

## KEDİ VE KÖPEKLERDE KAN PIHTILAŞMA SİSTEMİNİN KONTROL METODLARI

Abdülkerim Deniz<sup>1</sup>@

### Methode für die Kontrolle des Blutgerinnungssystems bei Katzen und Hunden

**Zusammenfassung:** Die Blutgerinnungssysteme werden bei Katzen und Hunden mit den bei Menschen verwendeten und auf die Veterinärmedizin angepassten Tests wie Prothrombinzeit (PT), aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) und Thrombinzeit (TT) überprüft. Diese Tests wurden aufgrund der im Vergleich zum Menschen deutlich höhere Aktivität der manchen Gerinnungsfaktoren (Faktor V, VII und VIII:C) bei Katzen und Hunden optimiert und ihre Sensitivität erhöht. Die Referenzbereiche von PT, aPTT und TT gemessen mit neuen Tests und den Standard-Tests für die Katze und den Hund wurden angegeben und die Tests wurden detailliert erklärt.

**Schlüsselwörter:** Katze, Hund, Blutgerinnung.

**Özet:** Kedi ve köpeklerde kan pıhtılaşma sistemi, insanlar için kullanılan ve veterinerlik alanına uyarlanmış, protrombin zamanı (PZ), aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı (APTZ) ve trombin zamanı (TZ) testleri ile kontrol edilmektedir. Bu testler, kedi ve köpeklerdeki bazı pıhtılaşma faktörlerinin aktivitelevlerinin (faktör V, VII ve VIII:C) insanlar ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek olmasından dolayı, optimize edilmiş ve sensitivitelevlerini artırılmıştır. Kedi ve köpek için geliştirilmiş olan yeni testle ile ve standart testlerle ölçülen PZ, APTZ ve TZ'nin normal değerelevleri verilmiş ve testler detaylı olarak açıklanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Kedi, Köpek, Kan Pıhtılaşması.

### Giriş

Yaşamsal önemi büyük olan kan pıhtılaşması, organizmanın, her hangi bir nedenle damarlardan akmakta olan kanı vücut'ta tutmak için gösterdiği en önemli fizyolojik reaksiyonlarından biridir.

Kedi ve Köpeklerde pıhtılaşma, insanlarda olduğu gibi çoğu karaciğerde sentez edilen ve glikoproteinlerden oluşan pıhtılaşma faktörlerinin bir takım sistemler tarafından aktive edilmesi sonucu gelişir (Green, 1989; Dodds, 1989; Barthels ve Poliwoda, 1993) ve antikoagülatif sistemler aracılığı ile (antitrombin III, protein C ve S) dinamik bir denge de tutulur (Green, 1989; Brooks, 1994).

Plazma fibrinojeninin trombin (faktör IIa) tarafından fibrin monomerlerine dönüştürülmesi kısaca kan pıhtılaşması olarak bilinir. Organizmada bu işlemin gerçekleşmesi, iki temel sistemin (endojen pıhtılaşma sistemi = intrinsik sistem; ve eksojen pıhtılaşma sistemi = ekstrinsik sistem), damarlardaki hasara bağlı olarak aktive edilmesi ile olur (Green ve ark., 1981; Feldmann, 1992; Barthels ve Poliwoda, 1993; Brooks, 1994).

Pıhtılaşma sistemlerinin her birinde rol oynayan faktörlerin aktivitelevlerine bağlı olarak pıhtılaşma süreleri değışiklik göstermektedir. Her bir sistemi ayrı ayrı kontrol eden, insanlarda kullanılan protrombin zamanı, aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı ve trombin zamanı gibi testler kedi ve köpeklerde de kullanılmaktadır (Lutze ve Kutschmann, 1991; Mischke ve ark., 1994b; Hart ve Nolte, 1994; Deniz, 1995). Bu testler, kedi ve köpeklerdeki bazı pıhtılaşma faktörlerinin aktivitelevlerinin insanlarınkinden farklı olmasından dolayı modifiye edilerek sensitivitelevlerinin artırılması yoluna gidilmiştir (Hart ve Nolte, 1994; Deniz ve ark., 1995; Mischke ve ark., 1996; Mischke ve Nolte, 1997). Bununla birlikte, bazı araştırmacılar (Lutze ve Kutschmann, 1985 ve 1991; Pause, 1988; Perry ve ark., 1991) bu hayvanlardaki pıhtılaşma sistemlerini, insanlarda kullanılan testler ile, metodların kullanılabilirlikleri test edilmeksizin kontrol etmişlerdir.

Bu derleme, kedi ve köpeklerde pıhtılaşma sistemlerinin kontrol edilmesi için kullanılan testlerin irdelenmesi için yapılmıştır.

## I. Kan Pıhtılaşma Sistemleri

Kan pıhtılaşma sisteminin işleyişi şekil 1'de sematik olarak verilmiştir. Pıhtılaşma, endojen (intrinsik) ve eksojen (ekstrinsik) olarak iki sistem üzerinden gelişmektedir (Green, 1989; Dodds, 1989; Feldmann, 1992; Barthels ve Poliwoda, 1993; Broks, 1994).

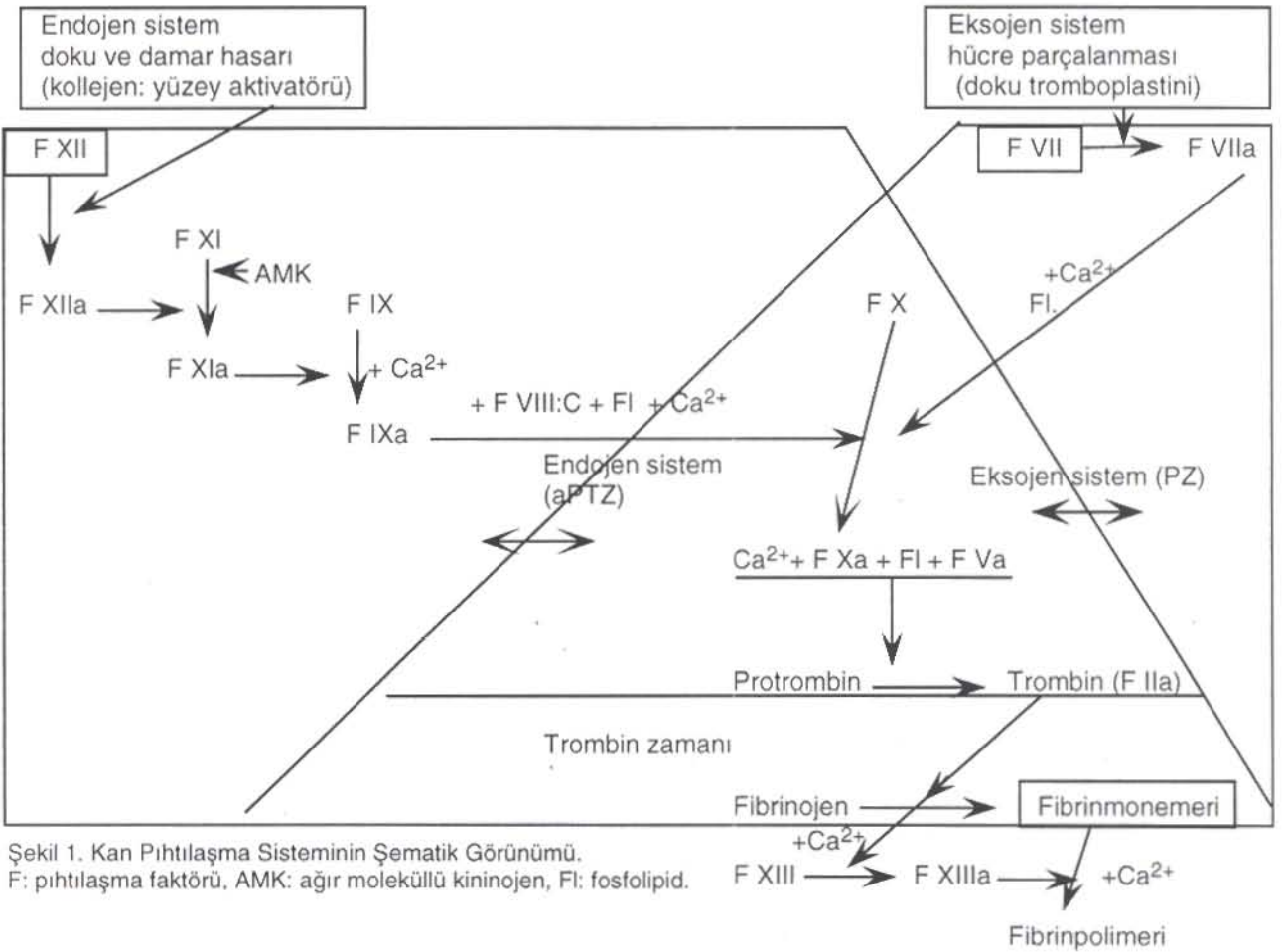
### a. Endojen (İntrinsik) Pıhtılaşma Sistemi

Bu sistem, damarların yaralanması ile ortaya çıkan subendotel dokuların, özellikle kollejenin faktör XII'yi adsorbe ederek faktör XIIa'ya aktive etmesi ile çalışmaya başlar. Sonra, faktör XIIa plazma prekallikraynını ağır molekül kininojeninde (AMK) yardımı ile kallikrayn'a dönüştürür. Kallikrayn tekrar faktör XII'yi XIIa'ya dönüştürme ve AMK'yi parçalayarak damarları genişletme etkisi olan bradikininin açığa çıkarma özelliğine sahiptir (Karlsön ve ark., 1994). Faktör XIIa AMK'nin varlığında faktör

XI'i XIIa'ya, faktör XI ise faktör IX'u IXa'ya dönüştürür. Faktör IXa faktör VIII:C,  $Ca^{2+}$  ve fosfolipidlerle birlikte faktör X'u Xa'ya çevirir (Weissbach, 1990). Pıhtılaşmanın bu aşaması eksojen sistem ile birleşir ve birlikte yürürler. Aktive olan faktör X, faktör Va,  $Ca^{2+}$  ve fosfolipidlerin varlığında protrombinin trombine aktive eder ki, trombin de fibrinojenin fibrin monomerlerine dönüşümüne olanak tanır. Oluşan fibrin monomerleri faktör XIIIa etkisi ile daha sağlam yapıdaki fibrin polimerlerine çevrilir (Feldmann, 1992; Barthels ve Poliwoda, 1993).

### b. Eksojen (Ekstrinsik) Pıhtılaşma Sistemi

Eksojen pıhtılaşma sistemi, dokularda meydana gelen hasara bağlı hücrelerden açığa çıkan, doku tromboplastininin (faktör III) faktör VII'yi VIIa'ya aktive etmesi ile çalışır. Faktör VII'nin faktör Xa ve XIIa tarafından Faktör VIIa'ya dönüştürülmesine Feedback Aktivasyon adı verilir (Barthels ve Poliwoda, 1993). Faktör VIIa,  $Ca^{2+}$  ve



Şekil 1. Kan Pıhtılaşma Sisteminin Şematik Görünümü.

F: pıhtılaşma faktörü, AMK: ağır molekül kininojen, FI: fosfolipid.

fosfolipidlerin varlığında faktör X'u Xa'ya dönüştürerek endojen sistem de olduğu gibi protrombinden trombin oluşumuna ve dolayısı ile fibrin oluşumuna olanak tanır (Dodds, 1989; Weissbach, 1990).

## II. Pıhtılaşma Sistemlerinin Kontrolü (Screening tests)

Pıhtılaşma sistemlerinin kontrolü insan hekimliğinden veteriner hekimlik alanına aktarılmış bir takım izleme testleri 'Screening Tests' adı verilen; protrombin zamanı, aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı ve trombin zamanı gibi, pıhtılaşma sistemlerini ayrı ayrı inceleyen testler ile yapılmaktadır (Green ve ark., 1981; Killingsworth ve ark., 1985; Lutze ve Kutschmann, 1985 ve 1991; Pause, 1988; Hart ve Nolte, 1994; Brooks, 1994).

Bu testlerin uygulanması her bir pıhtılaşma sistemi için ayrı reaktifler kullanılarak, koagülometre adı verilen aletlerde (örn. SCHNITGER und GROSS) gerçekleştirilebilmektedir. Uygulanan test cinsine göre, pıhtılaşma sisteminde bir hata olup olmadığı, elde edilen saniye cinsinden sürenin normal olup olmadığına bağlıdır. Normal sürelerini aşan değerler sistemde rol oynayan bir veya bir çok pıhtılaşma faktörünün aktivitesinin düştüğünü yada fibrinojen konsantrasyonunun normalden az olduğunu gösterir ki, buda pıhtılaşma bozukluğuna işaret eder (Mischke ve ark. 1994b; Hart ve Nolte, 1994; Pause, 1988; Lutze ve Kutschmann, 1991; Deniz ve ark., 1995).

### a. Protrombin Zamanı (Tromboplastin Zamanı) Testi

Protrombin zamanı (PZ) testi ile eksojen pıhtılaşma sistemi, dolayısı ile plazma faktör VII, X, V ve II aktiviteleri ile fibrinojen konsantrasyonu kontrol edilir (Gentry ve Cooper, 1979; Dodds, 1989; Feldmann, 1992; Hart ve Nolte, 1994; Brooks, 1994; Mischke, 1995b).

Kedi ve köpeklerin PZ insanlardaki ile karşılaştırıldığında oldukça kısadır (O'Rourke ve ark., 1982; Lutze ve Kutschmann, 1985 ve 1991; Hart ve Nolte, 1994; Deniz, 1995, Mischke ve Nolte, 1997). Bu sistemde rol oynayan faktörlerden pıhtılaşma faktörü V'in ve VII'nin aktivitesi insanlar ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek olması buna sebep olarak gösterilmektedir (Lutze ve Kutschmann, 1991; Karges ve ark., 1994; Mischke ve ark., 1994a). İnsanlardaki ile karşılaştırıldığında faktör V aktivitesi kedilerde 5 ila 13 kat (Lewis, 1981; Deniz, 1995), köpeklerde ise sekiz kat (Mischke ve Nolte, 1994) daha yüksektir. Faktör

VII aktivitesi ise insanlardaki ile karşılaştırıldığında, kedilerde 1.25 kat (Mischke ve ark., 1994a) köpeklerde ise dört kat (Zondag ve ark., 1985) daha yüksektir. Bu sebeple, kedi ve köpeklerde insanlarda kullanılan standart test ile ölçülen PZ, yüksek faktör V ve VII aktivitesinden kaynaklanan yanlış normal sonuçlara sebep olmakta ve bu durum testin sensitivitesini % 50'lere düşürmektedir (Mischke, 1995b; Mischke ve ark., 1996).

İnsanlarda kullanılan standart PZ testi kedi ve köpeklerde bir çok araştırmacı (Gentry ve Cooper, 1979; Lutze ve Kutschmann, 1991; Perry ve ark., 1991; Hart ve Nolte, 1994; Karges ve ark., 1994) tarafından kullanılmış, fakat testin bu hayvanlara uygunluğu konusu açıklığa kavuşturulmamıştır.

Mischke (1995b) ve Mischke ve Nolte (1997) köpeklerde ve Deniz (1995) ise kedilerde, plazmanın sulandırılması ve teste fibrinojen katılması temeline dayanan optime edilmiş bir PZ testi geliştirmişlerdir. Plazmada 1:5, 1:10 ve 1:20'lik sulandırmaların uygulandığı araştırmalar, plazmanın 1:20'lik sulandırılması ve teste fibrinojen katkısının en uygun olduğunu göstermiştir. Kedi ve köpeklerde PZ testi % 90-100'lük bir sensitivitelere ulaştırılarak eksojen pıhtılaşma sisteminin daha iyi kontrol edilmesi sağlanmıştır. Bu test ile eksojen pıhtılaşma sisteminde rol alan faktörlerin toplam % 11 - 100'lük aktivite düşüşleri duyarlı olarak ortaya çıkarılmıştır. Test ile elde edilen sonuç, teste fibrinojen ilave edilmesinden dolayı, kontrol edilen plazmadaki fibrinojen konsantrasyonuna bağımlı değildir, yalnızca faktör X, VII, V ve II aktivitelerindeki değişiklikleri ortaya çıkarır.

Kedilerde plazmanın sulandırılması temeline dayanan bir PZ testi Hart ve Nolte (1994) tarafından da geliştirmeye çalışılmış fakat, testin sensitivitesinde bir artış saptanmamıştır. Fibrinojen katkısının yapılmadığı bu testlerde, 1: 3 ve 1: 4 gibi daha düşük sulandırmaların uygulanması başarısızlık sebebi olarak görülmektedir.

Testin Prensipleri : İnsanların plasentasından veya diğer dokularından, tavşan vb. hayvanların beyin. plaseenta ve akciğer gibi dokularından ekstraksiyon ile elde edilen doku tromboplastinin kalsiyum iyonları ile karışımından elde edilen reaktifler, PZ testinin uygulanmasında kullanılmaktadır (Lutze ve Kutschmann, 1991; Karges ve ark., 1994; Mischke, 1995b; Mischke ve ark., 1996, Mischke ve Nolte, 1997). Kullanılan bu reaktiflerin çeşidine göre PZ'ları değişmektedir (Tablo 1, 2).

Test, kalsiyum tromboplastin reaktifinin koagülometredeki sitratlı kan plazmasına ilave edi-

lererek, faktör VII'nin aktive edilmesi (eksojen sistem) temeline dayanır (Barthels ve Poliwoda, 1993). Aktive edilmiş eksojen pıhtılaşma sisteminin sonunda oluşan fibrin monomerleri ile birlikte duran koagülometredeki dijital saat saniye olarak PZ'nı gösterir (Pause, 1988; Hart ve Nolte, 1994; Deniz, 1995, Mischke, 1995b).

#### PZ Testlerinin Uygulanışı

**Standart PZ Testi:** Reaksiyon tüpcüklerine konulan 100 µl sitratlı plazma koagülometrede (37°C) 1 dakika süre ile inkübe edilir. Ardından 200 µl kalsiyum tromboplastin reaktifinin (37 °C) tüpe pipetlenmesi ile birlikte koagülometredeki dijital saat çalıştırılır. İlk fibrin oluşumunu saptayacak elektrotlar tüpcükler içine yerleştirilir ve ilk fibrin oluşumu ile birlikte hareket halindeki elektrotlar durur. Koagülometredeki dijital saat PZ'nı saniye olarak gösterir (Pause, 1988; Lutze ve Kutschmann, 1985 ve 1991; Mischke, 1995b; Deniz, 1995, Mischke ve Nolte, 1997).

Tablo 1'de kedi ve köpeklerde değişik firmaların kalsiyum tromboplastin reaktifleri kullanılarak standart test ile ölçülmüş PZ'lerinin normal değerleri verilmiştir.

**Optime Edilmiş PZ Testi :** Dietil barbitürat asetat buffer'ı (DBA) ile 1: 20 oranında sulandırılmış 100 µl sitratlı plazma, 100 µl fibrinojen çözeltisi ile (2 gram/L isotonik NaCl2'de human fibrinojen) birlikte 37 °C' de koagülometrede 2 dakika inkübe edilir. İnkübasyondan sonra hemen 100 µl önceden 37°C'de en az 15 dakika ısıtılmış kalsiyum tromboplastin reaktif'i bu karışıma ilave edi-

lererek pıhtılaşma başlatılır ve aynı anda dijital saat çalıştırılır. İlk pıhtı oluşumunu hareketli olan elektrotların durması ile, koagülometredeki dijital saat PZ'nı saniye olarak gösterir (Mischke, 1995b; Deniz, 1995; Mischke ve Nolte, 1997).

Tablo 2'de kedi ve köpekde optime edilmiş PZ testi ile ölçülmüş normal değerler verilmiştir.

Plazmanın sulandırılması ve teste fibrinojen katkısı temeline dayanan optime edilmiş PZ testi, standart test'de olduğu gibi, kullanılan kalsiyum tromboplastin reaktifinin çeşidine ve üretim serisine göre de değişmektedir. Hazırlanacak bir standart PZ eğrisi yardımı ile, saniye cinsinden olan PZ %'lik birime çevrilerek, bu kriterlere olan bağımlılık bertaraf edilmektedir (Deniz, 1995; Mischke ve Nolte, 1997).

**Standart Eğrinin Hazırlanışı :** En az 40 sağlıklı hayvandan elde edilmiş sitrat plazmaların aynı miktarları karıştırılarak küçük porsiyonlar halinde (200 - 500 µl) - 30 ila - 70 °C'de dondurulur. Karışım plazması (KP) yada pool plazma adı verilen bu plazmada PZ ölçümleri en az 4 değişik günde çift olarak yapılmaktadır. Yeterli miktardaki KP porsiyonu kullanımdan kısa bir süre evvel (5 dakika) dondurucudan çıkarılarak 37°C'de su banyosunda çözündürülür. Plazmanın 1 : 20'lik sulandırması, kedi (Deniz, 1995) ve köpekde (Mischke ve Nolte, 1997) daha uygun bir sulandırma olduğundan, KP'nın sulandırma serisi hazırlanırken 1 : 20'lik sulandırma ile elde edilen PZ %100'lük pıhtılaşma aktivitesi (PZ'nın %'lik aktivitesi) olarak alınır. Bu şekilde hazırlanan KP' nın değişik sulandırmalarının (Tablo 3) PZ'ları optime edilmiş PZ testinde olduğu gibi ölç-

Tablo 1. Kedi ve Köpeklerde, Farklı Reaktifler ve Standart Test ile Ölçülmüş Protrombin Zamanının Normal Değerleri.

Reaktif Çeşiti	Reaktif İçeriği	Protrombin Zamanı (s)	
		Kedi	Köpek
Thromborel S*	Standardize Edilmiş İnsan Plazenta Tromboplastini ve Ca <sup>++</sup>	9.1-11.4	6.5-8.0
Kalzium- Thromboplastin*	Standardize Edilmiş İnsan Plazenta Tromboplastini ve Ca <sup>++</sup>	9.4-13.6	-
Neoplastin Plus**	Tavşan Beyin Tromboplastini ve Kalsiyum	9.0-12	6.5-9.0
Dade Innovin***	İnsan Doku Faktörü, Fosfolipid ve Kalsiyum	6.5-8.3	6.5-9.5
Dade Thromboplastin-IS***	Tavşan Beyin Tromboplastini ve Kalsiyum	9.5-13.5	7.0-9.5

\* Behringwerke AG Marburg, \*\*Boehringer Mannheim GmbH; \*\*\*Baxter.

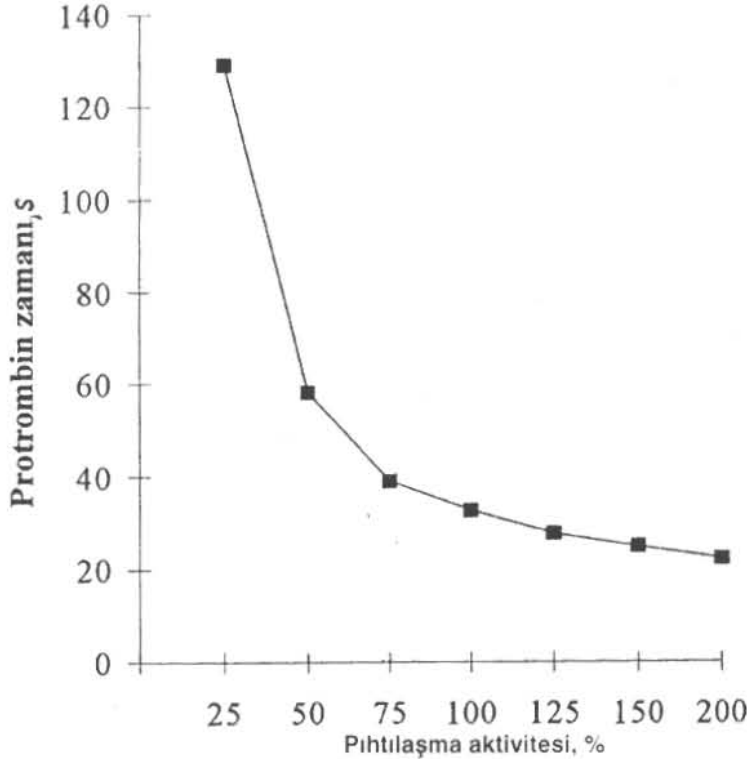
Tablo 2. Kedi ve Köpeklerde Farklı Reaktiflerin Kullanımında, Optime Edilmiş Test ile Ölçülmüş Protrombin Zamanlarının ve Pıhtılaşma Aktivitelerinin Normal Değerleri.

Reaktif Çeşiti*	Protrombin Zamanı (s)		Pıhtılaşma Aktivitesi (%)	
	Kedi normal sınırlar	Köpek ortalama $\pm$ SH	Kedi normal sınırlar	Köpek normal sınırlar
Thromborel S	25 - 49	24.67 $\pm$ 0.74	60 - 150	75 - 130
Dade Innovin	23 - 35	33.96 $\pm$ 0.90	76 - 160	-
Dade				
Thromboplastin-IS	29 - 60	-	56 - 146	-
Neoplastin plus	25 - 40	22.78 $\pm$ 0.33	63 - 134	-

\* Reaktif içerikleri ve firma adları tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 3. Protrombin Zamanını %'lik Pıhtılaşma Aktivitelerine Çevirmek İçin Kullanılan Standart Eğrinin Hazırlanması İçin Uygulanan, Karışım Plazmasının Değişik Sulandırma Faktörleri ve Pıhtılaşma Aktiviteleri.

Pıhtılaşma Aktivitesi (%)	10	25	50	75	100	125	150	200
Karışım Plazmasının Sulandırma Faktörü	1:200	1:80	1:40	1:26.7	1:20	1:16	1:13.3	1:10



Şekil 2. Tablo 3'de Verilen Kedi Karışım Plazmasının Değişik Sulandırılma Oranlarının, İnsan Plasenta Tromboplastini İçeren Reaktifini Kullanılarak, Protrombin Zamanlarının Ölçülmesi ile Hazırlanan Standart Eğri.

çülür. KP'nın her bir sulandırma serisinden elde edilen saniye cinsinden PZ'ları, uygun pıhtılaşma aktivitesine karşılık getirilerek eğri hazırlanır. Sekil 2'de kediler için hazırlanmış bir PZ standart eğrisi verilmiştir. Pıhtılaşma bozukluğunun olduğu tahmin edilen hastalarda optime edilmiş test ile ölçülen saniye cinsinden PZ bu eğri yardımı ile %'lik pıhtılaşma aktivitesine dönüştürülür.

#### b. Aktive Edilmiş Parsiyel Tromboplastin Zamanı Testi

Endojen pıhtılaşma sistemini kontrol eden aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı'nın (APTZ) ölçümü ile, pıhtılaşma faktörleri XII, XI, IX, VIII:C aktivitesindeki değişikliklerin yanında, faktör X, V ve II aktivitesi ile fibrinojen konsantrasyonundaki hatalar da ortaya çıkarılmaktadır (şekil 1). Diğer yandan AMK ve prekallikrayn konsantrasyonlarındaki değişikliklerin saptanması da APTZ'nin kapsama alanına girmektedir (Proctor ve Raport, 1961; Green ve ark., 1981, Green, 1989; Hellstern ve ark., 1989; Barthels ve Poliwoda, 1993; Brooks, 1994).

APTZ kedi ve köpekte insanlarda kullanılan standart test ile ölçülmektedir (Pause, 1988; Lutze ve Kutschmann, 1985 ve 1991; Hart ve Nolte, 1994; Karges ve ark., 1994; Deniz ve ark., 1995). Sistemde rol oynayan pıhtılaşma faktörlerinden VIII:C'nin aktivitesinin insanlardaki ile karşılaştırıldığında, kedilerde 13 kat (Mischke ve ark., 1995) - 24 kat (Lewis, 1981) ve köpeklerde ise sekiz kat (Mischke, 1995a) daha yüksek olması, APTZ'nin bu hayvanlarda daha kısa oluşunu açıklamaktadır. Buna ilave olarak, hem eksojen hemde endojen sistem dahiline giren faktör V aktivitesinin de yüksek olması, insanlara göre bu hayvanlarda pıhtılaşmanın endojen sistem üzerinden daha hızlı gerçekleşmesinde bir faktör olarak görülmektedir.

Testin endojen sistemdeki faktör aktivitelerinin değişiklikleri üzerine olan sensitivite araştırmalarında, plazmanın sulandırması (Hart ve

Nolte, 1994) ve sulandırılmış plazmaya fibrinojen katılması (Deniz ve ark., 1995) sureti ile yapılan modifiye testler avantaj sağlamamıştır. İnsanlarda olduğu gibi (Hathaway ve ark., 1979; Hellstern ve ark., 1989), köpeklerde (Mischke, 1993) ve kedilerde (Karges ve ark., 1994; Deniz ve ark., 1995) APTZ'nin ölçümü için silikat (Kaolin, Selit) içerikli aktivatör reaktifler % 100'lük bir sensitivite sağladıklarından dolayı tercih edilmektedirler. Testin kalitesi, endojen sistemdeki faktörlerin aktivitesinin çok az bir düşüşünde bile, uzayarak gösterebilmesi olarak değerlendirilmektedir (O'Brien ve ark., 1981; Brandt ve ark., 1990).

Testin Prensipleri: Testin prensibi, in vivo olarak kollejenin yaptığı görevi, in vitro olarak yerine getiren Kaolin, Ellag Asiti, Selit v.s. gibi yüzey aktivatörlerinin (Barthels ve Poliwoda, 1993) ve soya fasülyesi yada insan dokularından elde edilmiş fosfolipitlerin sitratlı plazmaya katılımı ile Faktör XII'yi aktive etme temeline dayanır. Deney tüpü içindeki plazmada faktör XII'nin aktive edilmesi, kalsiyum iyonlarının da katılımı ile endojen pıhtılaşma sistemini harekete geçirir ve fibrinojenden fibrin oluşumu gerçekleşmiş olur (Hellstern ve ark., 1989; Lutze ve Kutschmann, 1985 ve 1991; Mischke, 1993; Deniz ve ark., 1995).

Oluşan ilk fibrin monomeri ile birlikte duran koagülometredeki dijital saat APTZ'yi gösterir. Sistemde rol oynayan faktörlerden birinin veya birkaçının aktivitesinin düşük olması APTZ'nin uzamasına neden olur (Lewis, 1981; Johnstone ve ark., 1987; Mischke, 1993, Deniz ve ark., 1995).

Testin Uygulanışı: Bir çok araştırmacı tarafından (Lewis, 1981; Lutze ve Kutschmann, 1985 ve 1991, Mischke, 1993; Hart ve Nolte, 1994; Karges ve ark., 1994; Deniz ve ark., 1995) APTZ'nin ölçümünde standart test kullanılmıştır. Buna göre, 100 µl plazma ve 100 µl aktivatör reaktif (Kaolin, Sellit v.s. gibi yüzey aktivatörü içeren) 37 °C'deki koagülometrede, kullanılan reagent çeşidine

Tablo 4. Kedi ve Köpekte Değişik Reaktifler İle Ölçülmüş Aktive Edilmiş Parsiyel Tromboplastin Zamanlarının (APTZ) Normal Değerleri.

Reaktif Çeşiti	Reaktif İçeriği	APTZ (s)	
		Kedi	Köpek
Pathromtin <sup>R</sup> *	Kaolin + İnsan Plasenta Lipidi	15 - 24,5	14,5 - 19
PTT-Reagenz**	Kaolin + Cephalin	11 - 17	10 - 13
APTT-FS***	Ellag Asiti + Soya Fasülyesi Ekstratı	13 - 20	-
Dade <sup>R</sup> Actin-FS****	Ellag Asiti + Soya Fasülyesi Ekstratı	13 - 17	-

\* Behringwerke AG Marburg, \*\* Boehringer Mannheim GmbH, \*\*\* Sigma, \*\*\*\* Baxter.

göre değişebilen 2 - 3 dakika inkube edilir. Inkubasyondan sonra 100 µl CaCl<sub>2</sub> çözeltisi (kullanılan reaktif çeşidine göre değişebilen 20 yada 25 mmol/L ve 37 °C'de ısıtılmış) bu karışıma ilave edilerek endojen pıhtılaşma sistemi çalıştırılır. İlk fibrin oluşumu ile birlikte duran koagülometredeki dijital saat APTZ'yi saniye olarak gösterir.

Kedi ve köpekte bildirilen APTZ'nin normal değerleri tablo 4'de verilmiştir.

### c. Trombin Zamanı Testi

Şekil 1'de gösterildiği gibi, trombin zamanı'nın (TZ) ölçülmesi ile fibrinojen'in fibrin monomerlerine dönüşümü kontrol edilmektedir (Green, 1989; Dodds, 1989; Feldmann, 1992; Barthels ve Poliwoda, 1993; Brooks, 1994). Plazma fibrinojen konsantrasyonunun düşüklüğünde (Dodds, 1989; Mischke, 1995a), fibrin ve fibrinojen parçalanma ürünlerinin arttığında (Weiss ve ark., 1980; Hiller ve Kraft, 1985; Mischke, 1995a), disfibrinojenemi durumlarında (Mischke, 1995a) ve makroglobülin gibi paraproteinlerin (monoklonal gammopatiler) arttığı durumlarda (Feldmann, 1992), TZ patolojik olarak uzar. Bu durum, fibrinojenin fibrine dönüşümünün aksadığını, dolayısı ile bir pıhtılaşma bozukluğunun olduğunu gösterir.

Testin Prensipleri: Trombin içeren reaktifin koagülometrede bulunan tüp içindeki plazmaya katılarak fibrinojenin fibrine dönüşümü uyarılmakta ve fibrin oluşum süresi saptanmaktadır (Hart ve Nolte, 1994; Deniz, 1995; Mischke, 1995a).

Literatürde bildirilen TZ, kullanılan reaktif türüne ve metoda bağlı olarak, kedide ve köpekte farklılık göstermektedir. Tablo 5'de kediler için verilen normal TZ'leri listelenmiştir.

TZ ölçüm testi bir çok nedenden dolayı standartize edilememiştir. TZ test edilecek plazmadaki trombin konsantrasyonu ve aktivitesi ve aynı zamanda iyon kuvveti etkisi altında bulunmaktadır. Aynı zamanda, kullanılan reaktif çeşidi ve üretim serisine göre de, farklı trombin zamanı sonuçları çıkmaktadır (Mischke, 1995a). Bu, tablo 5'de kediler için verilen TZ'nin normal değerlerindeki geniş farklılıktan da anlaşılmaktadır.

Testin Uygulanışı: 100 µl sitrat plazma ve 100 µl DBA buffer'ı bir dakika 37 °C'de koagülometrede inkube edildikten sonra, 100 µl trombin reaktif'i (3 I.U/ml trombin) bu karışıma ilave edilerek fibrinojenin fibrin'e dönüşümü başlatılır. İlk fibrin oluşumu ile birlikte duran koagülometredeki dijital saatten süre saniye olarak okunur (Hart ve Nolte, 1994; Deniz, 1995; Mischke, 1995a).

Bu metot ile ve Test-Thrombin (Behring, Marburg) reaktif'i kullanarak ölçülen TZ'nin kedideki normal değeri 17.5 - 22.5 s, köpektaki normal değeri 14 - 20 s olarak bilinmektedir.

### Screening Testlerinin Klinik Önemi

Spontan veya basit travmalarda, kastrasyon ve kuyruk kesimi gibi operasyonlar esnasında rastlanan aşırı ve durdurulamayan kanamalarda, çoğunlukla doğuştan var olan bir gen defektine bağlı

Tablo 5. Kediler için Değişik Kaynaklardan Elde Edilmiş Trombin Zamanı Değerleri

Kaynak	n	x±s (s)	Normal Değerleri (s)
Allen ve ark. (1985)	5	10.9 3.7	-
Hart ve Nolte (1994)	30	16.3 1.1	14.1 - 18.5
Hiller ve Kraft (1985)	-	-	10.0 - 13.0
Johnstone ve ark. (1987)	3	6.7	-
Karges ve ark. (1994)	-	16.8	15.7 - 18.2
Killingsworth ve ark. (1985)	20	14.3 1.03	-
	26	17.8 1.3	-
Lewis (1981)	13	18.3 5.7	-
Lutze ve Kutschmann (1991)	10	21.56 3.18	-
O'Rourke ve ark. (1982)	21	-	10.7 - 18.9
Perry ve ark. (1991)	-	-	9.9 - 30.9

bir pıhtılaşma faktörü yetersizliği (Hemofili A, Hemofili B, faktör XII, faktör X ve faktör VII yetersizliği gibi) söz konusudur. Bu durumlarda uygulan bu testler patolojik olarak uzayarak, hangi sistemde faktör yetersizliği olduğunu gösterir (Lewis, 1981; Johnstone ve ark., 1987; Fogh ve Fogh, 1988; Brooks ve Dodds, 1989; Mischke, 1993; Deniz ve ark., 1995; Gookin ve ark., 1997).

Diğer yandan bir çok infeksiyöz, travmatik, tümör ve septisemik hastalıklarda ortaya çıkan, pıhtılaşma dengesinin bozulduğu, dissemine intravasal pıhtılaşmalarda da, bu testler patolojik olarak uzayarak pıhtılaşma bozukluğunu gösterir (Weiss ve ark., 1980; Hiller ve Kraft, 1985; Pause, 1988; Slappendel, 1988; Mischke ve ark., 1994b).

Kumarin gibi fare zehirleri, karaciğerde protrombin kompleksi sentezi (faktör X, IX, VII ve II) için gerekli K vitamini antagonistleri olduklarından, bu maddeler ile zehirlenmeler Protrombin kompleksi yetersizliğinden kaynaklanan hemorajilere sebep olur (Dodds, 1989; Perry ve ark., 1991; Heider ve Hart, 1993; Mischke, 1995b). Kumarin zehirlenmelerinde oluşan bu faktörlerin yetersizlikleri PZ ve APTZ'nin patolojik olarak aşırı uzamasına neden olur.

Sonuç olarak bu derlemede, kedi ve köpeklerde değişik nedenlerden kaynaklanan pıhtılaşma bozukluklarının ortaya çıkarılmasında kullanılan testler ele alınmış ve PZ testi için plazmanın 1:20 oranında sulandırılması ve teste fibrinojen katılmasının daha avantajlı olduğu, APTZ'nin ise insanlarda kullanıldığı gibi standart test ile ölçülebilirliği vurgulanmıştır. TZ testi için ise laboratuvarların bu hayvanlar için kendi belirledikleri normal değerleri kullanmaları önerilmiştir. Testlerin piyasadaki reaktif çeşitlerine uygun olarak verilen normal değerleri, pratik anlamda faydalı olabilir.

### Kaynaklar

Allen, D.G., Johnstone, I.B., Crane, S. (1985). Effects of aspirin and propranolol alone in combination on hemostatic determinants in the healthy cats. *Am.J.Vet.Res.*, 46, 660-663.

Barthels, M., und Poliwoda, H. (1993). 'Gerinnungsanalysen: Interpretation, Schnellorientierung, Therapiekontrollen'. 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Brandt, J.T., Arkin, C.H.F., Bocill, E.G., Rock, W.A., Triplett, D.A. (1990). Evaluation of aPTT reagent sensitivity to factor IX and IX assay performance. *Arc. Pathol. Lab. Med.*, 114, 135-141.

Brooks, M. (1994). Coagulation Disorders. In 'Saunders Manuel of Small Animal Practica'. Ed. Birchard, J., Sher-

ding, R.G., W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Brooks, J. Dodds, W.J. (1989). Faktor IX deficiency (hemophilie B) in two male domestic short-hair cats. *J.Am.Anim.Hosp.Assoc.*, 25, 153-155.

Deniz, A. (1995). Einzelfaktorempfindlichkeit der Thromboplastinzeit und aktivierten partiellen Thromboplastinzeit bei der Katze. Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation, Germany.

Deniz, A., Mischke, R., Nolte, I. (1995). Eignung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) als Screeningtest für gering- bis mittelgradige Gerinnungsfaktorverminderung bei der Katze. *Deut. Tierärztl. Wochr.*, 102, 206-208.

Dodds, W. J. (1989). Hemostasis. In 'Clinical Biochemistry of Domestic Animals'. Ed. Kaneko, J. J., 4. Edition, Academic press, San Diego.

Feldmann, B.F. (1992). Diagnostic approaches to coagulation and fibrinolytic disorders. *Semin. Vet. Med. Surg. (Small Animal)*, 7, 315-322.

Fogh; M.J., Fogh, I.T. (1988). Inherited coagulation disorders. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.*, 18, 231-243.

Gentry, P.A., Cooper, M.L. (1979). Reagent dependent variability of plasma clotting times in the cat. *Feline Pract.* 9, 33-37.

Gookin, J.L., Brooks, M.B., Catalfamo, J.L., Bunch, S.E., Munana, K.R. (1997). Factor X deficiency in a cat. *J.A.V.M.A.*, 211,5, 576-579.

Green, R. (1989). Hemostatic Disorders: Coagulopathies and Thrombotic Disorders. In 'Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the Dogs and Cats.' Ed. Ettinger, S. J., W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Green, C.E., Tsang, A.K., Prestwood, A.K., Meriwether, E.A. (1981). Coagulation studies of plasma from healthy domesticated animals and persons. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 1472-1477.

Heider, H.-J., Hart, S. (1993). Vorwiegend okulaere Manifestation dicumarolvergiftungsbedingter Blutungen bei einem Hund. Ein Fallbericht. *Mh.Vet.,-Med.*, 48, 339-348.

Hart, S., und Nolte, I. (1994). Hemostatic disorders in feline immunodeficiency virus- seropositive cats. *J. Vet. Intern. Med.*, 5, 355-362.

Hathaway, W. E., Assmus, S.H.L., Montgomery, R.R., Dubansky, A.ST. (1979). Activated partial thromboplastin time and minor coagulopathies. *Am. J.Clin.Pathol.*, 71, 22-25.

Hellstern, P., Oberfrank, K., Köhler, M., Heinkel, K., Wenzel, E. (1989). Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT) als Screeningtest für leichte Gerinnungsfaktorenmaengel-Untersuchung zur Sensitivitaet von verschiedenen Reagenzien. *Lab. Med.*, 13, 83-86.

Hiller, D., und Kraft, W. (1985). Fibrin- und Fibrinospaltprodukte (FSP) bei Feliner Infektiöser Pan-