

# Tavşanlarda Deneysel Yolla Venöz Tromboz Oluşturulması

Kasım ÖZLÜK\*  
Behzat NOYAN\*\*  
Orhan N. ULUTİN\*\*\*

## ÖZET

*Bu çalışmada çeşitli farmakolojik ve patolojik çalışmalara temel oluşturacak kontrollü bir trombus modeli geliştirilmesi amaçlandı. Tavşanların vena facialis ve vena jugularis externa'larını in situ olarak izole edildi. Kulak veninden çeşitli dozlarda tavşan beyin tromboplastini enjekte edildi. Staz yoluyla trombus oluşturuldu. İzole jugular ven segmenti açılarak içindeki pıhtı oluşumu subjektif olarak bir artıdan (+), beş artıya (+++++) kadar değerlendirildi. En uygun doz ve staz zamanı tesbit edilerek trombus oluşturuldu.*

## SUMMARY

### Formation of Venous Thrombosis in Rabbits Experimentally

*The aim of this study was to develop a thrombus pattern which will provide basis for several pharmacological and pathological experiments. Vena facialis and vena jugularis externa in rabbits were isolated in situ. In various doses rabbit brain thromboplastin was injected into the ear vein. Thrombus was formed by stasis. The isolated segment of vena jugularis was dissected and clot formation was evaluated subjectively as one plus (+) to five (+++++). Thrombus was formed by determining the most appropriate dose and time of stasis.*

Canlı bir organizmada kanın damarlar içinde anormal bir şekilde pıhtılaşmasına "Trombosis", oluşan pıhtıya da "Trombus" adı verilir.

- 
- \* Yrd. Doç. Dr.; U.Ü. Tıp Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı  
\*\* Arş. Gör.; U.Ü. Tıp Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı  
\*\*\* Prof. Dr.; İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Dahili Tıp Bilimleri Bölümü

Arteriel ve venöz sistemde oluşan trombuslar kanın sürekli akımı nedeniyle bağlı olduğu yerden koparılsa, dolaşımında serbestçe hareket eden pıhtılara neden olurlar. Hareket eden bu pıhtılara emboli (embolus) adı verilir. Günümüzde trombuslar ve onların embolik komplikasyonları ciddi sorunlar oluşturmaktadır.

İnsanda trombus nedenlerini Virchow üç ana başlık altında toplamış olup, bunlar Virchow triadı olarak bilinir<sup>1-4</sup>.

1- Endotel ya da Endokard lezyonu, yani bozuk ve yabancı yüzey oluşumu.

2- Herhangi bir nedenle damarlarda staz ve kan akımında yavaşlama.

3- Kanın kendisinde oluşan değişiklikler sonucu koagülasyon yeteneğinde artma.

Kan akımında yavaşlama ve durma özellikle venlerde trombusa neden olabilir. Extremitelerin uzun süre hareketsiz kalması, felçlilerde ve ameliyattan sonra hareketsiz olarak uzun süre yatanlarda ven stazından dolayı ven trombozu oluşur. Damarın herhangi bir nedenle dıştan basınca uğraması, daralma, bükülme kan akımını yavaşlatmaktan başka kanın laminar akımını bozar ve trombus oluşumuna zemin hazırlar.

Diğer yandan kan ve dokularda pıhtılaşma üzerine etkisi olan maddeler vardır. Kanın pıhtılaşp pıhtılaşmayacağı prokoagülan ve antikoagülan maddeler arasındaki dengeye bağlıdır. Normal şartlarda antikoagülanlar daha baskındır ve kan pıhtılaşmadan akımına devam eder<sup>5</sup>.

Dokuların ya da kanın travmatize olması veya kanın haraplanan endotel hücreleri ya da kollajen ve damar endoteli dışındaki doku elemanlarıyla temasa geçmesiyle kanda protrombini trombine çeviren protrombin aktivatörünün oluşumu gerçekleşir. Protrombin aktivatörü ekstrinsik olarak damar çeperi veya etrafındaki dokunun zedelenmesiyle, intrinsik olarak da kan hücrelerinin travmatize olmasıyla oluşur. Sonuçta trombin fibrinojen üzerine etki ederek fibrin monomerini oluşturur. Fibrin monomerleri de çok kısa sürede polimerize olarak her yöne uzayan fibrin iplik ağı ile bunların aralarına tutunmuş kan hücreleri ve plazma ile pıhtıyı oluşturur. Kanda pıhtı oluşuktan sonra ya eritilir veya organize olur. Pıhtı fibrinolitik sistem tarafından eritilemediğinde fibrin iplikçileri buldukları yerde daha dayanıklı bir şekil alır ve gittikçe daha da büyür. Böylece damar duvarına yapışık bir kitle olan trombus oluşur<sup>5</sup>.

Bizim çalışmamızda tavşanlarda deneysel yolla venöz tromboz oluşturulması amaçlandı. Çalışmamızın temel amacı gelecek çalışmalarda çeşitli prokoagülan ve antikoagülanların maddelerin etkisini araştırabileceğimiz bir deneysel model oluşturmaktır. Ayrıca bu çalışmamızda stazın ve tavşan beyin tromboplastininin venöz tromboz oluşumu üzerine etkilerinin gözlenmesi de amaçlandı.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deneylerimizde 2-4 kg ağırlığında 39 adet erkek ve dişi Yeni Zelanda tavşanları kullanıldı, Tavşanlar bir ay önce laboratuvarımıza getirilerek standart beslenmeye tabi tutuldu.

Deneylerimiz sırasında trombojenik ajan olarak tavşan beyin tromboplastini kullanıldı. Beyin tromboplastini laboratuvarımızda elde edildi.

Tavşan beyin tromboplastininin eldesi:



Hazırlanan beyin tromboplastini 1/20, 1/15, 1/10, 1/5 oranlarında serum fizyolojik içerisinde sulandırılarak kg. başına 3 ml olacak şekilde kulak veninden yavaş yavaş tavşanlara enjekte edildi<sup>6</sup>. Vena jugularis A ile gösterilen yerden bağlandı. 30 dakika sonra B ve C ile gösterilen yerlerden bağlanıp dışarı çıkarıldı. Segment aşağıdan yukarıya doğru yanılarak içerisindeki pıhtı değerlendirildi.






3. Grup: Uygun dozda beyin tromboplastini enjeksiyonu ile trombus oluşumu:

Vena jugularis izole edildikten sonra 2. grupta bulunan uygun beyin tromboplastini dozu kulak veninden yavaş yavaş enjekte edildi ve A noktasından staz yapıldı. 1. grupta bulunan uygun staz zamanı sonunda B ve C noktalarından staz yapılarak jugular ven segmenti çıkarıldı. Oluşan pıhtılar değerlendirildi.

Gruplarda oluşan pıhtılar + (artı bir) den +++++ (artı beş) e kadar subjektif olarak değerlendirildi (Tablo: I).

Tablo: I

Tavşanların İzole Edilmiş Jugular Ven Segmentlerinde Pıhtıların Değerlendirilmesi

PIHTI SINIFLAMASI	PIHTI İÇERİĞİ
0	Yalnız kan
+ (2.0)	 kanlı
++ (4.0)	 kanlı
+++ (6.0)	 kanlı
++++ (8.0)	 biraz kanlı
+++++ (10.0)	 hemen hemen hiç kan yok (tam pıhtı).

## BULGULAR

1. Grup: Trombus oluşumuna staz süresinin etkisinin araştırılması:

Bu grupta 10, 20, 30, 40, 50, 60 dakikalık periyotlar içinde yapılan stazlar sonucunda çıkarılan damarlarda oluşan pıhtılar değerlendirildi. 10 ve 20. dakikalarda

pıhtı oluşumu gözlenmedi. Minimal değerde pıhtıların ancak 30. dakikadan itibaren oluştuğu ve zamanın ilerlemesine bağlı olarak pıhtı oluşumunda ilerlediği görüldü (Tablo: II). Bu grupta her zaman periyodu için üç deney yapıldı.

2. Grup: Değişik Dozlarda tromboplastin enjeksiyonunun trombus oluşumuna etkisi:

Tavşan beyin tromboplastininin 1/20, 1/15, 1/10, 1/5 oranlarında serum fizyolojikle sulandırılıp kg. başına 3 ml enjekte edildiği ve 30 dakika staz yapılarak damarlar incelendiğinde maksimal aktiviteye sahip tromboplastin konsantrasyonunun 1/10 ve 1/5 serum fizyolojikle sulandırılmış tromboplastin olduğu gözlemlendi (Tablo: III).

Tablo: II  
Çeşitli Zamanlarda Yapılmış Stazlar Sonunda Damarda Oluşan Pıhtıların Değerlendirilmesi

Staz Zamanı	Pıhtı Değerleri		
	Deney No. I	Deney No. II	Deney No. III
10 Dakika	0	0	0
20 Dakika	0	0	0
30 Dakika	+	+	+
40 Dakika	+	+	+
50 Dakika	++	++	++
60 Dakika	+++++	+++++	+++++

Tablo: III  
Değişik Konsantrasyonlarda Tromboplastin Enjeksiyonunun 30 Dakikalık Staz Sonunda Trombus Oluşumu Üzerine Etkisi

Tromboplastin Konsantrasyonu	Pıhtı Değerleri		
	Deney No. I	Deney No. II	Deney No. III
1/20	+	+	+
1/15	+++	+++	+++
1/10	+++++	+++++	+++++
1/5	+++++	+++++	+++++

1/20 ve 1/15 konsantrasyonundaki tromboplastin enjeksiyonunun 30 dakikalık süreç içerisinde tam pıhtı oluşturamadığı gözlemlendi. Bu grupta her konsantrasyon için üçer deney yapıldı.

3. Grup: Uygun dozda beyin tromboplastini enjeksiyonu ile trombus oluşumu:

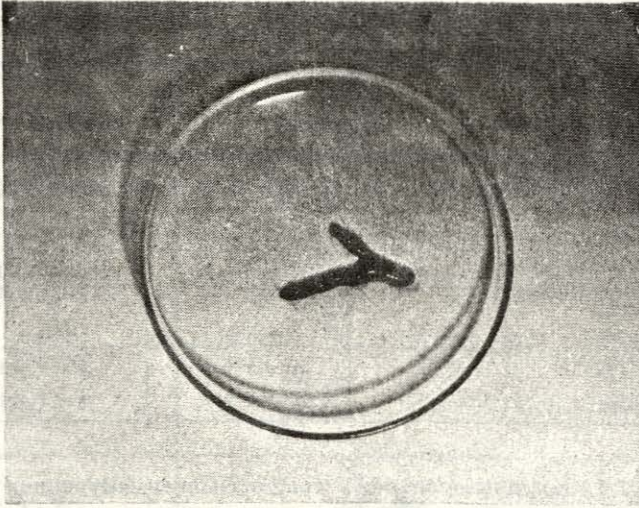
Bu grupta 1. grubun sonucuna dayanılarak staz zamanı 30 dakika ve 2. grubun sonucuna dayanılarak tromboplastin konsantrasyonu 1/10 serum fizyolojikli olarak alındı. Dokuz tane tavşanda damarda oluşan pıhtılar değerlendirildi (Tablo: IV).

Sonuç olarak staz zamanının en az etkili olduğu sürede (30 dakika) en yüksek etkili en düşük tromboplastin konsantrasyonu (1/10) enjeksiyonu ile tam bir venöz

tromboz olduğu görüldü. Bu grupta vena jugularis ve dallarında deneysel yolla oluşturulan ve damardan çıkarılan pıhtı kitlesinden bir tanesi resimde görülmektedir (Resim: 1).

Tablo: IV  
Tavşan Beyin Tromboplastini Enjeksiyonu ile Staz Yapılan Hayvanlarda Oluşmuş Pıhtıların Değerleri

Dency No.	Pıhtı Değerleri
1	+++++
2	++++
3	+++++
4	+++++
5	++++
6	+++++
7	+++++
8	+++++
9	+++++



Resim: 1  
Vena jugularis externa ve vena facialiste oluşmuş bir pıhtı kitlesi

### TARTIŞMA

Çalışmamızda birçok trombotik ve antitrombotik ajanın etkilerinin araştırılması ve karşılaştırılması için venöz tromboz modelinin oluşturulması amaçlandı.

Bu konuda literatürde rastladığımız en eski ve köklü çalışma 1959 yılında Wessler ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmadır<sup>7</sup>. Fareed ve arkadaşları Wessler staz tromboz modelini modifiye ederek, aktivasyonu kontrollü venöz tromboz modeli oluşturmuşlardır<sup>8</sup>. Bu modeli birçok trombojenik ve antitrombotik ajanın etkilerinin araştırılmasında kullanmışlardır. Trombojenik ajan olarak trombin, ecarin, sefalin, doku tromboplastini, çeşitli yılan zehirleri, insan ya da sığır Xa faktörü, konsantr protrombin kompleksi gibi bir çok maddeyi kullanmışlardır.

Bizim çalışmamızda da trombojenik ajan olarak tavşan beyin tromboplastini kullanıldı.

Doğal pıhtı oluşumuna staz zamanının ancak ilk yarım saatten sonra etkili olduğunu ve tam pıhtının bir saat ve sonrasında oluştuğu gözlemlendi. Fareed ve arkadaşları da stazın bir saat ve sonrasında tam pıhtılar oluşturduğunu bildirmişlerdi<sup>8</sup>.

Bu şekilde doğal pıhtı oluşurken tavşan beyin tromboplastini enjeksiyonu, stazı takiben tam trombus oluşumunu 30 dakikaya indirdi. Bu da bize bu maddenin kuvvetli bir trombotik ajan olduğunu gösterdi. Doku tromboplastini (Faktör III) hasara uğramış, zedelenmiş dokulardan serbestleyen ve özellikle doku membranlarından kaynaklanan fosfolipidleri ve bir proteolitik enzim gibi etki yapan en az bir glikoproteini içerir<sup>5</sup>. Fareed ve arkadaşları da Tromboplastin (Sigma, Chemical Co) enjeksiyonu ile yaptıkları 10 dakikalık stazlar sonucunda ortalama ++ (artı iki) ile +++ (artı üç) arasında pıhtılar elde etmişlerdi. Bizim bulgularımızda bu sonuçlarla benzerlik gösteriyordu.

Sonuçta kullandığımız modifiye edilmiş Wessler staz tromboz modeli ile aktivasyonu kontrol edilmiş bölge oluşturulabilmekte ve bu sayede bu olayların doğası ve ilaçlarla hafifletilmesi konusunda değerli bilgiler elde edilebilmek için kullanışlı bir model olduğu görülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. ANDERSON, W.A.D.: Anderson's Pathology. (ed. Kissane, J.M.) Vol. I, Eighth Edition, C.V. Mosby Co., St. Louis, Toronto, Princeton, 1985, 581-796.
2. YENERMAN, M.: Genel Patoloji. Cilt I, Çeliker Matbaacılık Sanayii ve Ticaret Kollektif Şirketi., İstanbul, 1980, 482-522.
3. CANDA, M.Ş., CANDA, T.: Temel Patoloji. Ege Üniversitesi Basımevi., İzmir, 1982, 99-115.
4. MÜFTÜOĞLU, E.: Klinik Hematoloji. Dicle Üniversitesi Basımevi Müdürlüğü, Diyarbakır, 1986, 522-533.
5. GUYTON, A.C.: Textbook of Medical Physiology. Seventh edition. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986, 76-86.
6. EMEKLİ, N.B.: Sığır Protrombininden Elde Edilen İnhibitörün Yaygın Damar içi Pıhtılaşması Meydana Getirilen Deney Hayvanlarına Etkisi. İstanbul, 1978, Doktora Tezi.
7. WESSLER, S., REIMER, S.M., SHEPS, M.C.: Biologic assay of a thrombosis inducing activity in human serum. J. Appl. Physiol. 14: 943-946, 1959.

8. FAREED, J., WALENGA, J.M., KUMAR, A., ROCK, A.: A Modified Stasis Thrombosis Model to Study the Antithrombotic Actions of Heparin and Its Fractions. *Semin Thromb Hemost.*, 11(2): 155-175, 1985.

Yrd. Doç. Dr. Kasım ÖZLÜK  
U.Ü. Tıp Fakültesi  
Fizyoloji Anabilim Dalı  
BURSA