



**FATİH SULTAN MEHMET VAKIF ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**HEMATOLOJİK ANALİZLER İÇİN ALINAN
KANDAKİ PIHTILAŞMA SÜRECİNİ İNCELEME
SİSTEMİ TASARIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PARVİZ GURBANLI

İSTANBUL, 2023



**FATİH SULTAN MEHMET VAKIF ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**HEMATOLOJİK ANALİZLER İÇİN ALINAN
KANDAKİ PIHTILAŞMA SÜRECİNİ İNCELEME
SİSTEMİ TASARIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PARVİZ GURBANLI
(200231101)**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Bahattin Karagözoğlu**

**BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ (BAP) tarafından
2022B1Ç02D proje numarası ile desteklenmiştir.**

İSTANBUL, 2023

25/07/2023

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Biyomedikal Mühendisliği tezli yüksek lisans programı öğrencisi 200231101 numaralı **Parviz GURBANLI**'nin, hazırladığı *Hemitoloji Analizatörler ve Onlarda Görülen Genel Problemler*" konulu Yüksek Lisans tezi ile ilgili Tez Savunma Sınavı, 25.07.2023 Salı günü saat 13:30'da yapılmış, sorulara alınan cevaplar sonunda adayın tezinin **Kabulüne Oy Çoğunluğu/Oy Birliği** ile karar verilmiştir.

Tez adı değişikliği yapılması halinde: Tez adının HEMATOLOJİK ANALİZLER İÇİN ALINAN KANDAKİ PIHTILAŞMA SÜRECİNİ İNCELEME SİSTEMİ TASARIMI
.....
şeklinde değiştirilmesi uygundur.

Jüri Üyesi	Karar
1. (Danışman) Prof. Dr. Bahattin KARAGÖZOĞLU	Kabul
2. Prof. Dr. Halit PASTACI	Kabul
3. Doç. Dr. Haydar ÖZKAN	Kabul
4.
5.
6. (İkinci Danışman)*.....

*2. Danışman varsa doldurulması gerekmektedir.

ETİK BİLDİRİM

Bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bağlı olduğum üniversite veya bir başka üniversitedeki başka bir çalışma olarak sunulmadığını beyan ederim.

Parviz Gurbanli

TEŐEKKÜR

Bu tez çalışmasının tamamlanmasında katkılarında dolayı değerli danıŐmanımız Bahattin Karagözoğlu Hocamıza en içten teŐekkürlerimi sunarım. Onun yönlendirmesi, bilgeliği ve destekleri olmadan bu çalışma hayata geirilemezdi. Biyomedikal alanındaki uzmanlığı ve rehberliği, bu tezin baŐarılı bir Şekilde tamamlanmasında kritik bir rol oynadı.

Ayrıca, Azerbaycan'ın Bakü Őehrinde yerleşik Limbak Labor Group laboratuvar heyetine de teŐekkür etmek istiyorum. Bana laboratuvarlarının imkanlarını kullanmamıza izin verdikleri için minnettarım. Laboratuvarda gerçekleŐtirdięimiz deneyler ve testler, bu tez çalışmasının temelini oluŐturdu. Profesyonel ekibin desteği ve sağladıkları kolaylıklarla deneylerimizi baŐarılı bir Şekilde gerçekleŐtirdik ve verilerimizi analiz edebildik.

Bu alıŐma ayrıca, hematoloji alanında araştırma ve uygulamalara katkıda bulunan tüm sağlık profesyonellerine, akademisyenlere ve bilim insanlarına da bir teŐekkür borcunu ifade etmektedir. Onların bilgi birikimi ve çabaları, hematolojik analizler ve pıhtılaşma ve süreci üzerindeki anlayıŐımızı derinleŐtirmemize ve gelecekteki çalıŐmalara ilham vermekte önemli bir rol oynamaktadır.

Son olarak, bu tez çalıŐmasını tamamlamamda desteklerini esirgemeyen aileme, arkadaşlarıma ve sevdiklerime de içten teŐekkürlerimi sunarım. Kendilerinin moral desteği ve güveni, bu süreci daha da anlamlı kıldı.

Yardımları dokunanlara minnettarım ve katkıları için teŐekkür ederim.

Saygılarımla,

Parviz Gurbanli

HEMATOLOJİK ANALİZLER İÇİN ALINAN KANDAKİ PIHTILAŞMA SÜRECİNİ İNCELEME SİSTEMİ TASARIMI

Parviz Gurbanlı

ÖZET

Hematolojik analizler, kanın içeriğini ve bileşenlerini değerlendirmek amacıyla yapılan testlere dayanır. Bu testler, hastalıkların tanısında ve takibinde önemli bir rol oynamaktadır. Hematolojik analizlerin bir parçası olan pıhtılaşma sürecinin incelenmesi, kanın pıhtılaşma yeteneğini değerlendirir ve kanama bozukluklarının tanısında yardımcı olur. Bu nedenle, hematolojik analizler için alınan kandaki pıhtılaşma sürecini incelemek için bir sistem tasarımı büyük önem taşır. Bu çalışmada pıhtılaşma ve kandaki hematolojik değişiklikleri gözleminin bir yolu empedans değişimini izlemek olarak tanımlanmış ve amaca yönelik bir empedans ölçme ve takip cihazı tasarlanmıştır.

Empedans ölçümü ortama sabit bir gerilim verip geçen akımı ölçmekle gerçekleştirilmektedir. AD5933, universal empedans ölçme çalışmaları için geliştirilmiş frekans tarama empedans spektrometresi (FTIS) çipi olup, kanın empedansını ölçmek için kullanılabilir. Pıhtı tayini ve hematolojik değişimleri izlemek için AD5933 tabanlı bir sistem geliştirilmiştir. Bu sistemin kullanımı için, aşağıdaki adımları izlememiz gerekmektedir:

1. Örnek Hazırlığı: Kan örneğini K3 EDTA içerikli tüpün içerisine alarak hazırlıyoruz. K3 EDTA genellikle kanın pıhtılaşma faktörlerini deaktive eden bir reaktif eklemek anlamına gelir.

2. Empedans Ölçümü: AD5933'ü kullanarak, belirli bir frekans aralığında (genellikle 80 kHz düzeyinde) kanın empedansını ölçüyoruz. AD5933, gerilim uygulayarak ve akımı ölçerek kompleks empedansı hesaplar. Bu sayede, kan örneğinin empedans değerini elde ediyoruz.

3. Veri Analizi: AD5933 tarafından sağlanan empedans verilerini topluyoruz ve analiz ediyoruz. Pıhtılaşma durumu ortaya çıktıkça, pıhtının oluşumu empedans değerlerini etkiliyor. Elde edilen empedans verilerini zamanla ilişkilendirerek, pıhtılaşmanın belirli bir zamandaki empedans değişikliklerini inceliyoruz.

4. Referans Noktalarının Belirlenmesi: Pıhtılaşmanın farklı aşamalarında belirli referans noktalarını tanımlıyoruz. Bu referans noktaları, pıhtı oluşumu ile ilişkili karakteristik empedans değerlerini temsil eder. Örneğin, pıhtının başlangıcı, tam oluşumu ve belirli bir süre sonrasındaki empedans değerlerini belirliyoruz.

5. Pıhtı Tayini: Elde edilen empedans verilerini referans noktalarıyla karşılaştırarak pıhtının varlığını ve aşamalarını tespit ediyoruz. Pıhtının oluşumuyla ilişkili empedans değişikliklerini ve sürecin karakteristik özelliklerini değerlendiriyoruz.

Geliştirilen sistemin uygulanabilirliğini ve elde edilen sonuçların tutarlılığını göstermek için laboratuvar testleri yapılmış ve taze kan ile bekletilmiş kan örnekleri arasında empedans değişiklikleri başarı ile izlenmiştir. Pıhtılaşmayı inceleme sisteminin bir başka önemli özelliği, sonuçların hızlı ve doğru bir şekilde değerlendirilmesini sağlamaktır. Bu nedenle, sistemde bir veri analiz ve raporlama birimi tasarlanmış olup bu birim, empedans parametrelerini hesaplar, sonuçları grafiklerle görselleştirir ve sunar.

Anahtar kelimeler: Hematoloji analizatörü, AD5933 uygulaması, Kan empedansı lm, Pıhtılaşma süreci değerlendirmesi, Biyomedikal empedans analizi

DESIGN OF THE SYSTEM TO EXAMINING THE COAGULATION PROCESS IN THE BLOOD TAKEN FOR HEMATOLOGICAL ANALYSIS

Parviz Gurbanli

ABSTRACT

Hematological analyzes are based on tests to evaluate the content and components of the blood. These tests play an important role in the diagnosis and follow-up of diseases. The examination of the coagulation process, which is part of the hematological analysis, evaluates the blood's ability to clot and aids in the diagnosis of bleeding disorders. Therefore, the design of a system to study the coagulation process in blood taken for hematological analysis is of great importance. In this study, a way of observing coagulation and hematological changes in blood was defined as monitoring the impedance change, and a purposeful impedance measurement and monitoring device was designed.

Impedance measurement is carried out by applying a constant voltage to the medium and measuring the current passing. The AD5933 is a frequency scanning impedance spectrometer (FTIS) chip developed for universal impedance measurement studies and can be used to measure the impedance of blood as well. An AD5933-based system has been developed to detect clots and monitor hematological changes. To use this system, we need to follow the steps below:

1. Sample Preparation: We prepare the blood sample by taking it into a tube containing K3 EDTA. K3 EDTA usually means adding a reagent that deactivates blood clotting factors.

2. Impedance Measurement: Using the AD5933, we measure the impedance of blood in a specific frequency range (usually at the level of 80 kHz). The AD5933 calculates complex impedance by applying voltage and measuring current. In this way, we obtain the impedance value of the blood sample.

3. Data Analysis: We collect and analyze impedance data provided by AD5933. As the coagulation condition occurs, the formation of the clot affects the impedance values. By correlating the impedance data obtained with time, we examine the impedance changes of coagulation over a given time.

4. Determination of Reference Points: We define specific reference points at different stages of coagulation. These reference points represent characteristic impedance values associated with clot formation. For example, we determine the onset of the clot, its complete formation, and the impedance values after a certain time.

5. Clot Detection: We detect the presence and stages of the clot by comparing the obtained impedance data with reference points. We evaluate the impedance changes associated with clot formation and the characteristics of the process.

To show the feasibility of the developed system and the consistency of the results obtained, laboratory tests were carried out and impedance changes were successfully followed between fresh blood and stored blood samples. Another important feature of the coagulation examination system is to enable rapid and accurate evaluation of results. For this reason, a data analysis and reporting unit has been designed in the system, which calculates the impedance parameters, visualizes, and presents the results with graphs.

Keywords: Hematology analyzer, AD5933 application, Blood impedance measurement, Coagulation process evaluation, Biomedical impedance analysis

ÖNSÖZ

Bu çalışma, hematolojik analizler için alınan kandaki pıhtılaşmanı ve sürecini incelemek amacıyla bir sistem tasarımını ele almaktadır. Hematolojik analizler, kanın içeriğini ve bileşenlerini değerlendirmek için önemli bir araçtır. Kanın pıhtılaşma durumu ise, hematoloji cihazına zarar vermemesini sağlamak için tespit edilmesi gereken kritik bir faktördür.

Geliştirilen sistemin doğru ve güvenilir sonuçlar üretebilmesi için kan örneği alınımından hematoloji analiz cihazındaki testlere kadar geçen her aşamanın detaylı incelenip özenle tasarlanması gerekmektedir. Sistem pıhtılaşma sürecini değerlendirmek için uygun bir cihaz seçimi, örnek hazırlama modülü, reaktif modülü ve veri analiz birimi gibi bileşenler içermektedir.

Başlangıçta, hematolojik analizlerde pıhtılaşmanın önemini vurgulanmakta ve pıhtılaşma sürecini laboratuvar ortamlarında takip edebilecek bir sistem tasarımının gerekliliğini belirtilmektedir. Ayrıca, bu tasarımın doğru tanı ve takiplerde yardımcı olabileceği potansiyeli üzerinde durulmaktadır.

Çalışma, hematoloji alanında araştırmacıların, sağlık profesyonellerinin ve ilgili uzmanların hematolojik analizlerde pıhtılaşma sürecini daha ayrıntılı bir şekilde inceleyebilmeleri için bir başvuru kaynağı olmayı hedeflemektedir. Geliştirilen sistem ve uygulama yöntemleri, ilerideki araştırmalar ve teknolojik gelişmeler için bir temel oluşturabilecek önemli bir alt yapı mahiyetindedir.

Çalışmanın sonunda ortaya çıkan ürünün, hematolojik analizlerde pıhtılaşmayı ve sürecini daha iyi anlamamıza ve kandaki mikro pıhtılaşmanın hematoloji analizatörlere zarar vermesinin önüne geçilmesine katkı sağlaması umulmaktadır. Böylece, hematolojik analizlerde pıhtılaşma ve sürecinin incelenmesi konusunda bilgi ve anlayış sağlayarak, sağlık sektörüne katkıda bulunması amaçlanmaktadır.

Haziran, 2023

Parviz Gurbanli

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
ÖNSÖZ.....	ix
SEMBOLLER	xii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR	xv
GİRİŞ	1
BİRİNCİ BÖLÜM.....	2
1. KANIN YAPISI VE ANALİZ YÖNTEMLERİ	2
1.1. KAN BİLEŞENLERİ	2
1.2. KAN SAYIM CİHAZLARI.....	3
1.2.1. Hemogram (Tam Kan Sayımı)	3
1.2.2. Hemogram Testi Referans Aralığı	3
1.3. PIHTILAŞMANIN KILCAL KAN ÖRNEĞİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ	4
1.3.1. Kan Sayımını Etkileyen Analiz Öncesi Etkiler	4
1.3.1.1. Hastadan Kan Alımı	4
1.3.1.2. Analiz Öncesi Etkenler	4
1.3.1.3. Pıhtılaşmaya Nedenleri	5
1.3.2. Kan Örneklemesi	6
1.3.2.1. Antikoagülanlar	6
1.3.2.2. Sayım Hatalarının Düzeltilmesi.....	7
1.3.2.3. Kan Pıhtılaşma Sürecinin Önemi.....	8
1.4. KIRMIZI KAN HÜCRELERİNİN ELEKTRİKSEL ÖZELLİKLERİ.....	8
1.4.1. Hücre Zarının Özellikleri.....	8
1.4.2. Pıhtılaşma Zamanı Kanın Elektriksel İletkenlik Değişiklikleri	10
1.4.3. Normal ve Pıhtı Kanda Elektrik Empedans ve Elektrik Yükü Değişimi	14
İKİNCİ BÖLÜM.....	16
2. KAN EMPEDANSI ÖLÇÜM SİSTEMLERİ.....	16
2.1. EMPEDANS ÖLÇÜM KAN ANALİZ SİSTEMLERİ VE KAN PIHTILAŞMASININ ELEKTRİKSEL ÖLÇÜMÜ	16
2.1.1. Empedans Ölçüm Sistemleri.....	17
2.1.2. AD5933 Kullanarak Empedans Ölçümü	17
2.2. PROTOTİP GELİŞTİRME	19
2.2.1. Sistemin Tanımı ve Ana Modülleri	20

2.2.2. AD5933 Tümüleşik Devresi ve İşlevselliği	20
2.3. SİSTEMİN ÇALIŞMASI İÇİN ARDUİNO YAZILIMI	22
2.3.1. Kurulum ve Kullanım	23
2.3.2. İşlevlere Kısa Bir Bakış	23
2.4. ELEKTROTLARIN TASARIMI	24
2.4.1. Lehim Teli İle İlk Denemeler	24
2.4.2. Kalem Elektrot Tasarımı	25
2.4.3. Şırınga İğneleri Temelli Elektrotlar	26
2.4.4. Deneysel Yöntem Tasarımı	28
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM	30
3. SİSTEMİN KALİBRASYONU VE DENEMELERİ.....	30
3.1. SİSTEMİN KALİBRASYONU	30
3.1.1. Sabit Referans Direnci ile Kalibrasyon	31
3.1.2. Kalibrasyon Bilgilerinin Uygulanması	32
3.1.3. Ölçüm Sırasında Sorunlara Neden Olabilecek Olgular	35
3.1.4. Değişik Değerde Dirençlerle Kalibrasyon	36
3.2. LABORATUVAR DENEMELERİ	39
3.2.1. Açık Tüpteki Kan Örneğinde Empedans Denemeleri.....	39
3.2.2. Kapalı Tüpteki Kan Örneğinde Empedans Denemeleri	43
3.3. SİSTEMİN OLASI İYİLEŞTİRMELERİ.....	48
3.3.1. Geliştirilmiş Kalibrasyon Sistemi.....	48
3.3.2. ADC'ye Giriş Seviyesini Hesaplamak İçin Program	48
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM	49
4. SAHA ÇALIŞMALARI.....	49
4.1. DENEY PROTOKOLÜ VE İLK TESTLER	49
4.1.1. Deneysel Protokolü.....	49
4.1.2. Taze Kan ve Bekletilmiş Kan Örneklerinde Ölçmeler.....	49
4.2. AYNI KAN ÖRNEKLERİNDEKİ EMPEDANS DEĞİŞİMLERİNİN İZLENMESİ.....	51
4.2.1. Deneylere Hazırlık	51
4.2.2. Kan Alımı İşlemleri	51
4.2.3. Hastalardan Alınan Kanların İzlenmesi.....	52
4.3. KONTROLLÜ ORTAMDA İKİ HAFTALIK DEĞİŞİM	54
SONUÇ.....	57
Sistem İyileştirme.....	57
Elektrotlar ve Onların Yerleştirilmesi	58
Empedans Ölçümü	59
Ölçmenin Şekillendirilmesi	60
Risklerin analizi.....	61
Tartışma.....	62
KAYNAKÇA	65

SEMBOLLER

C	: Dokunun kapasitansı
H	: Isı miktarı
M_x, M_y, M_{xy}	: Moment Bileşenleri
N_x, N_y, N_{xy}	: Normal Kuvvet Bileşenleri
q	: Faz yükü
t	: Zaman
u,v	: Yer değiştirme vektörü bileşenleri
w	: Açısal hız
XC	: Kapasitif reaktans
XL	: Endüktif reaktans
α	: Asal gerilme doğrultusundan sapma açısı
ρ	: Yoğunluk
σ_x, σ_y, σ_{xy}	: Kabuk iç gerilmeleri
R	: Real
I	: İmaginary
Rcal, Z(jω)	: Kalibrasyon Direnci
Z(ζ)	: Zeta Potansiyeli
μ	: İyonik güç
D	: Dielektrik sabiti
σ	: Elektronegatiflik (Yük)
Hct	: Hemotokrit
T	: Isı
mPa.s	: MiliPaskal saniye
RC	: Direnç-Kapasitör
GUI	: Grafikselleştirilmiş Kullanıcı Arayüzü
ppm/o	: Tipik hata değişimi
θ	: Faz
Z	: Empedans
Hz	: Frekans birimi
G	: (Gauge) çap
Mag	: Gerçek ve sanal değerlerden hesaplanan büyüklük

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1: Kanın yapısı	2
Şekil 2: Hemaglutinasyon reaksiyonunun temsili. Kan grubu antijenleri ve antikoları, eritrosit kümeleri oluşturur (Parslow ve diğerleri, 2004'ten modifiye edilmiştir)	9
Şekil 3: Zeta potansiyelinin şematik gösterimi. Süspansiyondaki eritrositler (negatif yükler), aralarında bir elektrik potansiyeli farkı oluşturan iki iyonik katmanın oluşumu yoluyla yüklerin yeniden düzenlenmesine neden olur, buna Zeta potansiyeli denir (Pollack & Reckel, 1977 ve Rouger & Salmon, 1981 den uyarlanmıştır)	10
Şekil 4: Pıhtılaşma ve kesme hızında kan iletkenliği ve viskozite değişiklikleri 0.0596 s^{-1} Hct=43%, T=25°C	12
Şekil 5: Pıhtılaşma sürecinde ve farklı kayma hızlarında hematokritin fonksiyonu olarak kan iletkenliği σ 'nın nispi değişimi: a.) 0.0237 s^{-1} ; b.) 0.0596 s^{-1} ; 25°C ve 37°C sıcaklıklarda.	12
Şekil 6: Pıhtılaşma sürecinde ve farklı kayma hızlarında hematokritin fonksiyonu olarak kan iletkenliği σ 'nın nispi değişimi: a.) 0.0237 s^{-1} ; b.) 0.0596 s^{-1} ; 25°C ve 37°C sıcaklıklarda.	12
Şekil 7: t_d , t_s ve t_i zamanlarının sıcaklık bağımlılıkları: a.) 0.0237 s^{-1} ; b.) 0.0596 s^{-1} ; c.) 0.0596 s^{-1} ; d.) 0.0596 s^{-1}	13
Şekil 8: t_d ve t_i zamanlarını etkileyen faktör olarak elektromanyetik alan: a.) 0.0596 s^{-1} ; b.) 0.0596 s^{-1}	14
Şekil 9: Empedans ölçümünün temel ilkesi	17
Şekil 10: Empedans ölçüm sisteminin fonksiyonel blok şeması	18
Şekil 11: Biyoempedans ölçüm sisteminin ana modülleri	20
Şekil 12: Lehim teli ile yapılmış elektrot	25
Şekil 13: Kalem elektrotu	25
Şekil 14: Kalem elektrotla kanın empedansının ölçülmesi	26
Şekil 15: Üzerine şırınga iğnesi batırılmış tüpler	27

Şekil 16: Şırınga iğneli elektrodlar	28
Şekil 17: AD5933 Empedans ölme sisteminde kalibrasyon için değiştirilen direnç	31
Şekil 18: AD5933 Arduinio ile kalibrasyonu	32
Şekil 19: 1 k Ω luk dirençle edilen kalibrasyon	34
Şekil 20: AD5933 Vin Vout ayaklarına bağlanan 1 K Ω luk dirençle kalibrasyonun gerçekleştirilmesi	34
Şekil 21: AD5933 empedans ölçer sistemi kalibrasyon diyagramı	36
Şekil 22: 300 Ω değerindeki dirençle yapılan kalibrasyon	37
Şekil 23: 510 Ω değerinde dirençle yapılan kalibrasyon	38
Şekil 24: 750 Ω değerinde dirençle yapılan kalibrasyon	38
Şekil 25: 1 k Ω değerinde dirençle yapılan kalibrasyon	39
Şekil 26: Hastadan alınmış gerçek kan örneği	40
Şekil 27: Bir gün önce alınmış kandaki empedans değişimi	41
Şekil 28: İçine elektrotlar daldırılmış kanın empedans ölçümü	41
Şekil 29: Yeni alınmış kandaki empedans değişimi	42
Şekil 30: Test tüpünün lastik başlıklı kapağı	43
Şekil 31: İğne elektroda direnç bağlanarak kalibrasyon yapılması	44
Şekil 32: İğne elektrotların kan alma tüpüne batırılması	45
Şekil 33: Oksijenle temas etmeyen normal kanın empedans değeri	46
Şekil 34: Birkaç gün önceden alınmış kanın empedans değeri	47
Şekil 35: “A” kan örneğinin empedans değeri	50
Şekil 36: 14 hastadan kan örneklerinin empedans değişimleri	53
Şekil 37: Ortalama kan empedansı değerlerinin standart sapması	53
Şekil 38: Elektrotların kan örneğine doğru şekilde batırılması	54
Şekil 39: Laboratuvar buzdolabının ısı göstergesi	54
Şekil 40: Laboratuvar termometresinin göstergesi	54
Şekil 41: 9 hastanın kan örneklerindeki 10 gün boyunca izlenen empedans değişiklikleri	55
Şekil 42: Empedansların ortalama değerleri ve standart sapmalar	56
Şekil 43: Ölçülecek kan örneğini içeren polimer mikro kanallı empedans ölçüm sisteminin şematik gösterimi.....	63

KISALTMALAR

CBC	: Tam kan sayımı
MCHC	: Ortalama korpüsküler hemoglobin konsantrasyonu
PLT	: Trombosit
WBS	: Beyaz kan hücreleri
RBS	: Kırmızı kan hücresi
A/D	: Analog/Dijital
ADC	: Analog-to-digital converter
DSP	: Dijital sinyal işleme
DFT	: Bir dizinin ayrık Fourier dönüşümü
MSPS	: Karışık sinyal işlemcisi
DDS	: Otomasyon panoları
DAC	: Dijital-analog dönüştürücü
PGA	: Pin grid array
V_{in}	: Giriş Voltajı
R_{FB}	: Referans Direnci
V_{DD}	: Drain Drain Voltage
V_{out}	: Çıkış Voltajı
RC	: Direnç-kapasitör
MCLK	: Memory Clock
PGA	: Pin grid array

GİRİŞ

Biyomedikal cihazlar, hastalıkların teşhisinde, fizyolojik süreçlerin analiz edilmesinde ve tıbbi verilerin tüm dünyaya aktarılmasında büyük rol oynamaktadır. Hematolojik analizler için alınan kandaki en önemli sorun kanın analiz öncesinde ve sırasında pıhtılaşması sonucu cihazların geçici olarak devre dışı kalmasına ve kan hücrelerinin sayımında ciddi hatalara neden olmaktadır. Bunun yanında, kandaki pıhtılaşmadaki gecikme ise kanamalı hastalarda tromatik sonuçlanabilir. Biyolojik numunelerin empedansının analizi son on yılda önem kazanmıştır. Şu anda piyasada bulunan tüm biyo-empedans analizörleri ağır ve maliyetlidir. Bu çalışmada, kanın pıhtılaşma durumunu tespit etmek ve pıhtılaşmaya neden olan durumları ve süreci incelemek için taşınabilir, düşük maliyetli bir biyo-empedans analizörü tasarlayıp geliştirmek amaçlanmaktadır.

Kanda pıhtı oluşma sürecinde kan içinden yapılan empedans ölçümlerinde değişiklikler (artmalar) olması öngörülmekte olup bunların izlenmesi kandaki pıhtılaşma süreci ve ona etki eden faktörleri tanımlamada çok önemlidir. Empedans ölçme düzeneği AD5933 Empedans Dönüştürücü Analizörü etrafında tasarlanmıştır. Empedans dönüştürücü ortama metalik şerit ve/veya iğne elektrotlarla yüksek frekanslı elektrik gerilimi uygulayıp ortamdaki geçen akımı ölçerek bir mikroişlemci sistemine uyumlu gerilim üretmektedir. Tasarımda empedans dönüştürücü ile uyumlu ve dizüstü bilgisayara çıktı veren ARM LPC2148 düşük güçlü mikroişlemci (MCU) kullanılmıştır. Empedans ölçüm sonuçları bilgisayar ekranında rakamsal olarak ve zamana göre değişimleri de grafik olarak gösterilmektedir.

Geliştirilen sistem ile kan örneklerinin saklanma, taşınma, ortam sıcaklığı hava ile temas, antikoagülant ilaçların etkisi ve santrifüj uygulamaları gibi pıhtılaşmaya etki eden faktörlerin değerlendirilmesinde kolaylıkla kullanılabilir. Böylece, tasarlanan sistem, kanın alımından cihazlarda sayım yapılana kadar geçen aşamalarda koşulların düzenlenmesinde ve ölçüm cihazlarına konulmadan önce pıhtılaşma düzeyinin belirlenmesinde tamamlayıcı bir görev yapabilir.

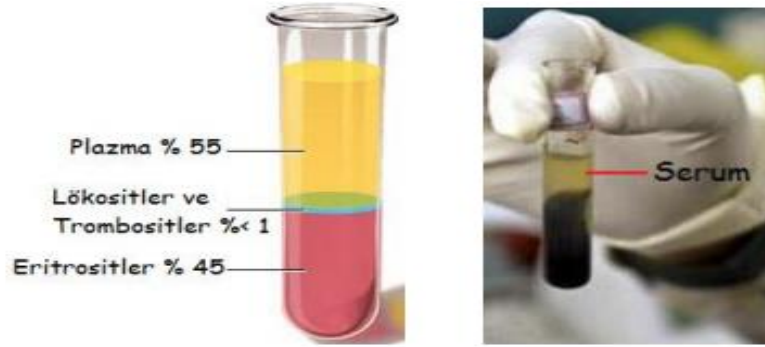
BİRİNCİ BÖLÜM

1. KANIN YAPISI VE ANALİZ YÖNTEMLERİ

Kan vücutta oksijen, besin maddelerini, hormonları, vitaminleri ve antikorları dokulara taşıyan ve oluşan karbondioksit ve atık maddelerini vücuttan uzaklaştıran yaşamsal bir sıvıdır. Kan yaşam için gereklidir. Kan vücudumuzda dolaşır ve oksijen ve besinler gibi temel maddeleri vücudun hücrelerine iletir. Ayrıca metabolik atık ürünleri aynı hücrelerden uzaklaştırır. Kanın yerini hiçbir şey tutamaz. Yapılamaz veya üretilemez. Cömert kan bağışçılığı, kan nakline ihtiyaç duyan hastalar için tek kan kaynağıdır.

1.1. KAN BİLEŞENLERİ

İnsan kanını oluşturan Şekil 1 de gösterildiği gibi dört temel bileşen vardır: plazma, kırmızı kan hücreleri, beyaz kan hücreleri ve trombositler [1].



Şekil 1 Kanın yapısı

Kırmızı kan hücreleri (eritrositler), kan hacminizin %40-45'ini temsil eder. Kemik iliğinizden saatte dört ila beş milyar oranında üretilirler. Vücutta yaklaşık 120 günlük bir yaşam döngüleri vardır.

Trombositler (kan pulcukları - plateletler) kanınızın harika bir parçasıdır. Bunlar, kan hücrelerimizin en küçüğüdür ve aktif olmayan formlarında kelimenin tam anlamıyla küçük plakalar gibi görünürler. Nerede bir yara oluşursa, kan damarı bir sinyal gönderir. Trombositler bu sinyali alır ve bölgeye gider ve "aktif"

oluşumuna dönüşür, damarla temas kurmak için uzun dokunaçlar büyütür ve iyileşene kadar yarayı tıkmak için kümeler oluşturarak kanamayı kontrol ederler.

Beyaz kan hücreleri (lökositler) kanınızın yalnızca yaklaşık %1'ini oluştursa da çok önemlidirler. Beyaz kan hücreleri, sağlık ve hastalık ve hastalıklara karşı korunma için gereklidir. Kırmızı kan hücreleri gibi, sürekli olarak kemik iliğinizden üretilirler. Kan dolaşımından geçerler ve virüsler ve bakteriler gibi yabancı cisimlere saldırırlar. Dövüşü dokuya yaymak için kan dolaşımını bile terk edebilirler.

Plazma, kanınızın sıvı kısmıdır. Plazma sarımsı renktedir ve çoğunlukla sudan oluşur, fakat aynı zamanda proteinler, şekerler, hormonlar ve tuzlar da içerir. Su ve besin maddelerini vücudunuzun dokularına taşır.

1.2. KAN SAYIM CİHAZLARI

Kan sayım cihazları kan içinde bulunan çeşitli hücrelerin miktarlarını ölçen laboratuvar cihazlarıdır. Kan sayım cihazının temel kullanım amacı, kanda bulunan çeşitli hücrelerin sayılarının tespit edilmesidir. Sayım sonucu elde edilen veriler pek çok hastalığın teşhis edilmesinde kullanılır. Kan hücrelerinin nitelik ve nicelik açısından incelenmesine hemogram denir. Analiz için alınan kanda oluşan pıhtı hemogram bilgileri için kullanılan kan sayım cihazlarında arızalara ve hatalı sonuçlara neden olmaktadır [2, 3].

1.2.1. Hemogram (Tam Kan Sayımı)

Hemogram kan içeriğinde bulunan hücreler ve bu hücrelerin büyüklük, renk, dağılım gibi özellikleri inceleyen bir yöntemidir. Hemogram testleri enfeksiyon, lösemi (kan kanseri) ve kansızlık gibi birçok hastalığın tanısını koyabilmek için yapılan kolay, pratik ve güvenilir uygulamalardır. Bunlar tanı için kullanıldığı birçok hastalığın ayırıcı tanısında da yararlı olmaktadır. Toplardamarlar yüzeysel olduğu için genellikle bu damarlardan bir miktar kan alınarak özel cihazlarla otomatik sayım yoluyla incelenerek test yapılır. Alyuvar (kırmızı kan hücreleri), akyuvar (beyaz kan hücreleri), trombosit gibi birçok parametreyi içeren hemogram testi günümüz tıbbında vazgeçilmez ve hemen her zaman başvurulmuş çok önemli bir testtir [2].

1.2.2. Hemogram Testi Referans Aralığı

Her hemogram testinde normal değerler ve referans aralıkları belirtilir. Ölçüm sonucunun yüksek veya düşük olması testin yapıldığı laboratuvarın referans değerlerine göre değerlendirilir. Aynı zamanda yaşı ve cinsiyet de referans aralıklar değerlendirilirken göz önünde tutulur.

- Hgb: 11.5-18 g/dl
- Plt:150.000-400.000
- Wbc: 4.000- 10.000
- Nötrofil sayısı: 1.800-7.700
- Lenfosit sayısı: 1.000-4.800
- Eozinofil sayısı: 0-400

1.3. PIHTILAŞMANIN KILCAL KAN ÖRNEĞİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

1.3.1. Kan Sayımını Etkileyen Analiz Öncesi Etkiler

1.3.1.1. Hastadan Kan Alımı

Test için en iyi kılcal numuneyi elde etmek için pıhtılaşmayı önlemek için özen gösterilmelidir. Pıhtılaşma, deri delindikten hemen sonra başladığı için, iyi bir kılcal damar numunesi toplamanın en büyük zorluğu pıhtılaşmadır. İlk kan damlası doku tromboplastini içeren interstisyel sıvı içerir. Pıhtılaşma aşamasında ilk adım olarak, deri kırılır ve doku penetre olur olmaz doku tromboplastini salınır. Bu nedenle ilk damla kan steril gazlı bezle silinmelidir.

Toplama sırasında trombosit kümeleri oluşursa, test sonuçları hatalı olacaktır. Tam kan sayımı (CBC) gibi testler etkilenecektir. Ayrıca, küçük pıhtılar cihazın aspirasyon problemlerini veya hortumunu tıkayabilir ve bu da testte gecikmeye ve planlanmamış bakıma neden olabilir. Kapiller ponksiyonu yapan sağlık hizmeti sağlayıcısı, mikro pıhtı oluşumunu önlemek için hızlı çalışmalıdır. Kılcal kan alma işleminin tamamlanması iki dakikanın altında olmalıdır.

1.3.1.2. Analiz Öncesi Etkiler

Tam kan sayımına etki eden analiz öncesi (preanalitik) birçok değişken vardır ve bunların çoğu denetlenebilir özelliktedir. Hematolojik analizlerin başarısı kan alma kurallarına uyulmasına bağlıdır. Ancak istenilen nitelikte iyi bir örneğin elde

edilmesi her zaman mümkün olmayabilir ve bu durum bilindiğinde o örneklerle ilgili testlerin reddedilmesi gerekir. Aksi halde yanlış sonuçlara ve tanılara neden olur. Bu konuda yapılan araştırmalar tam kan sayımı testinde en çok gözlenen preanalitik hataları hata sıklığına göre sıralanmıştır [3].

- Pıhtılı örnek %57
- Yetersiz örnek % 14
- Yanlış tüp %7
- Hemoliz %2,7
- Lipemi % 2,3 34 7.1.

1.3.1.3. Pıhtılaşmaya Nedenleri

Yukarıda tam kan sayımı testinde en sık görülen preanalitik hatanın pıhtılı örnek olduğu bildirilmiştir. Pıhtılı örneğin olası nedenleri:

- Kanın, örnek alınır alınmaz pıhtı önleyici katkı maddesi ile iyice karıştırılmaması,
- Zorlu kan alımı, örneğin buzdolabında bekletilmesi,
- Alınması gerekenden daha çok veya az hacimde kan alınması,
- Enjektörle kan alınması,
- Tüpten tüpe kan aktarılması (özellikle pıhtılaştırıcı içeren tüplerden EDTA'lı tüplere)

olarak özetlenebilir.

Pıhtı gözlendiğinde pıhtının tahta çubuk ve benzeri bir şeyle tüpten alınması laboratuvarlarda en çok yapılan ve kesinlikle yapılmaması gereken yanlış bir uygulamadır. Kan hücrelerinin bir kısmı uzaklaştırıldığı, işlem örneğin hemolizine ve tüm parametrelerin düşük değerler göstermesine yol açabilir. Örnek içindeki pıhtı kalıntıları analizörlerin problemlerinde, kanallarında tıkanmaya ve kazara gözden kaçarsa ölçüm sırasında yanlışlıklara neden olabilir. Kan örneğinde pıhtı gözlenirse örnek kesinlikle reddedilmelidir.

Büyük pıhtıların gözle saptanması kolay olabilir ama ölçümlere etkileyecek küçük pıhtılar gözden kaçabilir. Bu durumu önlemek için laboratuvarlarda bulunan kan sayım analizörlerinde pıhtı dedektörleri bulunmaktadır ve pıhtılı örnek

yanlışlıkla cihaza verilse cihaz çalışmaz. Ancak mikro pıhtılar dedektörle saptanamayabilir. Örnek içinde pıhtı varlığında kan hücreleri pıhtıyla sarılıp tutulacağından tüm ölçüm sonuçlarında yanlış düşük değerler gözlenebilir. MCHC değerlerindeki düşüklük böyle bir durumun belirtisi olabilir.

1.3.2. Kan Örnekleme

1.3.2.1. Antikoagülanlar

Test edilen ve önerilen antikoagülan K3 EDTA'dır. Diğer antikoagülanlar yanlış sonuçlar verebilir. Tüpün doğru kan miktarı ile doldurulması gereklidir. Tüpteki kan miktarı gerekli miktara ulaşmazsa 3 parçalı ve 5 parçalı diferansiyel analiz stabil olmayacak ve trombosit sayısı bozulacaktır. Kan ve antikoagülan arasında doğru orantı olması için tüpü belirtilen çizgiye kadar doldurulur. WBC 3 Kısım Diferansiyelini kalibre etmek için, sadece "Mono" (monositler) işaretçilerini lenfositler ve granülosit tepe noktaları arasındaki vadiye yerleştirmek gereklidir. Cihaz 3 kısmi fark kalibrasyonu için aşağıdaki noktalara uyulması çok önemlidir:

- EDTA K3 pıhtılaşma önleyici,
- Tam kan tüpünü tanımlanmış kan miktarı ile doldurma,
- WBC stabilizasyonu ve homojenizasyonu için tam kanı mükemmel şekilde karıştırma,
- Hasta örneğini takip eden 4 saat içinde kanı analiz etme.

Test edilen ve önerilen antikoagülan, K3 EDTA plastik veya cam tüplerdir. Kan, oda sıcaklığında (20°C - 25°C) saklandığında 4 saat, 2°C - 6°C arasında saklandığında 24 saat içinde test edilmelidir.

Oral antikoagülan (K antivitamin), III ve IV Antitrombin gibi ilaçlar da antikoagülan etkileri gösterirler. Antikoagülan K3 EDTA ile plastik veya cam tüpte toplanan tam kan için hızlı bir toplama sağlamak bağlamında bir radyal damar, bir şah damarı veya yeterli çapta başka herhangi bir damardan kan almak gerekir. Hemoliz fenomeni nedeniyle kaba kan aspirasyonundan kaçınılmalıdır. Mikro pıhtılaşma problemlerinden kaçınmak için toplama süresi de sınırlandırılmalıdır. Her analizden önce kan ve antikoagülan karışımının uzun ve pürüzsüz bir homojenizasyonu şarttır.

1.3.2.2. Sayım Hatalarının Düzeltilmesi

Kan sayım cihazları pıhtıdan dolayı tıkanma hatalarının düzeltilmesi için elde edilen sayım sonuçlarını belirli bir düzeltme faktörü ile çarparak verirler. Hücrelerin algılama aralığından geçişi sırasında üretilen sinyal tepeliklerinin genliği hücrenin boyutuna bağlıdır. Kanda bulunan her hücrenin öngörülebilir bir boyutu vardır. Kan hücreleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Hücrelerin boyutları femtolitre (10^{-15} litre) seviyesinde olup üç tip kan hücrelerinin büyüklükleri sıra ile kan pulcukları, alyuvarlar ve akyuvarlardır. Büyük parçacıklar daha yüksek sinyal tepelikleri üretir. Bu sayede bir tip hücreyi diğerlerinden ayırt edilebilir.

Birbirine yakın boyuttaki farklı hücreler aynıymış gibi algılanabilir veya tetikleme seviyesinin altında kalan hücreler sayıma dâhil edilmeyebilir. Boyut olarak küçük olan ve bu nedenle tetikleme seviyesinin altında kalan hücreler bir hücre parçası veya yabancı madde gibi ele alınarak sayıma dahil edilemeyebilir. Bu hatayı önlemek için sinyalden hücreyi tanımadaki eşik seviyesinin düzgün bir şekilde ayarlanması gerekir. İnsan kanında bulunan çeşitli proteinler ve diğer bazı maddeler sayım esnasında geçiş kanalında (aparçurda) birikebilir ve sayım hatalarına neden olabilir.

Kan sayım cihazları tıkanıklıkları görüntüleme ve uyarı verme özelliklerine sahiptir ve tıkanma durumunda cihaz uyarı mesajı verir. Sayım kanalındaki birikmeyi yok etmek için her sayım ve temizleme prosedürü sonrasında aparçura yüksek gerilim uygulanarak tıkanıklıklar giderilir. Kan hücrelerinin aparçurdan geçişi sırasında oluşan gerilim bir darbe kuvvetlendirici ile yükseltildikten sonra analogdan dijitale çeviriciye (A/D Converter) uygulanarak sayısal veriye dönüştürülür. A/D çeviricilerin sinyal girişinin dinamik alanı genellikle 0-5 volt arasındadır.

1.3.2.3. Kan Pıhtılaşma Sürecinin Önemi

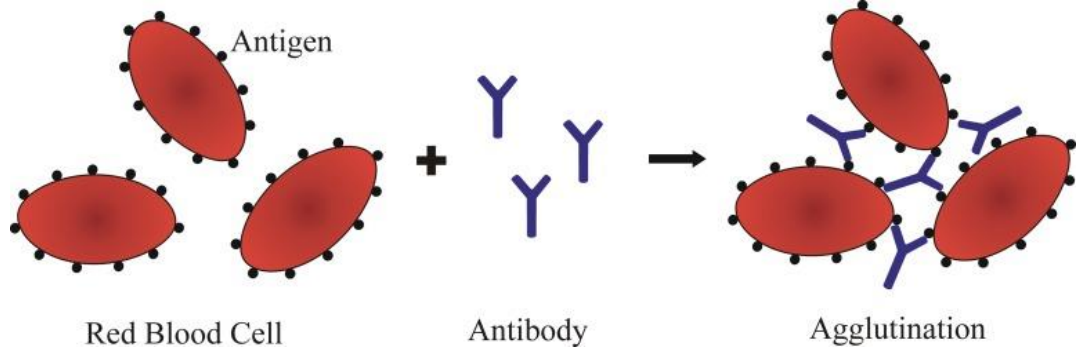
Kan pıhtılaşma süresinin belirlenmesi, terapötik antikoagülanların izlenmesinin önemli bir parçasıdır. Kanın pıhtılaşma süresinin ölçülmesine yönelik standart metodolojiler, özel personel gerektirir ve kan numunesi alma prosedürlerini içerir. Kan pıhtılaşmasının izlenmesi için manyetoelastik sensörlere dayalı yeni bir yöntem kullanılmıştır. Şerit benzeri manyetoelastik sensör, uygulanan kütle yüklerine veya değişen elastikiyetin sabit bir kütle yüküne yanıt olarak doğrusal olarak değişen temel bir frekansta salınır. Manyetoelastik sensörler, uzaktan yerleştirilmiş bir alıcı bobin tarafından algılanabilen manyetik akı yayar, böylece doğrudan fiziksel bağlantı gerekmez.

Kan pıhtılaşması sırasında, yumuşak bir fibrin pıhtısı oluşumu nedeniyle kanın viskozitesi değişir. Sırayla, viskozitedeki bu değişiklik manyetoelastik sensörün karakteristik rezonans frekansını değiştirir ve bu biyolojik olayın gerçek zamanlı sürekli izlenmesini sağlar. Sinyal çıkışı zamanın bir fonksiyonu olarak izlenerek, belirgin bir kan pıhtılaşma profili görülebilir. Manyetoelastik şeritlerin nispeten düşük maliyeti, tek kullanımlık sensörler olarak kullanılmasını sağlar. Bu, gereken kan hacminin azalmasıyla birlikte manyetoelastik sensörleri evde ve bakım noktası test cihazları için çok uygun hale getirir.

1.4. KIRMIZI KAN HÜCRELERİNİN ELEKTRİKSEL ÖZELLİKLERİ

1.4.1. Hücre Zarının Özellikleri

Kırmızı kan hücresi (RBC) zarı, viskoelastik davranış sağlayan bir sıvı lipid çift tabakasına gömülü proteinler ve glikoproteinler içerir. RBC zarının sialile



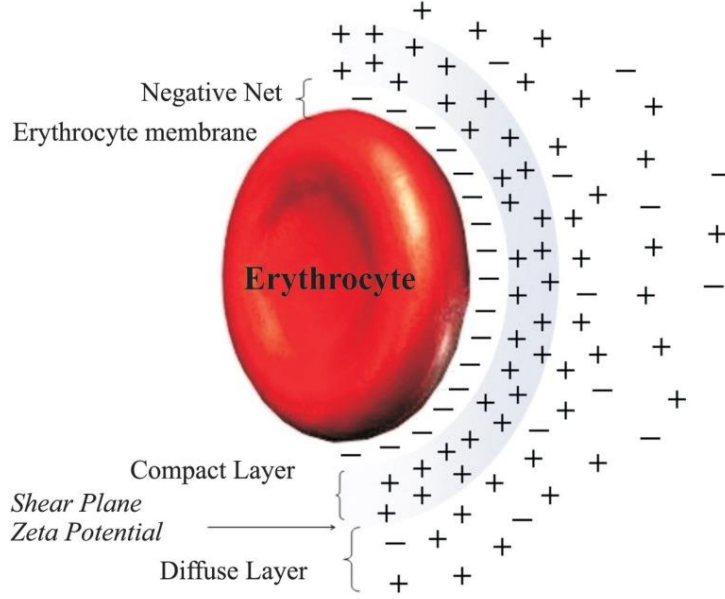
Şekil 2 Hemagglütinasyon reaksiyonunun temsili. Kan grubu antijenleri ve antikorları, eritrosit kümeleri oluşturur (Parslow ve diğerleri, 2004'ten modifiye edilmiştir)

glikoproteinleri, hücreler arasında itici bir elektrik zeta potansiyeli (ζ) oluşturan negatif yüklü bir yüzeyden sorumludur [4] [5]. Bu yükler, RBC'ler ile diğer hücreler arasındaki ve özellikle birbirleri arasındaki etkileşimi önlemeye yardımcı olur [6]. Hemagglütinasyon, birkaç karmaşık faktörü içeren fizikokimyasal bir fenomendir. İmmün aracılı RBC aglütinasyonunun iki temel aşaması vardır; antikorların RBC membranındaki antijen belirleyicilere bağlanmasından oluşan görünmez duyarlılaşma aşaması ve antikor kaplı ve duyarlılaştırılmış hücreler arasındaki rastgele çarpışmalardan kaynaklanan görünür aglütinasyon aşaması. Şekil 2 de hemagglütinasyon reaksiyonunun temsili gösterilmektedir [7].

Bu iki aşama, zeta potansiyeli gibi itici kuvvetlere ek olarak hidrofobik bağlar, Van der Waals kuvvetleri, elektrostatik kuvvetler ve hidrojen bağları gibi moleküller arası kuvvetlerin çökmesine bağlıdır. Eritrosit membranında sialik asitlerdeki karboksil grubunun varlığı nedeniyle hücre yüzeylerinde oluşan negatif yüklerle itme kuvveti oluşur. Topaklanma kuvveti, itme kuvvetinden büyük olduğunda kümelenme meydana gelir.

Zeta potansiyeli, süspansiyondaki tüm partiküller tarafından sergilenen fiziksel bir özelliktir. Herhangi bir partikül üzerinde net bir yükün gelişimi, çevreleyen arayüzey bölgesindeki iyonların dağılımını etkiler ve yüzeye yakın, partikülünkine zıt yüklü iyonlar olan karşı iyonların konsantrasyonunun artmasıyla sonuçlanır. Böylece her parçacığın etrafında bir çift elektrik katmanı bulunur. Yüklü parçacığı nötralize etmek için çift tabaka oluşturulur. Yüklü parçacığa güçlü bir

şekilde çekilen, kompakt tabaka adı verilen ince bir karşı iyon tabakası vardır. Kompakt tabakadaki karşı iyonlar, bu güçlü elektrostatik kuvvet nedeniyle hareketsizdir. Kompakt katmanın dışındaki karşı iyonlar hareketlidir ve dağınık katman olarak adlandırılır (Şekil 3) [8].



Şekil 3 Zeta potansiyelinin şematik gösterimi. Süspansiyondaki eritrositler (negatif yükler), aralarında bir elektrik potansiyeli farkı oluşturan iki iyonik katmanın oluşumu yoluyla yüklerin yeniden düzenlenmesine neden olur, buna Zeta potansiyeli denir (Pollack & Reckel, 1977 ve Rouger & Salmon, 1981 den uyarlanmıştır)

Zeta (ζ) potansiyeli, kompakt tabaka ile dağınık tabakayı ayıran sınırdaki elektrostatik potansiyeldir. Zeta potansiyeli, dağılmış sistemlerdeki parçacıklar arasındaki elektrostatik etkileşimi ve bu elektriksel fenomenden etkilenen dağılım özelliklerini karakterize etmede önemli bir parametre olarak hizmet eder. Zeta potansiyeli (ζ) bir denklemle gösterilebilir:

$$Z = f \left[\sigma, \frac{1}{D}, 1/\sqrt{D\mu} \right]$$

Burada σ RBC'nin elektronegatifliği (yükü), D ortamın dielektrik sabiti ve μ iyonik güçtür.

1.4.2. Pıhtılaşma Zamanı Kanın Elektriksel İletkenlik Değişiklikleri

Kan pıhtılaşma süreci, bir kan pıhtısı oluşumuyla sonuçlanan plazma bileşenlerinin bir dizi ardışık dönüşümlerinden oluşan bir olgudur. Endotelial ve kan

hücrelerinden ve akış koşullarından etkilenen plazma bileşiklerinin enzimatik zincir reaksiyonlarından oluşan karmaşık bir biyokimyasal süreçtir. Pıhtılaşma sürecinin temel anı, yapısal fibrinde plazma fibrinojen dönüşümüdür. Sonuç, kanda oluşan hücrelerin birleştiği karmaşık ağ oluşumudur. Bütün bu deneysel sistem, paralel kan iletkenliği ve kan reolojik özelliklerini ölçmeye izin verir. 1 ml'lik ölçülen kan numunesi, her iki ölçüm silindiri arasında dairesel bir boşluğa konur. Halka şeklindeki bir çift platin elektrot, reometrenin akış odasının replikası yapılmış reçine duvarına gömülür. Bu iki elektrot, sinyalin PC'de görselleştirildiği kondüktometrik aparat ile bağlanır. Kan viskozitesi ve iletkenlik değişiklikleri, pıhtılaşma sürecinin gelişimi ve kesme altında eş zamanlı olarak ölçülür. Pıhtılaşan numune, 0.0237 s^{-1} iki kesme hızında sabit kesme akışında test edilir [9].

Pıhtılaşma sürecinin bir sonucu olarak kan yapısı değişmiştir ve buradan elektriksel özellikleri de değişmektedir. Kanın, etrafında pozitif iyonlardan oluşan bir iyon bulutu bulunan negatif yüklü eritrositlerden oluştuğu ve böylece kanın toplam yükünün nötr olduğu bilinmektedir. Kan oluşturan hücrelerin içinde hapsediği fibrin ağının oluşması, kandaki yüklü parçacıkların hareket kabiliyetinin azalmasını sağlayacaktır. Pıhtılaşma sürecinin ilerlemesi ile kan iletkenliğinin azalması beklenebilir. Çalışmanın amacı, pıhtılaşma sırasında ve sabit akış altında Couette kan akış geometrisinde kan viskozitesinin ve iletkenliğinin nasıl değiştiğini ve pıhtılaşma sürecinin süresi üzerinde elektrik alan ve sıcaklığın bir etkisi olup olmadığını gözlemlemektir¹. Literatürdeki başka bir veri ile uyumlu olan pıhtılaşma sürecinde elde edilen sonuçlar (şekil 4), kanın iletkenliğinin ilerleme ile azaldığını göstermektedir [10] [11] [12].

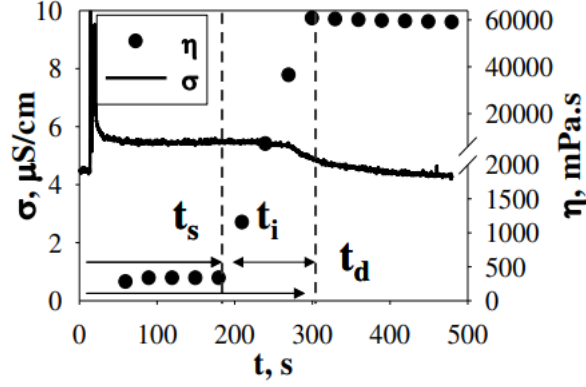
Kan iletkenliğinin mutlak değişimi σ , tam pıhtılaşma σ_c 'deki kan iletkenliği ile pıhtılaşma sürecinin başlangıcındaki kan iletkenliği σ_s arasındaki farka eşittir:

$$\Delta\sigma = |\sigma_c - \sigma_s|$$

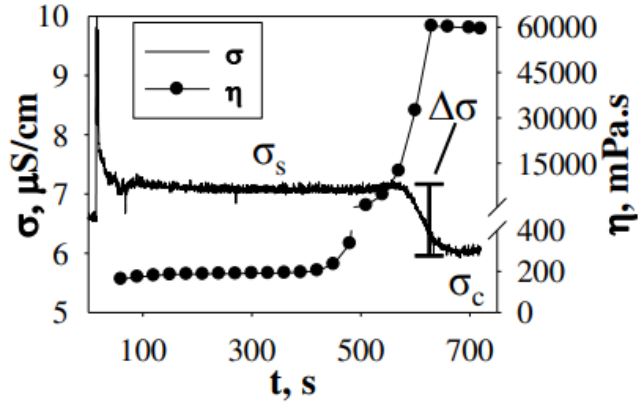
Kan iletkenliğinin (σ) mutlak değişiminin hematokrit, sıcaklık ve kesme hızlarına bağımlılığı, Şekil 5'de σ 'nın 37°C 'de 25°C 'ye göre daha büyük olduğu

¹ Akışkan dinamiğinde, Couette akışı, biri diğerine göre teğetsel olarak hareket eden iki yüzey arasındaki boşlukta viskoz bir akışkanın akışıdır. Yüzeylerin bağlı hareketi, sıvı üzerinde bir kayma gerilimi uygular ve akışı indükler. Terimin tanımına bağlı olarak, akış yönünde uygulanan bir basınç gradyanı da olabilir. (https://en.wikipedia.org/wiki/Couette_flow)

görülmektedir. Şekilde hematokrit artışı ile mutlak iletkenlik azalma eğilimi de görülebilir.

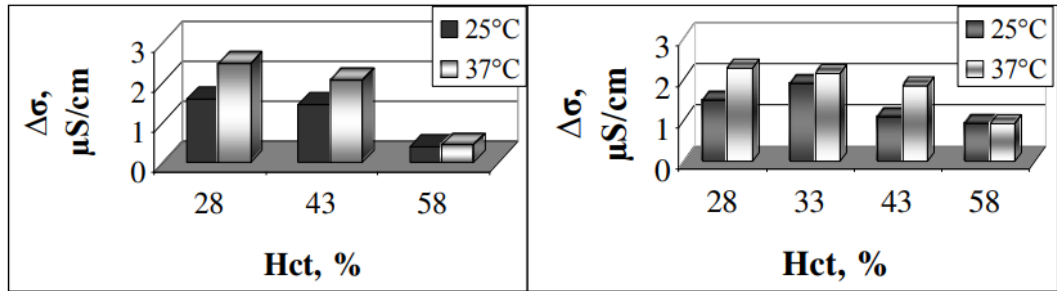


Şekil 4 Pıhtılaşma ve kesme hızında kan iletkenliği ve viskozite değişiklikleri 0.0596 s^{-1} Hct=43%, $T=25^\circ\text{C}$



Şekil 5 Pıhtılaşma sürecinde ve farklı kayma hızlarında hematokritin fonksiyonu olarak kan iletkenliği σ 'nın nispi değişimi: a.) 0.0237 s^{-1} ; b.) 0.0596 s^{-1} ; 25°C ve 37°C sıcaklıklarda.

Pıhtılaşma süreci evrimi Şekil 6'da görüldüğü gibi iki bölüme ayrılabilir. Pıhtılaşmanın başlangıcında, görünen kan viskozitesi küçük değerlerle artar.

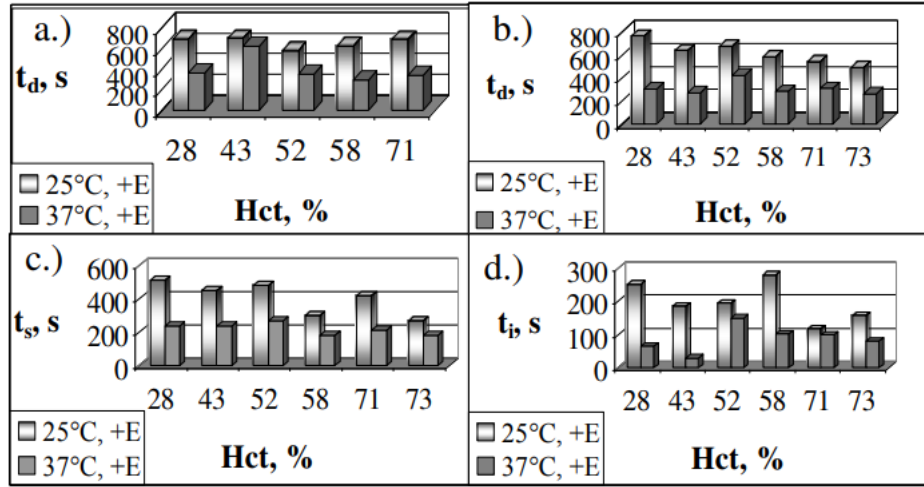


Şekil 6 Pıhtılaşma sürecinde ve farklı kayma hızlarında hematokritin fonksiyonu olarak kan iletkenliği σ 'nın nispi değişimi: a.) 0.0237 s^{-1} ; b.) 0.0596 s^{-1} ; 25°C ve 37°C sıcaklıklarda.

Örneğin, Hct=%43, T=25°C ve kesme hızı 0.0596 s⁻¹ durumunda, kan viskozitesi 60 saniyede 162.06 mPa.s'den 480 saniyede 335.07 mPa.s'ye yükselir. Bir süre sonra kan viskozitesi yoğun bir şekilde artar. Gözlenen pıhtılaşma parametrelerinin açıklaması için ts, ti ve td tanımlandı. ts parametresi, hafif pıhtılaşmanın başlangıç periyodunu tanımlar. Yoğun kan pıhtılaşmasının periyodu, 30 saniye boyunca görünen kan viskozitesindeki artış 1,5 kattan fazla olduğunda buluruz. td ise kan viskozitesinin maksimum değere ulaştığı tam pıhtılaşma dönemidir. Üç zaman miktarı birbiriyle şu şekilde ilişkilidir:

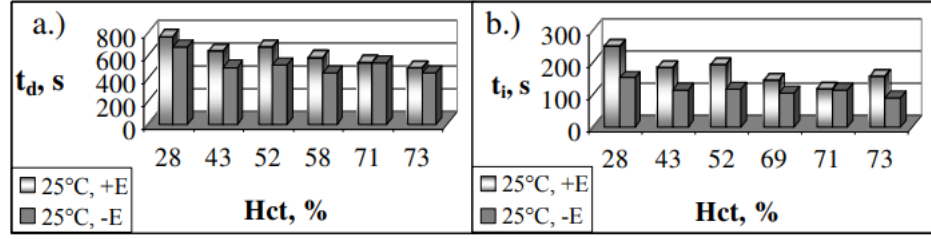
$$t_d = t_s + t_i$$

Şekil 7 pıhtılaşma sürecinin tanımlanan zaman özelliklerinin büyük ölçüde sıcaklığa bağlı olduğunu göstermektedir. 25°C ile 37°C arasındaki karşılaştırmada, düşük sıcaklıkta daha yüksek değerlere sahip oldukları görülmektedir.



Şekil 7 td, ts ve ti zamanlarının sıcaklık bağımlılıkları: a.) 0.0237 s⁻¹; b.) 0.0596 s⁻¹; c.) 0.0596 s⁻¹; d.) 0.0596 s⁻¹

Elektrik alanının tam pıhtılaşma sürecinin süresi ve yoğun kısmı üzerindeki etkisi hakkında bazı ilginç sonuçlar elde edilmiştir. İki deney yapıldı: 2 kHz elektrik alanı varlığında ve elektrik alanı olmadan iki deney yapılmış ve sonuçlar Şekil 8 de gösterilmiştir. Bu iki farklı koşulda gözlemlenen td ve ti parametrelerinin değerlerinin karşılaştırılmasında, elektrik alan varlığında td ve ti parametrelerinin süresinin diğer duruma göre daha uzun olduğudur. Bu, elektrik alanının kan pıhtılaşmasının gelişimini geciktirdiği anlamına gelir.



Şekil 8 td ve ti zamanlarını etkileyen faktör olarak elektromanyetik alan: a.) 0.0596 s^{-1} ; b.) 0.0596 s^{-1}

Elde edilen sonuçlar, pıhtılaşma sürecinin ilerlemesiyle kan iletkenliğinin σ azaldığını göstermektedir. Daha önceki çalışmalar, pıhtılaşmayı takiben kan empedansının arttığını bildirmiştir. Bu artışı pıhtı retraksiyonu ve katılaşması ile ilişkilendirirler [10] [11] [13]. Bunun, kan hücrelerinin fibrin ağına hapsolması ve kandaki yüklü parçacıkların kan pıhtısı oluşumu sonucu hareketliliğinin azalması sonucu olduğunu varsayıyorlar [10] [11]. Bu miktarın güçlü sıcaklık bağımlılığını gösteren hematokrit ve sıcaklık ile mutlak iletkenlik ($\Delta\sigma$) değişimi bulunmuştur. Pıhtılaşma sürecinin süresine sıcaklığın ve elektrik alan varlığının etkisi de gözlenmiştir. 25°C 'de pıhtılaşma süreci parametreleri t_d , t_s ve t_i , 37°C 'den daha yüksek değerlere sahiptir. Bu, daha yüksek sıcaklıklarda kan pıhtılaşmasının daha hızlı ilerlediği anlamına gelir. Sonuçlar, elektrik alanı olmayan duruma kıyasla, elektrik alan varlığında kan pıhtılaşma sürecinin artan süresinin eğilimini göstermektedir. İncelenen süreçlerin ve ilişkilerin karmaşıklığı nedeniyle bu sonuçların açıklanması sorunu açıktır. Bu araştırma, reolojik ve elektriksel kan özellikleri arasındaki ilişkilere ilişkin daha ileri incelemeler için bir temel oluşturmaktadır.

1.4.3. Normal ve Pıhtı Kanda Elektrik Empedans ve Elektrik Yükü Değişimi

Pıhtı problemini ortadan kaldırmak için başka bir yöntem, kandaki elektrik direncini veya elektrik yükünü ölçmekle pıhtı kan ve normal kan arasındaki farkı bulmak ve pıhtı kanı cihaza girmeden atmak yöntemidir. Az miktarda kan veya benzeri malzemenin elektrik direncinin ölçülmesi için güvenilir ve hızlı bir yöntem gerekmektedir. Pıhtılaşma sırasında kanın direncindeki bir değişim paterni tarif edilmektedir. Bu direnç değişiklikleri, hareketin neden olduğu tutarsızlıkların ortadan kaldırılmasıyla pıhtılaşma süresinin belirlenmesini mümkün kılar ve pıhtı

retraksiyonu çalışması için nicel bir araç sunar. Pıhtı retraksiyonunun karşılaştırılabilir nicel bir çalışması için daha önce hiçbir yöntemin mevcut olmadığı gerçeği göz önüne alındığında, elektrik direnci ölçümleri, mevcut bilgimizin ötesinde, hastalıkta bu sürecin önemli varyasyonlarını saptamaya hizmet edebilir. Kan direncinin plazma direncine oranı vasıtasıyla, bir kan örneğinin hücre hacim fraksiyonu hesaplanabilir.

100 kC'de insan kanının dielektrik özelliklerinin ölçümü için bir kapasitans-direnç köprüsü açıklanmaktadır. Köprüde endüktif olarak birleştirilmiş oran kollarının kullanılması, kaçak empedansların toprağa olan etkisini büyük ölçüde azaltır. Bu, cam ölçüm hücresinin metalik koruyucu olmadan şeffaf plastik termostat kutusuna monte edilmesini sağlar. Böylece pıhtılaşma süresi boyunca kanın fiziksel durumu gözlemlenebilir. Pıhtılaşma sırasında kan örneğinin kapasitansında ve direncinde gözlemlenen değişiklikler, özellikle anormal kan durumları olduğu bilinen donörlerden kan örnekleri alındığında gözlemlenen etkiler kısaca özetlenmiştir. Vücuttaki kan pıhtılaşması, bir dizi hücrel ve diğer aktif bileşenler tarafından modüle edilir. Pıhtılaşma aşaması, kanın bileşenlerini ve bunların pıhtı oluşumu sürecine nasıl dahil olduklarını açıklar. Bu aşama aktif hale geldikçe, kan pıhtılaşmama durumundan pıhtılaşma durumuna ilerleyerek hem moleküler yük durumlarında hem de etkin yük hareketliliğinde değişikliklere neden olur. Pıhtılaşan bir kan örneğinin global empedansı izlenerek, pıhtı oluşumuyla ilişkili iletkenlik değişiklikleri ölçülür.

İKİNCİ BÖLÜM

2. KAN EMPEDANSI ÖLÇÜM SİSTEMLERİ

Kan analizi, empedans ölçümü ve akış sitometrisini içeren teknolojiler kullanılarak çeşitli şekillerde gerçekleştirilebilir. Her tasarım türünün kendine özgü gereksinimleri ve zorlukları olmasına rağmen, her ikisi de doğru, güvenilir, tekrarlanabilir veri toplama ve analizine bağlıdır. Ayrıca, yüksek hız ve geniş bant genişliği kritik öneme sahiptir. Hem akış sitometrisi hem de empedans ölçüm sistemi tasarımları tipik olarak bir uyarıcı oluşturucu, bir veri toplama sistemi, bir uygulama işlemcisi ve bu öğelerin her birinin ihtiyaçlarını karşılayan geniş bir ürün yelpazesinden oluşur.

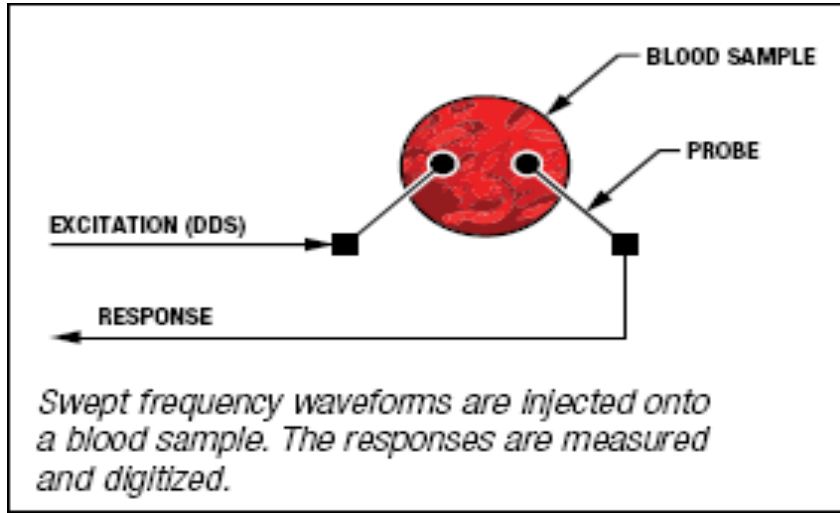
2.1. EMPEDANS ÖLÇÜM KAN ANALİZ SİSTEMLERİ VE KAN PIHTILAŞMASININ ELEKTRİKSEL ÖLÇÜMÜ

Vücuttaki kan pıhtılaşması, bir dizi hücrel ve diğer aktif bileşenler tarafından modüle edilir. Pıhtılaşma aşaması, kanın bileşenlerini ve bunların pıhtı oluşumu sürecine nasıl dahil olduklarını açıklar. Bu aşama aktif hale geldikçe, kan pıhtılaşmama durumundan pıhtılaşma durumuna ilerleyerek hem moleküler yük durumlarında hem de etkin yük hareketliliğinde değişikliklere neden olur. Aşamamın son adımları iki bileşen içerir, trombin ve fibrinojen. Trombin, fibrinojeni keserek etki eder ve kendiliğinden kümelenen fibrin filamentleri oluşturur. Pıhtılaşma süresinin bitiş noktası, bir fibrin pıhtısının oluştuğu zaman olarak tanımlanmıştır.[14][15].

Pıhtılaşan bir kan örneğinin global empedansı izlenerek, pıhtı oluşumuyla ilişkili iletkenlikteki değişiklikler ölçülür. Alet performansını değerlendirmek için, verilerden belirlenen pıhtılaşma süresi, pıhtılaşma süresinin "altın standart" klinik ölçümüyle ilişkilendirilir.

2.1.1. Empedans Ölçüm Sistemleri

Bir empedans ölçüm sistemi, sıvıları ve numuneleri oluşturan bileşenlerin doğru ve hızlı analizini sağlar. Şekil 9 da gösterildiği gibi, numune boyunca kullanıcı tarafından seçilebilen bir frekans uyaran sinyali uygulanır ve numunede indüklenen değişikliklere bağlı olarak empedans değişir. Ortaya çıkan empedans imzasının incelenmesi, neyin analiz edildiğinin göstergesidir. Örneğin, bir kan örneğine bilinen bir virüs suşu eklendiğinde, kanın empedansını değiştirebilen kimyasal bir reaksiyon üreten bir antijen tepkisi meydana gelir. Bu etkiyi farklı frekanslarda karakterize ederek, belirli bir virüs türünü tespit etmek mümkündür.



Şekil 9 Empedans ölçümünün temel ilkesi

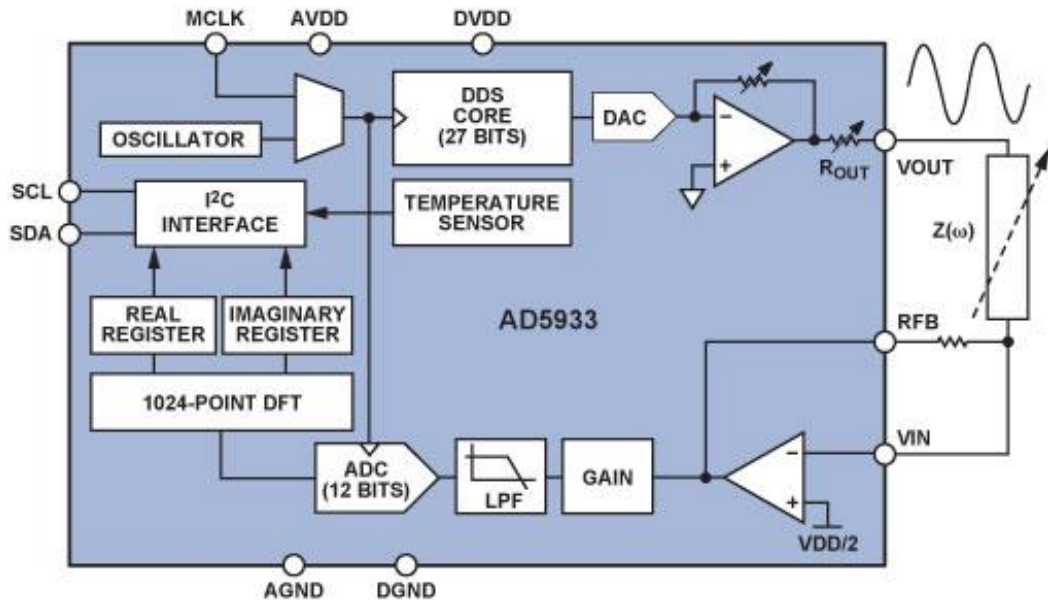
Kan pıhtılaşması ile empedans değişiklikleri arasındaki ilişki literatürde uzun zamandır bilinmektedir [12] [16]. Bununla birlikte, entegre devre kompleks empedans ölçüm cihazlarının yakın zamanda mevcudiyeti, kan pıhtılaşma süresi ölçüm cihazının minyatürleştirilebileceği anlamına gelmektedir. Bu, kritik bakım ortamında önemli bir husus olan güç tasarrufu, taşınabilirlik ve nihai cihaz ayak izi açısından önemli avantajlar sunar.

2.1.2. AD5933 Kullanarak Empedans Ölçümü

AD5933, farklı uyarma frekansları üretebilen ve ortaya çıkan empedans spektrumunu inceleyebilen tek çipli, değişik uygulamalara uyarlanabilen esnek bir empedans dönüştürücüdür. 100 Ω ila 10 M Ω empedans ölçüm aralığı, 1 kHz çözünürlük ile 100 kHz'e kadar programlanabilir uyarım ve her frekans noktasında

empedans fazı ve büyüklüğünün hesaplanmasına izin veren gerçek ve sanal veri çıkışına sahiptir [17].

Fonksiyonel blok şeması Şekil 10'da gösterilen AD5933 çipli empedans analizörü yerleşik bir frekans üreticini 12 bit, 1 MSPS, analogdan dijitale dönüştürücü (ADC) ile birleştiren yüksek hassasiyetli bir empedans dönüştürücü sistemidir. Frekans üretici, bilinen bir frekansta harici bir karmaşık empedansa bir uyarma voltajı sağlar. Yanıt sinyali (akım), yerleşik ADC tarafından örneklenir ve bir yerleşik DSP motoru tarafından ayrı bir Fourier dönüşümü (DFT) ile işlenir. DFT algoritması, her çıkış frekansında gerçek (R) ve sanal (I) veri sözcükleri üretir. Bu bileşenleri kullanarak, tarama boyunca her bir frekans noktasında empedansın büyüklüğü ve bağlı fazı kolayca hesaplanabilir. Yerel dijital işleme, test edilen devrenin karmaşık empedansının hesaplanmasını sağlar. Sistem ilk kalibrasyon gerektirir: ölçülecek empedans yerine hassas bir direnç kullanılır ve sonraki ölçümler için bir ölçeklendirme faktörü hesaplanır. AD5933, 100 Ω ile 10 M Ω arasındaki empedans değerlerini, 1 kHz ile 100 kHz arasındaki uyarma frekansları için %0,5' lik bir sistem doğruluğuna kadar ölçebilir.



Şekil 10 Empedans ölçüm sisteminin fonksiyonel blok şeması [17]

Bu çalışmada AD5933 tümleşik devresini temel alan bir prototip biyoempedans ölçüm sistemi geliştirilmiştir. Prototip 5 - 100 kHz arasında çalışır ve altı alt kademede 0.1k - 10 M empedans aralığını kapsar. Sistem PC'den

çalıştırılmakta olup, işletim ve kontrol için yazılımlar gereklidir. R/C modülleri üzerindeki doğrulama testleri, kalibrasyon sürecinin ve sinyal seviyesinin operasyonel performans açısından kritik konular olduğunu göstermiştir. Dikkatli kalibrasyon ile sistem iyi çalışır ve kan üzerinde ölçümleri tatmin edici ve tekrarlanabilir sonuçlarla yapılmıştır. Sonuçların hem Standart Sapma yaklaşımı hem de Temel Bileşenler Analizi kullanılarak istatistiksel olarak işlenmesi, kan empedans değerlerinin bölgelerini ve ayrıca aykırı değerler için göstergeleri tanımlayan sonuçlar verdi. Böyle bir ölçüm ilkesi çok umut vericidir ve IC'nin vaat edilen bir güncellemesiyle uygulanabilirlik artacaktır.

Biyoempedans ölçümleri, biyoempedansın kullanılabilceği daha fazla uygulama olduğundan, tıbbi durumlarda giderek daha fazla kullanılmaktadır. AD5933 empedans ölçümleri için oldukça yeni bir entegre olup bununla ekonomik ve taşınabilir küçük aletler yapmak mümkündür. AD5933'ün kendisi yalnızca yaklaşık 180 ABD doları veya daha düşük maliyetlidir ve yalnızca yüze monte bir pakette mevcuttur. Entegre devrenin kendisi küçük olduğundan ve birkaç harici parça gerektirdiğinden, sistem aynı zamanda çok kompakt hale getirilebilir.

2.2. PROTOTİP GELİŞTİRME

Bu çalışmanın amacı, AD5933 entegre devresini kullanarak bir biyoempedans ölçüm sistemi geliştirmek ve sistemin kan ölçümleri ve olası bir yöntem için uygunluğunu test etmek için direnç-kapasitör (RC) ağları ve kan üzerinde doğrulama testleri gerçekleştirmektir. Bu bağlamda yapılan çalışmalar:

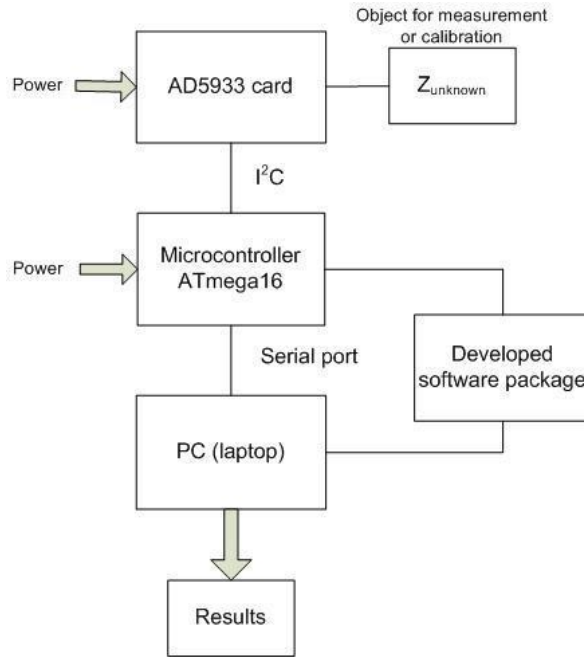
- AD5933 ile kontrol ve veri toplama için kullanılan PC arasında arayüz olarak bir mikrodenetleyici kullanarak AD5933'e dayalı bir prototip sistem tasarlandı ve uygulandı.
- PC ve mikrodenetleyici için yazılım geliştirildi.
- Sistemle ölçüm yapmak için operasyonel prosedürler oluşturuldu.
- RC ağlarında sistemin doğrulama testini gerçekleştirildi.
- Sonuçların analizi yapıldı.

2.2.1. Sistemin Tanımı ve Ana Modülleri

Kurulacak sistem, ölçümden nihai sonuçların sunumuna kadar eksiksiz bir sistem olmalıdır. AD5933 kartı, AD5933 ile iletişim için bir mikrodenetleyici ve mikrodenetleyici ile iletişim kuran ve sonuçları sunan bir dizüstü bilgisayardan (PC) oluşan biyoempedans ölçüm sisteminin ana modülleri için bir blok diyagramı göstermektedir. Çalışma sırasında geliştirilen yazılım paketi mikrodenetleyici için bir parça ve PC için bir parçadan oluşmaktadır. Kalibrasyon veya ölçüm altındaki cihazların dış bağlantıları şekilde gösterilmiştir (Şekil 11).

2.2.2. AD5933 Tümlleşik Devresi ve İşlevselliği

AD5933, test edilen empedansın uyarılması için kullanılan sinyalin sağlanması için dahili bir dönüştürücü sistemi ve dahili bir DDS (Doğrudan Dijital Sentez) frekans üreticisine sahip yüksek hassasiyetli bir empedans dönüştürücü sistemidir. Sistemin ana modülleri Şekil 11’ de gösterilmektedir.



Şekil 11 Biyoempedans ölçüm sisteminin ana modülleri

Empedanstan gelen yanıt sinyali yükseltilir ve ardından 12 bit, 1 MSPS ADC (Analogdan Dijitale Dönüştürücü) ile örneklenir. Devrede bulunan 1024 noktalı DFT işlemci kullanılarak ayrı bir Fourier dönüşümü (DFT) gerçekleştirilir. Bu DFT, her

frekans için gerçek ve sanal bir sayı sağlar. Sistem, 0,1k ila 10M arasında empedans ölçümleri yapmak için kullanılabilir. Bununla birlikte, kalibrasyon ve uyarma voltajıyla ilgili operasyonel gereklilikler nedeniyle bu ölçüm alanı, her biri 1 – 10 aralığında (dekat) olmak üzere 6 aralığa bölünmüştür. Çalışma frekansları 3 kHz ila 100 kHz arasındadır, burada düşük frekans referans osilatörün frekansına ve kararlılığına bağlıdır. Ölçülen empedans

$$Z(j\omega) = R + jX(j\omega)$$

formülünde gösterilen gerçek ve sanal bileşenlerden oluşmaktadır. Test edilen cihaz ve seçilen bir ölçüm aralığı için referans direnci olan R_{FB} direnci ve R_{FB} ile aynı değere sahip bir R_{cal} ile değiştirilen $Z(j\omega)$ ile kalibrasyon için kullanılır. R_{FB} daha sonra kalibrasyon için kullanıldığı aralıktaki tüm ölçümler için tutulur.

Sistemde harici bir osilatör (MCLK) veya dahili bir referans osilatörü kullanan bir DDS kullanan sinyali üreten verici kısmı, dijital sinyali test edilen cihaz için uyarma sinyali olarak kullanılan sinüzoidal bir sinyale dönüştüren bir DAC bulunur. DAC'den gelen sinyal, tepeden tepeye çıkış voltajının seçildiği programlanabilir bir kazanç aşamasından geçer. Çıkış sinyali, bir başlangıç frekansı, frekans artışı ve artış sayısı vererek operatörün kontrolündeki bir frekansta kademelendirilebilir. Test edilen cihaz bu voltaj tarafından uyarıldığında bir tepki akımı ortaya çıkar. Bu, alma aşamasında akım-gerilim yükselticisinin girişidir. Bu amplifikatörü, 1x ve 5x kazanç seçeneklerine sahip programlanabilir bir amplifikatör (PGA) takip eder. Geri besleme direnci R_{FB} 'nin (V_{in} ve R_{FB} arasında), kalibrasyon için kullanılan dirençle aynı olduğu varsayılır. Bunun nedeni daha sonra tartışılacaktır. Bu direnç ve PGA aşamasının kazanç ayar direnci, ADC girişindeki sinyal seviyesini belirler. Hatalı çalışmayı önlemek için ADC'nin ($0V-V_{DD}$) doğrusal aralığında tutulmalıdır.

$Z(j\omega)$ değiştiğinde sistemdeki gerilim değerlerinin de değişeceğini görüyoruz. Bu, iletim aşamasında iki değişken direnci, geri besleme direncini ve çıkış direnci yönlendirmesini değiştirme olanakları ile telafi edilir. Sistem daha sonra farklı çıkış uyarma gerilimleri ve akımdan gerilime yükselticinin kalibrasyon direnci ve geri besleme direnci R_{FB} 'sinin farklı değerleri ile 6 aralıkta çalıştırılır. PGA kazancı normalde 1x olarak ayarlanmıştır. 5x'e gitmek, doygunlukla ilgili sorunlara neden olabilir çünkü bu, akımdan gerilime yükselticiden gelen voltajı artıracaktır ve

ADC'ye giden voltaj doğrusal aralığının ($0V-V_{DD}$) dışına çıkarsa, ADC doymuş hale gelecektir. ADC'den gelen dijital veriler, ayrı bir Fourier dönüşümünün (DFT) olduğu sistemin dijital sinyal işleme bölümüne beslenir.

Empedans hesaplaması

$$X(f) = \sum_{n=0}^{1023} x(n)(\cos(n) - j \sin(n))$$

formülü ile ifade edildiği şekilde her frekans noktası için 1024 örnekten alınan veriler kullanılarak gerçekleştirilir. Çıktı verileri, sırasıyla gerçek ve sanal bileşenler için iki 16 bitlik kayıta ikiye tümleyen biçiminde depolanır. Test edilen cihazın empedans değerini, büyüklüğü bilinen bir referans direnç değeriyle karşılaştıran bir kalibrasyon prosedürü kullanılarak bu verilerden hesaplanır.

2.3. SİSTEMİN ÇALIŞMASI İÇİN ARDUİNO YAZILIMI

AD5933, yerleşik bir frekans üreticini 12 bit, 1 MSPS, analogdan dijitale dönüştürücü (ADC) ile birleştiren yüksek hassasiyetli bir empedans dönüştürücü sistem çözümüdür. Frekans üretici, harici bir karmaşık empedansın bilinen bir frekansla uyarılmasına izin verir. Empedanstan gelen yanıt sinyali, yerleşik ADC tarafından örneklenir ve yerleşik bir DSP motoru tarafından ayrı bir Fourier dönüşümü (DFT) işlenir. DFT algoritması, her çıkış frekansında gerçek (R) ve sanal (I) bir veri sözcüğü döndürür.

Kalibre edildikten sonra empedansın büyüklüğü ve tarama boyunca her bir frekans noktasında empedansın bağıl fazı kolayca hesaplanır. Bu, seri I2C arayüzünden okunabilen gerçek ve sanal kayıt içerikleri kullanılarak çipten yapılır. Belki bazı değişikliklerle de olsa, herhangi bir Arduino uyumlu cihazla uyumlu olmalıdır. Bu çalışma RFDuino ile geliştirildi ve test edildi, ancak normal bir Arduino ile çalışmaması için bir neden bulunmamaktadır. Kütüphane, empedans okumaları almak için yeterli olsa da biraz eksik olduğunu kabul etmeliyim.

2.3.1. Kurulum ve Kullanım

Arduino-ad5933 klasörünün tamamı Arduino/libraries klasöre, genellikle ana dizininde veya belgeler klasörüne taşındı. Kütüphaneyi kurduktan sonra, bu kod Arduino editöründe Dosya > Örnekler > arduino-ad5933 > ad5933-test'e giderek kolayca açıldı. Bu kod, AD5933'ü ilk olarak nasıl kurulacağını ve frekans taramalarını nasıl çalıştıracığını gösterecektir. Frekans taraması yapmak için iki yöntem vardır. İlki, FrequencySweep() işlevini kullanmaktır. Bu işlevin kullanımı çok kolaydır, ancak verileri toplu olarak işlemeyen önce tüm taramanın tamamlanmasını beklemem gerekir ve bu, özellikle büyük taramalar için daha fazla bellek gerektirir. Diğer yöntem, AD5933'ü doğrudan I2C seviyesinde manipüle etmektir, bu biraz daha karmaşıktır, ancak bir okumadan hemen sonra verileri işlemeye olanak tanır ve önemli ölçüde daha düşük bellek yüküne sahiptir.

2.3.2. İşlevlere Kısa Bir Bakış

AD5933.h'de çok sayıda sabitle kullanılabilen çeşitli işlevler vardır. Burada sistemin uygulamaları ile ilgili olan önemli birkaç işlevi ele alalım [17]:

- Kartı sıfırlamak için: `AD5933::reset();`
- Yerleşik sıcaklık ölçümünü etkinleştirmek için:
`AD5933::enableTemperature()`
- Bir sıcaklık okuması almak için: `double temp = AD5933::getTemperature()`
- Saat kaynağını dahili olarak ayarlamak için:
`AD5933::setInternalClock(true)` VEYA
`AD5933::setClockSource(CTRL_CLOCK_INTERNAL)`
- Saat kaynağını harici olarak ayarlamak için:
`AD5933::setClockSource(CTRL_CLOCK_EXTERNAL)`
- Frekans tarama başlangıç frekansını ayarlamak için:
`AD5933::setStartFrequency(#)`
- Frekans tarama artış frekansını ayarlamak için:
`AD5933::setIncrementFrequency(#)`
- Frekans tarama artış sayısını ayarlamak için:
`AD5933::setNumberIncrements(#)`

- PGA kazancını ayarlamak için: AD5933::setPGAGain(PGA_GAIN_X1/PGA_GAIN_X5)
- Güç modunu ayarlamak için: AD5933::setPowerMode (POWER_ON/POWER_DOWN/POWER_STANDBY)

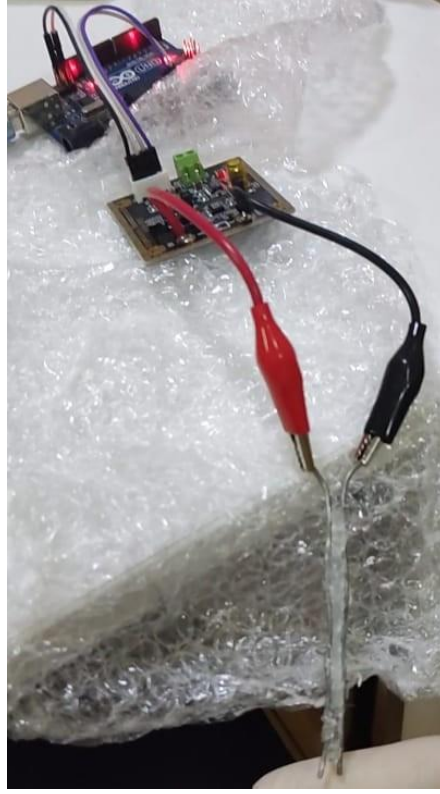
Bilinen bir referans dirence dayalı olarak her frekans adımı için kazanç faktörünü hesaplayan bir kalibrasyon taraması gerçekleştirmek için (sonuçlar gainFactor dizisinde saklanır, bu nedenle bunun yeterince büyük olduğundan emin olmak lazım):

- AD5933::calibration(double[] gainFactor, double [] faz, int referansDirenc, int sayıArtışlar).
- Tam bir frekans taraması gerçekleştirmek için (sonuçlar gerçek ve sanal dizilerde saklanır): AD5933::frequencySweep(int[] real, int[] imag, int numIncrements)
- Bir kaydı okumak için: byte res = AD5933::readRegister(/* kayıt adresi */)

2.4. ELEKTROTLARIN TASARIMI

2.4.1. Lehim Teli İle İlk Denemeler

Elektrotların tasarımını yapmak için deneyler boyut: 13x75 mm olan plastik EDTA K3 2 mL kan alma tüpünde yapıldı. İlk deneyde elektrod olarak Lehim teli kullanıldı (Şekil 12). Lehim teli kullanılırken tüpün kapağının açılması ölçüm sırasında sorunlara sebep oluyordu. Çünkü oksijenle temas olan kanda zaman geçtikçe empedans artımı görünüyordu. Yani kanın pıhtılaşma süresi hızlanıyordu. Hem de yapılan deneyden anlaşıldı ki, lehim teli elektrot olarak kullanılamaz. Lehim teli, elektrik devrelerindeki bileşenleri birleştirmek veya lehimlemek için kullanılan bir malzemedir. Elektrotlar ise genellikle elektrik akımını iletme, kaynak yapma veya elektrokimyasal reaksiyonlara katılma gibi amaçlarla kullanılan özel malzemelerdir. Lehim teli, bir elektrot olarak kullanılmak için gerekli özelliklere sahip değildir. Lehim telleri, genellikle yumuşak ve düşük erime noktalı malzemelerden yapılmıştır ve yeterli elektrik iletkenliği veya dayanıklılığa sahip değildir. Bu nedenle, lehim teli elektrot olarak kullanılmamalıdır ve uygun elektrotlar kullanılmalıdır.



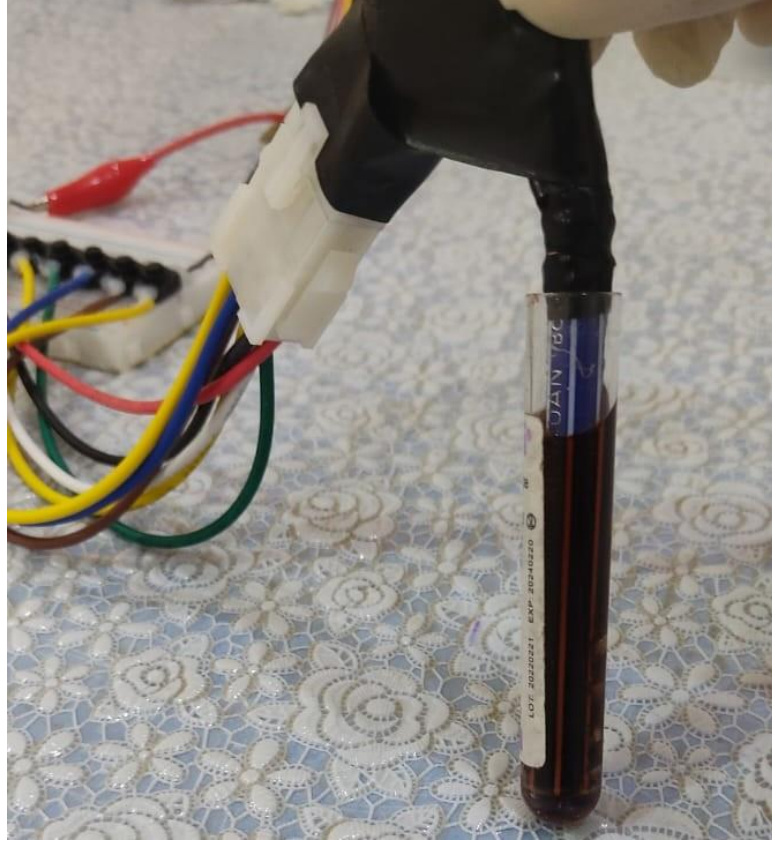
Şekil 12 Lehim teli ile yapılmış elektrot

2.4.2. Kalem Elektrot Tasarımı



Şekil 13 Kalem elektrotu

Sonra aynı deney üzerinde ölçme yapmak için kalem elektrodu kullanıldı (Şekil 13). Kalemin sağında 4 ve solunda 4 elektrot olmakla her bir elektrot tuşlarla açılıp kapanmak şartı ile geliştirilerek kan üzerinde ölçme yapıldı (Şekil 14).



Şekil 14 Kalem elektrotla kanın empedansının ölçülmesi

Elektrod tüpün içerisine yerleştirildikten sonra, kalem kanın hacminin yükselmesine sebep oluyor. Bu zaman da kanın dışarıya taşması tehlikesi yaşanıyor. O yüzden kalem elektrodu ile yapılan deney geçersiz olarak belirlendi.

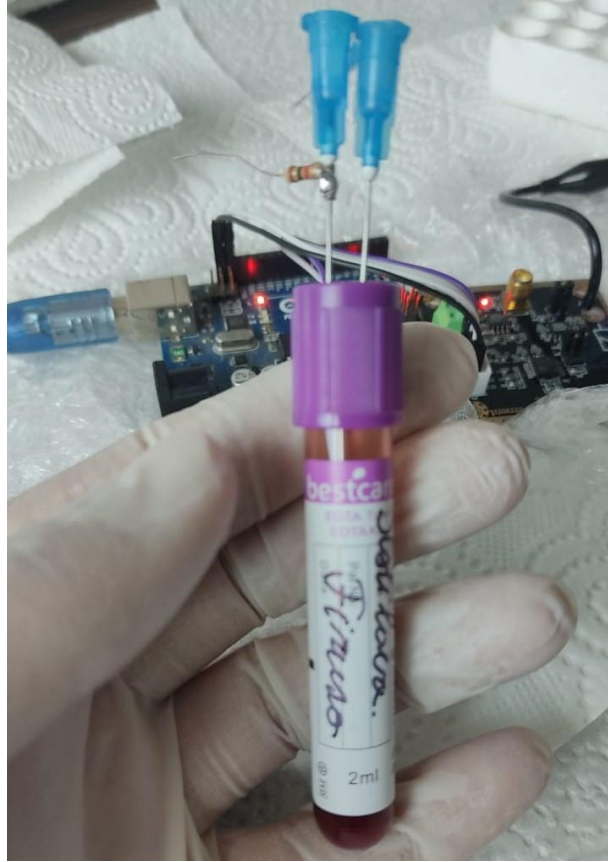
2.4.3. Şırınga İğneleri Temelli Elektrotlar

Üçüncü denemede kanın empedansını ölçmek için elektrot olarak şırınga iğneleri kullanıldı. Yapılan birkaç deneyden alınan sonuca göre şırınga iğneleri elektrot olarak kullanılabilir olduğu anlaşıldı. Örneğin, bazı laboratuvar veya araştırma çalışmalarında, şırınga iğneleri özel modifikasyonlara tabi tutulabilir ve belirli elektriksel uygulamalar için kullanılabilir. Şırınga iğnesinin metal kısmının elektrik özellikleri, genellikle elektriksel iletkenlik ile ilgilidir. Şırınga iğnesinin

metal kısmı, genellikle paslanmaz çelik veya diğer medikal sınıf metal alaşımlarından yapıldığı için iyi bir iletkenlik özelliğine sahiptir.

İğnenin metal kısmı, elektrik akımını iyi bir şekilde iletir ve elektriksel direnç düşüktür. Bu özellikler, iğnenin bir elektrot olarak kullanılması durumunda elektrik sinyallerinin doğru bir şekilde iletilmesini sağlar. Ancak, iğnenin elektrik özellikleri, iğnenin tasarımına, malzeme kalitesine ve yüzey işlemine bağlı olarak değişebilir. Örneğin, iğnenin yüzeyi pürüzlü ise, elektriksel temas ve iletim performansı etkilenebilir.

İğnenin elektriksel özellikleri, ölçülebilir değerlerle ifade edilmez, çünkü çoğunlukla iğnenin elektrik iletkenliği ve direnci tıbbi uygulamalar için önemli değildir. Ancak, genel olarak şırınga iğnesinin metal kısmı, elektrik sinyallerini iletmek için yeterli iletkenlik özelliğine sahiptir ve bu nedenle elektriksel uygulamalarda bazı durumlarda kullanılabilir.



Şekil 15 Üzerine şırınga iğnesi batırılmış tüpler

İlk deneylerde iğne elektrotlarını tüpün kapağına tam şekilde batırıp kanın empedansını ölçmeye başlıyoruz. Bu zaman da bazı sorunlarla karşılaşılıyor. Tam şekilde batırılan elektrotun verdiği sonuçlarda dalgalanmalar gözlemleniyor. Bu da ölçmelerin güvenilirliğini sorgulamamıza neden oluyor. En son yapılan sonuca bağlı deneyde iki adet alınmış şırınga iğneleri resimde görüldüğü gibi tüpün kapağındaki lastik kısmına, iğne ucunun 3 mm kısmı tüpün içerisine geçecek şekilde batırılıyor (Şekil 15).

2.4.4. Deneysel Yöntem Tasarımı

Boyut: 13x75 mm olan plastik EDTA K3 2 mL kan alma tüpünde, empedansın ölçülmesi zamanı elektrotlar arasındaki mesafe 8 mm olarak belirlenmiştir. İğne elektrotları tüpün içerisine 20 mm olarak batırılır. İğnelerin kanallarına kan dolmasını diye uçları reçine içerikli lehim pastası ile doldurulur. Buna sebep kan alma tüpünü ters çevirdiğimizde kan iğnenin içerisine dolarak empedans değişikliğini yanlış olarak yansıtmaması ve kan iğnenin üst kısmından dışarıya akmasını. Şırınga iğnesinin üst kısmını ise silikon tabancası ile kapatıyoruz. Bu sayede kanın oksijenle temasını minimuma indiriyoruz (Şekil 16).



Şekil 16 Şırınga iğneli elektrotlar

2ml tam kan mor kapaklı EDTA'lı tüplere alınır. Kanla temas eden iğneler sayesinde empedans değişimini ekranda görünüyor. Ölçüm yapılan iğnenin özellikleri aşağıda belirtilmiştir:

- Şırınga iğnelerinin metal kısmının üretimi için kullanılan malzemeler genellikle yüksek kaliteli paslanmaz çelik veya diğer medikal sınıf metal alaşımlarıdır. İğnenin kendisi keskin, dayanıklı ve hijyenik olmalıdır.
- Kullanılan şırınga iğnesinin metal kısmı paslanmaz çelik kullanılarak üretilmiştir. Paslanmaz çelik, korozyona dayanıklı, sert, dayanıklı ve sterilize edilebilir özelliklere sahip bir malzemedir. Ayrıca, paslanmaz çelik iğneler kanla etkileşime girdiğinde kimyasal tepkimelere karşı direnç gösterir. Bu nedenle, hijyenik ve güvenli bir ölçme sağlamak için paslanmaz çelik tercih edilen malzemedir.

Elektrot olarak kullanılan 5 ml'lik bir şırınga için metal iğnenin ölçüleri, genellikle çap (gauge) ve uzunluk (inç veya milimetre cinsinden) olarak ifade edilir. 5 ml'lik bir şırınganın elektrot için kullanılan iğne boyutu aşağıdaki gibidir:

- Çap (Gauge): 23G (gauge) dir. Gauge değeri, iğnenin iç çapını ifade eder.
- Uzunluk: Uzunluk, iğnenin toplam uzunluğunu ifade eder ve genellikle inç veya milimetre cinsinden ölçülür. 5 ml'lik bir şırıngada elektrot için kullanılan iğne uzunluğu 1,25 inç dir

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. SİSTEMİN KALİBRASYONU VE DENEMELERİ

3.1. SİSTEMİN KALİBRASYONU

AD5933 tabanlı ölçüm sisteminin kalibrasyonu iki adımda yapılır. Öncelikle, AD5933'ten alınan gerçek ve sanal veri parçalarından empedansı hesaplamak için kullanılan kazanç faktörünü hesaplamamız gerekir. Kazanç faktörü, şu denklem kullanılarak hesaplanır:

$$Gain\ Factor = \frac{1}{\frac{R_{cal}}{Mag}}$$

R_{cal} , sistemin kalibrasyonu için kullanılan bilinen bir değere sahip direnç olduğunda, R_{cal} ayrıca kalibrasyon çalışması sırasında R_{FB} ile aynı değere sahip olmalıdır. Mag , AD5933'ten alınan gerçek ve sanal değerlerden hesaplanan büyüklüktür. Mag şu şekilde hesaplanır:

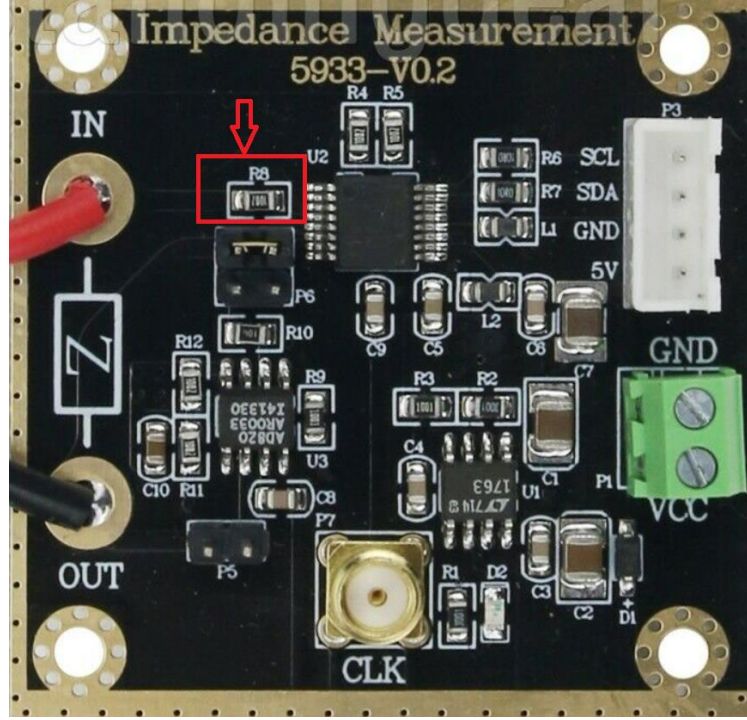
$$Mag = \sqrt{Real^2 + Im^2}$$

AD5933 veri sayfasında. faz hesaplaması verilmiştir.

$$Phase = \tan^{-1}\left(\frac{Im}{Real}\right)$$

AD5933 veri sayfasında faz hesaplamaları hakkında çok sınırlı bilgi var, sadece fazın yukarıdaki denklem kullanılarak kolayca hesaplanabileceğini söylüyor. Yalnızca değerlendirme panosunun veri sayfasında, AD5933 tarafından ölçülen fazın, tüm sinyal yolu boyunca tanıtılan fazı hesaba kattığından bahsedilmektedir [18].

3.1.1. Sabit Referans Direnci ile Kalibrasyon



Şekil 17 AD5933 Empedans ölme sisteminde kalibrasyon için değiştirilen direnç

AD5933, belirli bir frekansta çalışan bir empedans analiz cihazıdır. Kanın empedansını ölçmek için empedans ölçer sisteminin kalibrasyonunu gerçekleştirmek önemlidir. Kalibrasyon süreci, sistemdeki ölçüm hatalarını düzeltmek ve doğru sonuçlar elde etmek için gereklidir.


Kalibrasyon işlemi sırasında, AD5933'ün kullanacağı referans empedansı bilmemiz gerekir. Bu referans empedansı, cihazın doğru ölçümler yapabilmesi için kullanılır. Kalibrasyon işlemi sırasında, AD5933 sistemi bu referans empedansına bağlayarak onu ölçer ve bu değeri referans olarak alır.

Kanın empedansını ölçmek için, tipik olarak referans empedansı olarak bir direnç kullanılır. Bu direncin değeri, genellikle cihazın çalışma aralığına ve ölçüm yapılacak empedansın beklenen değerlerine bağlı olarak seçilir. Kanın empedansı genellikle düşük değerlere sahip olduğu için, referans empedansının da düşük olması gerekebilir.

Bu nedenle, kanın empedansını ölçmek için AD5933 sistemini kalibre ederken, referans empedansının ne kadar olması gerektiği konusunda daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır. Ölçüm yapmayı planladığımız empedans aralığına ve

hassasiyete bağlı olarak, genellikle 10 Ω ila 10 k Ω arasında bir referans direnci kullanılabilir.

Şekil 17’de kalibrasyon için değiştirilmesi önerilen direnç gösterilmektedir. AD5933 empedans ölçer sistemde kan empedansını ölçebilmek için, cihazın üzerinde gelen 10 k Ω değerindeki direnç sabit tutuldu. Bundan sonra Vin ve Vout ayaklarına 1 k Ω luk bir dirençle kalibrasyon yapıldı. Şekil 18’te arduino ile kalibrasyon akış şeması verilmektedir [19].



```
ad5933-test | Arduino IDE 2.0.4
File Edit Sketch Tools Help
Arduino Uno
ad5933-test.ino AD5933.cpp AD5933.h
5
6 #include <Wire.h>
7 #include "AD5933.h"
8
9
10
11 #define START_FREQ (80000)
12 #define FREQ_INCR (0)
13 #define NUM_INCR (1)
14 #define REF_RESIST (1000)
15
16
17 double gain[NUM_INCR+1];
18 int phase[NUM_INCR+1];
19
20 void setup(void)
21 {
22     pinMode(12, OUTPUT);
23     digitalWrite(12, HIGH);
24     // Begin I2C
25     Wire.begin();
```

Şekil 18 AD5933 Ardunio ile kalibrasyonu

3.1.2. Kalibrasyon Bilgilerinin Uygulanması

Yalnızca Vin ve Vout arasındaki bileşenler tarafından sağlanan fazı elde etmek için, bir dirençle kalibrasyon altında her frekans için tüm faz verilerinin

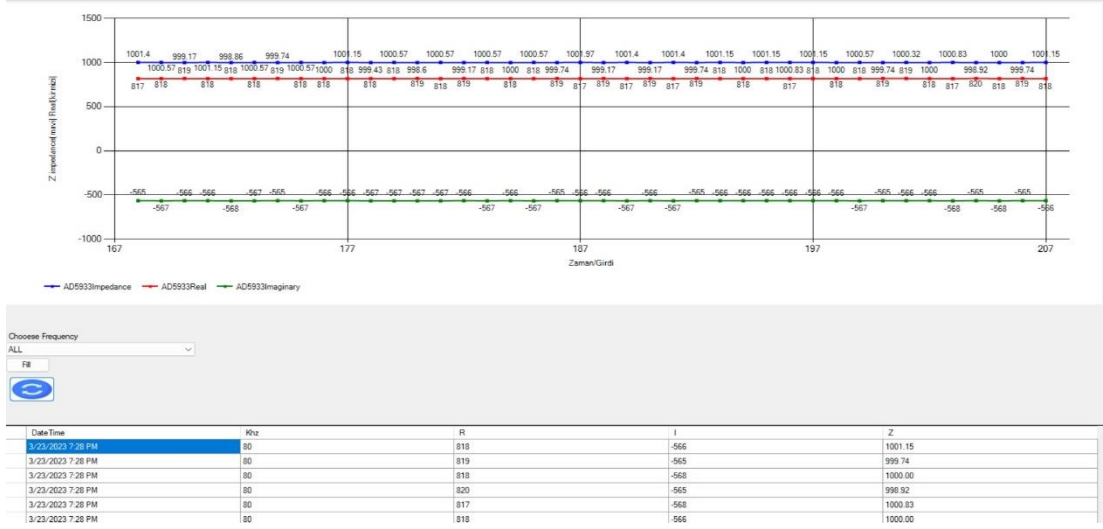
kaydedilmesi gerekir. Daha sonra bir ölçüm yapılırken, kalibrasyondaki faz her frekans için ölçülen fazdan çıkarılmalıdır. Faz daha sonra hesaplanarak verilir:

$$\theta_{impedance} = \theta_{unknown} - \theta_{system}$$

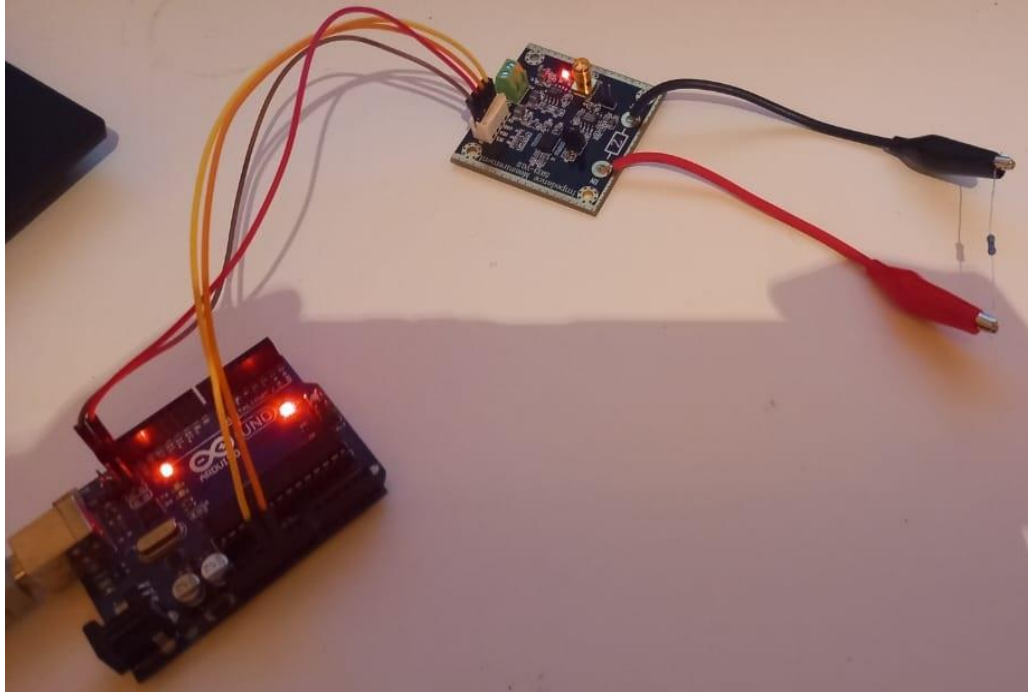
burada θ_{system} , Vin ve Vout arasında bir kalibrasyon direncine sahip sistemin fazıdır. $\theta_{unknown}$, sistemin Vin ve Vout arasında bilinmeyen bir empedansa sahip toplam aşamasıdır. $\theta_{unknown}$ empedansı, bu empedansa bağlı fazdır.

Kalibrasyon sırasında alınan sistem aşaması PC'de calphase.txt adlı bir dosya olarak saklanır, grafik arayüz her başladığında tüm dosyayı okur ve bu değeri xx empedansını hesaplamak için kullanır. Bir ölçüm yapıldığında saklanan kalibrasyon fazı (sistem fazı), karşılık gelen frekans noktaları için ölçülen fazdan çıkarılır. İdeal olarak bu faz sıfır olmalıdır. Bununla birlikte, AD5933'ün dahili referans osilatörünün 16.776 MHz ile çalıştırılan kararlılığının mükemmel olmadığı göz önünde bulundurularak açıklanabilecek bazı küçük rastgele dağıtılmış katkıları vardır. Ultra kararlı bir harici osilatörün kullanılması bunu geliştirebilirdi. Kullanıcı aşağıdakilerden herhangi birini değiştirirse kalibrasyon yeniden yapılmalıdır.

- Empedans aralığı (RFB'yi değiştirerek).
- Uyarma sinyali voltajı.
- Frekans aralığı veya artış frekansı, ölçümler için kullanılan frekans aralığındaki tüm frekanslar için sistem fazına sahip olmamız gerektiğinden bu gereklidir.



Şekil 19 1k Ω luk dirençle edilen kalibrasyon



Şekil 20 AD5933 Vin Vout ayaklarına bağlanan 1 K Ω luk dirençle kalibrasyonun gerçekleştirilmesi

Şekil 19'da 1 k Ω direnç ile elde edilen çıktılar ve Şekil 20'de kalibrasyon direnci bağlantıları gösterilmektedir. GUI'de, kullanıcının yalnızca kalibrasyon direncinin değerini sağlayarak tüm frekanslar için kazanç faktörünü ve sistem fazını elde etmesine izin veren bir rutin uygulanmıştır. Bu nedenle, bir çalıştırma için kişi önce istenen frekans aralığı için otomatik kalibrasyonu kullanır ve sonra ölçümü yapar. Farkında olunması gereken önemli bir şey, kazanç faktörünün frekansla biraz

değiştiği olup herhangi bir reaktans olmadan saf bir direnç üzerinde ölçüm yapıldığında empedansın frekansla arttığı görülmektedir. Ölçüm değeri 1,1 k Ω olan bir direnç ile yapıldığında kazanç faktörünün frekans aralığına göre yaklaşık %6,8 artmaktadır. Ancak çoğu ölçüm ve dar frekans bantları için tek noktalı kalibrasyon yeterli olabilir. Kazanç faktörü değişimi düz bir çizgiye yakındır. Bu nedenle, veri sayfasında önerildiği gibi iki noktalı bir kalibrasyon sistemi geliştirebilir.

Farkında olunması gereken bir diğer önemli konu da sıcaklıkla kazanç faktörü değişimidir, tipik hata değişimi 30 ppm/o'dur. Sıcaklık değişimlerinden dolayı ölçülen empedanstaki değişimi göstermektedir.

Tablo 1 AD5933 için ölçüm aralıkları

Range no.	Value(k Ω)	R _{FB} (k Ω)	Cal. resistor (k Ω)
1	0.1-1	0.1	0.1
2	1-10	1	1
3	10-100	10	10
4	100-1000	100	100
5	1000-2000	1000	1000
6	9000-10000	9000	9000

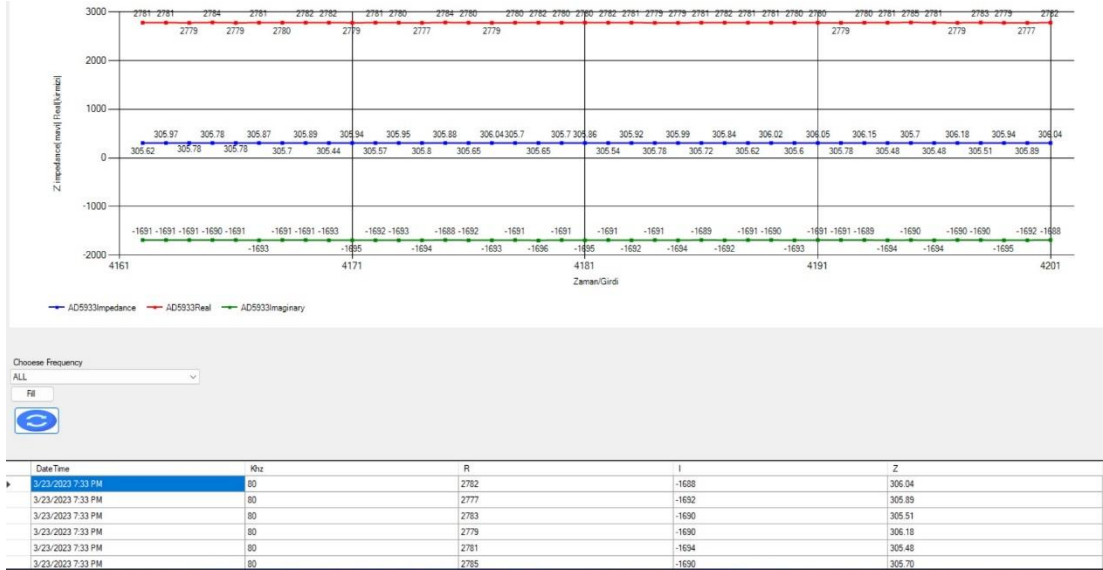
Sistemin belirtilen ölçüm aralığı, kullanılacak kalibrasyon verilerini de veren Tablo 1'de belirtildiği gibi altı aralığa bölünmüş 0,1 k Ω ila 10 M Ω 'dur [18]. İlk dört aralığın her biri bir dekat olduğu halde 5 ve 6 numaralı aralıkların farklı olduğuna dikkat çekiliyor. Aralık 5 de 1 M Ω 'dan 2M Ω 'a ve Aralık 6 da ise 9 M Ω 'den 10 M Ω 'a kadar kapsanıyor. 2 M Ω ila 9 M Ω arasını kapsayan bir aralık yoktur. Kalibrasyon ölçümleri, test konumunda kazanç ayar direnci R_{FB} ve kalibrasyon direnci için mevcut ve eşit değerli dirençler kullanılarak tüm aralıklar için yapılmıştır. Kalibrasyon ölçümleri, test konumunda kazanç ayar direnci R_{FB} ve kalibrasyon direnci için mevcut ve eşit değerli dirençler kullanılarak tüm aralıklar için yapılmıştır.

3.1.3. Ölçüm Sırasında Sorunlara Neden Olabilecek Olgular

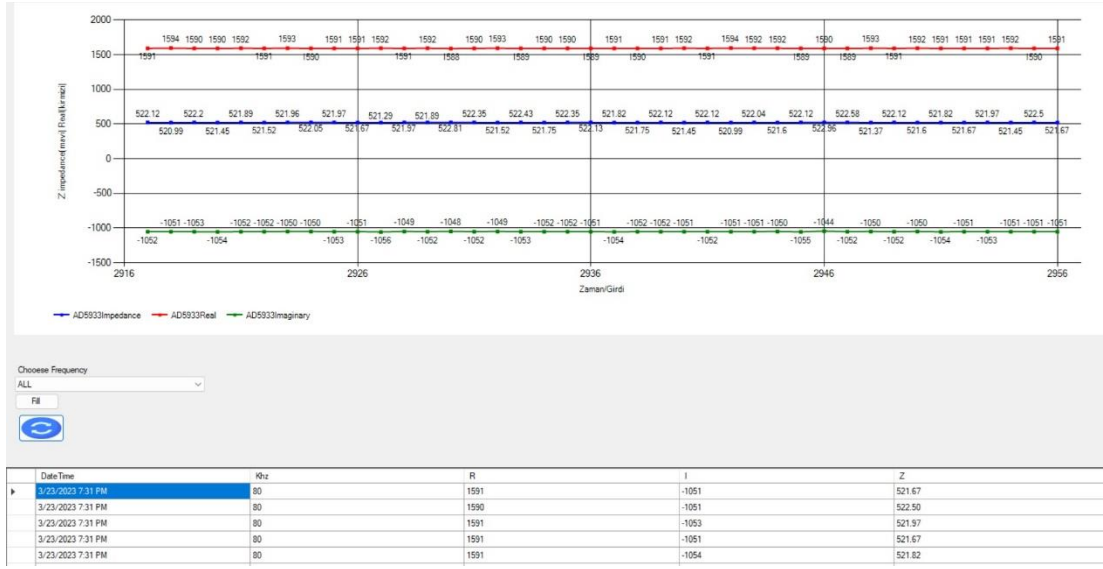
Ölçüm sırasında sorunlara neden olabilecek iki olgu vardır:

- Çok yüksek girdi veren doygunluk olgusu (lineer dışında aralığı) ADC'ye.
- Faz (θ) bilgisinin yanlış yorumlanması.

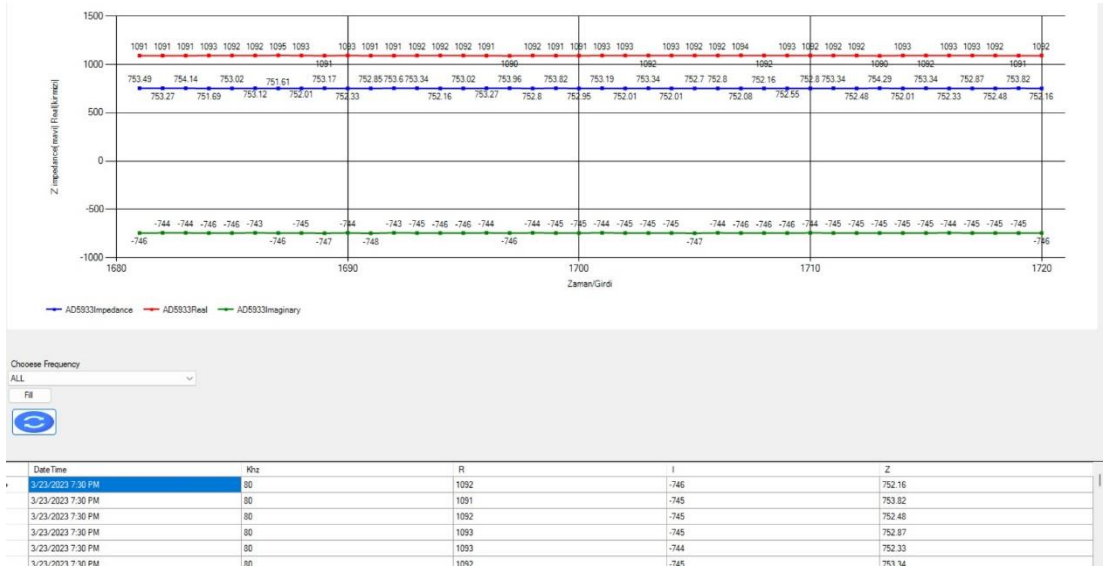
kapasitörler ölçüldü. Kalibrasyon ve test için farklı değerde dirençler kullanıldı. AD5933, sistem spesifikasyonunda gösterildiği gibi toplamda 0,1 k Ω -10 M Ω arası altı aralıkta çalıştığını belirtmiştik. Kalibrasyon aralığının dışına çıkarak direnç testleri de yapıldı. Aralık 2 (1 k Ω -10 k Ω) $R_{FB}=R_{cal}=1$ k Ω kullanılarak yapılan kalibrasyonla 300 Ω , 510 Ω , 750 Ω ve 1 k Ω dirençler ölçüldü. 2 (1k-10k) aralığında gerçekleştirilen ölçümler içindir. Şekil 22 – 24 sırasıyla 300 Ω , 510 Ω ve 750 Ω değerindeki dirençlerle yapılan kalibrasyon çalışmalarının sonuçlarını göstermektedir. Şekil 25 ise 1 k Ω luk direnç ile yapılan ölçüm dökümünü gösterir. Ölçülen empedans değeri, 80 kHz'lik kalibrasyon frekansında doğrudur, Ölçülen dirençlerin değerleri renk kodları ile belirlenmiştir ve %2 toleranslıdır. Deneyin hedefi dirençlerin mutlak değerlerini belirlemekten ziyade deney sırasında elde edilen sonuçların tutarlılığını görmektir.



Şekil 22 300 Ω değerindeki dirençle yapılan kalibrasyon

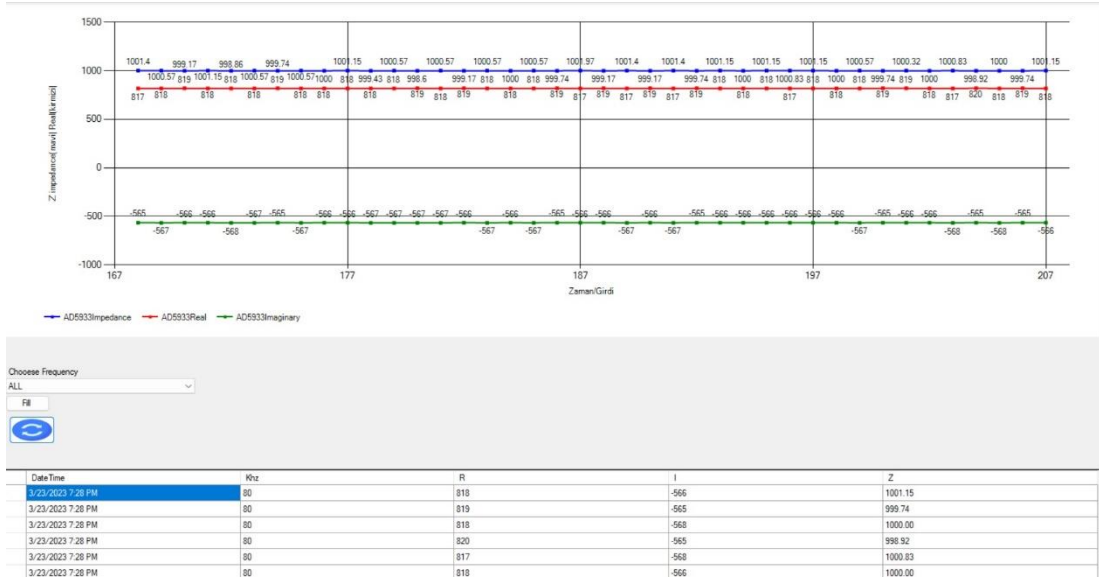


Şekil 23 510 Ω değerinde dirençle yapılan kalibrasyon



Şekil 24 750 Ω değerinde dirençle yapılan kalibrasyon

300 Ω direnç 305 Ω ± 1Ω, 510 Ω direnç 522 Ω ± 1Ω ve 750 Ω direnç 752 Ω ± 0,5 Ω olarak ölçülmüştür. Şekil 25 ise 1 kΩ değerinde dirençle yapılan ölçmenin 1000 Ω ± 1Ω olduğunu göstermektedir. Direncin ortalama değerindeki doğruluk dirençlerin tolerans sınırları içindedir. Ancak, direnç kalibrasyon aralığından uzaklaştıkça ölçülen değerdeki belirsizlik artmaktadır. Bu nedenle, tüm ölçümler kalibrasyon aralığında ve kalibrasyon değerine mümkün olan en yakın şekilde yapılmalıdır.



Şekil 25 1 kHz değerinde dirençle yapılan kalibrasyon

3.2. LABORATUVAR DENEMELERİ

Tasarlanan sistemin uygulanabilirliğini göstermek için laboratuvarında gerçek kan numuneleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır.

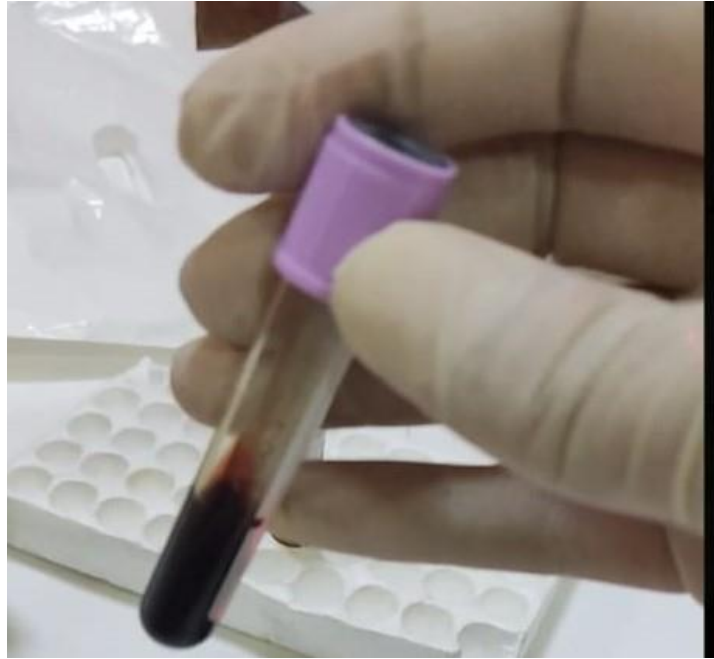
3.2.1. Açık Tüpteki Kan Örneğinde Empedans Denemeleri

Normal kanın elektrik direnci, ortalama olarak 150-200 Ω cm arasındadır. Ancak bu değerler, kişinin yaşına, cinsiyetine, kilosuna, sağlık durumuna, kanın viskozitesine ve diğer faktörlere göre değişkenlik gösterebilir. Ayrıca, kanın elektriksel özellikleri, ölçüm cihazının kullanımına ve ölçüm koşullarına da bağlı olabilir. Kanın elektrik direnci, klinikte kanın empedansının ölçülmesinde ve tromboz gibi kan hastalıklarının teşhisinde kullanılabilir.

Kanın empedansı, kanın akışkanlığına, kan hücrelerinin sayısına ve boyutuna, plazma proteini konsantrasyonuna, pH seviyesine ve diğer faktörlere bağlıdır. Normal kan ve pıhtı arasındaki empedans farkı, bu faktörlerin farklılık göstermesinden kaynaklanmaktadır. Normal kan, akışkan bir yapıya sahiptir ve kan hücreleri, plazma proteini ve elektrolitler içeren bir süspansiyondur. Bu nedenle, normal kanın empedansı düşüktür ve elektrot arasında akımın geçmesi kolaydır.

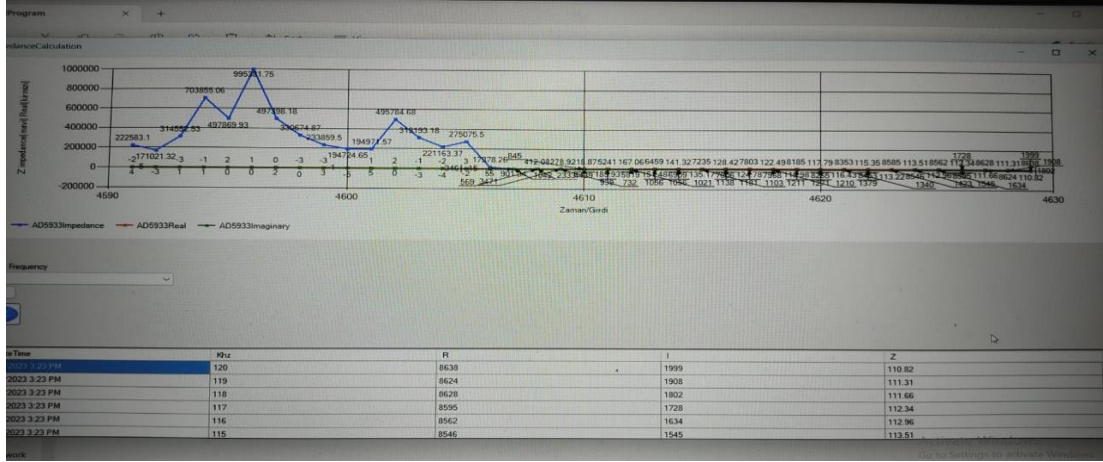
Pıhtılaşma süreci başladığında, pıhtılaşma faktörleri, trombositler ve diğer hücreler bir araya gelerek pıhtı oluştururlar. Pıhtı, daha yoğun ve katı bir yapıya sahiptir ve akışkanlığı azdır. Bu nedenle, pıhtı olan kanın empedansı yükselir ve

elektrot arasında akımın geçmesi zorlaşır. Pıhtı oluşumunu takip ederek, hastalıkla ilgili önemli bilgiler elde edilebilir. Ancak, empedans ölçümleri, kan örneğinin kalitesi ve ölçüm koşulları gibi faktörlerden etkilenebilir. Bu nedenle, empedans ölçümlerinin doğru bir şekilde yapılması ve verilerin doğru bir şekilde yorumlanması için bir tıbbi uzmanın gözetiminde gerçekleştirilmesi önemlidir. Deney için Şekil 26 da gösterilen 2 ml K3EDTA içerikli tüpün içinde bulunan hastadan alınmış kanı kullanıyoruz.



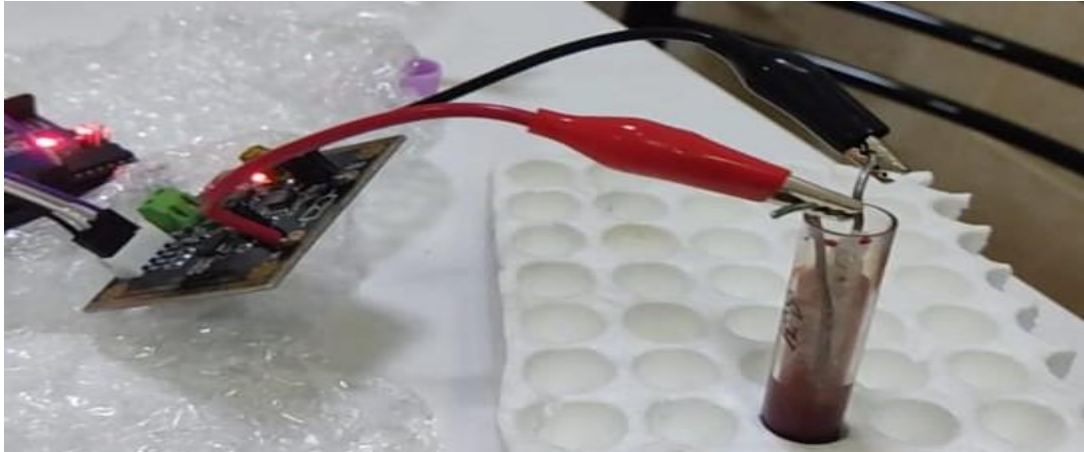
Şekil 26 Hastadan alınmış gerçek kan örneği

Kanın empedansını ölçmek için önce elektrotların bağlı olduğu cihazı bir gün önceden alınmış kanın içerisine koyuyoruz. Sonra cihazı hazır duruma getirip programda kanın empedansını gözlemliyoruz. Bir gün önceden alınmış kanın empedansı $112 \Omega \pm 1,5 \Omega$ olarak ekranda görünüyor (Şekil 27). Empedansın zaman geçtikçe yükseldiğini gözlemliyoruz. Buna sebep, oksijenle temas eden kanda pıhtılaşma sürecinin başlamış olmasıdır.



Şekil 27 Bir gün önce alınmış kandaki empedans değişimi

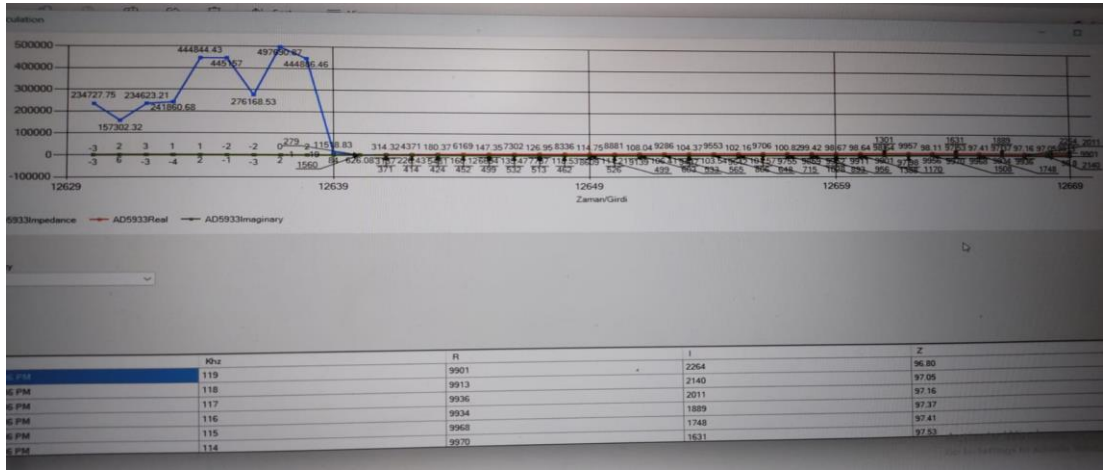
Şekil 27’deki kayıtlardan şu sonucu çıkarabiliriz: Oksijenle temas eden kan, hızla pıhtılaşıyor ve empedansı giderek yükseliyor. Testimizi 2 ml kan alma tüpünde toplanan kan üzerinde yapıyoruz. Vakum tüpleri ağzı kapalı ve kan oksijenle temas etmeyecek halde içerisine dolduruyoruz. Bundan sonra elektrotları Şekil 28 de gösterildiği gibi tüpün dibine degecek şekilde koyuyoruz.



Şekil 28 İçine elektrotlar daldırılmış kanın empedans ölçümü

Tüpün kapağı açık olduğu için empedansın hızla değiştiğini gözlemliyoruz. Kanın empedansı zaman geçtikçe yükselmeye devam ediyor. Bu deneyi birkaç kez tekrarlıyoruz. Ondan sonra elektrotları tüpün içerisinden çıkarıp çalkalıyoruz. Çalkaladıktan sonra, elektrotları yeniden kanın içerisine yerleştiriyoruz. Kanın empedansının belirli bir süre zarfında sabit kalıp yeniden yükseldiğini gözlemliyoruz. İlk deneyimiz başarı ile sonuçlanmıştır.

Sonra yeni bir kan örneğini alıyoruz. Yeni alınmış kan örneğinin empedansını ölçmek için elektrotları yenilemek lazım veya elektrotların üzerinde kan kalmaması şartıyla dezenfekte etmek lazım. Elektrotları yeniledikten sonra yeni kanın içerisine ölçüm yapmak suretiyle ilave ediyoruz. İlk deneyde olduğu gibi elektrotlar tüpün dibine degecek şekilde konuluyor. Bu zaman kanın empedansının $97 \pm 0,5 \Omega$ olduğunu gözlemliyoruz. 96 Ω -luk kanın başlangıç direnci Şekil 29 da görüldüğü gibi giderek yükseliyor.



Şekil 29 Yeni alınmış kandaki empedans değişimi

Empedans değişikliğinin nedeni ilk deneyde olduğu gibi kanın oksijenle temas etmesi sebebiyle kanda bazı reaksiyonların gitmesi ve empedansının giderek yükselmesidir. Tüpün dibine temas eden elektrotlardan aldığımız sonuç grafik şeklinde ekranda görünüyor. Yaptığımız deneyin sonunda aşağıdaki sonuç ortaya çıkıyor. Bir gün önceden alınmış kanın empedansı 110 Ω -dan başlayarak giderek yükseliyor. Yeni kanın empedansı ise 96 Ω -dan başlayarak oksijenle temas halinde, pıhtılaşma durumunda, giderek yükseliyor. AD-5933 cihazı ile kanın empedansı ölçülmüş ve buradan aşağıdaki sonuç alınmıştır. Sonuca göre tüpün ağzı kapalı olduğunda ve kan oksijenle temas etmediğinde yapılacak ölçümler kanın empedansını belirliyor ve empedansı sabit olarak, yazılan programda gösteriyor. Yeni alınmış kanda ve bir gün önceden alınmış kanda yapılan ölçümler, tüpün kapağı açılmadan üzerindeki Şekil 30 görüldüğü gibi lastik tıpyaya iki tane iğne elektrot batırarak ve tüpü başı aşağı tutarak ölçme yapmanın uygun olacağını gösteriyor.



Şekil 30 Test tüpünün lastik başlıklı kapağı

Bundan sonra elektrotlar birbirine değmemek şartıyla kana dokunmalıdır. Bu zaman kanın empedansın otomatik olarak ölçülecek ve yazılan programa yansiyacaktır. Bu tür ölçümler yapıldığı zaman oksijenle temas etmeyen kanın empedansının hızla değiştiği görünmüyor. Bunun yerine pıhtı ve normal kanın empedansları sabit olarak ekranda gösteriliyor.

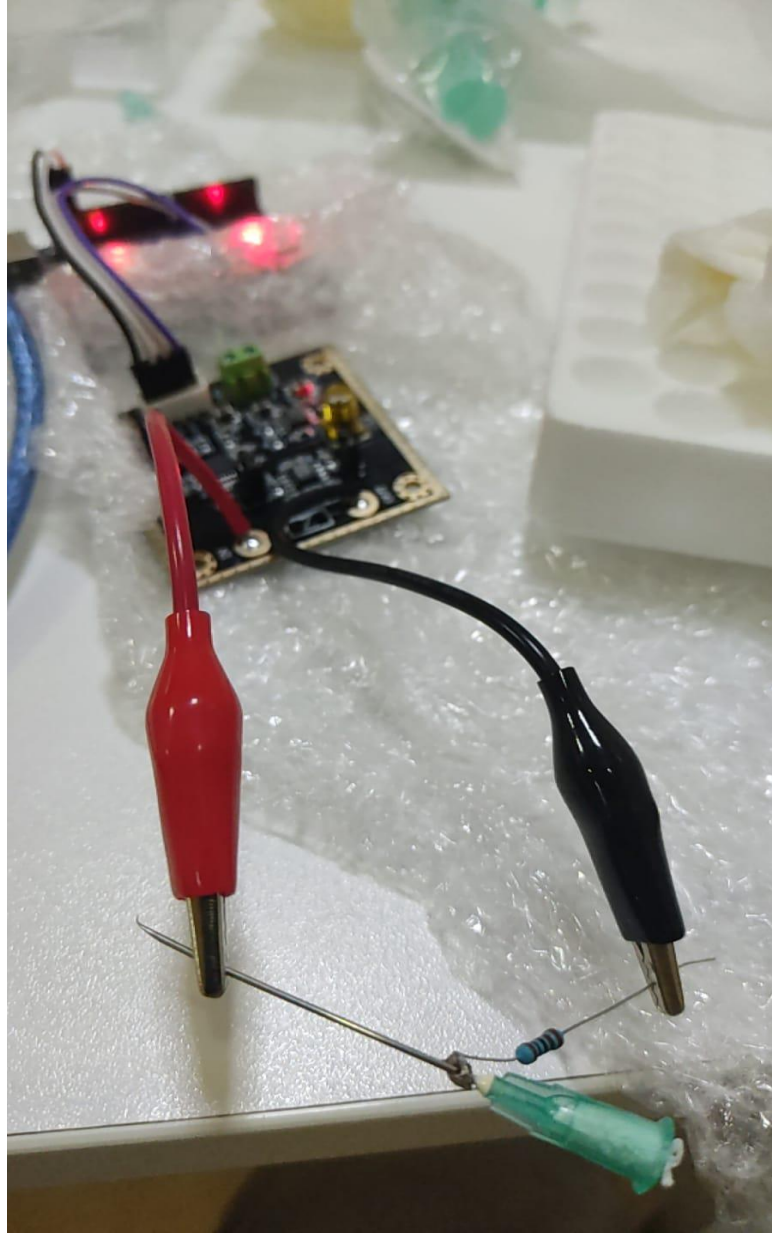
Normal kanın empedansı 100Ω dan daha aşağı olduğu için, cihazı ona göre kalibre etmek gerekiyor. AD-5933 cihazında daha küçük empedansları ölçebilmek için cihazın üzerinde olan direnci aşağıya indirmekle veya çıkışına voltaj düşürücü tampon kuvvetlendirici ekleyerek daha küçük ölçmeleri yapmak mümkündür. Bu değişiklikler sırasında, cihaz çok hassas olduğu için AD-5933 mikro çipinde statik elektrik yüzünden bozulmalar gözlemlenebilir. O yüzden cihaza elle temas etmemek ve AD-5933 şemasında mikro çipe zarar vermeyecek şekilde şemaya ilaveler etmek gerekiyor. Ölçülecek direnç değeri $1 k\Omega$ 'un üzerinde olduğunda herhangi bir değişikliğe ihtiyaç yoktur. Bunun için elektrotlar bağlanan bacağın birine $1 k\Omega$ 'luk bir direnç bağlamayarak ölçme yapmak ve sonra ölçülen değerden $1 k\Omega$ 'u çıkararak kan empedansını bulmak en kestirme yol olarak belirlendi.

3.2.2. Kapalı Tüpteki Kan Örneğinde Empedans Denemeleri

Bu deneyde kanın empedansını ölçmek için şırınga iğnelerini elektrot olarak kullanacağız. Bunu sebep kan alma tüplerinin ağzını açmadan kanın empedans değerini ölçülebilmektir. Çünkü kan alma tüplerinin ağzı açıldığında oksijenle temas eden kan empedansı hızla yükseliyor ve kanın pıhtılaşması durumu hızla artıyor. Bu

yüzden iğne elektrotları birbirine dokunmayacak şekilde kan alma tüpünün içerisine tam şekilde yerleştirilerek kanın empedansını ölçmeye çalışacağız.

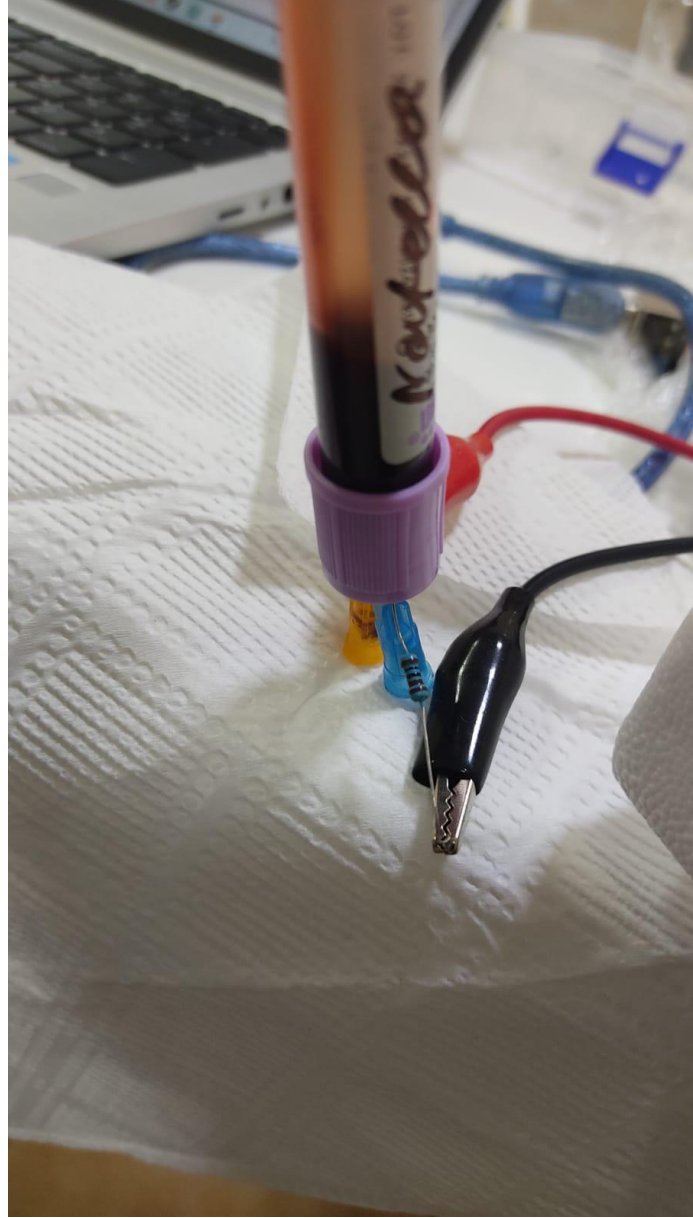
AD 5933 sisteminde yanlış ölçmelerin önüne geçmek için, yukarıda da belirtildiği gibi, kullanacağımız iğne elektrotlardan birine Şekil 31 de gösterildiği gibi 1 k Ω luk bir direnç bağlıyoruz. Bundan sonra elektrotları birbirine değdirerek cihazın kalibrasyonunu yapıyoruz.



Şekil 31 İğne elektroda direnç bağlanarak kalibrasyon yapılması

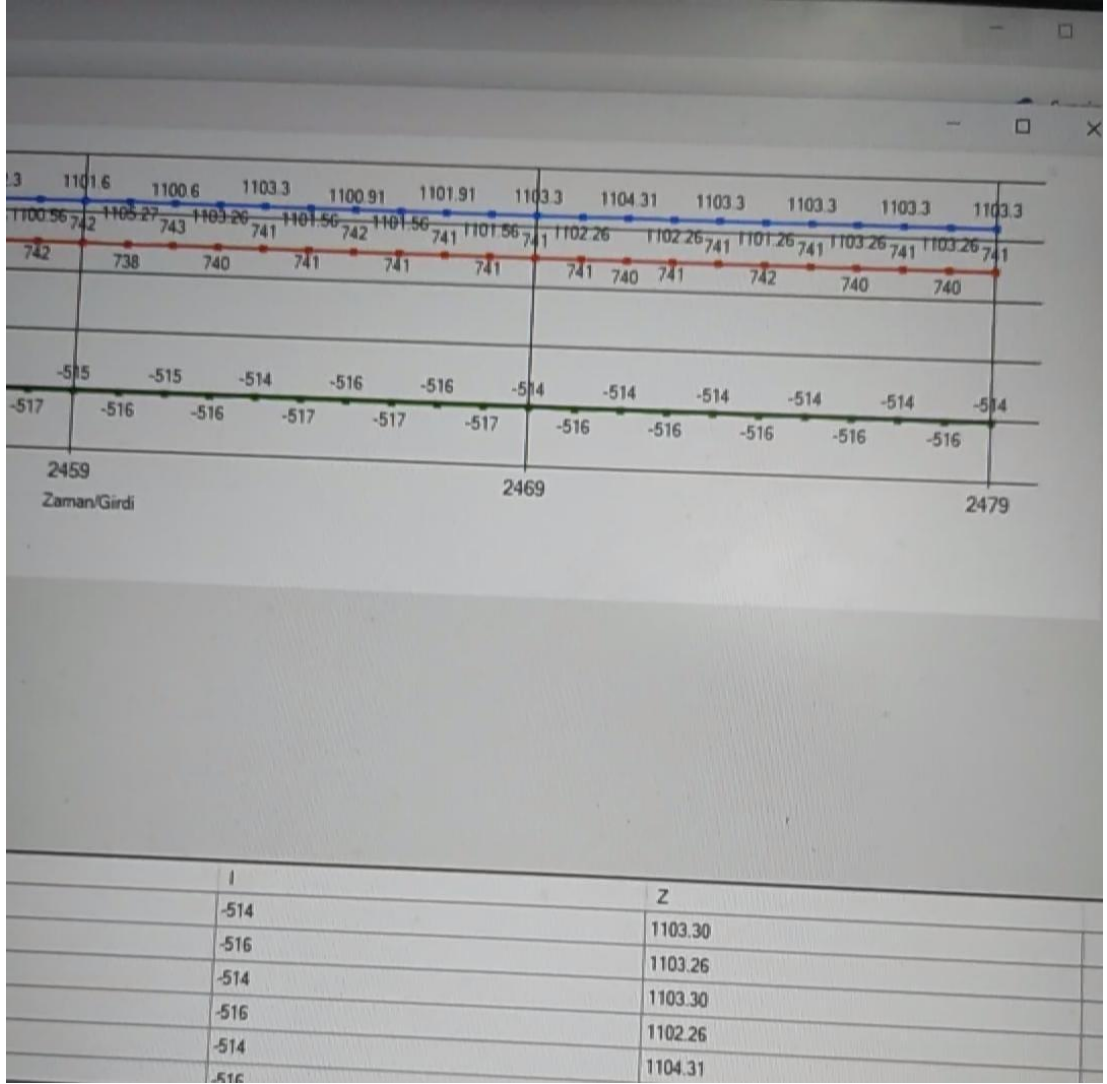
Ölme sırasında kanın empedans değeri 1 k Ω artı kanın empedansı olarak belirlenecektir. Direncin bir ayağını cihaza, yani empedans ölçer sistemin bir ayağına

bağlıyoruz. Diğer elektrodu ise empedans ölçer sistemin ikinci ayağına bağlıyoruz. Daha sonra Şekil 32 de görüldüğü gibi kan alma tüplerinin üzerinde olan lastik kapağı delerek elektrotları birbirine dokunmamaları ve kana temas etmeleri şartı ile tüpün içerisine tam şekilde daldırıyoruz.



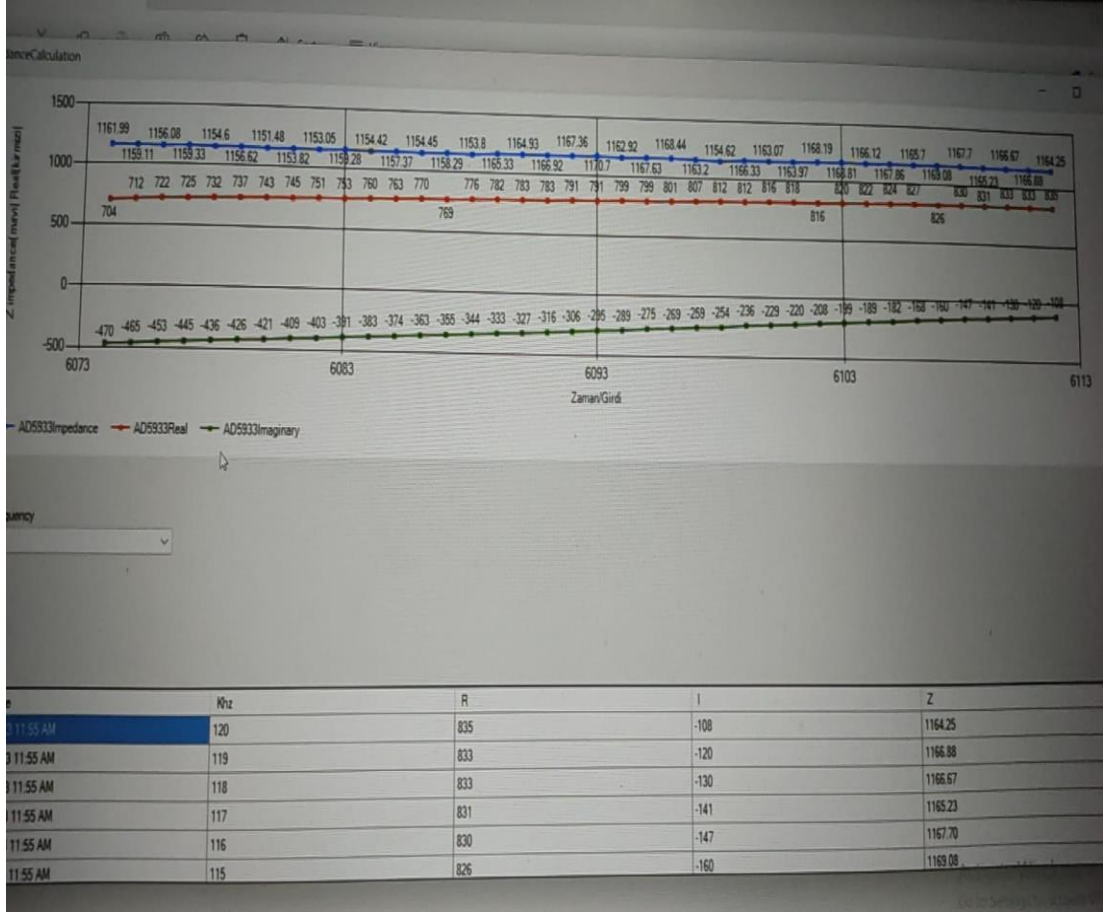
Şekil 32 İğne elektrodun kan alma tüpüne batırılması

Aldığımız sonuç ekranda belirtiliyor. Yeni alınmış kanın empedansının $103,5 \Omega \pm 1\Omega$ olduğunu gözlemliyoruz. Yaptığımız deney sırasında, Şekil 33 de sergilendiği gibi oksijenle temas etmeyen kanın empedansının pek değişmediğini görüyoruz.



Şekil 33 Oksijenle temas etmeyen normal kanın empedans değeri

Şimdi ise birkaç gün önceden alınmış kanın empedansını ölçerek teyit edelim. Bunun için ilk deneyde yaptığımız gibi iğnelerin steril olmasına dikkat ediyoruz ve onları değiştirerek yeniliyoruz. Aynı şekilde elektrot gibi kullanacağımız iğnelere birinin bacağına 1 k Ω luk bir direnç bağlıyoruz. Ve bu direncin diğer ucunu ölçüm yapacağımız cihazın yani AD5933'ün bir bacağına bağlıyoruz. Diğer iğne elektrodu ise cihazın diğer bacağına bağlıyoruz. Sonra kan alma tüpünün üzerindeki lastiğe iğne elektrotları yine kana tam temas edecek şekilde ve birbirine dokunmayacak şekilde batırıyoruz. Ölçmeleri gerçekleştirdikten sonra sonuçların Şekil 34 de ekranda yansıdığını görüyoruz. Birkaç gün önceden alınmış kanın empedansını 166 $\Omega \pm 2\Omega$ olduğunu gözlemliyoruz. Değerler yine aynı şekilde 1 k Ω artı kanın ölçülen empedans değeri olarak ekrana yansımaktadır.



Şekil 34 Birkaç gün önceden alınmış kanın empedans değeri

Yeni alınmış kanla birkaç gün önce alınmış kan arasında empedans farkı mevcuttur. Buna sebep birkaç gün önce alınmış kan içerisinde artık kimyasal değişikliklerin başlamasıdır (buna pıhtılaşma da dahildir). Tecrübe zamanı kanın empedansının iğne elektrotları ile ölçüm sırasında empedansın sabit kaldığını ve ölçmelerin sabit şekilde devam ettiğini gözlemliyoruz. İkinci deneyde yaptığımız gibi kan alma tüplerinin kapağını açmadan yani kanı oksijenle temasını ettirmeden empedansının ölçülmesi daha maksada uygundur. Bundan sonra böyle bir sonuç elde ediyoruz ki, kanın empedansını ölçen zaman elektrotları arasındaki mesafeye dikkat edilmeli ve elektrotlar tam şekilde kan alma tüpünün içerisine batırılmış olmalıdır. İkinci deneyimiz de başarı ile tamamlanmış durumundadır.

3.3. SİSTEMİN OLASI İYİLEŞTİRMELERİ

Prototipin işlevselliği en iyisi olmasa da sistemin temel ilkeleri çok ilginç. Ancak problemler hakkında bilgi edinmek hem donanım hem de yazılım kullanarak olası iyileştirmeler hakkında bazı fikirler verdi.

3.3.1. Geliştirilmiş Kalibrasyon Sistemi

Her ölçüm aralığı için bir set olmak üzere bir kalibrasyon/ R_{FB} direnci seti içeren bir ağ, üç adımda olması gereken kalibrasyon prosedürünü basitleştirir; ilki ölçüm aralığını tanımlar, ikincisi referans olarak işlev görür, aralığı kontrol eder ve ilk ölçüm için bir referans olur. Üçüncüsü, harici olarak bağlı kalibrasyon ve test edilen cihaza yakın değerlerde geri besleme dirençleri gerektirecektir.

3.3.2. ADC'ye Giriş Seviyesini Hesaplamak İçin Program

ADC'ye giriş seviyesini hesaplamak için bir program yapılabilir ve kritik seviyenin kontrolü olarak işlev görebilir.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4. SAHA ÇALIŞMALARI

4.1. DENEY PROTOKOLÜ VE İLK TESTLER

4.1.1. Deney Protokolü

Önceki bölümde kan empedansı yoluyla pıhtılaşma durumunu ve sürecini incelemek için tasarlanan sistemim tasarım detayları ve laboratuvar denemeleri verilmişti. Denemelerin sonuçlarının karşılaştırılabilmesi için bir deney protokolü hazırlanmış ve hematoloji laboratuvarında gerçek kan örnekleri üzerinde testler yapılmıştır. Bu çalışmalarda hava ile temas etmeyen EDTA içerikli kapalı tüplerdeki 2 ml kan örnekleri kullanılmış ve önceki bölümde anlatılan iğne elektrotlarla ölçme yapılmıştır. Kan alımı sırasında kanın işaretli çizgiye kadar doldurulmasına özellikle dikkat edilmelidir [20]. Her ölçümden tüp yavaşça alt-üst edilerek 5-6 kez karıştırılmış, santrifüj ve çalkalama işleminden kesinlikle kaçınılmıştır.

4.1.2. Taze Kan ve Bekletilmiş Kan Örneklerinde Ölçmeler

4 adet yeni, 1 adet bir gün önce ve 5 adet iki hafta önce alınmış kan örneklerinde empedans ölçmeleri yapılmıştır. Kan örnekleri farklı kişilerden alındığından ölçümlerde kişisel etkiler olasıdır. Yeni alınmış kan örneklerini **A, B, C, D** 1 gün önce alınmış kan örneğini **E** ve iki hafta önce alınmış kan örneklerini **X, Y, Z, V, K** olarak belirliyoruz. Yeni alınmış **A** kan örneğinde Şekil 35'te görüldüğü gibi empedans değeri $135 \Omega \pm 0,5 \Omega$ olarak belirlenmiştir. Diğer kan örneklerindeki empedans değerleri ise (**B, C** ve **D**) sırasıyla $140 \Omega \pm 1,5 \Omega$, $115 \Omega \pm 1 \Omega$ ve $116 \Omega \pm 2 \Omega$. **E** deki kan örneği için empedans $87 \Omega \pm 2 \Omega$ elde edilmiştir. İki hafta önce alınan kan örneklerinde ise empedanslar (**X, Y, Z, V, K**) sırasıyla $165 \Omega \pm 1,5 \Omega$, $162,5 \Omega \pm 1,5 \Omega$, $216 \Omega \pm 2 \Omega$, $218 \Omega \pm 2 \Omega$ ve $216,5 \Omega \pm 1,5 \Omega$ olmaktadır.



Şekil 35 "A" kan örneğinin empedans değeri

Ölçümlerin ortalama değerleri, grup ortalamaları ve standart sapma değerleri Tablo 2’de özetlenmiştir. Taze kan örneklerinde **A** ile **B** ve **C** ile **D** birbirine çok yakın değerlerdir. Aynı şekilde iki haftalık kan örneklerinde de **X** ile **Y** ve **Z**, **V** ile **K** birbirine çok yakın değerler olarak gözlemlenmektedir.

Tablo 2 Taze ve bekletilmiş kan örneklerinde empedans değerleri

	Taze kan örnekleri						
Örnek	A	B	C	D		Ortalama	Standart Sapma
Empedans (Ω)	135	140	115	116		126,5	11,2
	Bir günlük kan örneği						
Örnek	E						
Empedans (Ω)	87						
	İki haftalık kan örnekleri						
Örnek	X	Y	Z	V	K	Ortalama	Standart Sapma
Empedans (Ω)	165	162,5	216	218	216,5	195,6	26

Kan örnekleri aynı laboratuvar koşullarında alınıp saklandığına göre farklılık örneklerin alındığı deneklerdeki hematolojik yapısal farklılıktan kaynaklanmaktadır. Denekler hakkında ek bir bilgi bulunmadığından bu konuda yorum yapmak mümkün değildir. Benzer durum bir günlük kan örneği **E** için de geçerlidir. Sınırlı sayıda

örnekle yapılan bu çalışma kanın laboratuvar şartlarında saklanması durumunda bile zaman için empedans değerlerinde kayda değer bir artış olduğunu göstermektedir.

4.2. AYNI KAN ÖRNEKLERİNDEKİ EMPEDANS DEĞİŞİMLERİNİN İZLENMESİ

Kan empedansını ölçmedeki en önemli konulardan bir tanesi kanın zaman içinde pıhtılaşma hızını belirlemektir. Yukarıdaki çalışmada farklı deneklerden alınan kan örnekleri farklı zamanlarda değerlendirilmiş ve zamanla empedansın arttığı sonucu elde edilmiştir. Bu durumu netleştirmek ve AD5933 bazlı geliştirilmiş kan empedansı ölçüm tekniğinin uygulanabilirliğini göstermek için aynı deneklerden alınan kanlardan zaman içindeki empedans değişikliklerini izleme deneyleri tasarlandı ve gerçekleştirildi.

4.2.1. Deneylere Hazırlık

Deneyler önceki şu hazırlıklar yapıldı:

1. Cihazın bağlantıları: AD5933 cihazı, bir mikrodenetleyici, bir veri dönüştürücü ve bir direnç ölçerden oluşur. Kanın empedansını ölçmek için, elektrotlar kullanılarak cihazın direnç ölçer bölümüne bir bağlantı yapıldı. Bu elektrotlar, ölçüm yapılacak kan örneğine yerleştirilirdi.

2. Kalibrasyon: AD5933, öncelikle bir kalibrasyon işlemine tabi tutuldu. Bu, cihazın ölçüm doğruluğunu artırmak için yapılır. Kalibrasyon işlemi, 1 k Ω 'luk bir referans direnci kullanılarak gerçekleştirildi.

3. Ölçüm işlemi: Kalibrasyon tamamlandıktan sonra, ölçüm işlemi başlatıldı. Bu işlem, cihazın analog-dijital dönüştürücüsünün kullanılmasıyla gerçekleştirilir. Kanın empedansındaki değişiklikler, ölçüm verileri olarak cihaz tarafından kaydedildi.

4. Veri analizi: Elde edilen veriler daha sonra analiz edildi. Ölçüm sonuçları, kanın empedansındaki değişiklikleri gösterir. Bu veriler, tromboz gibi kan hastalıklarının teşhisi ve takibi için kullanılabilir.

4.2.2. Kan Alımı İşlemleri

Kanın empedansını ölçmek için kan alma tüpüne elektrotlar yerleştirilmesi, doğru sonuçlar elde etmek için özenli bir şekilde yapılması gereken bir işlemdir. İşlem aşağıdaki adımlarla gerçekleştirildi:

1. Kan alınacak bölgenin sterilize edildi: Kan alınacak bölge, kolun iç kısmı, alkol veya antiseptik solüsyon ile sterilize edildi.

2. Kan alma tüpü seçildi: Kan alımı için boyut: 13x75 mm olan 2 ml plastik EDTA içerikli bir kan alma tüpü seçildi.

3. Elektrotların yerleştirildi: Empedans ölçümü yapılacak olan elektrotlar, kan alma tüpü içine yerleştirilir. Elektrotlar olarak ölçüleri çapı 23G ve uzunluğu 1,25 inç olan şırınga iğneleri kullanıldı. Elektrotlar, kan tüpünün kapağının lastik kısmı şırınga iğnesi ile delinerek yerleştirilir ve elektrotların tüpün içinde kalması sağlanır (Şekil 32).

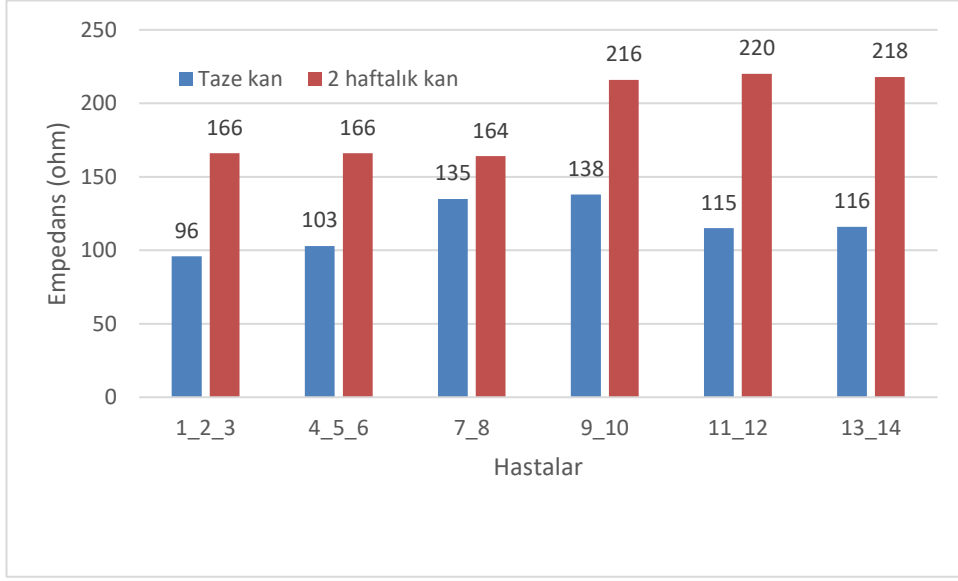
4. Empedans ölçümü: Kan alma işlemi tamamlandıktan sonra, elektrotlar tüpün içine yerleştirilir ve tüp ters çevrilerek elektrotlar arasında oluşan empedans ölçümleri gerçekleştirildi. Empedans ölçümü, AD5933 cihazı kullanılarak yapıldı.

4.2.3. Hastalardan Alınan Kanların İzlenmesi

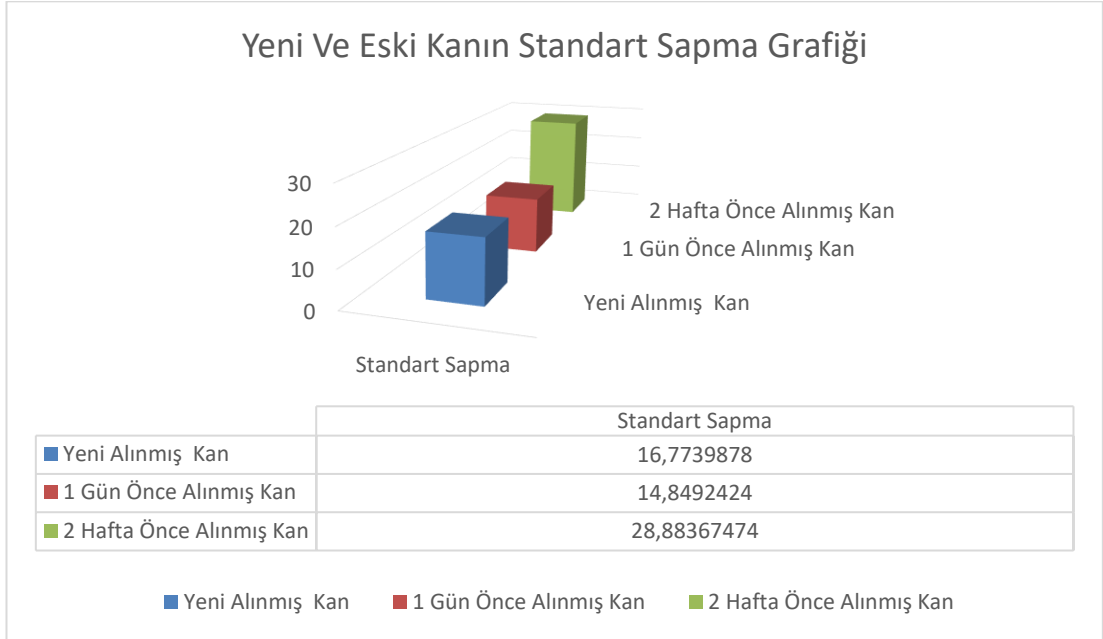
14 hastadan alınan kan örneklerinde AD5933 cihazı ile empedans ölçmeleri gerçekleştirildi. Bu hastalardan 6 tanesinin kanı alındıktan sonra, 2 tanesinin kanı bir gün bekletildikten sonra, 6 tanesinin kanı ise 2 hafta bekletildikten sonra empedans ölçümü yapıldı. Hastalardan alınan kan örneğinde yapılan empedans ölçümü sırasında belirlenen sonuçlar Tablo 2 de listelenmiş ve Şekil 36'da ortalama değerler ve Şekil 37'de ortalama değerlerin standart sapmaları grafik olarak gösterilmiştir.

Tablo 3 Hastalardan alınan kanın empedans sonuçları

	Hasta 1-2-3	Hasta 4-5-6	Hasta 7-8	Hasta 9-10	Hasta 11-12	Hasta 13-14
Yeni Alınmış Kan Örneği	96	103	135	138	115	116
1 Gün Önce Alınmış Kan Örneği	110	89				
2 Hafta Önce Alınmış Kan Örneği	166	166	164	216	220	218



Şekil 36 14 hastadan kan örneklerinin empedans değişimleri

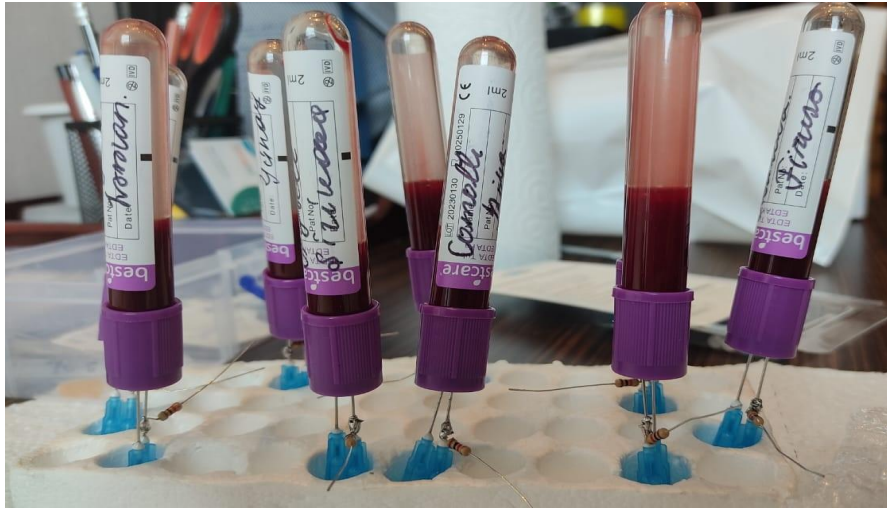


Şekil 37 Ortalama kan empedansı değerlerinin standart sapması

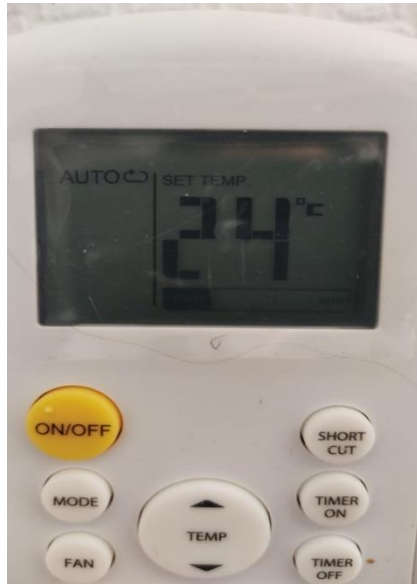
14 hastadan alınan kanların taze iken ve iki hafta sonra empedansları ölçüldüğünde zamanla empedansların ortalama değerlerinin ve ortalama değerlerdeki değişimin standart sapmalarının arttığı gözlemlenmiştir. Bir gün önce alınan kan değerindeki empedans değişikliği taze kana göre 3 hastada artmış, diğer üç hastada ise düşmüştür. Bu durum daha fazla deneyle kanıtlanmalı ve gerçek ise sebebi araştırılmalıdır. İki hafta içindeki empedans artışında bir tutarsızlık görülmektedir.

4.3. KONTROLLÜ ORTAMDA İKİ HAFTALIK DEĞİŞİM

9 hastadan alınmış kan örneklerinden 2 hafta boyunca empedans ölçmesi yapıldı. Elektrotlar tüpün içerisine 3 mm olacak şekilde batırıldı (Şekil 38). Kan örnekleri laboratuvar buzdolabında 8°C de tutuldu (Şekil 39). Örnekler ölçüm yapılacağı zaman buzdolabında çıkartılarak 30 dakika boyunca 24°C laboratuvarında (Şekil 40) bekletildi ve tüplerden sıra ile empedans ölçmesi yapıldı. 31.05.2023 – 09.06.2023 tarihleri arasında hafta sonları dışında hergün saat 15:00'da 3 dakika süre



Şekil 38 Elektrotların kan örneğine doğru şekilde batırılması



Şekil 40 Laboratuvar termometresinin göstergesi



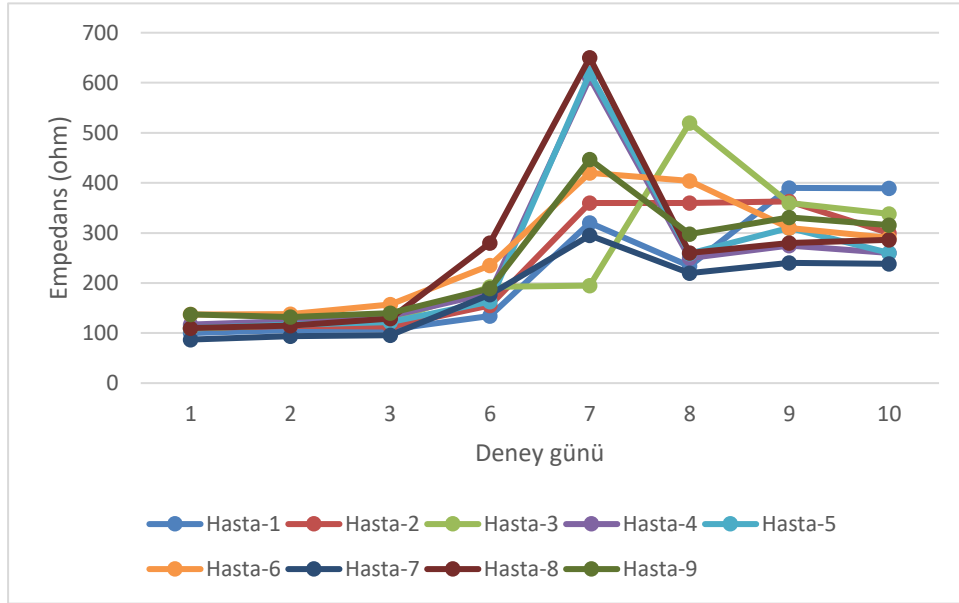
Şekil 39 Laboratuvar buzdolabının ısı göstergesi

ile 9 hastadan alınan kan örneğinde empedans ölçümü gerçekleştirildi (Tablo 4).

Tablo 4 9 kan örneğinden on günlük izlemeye gözlenen empedans değerleri

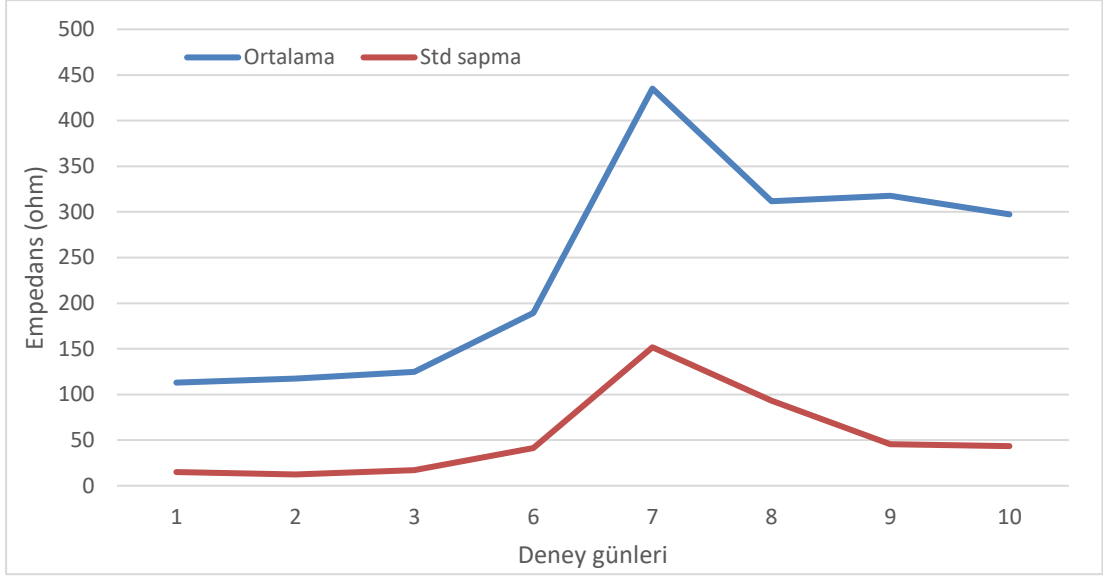
	31.05.2023	01.06.2023	02.06.2023	05.06.2023	06.06.2023	07.06.2023	08.06.2023	09.06.2023
Hasta-1	100	106	107	134	320	234	390	389
Hasta-2	110	114	113	155	360	360	363	300
Hasta-3	109	116	126	192	195	520	360	338
Hasta-4	117	124	134	180	610	250	275	260
Hasta-5	110	117	122	163	619	259	310	260
Hasta-6	137	138	157	235	420	404	310	290
Hasta-7	87	94	96	177	295	220	240	238
Hasta-8	110	115	129	280	650	260	280	286
Hasta-9	137	132	140	189	447	298	331	316
Ortama	113	117	125	189	435	312	318	297
Std. Sapma	15	12	17	41	152	93	46	43

Tablo 4 de verilen empedans değişimleri Şekil 41 de grafik olarak



Şekil 41 9 hastanın kan örneklerindeki 10 gün boyunca izlenen empedans değişiklikleri

gösterilmektedir. İlk üç günden sonra hafta sonuna gelen 4. ve 5. gün ölçüm yapılamadığından sonra ölçümler 6. günden başlamıştır. Şekil 42’de 9 hastanın kan empedanslarının ortalama değerleri ve standart sapmaları verilmiştir.



Şekil 42 Empedansların ortalama değerleri ve standart sapmalar

Başlangıçta fazla bir değişim gözlemlemektedir ama 6. günden sonra hasta-3'ün örneği dışında tüm diğer örneklerde 7. günde ani bir empedans artışı vardır. Hasta-3 örneğinde bu artış bir gün sonra ortaya çıkmıştır. Artıştan sonraki günlerde empedans değerlerinde bir düşme ve ilk günlük değerlerin birkaç katında kararlı bir duruma gelmektedir. Ortalama değerler arttıkça verilerin dağılımını gösteren standart sapmalar da artmaktadır. Empedansların ani artışı pıhtı oluştuğu ve sonraki düşüşü de pıhtıların çöküp elektrotlara değmediği anlamına gelebilir. Bu durumun biyokimya ve hematoloji uzmanları tarafından değerlendirilmesi gerekir. Yapılan deneylerin amacı proje kapsamında geliştirilmiş olan empedans ölçüm tekniğinin kan yapısı ve yapısal değişikliklerini incelemek yararlı ve uygulanabilir bir yöntem olduğunu göstermektir. Dolayısıyla, saha çalışmaları olarak yapılan deneyler projenin amacına ulaştığını kanıtlamıştır.

SONUÇ

Kan enerji kaynaklarını hücrelere taşıyan, atıkları hücrelerden uzaklaştıran, yabancı nesnelere karşı vücudu koruyan bir hayat sıvısıdır. Vücutta oluşacak herhangi bir kesi durumunda pıhtılaşma denilen bir olayla biyolojik dikiş atarak kanama durdurulmaya çalışılır. Normal işlevlerini yaparken de kanın enerji taşıyıcı hücreleri ve koruyucu hücrelerinin durumu ve yoğunluğu önemli olduğundan kan sayımı denilen testlerle bunların tespiti gerekir. Ancak, kan sayımı için kan örneklerinin alınıp sayım cihazına gelene kadar geçen sürede doğal pıhtılaşma söz konusu olduğunda sayım cihazları arıza durumuna geçer ve/veya yanlış sonuçlar verir. Dolayısıyla, kandaki pıhtılaşma olgusunun çalışılması önemli bir konudur.

Yüksek lisans tezi kapsamında geliştirilen proje ile hastalardan alınan kan örneklerindeki empedans değişikliklerinin incelenmesi ile pıhtılaşma sürecini izleme imkânı veren bir teknik geliştirilmiştir. Laboratuvarda ve gerçek kan örnekleri üzerinde yapılan çalışmalar geliştirilen tekniğin kan değerleri üzerinde yapılan araştırmalarda çok yararlı ve uygulanabilir olduğunu göstermektedir. Çalışmadan elde edilen deneyimle, mevcut yapı irdelenmiş ve bu konuda çalışmak isteyen araştırmacılara yol göstermek adına, sistemin iyileştirilmesi, ölçüm yönteminin geliştirilmesi, verilerin analizi ve uygulamada karşılaşılabilecek risk faktörleri aşağıda kısaca özetlenmiştir.

Sistem İyileştirme

Prototip olduğu haliyle, tek frekans ölçümleri, çoklu frekans ölçümleri ve spektroskopi için kullanılabilir, ancak frekans bandı biraz dardır. Bu, 200-400 kHz'e yükseltilebilirse, empedansın reel ve sanal bileşenlerini ayrı ayrı değerlendirme açısından uygulanabilirlik artacaktır. Tek bir elektrot takımı yerine bir elektrotlar dizisi yoluyla ve bu dizideki elektrotlar sıra ile taranarak örnek içindeki yoğunluk ve empedans değişikliklerini izlemek mümkün olabilir. Bu, iki giriş kontağının farklı kontaklar arasında değiştirilebildiği, iki girişli ve çoğu çıkışlı bir arayüz birimi gerektirecektir. Sabit bir uyarma kontağı için, diğer kontaklarda süpürülmüş bir ölçüm yapılmalıdır. Verilerin empedans dönüştürücüden alınması ve her çalıştırma için bir PC'de saklanması gerekir, ancak bu, mevcut yazılım koduna bazı özellikler eklenerek yönetilebilir.

AD5933, hassas bir ölçüm cihazı olduğundan, kan örneğinin kalitesi ve ölçüm koşulları sonuçları etkileyebilir. Bu nedenle, ölçüm işleminin doğru bir şekilde yapılması ve verilerin doğru bir şekilde yorumlanması için bir tıbbi uzmanın gözetiminde gerçekleştirilmesi önemlidir.

Biyo-empedans ölçümleri için yeni bir sistemin prototipi geliştirildi ve kan ölçümleri yapıldı. Tasarlanan ve uygulanan sistem, AD5933 entegre devresinin kullanımına dayanmaktadır. Bir mikrodenetleyici aracılığıyla PC işletimi için operasyonel prosedürler geliştirilmiş ve operasyonel yazılımda uygulanmıştır. 5 - 100 kHz frekans aralığında çalışan prototip, tek frekanslı ölçümler, çok frekanslı ölçümler ve spektroskopik ölçümler için çok uygundur.

Sabit bileşenler kullanılarak gerçekleştirilen doğrulama testi, sinyal döngüsündeki kazanç değişimlerine ve sinyal seviyesine çok duyarlı olan alıcı kısmındaki ADC'de meydana gelen bir doygunluk etkisinden dolayı kalibrasyon işleminin çok kritik olduğunu ortaya koydu. Bu bir problem teşkil etse de, devrenin sınırlamaları anlaşılmış ve açıklanmıştır. Güvenli ölçüm kriterleri oluşturulmuştur. Test edilen cihazın değerine yakın kalibrasyon yapılması, tekrarlanabilir ve güvenilir bir ölçümle sonuçlanmıştır.

Elektrotlar ve Onların Yerleştirilmesi

Tüm kan ölçümleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar hem bir Standart Sapma yazılım aracı hem de Temel Bileşenler Analizi için bir yazılım aracı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Her ikisi de "normal" ölçme değerlerinin ve ayrıca olası aykırı değerlerin belirlenmesinde kullanılabilecek sonuçlar verdi.

Kanın empedansını ölçmek için, özel olarak tasarlanmış elektrotlar kullanılması gereklidir. Bu elektrotlar, genellikle paslanmaz çelik veya gümüş kaplı malzemelerden yapılır. Elektrotlar, elektrot yüzeyindeki temas direncini minimize etmek için pürüzsüz bir yüzeye sahip olmalıdır.

Empedans ölçümleri için iki elektrot kullanılır. Elektrotlar, kan örneğinin yerleştirildiği ölçüm kabı içindeki farklı noktalara yerleştirilir. Elektrotlar arasındaki mesafe, ölçülen kan örneğinin hacmine göre ayarlanmalıdır.

Empedans ölçümü için kullanılan elektrotlar, hijyenik ve steril bir şekilde tutulmalıdır. Elektrotların temizlenmesi ve sterilizasyonu, ölçüm sonuçlarını doğru

bir şekilde elde etmek için önemlidir. Ayrıca, ölçüm kabı da sterilize edilmelidir ve ölçüm kabı içindeki kan örneği, kontamine olmadan önce ölçüm yapılmalıdır.

Kanın empedansını ölçmek için kan alma tüpüne elektrotların yerleştirilmesi, doğru mesafede ve konumda yapılması önemlidir. Empedans ölçümü yapmak için elektrotların arasındaki mesafenin belirlenmesi, ölçüm yapılacak olan cihaza, kullanılacak elektrotlara ve ölçümün amaçlarına göre değişebilir.

Genel olarak, kanın empedansının ölçümü için elektrotlar arasındaki mesafe, kanın akış yönüne dik olarak yerleştirilir. Elektrotlar tüpün içerisine 3 mm olacak şekilde yerleştirilir. Elektrotların arasındaki mesafenin ortalama değeri, yaklaşık 1 cm ile 2 cm arasında olabilir. Empedans ölçümü yapılacak olan cihazın üreticisinin önerileri ve kullanım kılavuzunda belirtilen talimatlar doğrultusunda elektrotların mesafesi ayarlanmalıdır.

Elektrotların yerleştirilmesi sırasında, elektrotların tüpün içinde tamamen daldırılması ve kan ile temas halinde olduğundan emin olunmalıdır. Ayrıca elektrotların, tüp içinde hareket etmesini önlemek için sabitlenmesi veya tutturulması önerilir. Empedans ölçümü yapmadan önce, elektrotların temizliği ve sterilizasyonu da yapılmalıdır. Bu işlem, doğru sonuçlar elde etmek için önemlidir.

Empedans Ölçümü

Kanın empedansını ölçmek için kan alma tüpüne elektrotlar yerleştirilmesi, doğru sonuçlar elde etmek için özenli bir şekilde yapılması gereken bir işlemdir. İşlem aşağıdaki adımlarla gerçekleştirilebilir:

1. Kan alınacak bölgenin sterilize edilmesi: Kan alınacak bölge, örneğin kolun iç kısmı, alkol veya antiseptik solüsyon ile sterilize edilmelidir.

2. Kan alma tüpünün seçilmesi: Kan alımı için uygun boyutta bir kan alma tüpü seçilmelidir. Kan tüpü, empedans ölçümü için tasarlanmış özel bir tüp de olabilir.

3. Elektrotların yerleştirilmesi: Empedans ölçümü yapılacak olan elektrotlar, kan alma tüpü içine yerleştirilir. Elektrotlar, kan tüpünün alt kısmına yerleştirilir ve elektrotların tüpün içinde kalması sağlanır.

4. Kan alma işlemi: Kan alma işlemi, elektrotlar yerleştirildikten sonra yapılır. Kan alma iğnesi, kan tüpüne yerleştirilir ve kan alma işlemi gerçekleştirilir. Kan, elektrotların arasından geçerek ölçüm yapılacak alana ulaşır.

5. Empedans ölçümü: Kan alma işlemi tamamlandıktan sonra, elektrotlar arasında oluşan empedans ölçümleri gerçekleştirilir. Empedans ölçümü, özel bir cihaz kullanılarak yapılabilir.

Yukarıdaki adımlar, kanın empedansının ölçümü için temel bir rehberdir. Empedans ölçümü için kullanılacak cihaz ve yöntemler, ölçüm amacına, ölçüm yapılacak numunenin cinsine ve kullanılacak elektrotlara göre değişebilir.

Cihaz performansında bazı sınırlamalar olsa da belirlenen hedeflerin tümü karşılanmıştır. Uygulanan ilkeler, bilgi erişimi için istatistiksel olarak işlenebilen büyük miktarda verinin toplanmasına izin vererek umut vericidir. Bazı donanım geliştirmeleriyle, vücutta hastalık teyidi, gıda kontrolü ve bitki ölçümleri, vitamin yetmezliği, kanda virüslerin teyit edilmesi gibi diğer alanlar için de ilgi çekici olabilecek çok çekici, düşük maliyetli bir sistem yapılabilir.

Ölçmenin Şekillendirilmesi

AD5933 ile ölçüm yaparken, iğne elektrotlar kan örneği içine tamamen daldırılmaz. Elektrotlar, kanın içine girecek şekilde yerleştirilir, ancak tamamen daldırılmazlar. Elektrotların uçları kan örneğiyle temas etmek üzere tasarlanmıştır, ancak elektrotların tamamı kan içine sokulmaz. Elektrotlar, kan örneğiyle doğrudan temas etmek ve empedans ölçümü yapmak için yüzeye yakın bir noktada yerleştirilir. Bu, empedans ölçümlerinin istenen derinliği veya alanı hedeflemesini sağlar. Elektrotlar, kan örneği içinde bulunan elektrolitik çözeltilerin ve iyonların etkileşimiyle empedansı ölçer.

Elektrotların yerleştirilmesi, elektrotların ucunun keskin ve düzgün olmasını gerektirir. Ayrıca, elektrotlar arasındaki mesafe de ayarlanabilir olmalıdır. Elektrotların yerleştirilmesi, dikkatli bir şekilde yapılmalı ve hijyenik koşullara dikkat edilmelidir.

Ölçüm yaparken, elektrotların kan örneğiyle iyi bir temas sağladığından emin olmak önemlidir. Doğru elektrot yerleşimi ve iyi bir temas, doğru ve güvenilir empedans ölçümlerinin elde edilmesine yardımcı olacaktır.

AD5933, genellikle 100 Hz ile 100 kHz arasında bir frekans aralığında empedans ölçümü yapmak için kullanılır. Bu frekans aralığı, çoğu biyolojik materyalde (kan dahil) empedansın ölçülmesi için uygun kabul edilen bir aralıktır.

Ancak, hangi frekansın kullanılacağına karar verirken dikkate almanız gereken bazı faktörler vardır:

1. Ölçülecek materyalin karakteristiği: Ölçüm yapmayı planladığınız materyalin elektriksel karakteristiği önemlidir. Kan gibi biyolojik örnekler genellikle düşük frekanslarda daha yüksek empedansa sahiptir. Dolayısıyla, düşük frekans aralığında (örneğin, 1 kHz veya daha düşük) empedans ölçmek daha uygundur.

2. Hedeflenen ölçüm parametresi: Ölçüm yaparken hangi ölçüm parametresini hedeflediğiniz de önemlidir. Örneğin, hücrelerin empedansının değişimini gözlemlemek veya biyolojik süreçleri incelemek istiyorsanız, daha geniş bir frekans aralığında ölçüm yapmanız gerekebilir.

3. Uygulama gereksinimleri: Ölçüm yapmayı planladığınız uygulama gereksinimlerini göz önünde bulundurmanız önemlidir. Örneğin, bir biyosensör tasarlıyorsanız, belirli bir frekans aralığında çalışmak üzere tasarımınızı buna göre ayarlayabilirsiniz.

Sonuç olarak, kanın empedansını ölçerken genellikle 100 Hz ile 100 kHz arasında bir frekans aralığı kullanılır. Ancak, ölçüm yapmayı planladığınız materyalin karakteristikleri, hedeflenen ölçüm parametresi ve uygulama gereksinimleri gibi faktörleri dikkate alarak, frekans aralığını daha spesifik bir şekilde belirlemelisiniz.

Risklerin analizi

AD5933 ile ölçüm yaparken, iğne elektrotların kanın içine tamamen daldırılması beklenmemelidir. Elektrotların tamamen kanın içine daldırılması bazı riskleri ve sorunları beraberinde getirebilir:

1. Kontaminasyon riski: Elektrotların tamamen kanın içine daldırılması, kan örneğinin dış ortamdan kontamine olma riskini artırabilir. Bu, yanlış sonuçlara veya örneğin bozulmasına neden olabilir.

2. Hasar riski: Elektrotların tamamen kanın içine daldırılması, kanın içerdiği hücrelere veya diğer bileşenlere zarar verebilir. Kan örneği içindeki hücrelerin veya diğer bileşenlerin fiziksel baskıya veya hasara maruz kalması, ölçümlerin yanlış olmasına neden olabilir.

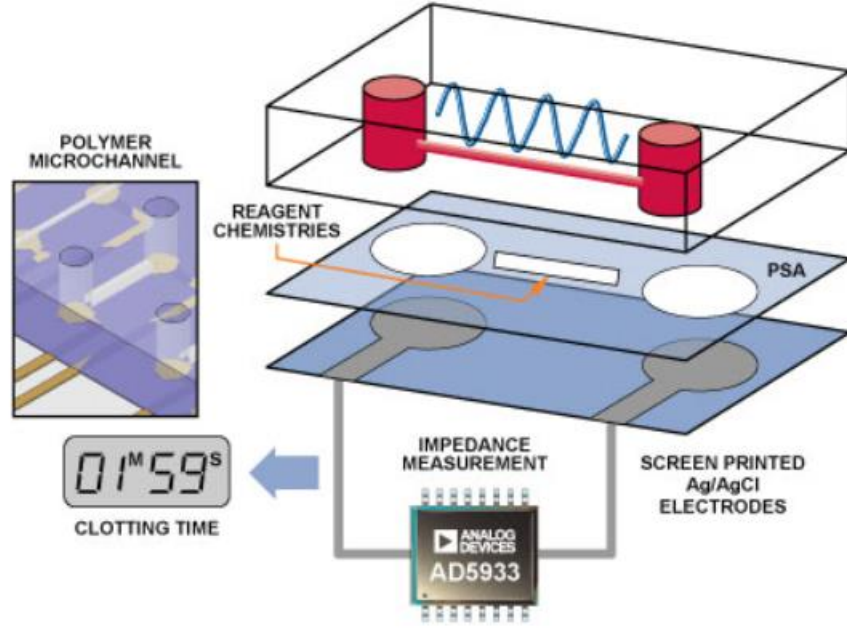
3. Elektrotların kirlenmesi: Elektrotların tamamen kanın içine daldırılması, elektrotların doğru şekilde temizlenmesini veya sterilizasyonunu zorlaştırabilir. Bu da ölçümlerde yanlış sonuçlara neden olabilir.

K3EDTA içeren bir tüpte bulunan 2 ml kanın empedansını ölçerken genellikle 80 kHz frekansı, iyi sonuçlar elde etmek için yaygın bir seçimdir. Kan gibi biyolojik örneklerin empedansı, düşük frekanslarda genellikle daha yüksektir. 80 kHz frekansı, kanın empedansını ölçmek için yaygın bir frekans değeridir ve birçok araştırma ve uygulama tarafından tercih edilen bir frekans aralığıdır. Ancak, tam olarak hangi frekansın daha iyi sonuçlar vereceğini belirlemek için, deneyler yapmanız ve farklı frekanslarda empedans ölçümleri yapmanız önerilir. Bazı durumlarda, 80 kHz dışındaki frekanslar da istenen sonuçları verebilir. Ölçüm sonuçlarınızı analiz ederek ve farklı frekanslarda deneyler yaparak, hangi frekansın sizin ölçümünüz için en uygun olduğunu belirleyebilirsiniz.

Ayrıca, K3EDTA içeren tüplerde kan örneğinin empedansının ölçümünde dikkate almanız gereken diğer faktörler de vardır. Örneğin, K3EDTA'nın kanın elektriksel özelliklerini nasıl etkilediği veya örneğin sıcaklık gibi diğer deney parametreleri de sonuçları etkileyebilir. Bu nedenle, eksiksiz bir değerlendirme yapabilmek için tüm bu faktörleri göz önünde bulundurmanız önemlidir.

Tartışma

Kan empedansı ve pıhtılaşma süreçlerini incelemek için literatürde çeşitli yöntemler gözlenmektedir. Bunlardan bizim kullandığımız empedans ölçme yöntemini kullanan bir çalışmam Helen Berney ve J.J. O'Riordan tarafından yapılmış ve "Impedance Measurement Monitors Blood Coagulation" isimli bir makale ile duyurulmuştur. Adı geçen makalede kan pıhtılaşması sürecinin önemi ve özellikle kalp baypas ameliyatları sırasında kanın pıhtılaşmasının kontrol edilmesine vurgu yapılıyor. Kalp-akciğer makinesi ile çalışan bir sistemde, hastanın pıhtılaşma süresi düzenli olarak izlenerek ameliyat ve sonrasındaki pıhtılaşma ve kanama dengelemesi sağlanıyor [22].



Şekil 43. Ölçülecek kan örneğini içeren polimer mikro kanallı empedans ölçüm sisteminin şematik gösterimi. Numunenin pıhtılaşma olayını modüle eden belirli reaktiflerle etkileşime girmesine izin verir ve numune ile AD5933 enstrümantasyonu arasında arayüz oluşturur [23].

Analog Devices'in Biomedical Diagnostics Institute (BDI) ile ortak çalışarak kritik bakım ortamında tedavi gören hastalar için bir pıhtılaşma izleme cihazı geliştirdiği belirtiliyor [24]. Bu cihaz, hasta pıhtılaşma durumu hakkında hızlı ve otomatik bilgi sağlayarak hasta güvenliğini, iş akışını ve karar desteğini iyileştirmeyi hedefliyor.

Cihazın kan örneği iletimi ve ölçüm enstrümantasyonu arasındaki arayüzü tasarımı da açıklanıyor. Kan örneğinin iletimi, mikroakışkan kanal yoluyla AD5933 enstrümantasyon devresine bağlanarak gerçekleştiriliyor. AD5933 tek çipli empedans analizörü, pıhtılaşma sırasında kanın empedans değişikliklerini ölçmekte kullanılıyor ve mevcut çözümlere göre esneklik, güç ve boyut avantajları sunuyor [25].

Bu tür entegre devre teknolojilerinin mikroakışkanlar ve numune işleme gibi diğer ortamlardaki yeni teknolojilerle birleştirilmesinin gelecekte tıbbi cihaz araştırma ve geliştirme için güçlü bir platform sağlayacağı ifade ediliyor. Yazdığım tezde, biyomedikal cihazların hastalıkların teşhisinde, fizyolojik süreçlerin analizinde

ve tıbbi verilerin aktarılmasında önemli bir rol oynadığı vurgulanmaktadır. Hematolojik analizler için alınan kandaki pıhtılaşma sorunlarından bahsedilmekte ve bu durumun cihazların işlevini geçici olarak etkilediği ve kan hücrelerinin sayımında ciddi hatalara yol açtığı ifade edilmektedir.

Tez çalışmasının amacı, taşınabilir ve düşük maliyetli bir biyo-empedans analizörü tasarlayarak kanın pıhtılaşma durumunu tespit etmek ve pıhtılaşma sürecini incelemektir. Laboratuvarda sistemle yapılan empedans ölçümleri ile kanda pıhtı oluşunda meydana gelen değişikliklerin izlenebileceği belirtilmektedir. Empedans dönüştürücü analizörü, kan içinden yüksek frekanslı elektrik gerilimi uygulayarak ve ortamdaki geçen akımı ölçerek empedans değerlerini hesaplamakta ve mikroişlemci sistemiyle uyumlu gerilim üretmektedir.

Geliştirilen sistem, kan örneklerinin çeşitli etkenlerin (saklanma, taşınma, sıcaklık, antikoagülan ilaçlar ve santrifüj uygulamaları gibi) pıhtılaşma sürecine etkisini değerlendirmede kullanılabilir. Böylece, sistemin kanın alımından analiz cihazlarına konulana kadar geçen aşamalarda koşulların düzenlenmesine ve pıhtılaşma düzeyinin belirlenmesine yardımcı olabileceği ifade edilmektedir. Bu tasarım, hematolojik analizlerde daha doğru sonuçlar elde etmek ve mikro pıhtılaşmayı daha iyi anlamak için önemli bir adım olarak görülmektedir.

KAYNAKÇA

Derya Koçeri, Çiğdem KARAKÜKCÜ, Selma BULDU, Leyla ÖZ “Kayseri Şehir Hastanesi Biyokımya Laboratuvarında Hematolojik Testlere Ait Preanalitik Hatalar” JAMER 2019;4(3):100-104 Orijinal Araştırma

Pollack W, Reckel RP.A reappraisal of the forces involved in Hemagglutination. Int Archs Allergy Appl Immun. 1977; 54(1): 29-42

Eylar EH, Madoff MA, Brody OV, Oncley JL.The contribution of sialic acid to the surface charge of the erythrocyte. J Biol Chem. 1962; 237: 1992-2000

Abbas AK, Lichtman AH. Immunologia celular e molecular. 5th ed Rio de Janeiro: Saunders Elsevier; 2005. 580 p

Van Oss CJ, Absolom DR. Zeta potential, Van der Walls Forces and hemagglutination. Vox sanguinis. 1983; 44(3): 183-90

Rouger P, Salmon C. La pratique de l'agglutination des érythrocytes et du test de coombs. Paris: Masson; 1981.

Ivan Ivanov "Observations on the blood electrical conductivity changes at coagulation and under flow" 2 nd Eurosummer School on Biorheology & Symposium on Micro Mechanobiology of Cells, Tissues and Systems, Varna, Bulgaria, September 17-22, 2006.

V. F. Rusiaev . “Conductometric method of studying hemocoagulation”. Med Tekh. 1987 May-Jun (3), pp. 36-40.

L. F. Koblov, Fishelzon I. V., Pelishenko I. A. “The use of the conductometric method in studying the process of blood clot retraction”. Probl Gematol Pereliv Krovi. 1967 Jul;12(7), pp. 59-60. Russian.

A. Ur., “Changes in the electrical Impedance of blood during Coagulation”, Nature vol. 226, April 1970, pp. 269-270.

G. W. Molnar, Levine, R.L., Dennis, K.S., Kestenbaum, R.M., and Rosenbaum, J.C., Rep. US Army Med. Res. Lab., Fort Knox, 1957, pp. 267.

Brummel-Siedins, K., T. Orfeo, Jenny N. Swords, S.J. Everse, and K.G. Mann. “Blood Coagulation and Fibrinolysis.” Chapter 21 in Wintrobe’s Clinical Hematology. 11th edition. Volume 1. M.M. Wintrobe and J.P. Greer, eds. Lippincott, Williams, and Wilkins. 2004

Guest, M.M. “Circulatory Effects of Blood Clotting, Fibrinolysis, and Related Hemostatic Processes” Handbook of Physiology, Circulation III, American Physiological Society. Washington, DC. 1964

Ur, A. “Determination of blood coagulation using impedance measurements” *Biomedical Engineering* 5 (7). 1970b. 342–345

T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara, 2012. Biyomedikal Cihaz Teknolojileri, Kan Sayiminda Elektronik Sistemler 523EO0251

Bowers, John and James J. Ferguson. “Use of the Activated Clotting Time in Anticoagulation Monitoring of Intravascular Procedures.” *Texas Heart Institute Journal*. 20 (4). 1993. 258–263.

Url-1 <[http:// https://www.oneblood.org/about-donating/blood-donor-basics/what-is-blood/](http://https://www.oneblood.org/about-donating/blood-donor-basics/what-is-blood/)>, erişim tarihi 15.02.2023.

Url-2 <<http://www.medikalakademi.com.tr/hemogram-nedir-kan-sayimi-testi-neden-yapilir-degerleri-ne-olmali/>>, erişim tarihi 01.10.2022.

Url-3 <<http://www.github.com/mjmeli/arduino-ad5933>>, erişim tarihi 02.01.2023.

Bernt Jorgen Nordbotten "Bioimpedance Measurements Using the Integrated Circuit AD5933" University of Oslo Department of Physics Electronics and Computer Science June 2008

Url-4 <<http://www.analog.com/en/products/ad5933.html?doc=an-1252.pdf>>, date retrieved 29.12.2022.

Url-5 <<http://www.elab.com.tr/kurumsal-hizmetler/laboratuvar-hizmetleri/laboratuvar-ornekleri/>>, erişim tarihi 15.11.2022.

Url-6 <<https://www.analog.com/en/analog-dialogue/articles/impedance-measurement-monitors-blood-coagulation.html>> , erişim tarihi 25.07.2023.

Kost, Gerald, J., ed. Principles and Practice of Point-of-Care Testing. Lippincott, Williams and Wilkins. 2002.

Url-7 < <https://www.dcu.ie/>> erişim tarihi 25.07.2023.