-	-
t=168s	-	-	-	-	-	-



Grafik 45. YABP için 25°C koşulundaki farklı saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 47. YABP için -20°C stabilite koşulundaki saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

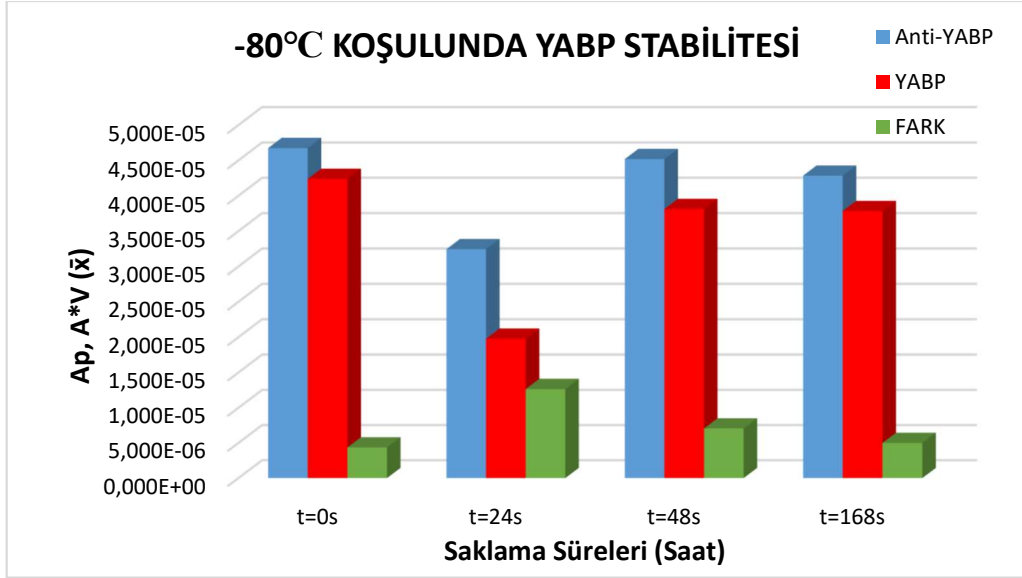
Saklama Süresi(saatt)	Ap (A*V), -20°C KOŞULU					
	Anti-YABP		YABP		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	4,674x10 ⁻⁵	-	4,238x10 ⁻⁵	-	4,360x10 ⁻⁶	-
t=24s	9,190x10 ⁻⁵	-	5,610x10 ⁻⁵	-	3,580x10 ⁻⁵	-
t=48s	-	-	-	-	-	-
t=168s	-	-	-	-	-	-



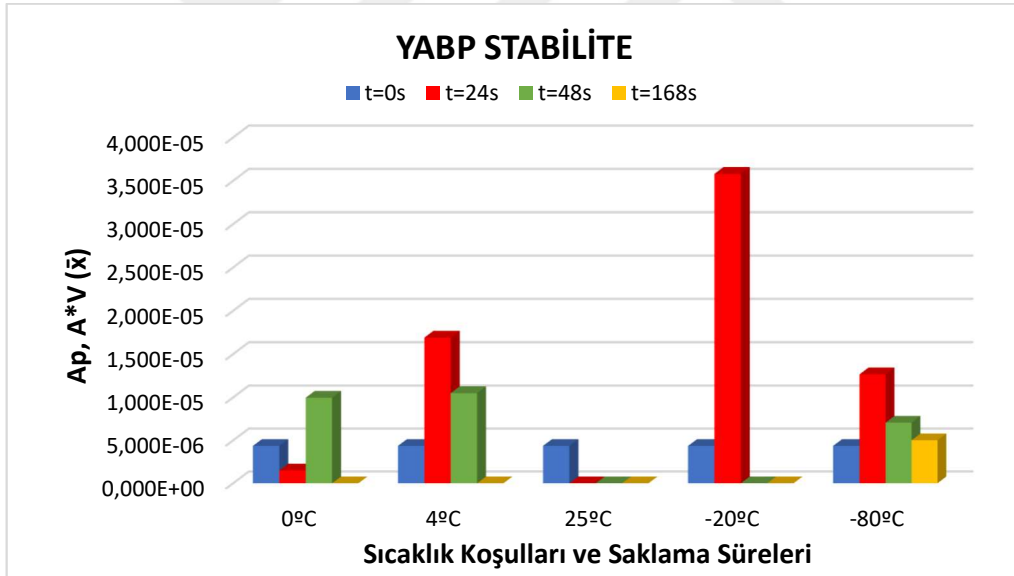
Grafik 46. YABP için -20°C koşulundaki farklı saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 48. YABP için -80°C stabilite koşulundaki saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

Saklama Süresi(saatt)	Ap (A*V), -80°C KOŞULU					
	Anti-YABP		YABP		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
t=0s	4,674x10 ⁻⁵	-	4,238x10 ⁻⁵	-	4,360x10 ⁻⁶	-
t=24s	3,245x10 ⁻⁵	7,72	1,978x10 ⁻⁵	33,50	1,267x10 ⁻⁵	44,44
t=48s	4,519x10 ⁻⁵	5,54	3,812x10 ⁻⁵	18,11	7,070x10 ⁻⁶	61,43
t=168s	4,284x10 ⁻⁵	8,64	3,784x10 ⁻⁵	17,46	5,010x10 ⁻⁶	92,00



Grafik 47. YABP için -80°C koşulundaki farklı saklama sürelerine ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması



Grafik 48. YABP (FARK) için farklı stabilite koşullarındaki DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 49. Beş Farklı Sıcaklık Koşulunda 1, 2 ve 7 Gün İçin Üç Farklı Biyogöstergeye Ait KPE Sonuçlarının Karşılaştırılması

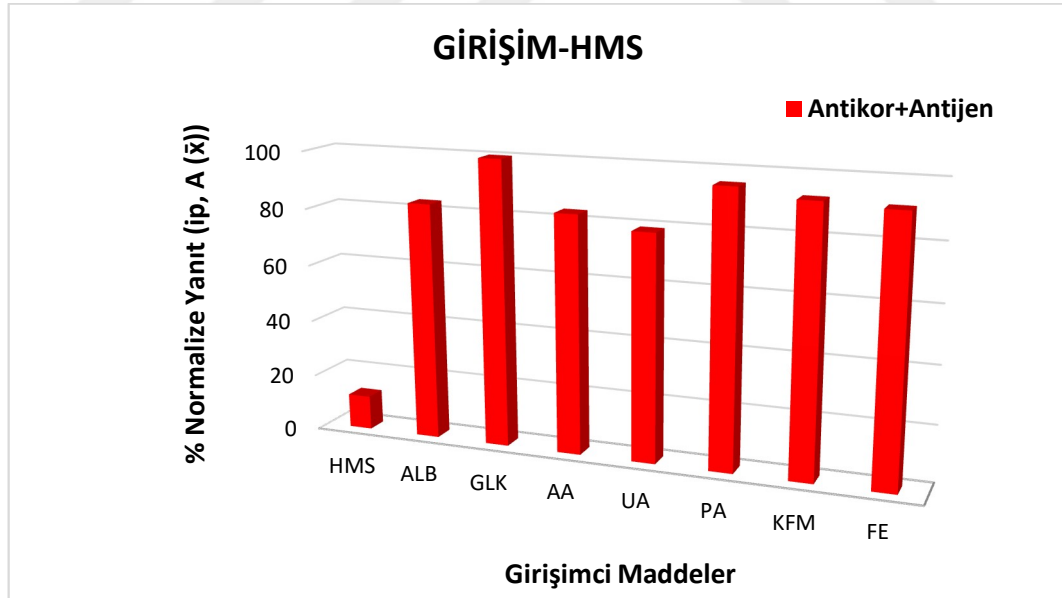
HMS	t=24h		t=48h		t=7d	
	olumlu	olumsuz	olumlu	olumsuz	olumlu	olumsuz
0°C	n=3	n=1	n=0	n=4	n=3	n=0
4°C	n=3	n=1	n=4	n=0	n=4	n=0
25°C	n=2	n=2	n=4	n=0	n=2	n=1
-20°C	n=4	n=0	n=0	n=4	n=3	n=0
-80°C	n=4	n=0	n=3	n=1	n=3	n=0
MYG	t=24h		t=48h		t=7d	
	olumlu	olumsuz	olumlu	olumsuz	olumlu	olumsuz
0°C	n=2	n=2	n=3	n=2	n=1	n=2
4°C	n=2	n=2	n=4	n=0	n=3	n=0
25°C	n=1	n=3	n=2	n=3	n=1	n=2
-20°C	n=4	n=0	n=2	n=2	n=1	n=2
-80°C	n=3	n=1	n=4	n=0	n=3	n=0
YABP	t=24h		t=48h		t=7d	
	olumlu	olumsuz	olumlu	olumsuz	olumlu	olumsuz
0°C	n=1	n=3	n=2	n=2	n=0	n=3
4°C	n=1	n=3	n=2	n=2	n=0	n=3
25°C	n=0	n=4	n=0	n=4	n=0	n=4
-20°C	n=1	n=3	n=0	n=4	n=0	n=3
-80°C	n=4	n=0	n=3	n=1	n=3	n=0

4.1.2.5. Girişim (Interference) Etkisi

4.1.2.5.1. Homosistein İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular

Tablo 50. Anti-HMS Ekimli KPE Üzerine Ekilen Farklı Etken Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

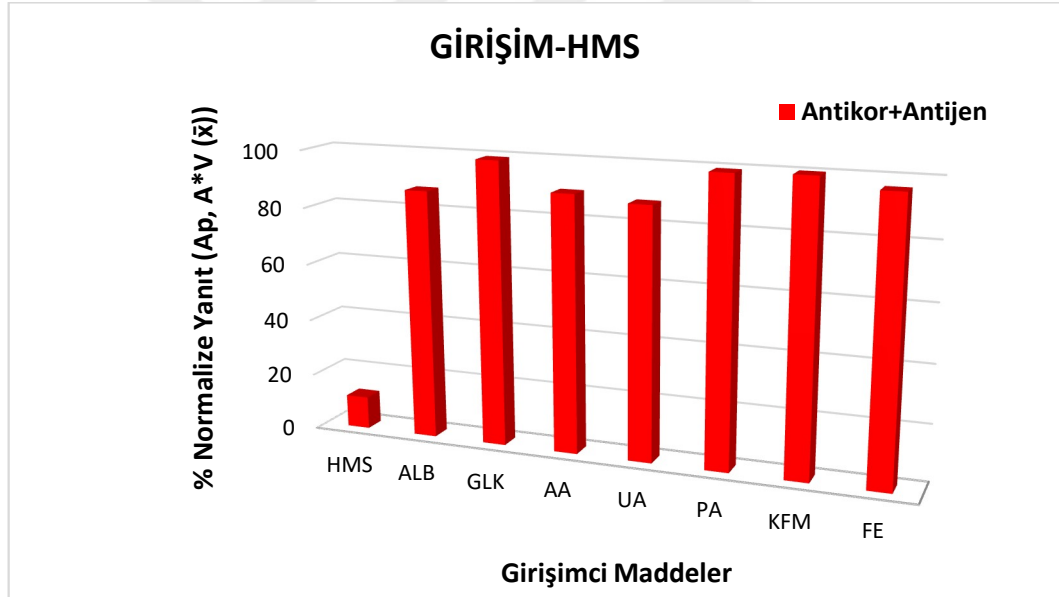
	GİRİŞİM-HMS, ip (A)					
	Anti-HMS		Etken Madde		FARK	
Girişimci	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
HMS	$1,190 \times 10^{-4}$	1,51	$8,159 \times 10^{-5}$	6,01	$3,741 \times 10^{-5}$	8,29
ALB	$1,550 \times 10^{-4}$	3,87	$2,831 \times 10^{-4}$	9,89	$-1,281 \times 10^{-4}$	26,62
GLK	$1,895 \times 10^{-4}$	18,58	$3,402 \times 10^{-4}$	12,99	$-1,507 \times 10^{-4}$	13,01
AA	$1,727 \times 10^{-4}$	14,01	$2,152 \times 10^{-4}$	3,53	$-4,250 \times 10^{-5}$	40,47
UA	$1,637 \times 10^{-4}$	14,11	$2,348 \times 10^{-4}$	3,62	$-7,110 \times 10^{-5}$	32,91
PA	$1,901 \times 10^{-4}$	24,72	$2,670 \times 10^{-4}$	8,91	$-7,690 \times 10^{-5}$	30,43
KFM	$1,481 \times 10^{-4}$	29,03	$2,468 \times 10^{-4}$	3,53	$-9,870 \times 10^{-5}$	48,33
FE	$2,388 \times 10^{-4}$	22,36	$2,426 \times 10^{-4}$	11,71	$-3,800 \times 10^{-6}$	1313,16



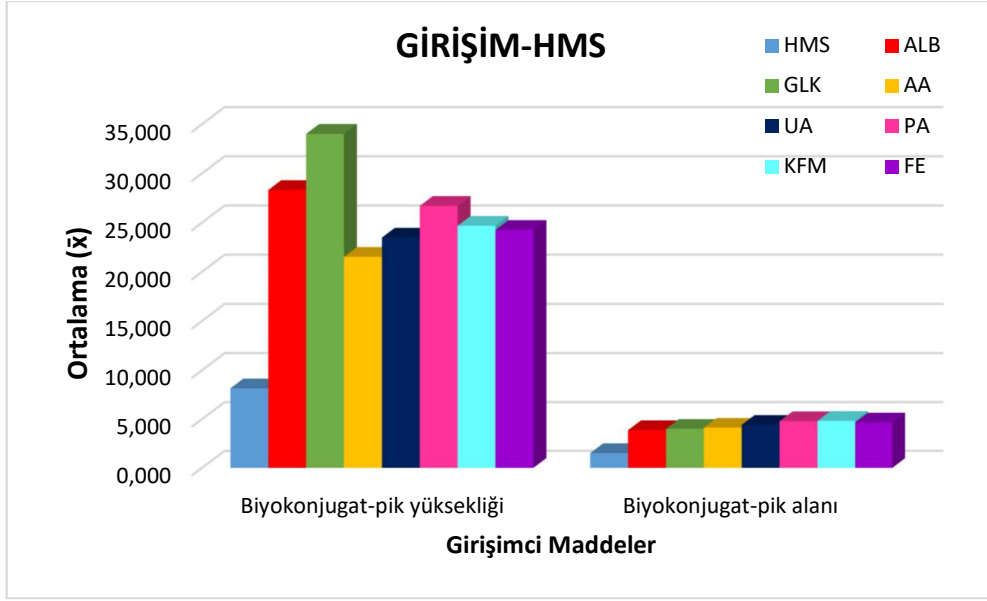
Grafik 49. HMS ile olası girişimci maddelere ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 51. Anti-HMS Ekimli KPE Üzerine Ekilen Farklı Etken Maddelere Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

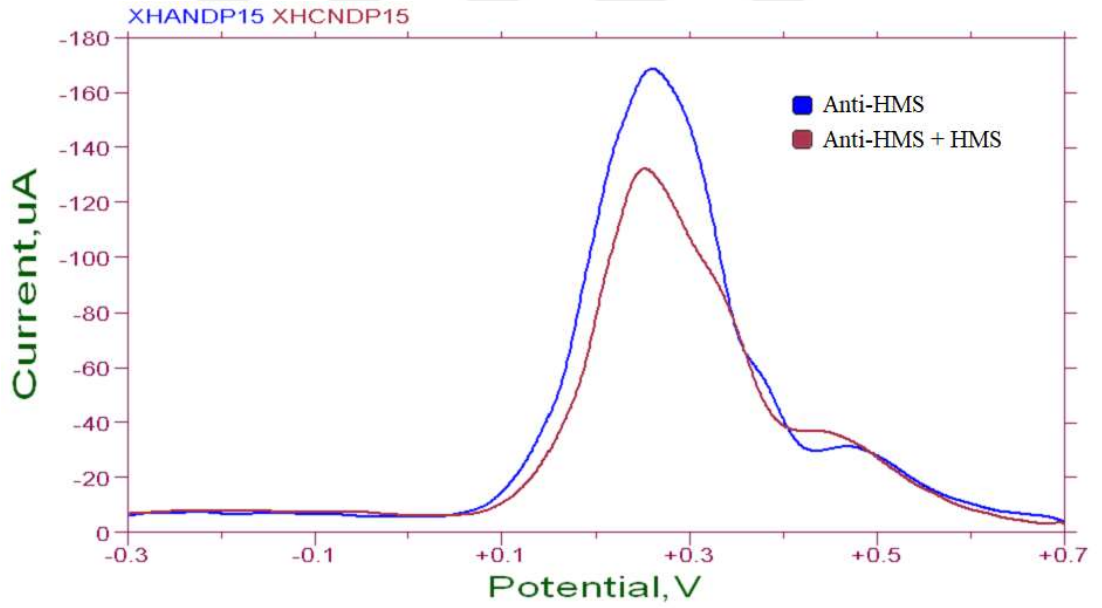
	GİRİŞİM-HMS, Ap (A*V)					
	Anti-HMS		Etken Madde		FARK	
Girişimci	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
HMS	$1,810 \times 10^{-5}$	1,68	$1,515 \times 10^{-5}$	19,21	$2,950 \times 10^{-6}$	89,66
ALB	$2,456 \times 10^{-5}$	11,02	$3,832 \times 10^{-5}$	1,31	$-1,182 \times 10^{-5}$	27,97
GLK	$2,377 \times 10^{-5}$	10,55	$4,010 \times 10^{-5}$	0,50	$-1,451 \times 10^{-5}$	19,31
AA	$2,913 \times 10^{-5}$	9,28	$4,126 \times 10^{-5}$	4,37	$-1,507 \times 10^{-5}$	14,00
UA	$2,860 \times 10^{-5}$	2,80	$4,418 \times 10^{-5}$	2,04	$-1,586 \times 10^{-5}$	2,53
PA	$2,999 \times 10^{-5}$	23,41	$4,790 \times 10^{-5}$	9,19	$-2,647 \times 10^{-5}$	10,61
KFM	$2,517 \times 10^{-5}$	25,50	$4,818 \times 10^{-5}$	5,20	$-1,982 \times 10^{-5}$	42,42
FE	$3,485 \times 10^{-5}$	14,66	$4,658 \times 10^{-5}$	7,74	$-1,924 \times 10^{-5}$	18,23



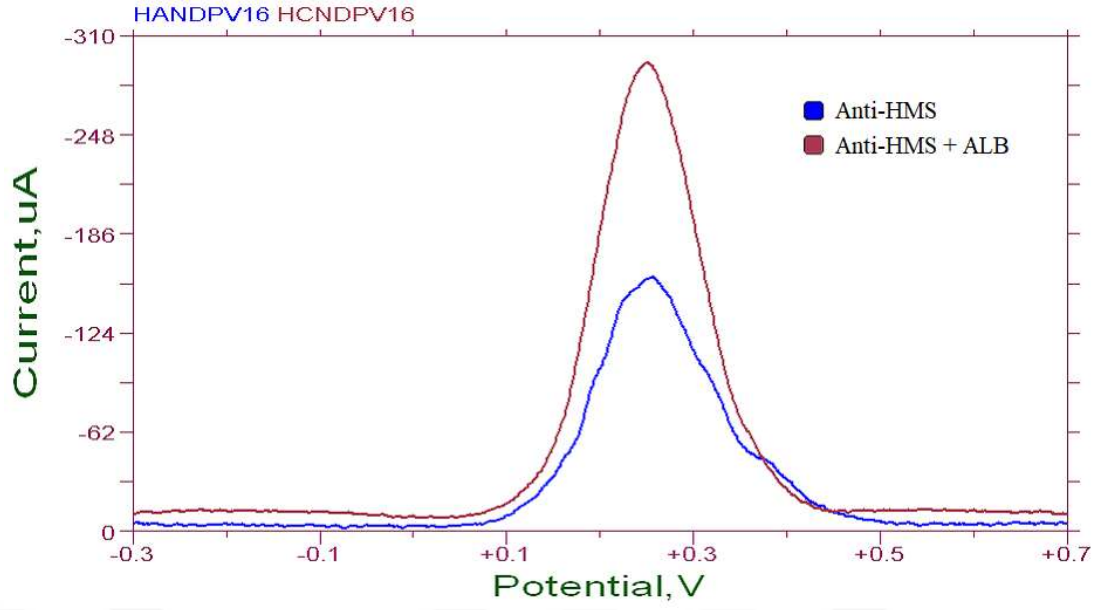
Grafik 50. HMS ile olası girişimci maddelere ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması



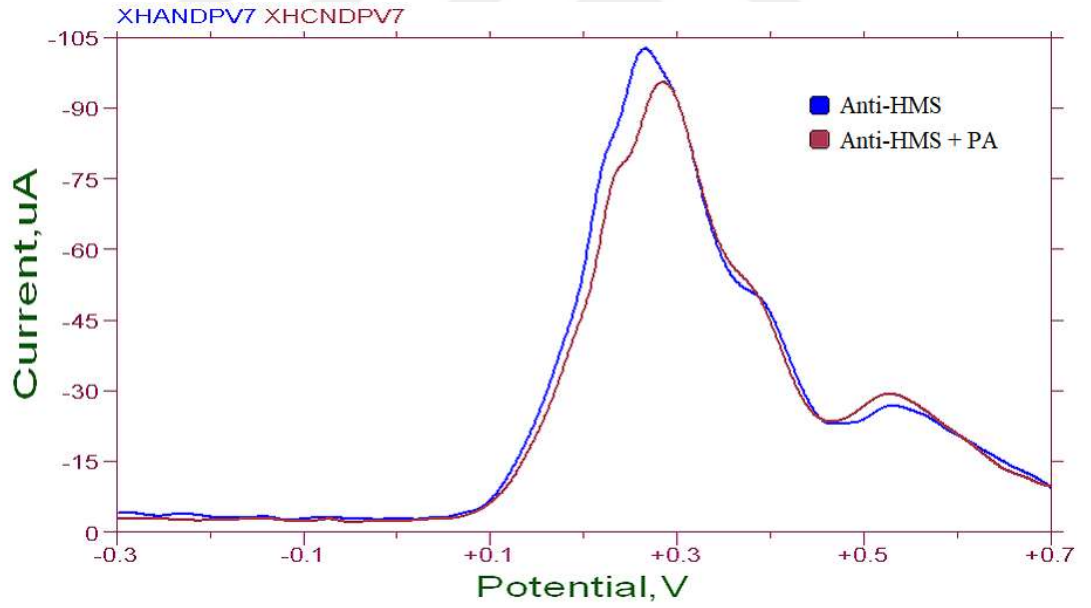
Grafik 51. HMS ile olası Girişimci Maddelere ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) ve DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması



Şekil 37. Girişim çalışması için 15 μ M HMS ekimli KPE 15 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması



Şekil 38. Girişim çalışması için 150 μ M Albumin ekimli KPE 16 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması

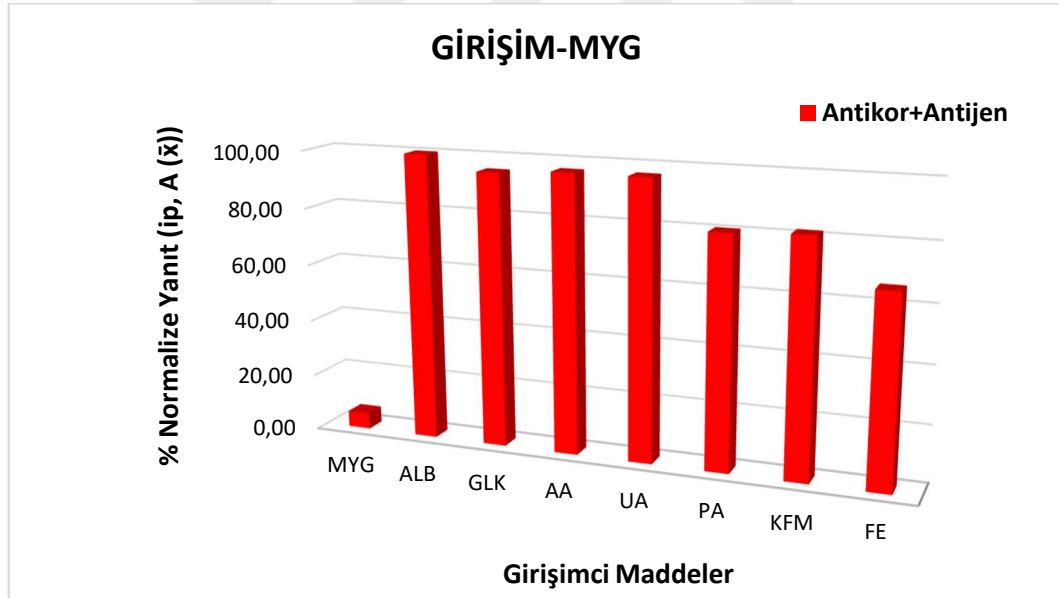


Şekil 39. Girişim çalışması için 150 μ M Parasetamol ekimli KPE 7 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması

4.1.2.5.2. Miyogloblin İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular

Tablo 52. Anti-MYG Ekimli KPE Üzerine Ekilen Farklı Etken Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

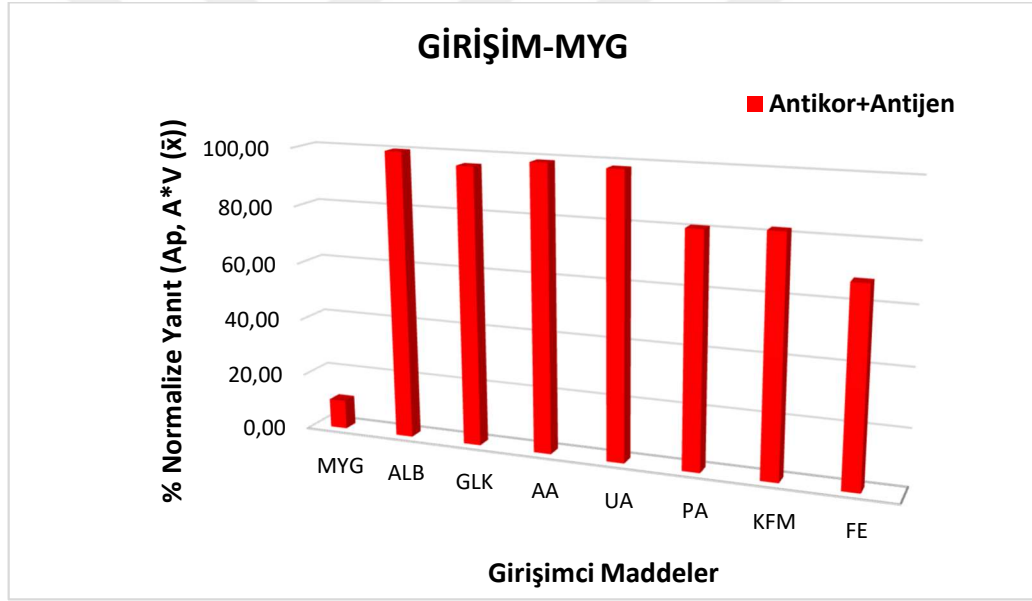
	GİRİŞİM-MYG, ip (A)					
	Anti-MYG		Etken Madde		FARK	
Girişimci	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
MYG	$2,029 \times 10^{-4}$	71,96	$1,769 \times 10^{-4}$	71,79	$2,600 \times 10^{-5}$	72,69
ALB	$4,174 \times 10^{-4}$	25,52	$3,130 \times 10^{-4}$	44,47	$9,090 \times 10^{-5}$	8,47
GLK	$7,180 \times 10^{-4}$	61,32	$3,357 \times 10^{-4}$	34,79	$3,823 \times 10^{-4}$	88,67
AA	$7,770 \times 10^{-4}$	2,91	$3,408 \times 10^{-4}$	17,08	$4,362 \times 10^{-4}$	16,35
UA	$6,656 \times 10^{-4}$	32,68	$3,409 \times 10^{-4}$	15,05	$3,248 \times 10^{-4}$	54,93
PA	$4,452 \times 10^{-4}$	77,27	$2,662 \times 10^{-4}$	47,63	$1,790 \times 10^{-4}$	144,53
KFM	$3,612 \times 10^{-4}$	33,47	$2,808 \times 10^{-4}$	17,45	$8,037 \times 10^{-5}$	89,54
FE	$3,159 \times 10^{-4}$	16,56	$2,230 \times 10^{-4}$	32,33	$9,293 \times 10^{-5}$	22,93



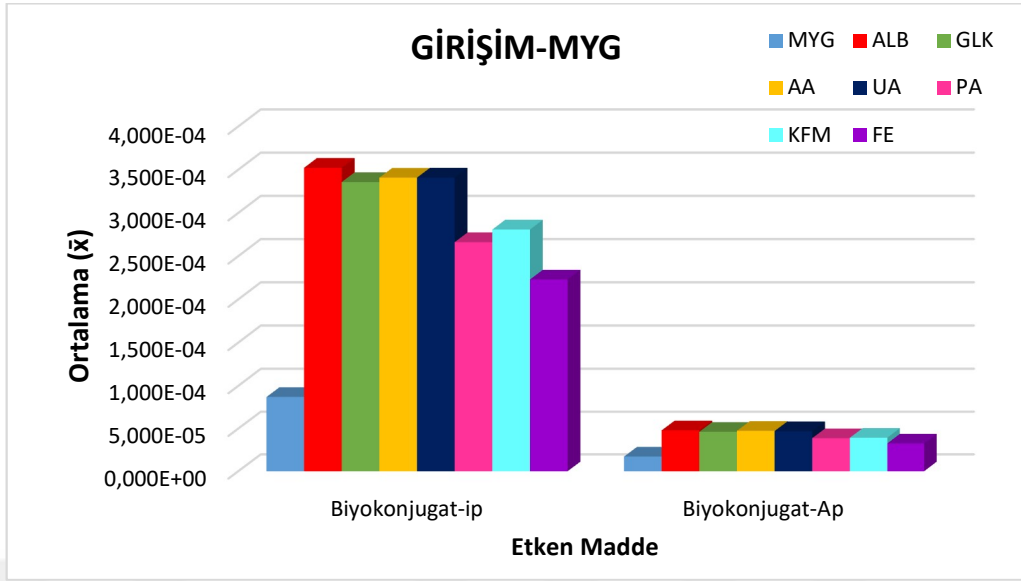
Grafik 52. MYG ile olası girişimci maddelere ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 53. Anti-MYG Ekimli KPE Üzerine Ekilen Farklı Etken Maddelere Ait DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

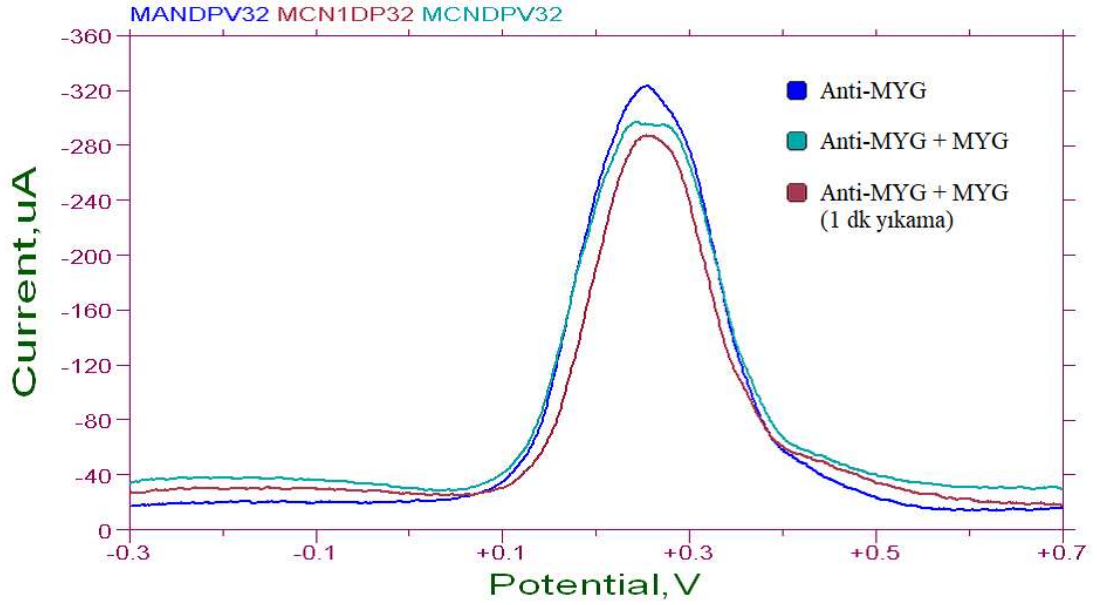
Girişimci	GİRİŞİM-MYG, Ap (A*V)					
	Anti-MYG		Etken Madde		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
MYG	$3,816 \times 10^{-5}$	59,06	$3,279 \times 10^{-5}$	67,28	$0,537 \times 10^{-5}$	7,55
ALB	$5,546 \times 10^{-5}$	27,08	$4,380 \times 10^{-5}$	33,33	$1,166 \times 10^{-5}$	3,45
GLK	$1,032 \times 10^{-4}$	58,33	$4,620 \times 10^{-5}$	32,68	$5,705 \times 10^{-5}$	83,86
AA	$1,196 \times 10^{-4}$	7,36	$4,741 \times 10^{-5}$	20,04	$7,222 \times 10^{-5}$	4,16
UA	$1,020 \times 10^{-4}$	34,61	$4,709 \times 10^{-5}$	12,55	$5,486 \times 10^{-5}$	5,71
PA	$5,983 \times 10^{-5}$	90,13	$3,877 \times 10^{-5}$	50,65	$2,106 \times 10^{-5}$	16,26
KFM	$5,029 \times 10^{-5}$	33,27	$3,929 \times 10^{-5}$	18,11	$1,099 \times 10^{-5}$	8,91
FE	$4,551 \times 10^{-5}$	15,16	$3,255 \times 10^{-5}$	28,00	$1,297 \times 10^{-5}$	2,63



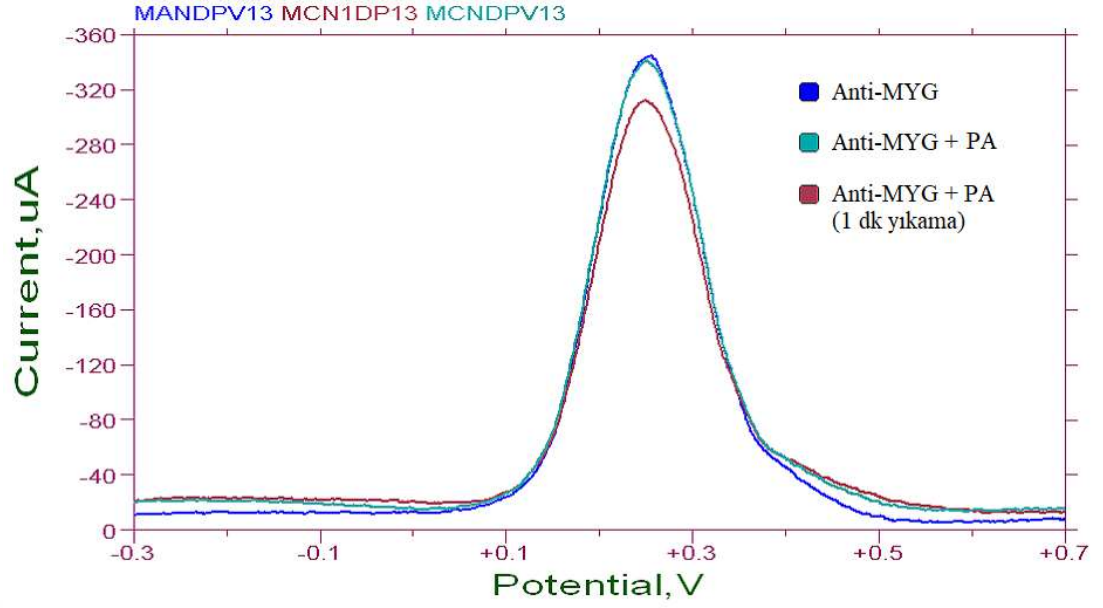
Grafik 53. MYG ile olası girişimci maddelere Ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması



Grafik 54. MYG ile Olası Girişimci Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) ve DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçlarının Karşılaştırılması



Şekil 40. Girişim çalışması için 72 ng/mL MYG ekimli KPE 32 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması

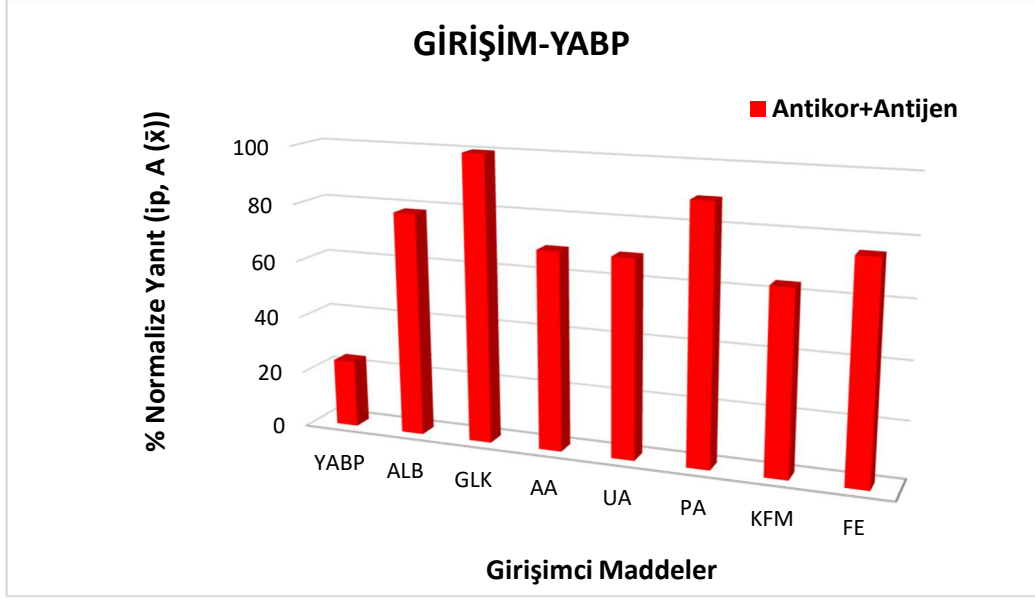


Şekil 41. Girişim çalışması için 720 ng/mL parasetamol ekimli KPE 13 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması

4.1.2.5.3. YABP İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular

Tablo 54. Anti-YABP Ekimli KPE Üzerine Ekilen Farklı Etkin Maddelere Ait DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

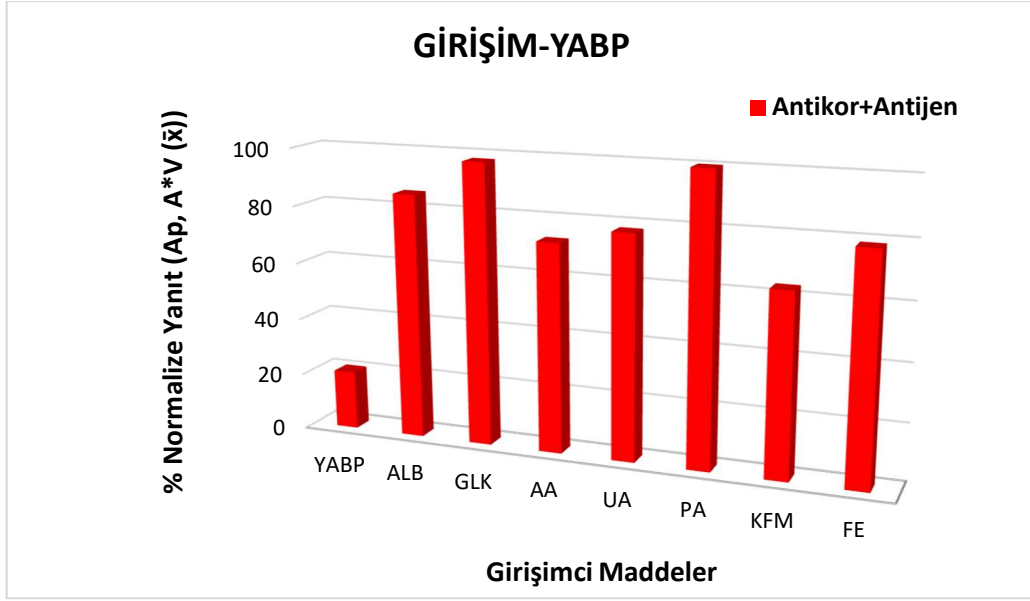
	GİRİŞİM-YABP, ip (A)					
	Anti-YABP		Etkin Madde		FARK	
Girişimci	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
YABP	$4,117 \times 10^{-4}$	37,62	$3,135 \times 10^{-4}$	32,33	$9,826 \times 10^{-5}$	5,87
ALB	$4,554 \times 10^{-4}$	20,85	$3,690 \times 10^{-4}$	3,32	$8,633 \times 10^{-5}$	10,76
GLK	$4,293 \times 10^{-4}$	105,25	$2,553 \times 10^{-4}$	79,04	$1,740 \times 10^{-4}$	143,73
AA	$3,959 \times 10^{-4}$	21,87	$2,497 \times 10^{-4}$	22,66	$1,096 \times 10^{-4}$	70,39
UA	$3,711 \times 10^{-4}$	52,26	$2,395 \times 10^{-4}$	46,40	$9,868 \times 10^{-5}$	9,68
PA	$5,329 \times 10^{-4}$	44,69	$3,122 \times 10^{-4}$	38,54	$1,655 \times 10^{-4}$	95,28
KFM	$4,211 \times 10^{-4}$	26,09	$2,592 \times 10^{-4}$	1,65	$1,214 \times 10^{-4}$	99,57
FE	$4,756 \times 10^{-4}$	58,04	$2,604 \times 10^{-4}$	36,07	$1,614 \times 10^{-4}$	113,75



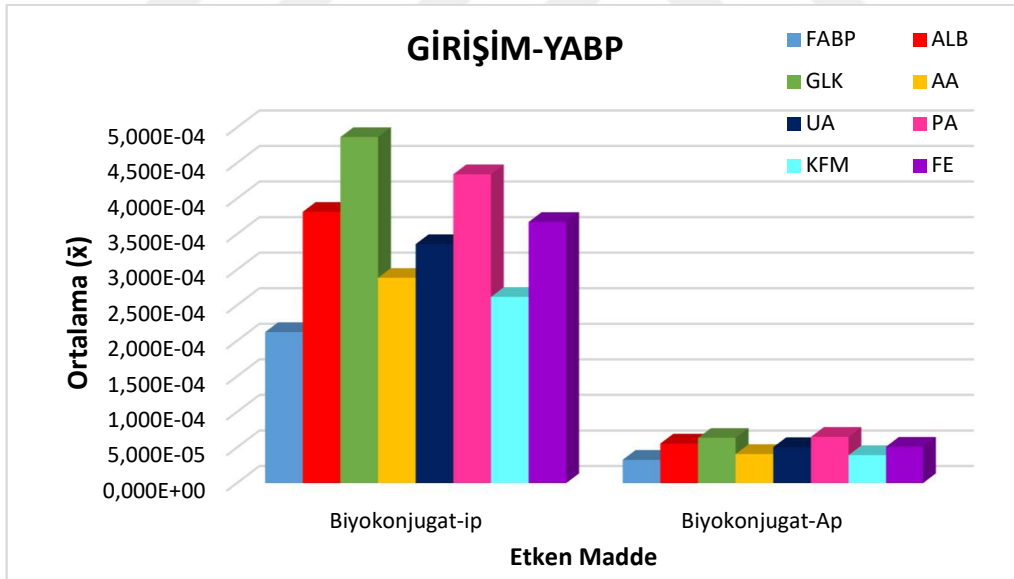
Grafik 55. YABP ile olası girişimci maddelere ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo 55. Anti-YABP ekimli KPE üzerine ekilen olası girişimci maddelere Ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

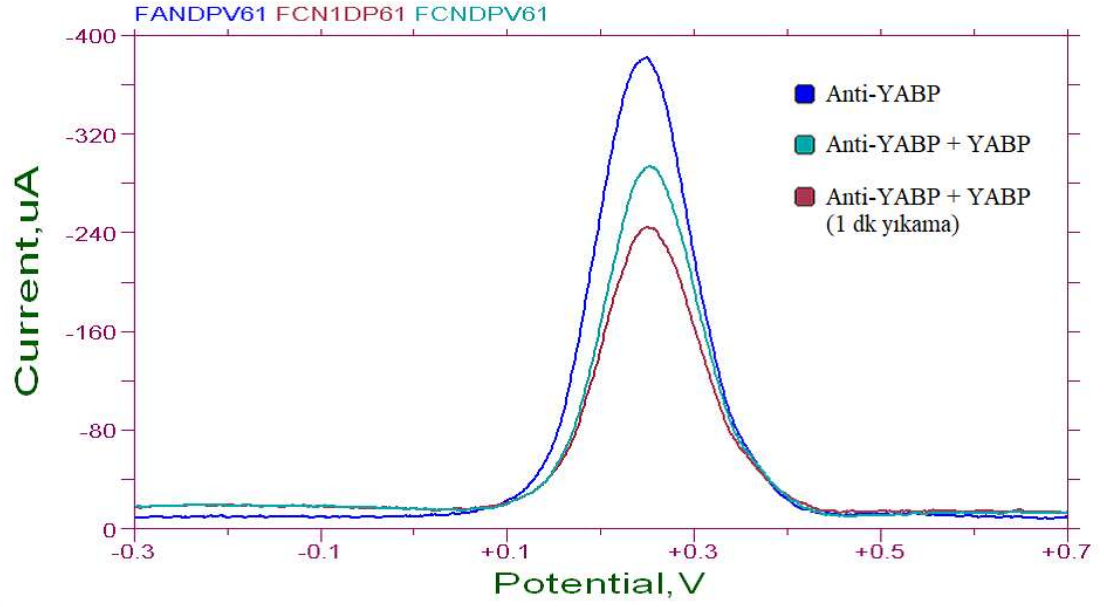
Girişimci	GİRİŞİM-YABP, Ap (A*V)					
	Anti-YABP		Etken Madde		FARK	
	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)	$\bar{x}$ (Ort.)	BSS (%)
YABP	$6,545 \times 10^{-5}$	42,65	$4,439 \times 10^{-5}$	29,68	$2,106 \times 10^{-5}$	79,02
ALB	$6,682 \times 10^{-5}$	21,98	$5,303 \times 10^{-5}$	4,17	$1,379 \times 10^{-5}$	109,17
GLK	$6,462 \times 10^{-5}$	87,48	$3,784 \times 10^{-5}$	59,13	$2,678 \times 10^{-5}$	127,68
AA	$5,248 \times 10^{-5}$	20,78	$3,553 \times 10^{-5}$	20,82	$1,271 \times 10^{-5}$	70,54
UA	$5,516 \times 10^{-5}$	44,79	$3,670 \times 10^{-5}$	38,34	$1,385 \times 10^{-5}$	91,91
PA	$8,346 \times 10^{-5}$	47,19	$4,616 \times 10^{-5}$	37,99	$2,798 \times 10^{-5}$	93,70
KFM	$6,679 \times 10^{-5}$	31,73	$3,883 \times 10^{-5}$	0,86	$2,097 \times 10^{-5}$	106,20
FE	$6,789 \times 10^{-5}$	54,69	$3,781 \times 10^{-5}$	30,67	$2,256 \times 10^{-5}$	113,95



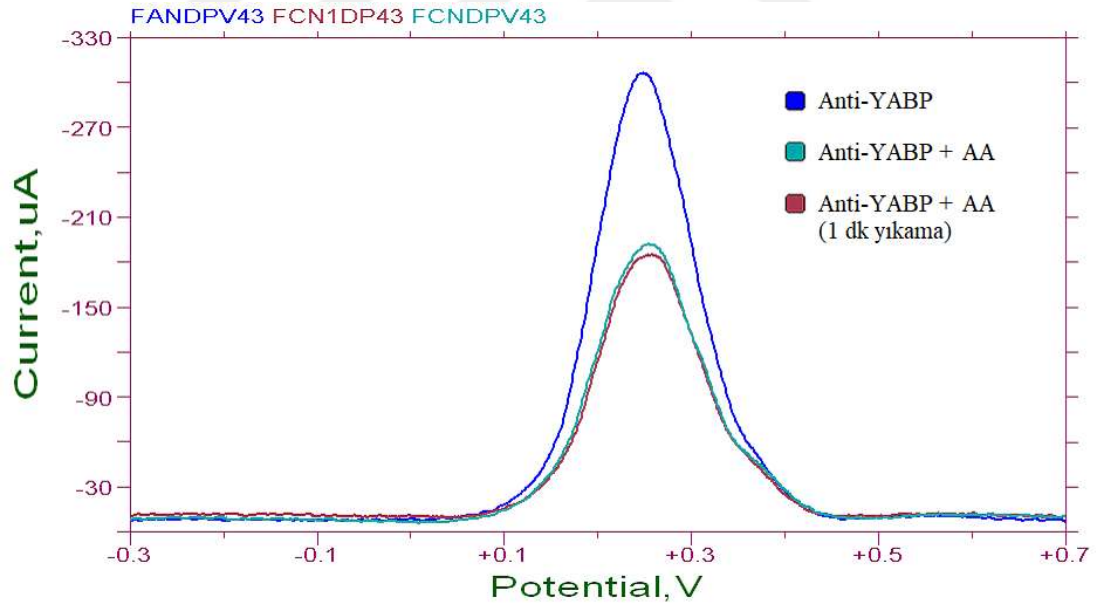
Grafik 56. YABP ile olası girişimci maddelere ait DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması



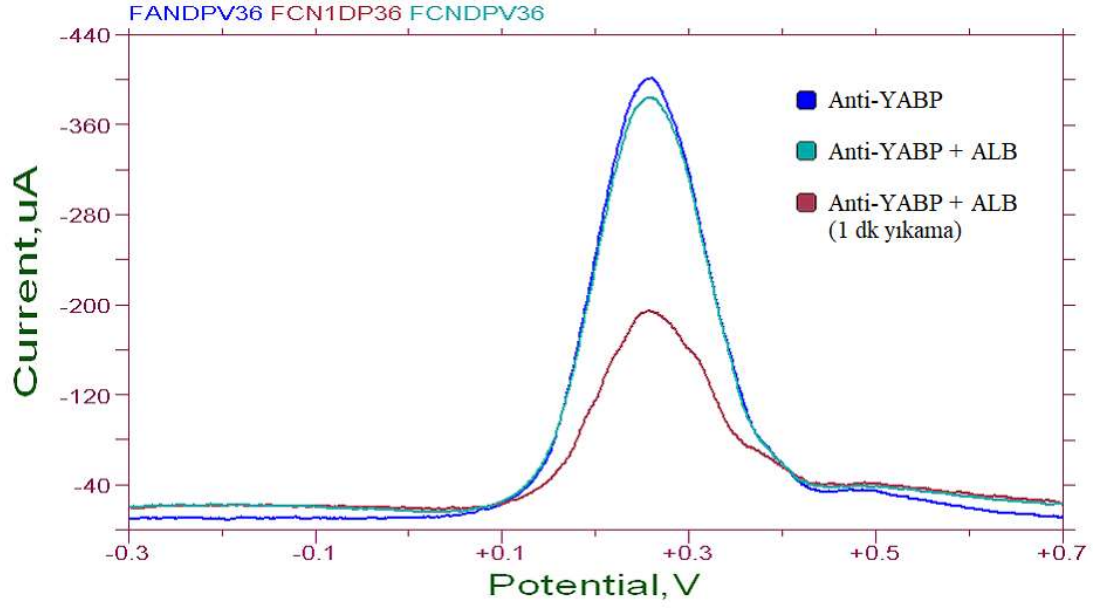
Grafik 57. YABP ile olası girişimci maddelere Ait DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) ve DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması



Şekil 42. Girişim çalışması için 19 ng/mL YABP ekimli KPE 61 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması



Şekil 43. Girişim çalışması için 190 ng/mL Askorbik asit ekimli KPE 43 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması

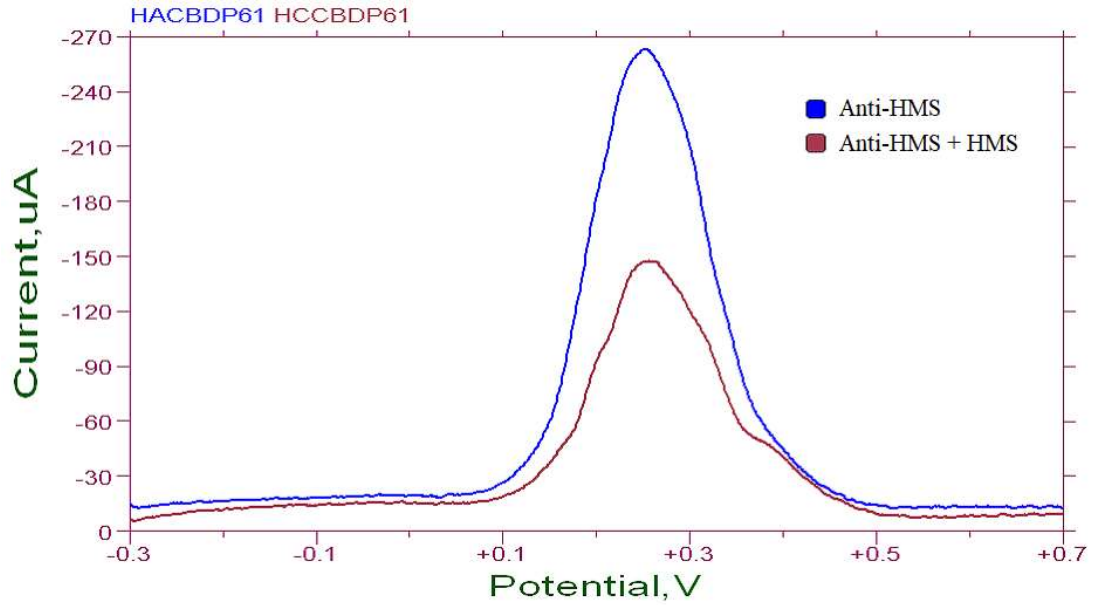


Şekil 44. Girişim çalışması için 190 ng/mL Albumin ekimli KPE 36 elektrodunun ölçülen DPV sonuçlarının karşılaştırması

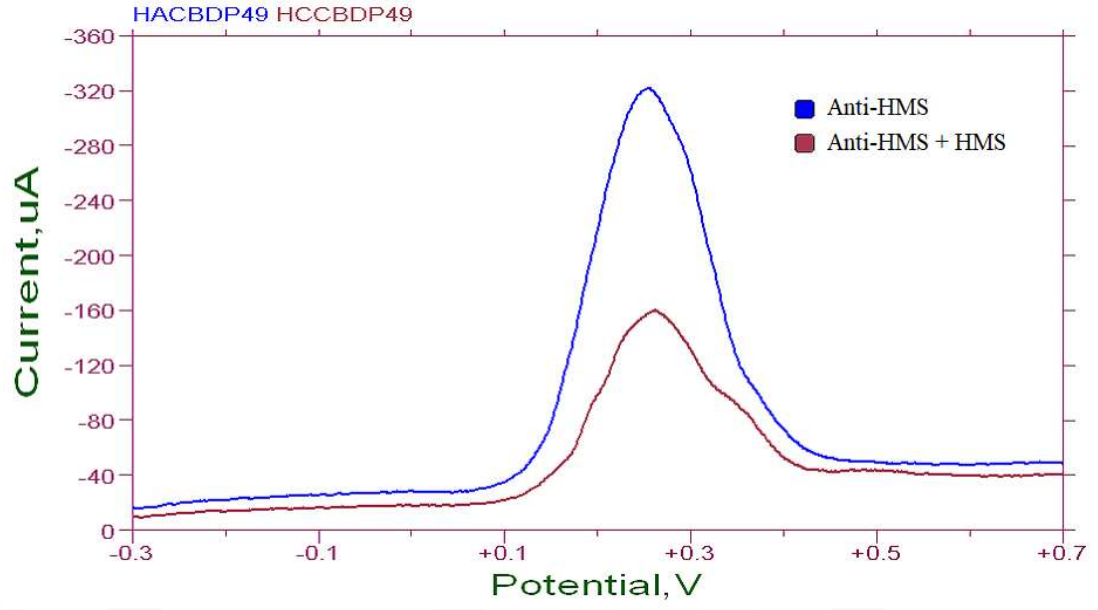
4.1.3. Kalibrasyon İşlemlerine Ait Bulgular

Herbir standart çözelti için birer örnek verilmiştir.

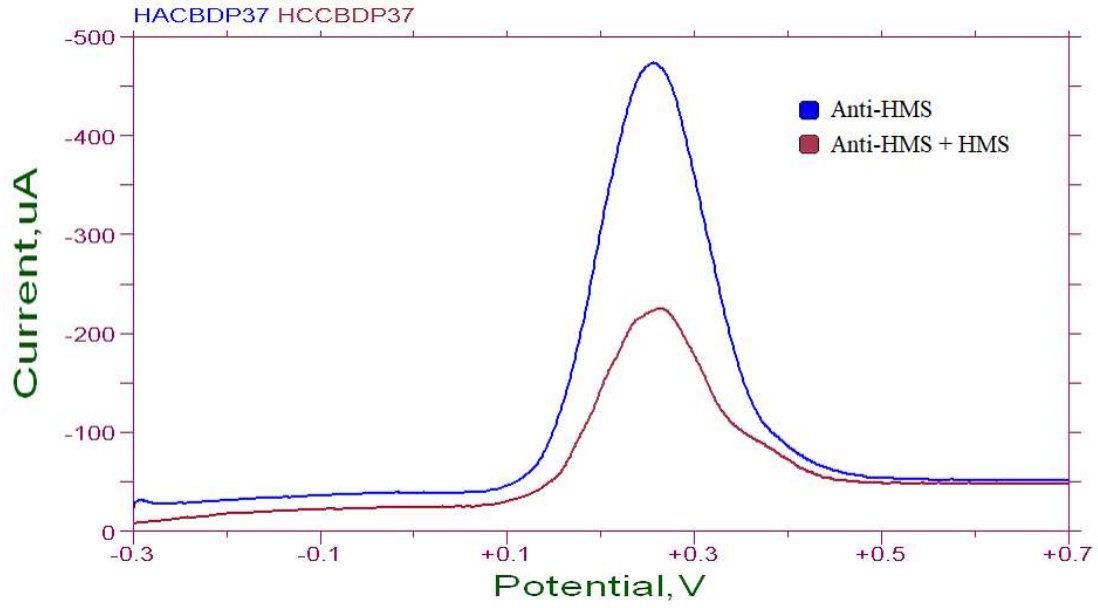
4.1.3.1. HMS Standardına Ait Bulgular



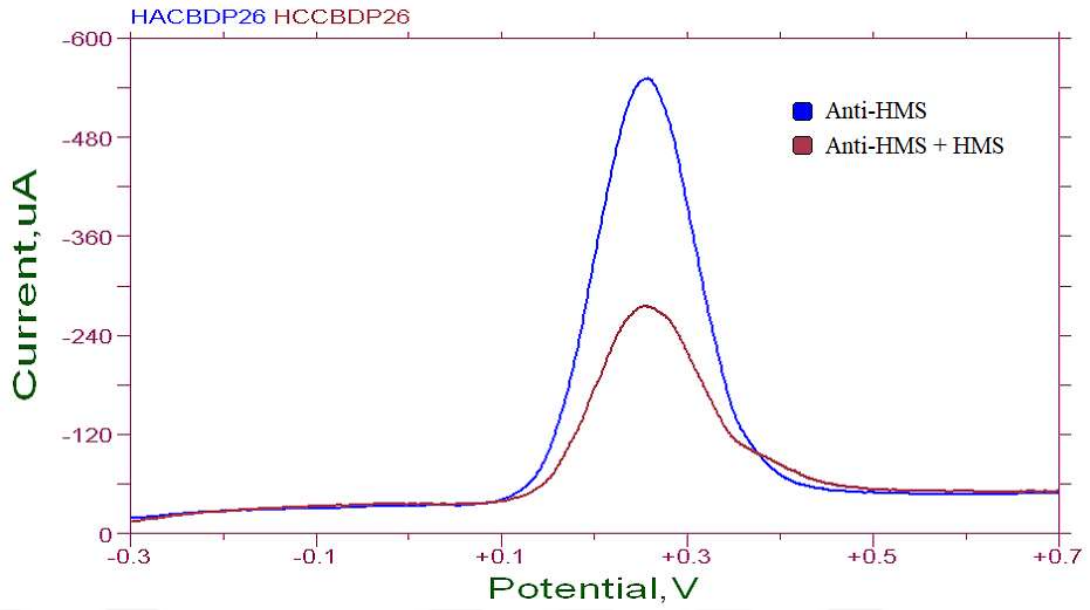
Şekil 45. 5 μ M HMS standardı için KPE 61 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDP61) ve HMS (HCCBDP61) karşılaştırması



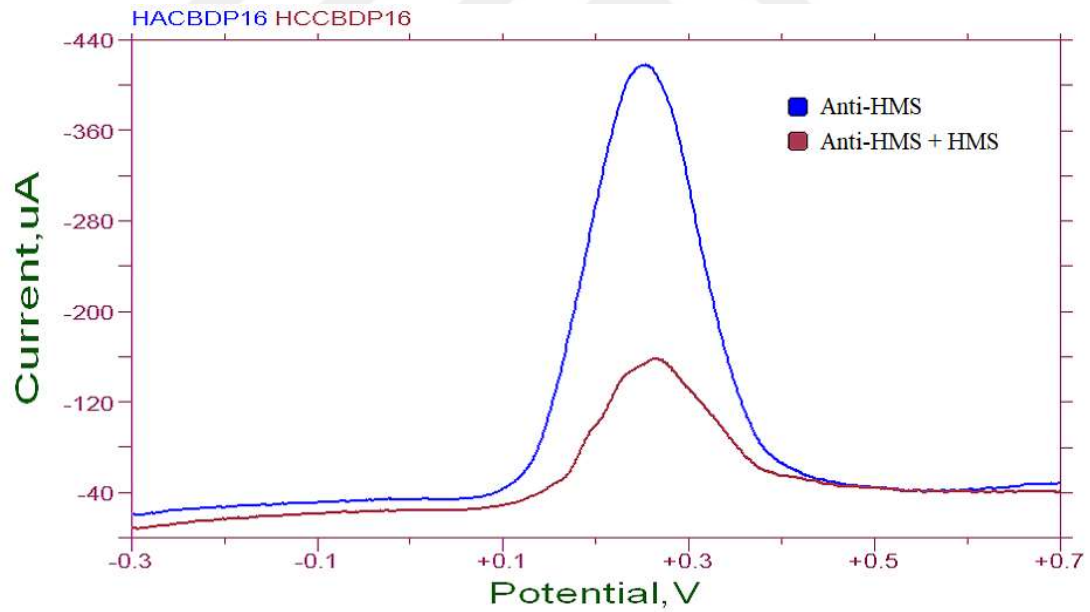
Şekil 46. 10µM HMS standardı için KPE 49 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDP49) ve HMS (HCCBDP49) karşılaştırması



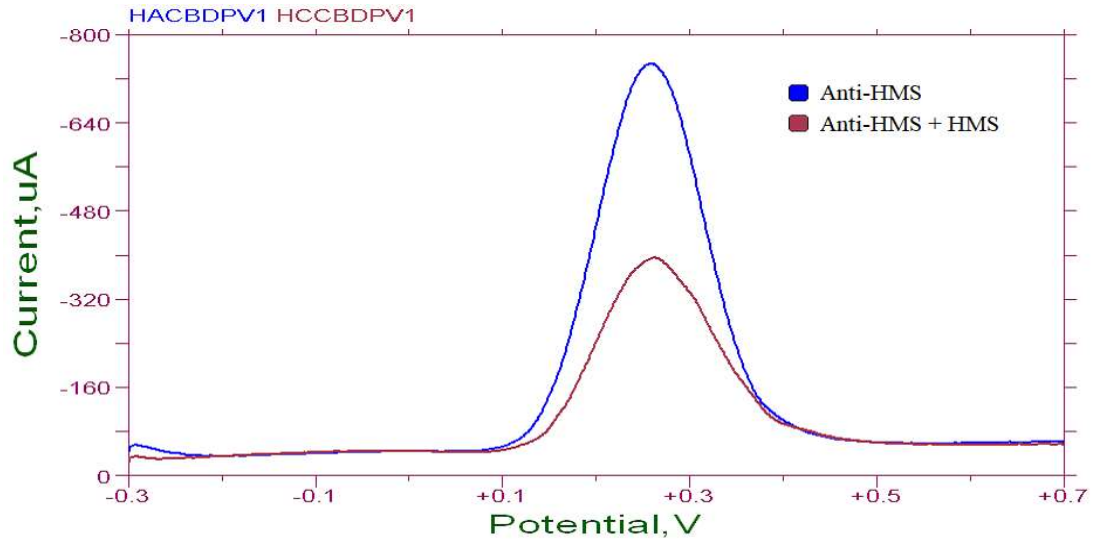
Şekil 47. 15µM HMS standardı için KPE 37 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDP37) ve HMS (HCCBDP37) karşılaştırması



Şekil 48. 30 μ M HMS standardı için KPE 26 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDP26) ve HMS (HCCBDP26) karşılaştırması



Şekil 49. 50 μ M HMS standardı için KPE 16 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDP16) ve HMS (HCCBDP16) karşılaştırması

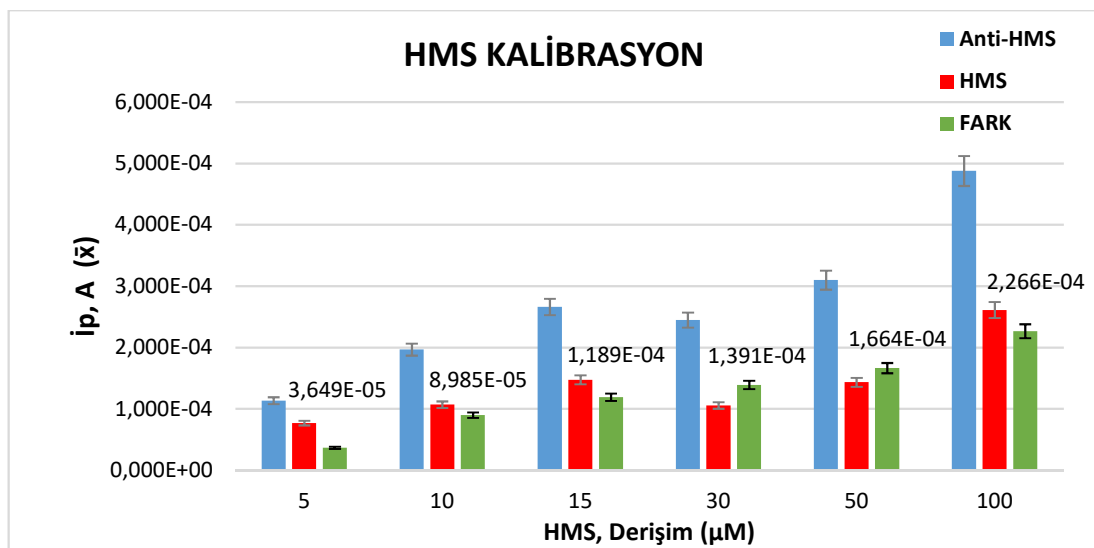


Şekil 50. 100μM HMS standardı için KPE 1 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HACBDPV1) ve HMS (HCCBDPV1) karşılaştırması

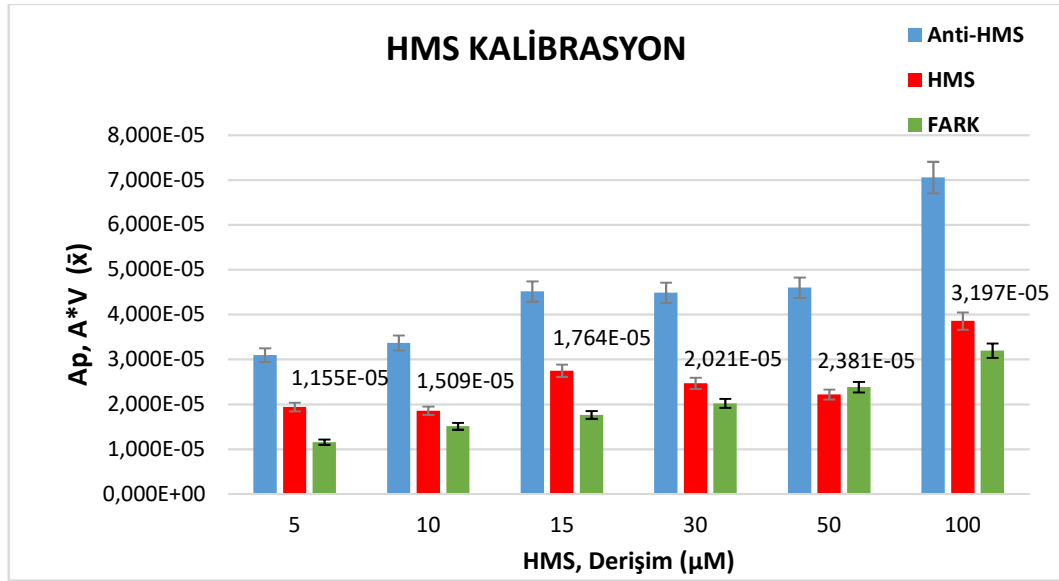
4.1.3.2. HMS Standart Çözeltisine Ait Kalibrasyon Eğrisi Bulguları

Tablo 56. Altı Farklı HMS Standart Derişimi İçin KPE Sonuçlarının Karşılaştırılması

	5 μM HMS	10 μM HMS	15 μM HMS	30 μM HMS	50 μM HMS	100 μM HMS
Olumlu Sonuç Sayısı	n=8	n=10	n=9	n=10	n=9	n=10
Toplam Elektrot Sayısı	n=11	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10



Grafik 58. Altı Farklı HMS Derişimi İçin DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçlarının Kıyaslanması

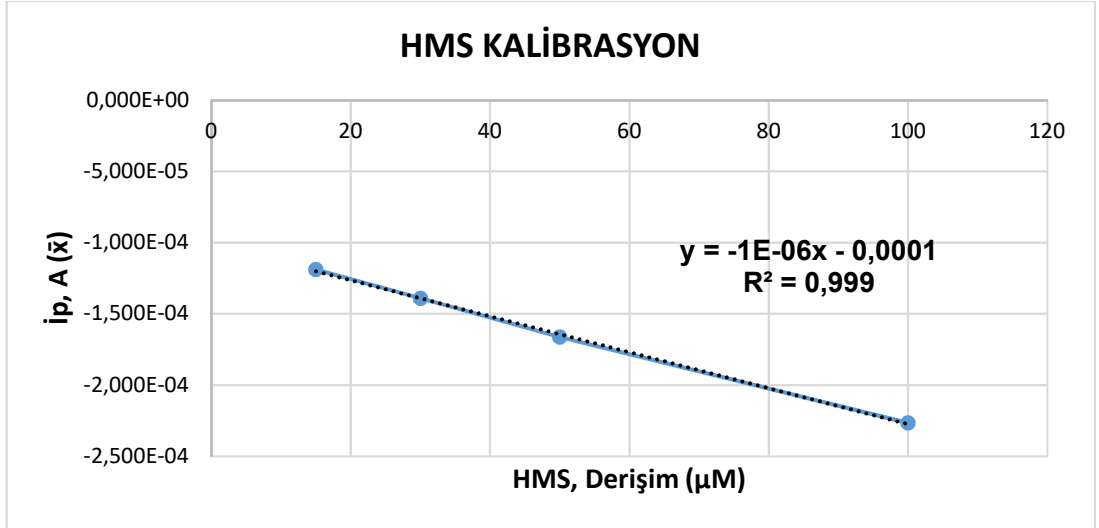


Grafik 59. Altı farklı HMS derişimi için DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının kıyaslanması

Anti-HMS yanıtından HMS ekimli elektrot yanıtı çıkarılarak elde edilen aradaki FARK; sonuç olarak değerlendirilmiş ve 4 nokta kullanılarak HMS standartlarına ait kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Sonuçlar aşağıda verilmektedir;

Tablo 57. Dört Farklı HMS Derişimi İçin DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

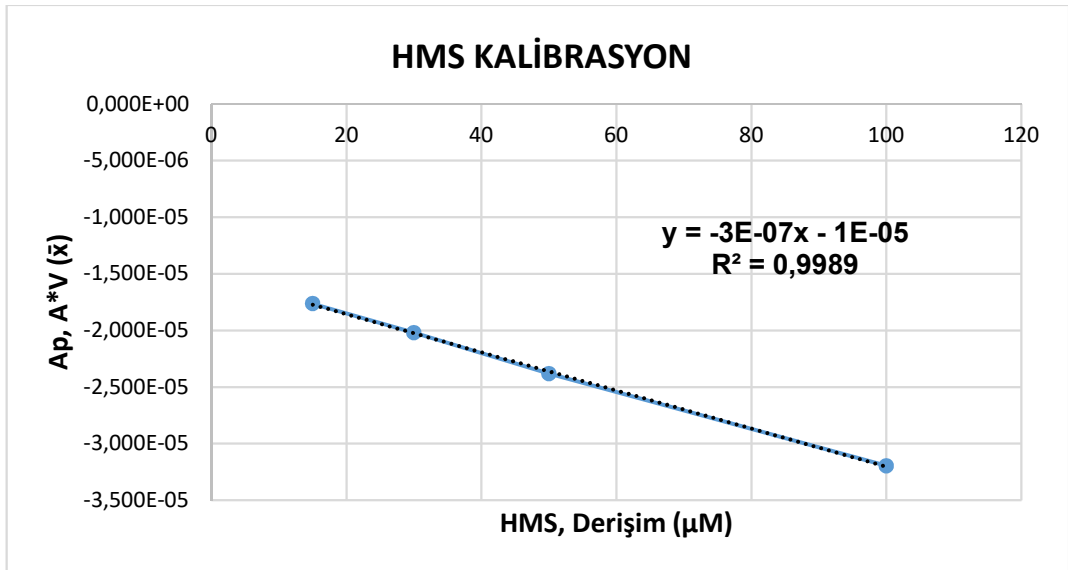
ip, A (x̄)	15µM HMS, n=6	BSS (%)	30µM HMS, n=5	BSS (%)	50µM HMS, n=7	BSS (%)	100µM HMS, n=6	BSS (%)
Anti-HMS	2,662x10 ⁻⁴	17,87	2,446 x10 ⁻⁴	19,56	3,097 x10 ⁻⁴	20,20	4,877 x10 ⁻⁴	28,88
HMS	1,473 x10 ⁻⁴	36,68	1,055 x10 ⁻⁴	24,76	1,433 x10 ⁻⁴	21,77	2,611 x10 ⁻⁴	30,41
FARK	1,189 x10 ⁻⁴	12,89	1,391 x10 ⁻⁴	31,79	1,664 x10 ⁻⁴	34,15	2,266 x10 ⁻⁴	33,90



Grafik 60. Dört farklı HMS derişiminde DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) için kalibrasyon grafiği

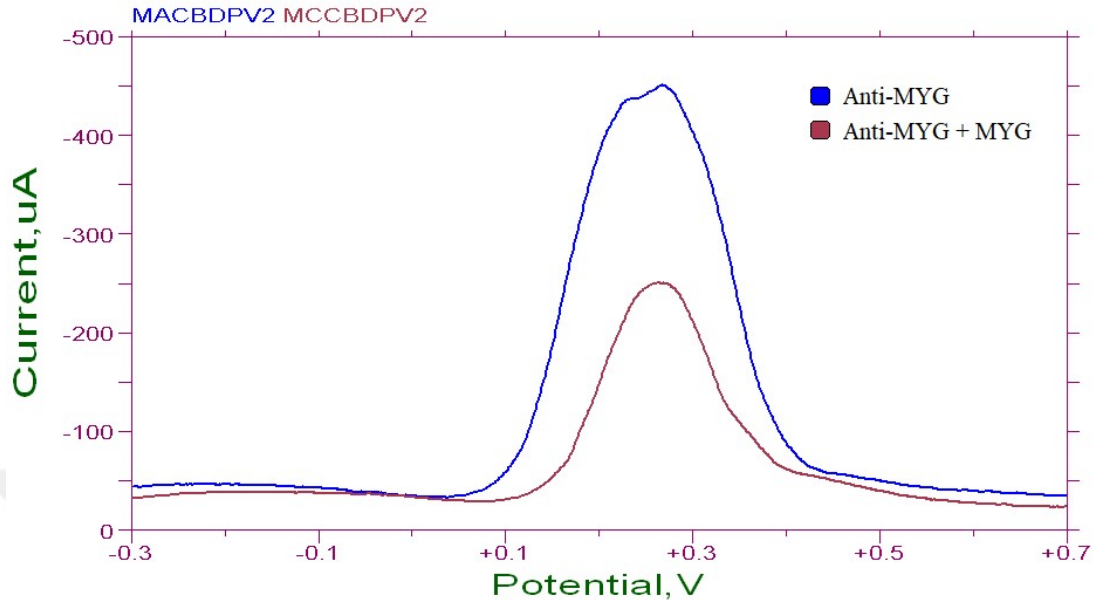
Tablo 58. Dört farklı HMS derişimi için DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

Ap, A*V ($\bar{x}$)	15μM HMS, n=9	BSS (%)	30μM HMS, n=8	BSS (%)	50μM HMS, n=7	BSS (%)	100μM HMS, n=7	BSS (%)
Anti- HMS	$4,513 \times 10^{-4}$	1,94	$4,489 \times 10^{-4}$	5,65	$4,599 \times 10^{-4}$	2,49	$7,054 \times 10^{-4}$	2,65
HMS	$2,749 \times 10^{-4}$	3,12	$2,468 \times 10^{-4}$	9,04	$2,218 \times 10^{-4}$	1,63	$3,857 \times 10^{-4}$	3,10
FARK	$1,764 \times 10^{-4}$	3,72	$2,021 \times 10^{-4}$	3,26	$2,381 \times 10^{-4}$	4,33	$3,197 \times 10^{-4}$	2,77

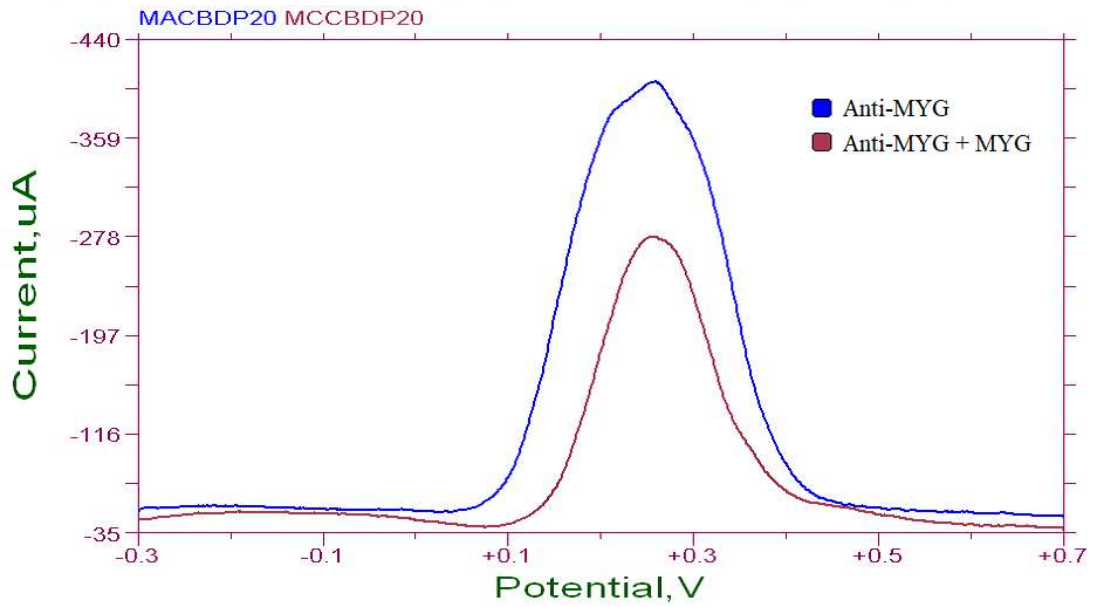


Grafik 61. Dört farklı HMS derişiminde DPV-Pik alanı (DPV-Ap) için kalibrasyon grafiği

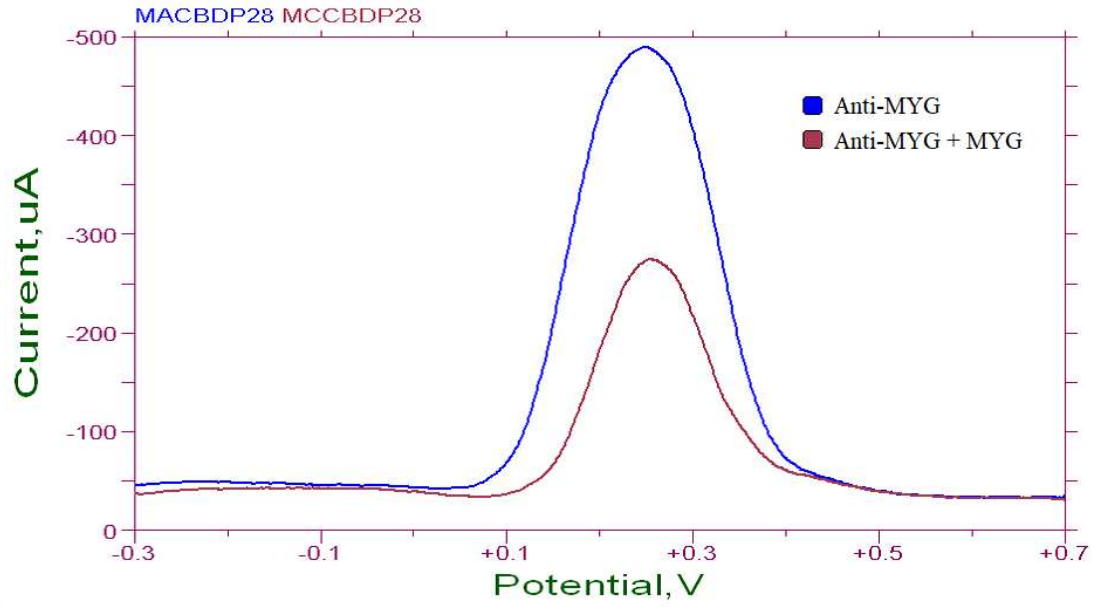
4.1.3.3. MYG Standardına Ait Bulgular



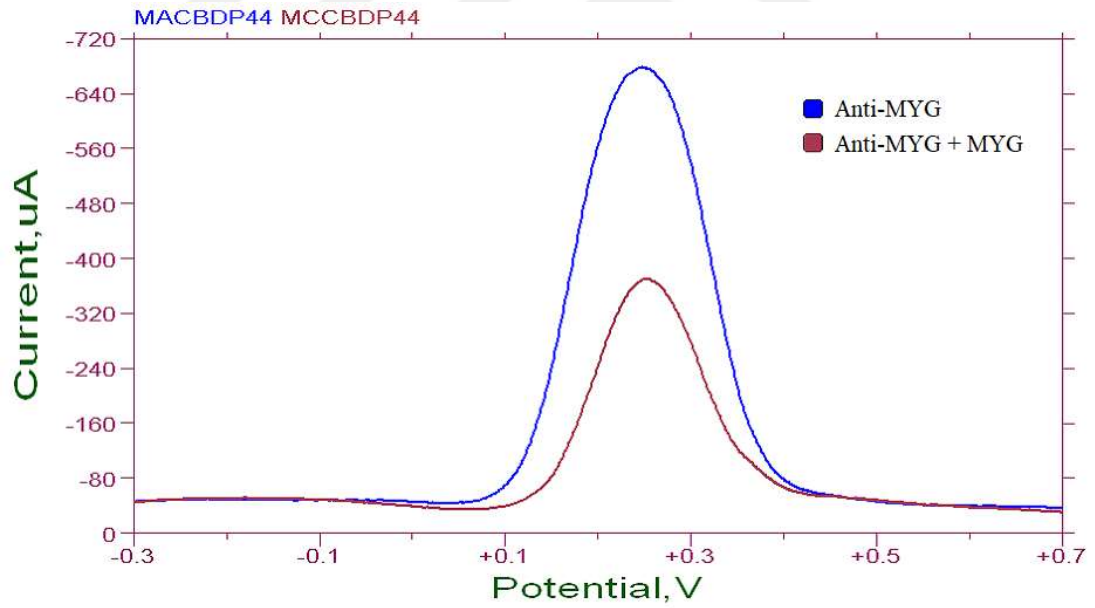
Şekil 51. 20 ng/mL MYG standardı için KPE 2 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MACBDPV2) ve MYG (MCCBDPV2) karşılaştırması



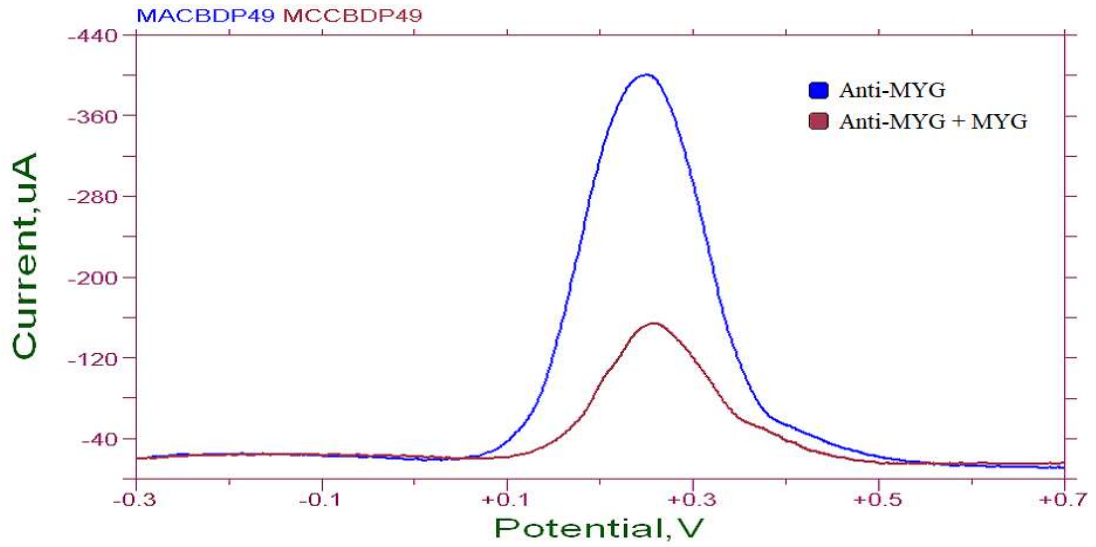
Şekil 52. 40 ng/mL MYG standardı için KPE 20 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MACBDP20) ve MYG (MCCBDP20) karşılaştırması



Şekil 53. 60 ng/mL MYG standardı için KPE 28 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MACBDP28) ve MYG (MCCBDP28) karşılaştırması



Şekil 54. 80 ng/mL MYG standardı için KPE 44 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MACBDP44) ve MYG (MCCBDP44) karşılaştırması

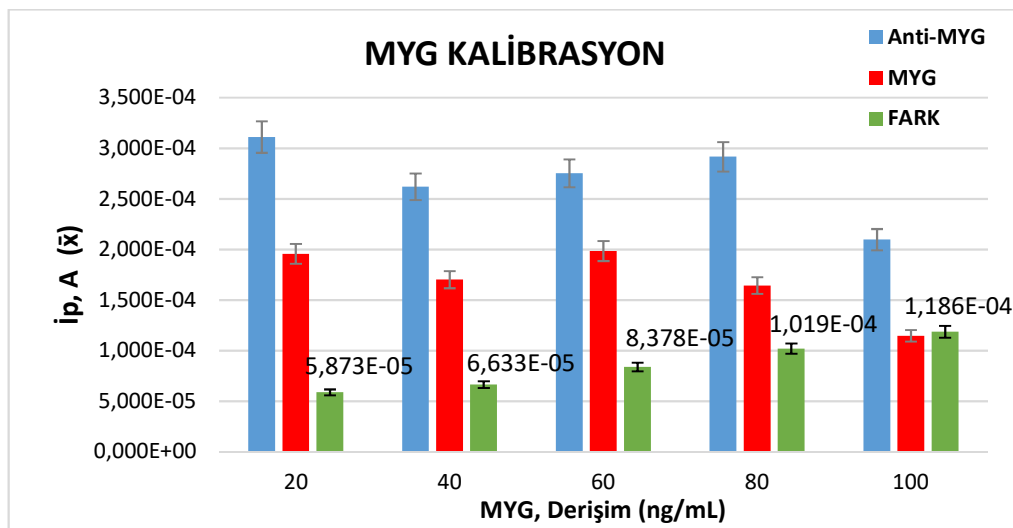


Şekil 55. 100 ng/mL MYG standardı için KPE 49 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MACBDP49) ve MYG (MCCBDP49) karşılaştırması

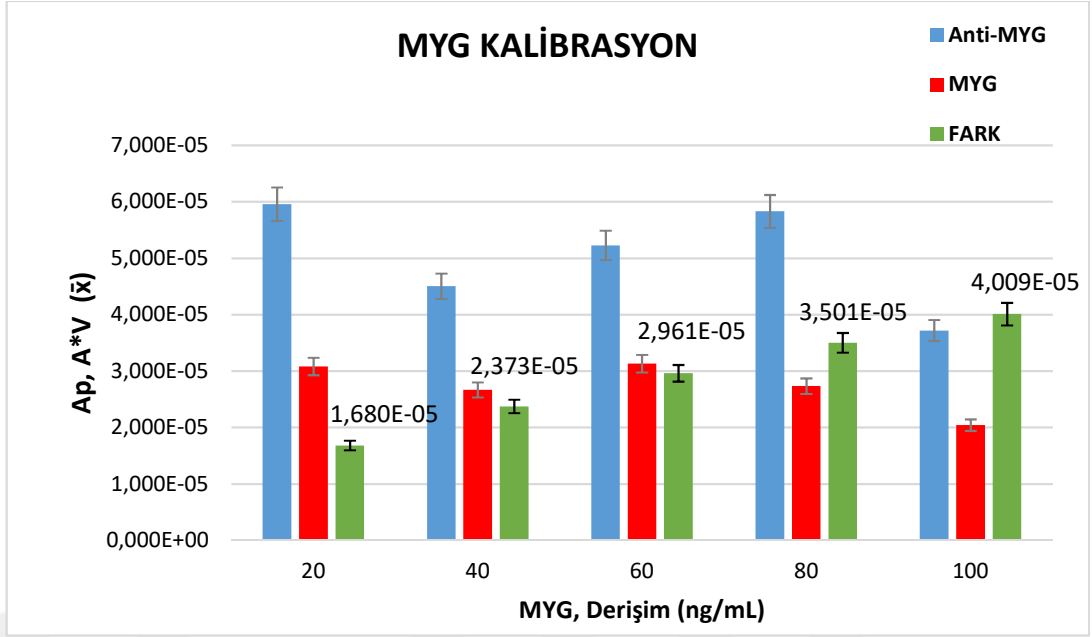
4.1.3.4. MYG Standart Çözeltisine Ait Kalibrasyon Eğrisi Bulguları

Tablo 59. Beş farklı MYG standart derişimi için KPE sonuçlarının karşılaştırılması

	20 ng/mL MYG	40 ng/mL MYG	60 ng/mL MYG	80 ng/mL MYG	100 ng/mL MYG
Olumlu Sonuç Sayısı	n=8	n=5	n=7	n=9	n=7
Toplam Elektrot Sayısı	n=13	n=12	n=12	n=12	n=12



Grafik 62. Beş farklı MYG derişimi için DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının kıyaslanması

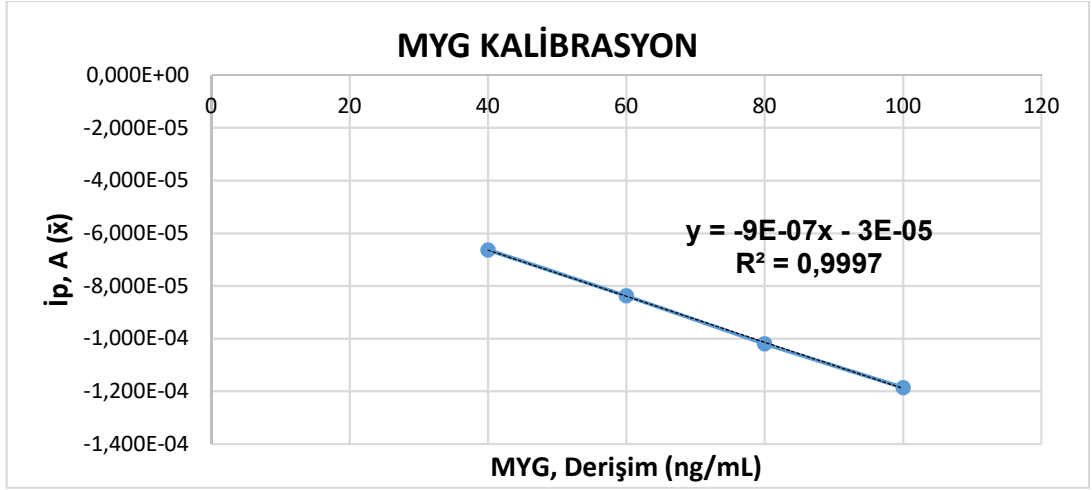


Grafik 63. Beş farklı MYG derişimi için DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

Anti-MYG yanıtından MYG ekimli elektrot yanıtı çıkarılarak elde edilen aradaki FARK; sonuç olarak değerlendirilmiş ve 4 nokta kullanılarak MYG standartlarına ait kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Sonuçlar aşağıda verilmektedir;

Tablo 60. Dört farklı MYG derişimi için DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

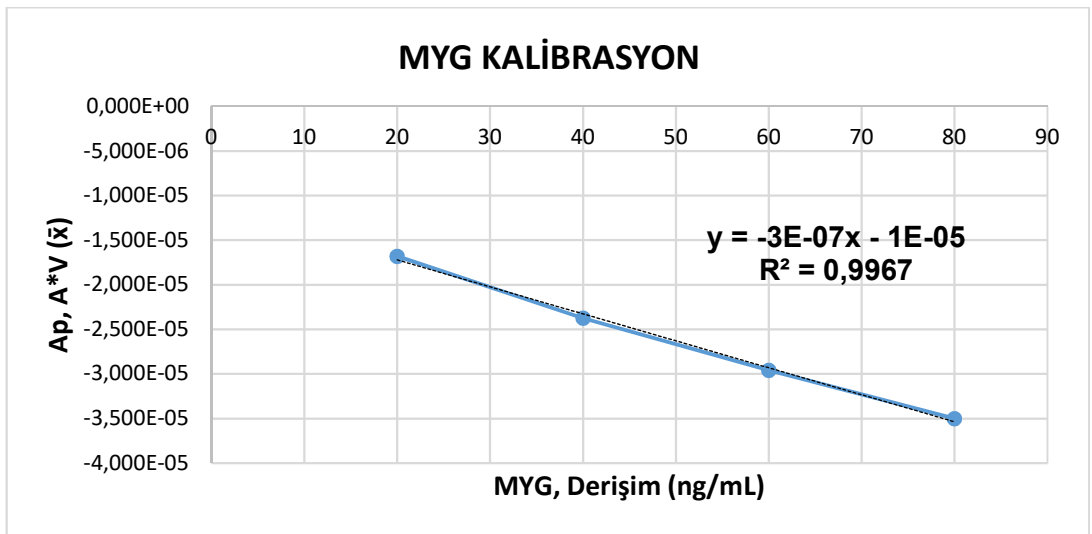
ip, A (x̄)	40 ng/mL MYG, n=3	BSS (%)	60 ng/mL MYG, n=6	BSS (%)	80 ng/mL MYG, n=7	BSS (%)	100 ng/mL MYG, n=4	BSS (%)
Anti-MYG	26,195 x10 ⁻⁵	24,20	27,517 x10 ⁻⁵	42,42	29,161 x10 ⁻⁵	64,67	20,972 x10 ⁻⁵	41,69
MYG	17,015 x10 ⁻⁵	37,98	19,841 x10 ⁻⁵	42,34	16,425 x10 ⁻⁵	49,63	11,456 x10 ⁻⁵	25,32
FARK	6,633 x10 ⁻⁵	55,53	8,378 x10 ⁻⁵	79,02	10,193 x10 ⁻⁵	89,50	11,857 x10 ⁻⁵	70,25



Grafik 64. Dört farklı MYG derişiminde DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) için kalibrasyon grafiği

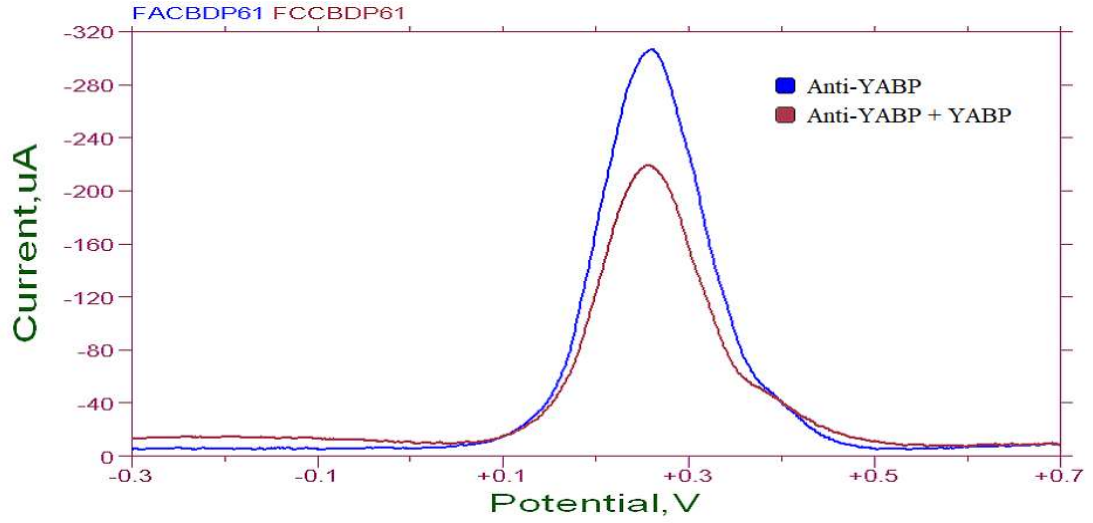
Tablo 61. Dört farklı MYG derişimi için DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

Ap, A*V ($\bar{x}$)	20 ng/mL MYG, n=3	BSS (%)	40 ng/mL MYG, n=3	BSS (%)	60 ng/mL MYG, n=3	BSS (%)	80 ng/mL MYG, n=6	BSS (%)
Anti-MYG	$5,956 \times 10^{-5}$	32,56	$4,505 \times 10^{-5}$	34,50	$5,227 \times 10^{-5}$	31,99	$5,830 \times 10^{-5}$	48,63
MYG	$3,080 \times 10^{-5}$	26,75	$2,667 \times 10^{-5}$	26,40	$3,131 \times 10^{-5}$	34,37	$2,733 \times 10^{-5}$	37,14
FARK	$1,680 \times 10^{-5}$	15,60	$2,373 \times 10^{-5}$	37,08	$2,961 \times 10^{-5}$	47,92	$3,501 \times 10^{-5}$	48,53

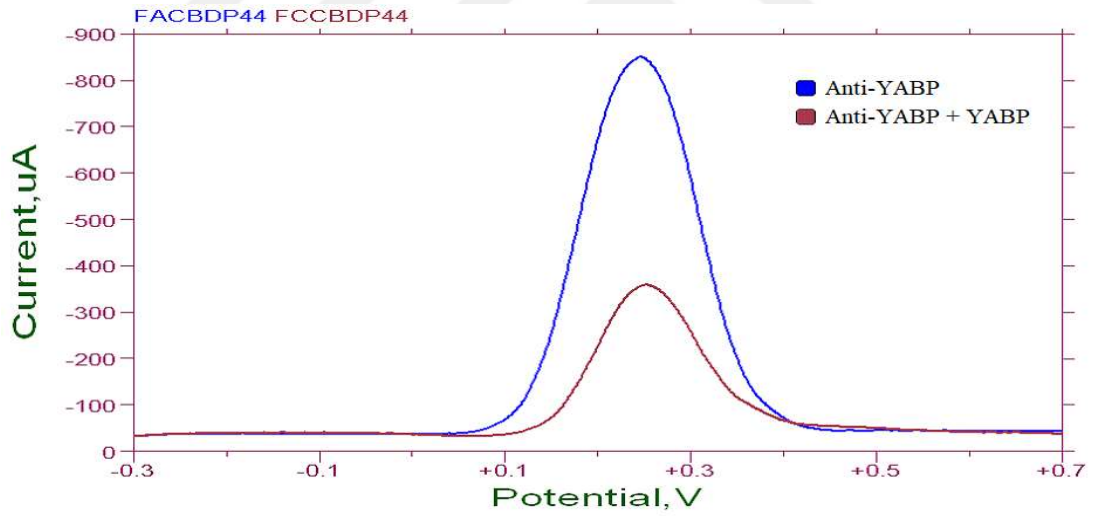


Grafik 65. Dört farklı MYG derişiminde DPV-Pik alanı (DPV-Ap) için kalibrasyon grafiği

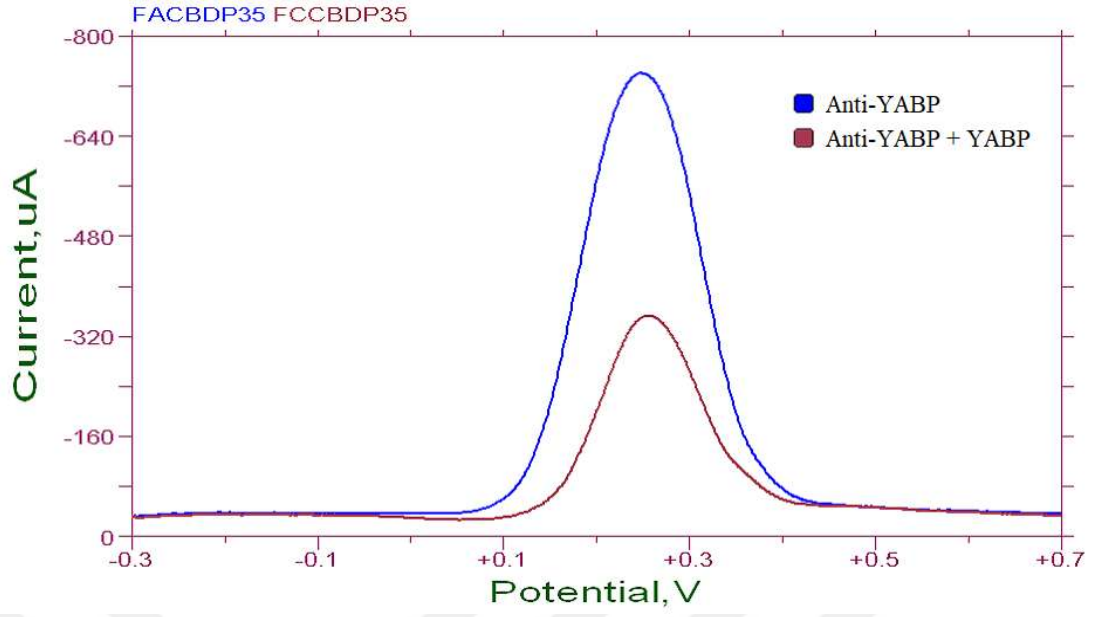
4.1.3.5. YABP Standardına Ait Bulgular



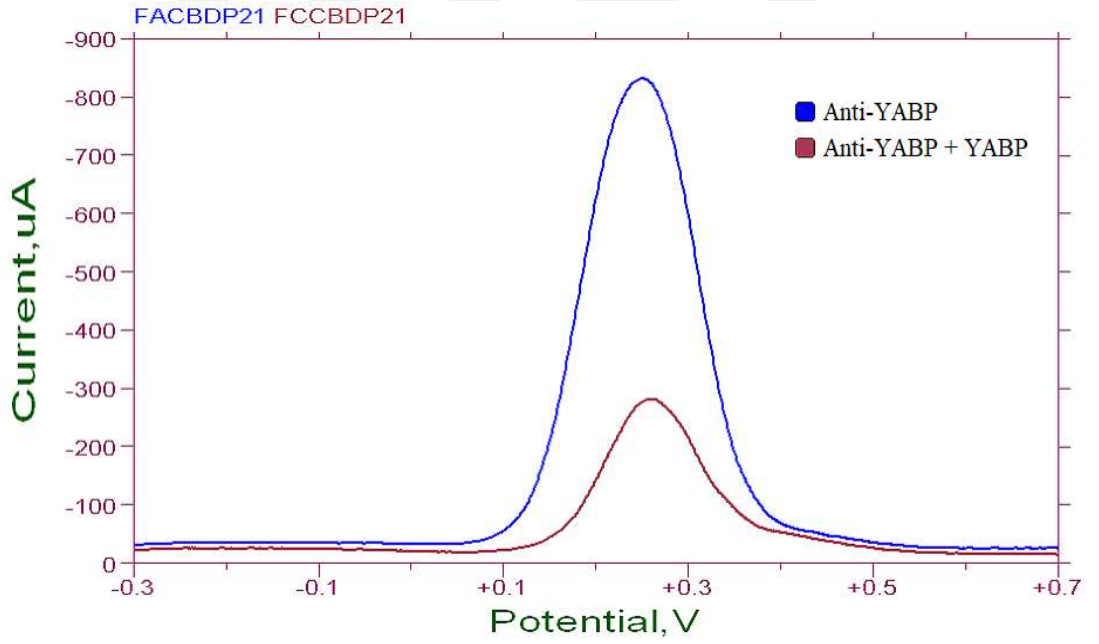
Şekil 56. 1 ng/mL YABP standardı için KPE 61 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDP61) ve YABP (FCCBDP61) karşılaştırması



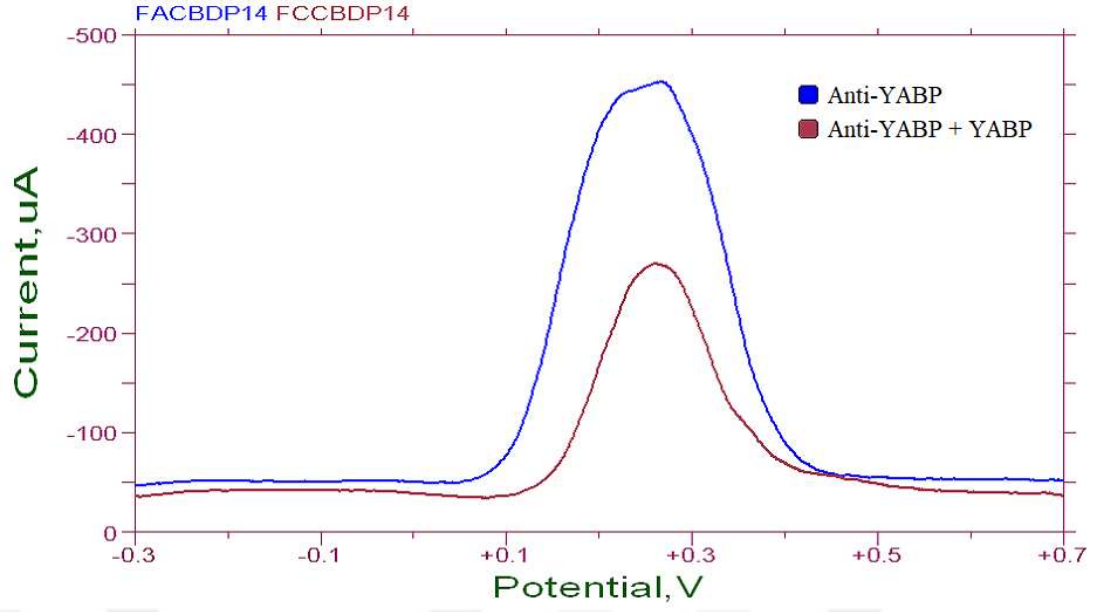
Şekil 57. 3 ng/mL YABP standardı için KPE 44 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDP44) ve YABP (FCCBDP44) karşılaştırması



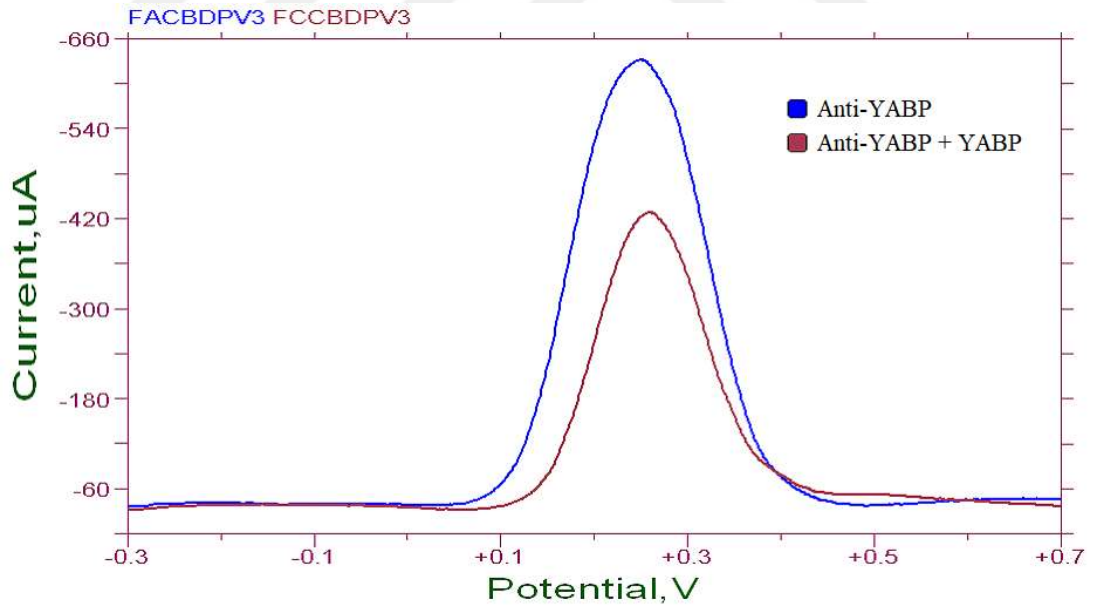
Şekil 58. 5 ng/mL YABP standardı için KPE 35 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDP35) ve YABP (FCCBDP35) karşılaştırması



Şekil 59. 10 ng/mL YABP standardı için KPE 21 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDP21) ve YABP (FCCBDP21) karşılaştırması



Şekil 60. 20 ng/mL YABP standardı için KPE 14 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDP14) ve YABP (FCCBDP14) karşılaştırması

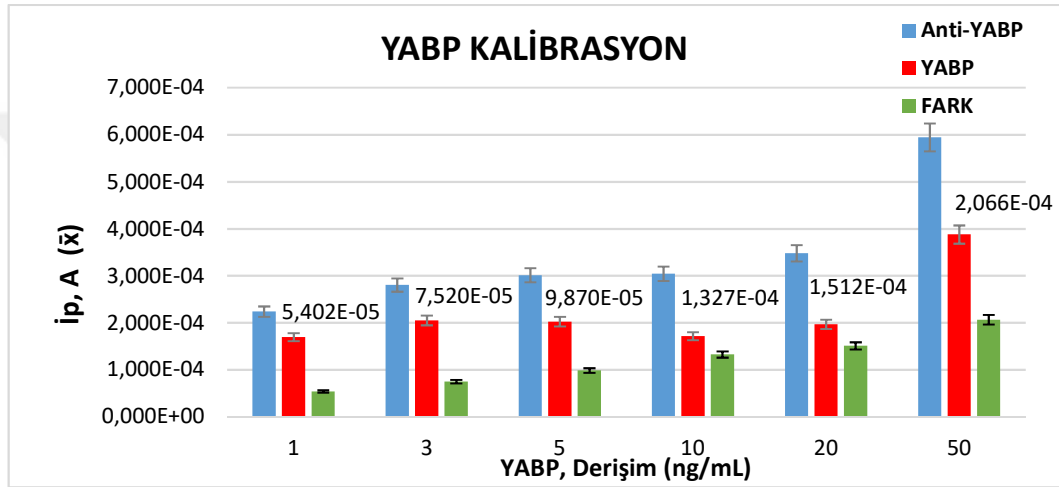


Şekil 61. 50 ng/mL YABP standardı için KPE 3 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FACBDPV3) ve YABP (FCCBDPV3) karşılaştırması

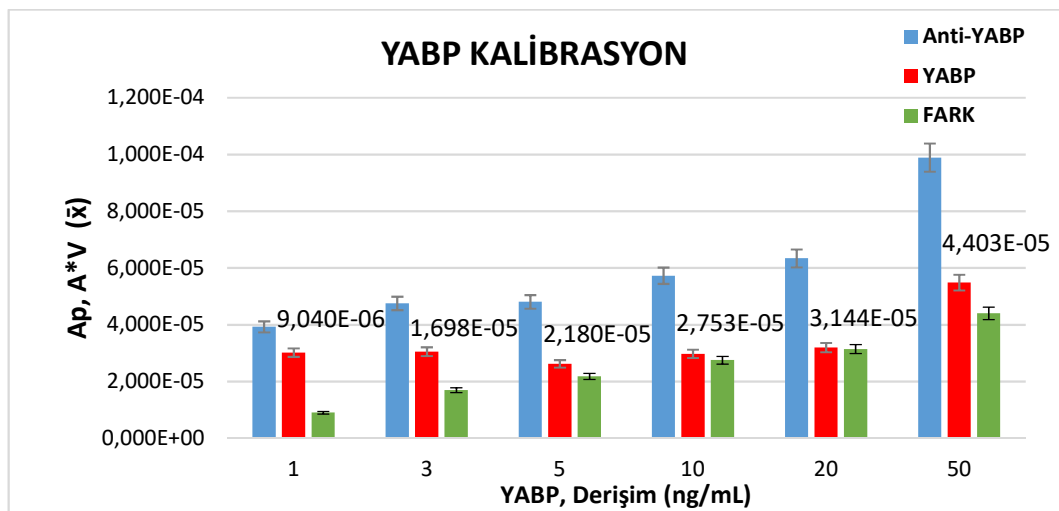
4.1.3.6. YABP Standart Çözeltisine Ait Kalibrasyon Eğrisi Bulguları

Tablo 62. Altı farklı YABP standart derişimi için KPE sonuçlarının karşılaştırılması

	1 ng/mL YABP	3 ng/mL YABP	5 ng/mL YABP	10 ng/mL YABP	20 ng/mL YABP	50 ng/mL YABP
Olumlu Sonuç Sayısı	n=9	n=7	n=8	n=9	n=6	n=5
Toplam Elektrot Sayısı	n=11	n=9	n=10	n=10	n=10	n=10



Grafik 66. Altı farklı YABP derişimi için DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçlarının kıyaslanması

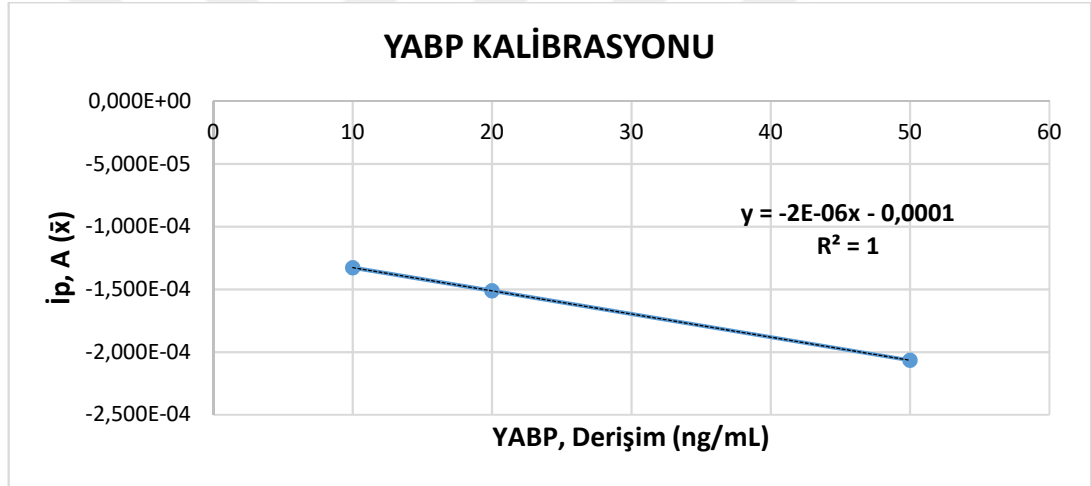


Grafik 67. Altı farklı YABP derişimi için DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçlarının karşılaştırılması

Anti-YABP yanıtından YABP ekimli elektrot yanıtı çıkarılarak elde edilen aradaki FARK; sonuç olarak değerlendirilmiş ve 3 nokta kullanılarak YABP standartlarına ait kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Sonuçlar aşağıda verilmektedir;

Tablo 63. Üç farklı YABP derişimi için DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) sonuçları

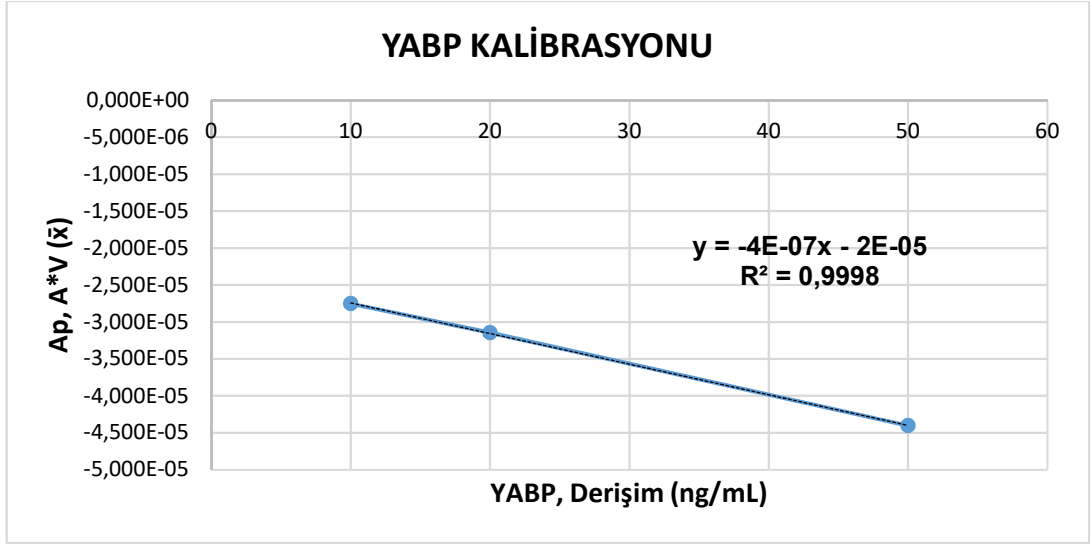
ip, A ($\bar{x}$)	10 ng/mL YABP, n=3	BSS (%)	20 ng/mL YABP, n=6	BSS (%)	50 ng/mL YABP, n=7	BSS (%)
Anti-YABP	$3,044 \times 10^{-4}$	82,30	$3,481 \times 10^{-4}$	21,86	$5,944 \times 10^{-4}$	-
YABP	$1,717 \times 10^{-4}$	43,87	$1,969 \times 10^{-4}$	26,00	$3,878 \times 10^{-4}$	-
FARK	$1,327 \times 10^{-4}$	143,62	$1,512 \times 10^{-4}$	16,46	$2,066 \times 10^{-4}$	-



Grafik 68. Üç farklı YABP derişiminde DPV-Pik yüksekliği (DPV-ip) için kalibrasyon grafiği

Tablo 64. Üç farklı YABP derişimi için DPV-Pik alanı (DPV-Ap) sonuçları

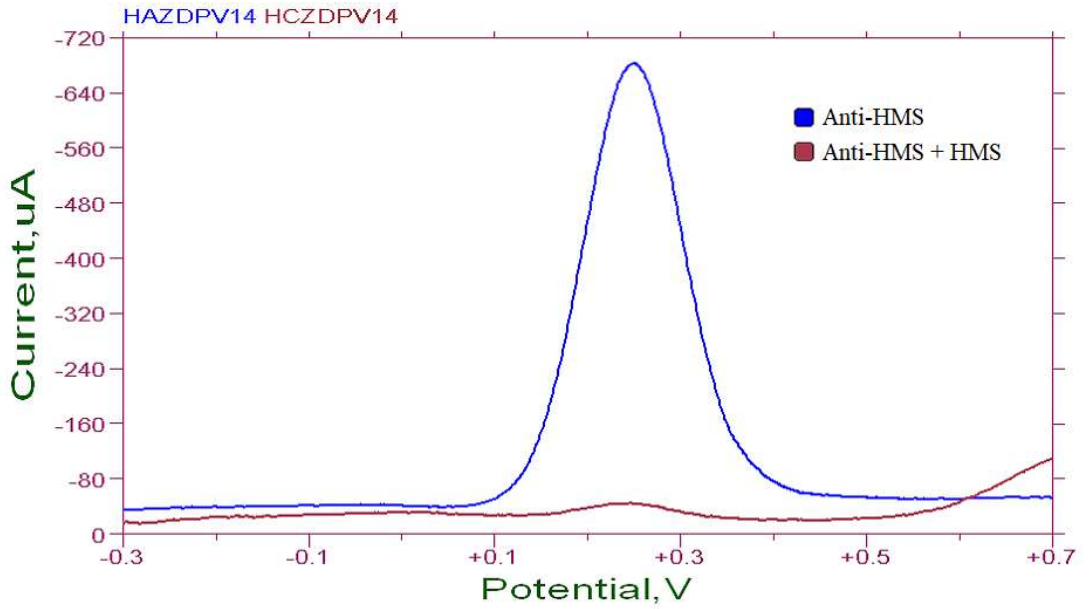
Ap, A*V ($\bar{x}$)	10 ng/mL YABP, n=3	BSS (%)	20 ng/mL YABP, n=6	BSS (%)	50 ng/mL YABP, n=7	BSS (%)
Anti-YABP	$5,729 \times 10^{-5}$	61,81	$6,341 \times 10^{-5}$	28,45	$9,889 \times 10^{-5}$	-
YABP	$2,976 \times 10^{-5}$	28,46	$3,197 \times 10^{-5}$	15,70	$5,486 \times 10^{-5}$	-
FARK	$2,753 \times 10^{-5}$	109,01	$3,144 \times 10^{-5}$	41,41	$4,403 \times 10^{-5}$	-



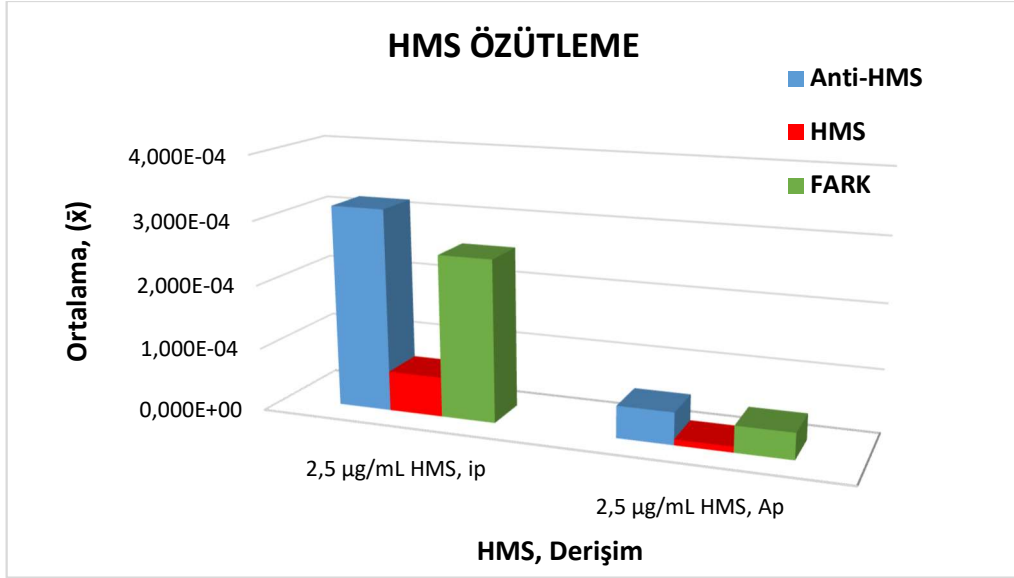
Grafik 69. Üç farklı YABP derişiminde DPV-Pik alanı (DPV-Ap) için kalibrasyon grafiğı

4.1.4. TI özütleme işlemi sonrası DPV ölçümlerine ait bulgular

4.1.4.1. Homosistein için TI özütleme işlemi sonrasına ait bulgular

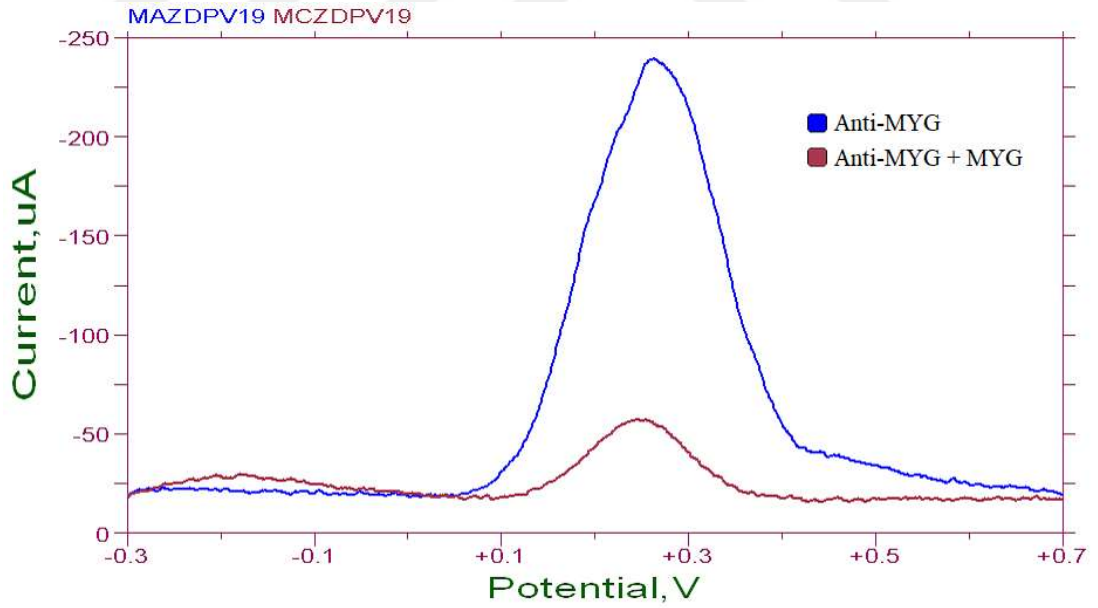


Şekil 62. TI özütleme sonrası 2,5 $\mu\text{g/mL}$ HMS standardı için KPE 14 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-HMS (HAZDPV14) ve HMS (HCZDPV14) karşılaştırması

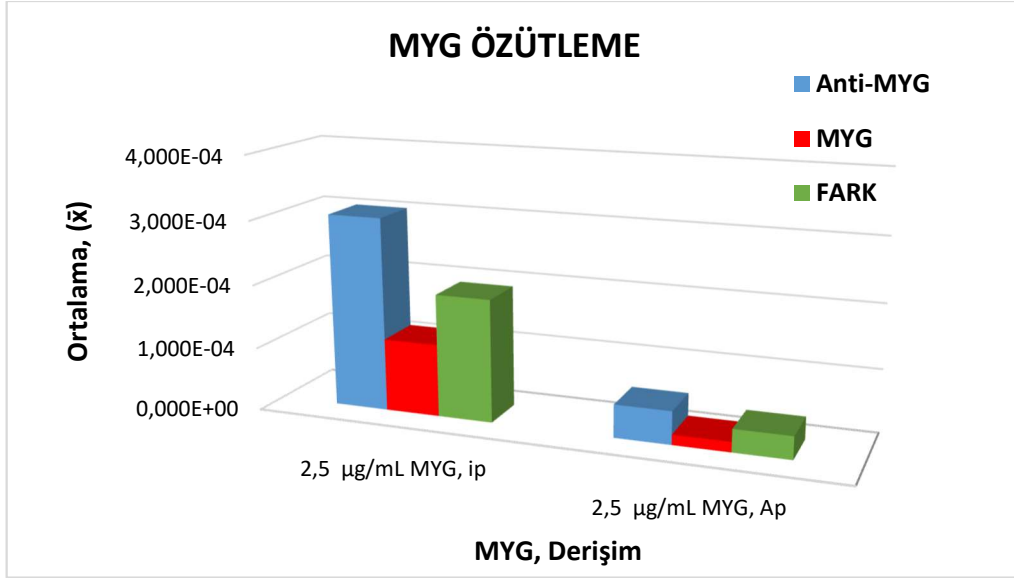


Grafik 70. 2,5 µg/mL HMS Standart Derişimindeki TI Özütlemeye DPV Ölçümleri İçin Pik Yüksekliği (ip) ve Pik Alanlarının (Ap) Karşılaştırılması

4.1.4.2. Miyogloblin İçin TI Özütlemeye İşlemi Sonrasına Ait Bulgular

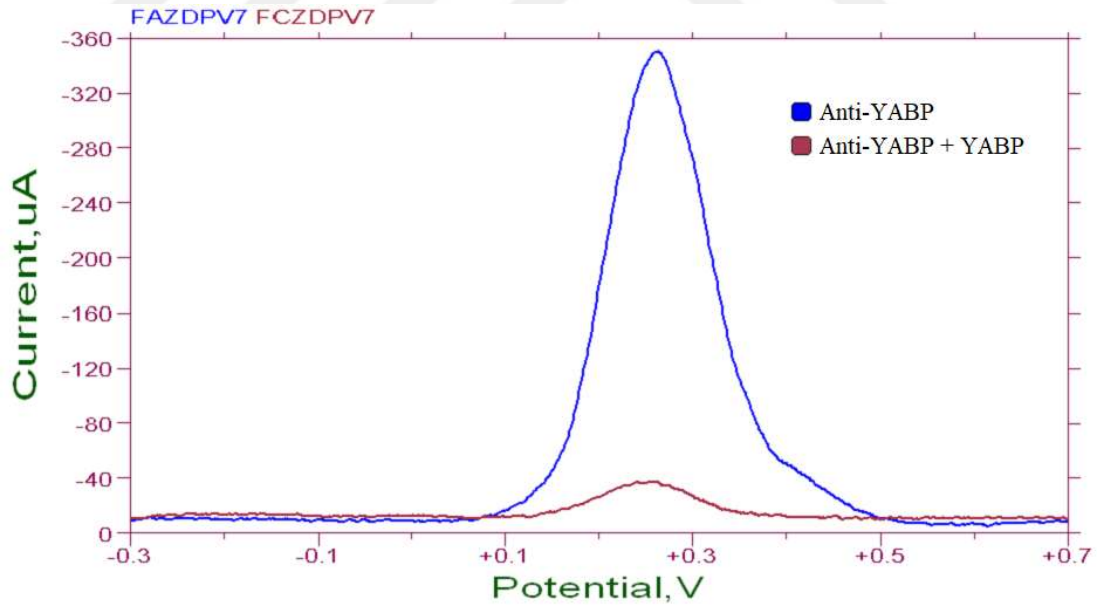


Şekil 63. TI özütlemeye sonrası 2,5 µg/mL MYG standardı için KPE 19 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-MYG (MAZDPV19) ve MYG (MCZDPV19) karşılaştırması

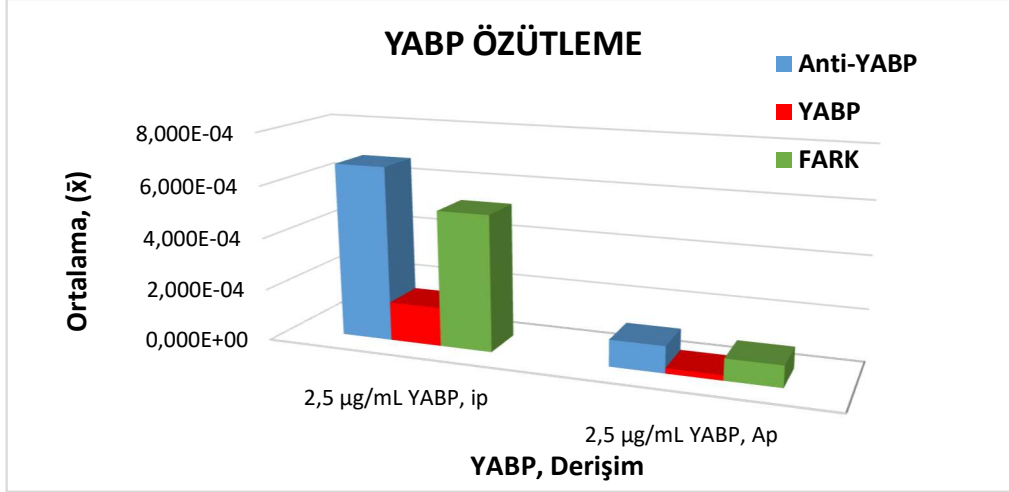


Grafik 71. 2,5 µg/mL MYG Standart Derişimindeki TI Özütlemeye DPV Ölçümleri İçin Pik Yüksekliği (ip) ve Pik Alanlarının (Ap) Karşılaştırılması

4.1.4.3. YABP İçin TI Özütlemeye İşlemi Sonrasına Ait Bulgular



Şekil 64. TI özütlemeye sonrası 2,5 µg/mL YABP standardı için KPE 7 elektrodunun DPV ölçümünün Anti-YABP (FAZDPV7) ve YABP (FCZDPV7) karşılaştırması

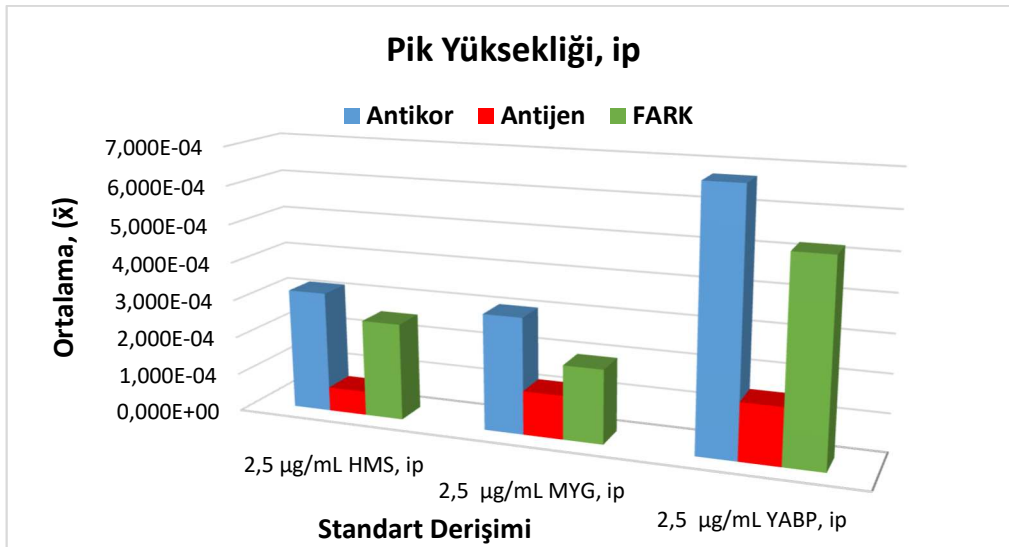


Grafik 72. 2,5 µg/mL YABP Standart Derişimindeki TI Özütleme DPV Ölçümleri İçin Pik Yüksekliği (ip) ve Pik Alanlarının (Ap) Karşılaştırılması

4.1.4.4. Üç Farklı Standart Madde için TI Özütleme İşlemi Sonrasına Ait DPV Sonuçlarının Karşılaştırılması

Tablo 65. Üç Farklı Standart Madde İçin DPV-Pik Yüksekliği (DPV-ip) Sonuçları

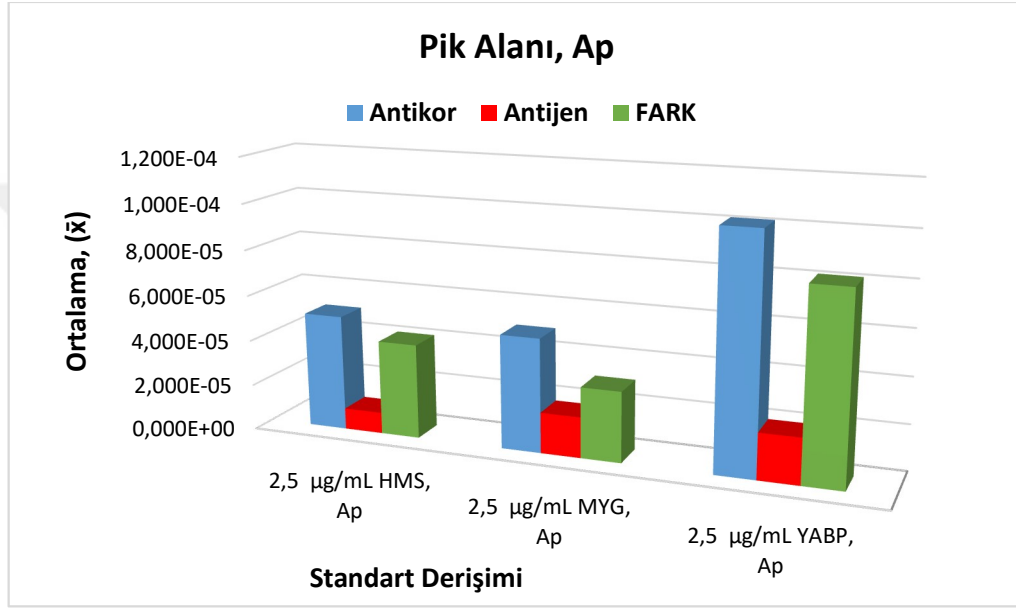
ip, A (x̄)	2,5 µg/mL HMS, n=55	BSS (%)	2,5 µg/mL MYG, n=53	BSS (%)	2,5 µg/mL YABP, n=50	BSS (%)
Antikor	3,177 x10 ⁻⁴	48,12	3,042 x10 ⁻⁴	53,29	6,716 x10 ⁻⁴	63,08
Antijen	6,311 x10 ⁻⁵	138,05	1,144 x10 ⁻⁴	88,13	1,496 x10 ⁻⁴	113,71
FARK	2,546 x10 ⁻⁴	52,24	1,931 x10 ⁻⁴	60,57	5,220 x10 ⁻⁴	77,56



Grafik 73. 2,5 µg/mL Standart Derişimindeki TI Özütleme DPV Ölçümleri İçin Pik Yüksekliklerinin (ip) Karşılaştırılması

Tablo 66. Üç Farklı Standart Madde İçin DPV-Pik Alanı (DPV-Ap) Sonuçları

Ap, A*V ($\bar{x}$)	2,5 µg/mL HMS, n=57	BSS (%)	2,5 µg/mL MYG, n=54	BSS (%)	2,5 µg/mL YABP, n=52	BSS (%)
Antikor	$5,064 \times 10^{-5}$	38,17	$5,221 \times 10^{-5}$	44,65	$1,020 \times 10^{-4}$	64,52
Antijen	$0,925 \times 10^{-5}$	139,35	$1,613 \times 10^{-5}$	85,06	$2,009 \times 10^{-5}$	111,50
FARK	$4,139 \times 10^{-5}$	43,92	$3,608 \times 10^{-5}$	50,91	$8,194 \times 10^{-5}$	77,61



Grafik 74. 2,5 µg/mL Standart Derişimindeki TI Özütlemeye DPV Ölçümleri İçin Pik Alanlarının (Ap) Karşılaştırılması

4.1.5. Yöntem Geçerliliğine Ait Bulgular

Tablo 67. Yöntem Geçerliliğine Ait DPV Yöntemi Bulgularının Özeti

PARAMETRE	YÖNTEM	DENEYSEL BULGULAR			
Seçicilik	Çözgen sisteminin içeriğinde veya ortamda girişim yapabilecek kimyasal türlerin varlığında tayinlerin yapılabilmesi	HMS: K ₂ HPO ₄ , KH ₂ PO ₄ , MC, ALB, UA, PE varlığında tayin edilebilmiştir.			
		MYG: K ₂ HPO ₄ , KH ₂ PO ₄ , MC, GLC, AA, UA varlığında tayin edilebilmiştir.			
		YABP: K ₂ HPO ₄ , KH ₂ PO ₄ , MC, PA varlığında tayin edilebilmiştir.			
Doğrusallık	Tanımlanan pike ait “FARK” kullanılarak 15-100 µg/mL (HMS), 20-100 ng/mL (MYG), 1-50 ng/mL (YABP) derişim aralığında regresyon grafikleri elde edilmiştir.	HMS, DPV, ip (A) y = -1E-06x - 0,0001 R ² = 0,999		HMS, DPV, Ap (A*V) y = -3E-07x - 1E-05 R ² = 0,9989	
		MYG, DPV, ip (A) y = -9E-07x - 3E-05 R ² = 0,9997		MYG, DPV, Ap (A*V) y = -3E-07x - 1E-05 R ² = 0,9967	
		YABP, DPV, ip (A) y = -2E-06x - 0,0001 R ² = 0,9999		YABP, DPV, Ap (A*V) y = -4E-07x - 2E-05 R ² = 0,9998	
Kesinlik	Biyogöstergelere ait standartların çoklu ölçümlerinin (min, ≥3) 15-100 µg/mL (HMS), 20-100 ng/mL (MYG), 10-50 ng/mL (YABP) düzeyleri için “FARK” kullanılarak sonuçların ortalaması ve BSS değerleri hesaplanmıştır.	Derişim	HMS, DPV, ip (A)	Derişim	HMS, DPV, Ap (A*V)
		15 µM	1,189x10 ⁻⁴ ±12,89 ; n=6	15 µM	1,764x10 ⁻⁴ ±3,72 ; n=9
		30 µM	1,391x10 ⁻⁴ ±31,78 ; n=5	30 µM	2,021x10 ⁻⁴ ±3,26 ; n=8
		50 µM	1,664x10 ⁻⁴ ±34,15 ; n=7	50 µM	2,381x10 ⁻⁴ ±4,33 ; n=7
		100 µM	2,266x10 ⁻⁴ ±33,90 ; n=6	100 µM	3,197x10 ⁻⁴ ±2,77 ; n=7
		Derişim	MYG, DPV, ip (A)	Derişim	MYG, DPV, Ap (A*V)

		40 ng/mL	6,633x10 ⁻⁵ ±55,53 ; n=3	20 ng/mL	1,680x10 ⁻⁵ ±15,60 ; n=3
		60 ng/mL	8,378x10 ⁻⁵ ±79,02 ; n=6	40 ng/mL	2,373x10 ⁻⁵ ±37,08 ; n=3
		80 ng/mL	1,019x10 ⁻⁴ ±89,53 ; n=7	60 ng/mL	2,961x10 ⁻⁵ ±47,92 ; n=3
		100 ng/mL	1,186x10 ⁻⁴ ±70,24 ; n=4	80 ng/mL	3,501x10 ⁻⁵ ±48,53 ; n=6
		Derişim	YABP, DPV, ip (A)	Derişim	YABP, DPV, Ap (A*V)
		10 ng/mL	1,327x10 ⁻⁴ ±143,60 ; n=7	10 ng/mL	2,753x10 ⁻⁵ ±109,01 ; n=6
		20 ng/mL	1,512x10 ⁻⁴ ±16,46 ; n=2	20 ng/mL	3,144x10 ⁻⁵ ±41,41 ; n=2
		50 ng/mL	2,066x10 ⁻⁴ ± - ; n=1	50 ng/mL	4,403x10 ⁻⁵ ± - ; n=1
Doğruluk	Kesinlik, doğrusallık ve seçicilik parametreleri sağlandığında doğruluk parametresinin de sağlandığı kabul edilir*	HMS, MYG ve YABP için kesinlik, doğrusallık ve seçicilik parametreleri sağlandığından doğruluk parametresinin de sağlandığı kabul edilebilir.			
Tespit Sınırı (LOD) (Armbruster&Pry, 2008; Theodorsson)	LOD= (sx3)/m=(0,013x3)/m s : taban çizgisinin SS'si (0,013) m : kalibrasyon eğrisinin eğimi	HMS, ip 0,0390 µA = 3,91x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)		HMS, Ap 0,1300 µA.V = 3,90x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)	
		MYG, ip 0,0433 µA = 3,89x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)		MYG, Ap 0,1300 µA.V = 3,90x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)	
		YABP, ip 0,0195 µA = 3,92x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)		YABP, Ap 0,0975 µA.V = 3,90x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)	
Tayin Sınırı (LOQ) (Armbruster&Pry, 2008; Theodorsson)	LOQ= (sx10)/m=(0,013x10)/m s : taban çizgisinin SS'si (0,013) m : kalibrasyon eğrisinin eğimi	HMS, ip 0,13 µA = 13,01x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)		HMS, Ap 0,4333 µA.V = 12,99x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)	
		MYG, ip 0,1444 µA = 12,99x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)		MYG, Ap 0,4333 µA.V = 12,99x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)	
		YABP, ip 0,065 µA = 13,2x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)		YABP, Ap 0,3250 µA.V = 13,0x10 ⁻⁸ µg/mL (ppm)	

*ICH Q2(R1) kılavuzu madde 4.1.1.c ve 4.1.2.c'ye göre

Tartışma

5.1. MI Parametrelerinin Tayin Yöntemlerine Ait Bulguların Tartışılması

5.1.1. KPE Yüzey Alanları İçin ANSON Ölçümlerine Ait Bulguların

Tartışılması

Şekil 19-21’de KPE 1-3 elektrotlarıyla kronokulometrik ANSON yöntemiyle aktif yüzey alanı saptanmasına ait kronokulogram grafikleri verilmiştir. 61 adet KPE’ye ait 3 parti ölçüm gerçekleştirilmiş olup elde edilen elektrot yarıçap (mm) ve aktif yüzey alan (mm²) değerleri Tablo 4’de sunulmuştur. Bu bağlamda toplamda 61x3=183 adet ölçüm gerçekleştirilmiş olup her bir parti için (n=61) standart sapma (SD) ve ortalama değerler ($\bar{x}$) hesaplanarak Tablo 5’de sunulmuştur. Sonuçları grafiklerle görselleştirmek amacıyla aynı veriler ayrıca Grafik 1’de sunulmuştur. Buna göre birinci, ikinci ve üçüncü partilerdeki aktif yüzey alanlar için SD değerleri sırasıyla 0,6833, 0,6759 ve 0,4266 olarak gerçekleşmiş olup belirli oranda aktif yüzey alan tekrarlanabilirliği sorunu olduğunu göstermektedir. Elektrotlar arasında parti içi ve partiler arası gözlemlenen bu farkların, elektrotların laboratuvar ortamında tarafımızca imal edilmeleri sebebinden kaynaklanıyor olması muhtemeldir. Hesaplanan bulgular elektrot imalatı ile ilgili tekrarlanabilirliğin çok iyi olmadığını göstermektedir. Bu durum KPE’ler ile gerçekleştirilen immüno-sensör çalışmalarının tipik bir doğal sorunudur (Rezaei ve ark, 2018). Benzer mantıkla elektrot yarıçapları da değerlendirildiğinde birinci, ikinci ve üçüncü partilerdeki aktif yüzey alanlar için SD değerleri sırasıyla 0,1173, 0,1417 ve 0,0827 olarak gerçekleşmiş olup yine anlamlı bir aktif yüzey alan tekrarlanabilirliği sorunu olduğu görülmektedir. AMI biyogöstergelerinin TI tabanlı elektrokimyasal immüno-sensörlerle tayinine yönelik literatürde halihazırda bulunan tek çalışma olan Kilinc ve diğerleri tarafından 2023 yılında Talanta dergisinde yayınlanan makalede (Kilinc ve ark, 2023) cTnT immüno-sensörü için hesaplanan, farklı parti KPE’ler için, aktif yüzey alan ortalaması; 3,199±0,8823, 3,601±0,7160, 3,806±0,8294 ve 5,267±1,4813mm² şeklinde gerçekleşmiştir. Aynı makaledeki diğer AMI biyogöstergesi olan cTnI tayininde kullanılan KPE’ler için hesaplanan aktif yüzey alan ve ortalamaları; 4,407±0,8311, 3,377±0,5929, 3,129±0,4196 ve 2,876±0,8332mm² dir. Hesaplanan değerler aynı tezimizdeki bulgular gibi tekrarlanabilirliğin çok iyi olmadığını göstermektedir.

5.1.2. Deneysel Optimizasyon Parametrelerine Ait Bulguların Tartışılması

Şekil 22’de AMI biyogöstergelerinden homosistein’e (HMS) ait immunosensör çalışması aşamasında kaydedilmiş tipik DPV voltamogramlarından örnekler KPE 7 elektrodu için verilmiştir. Hiçbir işlem görmemiş sade elektrot (bare) mor renkle, EDC+NHS bağlayıcı ekilmiş elektrot yeşil renkle, antikor+antijen biyokonjugasyonlu elektrot kırmızı renkle ve sadece antikor ekilmiş elektrot mavi renkle, sade elektrot ile sadece ölçüm çözenleri ve elektrolitlerinin (10 mM FTÇ + 10 mM KCl) kaydını gösteren voltamogram ise siyah renkle gösterilmiştir. Görülebileceği üzere 5 mM KCl ve 5 mM $K_4[Fe(CN)_6]$ içeren çözen sisteminde sadece antikor ekilmiş elektrot (mavi) ile elde edilen yanıt, elektrot yüzeyi antijen (HMS) ile biyokonjugasyon ile etkileşince anlamlı bir şekilde düşüş göstermektedir (kırmızı). Aynı elektrot çeşitleri ile diferansiyel puls voltametri (DPV) yerine döngüsel voltametri (CV) ile ölçümler gerçekleştirildiğinde elde edilen tipik CV voltamogramları Şekil 23’de verilmiştir.

5.1.2.1. KPE Islatma ve Yıkama Sürelerine Ait Bulguların Tartışılması

Antijenle biyokonjugasyon sonrasında kuruyan KPE yüzeyleri için elektrokimyasal ölçümden önce 1 defa, 1 dk, 2 dk, 3 dk ve 5 dk boyunca olmak üzere farklı şekillerde daldırma/çıkarma işlemi denenmiştir. Şekil 24’de KPE 23 elektrodunun antijen (HMS) biyokonjugasyonu sonrasında, elektrot yüzeyindeki artık antijenin uzaklaştırılması amacıyla gerçekleştirilen sırasıyla 1 defa, 1 dk, 2 dk, 3 dk ve 5 dk boyunca FTÇ’e daldırılma/çıkarma işleminin kıyaslanmasına ait DPV voltamogramları verilmiştir. 3 dk’dan daha fazla yıkamanın elektrot yanıtına olumlu bir etkisinin olmadığı görülmektedir.

Şekil 25’de KPE 14 elektrodunun antijen (HMS) biyokonjugasyonu sonrasında, elektrot yüzeyindeki artık antijenin uzaklaştırılması amacıyla gerçekleştirilen sırasıyla 1 defa, 1 dk, 2 dk, 3 dk ve 5 dk boyunca FTÇ’e daldırılma/çıkarma işleminin kıyaslanmasına ait DPV voltamogramları verilmiştir. Tablo 7 ve 8’de sırasıyla pik yüksekliği ve pik alanı baz alınarak yıkama süresinin immünosensör yanıtına etkisinin incelendiği deneylere ait bulgular özetlenmiştir. Grafik 3’de pik yüksekliği ve Grafik 4’de pik alanı üzerinden 1, 2 ve 3 dakikada artan şekilde gözlemlenen biyokonjugasyon sonrası elektrot yanıtları arası fark daha sonra 4. dk’da yeniden azalmaya başlamaktadır. 2 ve 3 dk’lık yıkama süreçlerinin de 1 dk’lık yıkama sürecine

göre olumlu etkileri oldukça sınırlı olmaktadır. Bu nedenle optimum yıkama süresi 1 dk olarak belirlenmiştir.

Çalışılan bir diğer AMI biyogöstergesi olan miyogloblin (MYG) için uygun yıkama süresinin belirlenmesi için benzer çalışmalar yürütülmüştür. Elde edilen veriler pik yüksekliği (Tablo 9 ve Grafik 5) ile pik alanları (Tablo 10 ve Grafik 6) türünden sunulmuştur. Her iki tür verilerde de görülebileceği üzere optimum yıkama zamanı HMS'den farklı olarak MYG için 1 dk olarak saptanmıştır. 2, 3 ve 5 dk'lık yıkama zamanlarının immünosensör yanıtına olumsuz katkısı olmuş ve antikorlu elektrot ile biyokonjügasyonlu elektrot yanıtları arasındaki fark azalmak yerine artmıştır. Çok sayıda tekrar ile yinelenen ölçümlere rağmen yanıt performansında bir gelişme sağlanamamıştır.

Tez çalışmamıza ait son AMI biyogöstergesi olan yağ asiti bağlayıcı protein (YABP) için benzer şekilde yıkama zamanı optimizasyon çalışması yürütülmüş olup pik yüksekliği (Tablo 11 ve Grafik 7) ve pik alanı (Tablo 12 ve Grafik 8) türünden ölçümlere ait elektrot yanıtları sunulmuştur. YABP için de optimum yıkama süresi aynı HMS ve MYG gibi 1 dakika olarak saptanmıştır.

5.1.2.2. Bağlayıcı (linker) Derişimlerine Ait Bulguların Tartışılması

Bağlayıcı olarak kullanılan N-(3-Dimetilaminopropil)-N'-etilkarbodiimid hidroklorür (EDC) ve N-Hidroksisüksinimid (NHS)'in farklı derişim kombinasyonları optimizasyon çalışması için hazırlanmıştır. Buna göre;

1 mM EDC + 3 mM NHS

5 mM EDC + 8 mM NHS

50 mM EDC + 20 mM NHS

derişim kombinasyonları çalışmalarımızda denenmiştir. Şekil 26 ve 27'de 5mM EDC + 8mM NHS bağlayıcı derişimleri kullanılarak gerçekleştirilen ve sırasıyla KPE 6 ve KPE 1 elektrotlarına ait antikorlu ve biyokonjügasyonlu (100µM HMS) DPV ölçümleri temsili voltamogramlar olarak sunulmuştur. Benzer şekilde Şekil 28 ve 29'da bu sefer 50 mM EDC + 20 mM NHS bağlayıcı derişimleri kullanılarak gerçekleştirilen ve sırasıyla KPE 13 ve KPE 16 elektrotlarına ait antikorlu ve biyokonjügasyonlu (100 µM HMS) DPV ölçümleri temsili voltamogramlar olarak sunulmuştur. Son derişim kombinasyonu 1 mM EDC + 3 mM NHS için temsili voltamogramlar ise Şekil 30 ve 31'de sırasıyla KPE 25 ve KPE 22 elektrodu için

100µM HMS antijeni için sunulmuştur. Her üç derişim kombinasyonu için de n=10 adet elektrot ile ölçüm gerçekleştirilmiş olup 1 mM EDC + 3 mM NHS için n=4, 5 mM EDC + 8 mM NHS için n=7 ve 50 mM EDC + 20 mM NHS için n=7 adet olumlu sonuç alınmıştır (Tablo 13). Farklı bağlayıcı derişimi kombinasyonlarına ait çok sayıdaki DPV ölçümü pik yüksekliği (Tablo 14 ve Grafik 9) ve pik alanı (Tablo 15 ve Grafik 10) türünden sunulmuştur. Her iki türdeki verilere göre 5mM EDC + 8mM NHS derişim kombinasyonu optimum derişimler olarak belirlenmiştir.

5.1.2.3. İnkübasyon Sıcaklığı Optimizasyonu Bulgularının Tartışılması

Tez çalışmamızda biyokonjügasyona yönelik inkübasyon sıcaklığı ve süresinin de optimize edilebilmesi için çalışmalar HMS biyogöstergesine duyarlı immünosensör elektrotlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 25°C (normal), 25°C (fanlı) ve 30°C (etüv) sıcaklık değerlerinde 100µM HMS için tayin çalışması yürütülmüştür. Şekil 32’de 25°C’de (normal) kaydedilen immünosensör konjügasyon voltamogramları görülmektedir. Benzer mantıkla Şekil 33 ve 34’de 30°C (etüv) sıcaklıkta, Şekil 35 ve 36’da ise 25°C (fanlı) sıcaklıkta olumlu ve olumsuz birer tane temsili voltamogram kaydı sunulmuştur. İnkübasyon sıcaklığı optimizasyonu çalışmasında 25°C (normal), 25°C (fanlı) ve 30°C (etüv) sıcaklık değerleri için sırasıyla n=8, n=11 ve n=11 adet immünosensör elektrodu ile ölçümler alınmış olup, sırasıyla n=6, n=7 ve n=5 adet elektrot ile olumlu sonuç alınabilmıştır (Tablo 16). Her üç sıcaklık değeri için de elde edilen immünosensör yanıtları pik yüksekliği (Tablo 17) ve pik alanı (Tablo 18) türünden sunulmuştur. Aynı verilerin görsel sunumları da sırasıyla Grafik 11 (pik yüksekliği) ve 12’de (pik alanı) verilmiştir.

5.1.2.4. Stabilitite Çalışmalarına Ait Bulguların Tartışılması

5.1.2.4.1. HMS Stabilitesi Ait Bulguların Tartışılması

HMS tayini için tasarımı ve imalatı tamamlanmış immünosensör elektrotları ile -80°C, -20°C, 0°C, 4°C ve 25°C sıcaklık değerlerinde depolanan elektrotların stabiliteleri tayin edilmiştir. Bu amaçla belirlenen sıcaklık değerinde depolanan elektrotlar 2,5ppm ($18,5 \times 10^{-6}$ M) HMS tayini için t=24 saat, t=48 saat, t=72 saat ve t=7 gün bekleme süresinden sonra kullanılarak pik yüksekliği ve pik alanları kaydedilmiştir. Tablo 19 ve Grafik 13’de 0°C’de HMS immünosensör elektroduna ait t=0, t=24, t=48, t=72 saat ve t=168 saat (7 gün) sonra 2,5ppm ($18,5 \mu\text{M}$) HMS için alınan pik yüksekliği türünden

elektrot yanıtları görülmektedir. Elde edilen bulgulara göre 0°C’de saklanan HMS immünosensörünün stabilitesi 72 saat olarak belirlenmiştir, 7 gün (168 saat) sonundaki ölçümde elektrot yanıtının biyokonjügasyon sonrası $1,05 \times 10^{-4} \text{A}$ ’den $0,27 \times 10^{-4} \text{A}$ ’lık akım değerine gerilediği görülmekte olup bu değer %74,0’lık bir azalmaya karşılık gelmektedir.

Tablo 20 ve Grafik 14’de 4°C’de HMS immünosensör elektroduna ait t=0, t=24, t=48, t=72 saat ve t=168 saat (7 gün) sonra 2,5ppm (18,5µM) HMS için alınan pik yüksekliği türünden elektrot yanıtları görülmektedir. 4°C’deki stabilitesi 0°C’den farklı olarak 24 saat olarak saptanmıştır. Bu durum artan ortam sıcaklık değerinin immünosensör elektrodunun stabilitesini bozabileceği hipotezi ile uyuşmakta olup çoğu immünosensör uygulaması ve çalışmasında zaten beklenen bir durumdur.

HMS immünosensör elektrodu stabilite çalışmalarında denenen bir diğer sıcaklık değeri olan 25°C’deki HMS immünosensör elektroduna ait t=0, t=24, t=48, t=72 saat ve t=168 saat (7 gün) sonra 2,5ppm (18,5µM) HMS için alınan pik yüksekliği türünden elektrot yanıtları Tablo 21 ve Grafik 15’de görülmektedir. HMS immünosensör elektrodunun 25°C’deki stabilitesi aynı 4°C’deki gibi 24 saat olarak saptanmıştır.

Tablo 22 ve Grafik 16’da -20°C’de HMS immünosensör elektroduna ait t=0, t=24, t=48, t=72 saat ve t=168 saat (7 gün) sonra 2,5ppm (18,5µM) HMS için alınan pik yüksekliği türünden elektrot yanıtları görülmektedir. -20°C’deki stabilite 0, 4 ve 25°C’den farklı olarak 7 gün (168 saat) olarak saptanmıştır. Bu durum düşürülen ortam sıcaklık değerinin immünosensör elektrodunun stabilitesine olumlu etki edebileceği hipotezi ile uyuşmakta olup çoğu immünosensör uygulaması ve çalışmasında yine beklenen bir durumdur.

HMS immünosensör elektrodu stabilite çalışmalarında denenen son sıcaklık değeri olan -80°C’deki HMS immünosensör elektroduna ait t=0, t=24, t=48, t=72 saat ve t=168 saat (7 gün) sonra 2,5ppm (18,5µM) HMS için alınan pik yüksekliği türünden elektrot yanıtları Tablo 23 ve Grafik 17’de görülmektedir. HMS immünosensör elektrodunun -80°C’deki stabilitesi aynı -20°C’deki gibi 7 gün (168 saat) olarak saptanmıştır. Sıcaklık değerinin -20°C’den -80°C’ye düşürülmüş olmasının stabilite süresini 7 günden (168 saatten) daha uzun bir zaman dilimine çekmiş olması da olasılık dahilinde olabilmekle birlikte stabilite çalışmalarımız her sıcaklık değerinde en fazla 7 günlük süreye kadar yürütüldüğü için bu durumun tam olarak saptanması mümkün olamamıştır.

Termal stabilite çalışmalarımız kapsamında denenen tüm sıcaklık değerleri ve karşılığında gözlemlenen ve kaydedilen tüm immünosensör elektrot yanıtları, pik yüksekliği türünde, tek bir grafik halinde ayrıca Grafik 18’de de özetlenmiştir.

Elektrot yanıtlarına ait pik yüksekliklerinin yanısıra pik alanları kullanılarak da termal stabilite karşılık gelen aynı sıcaklık değerleri için saptanmıştır. Bu bağlamda 0°C’de (Tablo 24 ve Grafik 19), 4°C’de (Tablo 25 ve Grafik 20), 25°C’de (Tablo 26 ve Grafik 21), -20°C’de (Tablo 27 ve Grafik 22) ve son olarak da -80°C’de ki (Tablo 28 ve Grafik 23) stabilite süreleri saptanmıştır. Elde edilen bulgulara göre 0, 4, 25, -20 ve -80°C’deki stabilite süreleri sırasıyla 72 saat, 7 gün, 72 saat, 7 gün ve 7 gün olarak saptanmıştır.

Termal stabilite çalışmalarımız kapsamında denenen tüm sıcaklık değerleri ve karşılığında gözlemlenen ve kaydedilen tüm immünosensör elektrot yanıtları, pik alanı türünde, tek bir grafik halinde ayrıca Grafik 24’de de özetlenmiştir. Elde edilen deneysel bulgular baz alındığında immünosensör elektrodu yanıtı olarak pik alanı değerlerinin kullanımının daha uzun stabilite değerlerine ulaşılmasına olanak sağladığı anlaşılmaktadır.

5.1.2.4.2. MYG Stabilesine Ait Bulguların Tartışılması

Tez çalışmamıza ait ikinci AMI biyogöstergesi olan MYG için pik yüksekliği ve pik alanı türünden immünosensör yanıtlarının termal stabilesi, aynı HMS biyogöstergesi için olduğu gibi, 0°C, 4°C, 25°C, -20°C ve -80°C için çalışılmıştır. Bu amaçla 2,5 ppm ($1,47 \times 10^{-7} \text{M}$) MYG analit olarak kullanılmıştır. Pik yüksekliği türünden stabilite süreleri 0°C (Tablo 29 ve Grafik 25), 4°C (Tablo 30 ve Grafik 26), 25°C (Tablo 31 ve Grafik 27), -20°C (Tablo 32 ve Grafik 28) ve -80°C (Tablo 33 ve Grafik 29) için sırasıyla 24 saat, 48 saat, 24 saat, 24 saat ve 48 saat olarak belirlenmiştir.

Termal stabilite çalışmalarımız kapsamında denenen tüm sıcaklık değerleri ve karşılığında gözlemlenen ve kaydedilen tüm MYG immünosensör elektrot yanıtları, pik yüksekliği türünde, tek bir grafik halinde ayrıca Grafik 30’da da özetlenmiştir.

Pik alanı türünden stabilite süreleri 0°C (Tablo 34 ve Grafik 31), 4°C (Tablo 35 ve Grafik 32), 25°C (Tablo 36 ve Grafik 33), -20°C (Tablo 37 ve Grafik 34) ve -80°C (Tablo 38 ve Grafik 35) için sırasıyla 24 saat, ≤ 24 saat, 24 saat, 24 saat ve 48 saat olarak belirlenmiştir. Benzer mantıkla termal stabilite çalışmalarımız kapsamında denenen tüm sıcaklık değerleri ve karşılığında gözlemlenen ve kaydedilen tüm MYG

immunosensör elektrot yanıtları, pik alanı türünde, özet bir grafik halinde ayrıca Grafik 36'da da verilmiştir. Elde edilen deneysel bulgulara göre pik alanı ve pik yüksekliği değerlerinin her ikisinde de MYG immunosensörüne ait stabilite değerleri aynıdır.

5.1.2.4.3. YABP Stabilesine Ait Bulguların Tartışılması

Tez çalışmamıza ait üçüncü ve son AMI biyogöstergesi olan YABP için pik yüksekliği ve pik alanı türünden immunosensör yanıtlarının termal stabilitesi, aynı diğer iki biyogöstergede olduğu gibi, 0°C, 4°C, 25°C, -20°C ve -80°C için çalışılmıştır. Bu amaçla 2,5ppm ($1,33 \times 10^{-7}M$) YABP analit olarak kullanılmıştır. Pik yüksekliği türünden stabilite süreleri 0°C (Tablo 39 ve Grafik 37), 4°C (Tablo 40 ve Grafik 38), 25°C (Tablo 41 ve Grafik 39), -20°C (Tablo 42 ve Grafik 40) ve -80°C (Tablo 43 ve Grafik 41) için sırasıyla 48 saat, 24 saat, ≤ 24 saat, 24 saat ve 24 saat olarak belirlenmiştir.

Termal stabilite çalışmalarımız kapsamında denenen tüm sıcaklık değerleri ve karşılığında gözlemlenen ve kaydedilen tüm YABP immunosensör elektrot yanıtları, pik yüksekliği türünde, tek bir grafik halinde ayrıca Grafik 42'de de özetlenmiştir.

Pik alanı türünden stabilite süreleri 0°C (Tablo 44 ve Grafik 43), 4°C (Tablo 45 ve Grafik 32), 25°C (Tablo 46 ve Grafik 45), -20°C (Tablo 47 ve Grafik 46) ve -80°C (Tablo 48 ve Grafik 47) için sırasıyla 48 saat, 24 saat, ≤ 24 saat, 24 saat ve 24 saat olarak belirlenmiştir. Benzer mantıkla termal stabilite çalışmalarımız kapsamında denenen tüm sıcaklık değerleri ve karşılığında gözlemlenen ve kaydedilen tüm MYG immunosensör elektrot yanıtları, pik alanı türünde, özet bir grafik halinde ayrıca Grafik 48'de de verilmiştir. Elde edilen deneysel bulgulara göre pik alanı ve pik yüksekliği değerlerinin her ikisinde de YABP immunosensörüne ait stabilite değerleri aynıdır. Tablo 49'da her üç biyogösterge (HMS, MYG ve YABP) için toplamda kullanılan immunosensör elektrot sayısı ve anlamlı ölçümlerin sayısı özetlenerek 24 saat, 48 saat ve 7 gün (168 saat) için verilmiştir.

5.1.2.5. Girişim (Interference) Etkisine Ait Bulguların Tartışılması

5.1.2.5.1. HMS İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular

Girişim etkisini araştırmak için yapılan çalışmada biyogöstergelerin girişimsel işlemlerle ölçülen ve sağlıklı kabul edilen düzeylerinin üst sınırı alınmıştır. Bu

düzeyler; HMS için 15 µM, MYG için 72 ng/mL ve YABP için 19 ng/mL olarak belirlenmiştir. Girişim etkisinin araştırılacağı etken maddeler ise her bir biyogösterge düzeyi için 10 kat olacak derişimlerde ultra saf su ile hazırlanmıştır. Etken madde olarak albumin (ALB), glikoz (GLC), askorbik asit (AA), ürik asit (UA), parasetamol (PA), klorfeniramin maleat (CPM) ve fenilefrin hidroklorür (PE) kullanılmıştır. Deneysel işlemler sırasında biyogöstergeye ait antikor ölçümünden sonra etken madde ekimi yapılarak DPV ve CV ölçümleri yapılmıştır. Tablo 50 ve Grafik 49’da pik yüksekliği türünden HMS ve ilgili denenen girişimci maddelere ait HMS immünosensör elektrodu yanıtları hesaplanan ortalama değer ve standart sapmalarıyla beraber sunulmuştur.

Tablo 51 ve Grafik 50’de pik alanı türünden HMS ve ilgili denenen girişimci maddelere ait HMS immünosensör elektrodu yanıtları hesaplanan ortalama değer ve standart sapmalarıyla beraber sunulmuştur.

Gerek pik yüksekliği ve gerekse pik alanı türünden immünosensör yanıtlarına göre tasarlanan elektrotlar HMS biyogöstergesine diğer girişimci 7 adet maddeye göre yüksek seçicilikle yanıt vermektedir. Bununla beraber pik alanı türünde seçicilik pik yüksekliği türüne göre daha da fazladır. Grafik 51’de her iki tür elektrot yanıtına ait HMS biyogöstergesi ve diğer girişimci türlerin elektrot yanıtları özetlenerek ayrıca sunulmuştur. Temsili DPV voltamogramları olarak Şekil 37, 38 ve 39’da sırasıyla KPE 15, KPE 16 ve KPE 7 elektroduyla sırasıyla HMS, ALB ve PA için immünosensör yanıtları görölmektedir.

5.1.2.5.2. MYG İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular

Tablo 52 ve Grafik 52’de pik yüksekliği türünden MYG ve ilgili denenen girişimci maddelere ait MYG immünosensör elektrodu yanıtları hesaplanan ortalama değer ve standart sapmalarıyla beraber sunulmuştur.

Tablo 53 ve Grafik 53’de ise pik alanı türünden MYG ve ilgili denenen girişimci maddelere ait MYG immünosensör elektrodu yanıtları hesaplanan ortalama değer ve standart sapmalarıyla beraber sunulmuştur.

Gerek pik yüksekliği ve gerekse pik alanı türünden immünosensör yanıtlarına göre tasarlanan elektrotlar MYG biyogöstergesine diğer girişimci 7 adet maddeye göre yüksek seçicilikle yanıt vermektedir. Bununla beraber pik yüksekliği türünde seçicilik pik alanı türüne göre daha fazladır. Grafik 54’de her iki tür elektrot yanıtına ait MYG

biyogöstergesi ve diğer girişimci türlerin elektrot yanıtları özetlenerek ayrıca sunulmuştur. Temsili DPV voltamogramları olarak Şekil 40 ve 41’de sırasıyla KPE 32 ve KPE 13 elektroduyla sırasıyla MYG ve PA için immunosensör yanıtları görülmektedir.

5.1.2.5.3. YABP İçin Girişim Çalışmalarına Ait Bulgular

Tablo 54 ve Grafik 55’de pik yüksekliği türünden YABP ve ilgili denenen girişimci maddelere ait YABP immünosensör elektrodu yanıtları hesaplanan ortalama değer ve standart sapmalarıyla beraber sunulmuştur.

Tablo 55 ve Grafik 56’da ise pik alanı türünden YABP ve ilgili denenen girişimci maddelere ait YABP immünosensör elektrodu yanıtları hesaplanan ortalama değer ve standart sapmalarıyla beraber sunulmuştur.

Gerek pik yüksekliği ve gerekse pik alanı türünden immünosensör yanıtlarına göre tasarlanan elektrotlar YABP biyogöstergesine diğer girişimci 7 adet maddeye göre daha yüksek seçicilikle yanıt vermektedir. Bununla beraber pik yüksekliği türünde seçicilik pik alanı türüne göre daha fazladır. Grafik 57’de her iki tür elektrot yanıtına ait YABP biyogöstergesi ve diğer girişimci türlerin elektrot yanıtları özetlenerek ayrıca sunulmuştur. Temsili DPV voltamogramları olarak Şekil 42, 43 ve 44’de sırasıyla KPE 61, KPE 43 ve KPE 36 elektroduyla sırasıyla YABP, AA ve ALB için immunosensör yanıtları görülmektedir.

5.1.3. Kalibrasyon İşlemlerine Ait Bulguların Tartışılması

Her bir MI biyogöstergesi için aşağıda açıklandığı gibi farklı derişimlerde ayrı ayrı kalibrasyon çalışmaları yapılmıştır. Seyreltmeler için 10mM FTÇ tamponu kullanılmıştır. Her bir derişim için en az 10 adet KPE elektrodu kullanılmıştır.

- HMS için kalibrasyon grafiğı oluşturulması amacıyla 5, 10, 15, 30, 50 ve 100 μM derişimlerinde;
- MYG için kalibrasyon grafiğı oluşturulması amacıyla 20, 40, 60, 80 ve 100 ng/mL derişimlerinde;
- YABP için kalibrasyon grafiğı oluşturulması amacıyla 1, 3, 5, 10, 20 ve 50 ng/mL derişimlerinde standart madde çözeltileri hazırlanmıştır.

Ardından KPE yüzeyine 20 μL hacminde eklenerek DPV ve CV ölçümleri gerçekleştirilmiş ve kalibrasyon eğrileri çizilmiştir.

5.1.3.1. HMS Standardına Ait Bulgular

Şekil 45, 46, 47, 48, 49 ve 50’de sırasıyla 5, 10, 15, 30, 50 ve 100 µM HMS derişimleri için yine sırasıyla KPE 61, KPE 49, KPE 37, KPE 26, KPE 16 ve KPE 1 elektrotları ile immünosensör yanıtlarını temsil eden DPV voltamogramları verilmiştir.

5.1.3.2. HMS Standart Çözeltisine Ait Kalibrasyon Grafiğı Bulguları

HMS immünosensör elektroduna ait kalibrasyon amaçlı 5 µM için n=11, diğer derişim değerleri olan 10, 15, 30, 50 ve 100 µM için ise n=10 adet deneysel ölçüm alınmıştır. Bu ölçümlerden 5 µM için n=8, diğer derişim değerleri olan 10, 15, 30, 50 ve 100 µM için ise sırasıyla n=10, n=9, n=10, n=9 ve n=10 tane olumlu sonuç alınmıştır (Tablo 56). Pik yüksekliğı türünden kalibrasyon grafiğı verileri Tablo 57 ve Grafik 58’de özetlenerek sunulmuştur. Grafik 60’da yer alan kalibrasyon grafiğıne göre HMS biyogöstergesi için doğrusallık 5-100 µM derişim aralığında sağlanmış olup ilgili doğru denklemi $y = -1E-06x - 0,0001$ şeklinde olup regresyon katsayısı $R^2 = 0,9990$ şeklindedir. Aynı biyogösterge için pik alanı türünden verilere dayalı kalibrasyon bulguları ise Tablo 58 ve Grafik 59’da verilmiştir. Grafik 61’de yer alan kalibrasyon grafiğıne göre HMS biyogöstergesi için doğrusallık 5-100µM derişim aralığında sağlanmış olup ilgili doğru denklemi $y = -3E-07x - 1E-05$ şeklinde olup regresyon katsayısı $R^2 = 0,9989$ şeklindedir.

5.1.3.3. MYG Standardına Ait Bulgular

Şekil 51, 52, 53, 54 ve 55’de sırasıyla 20, 40, 60, 80 ve 100ng/mL MYG derişimleri için yine sırasıyla KPE 2, KPE 20, KPE 28, KPE 44 ve KPE 49 elektrotları ile immünosensör yanıtlarını temsil eden DPV voltamogramları verilmiştir.

5.1.3.4. MYG Standart Çözeltisine Ait Kalibrasyon Grafiğı Bulguları

MYG immünosensör elektroduna ait kalibrasyon amaçlı 40ng/mL için n=3, diğer derişim değerleri olan 60, 80 ve 100ng/mL için ise sırasıyla n=6, n=7 ve n=4 adet olumlu sonuç alınmıştır (Tablo 60 ve Tablo 61). Pik yüksekliğı türünden kalibrasyon grafiğı verileri Tablo 60 ve Grafik 62’de özetlenerek sunulmuştur. Grafik 64’de yer alan kalibrasyon grafiğıne göre MYG biyogöstergesi için doğrusallık 40-100ng/mL derişim aralığında sağlanmış olup ilgili doğru denklemi $y = -9E-07x - 3E-05$ şeklinde olup regresyon katsayısı $R^2 = 0,9997$ şeklindedir. Aynı biyogösterge için pik alanı

türünden verilere dayalı kalibrasyon bulguları ise Tablo 61 ve Grafik 63’de verilmiştir. Grafik 65’de yer alan kalibrasyon grafiğine göre MYG biyogöstergesi için doğrusallık 20-100ng/mL derişim aralığında sağlanmış olup ilgili doğru denklemi $y = -3E-07x - 1E-05$ şeklinde olup regresyon katsayısı $R^2 = 0,9967$ şeklindedir.

5.1.3.5. YABP Standardına Ait Bulgular

Şekil 56, 57, 58, 59, 60 ve 61’de sırasıyla 1, 3, 5, 10, 20 ve 50 ng/mL YABP derişimleri için yine sırasıyla KPE 61, KPE 44, KPE 35, KPE 21, KPE 14 ve KPE 3 elektrotları ile immünosensör yanıtlarını temsil eden DPV voltamogramları verilmiştir.

5.1.3.6. YABP Standart Çözeltilisine Ait Kalibrasyon Grafiği Bulguları

YABP immünosensör elektroduna ait kalibrasyon amaçlı 1 ng/mL için $n=11$, diğer derişim değerleri olan 3, 5, 10, 20 ve 50 ng/mL için ise $n=10$ adet deneysel ölçüm alınmıştır. Bu ölçümlerden 1ng/mL için $n=9$, diğer derişim değerleri olan 3, 5, 10, 20 ve 50 ng/mL için ise sırasıyla $n=7$, $n=8$, $n=9$, $n=6$ ve $n=5$ tane olumlu sonuç alınmıştır (Tablo 63 ve Tablo 64). Pik yüksekliği türünden kalibrasyon grafiği verileri Tablo 63 ve Grafik 66’da özetlenerek sunulmuştur. Grafik 68’de yer alan kalibrasyon grafiğine göre YABP biyogöstergesi için doğrusallık 10-50ng/mL derişim aralığında sağlanmış olup ilgili doğru denklemi $y = -2E-06x - 0,001$ şeklinde olup regresyon katsayısı $R^2 = 0,999$ şeklindedir. Aynı biyogösterge için pik alanı türünden verilere dayalı kalibrasyon bulguları ise Tablo 64 ve Grafik 67’de verilmiştir. Grafik 69’da yer alan kalibrasyon grafiğine göre YABP biyogöstergesi için doğrusallık 10-50ng/mL derişim aralığında sağlanmış olup ilgili doğru denklemi $y = -4E-07x - 2E-05$ şeklinde olup regresyon katsayısı $R^2 = 0,9998$ şeklindedir.

5.1.4. TI Özütleme İşlemi Sonrası DPV Ölçümlerine Ait Bulguların Tartışılması

5.1.4.1. HMS İçin Özütleme İşlemi Sonrasına Ait Bulgular

HMS biyogöstergesine ait 2,5µg/mL standart çözeltisi yapay deri modeli üzerinden TI yöntemi ile özütlenmiştir. Bu amaçla elde edilen tipik DPV voltamogramı Şekil 62’de örnek olarak verilmiştir. HMS özütlenmesine ait pik yüksekliği ve pik alanı türünden elektrot yanıtları Grafik 70’da özetlenmiştir.

4.1.4.2. MYG İçin TI Özütleme İşlemi Sonrasına Ait Bulgular

MYG biyogöstergesine ait 2,5 µg/mL standart çözeltisi yapay deri modeli üzerinden TI yöntemi ile özütlenmiştir. Bu amaçla elde edilen tipik DPV voltamogramı Şekil 63’de örnek olarak verilmiştir. MYG özütlenmesine ait pik yüksekliği ve pik alanı türünden elektrot yanıtları Grafik 71’de özetlenmiştir.

4.1.4.3. YABP İçin TI Özütleme İşlemi Sonrasına Ait Bulgular

YABP biyogöstergesine ait 2,5µg/mL standart çözeltisi yapay deri modeli üzerinden TI yöntemi ile özütlenmiştir. Bu amaçla elde edilen tipik DPV voltamogramı Şekil 64’de örnek olarak verilmiştir. YABP özütlenmesine ait pik yüksekliği ve pik alanı türünden elektrot yanıtları Grafik 72’de özetlenmiştir.

4.1.4.4. Üç Farklı Standart Madde İçin TI Özütleme İşlemi Sonrasına Ait DPV

Sonuçlarının Karşılaştırılması

Her üç biyogöstergeye (HMS, MYG ve YABP) ait pik yüksekliği türünden elektrot yanıtları Tablo 65 ve Grafik 73’da, pik alanı türünden elektrot yanıtları ise Tablo 66 ve Grafik 74’de özetlenmiştir.

5.1.5. Yöntem Geçerliliğine Ait Bulgular

Yöntem geçerliliği çalışmaları her üç biyogösterge için ICH Q2(R1) kılavuzuna göre yürütülmüştür. Buna göre çalışılan deneysel değişkenler (parametreler) özgünlük, doğrusallık, kesinlik, doğruluk, tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırıdır (LOQ). Elde edilen deneysel veriler Tablo 67’de özetlenerek sunulmuş olup sınanan deneysel değişkenler deneysel olarak sağlanmıştır.

Literatürde ters iyontoforez (RI) yöntemiyle Akut Miyokard Enfarktüsü (Acute Myocardial Infarction - AMI) parametrelerinin özütlenmesi ve tayini konusunda basılmış sadece 1 makale bulunmakta olup bunun haricinde var olan bir çalışma bulunmadığından sonuçlarımızın birebir karşılaştırılması mümkün değildir. Bu konudaki yegane basılmış makale çalışma grubumuzun 2023 yılında Talanta dergisinde yayınladığı makaledir (Yengin, 2023). Bahsi geçen makale danışmanlığını Prof. Dr. M. Emrah KILINÇ’ın yaptığı, Uzm. Kim. Çiğdem YENGİN’e ait, Doktora Tezinden üretilmiş olup cTnT ve cTnI’nın RI’ye dayalı elektrokimyasal

immünosensörler ile tayini ile ilgilidir. Çalışmada 100-500ng/mL aralığında doğrusallık sağlanmış olup, 0.1, 0.25 and 0.5 µg/mL düzeyleri için çoklu enjeksiyonlarda cTnT ve cTnI için hesaplanan %RSD değerleri %4,71-17,92 ve %2,05-24,24 aralıklarında yer almaktadır. Tespit sınırı (LOD) değerleri de yine sırasıyla cTnT ve cTnI için 6×10^{-4} ve $2,5 \times 10^{-3}$ ng/mL olarak hesaplanmıştır. Tayin sınırı (LOQ) değerleri de benzer şekilde hesaplanmış ve yine sırasıyla cTnT ve cTnI için 18×10^{-4} ve $7,5 \times 10^{-3}$ ng/mL olarak saptanmıştır.

AME biyogöstergelerinin bilimsel literatürde TI yöntemiyle olmayan yani GİRİŞİMSEL tayinlerinin immünosensörlerle elektrokimyasal yöntemler kullanılarak yapıldığı makaleler bulunmaktadır.

Bu bağlamda bazı ilgili olabilecek makaleleri inceleyecek olursak;

HMS ile ilgili literatürde yer alan çalışmalarda;

Ayhan (2020) çalışmasında kuvars kristal mikrobals (QCM) biyosensörü kullanarak homosistein için tespit sınırını (LOD) 0,1 µM olarak analiz etmiştir. Kalibrasyon eğrilerinin doğrusal aralıklarını 0,1-2,0 µM ($R^2=0,9813$) ve 10-50 µM ($R^2=0,9875$) olarak belirtmiştir. Bağlı standart sapmayı (RSD) %10'dan daha az bulduğunu belirtmiştir.

Kongintr, Lertanantawong ve Promptmas (2023) homosistein tayini için moleküler olarak baskılanmış polimer ve nanokompozit (Hcy-MIP) ile karbon nanotüp/kitosan/iyonik sıvı bileşiği (CNT/CS/IL) nanokompozitinin karışımının screen printed bir karbon elektrot (SPCE) yüzeyine bindirilmesiyle oluşturduğu bir biyosensör tasarlamıştır. 5,0-150 µM ($R^2=0,9753$) doğrusal aralığında tespit sınırını 1,2 µM olarak belirtmiştir. Askorbik asit, sistein ve metionin ile homosisteinin düşük çapraz reaksiyon gösterdiğini bildirmiştir. Hcy-MIP biyosensörünü homosistein için 50-150 µM konsantrasyonlarında kullandıklarında %91,10-95,83 oranında geri kazanım elde edebildiklerini açıklamıştır. 5,0 ve 150 µM konsantrasyonlarında ise biyosensörün tekrarlanabilirliği ve yeniden üretilebilirliğinin varyasyon katsayıları sırasıyla %2,27-3,50 ve %3,42-4,22 oranında bulunmuştur. Kemilüminesan mikropartikül immünoassay ile karşılaştırıldığında, 0,9946 korelasyon katsayısına (R^2) sahip bu yeni biyosensörün; homosistein tayini için yeni ve etkili bir yöntem olacağını belirtmiştir.

Zhao ve ark. (2017); homosistein tayinini daha hassas olarak yapabilmek için indirgenmiş grafen oksit-TiO₂ (RGO-TiO₂) nanokompozitine dayalı camı karbon elektrotların kullanılmasını önermiştir. CV sonuçlarına göre; daha fazla kararlılık, tekrarlanabilirlik, elektrodun daha az kirlenmesi, 24 nM tespit sınırı (s/N=3) ve 80 µM istenen dinamik doğrusallık ile homosisteinin daha hassas ve güvenilir bir şekilde tespit edilebileceğini belirtmiştir.

Soltani ve ark. (2014) homosisteinin elektrokatalitik oksidasyonunda benzoilferrosen (BF) ve karbon nanotüplerle (CNT) modifiye edilmiş bir karbon pasta elektrodu kullanarak akım değerinde; potansiyeli 165 mV kadar düşüren belirgin bir artış gözlemlemiştir. Oksidasyon akımı, pH 7,0 olan bir fosfat tamponu çözeltisinde 0,1-10,0 µM ve 10,0-80,0 µM konsantrasyon aralıklarında doğrusal bir artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Tespit sınırını, kare dalga voltametri (SWV) kullanılarak 50,0 nM bulduklarını ve yöntemi gerçek numunelerde de başarıyla uyguladıklarını ifade etmişlerdir.

MYG ile ilgili literatürde yer alan çalışmalarda;

Wu ve ark. (2024); grafen oksit ve zeolit imidazolyum esteri içeren Cubic-ZIF67@Au-rGOF-NH₂ elektrokimyasal immünosensörü tasarlamıştır. Etiketsiz bir elektrokimyasal immünosensörde uygulanan bu sensör, miyokardiyal hasar belirteçlerini tespit etmek için geniş bir tespit aralığı sahip olup tespit sınırı 3,47 fg/mL bulunmuştur. $\Delta I_p = 16,67552 \lg C + 275,245$ ($R = 0,993$) olup numunelere standart eklenmesiyle yapılan tayin sonuçlarının %96,3 ile %108,7 arasında bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca immünosensörün hedef dışı proteinlere karşı seçiciliğini koruduğu bildirilmiştir.

Sharma ve ark. (2020), polietilen fonksiyonlu indirgenmiş grafen oksit (PEI-rGO) ince filmler kullanarak kardiyak miyoglobini tespit etmek için etiketsiz bir aptasensör tasarladıklarını belirtmişlerdir. Ölçüm esnasında oluşan akım değişimi DPV yöntemiyle ölçülmüş; fosfat tamponlu çözelti ve insan serum örneğinde (10 kat seyreltilmiş) tespit sınırlarının sırasıyla 0,97 pg/mL ve 2,1 pg/mL olarak bulunduğu bildirilmiştir.

Adeel ve ark. (2019), miyoglobinin hassas ve seçici tespiti için Bor nitrid nanotabakaları (AuNPs/BNNSs) üzerine yerleştirilmiş altın nanopartiküllerinin kullanıldığı bir elektrokimyasal aptasensör (Apt/AuNPs/BNNSs/FTO) yaptıklarını

bildirmişlerdir. Flor katkılı kalay oksit (FTO) elektroduna biriktirilmiş bu sensör ile tiyol fonksiyonlu bir DNA aptamerini kullanarak $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ çözeltinde ölçümler yapılmış; bu sensörün, 34,6 ng/mL'lik bir tespit sınırı ve 0,1–100 µg/mL'lik yanıt aralığı ile Mb için gerçek numunelerde bakım noktasında tanı için umutlandıran bir biyosensör olduğunu belirtmişlerdir.

Sharma ve ark. (2018); “C-MEMS” olarak bilinen basit, uygun maliyetli ve tekrarlanabilir bir mikrofabrikasyon teknolojisi kullanılarak “IDA” denilen nanoelektrotlardan oluşan bir immunosensör tasarlamışlardır. 1:1 en boy oranına sahip IDA nanoelektrotlarının, elektrokimyasal türlerin (PAP/PQI) verimli redoks döngüsünden kaynaklanan ~25 faktörlü yüksek sinyal artışına neden olduğunu bildirmiştir. Kardiyak miyoglobini için tespit aralığı 0,001–100 ng/mL olarak belirtilmiştir. Müdahale eden türlerin varlığı, fosfat tamponu, tuzlu su ve insan serumu koşullarında ~0,4 pg/mL tespit sınırında Kardiyak miyoglobini başarıyla tespit ettiklerini ifade etmişlerdir.

Li ve ark. (2017), Au nanopartikülleri/arginin-glisin-aspartik/karboksilatlanmış grafen/camsı karbon elektrot (Au/RGD/GR-COOH/GCE) yüzeyine miyoglobini bağlayıcı aptamer aşilayarak yeni bir etiketsiz elektrokimyasal aptasensör oluşturdıklarını bildirmişlerdir. Elektrot üretim süreci için Raman spektroskopisini, farklı modifiye elektrotlarda aptamerin ikincil yapısındaki değişimi tahmin etmek için ise dairesel dikroizm (CD) spektroskopisini kullanmışlardır. Tarama hızı, pH, aptamerin bağlanma süresi, adsorpsiyon süresi ve miyoglobinin adsorpsiyon sıcaklığını optimize etmek için CV ve DPV yöntemlerini kullanmışlardır. 26,3 ng/mL'lik tespit sınırı ve 0,0001-0,2 g/L doğrusal aralığı ile miyoglobinin tanısında da DPV yönteminin kullanıldığı belirtilmiştir. Ayrıca bu aptasensörün tekrarlanabilirliğinin, kararlılığının ve anti-girişim kapasitesinin iyi olduğu da ifade edilmiştir.

Kumar ve ark. (2016), anti-Mb(anti-miyoglobin) DNA aptamerlerine bağlı, poli-l- lizin (PLL) ile fonksiyonelleştirilmiş siyah fosfor nanoyapılı elektrotlar kullanarak doğrudan elektron transferinin ölçülmesi ile redoks açısından aktif olan miyoglobinin tespitini sağlayan aptasensör yaptıklarını belirtmiştir. Bu sensörün serum örneklerindeki Mb için 1 pg/mL ile 16 µg/mL arasındaki yanıt aralığı, ~0,524

pg/mL tespit sınırı ve 36 μ A pg/mL duyarlılığı ile karmaşık ortamdaki örneklerde hasta başında kullanılabilecek teknolojilerin gelişmesini sağlayacağını bildirmiştir.

YABP ile ilgili literatürde yer alan çalışmalarda;

Feng ve ark (2012), kardiyak biyobelirteç olan cTnI ve YABP'ın hassasiyetle tespit edilmesi için metal iyonu fonksiyonelleştirilmiş titanyum fosfat nanokürelerini (TiP-metal iyonu) etiketlemede kullandıkları yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Metal iyonlarını kare dalga voltametrisi (SWV) ile yüksek sinyallerle tespit ederken, biyouyumlu grafen nanobantlar (GONR'ler) sayesinde kararlı yapıya sahip olan sandaviç tipi immunoreaksiyona bağlı olarak belirgin voltametrik tepeler gözlemlenmiştir. Yüksek hassasiyet ve seçicilik gösteren bu immünolojik analizde, elektrokimyasal sinyaller ile cTnI ve YABP konsantrasyonları arasındaki doğrusal ilişkiler 0,05 pg/mL-50 ng/mL aralığında bulunmuştur. Ayrıca insan serum örneklerinde ki sonuçlar, ELISA yöntemiyle yüksek korelasyon göstermiştir.

Mihailescu ve ark (2015), etiketleme olmaksızın kendiliğinden karışık olarak bir araya gelen tek tabaka filmlerinin (mSAM) kapasitans değişimlerinin; altın çalışma elektrotlar/kovalent bağlı antikorlar/tamponlu ortamda üzerlerindeki homojen düzenli kendiliğinden bir araya gelen tek tabakalara (hSAM'ler) kıyasla spesifik antikor-antijen etkileşimini izlemek için kullanıldığını belirtmiştir. Kapasitans, faradayık akımın varlığında da, yokluğunda da ölçülmüştür. YABP, optimize edilen koşullarda mSAM ile 98 pg/ml-100 ng/ml aralığında tespit edilirken, tespit sınırı 0,836 ng/mL olarak bulunduğ u belirtilmiştir.

Sonuç ve Öneriler

Dünyadaki ölüm nedenlerinin en başında kalp hastalıkları gelmektedir. DSÖ 2019 verilerine göre; 57 milyon ölüm sayısının 17,9 milyonu kardiyovasküler hastalıklardan ve bunun da 8,9 milyonu iskemik kalp hastalığından, 6,12 milyonu ise inmeden kaynaklanmaktadır. AME kaynaklı ölüm ilk bir saat içinde gerçekleşmektedir. AME teşhisinde ilk 6 saatte müdahale edilmesi hayat kurtarıcıdır. Bu durum erken tanının ne denli önemli olduğunu gözler önüne sermektedir. Tez çalışmamızda, EKG ve kan testleri gibi günümüzde kullanımda olan AME tanı ve teşhis yöntemlerinden farklı olarak, AME teşhisinde önemli olan bazı biyogöstergelerin (HMS, MYG ve YABP) ters iyontoforez (TI) yöntemiyle girişimsiz olarak tayininin yapılmasını ve AME tanısına katkı sağlanmasını amaçlamıştır. Yapılan kalibrasyon işlemleri sonrasında 1-50 ng/mL derişim aralığı YABP için 3 ng/mL, 5-100 µM derişim aralığı HMS için 15 µM, 20-100 ng/mL derişim aralığı MYG için 40 ng/mL düzeylerine kadar tayin edilebilen ölçüm sonuçları elde edilebilmiştir. Ayrıca stabilite, girişim, inkübasyon sıcaklığı gibi optimizasyon çalışmaları ve ICH Q2(R1) kılavuzuna göre yöntem geçerliliği çalışmaları da gerçekleştirilmiştir.

Yapılan literatür taramasında AME biyogöstergelerinin TI yöntemiyle girişimsiz olarak tayinine yönelik Prof. Dr. M. Emrah KILINÇ'ın danışmanı olduğu 1 adet doktora tezi ve 2023 yılında yayımlanan makalemiz dışında başka çalışmalara rastlanılmamaktadır. Tez çalışmamızın dolayısıyla literatürde yer alan bu konudaki açığı kapaması ve bu konu üzerinde çalışmak isteyenlere örnek teşkil etmesi temenni edilmektedir.

Kaynaklar

- Acıbadem Web ve Yayın Kurulu, (2019). “Kalp Krizi?”, Erişim Adresi: <https://www.acibadem.com.tr/ilgialani/kalpkrizi/#:~:text=Göğüsteki%20ağrı,%20vücudun%20%üst%20sol,da%20kalp%20krizi%20belirtisi%20olabilir>, Erişim Tarihi:15.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 15.09.2023
- Acıbadem Web ve Yayın Kurulu, (2019). “Koroner Kalp Hastalıklarında Risk Faktörleri ve Korunma”, Erişim Adresi: <https://www.acibadem.com.tr/ilgialani/kalp-krizi/> , Erişim Tarihi: 15.09.2023. Son Güncellenme Tarihi: 29.07.2024 Yayımlanma Tarihi: 25.02.2019
- Adeel, M., Rahman, Md. M., ve Lee, J.-J. (2019). Label-free aptasensor for the detection of cardiac biomarker myoglobin based on gold nanoparticles decorated boron nitride nanosheets. *Biosensors and Bioelectronics*, 126, 143–150. DOI:10.1016/j.bios.2018.10.060.
- Ahajournals. (2023). “Kalp Krizi Test Paneli”, Erişim Adresi: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.641936e/s/PMC3074794/>, Erişim Tarihi:17.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: -
- Akademik Sunum. (2017). “Kas Fizyolojisi”, Erişim Adresi: <https://akademiksunum.com/index.jsp?modul=document&folder=aa8a31each5fde6b8dc927a9231945d0a13dda33>, Erişim Tarihi: 20.06.2024 Son Güncelleme Tarihi: -
- Akağaç Etem, A., Ulutaş, G. Ş., Önalın Etem, E., Türkmen Yıldırım, S. ve Ünal, S. (2011). “CK-MB Kütle ve Aktivite Ölçüm Yöntemlerinin Akut Miyokard Enfarktüsülü ve Sağlıklı Gruplarda Karşılaştırılması”. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*. 9(2), 53-59.
- Akbar, H., Foth, C., Kahloon, R. A. and Mountfort, S. (2024). Acute ST-Elevation Myocardial Infarction. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls Publishing; 2024 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532281/> Erişim Tarihi: 12.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 31.06.2023.
- Alpman, A. (2024). “Kalp Krizi Tanımı ve Nedenleri”, Erişim Adresi: <https://ahmetalpman.com/kalp-krizi-tanimi-ve-nedenleri/>, Erişim Tarihi: 13.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: -

- Ashorobi, D., Ameer, M. A. and Fernandez, R. (2023). Thrombosis. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls Publishing; 2024 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538430/> Erişim Tarihi: 05.01.2024 Son Güncelleme Tarihi: 12.02.2024.
- Ashorobi, D., Ameer, M. A. and Fernandez, R. (2023). Thrombosis. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls Publishing; 2024 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538430/> Erişim Tarihi: 11.01.2024 Son Güncelleme Tarihi: 12.02.2024.
- Ashoroi, D, Ameer, M. A. ve Fernandez, R. (2023). Thrombosis. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls Publishing; 2024 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532281/> Erişim Tarihi: 12.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 08.08.2023.
- Ayhan, F. (2020). QCM-Based Biosensor for the Detection of Homocysteine. Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, (20), S. 835-843.
- Banada P.P., Bhunia A.K. (2008). “Antibodies and immunoassays for detection of bacterial pathogens” in Principles of bacterial detection: biosensors, recognition receptors and microsystems (Ed) Zourob, M., Elwary, S. and Turner, A., Springer, New York, USA, 567-602, 2008.
- Bansal, K., Gore, M. and Nalabothu, P. (2024). Anterior Myocardial Infarction. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls Publishing; 2024 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562234/> Erişim Tarihi: 11.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 12.02.2024
- Bansal, K., Gore, M. and Nalabothu, P. (2024). Anterior Myocardial Infarction. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls Publishing; 2024 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562234/>. Erişim Tarihi: 15.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 12.02.2024.
- Başer, B. (2020). “Kalp Krizi Belirtileri ve Nedenleri - Ne Yapılmalıdır?”, Erişim Adresi: <https://www.medicana.com.tr/saglik-rehberi-detay/12180/kalp-krizi->

belirtileri-ve-nedenleri-ne-yapilmalidir, Erişim Tarihi: 22.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 03.06.2024

Bioscientifica, (2017). “Role of the fatty acid-binding protein 4 in heart failure and cardiovascular disease”. Journal of Endocrinology, 233(3), R173-R184. DOI: 10.1530/JOE-17-0031. Erişim Adresi: <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/233/3/R173.xml> Erişim Tarihi: 20.06.2024 Son Güncelleme Tarihi: Haziran 2017

Cardiab, (2023). “Kardiyak belirteçler”, Erişim Adresi: <https://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2840-10-37>, Erişim Tarihi: 15.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 02.05.2011

Doğan, E. (2018). *Miyokard İnfarktüsünde Hastaneye Başvuru Süresi ve Sağlıklı Yaşam Biçimi Davranışları İle İlişkisi*. Namık Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İç Hastalıkları Hemşireliği Ana Bilim Dalı, Tekirdağ.

DSÖ, (2023). “Bulaşıcı Olmayan Hastalıklar”. Erişim Adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>. Erişim Tarihi: 22.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 16.09.2023

Eryılmaz, U., Serdar, O. A., İlgenli, T. F., Albayrak, S., Dirican, M., Serdar, Z., & Yeşilbursa, D. (2014). “ST segment yükselmeli miyokard enfarktüsü'nde n-terminal pro-brain natriüretik peptid düzeyinin prognostik önemi”. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 15(1), 21-27.

Feng, L.-N., Bian, Z.-P., Peng, J., ve ark. (2012). Ultrasensitive Multianalyte Electrochemical Immunoassay Based on Metal Ion Functionalized Titanium Phosphate Nanospheres. *Anal. Chem.*, 84, 7810–7815. DOI: 10.1021/ac301438v

Gerçekoğlu, H. (2017). “Akut Myokard Enfarktüsü (Kalp Krizi)”, Erişim Adresi: <https://www.acibadem.com.tr/ilgi-alani/kalp-krizi>, Erişim Tarihi: 15.09.2023. Son Güncelleme Tarihi: 29 Temmuz 2024 Pazartesi Yayımlanma Tarihi: 25 Şubat 2019 Pazartesi

Gerçekoğlu, H. (2017). “Akut Myokard Enfarktüsü (Kalp Krizi)”, Erişim Adresi: [https://drhakangercekoglu.com/hastaliklar/akut-miyokard-enfarktusu-kalp-krizi#:~:text=AKUT%20MYOKARD%20ENFARKTÜSÜ%20\(KALP%20KRİZİ\)&text=Bu%20damarlarda%20kan%20akışı%20aniden,krizi%20birkaç](https://drhakangercekoglu.com/hastaliklar/akut-miyokard-enfarktusu-kalp-krizi#:~:text=AKUT%20MYOKARD%20ENFARKTÜSÜ%20(KALP%20KRİZİ)&text=Bu%20damarlarda%20kan%20akışı%20aniden,krizi%20birkaç)

- %20saat%20boyunca%20gerçekleşir, Erişim Tarihi:21.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 2017
- Gesund.bund.de, (2024). “I21.4: Akut subendokardiyal miyokard enfarktüsü”, Erişim Adresi: <https://gesund.bund.de/tr/icd-kodu-arama/i21-4>, Erişim Tarihi: 22.3.2024 Son Güncelleme Tarihi: 2024
- Güven sağlık rehberi, (2024). “Kalp Krizi Belirtileri Nelerdir? Kalp Krizi Nedenleri Nelerdir?”, Erişim Adresi: <https://www.guven.com.tr/saglik-rehberi/kalp-krizi-belirtileri-nelerdir-kalp-krizi-nedenleri-nelerdir>, Erişim Tarihi: 23.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 07-05-2024
- Güzel, S. (2008). *Akut Miyokard İnfarktüsünde Serum Matriks Metalloproteinaz - 9 Düzeyleri*. T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya, İstanbul.
- Hürriyet, (2023). “Homosistein Nedir, Homosistein Değeri Kaç Olmalıdır, Düşüklüğü ile Yüksekliği Nedenleri ve Belirtileri”, Erişim Adresi: <https://www.hurriyet.com.tr/aile/homosistein-nedir-homosistein-degeri-kac-olmalidir-dusuklugu-ile-yukseligi-nedenleri-ve-belirtileri-41536317>, Erişim Tarihi: 15.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 28.08.2023
- Jacc, (2023). “Kalp Krizi Test Paneli”, Erişim Adresi: <https://www.jacc.org/doi/10.1016/S0735-1097%2820%2930645-8>, Erişim Tarihi: 15.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 28.03.2020
- Karadede, A. (2024). “Kalp Krizi Nedir? Kalp Krizi Belirtileri Nelerdir?”, Erişim Adresi: <https://www.medicalpark.com.tr/kalp-krizi-belirtileri/hg-1851#:~:text=Kalp%20krizinde%20görülen%20en%20temel,karın%2C%20çene%20ve%20sırt%20yayılabılır>, Erişim Tarihi: 22.3.2024 Son Güncellenme Tarihi: 01.08.2024
- Kayardı, M. (2020). “Miyokard Enfarktus”. Erişim Adresi: <https://www.drmahtutkayardi.com/miyokard-enfarktus/>, Erişim Tarihi: 13.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 28.10.2020
- Keskin, M. ve Arslan, F., (2020). “Biyosensörler”, *Gazi Üniv. Fen Fak. Dergisi (GÜFFD)*, 1(1-2), 51-60. DOI:10.5281/zenodo.4317958. Erişim Tarihi: 11.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 30.12.2020
- Kongintr, U., Lertanantawong, B., ve Promptmas, C. (2023). A Label-Free Electrochemical Biosensor for Homocysteine Detection Using Molecularly

- Imprinted Polymer and Nanocomposite-Modified Electrodes. *Polymers* 15, 2241. DOI: 10.3390/polym15102241
- Kovacs-Nolan J., Marshall P., Mine, Y. (2005). Advances in the value of egg and egg components for human health. *Agric. Food. Chem.*, 53, 8421–8431.
- Kumar ve ark. (2016). Nanostructured Aptamer-Functionalized Black Phosphorus Sensing Platform for Label-Free Detection of Myoglobin, a Cardiovascular Disease Biomarker. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 8, 22860–22868. DOI: 10.1021/acsami.6b06488.
- Kurt, Y., Özkan, Ç. G. ve Demirbağ, B. C. (2016). “Bir Olgu: Akut Miyokard İnfartüsünde Nanda Tanıları ve NIC Girişimleri İle Hemşirelik Bakımı”. *Balikesir Saglik Bil. Derg.* 5(3), 138-146. DOI: 10.5505/bsbd.2016.57060.
- Li, C., Li, J., Yanga, X., Gao, L., Jina, L. ve Ma, X. (2017). A label-free electrochemical aptasensor for sensitive myoglobin detection in meat. *Sensors and Actuators B*, 242, 1239–1245. DOI:10.1016/j.snb.2016.09.087.
- Liddell, E. (2005). 3. Bölüm, *Antibodies*, Wild, D. (Ed.), *The Immunoassay Handbook* (4. bs) içinde, Elsevier.
- Mechanic, O. J., Gavin, M. and Grossman, S. A. (2023). Acute Myocardial Infarction. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls Publishing; 2024 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459269/> Erişim Tarihi: 21.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 03.09.2023
- Mechanic, O. J., Gavin M. and Grossman S. A. (2024). Acute Myocardial Infarction. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls Publishing; 2024 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459269/> Erişim Tarihi: 12.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 03.09.2023
- Mechanic, O. J., Gavin, M., Grossman S. A. and Ziegler, K. (2023). Acute Myocardial Infarction (Nursing). NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls Publishing; 2024 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459269/> Erişim Tarihi: 12.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 03.09.2023

- Med Chem Express, (2024). “L-Homocysteine”. Erişim Adresi: <https://www.medchemexpress.com/l-homocysteine.html>, Erişim Tarihi: 22.06.2024. Son Güncellenme Tarihi: 05.06.2024
- Medicana, (2024). “Koroner Kalp Hastalıklarında Risk Faktörleri ve Korunma”, Erişim Adresi: <https://www.medicana.com.tr/haber-detay/3681/koroner-kalp-hastaliklarinda-risk-faktorleri-ve-korunma>, Erişim Tarihi: 05.01.2024 Son Güncelleme Tarihi: 29.03.2022 05:01 Oluşturma: 25.09.2014 12:00
- Mihailescu, C., Stan, D., Iosub, R. ve arkadaşları, (2015). A Sensitive capacitive immunosensor for direct detection of human heart fatty acid-binding protein (h-YABP). *Talanta*. 132, 37–43.
- Satemmobil Sağlık, (2023). “Kalp Krizi Testleri”, Erişim Adresi: <https://satemmobil saglik.com/kalp-krizi-testleri>, Erişim Tarihi: 15.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 2023
- Satemmobil Sağlık, (2023). “Kalp Krizi Testleri-Kalp Krizi Risk Faktörleri Nelerdir?”, Erişim Adresi: <https://satemmobil saglik.com/kalp-krizi-testleri>, Erişim Tarihi: 03.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 2023
- Sattar, Y. and Alraies, M. C. (2023). Ventricular Aneurysm. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. Icahn School of Medicine at Mount Sinai. Wayne State University. StatPearls Publishing; 2024 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555955/> Erişim Tarihi: 15.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 03.04.2023
- Sharma, D., Lee, J. ve Shin, H. (2018). An electrochemical immunosensor based on a 3D carbon system consisting of a suspended mesh and substrate-bound interdigitated array nanoelectrodes for sensitive cardiac biomarker detection. *Biosensors and Bioelectronics*. 107, 10–16.
- Sharma, A., Bhardwaj, J. ve Jang, J. (2020). Label-Free, Highly Sensitive Electrochemical Aptasensors Using Polymer-Modified Reduced Graphene Oxide for Cardiac Biomarker Detection. *ACS Omega*, 5, 3924–3931. DOI:10.1021/acsomega.9b03368.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., Crouch, S. R. (2004). *Analitik Kimya Temel İlkeler* (1. Cilt, Sekizinci Baskı). (Kılıç, E., Yılmaz, H. (Çev.)) Yenimahalle, ANKARA: Baskı Sarıyıldız Ofset Matbaacılık.

- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., Crouch, S. R. (2013). *Enstrümantal Analiz İlkeleri* (Altıncı Baskı). (Kılıç, E., Yılmaz, H. (Çev.)) Yenimahalle, ANKARA: Baskı Sarıyıldız Ofset Matbaacılık.
- Soltani, H., Beitollahi, H., Hatefi-Mehrjardi, A-H., Tajik, S. ve Torkzadeh Mahani, M. (2014). Nanostructured base electrochemical sensor for voltammetric determination of homocysteine using a modified single-walled carbon nanotubes paste electrode, *Ionics* 20, 1481–1488. DOI: 10.1007/s11581-014-1099-y
- Song, S. Y., Han, Y. D., Kim, K., Yang, S. S., & Yoon, H. C. (2011). A fluoro microbead guiding chip for simple and quantifiable immunoassay of cardiac troponin I (cTnI). *Biosens Bioelectron*, 26(9), 3818-3824. DOI: 10.1016/j.bios.2011.02.036
- Sweis, R. N. and Jivan, A. (2024). “Acute Myocardial Infarction (MI)”. Erişim Adresi: <http://msdmanuals.com/professional/cardiovascular-disorders/coronary-artery-disease/acute-myocardial-infarction-mi>. Erişim Tarihi:22.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: Şubat 2024
- Synevo. (2023). “Homosistein Nedir”, Erişim Adresi: <https://synevo.com.tr/tr/Homosistein-Nedir>, Erişim Tarihi:15.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: -
- Tetra Laboratuvar, (2023). “Kalp Krizi Test Paneli”, Erişim Adresi: <https://tetralaboratuvar.com/kalp-krizi-testi>, Erişim Tarihi: 02.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: 2023
- Texas Health and Human Services, (2022). Texas Women’s Health Programs Report As Required by the 2022-23 General Appropriations Act, Senate Bill 1, 87th Legislature, Regular Session, 2021 (Article II, Health and Rider 64). August 2022 <https://www.hhs.texas.gov/sites/default/files/documents/texas-womens-health-programs-report-fy2021-august-2022.pdf> Erişim Tarihi: 11.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: -
- Tural, H., Gökçel, İ., Ertaş, N. (2010). *Enstrümantal Analiz I Elektroanalitik Yöntemler*, (3. bs), Ege Üniversitesi Yayınları, Fen Fakültesi, Bornova-İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi.
- Turgut, B. (2023). “Biyosensörler ve Sağlık”. *ASR journal*, 8(47), 2493.

- Twerenbold, R ve ark. (2024). Troponin ve kardiyak belirteçler. *Biomark Med.*: 395-401, <https://dokumen.tips/documents/troponin-ve-kardiyak-belirtecler.html?page=5> Erişim Tarihi: 12.01.2024 Güncelleme Tarihi: 31.07.2024
- Uzmandoktor. (2023). “Miyoglobın”, Erişim Adresi: <https://www.uzmandoktor.net/miyoglobın>, Erişim Tarihi: 15.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: -
- Wu, C., Mu, W., Wu, F. Ve arkadaşları (2024). Electrochemical detection of myoglobin using an ultrasensitive label-free sensor derived from cubic-ZIF67@Au-rGOF-NH₂ composite of MOF and GOF. *Analytical Biochemistry*, 692 (2024), 115571.
- Yaşam. (2023). “Homosistein Nedir”, Erişim Adresi: <https://www.yasamlab.com.tr/homosistein-nedir>, Erişim Tarihi: 15.12.2023 Son Güncelleme Tarihi: -
- Yeğenoğlu H., Aslım B. ve Tamer U. (2013). “Gıda Patojenlerinin Tanısında Kullanılan NanoBoyutlu İmmünoşensör Tasarımı”. *Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(1), 58-68.
- Yengin, Ç. (2019). *Troponin T, Troponin I ve Hemoglobın Alc'nin Girişimsiz Tayini İçin Ters İyontoforez Yönteminin Geliştirilmesi*. Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, İzmir.
- Yöntem, M., Erdoğan, B. S., Akdoğan, M. ve Kaleli S. (2017). “Akut Miyokard İnfarktüsü Tanısında Kardiyak Markörlerin Önemi”. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2(4), 11-17. DOI: 10.26453/otjhs.357230.
- Zhao, J., Du, P., Sun, X. Ve Liu, H. (2017). Development of Electrochemical Sensor for Homocysteine Determination as a Cerebrovascular Disease Biomarker. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 12, 8642 – 8650, DOI: 10.964/2017.09.66

Teşekkür

Sadece tez çalışmam süresince değil her zaman benden değerli bilgilerini esirgemeyen, tecrübeleri ile beni aydınlatan, beni sabır ve hoşgörü ile yönlendiren değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. M. Emrah KILINÇ'a ve ilkokuldan bugüne gelene kadar üzerimde emeği olan bütün hocalarıma ve öğretmenlerime,

Çalışmamda benden desteğini ve arkadaşlığını esirgemeyen Yük. Kimya Mühendisi Dr. Çiğdem YENGİN'e,

Çalışmamın deneysel aşamalarında destek sağlayan E.Ü. Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya yüksek lisans öğrencileri İlayda ALÇIN, Ceren ULUYILDIZ ve Miray GÖKCAN'a, E.Ü. Eczacılık Fakültesi lisans öğrencileri Zeynep Dicle ÇALIŞIR, Elif Gül KAÇAR ve Eyüp Talha YAVUZ'a,

Tez çalışmalarına maddi destek sağlayan Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP, Proje No: TDK-2021-23494, Proje ID: 23494) Şube Müdürlüğü'ne,

Beni büyütüp bugünlere getiren aileme teşekkürü bir borç bilirim.

İzmir, 8.10.2024

Fatma Gülay DER

Özgeçmiş

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı: Fatma Gülay DER

Doğum Tarihi: .

Doğum Yeri: .

Akademik Unvanı: Araş. Gör.

İş Telefonu:

Cep Telefonu: .

İş Adresi: Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Analitik Kimya ABD Bornova – İZMİR

E-postası:

EĞİTİM BİLGİLERİ

2004-2011 Lisans; Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Bornova – İZMİR

2011-2013 Yüksek Lisans; Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya ABD., Bornova – İZMİR

2017- ... Doktora; Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya ABD., Bornova – İZMİR

Yüksek Lisans Tez Başlığı: Farmasötik Analizde Sıvı Kromatografik(LC) Dedektörlerin Performanslarının Karşılaştırılması

Tez Danışmanı: Prof. Dr. M. Emrah KILINÇ

YABANCI DİL BİLGİSİ

İngilizce (B2 – Orta düzey)

STAJ VE İŞ DENEYİMLERİ

2007 Staj; Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Uygulama Eczanesi, Bornova – İZMİR

2008 Staj; Esra Eczanesi; Zile – TOKAT

2009 Staj; İzmir Eczanesi, Bornova – İZMİR

Aralık 2012 - Halen Araş. Gör; Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya ABD., Bornova – İZMİR

BİLİMSEL FAALİYETLER

Uluslararası Makaleler:

1. C. Yengin, E. Kilinc, **F.G. Der**, M.C. Sezgin, I. Alcin (2020). Optimization of extraction parameters of reverse iontophoretic determination of blood glucose in an artificial skin model. Current Analytical chemistry, 16(6), 722-737, DOI:10.2174/1573411015666190710232858.
2. C. Yengin, **F.G. Der**, I. Alcin, B. Cihan, E. Kilinc (2023). Non-invasive electrochemical immunosensor for reverse iontophoretic determination of cardiac troponins (cTnT&cTnI) in a simulated artificial skin model. Significance of raw DPV and CV data for chemometric discrimination. Talanta, 256(2023), 124276, DOI:10.1016/j.talanta.2023.124276.
3. F.N. Onal, I. Ozturk, F. Aydin Kose, **G. Der**, E. Kilinc, S. Baykan (2023). Comparative evaluation of polyphenol contents and biological activities of five Citrus L. species native to Turkey. Wiley-Chem. Biodiversity 2023, 20:e202200915, DOI:10.1002/cbdv.202200915.
4. **F.G. Der**, G. Yalcin, E. Ozcan Bulbul, H. Ileri, B. Cihan, M. Gokcan, Y.C. Esitmez, E. Kilinc (2022). Hydrolytic stability of hydroxyphenyl boronic acids(HPBAs) and employment of poly(HPBAs) for voltammetric determination of fluoride levels in dental formulations and beverages; significance of raw DPV data for chemometric discrimination. Electroanalysis, 34(11), 1711-1724, DOI:10.1002/elan.202200012.

5. G. Elgin Cebe, S. Aktar Kiremitci, M. A. Erdoğan, S. Konyalıoğlu, Ç. Yengin, **F.G. Der**, E. Kilinc (2021). Flavonoid contents antioxidant and neuroprotective activities of *Crataegus monogyna* jacq. leaves and flowers. *Fresenius Environmental Bulletin*, 30(9), 10505-10514.

Ulusal Makaleler:

1. N. Denizhan, S. Yılmaz, G. Sağlıkoğlu, E. Kılınç, Ç. Yengin, **F.G. Der**, (2022), Electrochemical and liquid chromatographic analysis of triamcinolone acetonide in pharmaceutical formulations, *Turk J Anal Chem*, 4(2), 59-66, DOI:10.51435/turkjac.1132742.
2. F. Öngöz Dede, U. Balli, Ş. Bozkurt Doğan, **F.G. Der**, E. Kilinc (2022), Oxidative DNA Damage of Three Commercial Mouthrinses in the Peripheral Bloods and Oral Mucosal Cells of the Rats, *TurkMedline-Clinical Dentistry and Research*, 46(3), 147-155.

Ulusal ve Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler:

1. **G. Der**, E. Özcan, E. Kılınç, “Evaluation of Electrochemical and Spectroscopic Detector Performances for The Simultaneous Determination of Chlorfeniramin maleate, Phenylephrine hydrochloride and Acetaminophen in Anti-flu Combined Pharmaceutical Preparations”, 9th International Electrochemistry Meeting in Turkey (ECM9), Ege Üniversitesi, 25-29 Eylül 2011, İzmir, Çeşme, Poster bildirisi.
2. **G. Der**, E. Özcan, E. Kılınç, “Employment of a Group of Catechins and Flavonoids as Scavengers of Hydroxyl Radical; Application Approach in Chronoamperometric Detection in Liquid Chromatography”, 9th International Electrochemistry Meeting in Turkey (ECM9), Ege Üniversitesi, 25-29 Eylül 2011, İzmir, Çeşme, Poster bildirisi.
3. E. Özcan, **F.G. Der**, E. Kılınç, “Bir Grup İlaç Etkin Maddesi için HPLC’den UPLC’ye Yöntem Transferi”, 13. Ulusal Kromatografi Kongresi, Uludağ Üniversitesi, 19-22 Haziran 2013, Bursa, Poster bildirisi.
4. **F.G. Der**, Ç. Yengin, Lisans Öğrenci Grubu, F. Öngöz Dede, Ş. Bozkurt Doğan, E. Kılınç, “Bir grup oksidatif stres biyogöstergesinin sıvı kromatografik tayini için

- UPLC-DAD yöntemi geliştirilmesi”, 15. Ulusal Kromatografi Kongresi, Uşak Üniversitesi, 8-10 Nisan 2015, Uşak, Poster bildirisi.
5. **F.G. Der**, Ç. Yengin, İ. Alçın, İ. Görgülü, Ö.C. Çağlayan, M.N. Düzgün, İ. Yenel, E. Kılınç, “Bir Grup Oksidatif Stres Biyogöstergesinin Tayinine Yönelik HPLC-DAD Yönteminin Geliştirilmesi”, 16. Ulusal Kromatografi Kongresi, İnönü Üniversitesi, 31 Ağustos-2 Eylül 2016, Malatya, Poster bildirisi.
 6. M. Saatçi, İ. Alçın, K. Atmaca, C. Akdağ, K. Şahin, M.C. Sezgin, **F.G. Der**, Ç. Yengin, M. Topuzoğlu, İ. Toker, E. Kılınç, “İzmir yöresi kuru üzüm çeşitlerinin kemometrik sınıflandırılması için elektronik burun tasarımı”, 17. Ulusal Kromatografi Kongresi, Hitit Üniversitesi, 20-22 Eylül 2017, Çorum, Poster bildirisi.
 7. S. Aktar, G. Elgin Cebe, K. Atmaca, İ. Alçın, **G. Der**, E. Kılınç, “Crataegus monogyna Jack. EKSTRELERİNDE bir grup flavanoid bileşiğinin tayini için HPLC-ECD ve HPLC-DAD yöntemlerinin geliştirilmesi”, 17. Ulusal Kromatografi Kongresi, Hitit Üniversitesi, 20-22 Eylül 2017, Çorum, Poster bildirisi.
 8. S. Aktar, M.C. Sezgin, Ç. Yengin, İ. Alçın, **G. Der**, G. Elgin Cebe, E. Kılınç, “Crataegus monogyna Jacq. Ekstrelerinde bir grup flavanoit bileşiğinin tayini için HPLC-DAD yönteminin geliştirilmesi”, EsAn 2018-Uluslararası Eser Analiz Kongresi, Cumhuriyet Üniversitesi, 20-23 Haziran 2018, Sivas, Poster bildirisi.
 9. Ç. Yengin, **F.G. Der**, M.C. Sezgin, I. Alcin, E. Kilinc, “Optimization of extraction parameters of reverse iontophoretic determination of blood glucose in an artificial skin model”, 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-12), Ankara Üniversitesi, 26-29 Haziran 2018, Ankara, Poster bildirisi.
 10. N. Denizhan, S. Yılmaz, G. Sağlıkoğlu, E. Kılınç, Ç. Yengin, **F.G. Der**, “Triamsinolon Asetonid’in İlaç Formlarından Elektrokimyasal ve HPLC Teknikleri ile Analizi”, 19. Ulusal Kromatografi Kongresi, Hacettepe Üniversitesi, 12-14 Haziran 2019, Kıbrıs (KKTC), Sözlü bildiri.
 11. Ç. Yengin, **F.G. Der**, E. Kılınç, “Polietilen (PE) Mikropartiküllerinin C.I. 52015 ve C.I. 52020 ile Boyama Yöntemiyle Tayini”, 16. Ulusal Spektroskopi Kongresi, 7-8 Kasım 2019, Kıbrıs (KKTC), Ankara, Poster bildirisi.
 12. F.N. Önal, Ş. Baykan Öztürk, **F.G. Der**, E. Kılınç, “Phytochemical Compounds and Antioxidant Capacity of Cistus L. Species”, The 7th International

Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, 18 Kasım 2021, Kıbrıs (KKTC), İzmir, Poster bildirisi.

13. **F.G. Der**, M. Gökcan, Ç. Yengin, E. Kılınç, “Employment of Poly (Hydroxyphenylboronic Acids) (HPBAs) For Voltammetric Fluoride Determination in Pharmaceutical Samples and Significance of Raw DPV Data for Chemometric Discrimination”, BORON 2022-Uluslararası Boron Sempozyumu, TENMAK, 05-07 Ekim 2022, İstanbul, Sözlü bildiri.
14. C. Uluyıldız, Z. Çalışır, K. Türkoğlu, M. Fakıoğlu, **F.G. Der**, E. Kılınç, “Employment of poly(creatinine) and 5,10,15,20-Tetraphenyl-21H,23H-Porphine Nickel(II) as electrocatalysts at liquid/liquid interfaces in thin layers of organic solvents for HPLC-ECD determination of paracetamol in pharmaceutical formulations”, DRD2023-International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, 04-06 Mayıs 2023, İzmir, Sözlü bildiri.
15. Ç. Yengin, **F.G. Der**, E. Kılınç “Synergistic drug delivery strategies for colorectal cancer therapy”, 1st International Congress on Solutions in Science (INSCORE), 11-13 Eylül 2023, Türkiye, Sözlü bildiri.
16. Ç. Yengin, **F.G. Der**, E. Kılınç, “Capecitabine Loaded Folate-Conjugated Mesoporous Silica Nanoparticles Synthesis and In-Vitro Characterization”, DRD2023-International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development, İKÇÜ, 04-06 Mayıs 2023, İzmir, Sözlü bildiri.

Görev Aldığı Bilimsel Projeler:

1. “Oküler ve sistemik bazı hastalık ile olguların teşhis ve tahminlemede kullanılacak bazı bileşik ve biyogöstergelerin gözyaşı sıvısında tayini için sıvı kromatografik yöntemlerin geliştirilmesi”, Ege Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı 16/ECZ/007 Nolu Proje (Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. M. Emrah KILINÇ, Araştırmacı: Araş. Gör. F. Gülay DER)
2. “Farmasötik Analizde Sıvı Kromatografik (LC) Dedektörlerin performanslarının karşılaştırılması”, Ege Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı 11/ECZ/031 Nolu Proje (Araştırmacı-Uzman: Araş. Gör. F. Gülay DER)
3. “^{99m}Tc ile İşaretli Antibiyotiklerin Enfeksiyon ve İnflamasyon Odaklarını Görüntüleme Potansiyellerinin Araştırılması”, TÜBİTAK Ulusal Araştırma

Projesi, 110S229 Nolu Proje (Proje Yürütücüsü: Makbule AŞIKOĞLU, Bursiyer: Araş. Gör. F. Gülay DER)

Katıldığı Eğitim, Çalıştay ve Kurslar:

1. 12 Mayıs 2011, “MatLab and Simulink MatLab Günü”, Figes A.Ş., Ege Palas Otel, İzmir.
2. 1 Haziran 2011, “Agilent Katı Faz Ekstraksiyon Teknikleri ile Çevre ve Gıda Numuneleri Hazırlama Semineri-Sample Preparation Agilent Tips and Tricks Seminar”, SEM Ltd, Mövenpick Hotel, İzmir.
3. 22 -25 Mayıs 2012, “Oksidatif Stres, DNA Hasarı, DNA Onarımı ve Hastalıklarla İlişkisi Kursu”, Prof. Dr. Miral DİZDAROĞLU, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir
4. 03-07 Eylül 2012, “Thermo Scientific Focus GC Sistemi Eğitimi”, REDOKS, İzmir.
5. 07-11 Mayıs 2012, “Thermo Scientific TSQ Quantum Access MAX LC/MS/MS Sistemi Eğitimi”, REDOKS, İzmir.
6. 19-24 Mart 2012, “Thermo Scientific MSQ Plus LC-MS Sistemi Eğitimi”, REDOKS, İzmir.
7. 16-20 Temmuz 2012, “Thermo Scientific ACCELA UHPLC Sistemi Eğitimi”, REDOKS, İzmir.
8. 09-13 Nisan 2012, “Thermo Scientific DSQII GC-MS Sistemi Eğitimi”, REDOKS, İzmir.
9. 12-16 Kasım 2012, “Thermo Scientific Evolution Array UV-VIS Spektrofotometre Sistemi Eğitimi”, REDOKS, İzmir.
10. 27 Nisan 2012, “UHPLC-Kromatografiye Giriş, HPLC, Kolonlar ve İleri Uygulama Teknikleri GCMS-Son Teknolojiler ve Uygulama Alanları Semineri”, ANT TEKNİK, Ege Üniversitesi, İzmir.
11. 07 Mayıs 2013, “Merck Millipore Laboratuvar Kimyasalları ve Ekipmanları Semineri”, İzmir.
12. 12 Mayıs 2015, “Orbitrap LC-MS/MS Teknolojisi ve Uygulamaları Semineri”, REDOKS, Mövenpick Otel, İzmir.
13. 14-16 Ocak 2015, “HORIZON 2020 Proje Yazım ve Ortaklık Kurma Eğitimi”, TÜBİTAK-2237-Proje Eğitimi Etkinliklerini Destekleme Programı, EBİLTEM-TTO, İzmir.

14. 16 Haziran 2015, “EGE İSG Eğitimi Belgesi”, Ege Üniversitesi İş Sağlığı ve Güvenliği Koordinatörlüğü, İzmir.
15. 24-26 Şubat 2016, “At the International Workshop on Special Topics on Polymeric Composites-Polikom-Katılım Sertifikası”, İzmir, Bornova.
16. 06-17 Kasım 2017, “Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası” – Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK, Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (EÜHADYEK).
17. 09-16 Aralık 2020, “Girişimcilik 101 Sertifika Eğitim Programı”, EBİLTEM-TTO, EGESEM, İzmir.
18. 16 Mart 2023, “TÜBİTAK ARDEB-1001 Eğitimi”, EBİLTEM-TTO, Ege Üniversitesi, İzmir.

Bilimsel Toplantı Düzenleme Etkinlikleri:

- 12-15 Mayıs 2014, 14. Ulusal Kromatografi Kongresi, Yerel Organizasyon Komitesi Üyesi; Ege Üniversitesi, İzmir.

ÖDÜL:

1. M. Saatçi, İ. Alçın, K. Atmaca, C. Akdağ, K. Şahin, M.C. Sezgin, **F.G. Der, Ç.** Yengin, M. Topuzoğlu, İ. Toker, E. Kılinc, “İzmir yöresi kuru üzüm çeşitlerinin kemometrik sınıflandırılması için elektronik burun tasarımı”, 17. Ulusal Kromatografi Kongresi, Hitit Üniversitesi, 20-22 Eylül 2017, Çorum, Poster ikincilik ödülü.
2. Özel İzmir Martı Anadolu Lisesi, 2012-2013 Eğitim Öğretim Yılı, Bilimsel Proje Desteği Teşekkür Belgesi.

ÜYESİ OLUNAN DERNEK VE KURULUŞLAR :

Türkiye Kimya Derneği