

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİVAS KANGAL KÖPEKLERİNDE
YAŞ VE CİNSİYETE BAĞLI
BAZI PIHTILAŞMA PARAMETRELERİNİN
BELİRLENMESİ**

Burcu İNSAL

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. İlksin PİŞKİN**

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğünün
17L0239016 numaralı projesi ile desteklenmiştir.**

**ANKARA
2018**

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum "Sivas Kangal Köpeklerinde Yaş Ve Cinsiyete Bağlı Bazı Pıhtılaşma Parametrelerinin Belirlenmesi" başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Burcu İNSAL

Tarih: 25/06/2018

İmza:



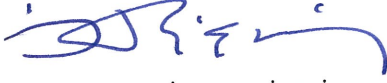
KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Fizyoloji Anabilim Dalı'nda,
BURCU İNSAL tarafından hazırlanan
“Sivas Kangal Köpeklerinde Yaş Ve Cinsiyete Bağlı Bazı Pıhtılaşma
Parametrelerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile
kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 25.06.2018



Prof. Dr. M. Bahri EMRE
Ankara Üniversitesi
(Jüri Başkanı)



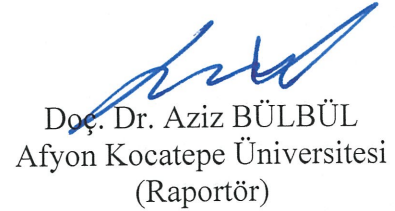
Prof. Dr. İlksin PİŞKİN
Ankara Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Hasan BİLGİLİ
Ankara Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Çenk AYDIN
Uludağ Üniversitesi
Üye



Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL
Afyon Kocatepe Üniversitesi
(Raportör)

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekileri	v
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xii
Çizelgeler	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tarihçesi	2
1.2. Hemostatik Mekanizma	3
1.2.1. Primer Hemostaz	4
1.2.1.1. Vazokonstriksiyon	4
1.2.1.2. Trombosit Aktivasyonu	5
1.2.2. Sekonder Hemostaz	7
1.2.2.1. Pıhtılaşma Kaskatı	7
1.2.2.1.1. Ekstrinsik (Eksojen) Yol (Doku Fakötörü Yolu, Dış Sistem)	9
1.2.2.1.2. İntrinsik (Endojen) Yol (Temas Aktivasyon Yolu, İç Sistem)	10
1.2.2.1.3. Son Ortak Yol	11
1.2.2.2. Fibrinolizis	12
1.3. Pıhtılaşma Kofaktör ve İnhibitörleri	13
1.4. Pıhtılaşma Testleri	15
1.4.1. Trombosit Aktivasyonu İlgili Olan Testler	16
1.4.1.1. Trombosit Sayımı	16
1.4.1.2. Bukkal Mukozal Kanama Zamanı (BMBT)	17
1.4.1.3. Kütikül Kanatma Testi	18
1.4.1.4. Periferik Kan Yayması	18
1.4.2. Pıhtılaşma Kaskatıyla İlgili Olan Testler	19
1.4.2.1. Protrombin Zamanı (PT)	19
1.4.2.2. Aktive Edilmiş Parsiyel Tromboplastin Zamanı (aPTT)	20
1.4.2.3. Trombin Zamanı (TT)	21
1.4.2.4. Aktive Edilmiş Pıhtılaşma Zamanı (ACT)	22

1.4.3. Fibrin Oluşumu ve Fibrinolizis İle İlgili Olan Testler	23
1.4.3.1. Fibrin Artık Ürünlerinin Değerlendirilmesi	23
1.4.3.2. Trombin Pıhtı Zamanı (TCT)	23
1.4.4. Diğer Testler	24
1.4.4.1. Viskoelastik Pıhtı Analizi	24
1.4.4.2. Von Willebrand Faktör Tayini	24
1.4.4.3. PIVKA (K Vitamini Yokluğunda ya da Antagonizmde Uyarılmış Proteinler) Testi	25
1.4.4.4. Dilüe Russell Yılan Zehri Zamanı (dRVVT)	26
1.5. Araştırmanın Hipotezleri	27
2. GEREÇ ve YÖNTEM	28
2.1. Çalışma Materyali	28
2.2. Materyalin Hazırlanması	28
2.3 Örneklerin Toplanması, İşlenmesi ve Muhafazası	29
2.4. Hematolojik ve Hemostatik Analizler	31
2.4.1 Tam Kan ve Trombosit Sayımı	31
2.4.2. Periferik Yayma Preparattan Trombosit Sayımı	32
2.4.3. Protrombin Zamanının (PT) Belirlenmesi	35
2.4.4. Aktive Edilmiş Parsiyel Tromboplastin Zamanının (aPTT) Belirlenmesi	35
2.4.5. D-Dimer Fibrin Artık Ürünleri Düzeyinin Belirlenmesi	36
2.5. İstatistiksel Analizler	37
3. BULGULAR	38
3.1. Örneklerin Vücut Isılarının Gruplar ve Cinsiyet Bakımından Değerlendirilmesi	38
3.2. Yavru Kangal Köpeklerine Ait Hematolojik ve Hemostatik Test Değerleri	39
3.3. Puberta Dönemindeki Kangal Köpeklerine Ait Hematolojik ve Hemostatik Test Değerleri	47
3.4. Erişkin Kangal Köpeklerine Ait Hematolojik ve Hemostatik Test Değerleri	48

3.5. Kangal Köpeklerine Ait Hematolojik ve Hemostatik Testlere Ait Verilerin Yaş ve Cinsiyet Bakımından Karşılaştırılması	50
4. TARTIŞMA	59
4.1. Materyal ve Uygulanan Test Yöntemlerinin Seçimi	59
4.2. Örneklemenin Gruplandırılması	61
4.3. Vücut Isılarının Pıhtılaşmaya Olan Etkisi	61
4.4. Hematolojik Sonuçların Değerlendirilmesi	62
4.5. Trombosit Sayım Sonuçlarının Değerlendirilmesi	64
4.6. Hemostatik Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi	67
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	76
ÖZET	79
SUMMARY	80
KAYNAKLAR	81
EKLER	89
Ek-1. Hayvan deneyleri yerel etik kurul kararı	89
Ek-2. Deney hayvanları kullanım sertifikası	91
ÖZGEÇMİŞ	92

ÖNSÖZ

Damarlarda vasküler bütünlüğün bozulmasının ardından, hasarlı bölgenin onarımı ve kanın durdurulması için kan pıhtısı oluşumu ve oluşan pıhtının kontrollü bir şekilde çözülmesi ancak hemostaz ile açıklanabilir. Kan pıhtılaşması ise, herhangi bir nedenle damar dışına çıkmakta olan kanı vücutta tutmak için organizmanın gösterdiği önemli bir fizyolojik reaksiyondur. Bu açıdan düşünüldüğünde pıhtılaşma, yaşamsal faaliyetlerin devamlılığı için hemostazın bir parçası olmaktadır. Bu sebeple kan pıhtılaşması, fizyolojik ve patolojik olaylarda vital öneme sahiptir. Pıhtılaşmaya bağlı bozuklukları erken dönemde teşhis etmek için en önemli ölçüt, pıhtılaşma sürelerinin belirlenmesidir. Pıhtılaşma süreleri, pıhtılaşma kaskadının önemli bir parçası olan pıhtılaşma faktörlerinin işlevlerine bağlı olarak değişiklik gösterir. Bu aşamaların kontrolü, hayvanlarda insanlarda olduğu gibi çeşitli testlerle sağlanmaktadır. Hasta hayvanlara uygun olan testlerin seçiminde, alınan anamnez ve klinik belirtilerden yararlanılmalıdır. Hastalık şüphesiyle gelen hayvanlarda primer veya sekonder olarak ortaya çıkan hemostatik hastalıkların teşhisi ancak doğru yorumlanan laboratuvar testleriyle konabilir.

Bu tez çalışmasında pıhtılaşma profili henüz belirlenmemiş olan önemli gen kaynağımız Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyet gibi fizyolojik değişiklikler göz önünde bulundurularak parametrelerinin belirlenmesi, bu hayvanlardaki ırka bağlı hemostatik bozukluklar hakkında fikir sahibi olmamızı sağlayacağı ve aynı zamanda elde edilen verilerin gerek temel bilimler gerekse klinik bilimlere ışık tutacağı düşüncesiyle yola çıkıldı. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, elde edilen pıhtılaşma değerlerinin, yerli gen kaynağımız olan Sivas Kangal köpekleri başta olmak üzere diğer köpek ırkları için de referans olacak nitelikte olduğu düşünülmektedir.

Bu süreçte, doktora başladığım ilk günden beri bana inanan ve güvenen, bilimin ışığından ve etik değerlerden ayrılmadan bilimsel olarak kendimi geliştirmem için beni her daim cesaretlendiren, hayatın her alanında örnek alınması gereken bir bilim insanı olan ve her zaman “iyi ki danışmanım olmuş” dediğim değerli

danışmanım, saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. İlksin PİŞKİN'e en kalbi duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Gerek ders dönemlerimde gerekse tezimin yapım aşamasında olmak üzere her zaman desteğini, güler yüzünü ve pozitif enerjisini hissettiren, kıymetli bilgi ve tecrübelerini her daim paylaşıp yol gösterici olan Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Bahri EMRE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Fakülteye girdiğim günden beri, sadece danışmanım olmakla kalmayan aynı zamanda iyi bir ağabey ve içten bir hoca olan, içimdeki bitmeyen cerrahi sevgisini doğuran, sadece öğrencilik hayatımda değil mesleki hayatımda da gülen yüzüyle yanımda olan saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Hasan BİLGİLİ'ye bugüne kadar bana kattığı tüm değerler için teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim boyunca, verdikleri dersler ve tecrübeleriyle yanımda olan Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Nesrin SULU ve Prof. Dr. Çiğdem ALTINSAAT ile bu süreçte iyi niyetini, bilgisini ve yardımını hiçbir zaman eksik etmeyen Prof. Dr. Hakan ÖZTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu süreçte manevi olarak her zaman yanımda olan sevgili arkadaşarımdan, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Yasemin SALGIRLI DEMİRBAŞ ve Araştırma Görevlisi Dr. C. Etkin ŞAFAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Kıymetli dönem arkadaşım, sevgili dostum Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Dr. Öğr. Üyesi Mustafa KOÇKAYA'ya ve Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne doktora çalışmam boyunca yaptıkları tüm yardımlar ve sağladıkları imkânlar için teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin istatistiki olarak yorumlanması hususunda bana destek olan Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İ. Safa GÜRCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Anatomi Anabilim Dalı ailesine dahil olduğum ilk günden beri ve özellikle doktora eğitimim süresince göstermiş olduğu anlayış, nezaket ve yardımları için Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Başkanı Sayın

Prof. Dr. R. Merih HAZIROĞLU'na ve ikinci ailem olarak g6rdüğüm tüm Anatomi ailesine teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, tezimin kurgusu, yapımı ve yazımı aşamasındaki tüm süreçlerde benden manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, en bunaldığım anlarda beni yeniden ayağa kaldırmak için cesaretlendiren ve her zaman yanımda olup bana güç veren, değerli eşim Eser İNSAL'a ve beni bugünlere getiren kıymetli aileme teşekkürlerimi, bu süreçte yeteri kadar yanında olamadığım kıymetli kızım Elis İNSAL'a ise özürlerimi sunarım.



SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde değeri
A ₂ AP	α ₂ -antiplazmin
ACT	Aktive edilmiş pıhtılaşma zamanı
ADP	Adenozin difosfat
aPTT	Aktive edilmiş parsiyel protrombin zamanı
AT	Antitrombin
ATP	Adenozin trifosfat
Ca	Kalsiyum
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
CT	Pıhtılaşma zaman
DIC	Disemine İntravasküler Koagülopati
dRVVT	Dilüe Russell Yılan Zehri Zamanı
ED	Erişkin dişi
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EE	Erişkin erkek
ELISA	Enzim bağlı immün ölçüm
Faktör I	Fibrinojen
Faktör II	Protrombin
Faktör III	Doku Faktörünü
Faktör IV	Kalsiyum (Ca)
Faktör V	Labil Faktör
Faktör VII	Prokonvertin
Faktör VIII	Antiheofilik Faktör
Faktör IX	Christmas Faktör
Faktör X	Stuart-Prower Faktör
Faktör XI	Plazma tromboplastin öncülü
Faktör XII	Hageman (Kontakt) Faktör
FDPs	Fibrin bozulma ürünleri
FYÜ	Fibrin yıkım ürünleri
G	Gauge
g/dL	Gram/desilitre
Gla	γ-karboksi glutamata
HCT	Hemotokrit
HGB	Hemoglobin
HMWK	Kininojen
INR	Uluslararası normal oran
K ₂ EDTA	Dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid
kDa	Kilodalton
L	Litre
µl	Mikro liter
M.Ö.	Milattan önce
MAX-ACT	Ticari olarak üretilmiş ACT testleri
Na ₃ -Sitrat	Trisoyum Sitrat
ng/ml	Nanogram/ mililitre
°C	Santigrat derece
TAF	Trombosit aktive edici faktör

PAI-1	Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1
PAI-2	Plazminojen Aktivatör İnhibitör-2
PD	Puberta dişi
PE	Puberta erkek
PIVKA	K Vitamini Yokluğunda ya da Antagonizmde Uyarılmış Proteinler
PK	Prekallikrein
PLA₂	Fosfolipaz A ₂
PT	Protrombin zamanı
PVC	Polivinil klorür
RBC	Kırmızı kan hücresi
Sn	Saniye
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TC	Trombin pıhtı zamanı
TEG	Tromboelastografi
TF	Doku faktörü
TFPI	Doku faktörü yolu inhibitörü
TGF α	Tümör büyüme faktörü
tPA	Doku plazminojen aktivatörü
TT	Trombin zamanı
TxA₂	Thromboxane A ₂
vb.	Ve benzeri
Vit K	Vitamin K
vWF	Von Willebrand Faktör
WBC	Beyaz Kan hücresi
YD	Yavru dişi
YE	Yavru erkek
γ-GK	Hepatik gamma-glutamil karboksilaz

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Ekstrinsik yol	9
Şekil 1.2.	İntrinsik yol	11
Şekil 1.3.	Son ortak yol	12
Şekil 1.4.	PT ölçümü için kan örneğinin hazırlanışı	19
Şekil 1.5.	aPTT ölçümü için kan örneğinin hazırlanışı	21
Şekil 1.6.	TT ölçümü için kan örneğinin hazırlanışı	22
Şekil 1.7.	TCT testi için kan örneğinin hazırlanışı	24
Şekil 2.1.	Numunenin toplanmasına hazırlık	29
Şekil 2.2.	Örneklerin numaralandırılması (A) ve numunelerin toplanması (B)	30
Şekil 2.3.	Kan örneklerinin tam kan sayımı öncesi karıştırılması (A) ve tam otomatik tam kan sayım cihazında analizi (B)	32
Şekil 2.4.	Preparatların Methanol ile tespiti.	33
Şekil 2.5.	Preparatların sulandırılmış Wright's boyası ile boyanması	34
Şekil 2.6.	Tahmin trombosit hesabı	34
Şekil 2.7.	Trombositlerin x100'lük objektifte çoklu küme oluşturma eğilimi (A) ve küme oluşturma eğilimindeki yetersizlik (B)	35
Şekil 2.8.	Kan plazmalarının Canine D-Dimer test kitindeki kuyucuklara yüklenmesi (A), örneklerin yıkanması (B) ve D-Dimer seviyesine bağlı olarak kuyucuklardaki parlamaların tespiti (B)	37

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1	Pıhtılaşma Faktörleri	8
Çizelge 1.2	Evcil hayvanlardaki ortalama trombosit sayısı	17
Çizelge 3.1.	Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyetin vücut ısısına etkisi	38
Çizelge 3.2.	Vücut ısısının yaşa bağlı değişimi.	39
Çizelge 3.3.	Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyetin akyuvar sayılarına etkisi	42
Çizelge 3.4.	Sivas Kangal köpeklerinde cinsiyetin, ortalama alyuvar sayıları, hematokrit miktarı ve hemoglobin değerleri ile ortalama alyuvar hacmi (MCV), her bir alyuvara düşen hemoglobin miktarı (MCH) ve ortalama alyuvar hemoglobin derişimine (MCHC) etkisi	43
Çizelge 3.5.	Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyetin trombosit sayılarına etkisi. Otomatik ve manuel trombosit sayım sonuçlarının karşılaştırılması	44
Çizelge 3.6.	Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyetin PT ve aPTT sürelerine etkisi	45
Çizelge 3.7.	Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyetin D-dimer miktarına etkisi	46
Çizelge 3.8.	Sivas Kangal köpeklerinde yaşın akyuvarlara olan etkisi	52
Çizelge 3.9.	Sivas Kangal köpeklerinde yaşın alyuvar sayısına, hemoglobin miktarına ve hematokrit değere olan etkisi.	53
Çizelge 3.10.	Sivas Kangal köpeklerinde MCV, MCH ve MCHC değerlerine olan etkisi	54
Çizelge 3.11.	Sivas Kangal köpeklerinde yaşın otomatik ve manuel trombosit sayım sonuçlarına olan etkisi.	55
Çizelge 3.12.	Sivas Kangal köpeklerinde yaşın PT ve aPTT süresi ile D-dimer miktarına olan etkisi	56

1. GİRİŞ

Genel bir ifadeyle kan kaybının önlenmesi anlamına gelen “Hemostasis”, Yunanca, “*haeme*” - kan ve “*stasis*” - durmak, durdurmak kelimelerinin birleşiminden oluşmuştur (Palta ve ark., 2014).

Hemostaz, vasküler bütünlüğün bozulmasının ardından, hasarlı bölgenin onarımı ve kanın durdurulması için kan pıhtısı oluşumu ile oluşan pıhtının çözülmesinin, patolojik pıhtı (tromboz) oluşturmaksızın kontrollü bir şekilde sağlanmasıdır (Casanave ve Tentoni, 2014; Deniz, 2000; Gale, 2011 ve Gentry, 2004).

Hemostazın bir parçası olan ve yaşamsal olarak büyük önem taşıyan kan pıhtılaşması, herhangi bir nedenle damar dışına çıkmakta olan kanı vücutta tutmak için organizmanın gösterdiği önemli bir fizyolojik reaksiyon, karmaşık bir mekanizmadır. Buna göre pıhtılaşma, kan damarlarının bütünlüğünün bozulmasına bağlı olarak, hasarlı doku, kan damarı ve organlardaki fazla kan kaybını önlemek amacıyla vücudun gösterdiği bir seri olaylar bütünüdür (Deniz, 2000; Gentry, 2004; Jobling ve Eyre, 2013 ve Smith, 2010).

Kan pıhtılaşması aslında sadece hemostazın sağlanmasında değil aynı zamanda pek çok fizyolojik ve patolojik olayda da kritik önem taşır. Cerrahi, anestezi ve diğer pek çok invaziv işlem gerektiren patolojik durum, ilk olarak haemopoetik sistem tarafından düzeltilmeye çalışılır. Ancak vücuttaki bu denge, travma, sitokinler ve enfeksiyöz ajanlar tarafından bozulabilir. Bu nedenle klinikte preoperatif dönemde hasta hayvan hem hemorajik hem de trombotik abnormaliteler bakımından incelenmelidir. Çünkü var olan herhangi bir abnormalite, hipoksi, hipotermi, metabolik asidoz veya çok daha ciddi boyutta bir dolaşım bozukluğunu tetikleyebilir (Kurachi ve ark., 2000 ve Palta ve ark., 2014). Pıhtılaşma süreleri, pıhtılaşmanın tüm aşamalarında rol oynayan pıhtılaşma faktörlerinin işlevlerine bağlı olarak değişiklik gösterir. Bu aşamalar, insanlarda olduğu gibi hayvanlarda da çeşitli

testlerle kontrol edilmektedir. Bu testlerin sonuçları, diğer tüm laboratuvar testlerinde olduğu gibi, kullanılan yöntem ve bireyden bireye farklılık gösterebilir (Deniz, 2000 ve Wiinberg ve ark., 2007).

1.1. Tarihçesi

İlk çağlardan beri kanın pıhtılaşmasıyla ilgili teoriler ortaya atılmaktadır. Bu konuyla ilgili ilk çalışmalar M.Ö. 400'lere, tıbbın babası olarak bilinen Hipokrat'a kadar dayanır. Ardından Aristoteles pıhtılaşmanın kanı soğutmakla mümkün olduğundan bahsetmiştir. 1770'lerde William Hewson, pıhtının hücreler olmadan, kanın sıvı kısmı ve lenften meydana gelen pıhtılaşma işlemlerinden oluştuğunu bularak kanın soğutulması teorisini çürütmüştür. 1800'lerde fizyolog Johannes Müller fibrin ve trombusun içeriğini tanımlarken, aynı dönemde Rudolf Virchow, eriyebilir bir öncül olan fibrinojeni tanımlamış, Sylvian Denis ise izole etmiştir. 1865'de trombositler, Giulio Bizzozero tarafından tanımlanmış, 1882'de fonksiyonları açığa çıkarılmıştır. 1890'da ise Arthus, pıhtılaşma için kalsiyumun gerekli olduğunu keşfetmiştir. Bu zaman dilimi içinde birçok çalışma yapılmaya devam edilmiştir. Özellikle 20. yüzyıl içinde pıhtılaşma faktörlerinin bulunmasıyla ilgili çalışmalar ivme kazanmıştır. Ancak kanın pıhtılaşma kavramının açıklanması, 1962'nin sonu 1963'ün başında Davie ve Ratnoff'un Washington Üniversitesi'nde yaptıkları çalışma sonucu "waterfall squence"; aynı yıllarda Oxford Üniversitesi'nden Macfarlane'nin ise "coagulation cascade" olarak isimlendirdikleri ve şuan ki pıhtılaşma kaskatının asıl prensiplerinin özetlendiği çalışmalarla, mümkün olmuştur (Castellone, 2008; Davie, 2003 ve Palta ve ark., 2014).

1.2. Hemostatik Mekanizma

Hasarlı bir damarda vücudun gösterdiği ilk tepki vazokonstriksiyondur. Bu pıhtılaşmanın ilk eylemidir. Pıhtılaşma, kan dolaşımında bulunan ve hücrel sistem elemanlarından olan trombositlerin aktive olarak trombosit tıkaçı oluşturmasıyla başlar. Bu süreç protein yapısındaki pıhtılaşma faktörleri ve pıhtı oluşumunun en önemli enzimi olan trombin aktivasyonuna bağlı şekillenen fibrin plağı oluşumu ile devam eder. Ardından fibrinolitik enzimler ile fibrin plağının uzaklaştırılıp, kanın damarda normal bir şekilde akmasının sağlanması ile sonlanır. Kısaca dört ana basamaktan oluşan kontrollü ve dengeli bir etkileşimin sonucunda şekillenir (Dahlbach, 2000; Getry 2004 ve Smith; 2010).

1. Vazokonstriksiyon,
2. Trombosit aktivasyonu, trombosit tıkaçı oluşumu,
3. Fibrin plağı oluşumu,
4. Fibrinolizis ile normal kan akımının sağlanması.

Pıhtılaşma, genel olarak iki mekanizma üzerinden gerçekleşmektedir (Kurachi ve ark., 2000 ve Palta ve ark., 2014). Bunlar;

1. Primer Hemostaz
 - a. Vazokonstriksiyon
 - b. Trombosit aktivasyonu
 - i. Trombosit adhezyonu ve agregasyonu
 - ii. Trombosit tıkaçı oluşumu
2. Sekonder Hemostaz
 - a. Pıhtılaşma kaskadı
 - i. Trombin oluşumu
 - ii. Fibrin plağı oluşumu
 - b. Fibrinolizis

1.2.1. Primer Hemostaz

Primer hemostaz, damar endotel hasarının az olduğu durumlarda kanamanın durması için yeterlidir. Başlıca endotel hücreleri, trombositler ve von Willebrand faktör (vWF) rol oynar. Trombosit tıkaçı oluşumuyla sonlanır (Gezer, 2012; Jobling ve Eyre, 2013 ve Palta ve ark., 2014).

1.2.1.1. Vazokonstriksiyon

Kan damarlarında bir yaralanma oluştuğundan sonra kanın damar dışına çıkışını azaltmak için ilk olarak damar duvarı kontraksiyon yapar. Bu kontraksiyon; katekoleminler (epinefrin), prostaglandinler ve sempatik nervöz refleks (norepinefrin) ile damar duvarındaki miyofibrillerin lokal myojenik spazmı sonucu gelişir. Ayrıca damar endoteli ve trombositler tarafından üretilen tromboksan A₂ (TxA₂), serotonin, bradikinin ve fibrinopeptidler gibi lokal mediyatörler de vazokonstriksiyona yardımcı olur. Nervöz refleks, hasarlı doku veya çevre dokulardan kaynaklanan ağrı impulslarının bölgedeki duyu sinirlerince algılanmasıyla şekillenir. Damarda şekillenecek olan kasılmanın şiddeti, travmaya uğrayan damar bölgesinin genişliğine bağlı olarak değişir. Buna göre kanama, keskin cisim yaralanmalarında ezik yaralarından daha fazla olur. Diğer bir deyişle ezik yaralarında, spazmın fazla olmasına bağlı olarak kanama, daha az olur (Kalaycıoğlu, 1979 ve Teller ve White, 2009). Kanama, damarda meydana gelen keskinin şekliyle de ilgilidir. Tam bir keside vazokonstriksiyon etkili olurken, lateral kesilerde kanamanın durdurulmasına bir etkisi yoktur (Bulut, 2015).

1.2.1.2. Trombosit Aktivasyonu

Damar endotelindeki yaralanmayı takip eden süreçte, damar duvarındaki spazmın ardından trombositler, bölgede ‘trombosit tıkaçı’ denilen primer tıkaç oluşumundan sorumludur. Memelilerde trombositler, kemik iliğindeki megakaryositlerin sitoplazmasından türemiş, granüller içeren, bikonveks yapıdadır. İçerdikleri aktin, miyozin ve kasılmaya ilgili diğer proteinler ile disk şekli korunmakta ve bu sayede trombosit tıkaçının büzüşmesi sağlanmaktadır. Trombositler çevrelerinde diğer hücrelerinkine benzer şekilde, iki tabakalı fosfolipid yapıda ve hidrofobik özellikte bir zar bulundurur. Bu fosfolipid tabakası, trombosit aktivasyonunun ilk evrelerinde, trombositlere yanal hareket kabiliyeti sağlar ve trombositlerin sinyalizasyonunu güçlendirir. Trombositlerin 3 farklı tip granülleri vardır. (Palta ve ark., 2014; Smith, 2010 ve Triplett, 2000).

1. α - granüller; P-selektin, fibrinojen, fibronektin, faktör V, faktör VIII, faktör IV gibi pıhtılaşma faktörlerini; tromboglobin, trombosit kökenli büyüme faktörü ve tümör büyüme faktörü (TGF- α) gibi trombosit proteinlerini ihtiva eder.
2. δ - granüller; adenosine difosfat (ADP), adenosine trifosfat (ATP), kalsiyum (Ca^{++}), serotonin, histamin ve epinefrin gibi küçük molekülleri ve iyonları ihtiva eder.
3. Lizozomal granüller

Primer hemostaz, dolaşımdaki trombositlerin, adheziv proteinler yardımıyla, damar duvarındaki endotelial hücrelerin yüzeylerinde bulunan kollajen spesifik glikoprotein Ia/IIa yüzey reseptörleri ile doğrudan bağlanmasıyla başlar (Hackner, 2011 ve Palta ve ark., 2014). Bu bağlanmayla açığa çıkan kimyasal sinyaller ile dolaşımdaki diğer trombositler de bölgeye gelir. Bu durum trombosit agregasyonunu açıklar. Trombosit aktivasyonu ve agregasyonunu indükleyen biyolojik agonistler arasında trombin, epinefrin, TxA₂, ADP sayılabilir (Triplett, 2000).

Damar duvarını döşeyen endotel hücreleri, negatif yüklü heparin benzeri glikozaminglikanlar, nötral fosfolipidler gibi trombosit ve pıhtılaşma inhibisyonu ile fibrinolizis aktivasyonu sağlayan birçok multiple faktörün sentez ve salgılanmasından sorumludur. Buna karşılık subendoteliyal tabaka ise yüksek oranda trombosit adezyonu sağlayan vWF ve laminin, trombospondin, vitronektin gibi trombojenik özellikli diğer proteinler ve kollajen ihtiva eder (Palta ve ark., 2014; Triplett, 2000 ve Yan ve ark., 2016).

Von Willebrand faktör (vWF), hasarlı damar endotelinde trombositlerle bağlanan temel protein olarak bilinir. Damar endotel hücreleri ve megakaryositler tarafından sentezlenip endotel hücrelerinde depolanan, 500-200,000 kDa molekül büyüklüğüne sahip, kompleks multimerik bir glikoproteindir. İnsanda ve köpekte (Doberman, Alman Çoban Köpeği, Alman Pointer, Golden Retriever, Tazı, Kurt Köpeği, Terrier, vb.) en yaygın kanamaya bağlı kalıtsal hastalık, vWF'nin yapısal veya sayısal yetersizliğine bağlı olarak şekillenen von Willebrand hastalığıdır. İnsanlardakine benzer şekilde köpeklerde de kalıtsal bir hastalık olduğu, Dodds'a (1975) ve Johnstone ve Crane'ye (1981) göre, 1970'de Alman Çoban köpeklerinde, Gopegui ve Feldman'a (1997) göre ise 1972'de İskoç Terrier köpeklerinde tespit edilmiştir. Bu hastalık daha sonra domuz, tavşan, at, sığır ve kedi de tanımlanmıştır (Barr ve McMichael, 2012; Brooks, 1999; Gopegui ve Feldman, 1997 ve Lobetti ve Dippenaar, 2000).

Trombositlerin özel trombosit glikoproteinlerinin (Ib, IX, V), kollajen liflerle bağlanmasına vWF bir köprü gibi aracılık eder. Böylece trombositler ile kollajen spesifik glikoprotein Ia/IIa arasında kurulan bağlantı kuvvetlendirilmiş olur. von Willebrand faktör, glikoprotein Ib-IX-V kompleksi ve yüzey kollajeninin bağlanmasında bir köprü gibi rol oynarken, pıhtılaşmanın devamlılığının sağlanmasında ise faktör VIII rol oynar. Bu bağlanma ile trombositler aktive olur ve granül içeriklerini açığa çıkarır, bu da diğer trombositlerin ve lökositlerin aktivasyonunu sağlar. Trombositler aktive olduğunda vWF, glikoprotein IIa/IIIb'ye de bağlanır. Trombositler, gerekli olan diğer pıhtılaşma faktörlerinin bağlanabilmesi

için fosfolipid yüzeylerini açığa çıkararak şekil değişikliğine uğrarlar (Brooks,1999; Gopegui ve Feldman, 1997; Hackner, 2011; Harvey, 2015; Jobling ve Eyre, 2013; Lobetti ve Dippenaar, 2000 ve Triplett, 2000). Bu sırada trombositlerin sitozollerinde kalsiyum konsantrasyonu artar. Kalsiyum protein kinaz C'yi aktive eder böylece fosfolipaz A₂ (PLA₂) aktive olur. Fosfolipaz A₂, glikoprotein IIb/IIIa' yı modifiye eder ve fibrinojene bağlanma affinitelerini artırır. Aynı zamanda kalsiyum da fosfolipidler ile bağlanır ve böylece ikincil trombosit aktivasyonu gelişir. Aktive olan trombositlerden sentezlenip salıverilen TxA₂, yine bu trombositlerden salgılanan ADP ve serotonin ile membran fosfolipidlerinden salgılanan trombosit aktive edici faktör (PAF) agonist bir etkiyle birlikte bölgeye trombosit agregasyonunu ve trombositlerin fibrinojene bağlanma isteklerini daha da artırır. Artan bu trombosit yığını trombosit tıkaçı formuna dönüşür. Böylece primer hemostaz tamamlanmış olur (Harvey, 2015; Jobling ve Eyre, 2013 ve Palta ve ark., 2014).

1.2.2. Sekonder Hemostaz

Pıhtılaşma kaskatı ile tanımlanıp pıhtılaşma faktörlerinin ardışık olarak birbirlerini aktive etmeleri ile açıklanan enzimatik sürecin ardından fibrinojenin fibrine dönüşümü ve fibrinin polimerize olarak stabil bir fibrin pıhtısının oluşması ile devam eden ve son olarak fibrinolizis ile damardan normal bir şekilde kan akımının sağlanabilmesi ile sonuçlanan işlemleri kapsar (Brooks, 1999; Gale, 2011; Hackner, 2011 ve Palta ve ark., 2014).

1.2.2.1. Pıhtılaşma Kaskatı

Pıhtılaşma kaskatının amacı, çözülebilir bir protein olan fibrinojeni çözünmez hali olan fibrine dönüştürmek ve trombositlerle birlikte stabil trombusu şekillendirmek ve böylece yaranın kapanmasını hızlandırmaktır. Oluşan fibrin trombusun etrafını bir ağ gibi sararak pıhtıyı güçlendirir. Bu olayda, plazmada inaktif öncüller (zimojen) olarak bulunan, proteaz ayrılması ile aktif hale geçen ve pıhtılaşma faktörleri olarak bilinen pıhtılaşma proteinlerinin büyük bölümü rol oynar

(Çizelge 1.1). Bu zimojenlerin aktif hale dönüşüp pıhtılaşma kaskatının şekillenebilmesi için üç ana mekanizma vardır (Gale, 2011; Gentry, 2004 ve Yavru, 2006). Bunlar;

1. Ekstrinsik (eksojen) yol (doku faktörü yolu, dış sistem)
2. İntrinsik (endojen) yol (temas aktivasyon yolu, iç sistem)
3. Son ortak yol

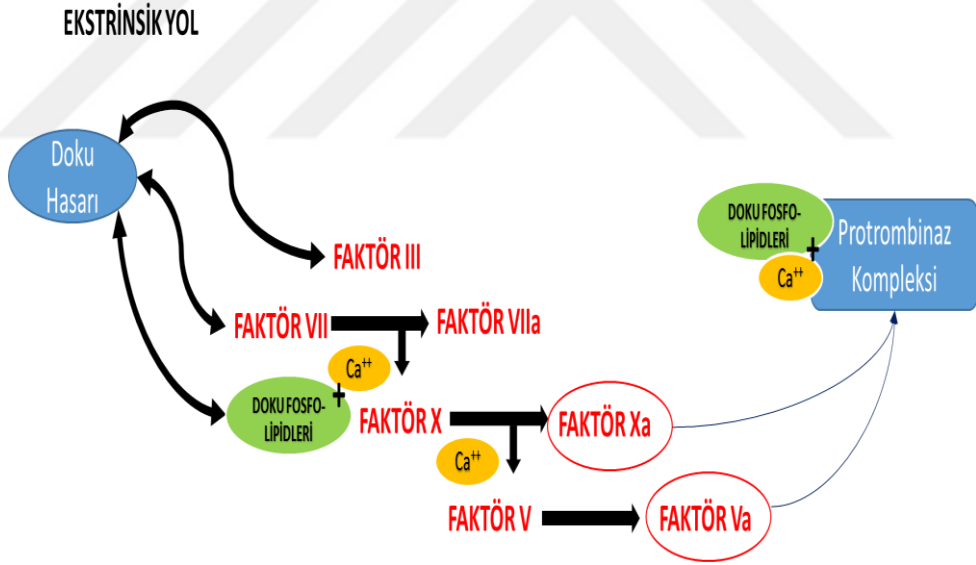
Çizelge 1.1. Pıhtılaşma faktörleri (Palta, 2014'den modifiye edilmiştir).

Pıhtılaşma Faktörü	Diğer Adı	Sentezlendiği Yer
Faktör I	Fibrinojen	Karaciğer
Faktör II	Protrombin	Karaciğer*
Trombin	-	Plazma
Faktör III	Tromboplastin, Doku Faktörü	Damar endoteli
Faktör IV	Kalsiyum (Ca)	
Faktör V	Labil Faktör	Damar endoteli
Faktör VII	Prokonvertin	Karaciğer
Faktör VIII	Antihemofilik Faktör	Damar endoteli
Faktör IX	Christmas Faktör	Karaciğer
Faktör X	Stuart-Prower Faktör	Karaciğer
Faktör XI	Plazma tromboplastin öncülü	Karaciğer
Faktör XII	Hageman (Temas) Faktör	Karaciğer
Faktör XIII	Fibrin stabilize edici faktör	Karaciğer
von Willebrand Faktör	vWF	Damar endoteli
Prekalikrein	-	Karaciğer
Kininojen	HMWK	Karaciğer
Protein C	-	Karaciğer
Protein S	-	Karaciğer
Trombomodulin	TM	Damar endoteli
Plazminojen	-	Karaciğer
Doku tip plazminojen aktivatörü	t-PA	Karaciğer
Ürokinaz tip plazminojen aktivatörü	u-PA, proürokinaz	Bilinmiyor

* K vitamini bağımlı protein.

1.2.2.1.1. Ekstrinsik (Eksojen) Yol (Doku Faktörü Yolu, Dış Sistem)

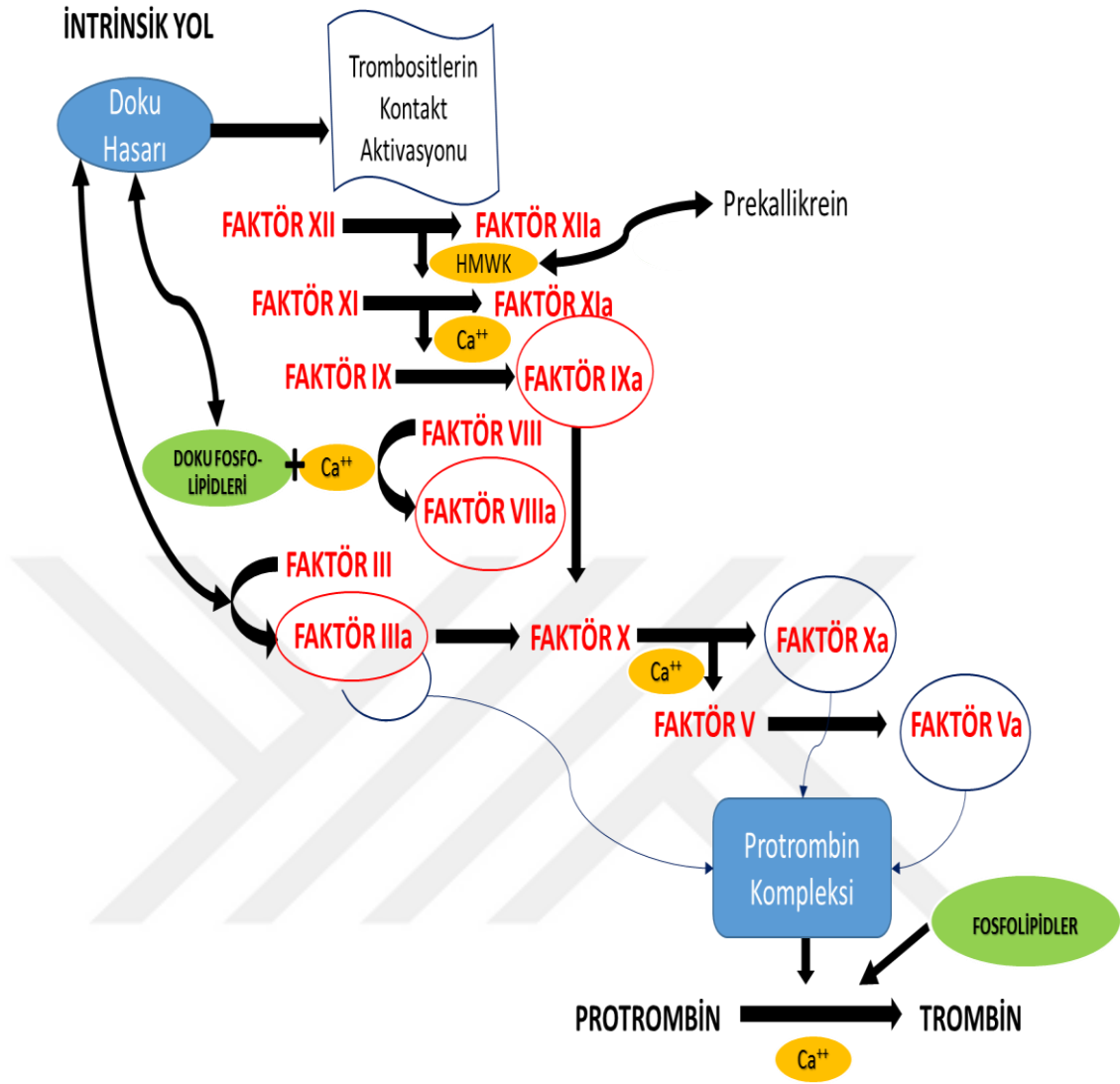
Doku tromboplastini (Faktör-III, doku faktörü, TF) tarafından başlatılan ve protrombinaz kompleksinin şekillendirildiği yoldur. Doku faktörü, özellikle plasenta, beyin ve akciğerde olmak üzere monosit ve endotel hücrelerinde de bulunan lipoprotein yapısında bir kofaktördür. Dokularda meydana gelen hasara bağlı olarak hücrelerden Faktör-VII ve doku fosfolipidleri açığa çıkar. Faktör-VII, stromal fibroblastlar ve lökositlerden salınan Faktör-III ile buluşur ve aktive olmuş Faktör-VIIa'yı şekillendirir. Faktör-VIIa ise, Faktör-X' u Ca^{++} ve doku fosfolipidlerinin varlığında aktive olmuş Faktör-Xa' ya dönüştürür. Faktör-Xa, Faktör-V' in aktive olmasını sağlar. Faktör-Xa ve doku fosfolipidleri kompleksi ile Faktör-Va ve Ca^{++} kompleksinin hepsine birden "protrombinaz kompleksi" ya da "protrombin aktivatörü" denir (Dahlback, 2000; Deniz, 2000; Gale, 2011 ve Harvey, 2015).



Şekil 1.1. Ekstrinsik yol.

1.2.2.1.2. İntrensik (Endojen) Yol (Temas Aktivasyon Yolu, İç Sistem)

Kanda bulunan trombositler tarafından temas aktivasyonu ile başlatılıp protrombinaz kompleksinin şekillenmesiyle sonuçlanan yoldur. Bu mekanizma yüksek molekül ağırlıklı kallikrein, prekallikrein ve Faktör-XII tarafından primer kompleksin şekillenmesiyle başlar. Öncelikle damar hasarını takiben ortaya çıkan kollajenin, Faktör-XII'yi aktive eder. Aktive olan Faktör-XIIa, plazma prekallikreininin (PK) kininojen yardımıyla kallikreine dönüştürür. Aktive olan Faktör-XIIa, Faktör-XI (Plazma tromboplastin öncülü) ile enzimatik reaksiyona girer ve onu aktive eder. Faktör-XIa, Ca^{++} varlığında Faktör-IX'u aktive eder. Bunun yanı sıra hasarlı kan damarında Faktör-III ve doku fosfolipileri de zaten açığa çıkmaktadır. Faktör-IXa ise Faktör-VIII'i (antihemofilik faktör), Ca^{++} ve fosfolipidler ile birlikte Faktör-VIIIa'ya aktive eder. Ardından Faktör-IIIa, Faktör-VIIIa ve Faktör-IXa birlikte Faktör-X'u aktive eder. Aktive olan Faktör-Xa, Ca^{++} varlığında Faktör-V (proaccelerin) ile enzimatik reaksiyona girer ve onu Faktör-Va'ya çevirir. Bu aşamadan sonra iç ve dış sistem birlikte yürür. Aktive olan Faktör-Va, Faktör-Xa, Faktör-IIIa birlikte "protrombin kompleksini" şekillendirir. Bu kompleks Ca^{++} ve fosfolipidler varlığında protrombini (Faktör-II) trombine aktive eder (Deniz, 2000; Gale, 2011; Wu, 2015 ve Yavru, 2006).



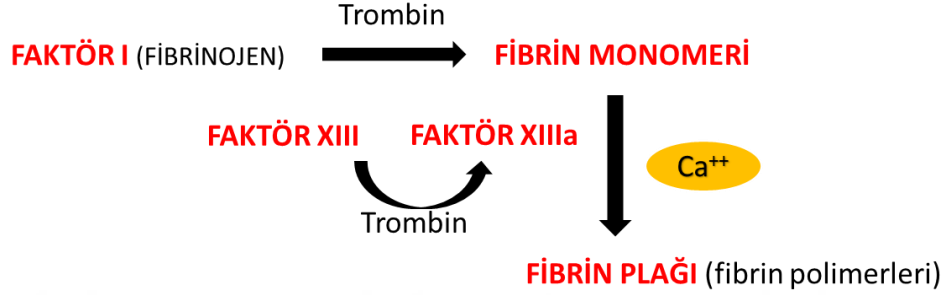
Şekil 1.2. İntrensik yol.

1.2.2.1.3. Son Ortak Yol

Pıhtılaşma kaskatındaki merkezi serin proteazı olan trombin bu yolda kritik bir öneme sahiptir. Çünkü trombinin görevlerinden biri de fibrinojeni (Faktör-I) çözünmez fibrine dönüştürmek ve böylece hemostazın devamlılığını sağlamaktır. Ayrıca aktive ettiği fibrin stabilize edici faktör (Faktör-XIII) ve Ca^{++} varlığında fibrin monomerleri arasında kovalent bağlar oluşmasını sağlayarak fibrini daha

sağlam olan fibrin polimerlerine dönüştürür. Böylece stabil bir fibrin plağı oluşmuş olur (Gale, 2011; Kalaycıoğlu, 1979 ve Yavru, 2006).

SON ORTAK YOL



Şekil 1.3. Son ortak yol.

1.2.2.2. Fibrinolizis

Aşırı pıhtılaşmayı ve damarda tamamıyla bir trombus şekillenmesini önlemek amacıyla hemostaz ve iyileşmeyi takiben fibrinin çözülmesi, fibrinolizis olarak tanımlanan bir seri işlem den oluşur (Chapin ve Hajjar, 2015; Jobling ve Eyre, 2013 ve Rasche, 2001). Casanave ve Tentoni'ye (2014) göre tüm omurgalılarda pıhtılaşmayı takip eden süreçte fibrinolizis şekillenirken, omurgasızlarda sadece kan cisimciklerinin kümelenmesi görülür.

Fibrin trombusu, bir serin proteazı olarak dolaşımda inaktif halde bulunan, plazminin ön maddesi olan ve memelilerde primer olarak karaciğerde sentezlenen plazminojen tarafından yıkımlanır. Plazminojen, fibrin ve fibrinojene bağlanır ve pıhtıya dahil olur. Ardından normalde inaktif halde bulunan ve doku hasarını takiben damar endotel hücrelerinden salınan doku plazminojen aktivatörüne (tPA) ve daha az olarak da ürokinaz gibi primer serin proteazları pıhtıya dahil olan plazminojene bağlanarak onu aktif proteolitik plazmine yıkımlar. Plazminin görevi, polimerize

fibrin liflerini ayırıp fibrini parçalamaktır (Casanave ve Tentoni, 2014; Chapin ve Hajjar, 2015 ve Jobling ve Eyre, 2013).

Fibrinin parçalanmasını takiben fibrin yıkım ürünleri ortaya çıkar. Bunlara fibrin bozulma ürünleri (FDPs, FYÜ) denir. Bunlar trombin ile tamamlanır ve çok yavaş bir şekilde fibrinojenin fibrine dönüşümünü azaltır. Fibrinolitik sistem aktivitesinin değerlendirilmesinde FYÜ ölçülmesi bir tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır. Plazmin aktivitesi, damar endotel hücreleri tarafından düzenlenir. Plazmin görevini tamamladıktan sonra, fibrinoliziste oldukça önemli role sahip olan serin proteaz inhibitörleri (serpinler) olarak da bilinen; tip I ve tip 2 plazminojen aktivatör inhibitörleri (PAI-1 ve PAI-2) ile α_2 -antiplazmin (A_2AP) tarafından yıkımlanır. Bunlardan PAI-1, endotel hücrelerde ve trombositlerde; PAI-2 ise akyuvarlarda ve plasentada sentezlenir (Casanave ve Tentoni, 2014; Chapin ve Hajjar, 2015 ve Yavru, 2006).

1.3. Pıhtılaşma Kofaktörleri ve İnhibitörleri

Pıhtılaşma kaskatının sorunsuz ve eksiksiz bir şekilde ilerleyip pıhtılaşmanın tamamlanabilmesi için bir takım kofaktörlere ihtiyaç duyulur. Aksi bir şekilde pıhtılaşma kaskatının çeşitli inhibitörlerle baskılanması da mümkündür. Bunların bilinmesi, ayırıcı testlerin uygulanmasında ve pıhtılaşma hastalıklarının teşhisinin konulmasında kolaylık sağlamaktadır.

Pıhtının kararlılığı ve pıhtılaşmanın sürdürülebilmesi için kalsiyum konsantrasyonu ve negatif yüklü fosfolipidlerin varlığı büyük önem taşır. Bunlardan Ca^{++} , fosfolipid tenaz ve protrombinaz kompleksinin trombositlerin fosfolipid yüzeylerine bağlanmasını sağlar ve bu işlevin sorunsuz gerçekleşmesi için gereklidir. Fosfolipidler ise trombositlerin aktivasyonu ve pıhtılaşma kaskatı sırasında protein yapıdaki öncüllerin toplanması için bir nidus (yuva) görevi üstlenir (Chapin ve Hajjar, 2015; Dahlback, 2000 ve Yavru, 2006).

K vitamini, Faktör-II, Faktör-VII, Faktör-IX, Faktör-X gibi dört serin proteaz yapısındaki pıhtılaşma faktörüne karboksil gruplarının (Protein C, Protein S gibi) eklenmesiyle, bu faktörlerin karboksillenerek, γ -karboksiglutamata (Gla) dönüşmesi ve aktif hale gelebilmesi için gereklidir. K vitamini bu karboksillenme işlemi için gerekli olan, hepatik gamma-glutamil karboksilaz (γ -GK) denilen enzimin kofaktörüdür. K vitamini eksikliğinde bu enzimatik reaksiyon tamamlanamayıp pıhtılaşma kaskadı sekteye uğrayacağı gibi pıhtılaşma faktörlerinin çoğunun karaciğerde yapıldığı da düşünüldüğünde, K vitamini eksikliğinde bu faktörlerin yapımı da baskılanacağı için pıhtılaşma gerçekleşemez. Bunun yanında antikoagulan ilaç kullanımı ile siroz ve hepatosellüler karsinoma gibi karaciğer hasarına sebep olan hastalıklar sonucunda da pıhtılaşma olumsuz yönde etkilenir (Ar, 2013; Caldwell ve ark., 2006; Hackner, 2011 ve Yavru, 2006).

Protein C, karaciğerde sentezlenir ve pıhtılaşma inhibitörlerinin başında gelir. Bilinen en iyi fizyolojik antikoagulandır. Faktör-Va ve Faktör-VIIa'yı parçalar. Trombinin trombomodulinle bağlanmasıyla aktive olur ve işlevini yapabilmek için ise protein S'ye ihtiyaç duyar. Protein C ve protein S'nin kalitatif veya kantitatif eksikliğinde trombofili (tromboz) eğiliminde artışa neden olur (Caldwell ve ark., 2006; Gale, 2011 ve Yavru, 2006).

Antitrombin (AT), trombin, Faktör-IXa, Faktör-Xa, Faktör-XIa ve Faktör-XIIa gibi serin proteaz kofaktörlerini inaktive eden, karaciğer ve endotel hücrelerinde sentezlenen bir serin proteaz inhibitörüdür. Glikozaminglikanlar ve heparin sülfatın antitrombine bağlanması inhibitör etkiyi artırıp trombin aktivasyonunu azaltır. Kalitatif veya kantitatif olarak antitrombinin azalması da trombofili eğilimde artışa sebep olur (Caldwell ve ark., 2006; Palta ve ark., 2014 ve Yavru, 2006).

Doku faktörü yolu inhibitörleri (TFPI), endotel hücrelerinde sentezlenip, plazmada düşük yoğunluklu lipoproteine (LDL) bağlı olarak bulunan polipeptitlerdir. Doku faktörü ile aktive olan Faktör-VII ve Faktör-X'nun aktivasyonunu engeller. Heparin, sentezlenmesini artırıp antikoagulan etkiyi

güçlendirir. Doku faktörü yolu inhibitörleri, gebelerde villöz aralıkta antikoagulan etki göstererek pıhtı oluşumunu önler (Palta ve ark., 2014 ve Yavru, 2006).

1.4. Pıhtılaşma Testleri

Doğmasal veya edimsel kökenli kanama bozukluklarının tedavisi için pıhtılaşma sistemlerinin kontrolü, insan hekimliğinden veteriner hekimliğe aktarılmış olup, hemostatik bozuklukların tanısı ve karakterize edilmesinde kullanılan bir takım laboratuvar testleri bulunmaktadır. Pıhtılaşma sisteminin değerlendirilebilmesi için kliniklerde rutinde kullanılan pek çok testin yanında sadece özel durumlarda uygulanan testler de bulunmaktadır (Çöl ve ark., 2013; Deniz, 2000; Hackner, 2011 ve Yavru, 2006). Hasta anamnezinde ve fiziksel muayenesinde kanama yönünden anormallik bulunan hastalarda, yapılan testlerin de normal dışı olması beklense de sonuçların yorumlanması sırasında ırklara bağlı predispozisyon olabileceği akıldan çıkarılmamalıdır. Veteriner hekimlikte pıhtılaşma testleri farklı hayvan türlerinde farklı sonuçlar verebilir. Örneğin bazı köpekler, ırk predispozisyonuna bağlı olarak, kimi pıhtılaşma faktörlerinin eksikliğine yatkınlık gösterir. Bazen anormal olarak değerlendirilen testler, klinikte her zaman anlamlı bir sonuç olarak değerlendirilmeyebilir. Örneğin; Faktör-XII, prekallikrein ve kininojen eksikliği olan hastalar, herhangi bir klinik belirti göstermezken, bu hastalarda aktive edilmiş parsiyel protrombin zamanı (aPTT) uzamıştır. Bu sebeple birçok tedavi ve cerrahi müdahaleden önce pıhtılaşma testleri yapılmalıdır (Gezer, 2012; Hackner, 2011 ve Rubanick ve ark., 2017). Yine bu pıhtılaşma testlerinin doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için, kliniklerde kanın koagülasyon testine uygun bir tüpe, yeterli miktarda alınması gerekmektedir. Örneğin; koagülasyon testleri için tam kan genelde, mavi kapaklı % 3,2'lik trisodyum sitrat içeren tüplere alınır. Alınan kanın antikoagulan ile karışma yüzdesinin yaklaşık 1:9 (1 hacim sitrata 9 hacim tam kan) oranında olması gerekir. Kan alınır alınmaz, yavaş bir şekilde tüp aşağı yukarı çevrilmeli, antikoagulanla iyice karışması sağlanmalıdır. Eğer alınan kan çok düşük yoğunlukta kalırsa, hastanın pıhtılaşma zamanında bir uzama görülür ki bu durumu doğru değerlendirmek mümkün olmaz (Çöl ve ark., 2013; Gezer, 2012 ve Herring ve McMichael, 2012).

Hangi testin, pıhtılaşmanın hangi aşamasında yapılması gerektiğini daha rahat anlayabilmek için bu tezde testler yapıldığı pıhtılaşma dönemine göre bölümlendirilmiştir (Raber, 1990).

1.4.1. Trombosit Aktivasyonu İlgili Olan Testler

1.4.1.1. Trombosit Sayımı

Genellikle en sık ve rutinde öncelikli olarak kullanılan test, trombosit sayısının belirlenmesidir (Brahimi ve ark., 2009 ve Roustalo, 2015). Trombosit sayımı, sadece total kan sayımı yapılan bir kan numunesinden, diğer kan hücreleri sayımı kadar kolay bir şekilde yapılabilir (Pietrangelo, 2017 ve Roustalo, 2015). Trombositler, otomatik kan sayım cihazında sayılabileceği gibi manuel olarak da sayılabilir. Kan sayım cihazlarında yapılan trombosit sayımı, ticari laboratuvar analizleri gibi düşünülse de kalitesi düşük kan örneği, kanda meydana gelen mikroagregasyonlar veya dev trombosit hücrelerinin varlığı gibi durumlar sonuçların doğruluğunu olumsuz etkiler. Örneğin, özellikle kedilerde, otomatik sayımda, eritrosit ve trombositler üst üste gelerek trombositlerin sayısının yanlış okunmasına neden olurlar. Manuel sayım ise taze veya EDTA ile karıştırılan kandan hazırlanan periferik yayma preparat üzerinden, mikroskop altında, trombositlerin sayılmasıdır (Herring ve McMichael, 2012).

Trombosit sayımı primer hemostaza dayalı hastalık teşhisinin konulması için gerekli bir testtir. Kemoterapi uygulanan hastalarda, trombosit yıkımına neden olabilecek olan ilaçların kullanımında veya bir seferde fazla miktarda kan verilmesine ve kan kaybına bağlı olarak değeri düşebilir. Düşük trombosit sayısının diğer nedenleri arasında Çölyak hastalığı, K vitamini eksikliği ve lösemi sayılabilir (Herring ve McMichael, 2012; Pietrangelo, 2017 ve Roustalo, 2015). Trombosit sayısı pek çok sağlıklı köpek ırkında yaklaşık 140,000-545,000/ μ L'dir. Bunun yanında sağlıklı tazi ırklarında, Polish Ogar ve Charles King Cavalier ırkı köpeklerde ise diğer köpeklerden sayıca biraz daha azdır (Smith, 2010; Harvey, 2015). Bazı

evcil hayvanlardaki ortalama trombosit değerleri ise aşağıdaki izelge 1.2’de olduğu gibi değişiklik gösterir.

Çizelge 1.2. Evcil hayvanlardaki ortalama trombosit sayısı (Smith, 2010)

Hayvan Türü	Trombosit Sayısı/μL (ortalama değer aralığı)
Kedi	195.000-624.000
At	94.000-246.000
Sığır	252.000-724.000
Koyun	250.000-750.000
Keçi	245.000-975.000

1.4.1.2. Bukkal Mukozal Kanama Zamanı (BMBT)

Kanama zamanı, bukkal mukozadaki küçük kan damarlarında meydana gelen kanmanın ardından, pıhtılaşmanın gerçekleşmesi için gerekli olan hemostatik mekanizmanın aktive olduğu zamanın izlendiği bir kan testidir. Test, von Willebrand hastalığında ve damar bütünlüğünün bozulduğu durumlarda trombositlerin fonksiyonunu gösterir. Bu test ilk olarak 1910 yılında Duke tarafından insanda kulak memesinden kanamanın izlenmesi ile bulunmuştur. Bukkal mukozaya veya st dudak mukozasına bistüri ile yapılan ufak bir ensizyonun ardından bölge kanamaya bırakılır (Gezer, 2012; Herring ve McMichael, 2012 ve Raber, 1990).

Sağlıklı bir kedide 34-105 sn, köpekte ise yaklaşık 45-480 saniyede kanın durması beklenir (Alatzas ve ark., 2014 ve Aumann ve ark., 2013). Bu test ile normal veya normale yakın trombosit sayısı olan hayvanlarda trombositlerin fonksiyonu değerlendirilir. Duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği oldukça düşük olan bu testin klinik olarak inanılırlığı da oldukça şüphelidir (Gezer, 2012). Köpeklerde, azotemi, trombositopeni, von Willebrand hastalığı ile aspirin gibi nonsteroid antiinflamatuvar ilaç kullanımı bu testin süresinde uzamaya sebep olur (Herring ve McMichael, 2012).

1.4.1.3. Kütikül Kanatma Testi

Çoklu tırnak kesimi gerektiren, hasta için ağrılı olduğundan bazen sedasyon ve anesteziye ihtiyaç duyulan bir testtir. Hayvan lateral pozisyonda yatırılır, tırnağın üzerini örten kıllar uzaklaştırılır. Tırnak çevresi temizlenir ve tırnak makasıyla kütikül tabakasında bir kanama olacak şekilde kesilir ve pıhtılaşma için geçen süre gözlemlenir. Kanama süresinin kedi ve köpeklerde yaklaşık 2-8 dakika olması beklenir. Bukkal mukozal kanama zamanı testine göre güvenilirliği çok düşüktür. Dezavantajlarından dolayı veteriner hekimlikte kullanımını çok fazla tercih edilmez (Anonim, 2015 ve Herring ve McMichael, 2012).

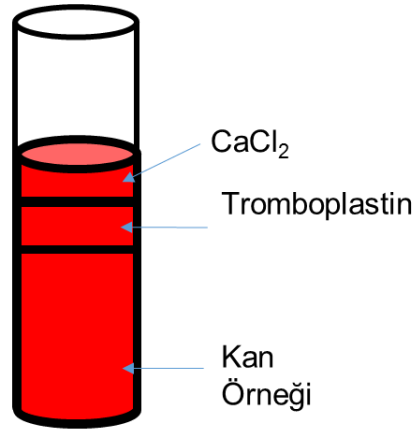
1.4.1.4. Periferik Kan Yayması

Trombositlerin normalden sapma durumlarının direkt olarak değerlendirilmesinde kullanılan, bununla birlikte otomatik sayımda oluşabilecek hataların elimine edilebilmesi ve hem kalitatif hem de kantitatif sonuçlar vermesi açısından oldukça öneme sahip bir testtir. Periferik yayma preparat herhangi bir antikuagülan kullanılmadan alınan kandan taze olarak hazırlanır. Bu sebeple bu testin kullanımıyla trombositlerin sayısı, morfolojik yapısı, küme oluşturma kapasiteleri değerlendirilebildiği gibi eritrosit ve lökositlerle oransal ilişkileri de saptanabilir (Brahimi ve ark., 2009 ve Kaptan, 2006).

1.4.2. Pıhtılaşma Kaskatıyla İlgili Olan Testler

1.4.2.1. Protrombin Zamanı (PT)

Protrombin karaciğerde üretilen bir proteindir. Protrombin zamanı, hemostazın ekstrinsik ve son ortak yolunun etkinliğini göstermek için kullanılan bir testtir. Kan pıhtısının ne kadar iyi ve ne kadar sürede oluştuğunu ölçer. Bu test için kan, plazma elde etmek amacıyla, sitratlı tüpe alınmalıdır (Harvey, 2015; Pietrangelo, 2017 ve Mischke ve ark., 2003). İnsan plasentası ya da diğer dokularından veya tavşan vb. hayvanların beyin, akciğer, plasenta gibi doku ve organlarından elde edilen tromboplastinin, hastanın plazmasına eklenmesi ve ardından sitratın antikoagulan etkisini önlemek için kalsiyum klorür (CaCl_2) tuzlarının ilavesi ile oluşan karışımda, pıhtı oluşana kadar geçen süre hesaplanır. Tromboplastin ve CaCl_2 tuzlarının, sitratlı kan plazmasına ilave edilmesiyle Faktör-VII aktive edilir ve pıhtılaşma sisteminin sonunda oluşan fibrin monomerleri ile koagulametredeki sayaç durur ve okunan değer bize PT'yi gösterir (Deniz, 2000 ve Yavru, 2006).



% 3,2'lik Na_3 Sitrat'lı Kan Tüpü

Şekil 1.4. PT ölçümü için kan örneğinin hazırlanışı.

Kedi ve köpeklerde PT insanlardakine göre oldukça kısadır. Bunun sebebi, pıhtılaşma faktörlerinden Faktör-V ve Faktör-VII'nin aktivasyonlarının oldukça yüksek olmasıdır. Bu sebeple hayvanlarda, insanlarda kullanılan standart test ile ölçüm yapılırken Faktör-V ve Faktör-VII'nin aktivitesinin fazla olmasından

kaynaklanan yanlış sonuçlar ortaya çıkmakta ve testin duyarlılığı % 50'lere düşmektedir (Deniz, 2000). Böyle bir durumla karşılaşmamak için oda sıcaklığında alınıp saklanan örnekler, 24 saat içinde, kontrol olarak kullanılan normal hayvan kanıyla aynı zamanda ölçülmeli ve kullanılan değerler kullanılan metoda göre ayarlanmalıdır (Harvey, 2015).

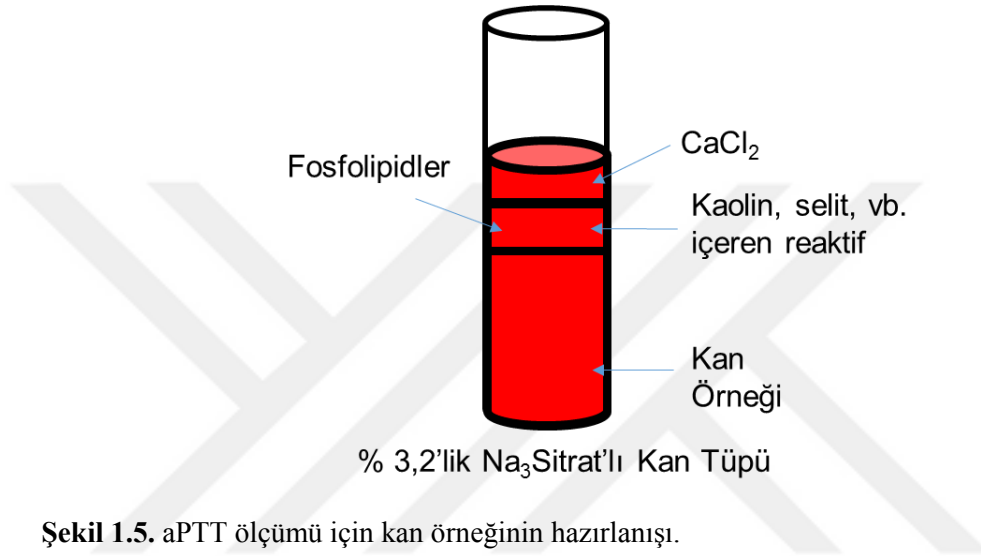
Deniz'e (2000) göre, köpeklerde ve kedilerde plazmanın sulandırılması ve teste fibrinojen katılması temeline dayanan optimize edilmiş bir PT testi geliştirilmiştir. Buna göre, 1:20'lik sulandırma ve teste fibrinojen katkısının en uygun olduğunu göstermiştir. Böylece kedi ve köpeklerde PT testi % 90 – 100'lük bir duyarlılığa ulaştırılmıştır.

Ektrinsik ve son ortak yoldaki pıhtılaşma faktörlerindeki eksiklik, K vitamini antagonisti gibi etki gösteren antikoagulanlarla (kumarin vb.) oral tedavi, karaciğer hastalıkları ve intravenöz heparin uygulamaları, PT'nin uzamasına neden olur. 20 saniyeden uzun olan PT, pıhtılaşmanın eksikliğini gösterir (Raber, 1990).

1.4.2.2. Aktive Edilmiş Parsiyel Tromboplastin Zamanı (aPTT)

Aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı, hemostazın intrinsik ve son ortak yolunun etkinliğini kontrol etmek için kullanılan bir testtir. Bu test ile Faktör-IX, Faktör-XI, Faktör-XII ve Faktör-VIII'in aktivitelerindeki değişiklikler ile Faktör-II, Faktör-V, Faktör-X'un aktivitesi ve fibrin oluşumuyla ilgili bozukluklar hakkında bilgi sahibi olunur (Deniz, 2000; Harvey, 2015 ve Raber, 1990). Aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı ölçümü için hazırlanan kan plazması antikoagulan etkisinden dolayı sitratlı tüpe alınır. Oda sıcaklığında alınıp saklanan örnekler, 24 saat içinde, kontrol olarak kullanılan normal hayvan kanıyla aynı zamanda ölçülmelidir. Aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı, kedi ve köpeklerde, insanlarda kullanılan standart test kiti ile ölçülmektedir. Ancak yine hayvanlardaki pıhtılaşma faktörlerinin aktivasyonlarının insanlarınkinden farklı olması aPTT'nin insanlardakine göre kedi ve köpeklerde daha kısa olmasını açıklamaktadır. Kedi ve

köpeklerde, insanlarda olduğu gibi silikat içeren (kaolin, selit, elajik asit) aktive edici reaktifler tercih edilir (Deniz, 2000). Normalde dokuda kollajenin yaptığı görevi üstlenmek üzere kaolin gibi silikat içeren maddeler ile fosfolipidler, F-XII'yi aktive etmek üzere sitratlı tüpteki plazmaya eklenir. Ardından CaCl_2 tuzlarının ilave edilmesiyle pıhtılaşma sistemi harekete geçer ve fibrin monomerleri oluşumu ile duran koagulometredeki değer bize aPTT zamanını verir.



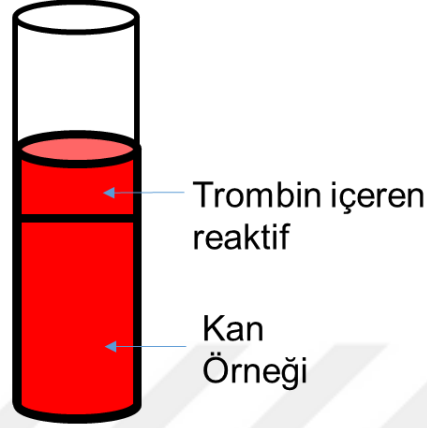
Şekil 1.5. aPTT ölçümü için kan örneğinin hazırlanışı.

Bu sistemde yer alan pıhtılaşma faktörlerinin eksikliklerinde veya aktivitelerinin düşük olması durumunda, hemofili ve von Willebrand hastalığında, intravenöz heparin uygulamaları sonrasında ve antifosfolipid sendromunda uzamış bir aPTT zamanı gözlenir (Deniz, 2000 ve Raber, 1990). Ancak Bernese dağ köpeklerinde, sağlıklı olmalarına rağmen, antifosfolipid antikorları bulunması sebebiyle uzamış bir aPTT izlenir (Harvey, 2015).

1.4.2.3. Trombin Zamanı (TT)

Trombin zamanı, trombin etkisiyle fibrinojenin fibrin monomerlerine dönüşümünün ölçüldüğü pıhtılaşma kaskadının en önemli testidir. Bu test kalitatif veya kantitatif olarak fibrinojene bağlı sorunların ortaya çıkmasını sağlar. Trombin zamanı ölçümü için kan, sitratlı tüpe alınır. Oda sıcaklığında alınıp saklanan örnekler, 24 saat içinde, kontrol olarak kullanılan normal hayvan kanıyla aynı

zamanda ölçülmelidir. Sitratlı kan içerisine trombin içeren reaktif eklenir ve koagulametrede fibrin monomerleri oluşana kadar geçen süre hesaplanır (Deniz, 2000; Harvey, 2015; Raber, 1990 ve Yavru, 2006).



% 3,2'lik Na₃Sitrat'lı Kan Tüpü

Şekil 1.6. TT ölçümü için kan örneğinin hazırlanışı.

Fibrin oluştuğu anda koagulametrede gözlenen değer bize TT zamanını verir. Plazmada fibrinojen konsantrasyonu düştüğünde (afibrinojenemi, hipofibrinojenemi), fibrinojenin işlevsel açıdan bozuk olduğu durumlarda (disfibrinojenemi), fibrin parçalanma ürünleri arttığında ve bazı patolojik bozukluklarda (multiple miyelom ve makroglobulinemi gibi), heparin tedavisinde ve pıhtılaşma inhibitörlerine bağlı uzayan bir TT ile karşılaşılır (Deniz, 2000 ve Yavru, 2006).

1.4.2.4. Aktive Edilmiş Pıhtılaşma Zamanı (ACT)

Aktive edilmiş pıhtılaşma zamanı, trombosit ve F-VII eksikliği dışındaki pıhtılaşma bozukluklarını ortaya çıkarmak için geliştirilmiş olan ve hemostazın intrinsik ve son ortak yolunun etkinliğini kontrol etmek için kullanılan bir testtir. Trombositopeni, trombosit disfonksiyonu ve artmış plazma proteaz aktivasyonuna bağlı olarak bu sürenin uzadığı gözlenir. Kanın 0,4 ml'si hiçbir katkı maddesi olmaksızın ACT aletinin özel kamarasına konur 37°C'de bir PVC pistonun temas aktivasyonu ile pıhtılaşma başlar. Araştırmacıların, MAX-ACT adı verilen özel

tüpler kullanarak ölçtükleri ACT zamanı, normal köpeklerde 85 saniyeden kısadır (Harvey, 2015; See ve ark., 2009 ve Yavru, 2006).

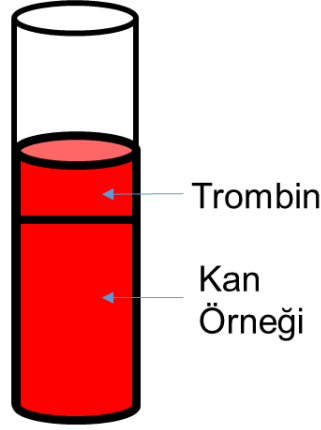
1.4.3. Fibrin Oluşumu ve Fibrinolizis İle İlgili Olan Testler

1.4.3.1. Fibrin Artık Ürünlerinin Değerlendirilmesi

Pıhtılaşma kaskatını takiben fibrin ipliklerinin görülmesi ve fibrinolitik işlemlerin başlamasıyla beraber şekillenecek olan fibrin artık ürünleri (FDP), fibrinolizis işaretleyicileri ile lateks aglütinasyonu temelli işlemlerle (FDP analizi) ölçülebilir (Raber, 1990). Bu ürünler ayrıca D-dimer denilen testle de ölçülebilir. D-dimer test, fibrin artık ürünlerinin çapraz bağlı fibrine karşı oluşan monoklonal antikorların ölçülmesidir. Köpeklerde yaygın intravasküler koagulapati ve tromboembolizm gibi özel hastalıklarda D-dimer analiz ile yapılan ölçümler, FDP analize göre daha iyi sonuç vermektedir (Harvey, 2015).

1.4.3.2. Trombin Pıhtı Zamanı (TCT)

Trombin pıhtı zamanı testi, doğrudan fibrinojenin etkinliğini ölçen bir testtir. Testin standardizasyonunda kullanılan trombin solüsyonuyla fibrinojenin fibrin ve kan pıhtısı oluşturabilme kabiliyeti ölçülür. Bu amaçla sitratlı tüpe alınan kanın üzerine eklenen trombin ile kalıcı bir pıhtı oluşumu gözlemlenir. Cornell Üniversitesi referanslarına göre, kedilerde bu süre yaklaşık 5-8 saniye, köpeklerde ve atlarda ise 5-9 saniyedir. Fibrinojenin eksikliği veya fonksiyon bozukluğunda bu süre uzar (Anonim, 2015).



% 3,2'lik Na₃Sitrat'lı Kan Tüpü

Şekil 1.7. TCT testi için kan örneğinin hazırlanışı.

1.4.4. Diğer Testler

1.4.4.1. Viskoelastik Pıhtı Analizi

1948 yılında Hartert tarafından geliştirilmiş olan tromboelastrografi (TEG) ile sitratlı total kandaki pıhtı geriliminin viskoelastik özelliklerindeki değişimin ölçülmesidir (Whitten ve Greilich, 2000).

Kan pıhtılaşması sırasında, pıhtının viskozitesini kaydederek, trombosit ve pıhtılaşma aktivitesinin zamana bağlı olarak gelişimini, pıhtının gerilme gücünü, durgunluğunu, retraksiyonunu ve erimesini ortaya koyar. Erken dönem faktörlerinin eksikliklerine bağlı olan hemofili ve von Willebrand hastalığı gibi durumlarda normalden uzayan bir analiz süresi ortaya çıkar (Harvey, 2015 ve Yavru, 2006).

1.4.4.2. von Willebrand Faktör Tayini

von Willebrand faktör eksikliği, veteriner hekimlikte özellikle köpekler için büyük önem taşıyan ve kalıtsal bir kusur olan von Willebrand hastalığına sebep olur. Bu faktör pıhtılaşma sırasında trombosit adezyonu için gerekli olduğundan, analizler

sırasında trombosit fonksiyon yetersizliği olduğu durumlarda von Willebrand hastalığından şüphelenilir. von Willebrand hastalığı insanlarda ve köpeklerde kanamaya bağlı kalıtsal hastalıkların en yaygın olanıdır. Ayrıca vWF, özellikle F-VIII'in dolaşımında tutulmasına yardımcı olduğundan oldukça önemlidir (Gopegui ve Feldman; 1997; Harvey, 2015; ve Roustalo, 2015). Hastalığın kalıtsal olmasında otozomal resesif genlerin rol oynadığı bilinmektedir. Doberman Pincher, İskoç Terrier, Alman Çoban Köpeği, Shetland Çoban Köpeği, Minyatür Schnauzer ve Golden Retriever gibi köpek ırkları kalıtsal olarak bu hastalığa yatkınlık göstermektedir (Barr ve McMichael, 2012; Gopegui ve Feldman; 1997; Johnstone ve Crane, 1981; Kayar ve ark., 2006 ve Lobetti ve Dippenaar, 2000).

von Willebrand testi, genel olarak plazmadaki vWF antijen yoğunluğunun ELISA testi ile ölçülmesidir. Köpeklerde, vWF antijen yoğunluğunun % 50' den az olması hastalık bakımından pozitif, % 70' den fazla olması ise negatif olarak değerlendirilir (Anonim, 2015 ve Harvey 2015).

1.4.4.3. PIVKA (K Vitamini Yokluğunda ya da Antagonizmde Uyarılmış Proteinler) Testi

Faktör-II, Faktör-VII, Faktör-IX ve Faktör-X gibi K vitamini bağımlı pıhtılaşma faktörleri karaciğerde üretilmektedir. Ortamda ancak K vitamini varlığında karboksillenip aktif hale geçerler. K vitamini olmadığı zaman inaktif halde dolaşımında bulunan bu pıhtılaşma faktörlerine; K Vitamini yokluğunda veya antagonizmde uyarılmış proteinler (PIVKA) denir. PIVKA testi, köpeklerde antikoagulan toksisitesinin tanısında kullanılan basit bir testtir. Protrombin zamanı testinin modifiye edilmiş bir hali gibi düşünülebilir. PIVKA testi, sadece K vitamini eksikliğinde kullanılan bir test değil aynı zamanda belirli hayvan türlerinde ekstrinsik ve son ortak yol abnormalitelerini ayırt etmeye yardımcı olmak için tasarlanmış bir testtir. Bu test veteriner hekimlikte, özelleşmiş laboratuvar gerekliliği ve testin yapımının oldukça uzun sürmesi nedeniyle çok fazla rağbet görmemiştir. Ancak insanlarda, spesifik immünolojik testler yardımıyla karboksillenemeyip

fonksiyonlarını kaybetmiş olan bu proteinler ölçülebilmektedir (Anonim, 2015; Harvey, 2015 ve Herring ve McMichael, 2012).

1.4.4.4. Dilüe Russell Yılan Zehri Zamanı (dRVVT)

Bu test, antifosfolipid antikoları ve lupus antikoagulanlarının varlığını göstermek için kullanılır. Uzayan aPTT zamanının düzelmediği durumlarda ihtiyaç duyulur. Bu testte kullanılan Russell yılan zehrindeki koagulan, Faktör-X' u aktive eder ve Faktör-V, Faktör II, fosfolipidler ve Ca⁺⁺ eşliğinde pıhtı oluşur. Bu testte düşük yoğunlukta kullanılan yılan zehri ile reaksiyon hızında bir sınırlama olur. Antifosfolipidler ve lupus antikoagulanları, fosfolipidlerin pıhtı yapıcı etkilerini engelleyerek dRVVT'yi uzatırlar. Bu test lupus antikoagulanlarının belirlenmesinde, Faktör-VIII, Faktör-IX e Faktör-XI'in eksikliği ve bunlara bağlı oluşacak olan antikordan etkilenmediklerinden aPTT'den daha duyarlı bir testtir (Anonim, 2015 ve Gezer, 2012).

Sonuç olarak pıhtılaşmanın çeşitli dönemlerinde yapılan bu testler, veteriner hekimlerin pıhtılaşma bozukluklarını daha kolay anlamalarını sağlamaktadır. Örneğin 2012'de Kırbaş ve arkadaşlarının yayınlamış olduğu bir vaka sunumunda, şiddetli burun kanaması şikayetiyle Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne gelen 10 aylık erkek melez Alman Çoban ırkı bir köpekten bahsedilmektedir. Olgunun takibi için 1. ve 3. günlerde alınan kan örneklerinde koagülasyon parametreleri (faktör II, VII, IX, X, PT, uluslararası normal oran (INR), PTT ve APTT) test edilmiştir. Ortaya çıkan test sonuçlarına göre uzayan bir pıhtılaşma zamanının gözlenmesi ve klinik semptomların değerlendirilmesi ile veteriner hekimler hastanın varfarin zehirlenmesine maruz kaldığını ortaya koymuşlardır.

Yapılan literatür taramalarında, günümüzde Türkiye'de yetiştirilen ve önemli yerli gen kaynaklarımızdan olan Kangal köpeklerine (Çınar ve ark., 2010; Oğrak, 2009 ve Yılmaz ve Ertuğrul, 2011) özgü yeterli sayıda pıhtılaşma parametrelerine rastlanamaması sebebiyle, ülkemize ait bu ırka özgü pıhtılaşma bozukluklarının

erken tanısı ve tedavisinde, gerek gen kaynağının korunması ve iyileştirilmesi gerekse temel bilimler ve klinik bilimlere referans olabilecek nitelikte bulguların ortaya konulabilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bu tez projesiyle Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyete bağlı olarak bazı pıhtılaşma parametreleri izlenip, olması muhtemel farklılıklar ortaya konmaya çalışılarak başta Kangal köpekleri olmak üzere yapılacak yeni çalışmalardan sonra diğer yerli köpek ırklarında da pıhtılaşmaya bağlı hastalıkların tanısının ile hayvanlarda cerrahi müdahale gerektiren durumlarda hastaya yaklaşım alternatiflerinin hekim tarafından doğrulukla belirlenebilmesi ve sekonder olarak pıhtılaşma sorunlarına bağlı gelişecek olan hayvan ölümlerinin önüne geçilmesi hedeflenmiştir.

1.5. Araştırmanın Hipotezleri

H₀: Kangal köpeklerinin pıhtılaşma parametreleri üzerine yaş ve cinsiyetin etkisi yoktur.

H₁: Kangal köpeklerinin pıhtılaşma parametreleri üzerine yaş ve cinsiyetin etkisi (pozitif ve /veya negatif) vardır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Materyali

Çalışma materyalini, Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kangal Köpeği Araştırma ve Yetiştirme Merkezi'nde bulunan, 42 Kangal köpeği oluşturdu. Tezin projelendirilmeden önceki hazırlık aşamasında, canlı hayvan üzerinde ağrı, sızı oluşturacak ve hayvan refahını olumsuz etkileyecek herhangi bir işlem yapılmayacağına dair Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 23.11.2016 tarih ve 2016-23-194 numaralı protokol onayı ile Etik Kurul Kararı alındı.

2.2. Materyalin Hazırlanması

Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kangal Köpeği Araştırma ve Yetiştirme Merkezi'nde bulunan ve çalışmada kullanılmasına karar verilen Kangal köpekleri yaşları göz önünde bulundurularak 3 gruba, cinsiyetleri göz önünde bulundurularak 2 alt gruba ayrıldı. Her yaş grubunda erkek ve dişi köpeklerin eşit sayıda olmasına dikkat edildi. Buna göre;

1. grubu; 0-6 aylık yavru dişi köpekler,
2. grubu; 0-6 aylık yavru erkek köpekler,
3. grubu; 10-14 aylık puberta dönemindeki dişi köpekler,
4. grubu; 10-14 aylık puberta dönemindeki erkek köpekler,
5. grubu; 16-24 aylık erişkin dişi köpekler,
6. grubu; 16-24 aylık erişkin erkek köpekler oluşturdu.

Gruplandırmayı takiben, her köpeğin anamnezi alınarak genel durumu izlendi ve semptomatik olarak herhangi bir hastalık belirtisi göstermeyen, klinik olarak sağlıklı görünen köpekler çalışmada kullanıldı.

2.3. Örneklerin Toplanması, İşlenmesi ve Muhafazası

İlk olarak çalışmada kullanılacak olan köpekler belirlendikten sonra, tüm gruplardaki deneklerin beden ısıları digital termometre (Beurer Clinical Digital Thermometer, Amerika) yardımıyla rektal yoldan ölçüldü ve değerler kaydedildi.

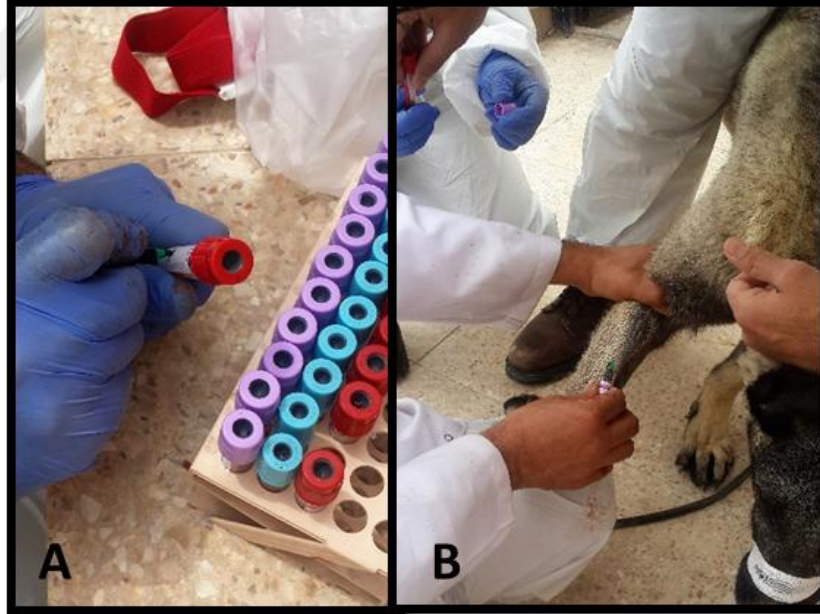
Kan almak için bölgeyi dezenfekte etmek üzere, seçilen deneklerin ön ekstremiteleri, *vena cephalica antebrachii* hizasında alkollü pamukla temizlendi. Sonra her hayvan için uygun çapta; yavrular için; 21G (yeşil), pubertadakiler ve erişkinler için; 18G'lik (pembe) bir steril enjektör iğnesi kullanıldı. Venöz kan, ilk 2 damla kan dışarı atılmak koşuluyla (Altunçul, 1997) steril kan tüplerine toplandı (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Numunenin toplanmasına hazırlık.

Periferik yayma preparat hazırlayıp bunlardan manuel olarak trombositleri saymak ayrıca trombositlerin küme oluşturma kabiliyetlerini tespit etmek amacıyla bölgeden alınan bir damla kan, temiz bir lam üzerine damlatıldı. Damlatılan kan pıhtılaşmadan önce hızlıca, lamel yardımıyla 45°'lik açıyla sürüklenerek froti hazırlandı. Yayma preparat hazırlamak üzere froti çekilen kanlar etiketlenip kurutulduktan sonra boyanmak üzere saklama kutularına kaldırıldı.

Ayrıca aynı hayvanlardan trombosit sayımı ve tam kan sayımı analizlerinin yapılabilmesi için, 5.40 mg K₂EDTA içeren tüplere, yaklaşık 2 ml kan alındı. Gruplar ve bireyler bazında dikkatli bir şekilde numaralandırılan örneklerden, tam kan ve trombosit sayımı yapmak üzere EDTA'lı tüplere toplanan kanlar, araç tipi soğutucuda +4 °C'de muhafaza edilip, Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirildi (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Örneklerin numaralandırılması (A) ve numunelerin toplanması (B).

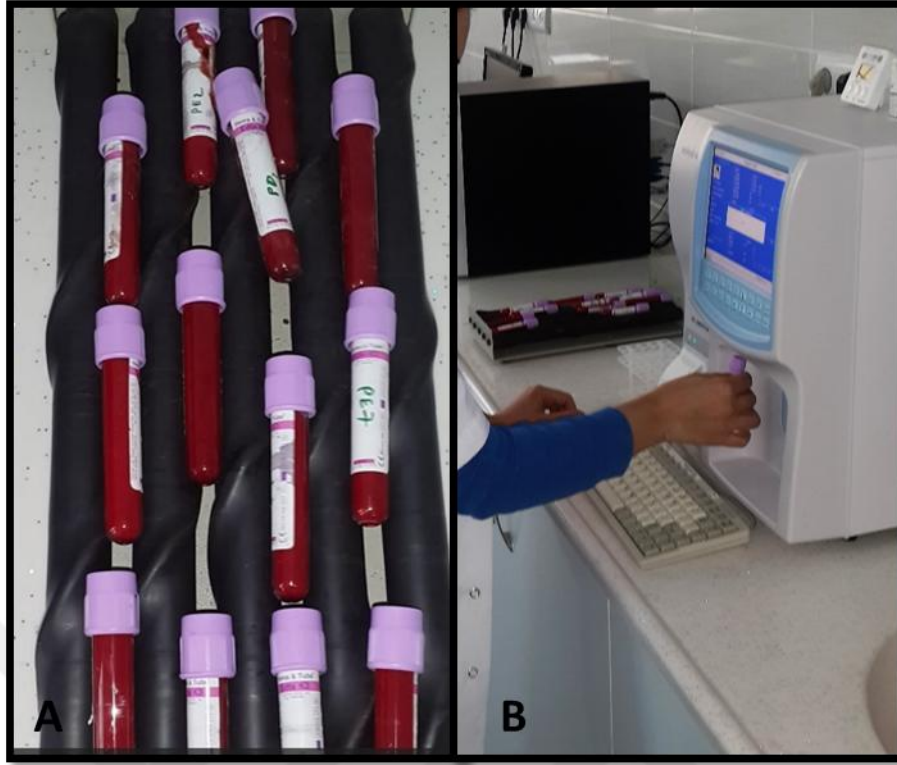
Diğer taraftan PT, aPTT ve D-dimer gibi pıhtılaşma testleri için, 0,2 ml % 3,2' lik trisodyum sitrat (Na₃-Sitrata) içeren mavi kapaklı tüpler kullanıldı. Toplanan kanın antikoagülan ile karışma oranı; 1:9 (1 hacim sitrata 9 hacim tam kan) oranında olmak üzere yaklaşık 1,8 ml kan tüplere alındı. Kan alınır alınmaz, yavaş bir şekilde tüp aşağı yukarı çevrilerek antikoagülanla iyice karışması sağlandı. Örnekler

santrifüj edilmek üzere Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirilene kadar ki süreçte buz içinde 2 saatten az olmak üzere muhafaza edildi. Örnekler, Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, 20 dakika süreyle 3000g devirde santrifüj edildi (Çöl, 2003). Elde edilen plazmalar, araç tipi soğutucuyla, PT, aPTT ve D-dimer fibrin artık ürünlerinin belirlenmesi testlerini yapmak üzere Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Merkez Tanı Laboratuvarı'na getirildi.

2.4. Hematolojik ve Hemostatik Analizler

2.4.1. Tam Kan ve Trombosit Sayımı

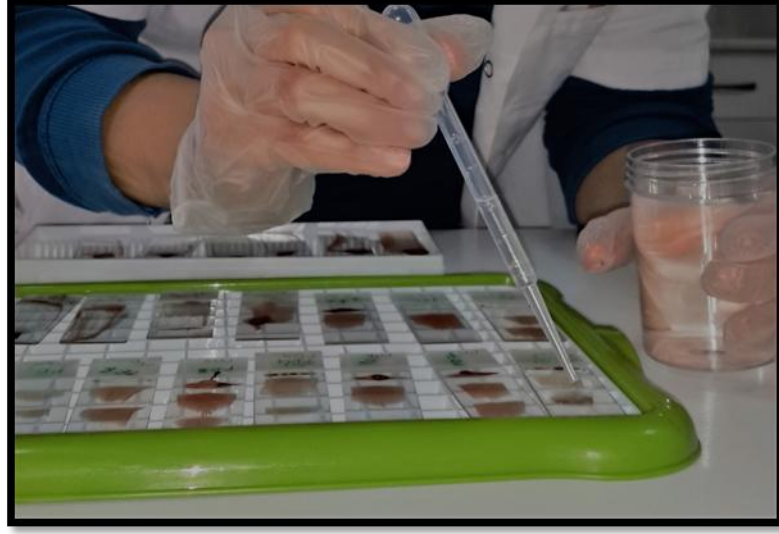
EDTA'lı tüplere toplanan numunelerin, tam kan sayımı, Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Tanı Laboratuvarı'nda tam otomatik kan sayım cihazında (Mindray BC-2800Vet, China) yapıldı (Şekil 2.3). Yapılan bu tam kan sayımında; başta trombosit sayımı (PLT) olmak üzere, toplam akyuvar sayısı (WBC), lenfosit, monosit ve granülosit sayıları ile birlikte toplam alyuvar sayısı (RBC), alyuvarlardaki hemoglobin miktarı (HGB), hematokrit değeri (HCT), ortalama alyuvar hacmi (MCV), her bir alyuvara düşen hemoglobin miktarı (MCH) ve ortalama alyuvar hemoglobin derişimi (MCHC) değerleri elde edildi.



Şekil 2.3. Kan örneklerinin tam kan sayımı öncesi karıştırılması (A) ve tam otomatik tam kan sayım cihazında analizi (B).

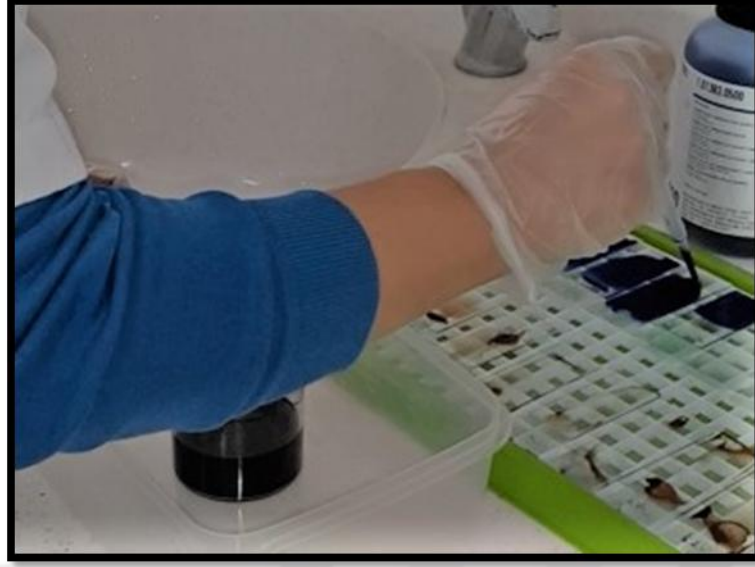
2.4.2. Periferik Yayma Preparattan Trombosit Sayımı

Periferik yayma kan preparatı hazırlamak üzere alınan örnekler, saklama kaplarında muhafaza edilerek 2 saat içerisinde, Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirildi. Preparatlar boyama işlemlerinin yapılabilmesi için, boyama sehпасına yerleştirildi. Bu sırada Wright's solüsyonu hazırlanırken, her örnek için 1 ml distile suya 1-2 damla Wright's stok boyası (Wright's eozin metilen mavisi çözeltisi, Merck, Almanya) olacak şekilde sulandırıldı. Ardından preparatların yüzeyleri Methanol (Merck, Almanya) ile kaplandı ve 5 dakika bu şekilde tespit edildi (Şekil 2.4 ve Şekil 2.5) (Anonim, 2011 ve Karakaş, 2003).



Şekil 2.4. Preparatların Methanol ile tespiti.

Bu sürenin sonunda preparatlar kenarlarından pens ile kaldırılarak Methanol'ün dökülmesi sağlandı. Tekrar boyama sehпасına yerleştirilen preparatların yüzeyi sulandırılmış Wright's solüsyonu ile kaplandı ve 15 dakika kan hücrelerinin boyanması için bekletildi (Şekil 2.5). Preparatlar işlemin tamamlanması için bu sürenin sonunda boya yüzeyden tamamen uzaklaştırılana kadar distile suyla dikkatlice yıkandı. Son olarak preparatlar tamamen kurumaları amacıyla temiz bir yüzey üzerinde oda sıcaklığında bir gece süreyle kurumaya bırakıldı. Kuruyan preparatlar saklama kutularında muhafaza edilerek, yayma preparatta trombosit sayımı ve küme varlığının değerlendirilmesi amacıyla Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirildi (Anonim, 2011 ve Luna, 1992).

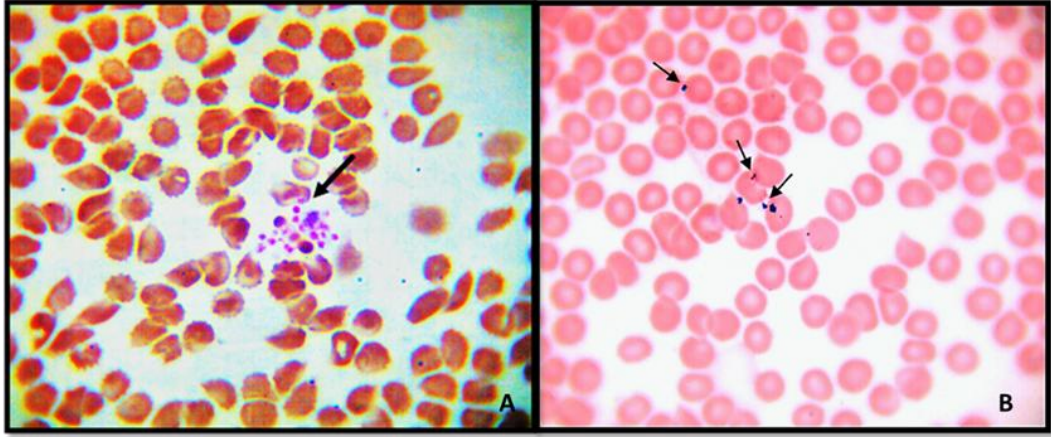


Şekil 2.5. Preparatların sulandırılmış Wright's boyası ile boyanması.

Preparatların 1µl kandaki trombosit sayılarının değerlendirilmesi için 100'lük büyütmede 10 farklı alandaki trombositler, mikroskop (Leica® Products, Microsystem DM30, İsviçre) altında sayıldı (Şekil 2.7). Elde edilen sayı 20.000 ile çarpılıp bakı alanı sayısına bölünerek 1µl kandaki trombosit sayısı tahmini olarak hesaplandı (Şekil 2.6) (Harvey, 2015; Malok ve ark., 2007; Öztürk, 2017 ve Weisbrot ve Hollenberg; 1980).

$$\text{Tahmini Trombosit Sayısı} = \frac{\text{Sayılan Trombosit Sayısı} \times 20.000}{\text{Bakı alanı Sayısı (10)}}$$

Şekil 2.6. Tahmin trombosit hesabı



Şekil 2.7. Trombositlerin x100'lük objektifte çoklu küme oluşturma eğilimi (A) ve küme oluşturma eğilimindeki yetersizlik (B).

2.4.3. Protrombin Zamanının (PT) Belirlenmesi

Sitratlı tüplere alınan numuneden ayrıştırılan kan plazması PT'nin belirlenmesi için MT1C koagülasyon analizöründe işlendi. Bu amaçla ilk olarak reaktif ısıtma bölümünde, kalsiyum içeren doku tromboplastin reaktifinin (MT1-1005, İngiltere), 37 °C'de ısınması sağlandı. Ardından her örnek için ayrı ayrı numunelerden 50 µL, önceden metal bilye (MT1-3013, İngiltere) konulmuş olan plastik numune kabına (gode) eklendi ve cihazın okuma bölümüne konuldu. Cihazın 60 saniyeye ayarlanmış zamanlayıcısının tuşuna basıldı ve süre sonunda zamanlayıcı otomatik olarak durduğunda cihaza bağlı otomatik pipetle, ısıtılmış olan reaktiften 100µL çekilip numunenin üzerine boşaltırken test tuşuna aynı anda basılarak koagülometrenin sayacı çalıştırıldı. Oluşan ilk fibrin monomeriyle birlikte, cihaza entegre digital saat, saniye cinsinden protrombin zamanını verdi.

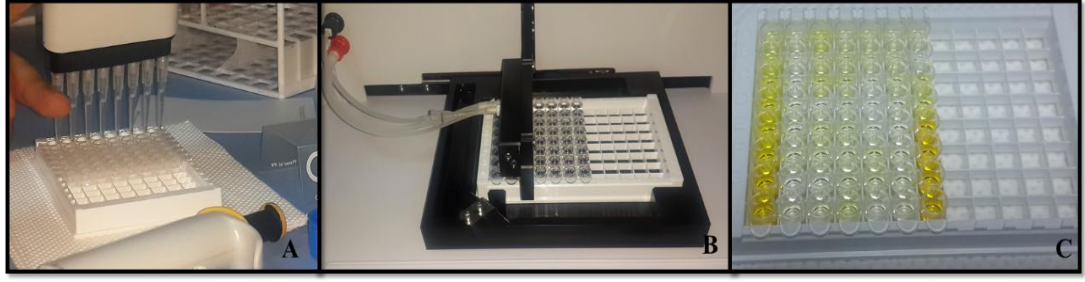
2.4.4. Aktive Edilmiş Parsiyel Tromboplastin Zamanının (aPTT) Belirlenmesi

Her bir numuneden elde edilen kan plazmaları aPTT'nin ölçülmesi için PT'ye benzer şekilde aşağıda açıklanacağı gibi MT1C koagülasyon analizöründe test edildi. Bu amaçla ilk olarak CaCl₂ içeren reaktif cihazın ısıtma bölümünde 37 °C'de inkübe edildi. Yine aynı şekilde metal bilye yerleştirilmiş olan plastik kaplara (gode) kan

plazmasından 50 µL konuldu. Ardından elajik asit içeren aPTT (MT1-1008, İngiltere) reaktifinden 50µL plazmanın üzerine eklendi ve zamanlayıcı 180 saniyeye ayarlandı. Sürenin sonunda ısıtılmış olan CaCl₂ reaktifinden (MT1-1010, İngiltere) de 50 µL karışımın üzerine ilave edilerek cihazın test tuşuna basıldı ve pıhtılaşma olduğu anda ekranda saniye cinsinden aPTT değeri okundu.

2.4.5. D-dimer Fibrin Artık Ürünleri Düzeyinin Belirlenmesi

Yukarıda bahsedilen testlerin dışında son olarak, oluşan fibrin polimerlerinin, plazmin enzimi tarafından yıkımlanması sonucu ortaya çıkan fibrin artık ürünlerinin miktarını ölçmek ve pıhtı oluşumunun güvenilir bir göstergesi olan plazmada D-dimer miktarının kantitatif gösterilebilmesi için, D-dimer testi yapıldı. Yaklaşık 180 kDa moleküler ağırlığa sahip, özellikli bir fibrin artık ürünü olan D-dimer'in miktarı, D-dimer antijen-antikor birleşmesi temelli Enzim Bağlı İmmun Ölçüm (ELISA) yöntemiyle belirlendi (Hackner, 2011 ve Noyan, 2012). Bu amaçla, 96 kuyucuklu Canine D-dimer (Elabscience ® Products, Houston, Texas, Amerika) test kiti ile ELISA okuyucu (Biotek ®, 800 TS, İngiltere) ve ELISA yıkayıcı (Mindray ®, MW12A, İngiltere) kullanılarak, kit protokolüne uygun biçimde ELISA testi yapıldı (Şekil 2.7). Buna göre, ilk olarak belirleyici antikor, substrat ve konjugat kit protokolünde belirtilen oranlarda sulandırıldı. D-dimer test kitindeki kuyucuklara 50 µl kan plazmasından eklendi. Ardından 50 µl belirleyici antikor hızlı ve dikkatli bir şekilde ilave edildi ve 37 °C'de 45 dakika inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda kuyucuklar 3 kez ELISA yıkayıcı ile aspire edilmek suretiyle yıkandı. Daha sonra kuyucuklara 100 µl konjugat eklendi ve yeniden 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Süre tamamlanınca örnekler 5 kez ELISA yıkayıcı yardımıyla yıkandı. Kuyucuklara 90 µl substrat eklenip tekrar 37 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Son olarak kuyucuklara 50 µl durdurucu solüsyon (stop solüsyon) eklenerek kuyucuklarda meydana gelen parlamalar üzerinden optik dansite (OD) değerleri belirlenen ($r^2= 0,99$) örneklerin ng/ml cinsinden D-dimer seviyeleri hesaplandı



Şekil 2.8. Kan plazmalarının Canine D-dimer test kitindeki kuyucuklara yüklenmesi (A), örneklerin yıkanması (B) ve D-dimer seviyesine bağlı olarak kuyucuklardaki parlamaların tespiti (C).

2.5. İstatistiksel Analizler

Çalışmanın örneklem genişliği belirlenirken; etki büyüklüğü (f)=0,47, α (tip1) hata=0,05 ve testin gücü ($1-\beta$)=0,85 olarak değerlendirilmiş buna göre $n=7$ /grup sayısı olmak üzere minimum örneklem genişliği 42 olarak hesaplanmıştır. Araştırma için gerekli en az denek sayısı, istatistiki olarak, GPower 3.1 programı yardımıyla hesaplanmıştır. Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 14.01 (Statistical Package For Social Sciences, version 14.01, Lisans No: 9869264) ile yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler nicel değişkenler için ortalama \pm standart sapma, nitel veriler için frekans ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk Testi ile kontrol edilmiştir. Kangal köpeklerinde, yaş grupları ve cinsiyetin incelenen kan parametrelerine etkisi "iki yönlü varyans analizi" ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir. Çalışmada anlamlı bulunan etkilerin incelenmesinde ise ileri aşama testi olarak Bonferroni testi kullanılmıştır (Zar, 2010).

3. BULGULAR

Bu bölümde, çalışmada kullanılan 42 adet Kangal köpeğine ait vücut ısıları ile bu hayvanlardan toplanmış olan kan numunelerinden elde edilen hematolojik ve hemostatik test bulguları, gruplar dikkate alınarak, başlıklar halinde incelendi.

3.1. Örneklerin Vücut Isılarının Gruplar ve Cinsiyet Bakımından Değerlendirilmesi

Hazırlık aşamasında hayvanlardan yapılan genel muayene sonrasında, klinik olarak herhangi bir hastalık belirtisi göstermeyen, yavru, puberta ve erişkin dönemlerindeki dişi ve erkek hayvanlardan alınan vücut ısılarının, ortalama değerleri ile en düşük ve en yüksek değerleri, yaş ve cinsiyetleri göz önüne alınarak, Çizelge 3.1.'de sunuldu. Buna göre vücut ısılarındaki değişim yaş (Y) ve cinsiyet (C) etkileşiminde (YxC) değerlendirildiğinde fark gözlemlenmedi.

Çizelge 3.1. Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyetin vücut ısısına etkisi (-: $P \geq 0,05$).

VÜCUT ISISI °C					
GRUP (N=42)	Cinsiyet	Ortalama ± Std. Hata	En Düşük	En Yüksek	Önemlilik Değeri (P)
YAVRU	Dişi	38,0 ± 0,57	37,1	38,6	-
	Erkek	37,8 ± 0,42	37,3	38,5	-
PUBERTA	Dişi	38,9 ± 0,22	38,7	39,3	-
	Erkek	38,8 ± 0,30	38,3	39,2	-
ERİŞKİN	Dişi	38,2 ± 0,42	37,8	39,1	-
	Erkek	38,0 ± 0,30	37,5	38,4	-
TOPLAM	Dişi	38,39 ± 0,5	37,1	39,3	-
	Erkek	38,21 ± 0,5	37,3	39,2	-

Ancak örnekleme oluşturan gruplar arasında vücut ısısının, yaşa bağlı değişimi ($P<0,001$) anlamlı bulundu. Cinsiyet ayrımı yapmaksızın puberta dönemindeki köpeklerin $38,8 \pm 0,26$ °C olan ortalama vücut ısısı değerinin, $37,9 \pm 0,50$ °C olan yavru köpeklerinden ve $38,2 \pm 0,36$ °C olan erişkin köpeklerden yüksek olduğu görüldü. Buna göre yavru ve puberta dönemindeki köpekler ile erişkin ve puberta dönemindeki köpekler arasında ortaya çıkan vücut ısıları farkının ($P<0,001$) önemli olduğu belirlendi (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Vücut ısısının yaşa bağlı değişimi.

VÜCUT ISISI °C		
GRUP (N=42)	ORTALAMA ± STD. HATA	ÖNEMLİLİK DEĞERİ
YAVRU	$37,9 \pm 0,50^a$	P < 0,001
PUBERTA	$38,8 \pm 0,26^b$	
ERİŞKİN	$38,2 \pm 0,36^{ab}$	

^{a,b} Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistiki olarak önemlidir.

3.2. Yavru Kangal Köpeklerine Ait Hematolojik ve Hemostatik Test Değerleri

Çalışmanın 1. grubunu oluşturan yavru dişi (YD) köpeklere (n=7) ait tam kan sayımı analizleri incelendiğinde; 0-6 aylık dişi köpeklerin ortalama akyuvar (WBC) sayısının; $13,6 \pm 4,0 \times 10^9/L$, monosit sayısının; $0,45 \pm 0,16 \times 10^9/L$, lenfosit sayısının; $2,02 \pm 0,4 \times 10^9/L$ ve granülosit sayısının ise; $11,11 \pm 3,8 \times 10^9/L$ olduğu belirlendi (Çizelge 3.3). Aynı grupta yer alan köpeklerin ortalama alyuvar (RBC) sayılarının; $5,9 \pm 0,9 \times 10^{12}/L$, hemoglobin (HGB) miktarının; $12,9 \pm 2,2$ g/dL ve hematokrit (HCG) değerlerinin % $43,7 \pm 7,7$ olduğu görüldü. Ayrıca ortalama alyuvar hacminin (MCV); $72,4 \pm 3,5$ fL, her bir alyuvara düşen hemoglobin miktarının (MCH); $21,3 \pm 0,9$ pg ve alyuvarlarındaki ortalama hemoglobin derişiminin (MCHC) ise; $29,5 \pm 0,9$ g/dL olduğu saptandı (Çizelge 3.4). Yavru dişi köpeklere ait otomatik sayım cihazından elde edilen trombosit sayım sonuçları ile periferik yayma preparatlardan manuel olarak yapılan trombosit sayım sonuçları karşılaştırıldığında, manuel sayım ile elde edilen trombosit sayısının; $444,57 \pm 33,40$

$\times 10^9/L$, otomatik sayım ile elde edilen trombosit sayısının ise; $439,43 \pm 31,30 \times 10^9/L$ olduğu görüldü (Çizelge 3.5). Bu grubun hemostatik test değerlerinden olan PT; $8,93 \pm 0,34$ sn ve aPTT; $16,09 \pm 1,25$ sn ile tüm gruplar içinde en düşük PT ve aPTT değerleri olduğu gözlemlendi (Çizelge 3.6). Bunun yanı sıra D-dimer miktarının; $152,07 \pm 22,61$ ng/ml olduğu belirlendi (Çizelge 3.7).

Çalışmanın 2. grubunu oluşturan yavru erkek (YE) köpeklere ait tam kan sayımı sonuçları değerlendirildiğinde, bu grupta yer alan 0-6 aylık 7 erkek köpeğin ortalama akyuvar sayısının; $11,3 \pm 3,5 \times 10^9/L$, monosit sayısının; $0,38 \pm 0,18 \times 10^9/L$, lenfosit sayısının; $2,51 \pm 1,5 \times 10^9/L$ ve granülosit sayısının; $8,40 \pm 3,1 \times 10^9/L$ olduğu gözlemlendi (Çizelge 3.3). Bununla beraber alyuvar sayısının ise; $6,2 \pm 2,1 \times 10^{12}/L$, HGB miktarının; $8,8 \pm 3,9$ g/dL ve HCT değerinin; $\% 45,4 \pm 14,6$ olduğu saptandı. Aynı grubun, MCV değeri; $74,5 \pm 7,1$ fL, MCH değeri; $22,0 \pm 2,5$ pg ve MCHC değeri; $29,5 \pm 0,6$ g/dL olarak kaydedildi (Çizelge 3.4). Yavru erkek köpeklerin otomatik kan sayım cihazından elde edilen trombosit sayım sonuçları ile periferik yayma preparatlardan manuel olarak yapılan trombosit sayım sonuçları karşılaştırıldığında, manuel sayım ile elde edilen trombosit sayısının; $402,8 \pm 56,7 \times 10^9/L$ olduğu, otomatik sayım ile elde edilen trombosit sayısının ise; $373,0 \pm 61,5 \times 10^9/L$ olduğu gözlemlendi (Çizelge 3.5). Bu gruba ait köpeklerden elde edilen PT, aPTT ve D-dimer değerleri incelendiğinde; PT değerinin; $9,25 \pm 0,34$ sn ve aPTT değerinin; $18,57 \pm 0,82$ sn olduğu saptandı (Çizelge 3.6). D-dimer değerinin ise; $94,28 \pm 33,12$ ng/ml olarak tüm gruplar arasında en düşük değer olduğu dikkati çekti (Çizelge 3.7).

Yavru dişi ve yavru erkek Kangal köpeklerinde akyuvar sayılarına ait veriler ayrıntılı olarak incelendiğinde, yavru dişi ve yavru erkek köpekler arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (Çizelge 3.3).

Yavru dişi ve erkek köpekler arasındaki alyuvarlara ait parametreler incelendiğinde; alyuvar sayıları ve hematokrit değer ile MCV, MCH ve MCHC değerlerinde yavru dişi ve yavru erkek köpekler arasında istatistiki açıdan önemli bir

fark bulunmazken, hemoglobin (HGB) miktarları arasındaki fark cinsiyetler açısından $P=0,034$ düzeyinde anlamlı bulundu (Çizelge 3.4).

Yavru köpekler arasındaki trombosit sayıları, PT ve aPTT süreleri ile D-dimer miktarları cinsiyetler dikkate alınarak incelendiğinde önemli bir fark gözlenmedi (Çizelge 3.5, 3.6, 3.7).



Çizelge 3.3. Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyetin akyuvar sayılarına etkisi (-: $P \geq 0,05$).

GRUP (N=42)	CİNSİYET	WBCX 10 ⁹ /L		MONOSİT X 10 ⁹ /L		LENFOSİT X 10 ⁹ /L		GRANÜLOSİT X 10 ⁹ /L	
		ORT. ± STD. HATA	P	ORT. ± STD. HATA	P	ORT. ± STD. HATA	P	ORT. ± STD. HATA	P
YAVRU	Dişi	13,6 ± 4,0	-	0,45 ± 0,16	-	2,02 ± 0,4	-	11,11 ± 3,8	-
	Erkek	11,3 ± 3,5	-	0,38 ± 0,18	-	2,51 ± 1,5	-	8,40 ± 3,1	-
PUBERTA	Dişi	17,8 ± 9,6	-	0,50 ± 0,17	-	2,03 ± 0,6	-	15,00 ± 8,3	-
	Erkek	11,2 ± 2,4	-	0,37 ± 0,09	-	1,65 ± 0,3	-	9,20 ± 2,3	-
ERİŞKİN	Dişi	15,0 ± 5,4	-	0,54 ± 0,13 ^a	0,044	2,41 ± 0,9	-	12,05 ± 4,5	-
	Erkek	11,2 ± 3,8	-	0,38 ± 0,12 ^b	-	2,53 ± 1,7	-	8,31 ± 2,6	-
TOPLAM	Dişi	15,4 ± 1,1 ^a	0,014	0,50 ± 0,33 ^c	0,014	2,157 ± 0,67	-	12,72 ± 1,0 ^a	0,007
	Erkek	11,2 ± 1,1 ^b	-	0,38 ± 0,33 ^d	-	2,233 ± 1,37	-	8,63 ± 1,0 ^b	-

^{a,b,c,d} Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistik olarak önemlidir.

Çizelge 3.4. Sivas Kangal köpeklerinde cinsiyetin, ortalama alyuvar sayıları, hematokrit miktarı ve hemoglobin değerleri ile ortalama alyuvar hacmi (MCV), her bir alyuvara düşen hemoglobin miktarı (MCH) ve ortalama alyuvar hemoglobinin derişimine (MCHC) etkisi (-: $P \geq 0,05$).

GRUP (N=42)	CİNSİYET	RBC x 10 ¹² /L		HGB g/dL		HCT %		MCV fL		MCH pg		MCHC g/dL	
		ORT. ± STD. HATA	P	ORT. ± STD. HATA	P	ORT. ± STD. HATA	P	ORT. ± STD. HATA	P	ORT. ± STD. HATA	P	ORT. ± STD. HATA	P
YAVRU	Disi	5,9 ± 0,9	-	12,9 ± 2,2 ^a	0,034	43,7 ± 7,7	-	72,4 ± 3,5	-	21,3 ± 0,9	-	29,5 ± 0,9	-
	Erkek	6,2 ± 2,1	-	8,8 ± 3,9 ^b	-	45,4 ± 14,6	-	74,5 ± 7,1	-	22,0 ± 2,5	-	29,5 ± 0,6	-
PUBERTA	Disi	7,2 ± 1,3	-	15,4 ± 2,2	-	51,5 ± 6,8	-	72,4 ± 5,2	-	21,6 ± 1,5	-	29,9 ± 0,8	-
	Erkek	7,3 ± 0,4	-	15,8 ± 0,6	-	54,4 ± 2,9	-	74,6 ± 3,1	-	21,7 ± 0,5	-	29,1 ± 0,7	-
ERİŞKİN	Disi	7,5 ± 0,4	-	15,3 ± 1,2	-	54,2 ± 3,2	-	72,3 ± 2,2 ^a	0,028	20,4 ± 1,4 ^a	0,05	26,8 ± 3,1	-
	Erkek	7,6 ± 1,3	-	16,6 ± 2,8	-	57,3 ± 9,4	-	75,1 ± 1,7 ^b	-	21,7 ± 0,2 ^b	-	29,0 ± 0,6	-
TOPLAM	Disi	6,8 ± 1,14	-	14,5 ± 2,2	-	49,8 ± 7,4	-	72,4 ± 3,7 ^c	-	21,1 ± 1,3	-	28,7 ± 2,3 ^a	0,032
	Erkek	7,1 ± 1,53	-	13,7 ± 4,4	-	52,3 ± 10,9	-	74,7 ± 4,4 ^d	-	21,8 ± 1,4	-	29,2 ± 0,6 ^b	-

^{a,b} Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistik olarak önemlidir.

Çizelge 3.5. Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyetin trombosit sayılarına etkisi. Otomatik ve manuel trombosit sayım sonuçlarının karşılaştırılması (-: $P \geq 0,05$).

GRUP (N=42)	CİNSİYET	OTOMATİK - PLT X 10 ⁹ /L				MANUEL - PLT X 10 ⁹ /L				P
		ORTALAMA ± STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	P	ORTALAMA ± STD. HATA	DÜŞÜK	EN YÜKSEK	P	
YAVRU	Dişi	439,4 ± 31,3	323,0	538,0	-	444,5 ± 33,4	320,0	566,0	-	
	Erkek	373,0 ± 61,5	189,0	678,0	-	402,8 ± 56,7	172,0	640,0	-	
PUBERTA	Dişi	320,1 ± 33,2	210,0	420,0 ^a	0,004	316,0 ± 36,3 ^a	184,0	426,0	0,006	
	Erkek	180,8 ± 19,6	115,0	241,0 ^b	-	178,2 ± 19,9 ^b	116,0	234,0	-	
ERİŞKİN	Dişi	516,0 ± 73,0	42,0	1194,0	-	494,8 ± 163,2	42,0	1176,0	-	
	Erkek	510,0 ± 125,8	156,0	970,0	-	485,4 ± 117,9	156,0	916,0	-	
TOPLAM	Dişi	425,1 ± 53,7	42,0	1194,0	-	418,4 ± 50,8	42,0	1176,0	-	
	Erkek	354,6 ± 53,7	115,0	970,0	-	355,5 ± 50,8	116,0	916,0	-	

^{a,b} Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir.

Çizelge 3.6. Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyetin PT ve aPTT sürelerine etkisi ($P \geq 0,05$). ^{a,b} Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistik olarak önemlidir.

GRUP (N=42)	CİNSİYET	PT sn				aPTT sn				P
		ORTALAMA ± STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	P	ORTALAMA ± STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	P	
YAVRU	Dişi	8,93 ± 0,34	7,40	9,90	-	16,09 ± 1,25	11,20	20,10	-	
	Erkek	9,25 ± 0,34	7,80	10,0	-	18,57 ± 0,82	15,90	21,40	-	
PUBERTA	Dişi	10,26 ± 0,27	9,50	11,60	-	17,47 ± 2,81	2,90	27,00	-	
	Erkek	9,70 ± 0,53	7,40	11,20	-	20,84 ± 2,04	13,20	29,50	-	
ERİŞKİN	Dişi	9,88 ± 0,32	8,90	10,70	-	20,61 ± 1,54	15,20	25,80	-	
	Erkek	9,63 ± 0,16	9,20	10,30	-	20,09 ± 1,64	13,90	28,00	-	
TOPLAM	Dişi	9,69 ± 0,2	7,40	11,60	-	18,06 ± 1,0	2,90	27,0	-	
	Erkek	9,53 ± 0,2	7,40	11,20	-	19,83 ± 1,0	13,20	29,50	-	

^{a,b} Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistik olarak önemlidir.

Çizelge 3.7. Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyetin D-dimer miktarına etkisi (-: $P \geq 0,05$).

GRUP (n=42)	CİNSİYET	D-dimer ng/ml				P
		ORTALAMA \pm STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK		
YAVRU	Dişi	152,07 \pm 22,61	80,55	230,12	-	
	Erkek	94,28 \pm 33,12	23,18	187,63		
PUBERTA	Dişi	312,32 \pm 73,83	127,31	709,56	-	
	Erkek	147,84 \pm 53,45	27,87	363,79		
ERİŞKİN	Dişi	466,10 \pm 98,62	193,84	871,32	-	
	Erkek	279,56 \pm 74,60	89,59	516,29		
TOPLAM	Dişi	310,163 \pm 39,5 ^a	80,55	871,32	0,024	
	Erkek	173,894 \pm 41,9 ^b	23,18	516,29		

^{a,b} Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir.

3.3. Puberta Dönemindeki Kangal Köpeklerine Ait Hematolojik ve Hemostatik Test Değerleri

Çalışmanın 3. grubunu oluşturan puberta dönemindeki dişi (PD) köpeklere (n=7) ait tam kan sayımları incelendiğinde; 10-14 aylık dişi köpeklere ait ortalama akyuvar sayısı; $17,8 \pm 9,6 \times 10^9/L$, monosit sayısı; $0,50 \pm 0,17 \times 10^9/L$, lenfosit sayısı; $2,03 \pm 0,6 \times 10^9/L$ ve granülosit sayısı ise; $15,00 \pm 8,3 \times 10^9/L$ olduğu gözlemlendi (Çizelge 3.3). Bu gruba dahil olan köpeklerin alyuvar sayıları; $7,2 \pm 1,3 \times 10^{12}/L$, hemoglobin miktarı; $15,4 \pm 2,2g/dL$ ve hematokrit değeri ise % $51,5 \pm 6,8$ olarak kaydedildi. Bununla birlikte, MCV; $72,4 \pm 5,2 fL$, MCH; $21,6 \pm 1,5 pg$ ve MCHC; $29,9 \pm 0,8 g/dL$ olarak saptandı (Çizelge 3.4). Puberta dönemine ait dişi hayvanların, otomatik ve manuel olarak elde edilen trombosit sayıları karşılaştırıldığında; otomatik sayım cihazıyla elde edilen trombosit sayısının ortalamalarının; $320,1 \pm 33,2 \times 10^9/L$, manuel sayımdan elde edilen trombosit sayısı ortalamasının ise; $316,0 \pm 36,3 \times 10^9/L$ olduğu görüldü. Puberta dönemindeki köpeklere ait analiz sonuçlarının Çizelge 3.5’ de sunuldu. Bu grubun tüm bireylerindeki hemostatik analiz sonuçları değerlendirildiğinde, PT değeri; $10,26 \pm 0,27 sn$ ile tüm gruplar arasındaki en uzun PT süresi, aPTT değeri; $17,47 \pm 2,81 sn$ ve D-dimer değeri; $312,32 \pm 73,83 ng/ml$ olarak belirlendi. Bu değerler Çizelge 3.6 ve Çizelge 3.7’de sunuldu.

Yapılan çalışmada 4. grubu oluşturan 10-14 aylık puberta dönemindeki erkek (PE) köpeklere ait tam kan sayımı sonuçları değerlendirildiğinde, akyuvar sayıları; $11,2 \pm 2,4 \times 10^9/L$, monosit sayısı; $0,37 \pm 0,09 \times 10^9/L$, lenfosit sayısı; $1,65 \pm 0,3 \times 10^9/L$ ve granülosit sayısı; $9,20 \pm 2,3 \times 10^9/L$ olarak belirlendi (Çizelge 3.3). Bu grupta yer alan puberta dönemindeki erkek köpeklerin alyuvar sayıları; $7,3 \pm 0,4 \times 10^{12}/L$, HGB miktarı; $15,8 \pm 0,6 g/dL$ ve HCT değeri ise % $54,4 \pm 2,9$ olarak gözlemlendi. Aynı hayvanların, MCV değeri; $74,62 \pm 3,12 fL$, MCH değeri; $21,72 \pm 0,59 pg$, MCHC değeri; $29,15 \pm 0,74 g/dL$ olarak Çizelge 3.4’de sunuldu.

Puberta dönemindeki erkek Sivas Kangal köpeklerinde, otomatik sayım cihazıyla elde edilen trombosit sayısının aritmetik ortalamalarının; $180,8 \pm 19,6 \times 10^9/L$ ve manuel sayımdan elde edilen trombosit sayısı ortalamalarının ise; $178,2 \pm 19,9 \times 10^9/L$ olduğu görüldü (Çizelge 3.5). Ayrıca dördüncü grupta yer alan köpeklerin hemostatik testleri incelendiğinde, PT değeri; $9,70 \pm 0,53$ sn, aPTT değeri ise; $20,84 \pm 2,04$ sn olarak gözlemlendi (Çizelge 3.6). Bu hayvanların D-dimer miktarının ortalama olarak; $147,84 \pm 53,45$ ng/ml olduğu saptandı (Çizelge 3.7).

Puberta dönemindeki 10-14 aylık dişi ve erkek köpeklere ait tam kan analiz sonuçlarının aritmetik ortalamaları cinsiyetler dikkate alınarak karşılaştırıldığında, akyuvar ve alyuvar sayıları ile HGB, HCT, MCV, MCH ve MCHC değerleri ile alakalı sayısal farklar istatistiki olarak anlamlandırılmadı (Çizelge 3.3, 3.4).

Puberta dönemindeki köpeklerin trombosit sayıları arasındaki fark incelendiğinde; otomatik sayım cihazından elde edilen trombosit sayısının dişilerde erkeklerden daha yüksek ($P=0,004$) olduğu görüldü. Aynı şekilde manuel sayım ile elde edilen trombosit sayıları cinsiyetler arasında karşılaştırıldığında, puberta dönemindeki dişi köpeklerin trombosit sayılarının erkek köpeklerden yüksek ($P=0,006$) olduğu gözlemlendi (Çizelge 3.5). Aynı grubun hemostatik test sonuçları arasında ise fark gözlemlenmedi.

3.4. Erişkin Kangal Köpeklerine Ait Hematolojik ve Hemostatik Test Değerleri

Çalışmanın 5. grubunu oluşturan, 18-24 aylık erişkin dişi (ED) köpeklere ($n=7$) ait tam kan sayım sonuçları değerlendirildiğinde; ortalama akyuvar sayısı; $15,0 \pm 5,4 \times 10^9/L$, monosit sayısı; $0,54 \pm 0,13 \times 10^9/L$, lenfosit sayısı; $2,41 \pm 0,9 \times 10^9/L$ ve granülosit sayısı ise; $12,05 \pm 4,5 \times 10^9/L$ olduğu saptandı (Çizelge 3.3). Diğer taraftan bu grubun ortalama alyuvar sayısı; $7,5 \pm 0,4 \times 10^{12}/L$, HGB miktarı; $15,3 \pm 1,2$ g/dL ve HCT değeri; $\% 54,2 \pm 3,2$ olarak gözlemlendi (Çizelge 3.4). Buna ilaveten, MCV; $72,37 \pm 2,28$ fL, MCH; $20,42 \pm 1,41$ pg ve MCHC değerlerinin ise $26,82 \pm 3,14$ g/dL olduğu belirlendi (Çizelge 3.4). Erişkin dişi Kangal köpeklerinden

yapılan otomatik ve manuel trombosit sayım sonuçlarına bakıldığında; otomatik sayım cihazıyla elde edilen verilerin ortalamalarının, $516,00 \pm 73,03 \times 10^9/L$ olduğu görüldü. Aynı şekilde manuel sayım ile elde edilen ortalama trombosit sayısının ise; $494,86 \pm 163,26 \times 10^9/L$ olduğu saptandı (Çizelge 3.5). Erişkin dişi köpeklerdeki hemostatik test değerleri incelendiğinde; PT değeri; $9,88 \pm 0,32$ sn, aPTT değeri; $20,61 \pm 1,54$ sn olarak gözlemlendi (Çizelge 3.6). D-dimer seviyesi ise; $466,10 \pm 98,62$ ng/ml olarak ölçüldü (Çizelge 3.7).

Yapılan çalışmanın 6. ve son grubunu oluşturan erişkin erkek (EE) köpeklerle ait tam kan sayımı ve trombosit sayımı analizleri değerlendirildiğinde; bu grupta bulunan hayvanların ortalama akyuvar sayısı; $11,2 \pm 3,8 \times 10^9/L$, monosit sayısı; $0,38 \pm 0,12 \times 10^9/L$, lenfosit sayısı; $2,53 \pm 1,7 \times 10^9/L$ ve granülosit sayısı; $8,31 \pm 2,6 \times 10^9/L$ olarak belirlendi (Çizelge 3.3). Aynı grubun ortalama alyuvar sayısının; $7,6 \pm 1,3 \times 10^{12}/L$, HGB miktarının; $16,6 \pm 2,8$ g/dL ve HCT değerinin ise % $57,3 \pm 9,4$ olduğu saptandı (Çizelge 3.4). Bu hayvanların MCV değeri $75,10 \pm 1,77$ fL, MCH değeri; $21,74 \pm 0,22$ pg ve MCHC değeri; $29,00 \pm 0,61$ olarak Çizelge 3.4’de sunuldu. Bu grupta yer alan hayvanların otomatik ve manuel trombosit sayım sonuçları karşılaştırıldığında; otomatik sayım cihazından elde edilen ortalama trombosit sayısının; $510,00 \pm 125,87 \times 10^9/L$, manuel sayımdan elde edilen ortalama trombosit sayısının; $485,43 \pm 17,92 \times 10^9/L$ olduğu belirlendi (Çizelge 3.5). Erişkin erkek köpeklerin PT süreleri; $9,63 \pm 0,16$ sn ve aPTT süreleri; $20,09 \pm 1,64$ sn olarak hesaplanırken (Çizelge 3.6), D-dimer seviyesi; $279,56 \pm 74,60$ ng/ml olarak belirlendi. Bu değerler Çizelge 3.7’de sunuldu.

Erişkin dişi ve erkek Sivas Kangal köpeklerine ait tam kan analiz sonuçlarının ortalamaları karşılaştırıldığında, toplam akyuvar sayıları, lenfosit sayıları ve granülosit sayıları arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunmazken, monosit sayılarının ($P=0,044$) erişkin dişi köpeklerde erkek köpeklere oranla daha yüksek olduğu görüldü.

Erişkin Kangal köpeklerinde cinsiyete bağlı toplam alyuvar sayısı, HGB miktarı ve HCT değerleri ile MCHC değerlerinde istatistiki olarak önemli bir değişim görülmezken, MCV (P=0,028) ile MCH (P=0,050) değerleri erişkin erkek köpeklerde erişkin dişi köpeklere ait değerlerden daha yüksek bulundu (Çizelge 3.4).

Erişkin hayvanlardan yapılan trombosit sayım sonuçları ile hemostatik test sonuçları karşılaştırıldığında anlamlı bir değişim gözlemlenmedi.

3.5. Kangal Köpeklerine Ait Hematolojik ve Hemostatik Testlere Ait Verilerin Yaş ve Cinsiyet Bakımından Karşılaştırılması

Yavru, puberta ve erişkin dönemlerdeki Sivas Kangal köpeklerinin tam kan analizleri yaş grupları (Y) ve cinsiyet (C) bakımından karşılaştırıldığında; (YxC etkileşiminde) ortalama akyuvar sayıları ile monosit, lenfosit, granülosit sayılarının yaş grupları arasındaki farkları istatistiki olarak anlamlandırılmazken (Çizelge 3.8), akyuvar sayıları; P= 0,014 ile monosit sayısı; P=0,014 ve granülosit sayısı; P=0,007 düzeyinde dişi köpeklerde erkek köpeklerden daha yüksek bulundu (Çizelge 3.3).

Yavru, puberta ve erişkin dönemlerdeki Sivas Kangal köpeklerinin yaş grupları bazında ortalama alyuvar sayıları, sırasıyla yavrularda; $6,09 \pm 1,6 \times 10^{12}/L$ puberta dönemindekilerde; $7,24 \pm 0,9 \times 10^{12}/L$ ve erişkinlerde $7,58 \pm 0,9 \times 10^{12}/L$ olduğu saptandı. Alyuvar sayılarının, yavrularla puberta dönemindeki köpekler ve yavrularla erişkin köpekler arasındaki fark P=0,008 düzeyinde önemli bulundu (Çizelge 3.9). Alyuvar sayılarının, cinsiyetler arasındaki değişimi incelendiğinde bütün dişi ve erkek köpekler arasında anlamlı bir değişim saptanamadı (Çizelge 3.4).

Hemoglobin miktarının YxC etkileşimi incelendiğinde, yaş grupları arasında bu değerlerin değişimi sırasıyla yavrularda; $10,90 \pm 3,7$ g/dL, puberta dönemindekilerde; $15,67 \pm 1,5$ g/dL ve erişkinlerde $16,01 \pm 2,2$ g/dL olarak bulundu. Buna göre, HGB değerlerinin yavrular ve puberta dönemindeki köpekler ve

yavruların erişkinlerle olan değişimi yaş grupları açısından $P<0,001$ düzeyinde önemli olarak değerlendirildi. Bu veriler izelge 3.9'da sunuldu. Buna karşın HGB değerleri, cinsiyet bazında, toplam dişi ve toplam erkek köpekler arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir değişim gözlemlenmedi (izelge 3.4).

YxC etkileşiminde, hematokrit değerlerin yaş grupları arasında sırasıyla yavrularda; % $44,56 \pm 11,3$, puberta dönemindekilerde; % $52,95 \pm 5,3$ ve erişkinlerde; % $55,82 \pm 7,0$ olduğu gözlemlendi. Yavru köpeklerin puberta dönemindeki köpekler ile erişkin köpekler arasındaki değişimi ($P=0,003$) önemli bulundu (izelge 3.9). Bu hayvanların dişilerinde; % $49,8 \pm 7,4$ ve erkeklerinde % $52,3 \pm 10,9$ olarak belirlenen HCT değerler arasında cinsiyet açısından fark görülmedi.

Çizelge 3.8. Sivas Kangal köpeklerinde yaşın akyuvarlara olan etkisi (-: $P \geq 0,05$).

GRUP (N=42)	WBCX 10 ⁹ /L			MONOSİT X 10 ⁹ /L			LENFOSİT X 10 ⁹ /L			GRANÜLOSİT X 10 ⁹ /L			P
	ORT. ± STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	ORT. ± STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	ORT. ± STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	ORT. ± STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	
YAVRU	12,4±3,8	7,7	19,8	0,4± 0,1	0,3	0,8	2,2±1,1	1,1	5,7	9,7±3,6	4,6	171	-
PUBERTA	14,5±7,5	8,6	37,5	0,4± 0,1	0,2	0,8	1,8±0,5	1,2	3,2	12,1±6,6	6,3	31,7	-
ERİŞKİN	13,1±4,9	7,5	24,9	0,4±0,1	0,3	0,8	2,4±1,3	1,3	5,7	10,1±4,0	5,6	20,3	-

Çizelge 3.9. Sivas Kangal köpeklerinde yaşın alyuvar sayısına, hemogloblin miktarına ve hematokrit değere olan etkisi.

GRUP (N=42)	RBC x 10 ¹² /L						HGB g/dL						HCT %		P
	ORT. ± STD. HATA	EN DÜŞÜ K	EN YÜKS EK	P	ORT. ± STD. HATA	EN DÜŞÜ K	EN YÜKS EK	P	ORT.± STD. HATA	EN DÜŞÜ K	EN YÜKS EK	P	ORT.± STD. HATA	EN DÜŞÜ K	
YAVRU	6,09 ± 1,6 ^a	3,17	8,35		10,90 ± 3,7 ^a	6,08	17,50		44,56 ± 11,3 ^a	22,40	58,70		44,56 ± 11,3 ^a	22,40	58,70
PUBERTA	7,24 ± 0,9 ^b	4,83	8,90	0,008	15,67 ± 1,5 ^b	11,0	17,60	0,001	52,95 ± 5,3 ^b	37,70	59,90	0,003	52,95 ± 5,3 ^b	37,70	59,90
ERİŞKİN	7,58 ± 0,9 ^{cb}	5,48	9,82		16,01 ± 2,2 ^{bc}	12,1	21,30		55,82 ± 7,0 ^{bc}	41,50	71,60		55,82 ± 7,0 ^{bc}	41,50	71,60

^{a,b,c} Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir.

Çizelge 3.10. Sivas Kangal köpeklerinde MCV, MCH ve MCHC değerlerine olan etkisi (-: $P \geq 0,05$).

GRUP (N=42)	MCV fL				MCH pg				MCHC g/dL			
	ORT. \pm STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	P	ORT. \pm STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	P	ORT. \pm STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	P
YAVRU	73,5 \pm 5,5	67,5	89,5	-	21,7 \pm 1,8	19,9	27,5	-	29,57 \pm 0,7 ^a	28,7	31,4	
PUBERTA	73,5 \pm 4,3	63,8	80,6	-	21,6 \pm 1,1	19,7	23,9	-	29,54 \pm 0,8 ^{ac}	28,2	31,2	0,006
ERİŞKİN	73,7 \pm 2,4	69,3	77,4	-	21,4 \pm 1,4	17,7	22,1	-	27,91 \pm 2,4 ^b	20,4	29,7	

^{a,b,c} Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistikî olarak önemlidir.

Çizelge 3.11. Sivas Kangal köpeklerinde yaşın otomatik ve manuel trombosit sayım sonuçlarına olan etkisi.

GRUP (N=42)	OTOMATİK - PLT x10 ⁹ /L				MANUEL - PLT x10 ⁹ /L				P
	ORT. ± STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	P	ORT. ± STD. HATA	EN DÜŞÜK	EN YÜKSEK	P	
YAVRU	406,21 ± 65,85 ^{ab}	189,0	678,0		423,71 ± 62,33 ^{ab}	172,0	640,0		
PUBERTA	250,50 ± 65,85 ^a	115,0	420,0	0,023	247,14 ± 62,33 ^a	116,0	426,0	0,026	
ERİŞKİN	513,00 ± 65,85 ^b	42,0	1194,0		490,14 ± 62,33 ^b	42,0	1176,0		

^{a,b} Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistik olarak önemlidir.

Çizelge 3.12. Sivas Kangal köpeklerinde yaşın PT ve aPTT süresi ile D-dimer miktarına olan etkisi (-: $P \geq 0,05$).

GRUP (N=42)	PT - sn			aPTT - sn			D-dimer - ng/ml				
	ORT. \pm STD. HATA	EN DÜŞÜ K	EN YÜKS EK	P	ORT. \pm STD. HATA	EN DÜŞÜ K	EN YÜKS EK	ORT. \pm STD. HATA	EN DÜŞÜ K	EN YÜKS EK	P
YAVRU	9,09 \pm 0,24 ^a	7,40	10,00		17,33 \pm 1,3	11,20	21,40	123,17 \pm 53,4 ^a	23,18	230,12	
PUBERTA	9,98 \pm 0,24 ^b	7,40	11,60	0,03 6	19,16 \pm 1,3	2,90	29,50	230,08 \pm 49,0 ^{ab}	27,87	709,56	0,004
ERİŞKİN	9,75 \pm 0,25 ^{ab}	8,90	10,70		20,35 \pm 1,3	13,90	28,00	372,83 \pm 47,1 ^b	89,59	871,32	

^{a,b} Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistikî olarak önemlidir.

Sivas Kangal köpeklerinin yaş ve cinsiyetin ortalama alyuvar hemoglobin derişimi (MCHC) üzerine olan etkisi, yaş grupları arasında küçükten büyüğe sırasıyla puberta dönemindekilerde; $29,54 \pm 0,8$ g/dL yavrularda; $29,57 \pm 0,7$ g/dL ve erişkinlerde $27,91 \pm 2,4$ g/dL olarak belirlendi. Bu sonuçlar yaş grupları arasında $P=0,006$ olmak üzere, yavrularla erişkinler arasındaki fark ile puberta dönemindekiler ve erişkinler arasındaki fark önemli bulundu (Çizelge 3.10). Benzer şekilde bir yaklaşım cinsiyetler arası uygulandığında erkeklerde bu değer; $29,2 \pm 0,6$ g/dL ile dişilerde bulunan $28,7 \pm 2,3$ g/dL değerinden yüksek bulundu. Cinsiyete bağlı bu değişim $P=0,032$ olmak üzere anlamlı olarak değerlendirildi (Çizelge 3.4). Ortalama alyuvar hacmi (MCV) ile her bir alyuvaya düşen hemoglobin miktarlarının (MCH), YxC etkileşiminde yaş ve cinsiyete bağlı olarak farkları anlamlı bulunmadı.

Yavru, puberta ve erişkin dönemlerdeki Sivas Kangal köpeklerinin otomatik cihazdan elde edilen trombosit sayıları, YxC etkileşiminde karşılaştırıldığında, küçükten büyüğe sırasıyla puberta dönemindeki köpeklerde; $250,50 \pm 65,85 \times 10^9/L$, yavrularda; $406,21 \pm 65,85 \times 10^9/L$ ve erişkinlerde; $513,00 \pm 65,85 \times 10^9/L$ olarak belirlendi. Manuel olarak yapılan trombosit sayıları da benzer şekilde küçükten büyüğe sırasıyla, puberta dönemindeki köpeklerde; $247,14 \pm 62,33 \times 10^9/L$, yavrularda; $423,71 \pm 62,33 \times 10^9/L$ ve erişkinlerde; $490,14 \pm 62,33 \times 10^9/L$ olarak sayıldı. Buna göre puberta döneminde olan köpeklerle erişkin köpeklerin yaşa bağlı trombosit sayılarındaki değişim hem otomatik sayımda; $P= 0,023$ düzeyinde hem de manuel sayımda; $P=0,026$ düzeyinde önemli bulundu (Çizelge 3.11). Aynı değerler yaş gruplarına bakılmaksızın cinsiyetler arasında değerlendirildiğinde ise fark görülmedi (Çizelge 3.5).

Yavru, puberta ve erişkin dönemlerdeki Sivas Kangal köpeklerinin hemostatik analizleri YxC etkileşiminde değerlendirildiğinde, PT değeri, yavrularda; $9,09 \pm 0,24$ sn, puberta dönemindeki Kangal köpeklerinde; $9,98 \pm 0,24$ sn ve erişkinlerde; $9,75 \pm 0,25$ sn olarak hesaplandı (Çizelge 3.12). Buna göre, yavru köpekler ile puberta dönemindeki köpekler arasında oluşan değişim $P=0,036$ düzeyinde önemli bulundu. PT süresi en uzun, puberta dönemindeki hayvanlarda kaydedildi. Ancak PT süresinin cinsiyetler arasındaki değişimi incelendiğinde bu

değer, dişilerde; $9,69 \pm 0,2$ sn, erkeklerin PT süresi ise; $9,53 \pm 0,2$ sn olarak belirlendi ve aralarında fark olmadığı görüldü (Çizelge 3.6).

Sivas Kangal köpeklerdeki aPTT değerinin YxC etkileşimi karşılaştırıldığında; aPTT süresinin yavrularda; $17,33 \pm 1,3$ sn, puberta dönemindekilerde; $19,16 \pm 1,3$ sn ve erişkinlerde; $20,35 \pm 1,3$ sn olduğu kaydedildi. Bu değer in cinsiyete bağlı değişimine bakıldığında, dişilerde; $18,06 \pm 1,0$ sn, erkeklerde; $19,83 \pm 1,0$ sn olduğu gözlemlendi. Ancak yaş ve cinsiyet bakımından aPTT değerindeki bu değişimler anlamlı bulunmadı (Çizelge 3.6, 3.12).

Son olarak Kangal köpeklerinden elde edilen fibrin artık ürünleri seviyesini belirleyen D-dimer miktarı, YxC etkileşiminde karşılaştırıldığında, ortalama değerler bakımından yavrularda; $123,17 \pm 53,4$ ng/ml, puberta dönemindekilerde; $230,08 \pm 49,0$ ng/ml ve erişkinlerde; $372,83 \pm 47,1$ ng/ml olduğu görüldü. Tüm bu değerler dikkate alındığında yavrular ve erişkin Kangal köpeklerinin D-dimer seviyeleri arasındaki değişim $P=0,004$ düzeyinde olmak üzere farklı bulundu (Çizelge 3.12). Ayrıca D-Dimer miktarı dişilerde; $310,16 \pm 39,5$ ng/ml, erkeklerde; $173,89 \pm 42,0$ ng/ml olarak ölçüldü. Bu sonuç, dişilerin D-Dimer miktarının $P=0,024$ düzeyinde erkeklerden yüksek olduğunu gösterdi (Çizelge 3.7).

4. TARTIŞMA

4.1. Materyal ve Uygulanan Test Yöntemlerinin Seçimi

Köpeklerde, bugüne kadar tanımlanmış; trombositlerin sayı, şekil veya fonksiyon bozuklukları sonucu gelişen; trombositopeni, pıhtılaşma faktörleri eksikliği veya noksanlıklarına bağlı olarak gelişen; hemofili, genetik mutasyonlar ve kusurlar sonucu şekillenen; von Willebrand hastalığı, enfeksiyöz ajanlar (bakteri, virüs, mantar ve parazitler), ilaç kullanımları, organ yetmezlikleri, travmalar, obstetrik komplikasyonlar, kanser vb. sebeplerle gelişen; yaygın intravasküler koagülopati (DIC) gibi kanamaya bağlı pek çok hastalık bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar, söz konusu hastalıklardan bir kısmının ırk predispozisyonuna bağlı olarak görülme sıklığının bazı ırklarda arttığından söz etmektedir (Aslan ve ark., 2016; Barr ve McMichael, 2012; Boudreaux ve ark., 1994; Brooks, 1999; Brooks ve ark., 2002; Çöl, 2003; Kalaycıoğlu, 1979 ve Lobetti ve Dippenaar, 2000). Ancak, yerli bir gen kaynağımız olan Sivas Kangal köpeklerinde bugüne kadar kanamaya bağlı hastalıkların tanı, teşhis ve tedavisine yardımcı olacak nitelikte yeterli kaynağa rastlanılamamış olması sebebiyle bu çalışmada sağlıklı köpeklerde yaş ve cinsiyete bağlı bazı pıhtılaşma parametrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Öncelikle çalışmada hangi testlerin kullanılacağı planlanırken, hangi testin pıhtılaşmanın hangi basamağında etkili bir tanı yöntemi olacağı belirlendi (Brooks, 1999, Kaptan 2006 ve Weisbrot ve Hollenberg, 1980). Trombosit yıkımına neden olabilecek ilaçların kullanımında, fazla miktarda kan verilmesinde veya kan kayıplarında, Çölyak hastalığı, K vitamini eksikliği ve lösemi gibi hastalıklarda düşen trombosit sayısı dikkat çeker. Bu sebeple trombosit sayısının değerlendirilmesi hekimi aydınlatan en önemli laboratuvar testlerindedir (Herring ve McMichael, 2012; Pietrangelo, 2017 ve Roustalo, 2015). Bu düşünceyle trombositlerin sayısı hakkında bilgi edinmek için; otomatik tam kan sayım cihazı ile trombosit sayımı yapıldı. Elde edilen sayısal veriyi doğrulamak ve bununla birlikte trombositlerin

küme oluşturabilme kabiliyetlerini görebilmek için; periferik yayma preparattan trombosit sayımı yapıldı (Brahimi ve ark., 2009 ve Kaptan, 2006).

Deniz (2000), Raber (1990) ve Matthews ve Eshar (2016) yaptıkları çalışmalarda, ekstrinsik ve son ortak yoldaki pıhtılaşma faktörlerindeki eksiklikler, K vitamini antagonisti gibi etki gösteren antikoagulanlarla oral tedavi, karaciğer hastalıkları ve intravenöz heparin uygulamaları ile rodentisit intoksikasyonlarında PT süresinde, intrinsik ve son ortak yoldaki pıhtılaşma faktörlerinin eksikliklerinde veya fonksiyon bozukluklarında, hemofili ve von Willebrand hastalığında, intravenöz heparin uygulamaları sonrasında ve antifosfolipid sendromunda aPTT süresinde uzamalar görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu sebeple bu çalışmada, kanamaya bağlı var olabileceği düşünülen sorunun, pıhtılaşmanın en önemli basamaklarından olan pıhtılaşma kaskadının hangi aşamasında olduğunu ortaya koyabilmek için PT, aPTT ve D-dimer fibrin artık ürünlerinin belirlenmesi testleri yapıldı (Castellone, 2008; Deniz, 2000; Palta ve ark., 2014 ve Wiinberg ve ark., 2007). Buna göre ekstrinsik yolda karşılaşılabilecek sorunların belirlenmesi için PT, intrinsik yolda karşılaşılabilecek sorunların belirlenmesinde; aPTT testleri yapıldı. Bununla birlikte son ortak yoldaki sorunların belirlenmesinde; PT ve aPTT testleri, fibrinolizis ile ilgili sorunların belirlenmesinde ise; yüksek duyarlılığa sahip, D-dimer fibrin artık ürünlerin analizi ve aPTT testlerinin her ikisi birden değerlendirildi (Brooks, 1999; Gezer, 2012; Herring ve McMichael; 2012; Kaptan 2006; Raber, 1990 ve Weisbrot ve Hollenberg, 1980). Epstein ve ark. (2013), Kang ve ark. (2016), Karagöz ve Serdar (2013) ile Stokol ve ark. (2000), yaptıkları çalışmalarda; yaygın intravasküler koagülopati (DIC), tromboemboli, iç kanama, renal ve hepatik hastalıklar ile neoplazilerde ve operasyon sonrası dönemde D-dimer seviyesinin arttığından ve D-dimer seviyesinin belirlenmesinin tromboembolik hastalıkların tanımlanmasında kullanılan duyarlılığı yüksek ve güvenilir bir test olduğundan bahsetmişlerdir. Bu sebeple bu çalışmada Sivas Kangal köpeklerinde belirlenen yaş ve cinsiyete özgü tromboembolik yatkınlık ve/veya hastalık olup olmadığının belirlenebilmesi için yine, D-dimer fibrin artık ürünlerinin analizi yöntemi tercih edildi.

4.2. Örneklem Gruplandırılması

Kurachi ve ark. (2000), insan faktör IX geni ile transjenik farelerde yaptıkları çalışmada, yaşa bağlı olarak pıhtılaşma kapasitesinin arttığını bildirmişlerdir. Massicotte ve ark. (1986), yeni doğan kuzu, tavşan yavrusu, domuz yavrusu ve köpek yavrusunda yaptıkları çalışmadan elde ettikleri verilere dayanarak, aynı türlere ait yeni doğan yavru ve erişkinlerin pıhtılaşma değerlerinin farklı olduğunu bildirmişlerdir. Barthélemy ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada, köpeklerde tromboz gelişiminde yaşın önemli bir risk faktörü olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca Türkmen ve ark. (1997), hayvanlarda kan parametrelerinin ırk, yaş, cinsiyet, mevsim ve yetiştirme şartları gibi faktörlerden etkilendiğini belirtmişlerdir. Bu sebeplerle yapılan bu çalışmada örneklem oluşturulurken, yaş faktörü göz önünde bulundurularak yavru, puberta döneminde ve erişkin olan köpeklerden oluşan 3 yaş grubu oluşturuldu.

Genetik bir kusur olan von Willebrand Hastalığı'na ait veriler ortaya koymaya çalışan Lobetti ve Dippenaar (2000) Alman çoban köpeğinde, Aslan ve ark. (2016), ise Sivas Kangal köpeklerini de içeren 12 farklı ırk köpekte yaptıkları çalışmalarda grupları belirlerken cinsiyete göre alt gruplar oluşturmuşlardır. Türkmen ve ark. (1997), Sivas Kangal köpekleri ile Alman Çoban köpeklerinde yaptıkları çalışmada, karaciğer ve böbrek fonksiyonları üzerine biyokimyasal analizler yapmışlar ve cinsiyetin, çalışılan kan parametrelerinden bazılarında sonuçları etkilediğini belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında buradan hareketle temelde yaşa bağlı oluşturulan gruplar, dişi ve erkek olarak da gruplandırmaya tabi tutuldu.

4.3. Vücut Isılarının Pıhtılaşmaya Olan Etkisi

Martini ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada hipoterminin ($<36^{\circ}\text{C}$) enzim aktivitesini ve trombosit aktivasyonunu olumsuz etkileyeceğinden pıhtılaşma bozukluklarına sebep olacağını öne sürmüşlerdir. Palta ve ark. (2014), orta dereceli

hipotermide (<35°C) trombositlerin fonksiyon kaybından, daha ileri hipotermi durumlarında (<33°C) ise pıhtılaşma enzimlerinin ve plazminojen aktivatör inhibitörlerinin sentezinin azalmasına neden olabileceğinden söz etmiştir. Johnstone ve ark. (1994), hipotermi de pıhtılaşma süresinin uzadığından bahsetmiştir. Bu sebeple yapılan bu çalışmada örneklem oluşturulurken hipotermi şüphesi olmayan (vücut ısıları >36°C olan) sağlıklı hayvanlar seçildi. Çalışma sonucunda yavrularda vücut ısısı ortalaması 37,9 °C, puberta dönemindekilerde 38,8 °C ve erişkin Kangal köpeklerinde 38,2 °C olarak gözlemlendi. Yavru ve puberta dönemindeki köpeklerde gözlenen sayısal değişim anlamlı bulundu (P<0,001). Buna göre, bu çalışmada elde edilen hematolojik ve hemostatik test değerlerinde karşılaşılabilecek herhangi bir anomalinin hipotermiden kaynaklanma olasılığının olmadığı ortaya konuldu.

4.4. Hematolojik Sonuçların Değerlendirilmesi

Yapılan bu çalışmada, hematolojik test sonuçları değerlendirilirken, bir çok araştırmacının yaptığı çalışmalardan (Altunçul, 1997; Choi ve ark., 2011; Harper ve ark., 2003; Klaassen, 1999; Nielsen ve ark., 2010; O'Brien ve ark., 2014; Park ve ark., 2009; Rosset ve ark., 2012 ve Rovira ve ark., 2007) elde edilen, farklı yaş ve cinsiyetlerdeki köpek ırklarının referans değerleri ile karşılaştırmalar yapılmıştır.

Klaassen (1999), Veteriner Hekimlikte köpek ve kedilerde kullanılacak olan bazı hematolojik referans değerlerini, WBC; 4000-15500 / μ L, RBC; 4,8-9,3 X10⁶ / μ L, HBG; 12,1-20,3 g/dL, HCT; % 30-60, MCV; 58-79 fL ve MCH; 19-28 pg şeklinde bildirmiştir. Rovira ve ark. (2007), her iki cinsten yüksek çevikliğe sahip olduğu bilinen farklı köpek ırklarından (Minyatür Schnauzer, Border Collie, Rottweiler, İspanya Su Köpeği, Brie Çoban Köpeği, Belçika Malinois Köpeği) elde ettikleri hematolojik test değerlerinden bazılarını şöyle bildirmişlerdir: WBC; 6300-11800 X10³ / μ L, RBC; 4,6-7,19 X10⁶ / μ L, HBG; 11,9-18,4 g/dL, HCT; % 35-57,9, MCV; 67-82 fL, MCH; 22,5-34,3 pg ve MCHC; 30,6-36,9 g/dL' dir. Nielsen ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada Bernese Dağ Köpeklerinde hematolojik test sonuçlarının

referans alınan değerlere benzer olduğunu bunlar arasında MCHC değerinin oldukça düşük bir miktar yüksek olduğundan söz etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada Kangal köpeklerinden elde edilen veriler; WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH ve MCHC değerleri açısından genel olarak, tüm yaş ve cinsiyetlerde bahsedilen literatürlerden Klassen'in (1999) farklı köpek ırklarından elde edilen referans değerleriyle uyum içerisindedir. Buna karşın Rovira ve ark. (2007), yaptıkları çalışmadan elde edilen verilerden WBC, yapılan bu çalışmanın sonuçlarından bir miktar yüksek iken MCH ve MCHC değerleri ise bir miktar düşüktür. Nielsen ve ark. (2010), yaptıkları çalışma verilerinde ise referans alınan değerlerin HGB hariç tamamı yapılan bu tez çalışmasının verileriyle uyum göstermektedir. HGB değeri ise bu literatürde 7,4-11,8 g/dL olarak bildirilmiş ve yapılan bu tez çalışmasının bir miktar altında kalmıştır. Bu sonuçlara göre farklı ırk köpeklerde hematolojik test değerleri birbirine oldukça yakın sonuçlar vermektedir.

Choi ve ark. (2011), köpeklerde yaptıkları çalışmada, RBC, HGB, HCT değerlerinin yaşa bağlı değiştiğini ancak cinsiyet değişiminden etkilenmediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Harper ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada WBC, RBC, HCT, HGB değerlerinin yaş değişiminden etkilendiğini belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışmada, RBC (P=0,008), HGB (P=0,001), HCT (P=0,003) değerleri yaşla birlikte artarken MCHC (P=0,006) değeri, puberta döneminde erişkin köpeklerden daha yüksek bulunmuştur. Yaş ilerledikçe hormonların artmasıyla birlikte eritropoiesis, hemoglobin miktarı ve hematokrit değer artış gösterir (Bachman ve ark., 2013 ve Beggs ve ark., 2014). Buna göre, Sivas Kangal köpeklerinde, RBC, HGB, HCT ve MCHC değerleri cinsiyete bağlı olmaksızın, diğer araştırmacıların da farklı köpek ırklarında bildirdiği gibi, yaş değişiminden etkilenmektedir. Altunçul 1997' de, Kangal köpeklerinin de bulunduğu 4 farklı köpek ırkında yaptığı çalışmasında ortalama alyuvar sayıları ile hemoglobin ve hematokrit değerlerinin erkeklerde dişilerden daha yüksek olduğunu belirtmiş ancak istatistik olarak anlamlı bir sonuç bulamamıştır. Bahsedilen değerler açısından yapılan bu tez çalışmasında elde edilen veriler değerlendirildiğinde, toplam dişi ve erkek Kangal köpekleri arasındaki değerler dişi ve erkek hayvanlar arasında sayısal olarak farklı olsa da, bu

fark istatistiki açıdan bir önem arz etmemektedir. Yalnızca yavruların hemoglobin miktarı, dişi Kangal köpeklerinde $P=0,034$ düzeyinde erkek Kangal köpeklerinden yüksek olarak kaydedilmiş ancak bu farkın yaşla birlikte ortadan kalktığı ve cinsiyete bağlı farkların istatistiki olarak bir önem arz etmediği gözlemlenmiştir. Buna göre, RBC, HGB ve HCT değerleri cinsiyetten etkilenmemektedir. Buna karşılık WBC sayısı dişilerde erkeklerden daha yüksekken ($P=0,014$), MCHC değeri ise dişilerde erkeklerden daha düşüktür ($P=0,032$). Bu sonuçlardan WBC değerlerinin, Park ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada yavrulardan elde ettikleri verilerin aksine, Choi ve ark. (2011), yaptıkları çalışmanın, 9 aylık köpeklerdeki sonuçlarıyla benzediği görülmüştür. MCHC değerlerindeki değişim her iki literatürle uyumlu bulunmuştur. Buna göre WBC ve MCHC değerlerinin cinsiyete bağlı değişimi önemlidir.

4.5. Trombosit Sayım Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Primer hemostaziste meydana gelen kanama bozuklukları arasında en önemli rol trombositlerle ilgilidir. Trombositlerin sayı, şekil, fonksiyon, sinyalizasyon bozuklukları ve kümeleşme yetersizlikleri, trombitopeni, trombositopati, von Willebrand Hastalığı gibi pek çok pıhtılaşma hastalığının sebebini oluşturmaktadır (Aumann ve ark., 2013; George 2000 ve Ulutin 1976). Diğer taraftan kronik kalp, karaciğer ve böbrek bozuklukları ve yetmezliklerinde sekonder olarak trombosit fonksiyon bozuklukları şekillenebilmektedir (Dudley ve ark., 2017; Nichols ve ark., 2016 ve Weiss ve Brazzell, 2006). Bu sebeplerle primer veya sekonder kanama bozukluklarının belirlenmesinde en sık kullanılan test trombosit sayısının belirlenmesidir. Trombositler otomatik kan sayım cihazıyla veya periferik yayma preparattan manuel olarak sayılabilmektedir (Herring ve McMichael, 2012; Pietrangelo, 2017 ve Roustsalı, 2015). Periferik yayma preparat herhangi bir antikoagülan kullanılmadan alınan kandan taze olarak hazırlanır. Bu sebeple bu testin kullanımıyla trombositlerin sayısı, morfolojik yapısı, küme oluşturma kapasiteleri değerlendirilebildiği gibi eritrosit ve lökositlerle oransal ilişkileri de saptanabilir (Kaptan, 2006 ve Weisbrot ve Hollenberg, 1980). Periferik yayma preparattan sayılan trombositlerin tahmini sayısı hesaplanırken, Brahimi ve ark. (2009),

alyuvar/trombosit oranına dayalı tahmini trombosit sayısının belirlenmesi yöntemini kullanmışlardır. Bajpai ve ark. (2015,) ve Webb ve ark. (2004), çalışmalarında ortalama trombosit sayısı hesaplanırken, bulunan sayıyı 15.000 ile çarpılarak tahmini trombosit sayısını bulmuşlardır. Anitha ve ark. (2014), Harvey (2015), Malok ve ark. (2007), Öztürk (2017), Weisbrot ve Hollenberg (1980) yaptıkları çalışmalarında $\times 100$ 'lük objektifte, farklı immersiyon alanlarında sayılan trombositlerin ortalaması alındıktan sonra 20.000 ile çarpılarak $1\mu\text{L}$ kandaki tahmini trombosit sayısını hesaplamışlardır. Yapılan bu tez çalışmasında, alyuvar sayısının trombosit sayısına oranlandığı sayım yöntemi yerine Anitha ve ark. (2014), Harvey (2015), Malok ve ark. (2007), Öztürk (2017), Weisbrot ve Hollenberg (1980) gibi araştırmacıların yaptığı gibi 10-20 immersiyon alanında sayılan ortalama trombosit sayısı 20.000 ile çarpılarak $1\mu\text{L}$ kandaki trombosit sayısı hesaplanmıştır. Periferik yayma preparat hazırlanırken Anitha ve ark. (2014) ve Bajpai ve ark. (2015), gibi araştırmacıların tercih ettiği Leishman boyası veya Brahimi ve ark.nın (2009) kullandığı May-Grümwald Giemsa boyasının aksine, Cornell Üniversitesi Hayvan Sağlığı Tanı Merkezi Laboratuvarları'nda (Anonim, 2015) kullanılan ayrıca Malok ve ark. da (2007), yaptıkları çalışmada belirttiği gibi bu çalışmada uygulama pratikliği açısından Wright's boyası kullanıldı. Kaptan (2006) trombositlerin normal dışı durumlarının belirlenmesinde, periferik yayma yönteminin doğrudan incelenmesinin yerine konulabilecek daha uygun bir yöntem olmadığını belirtmiştir. Anitha ve ark. (2014), ve Brahimi ve ark. (2009), gibi araştırmacılar periferik yayma preparat üzerinden yapılan tahmini trombosit sayısı hesaplamının, otomatik sayımla elde edilen trombosit sayımında ortaya çıkabilecek hatalar düşünüldüğünde, otomatik sayıma göre daha güvenilir ve uygulanabilir bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Bajpai ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada otomatik ve manuel sayım sonuçlarını ($P=0,69$) istatistiki olarak anlamlı bir fark göstermediğini ortaya koymuşlardır. Yapılan bu tez çalışmasında Bajpai ve ark.nın sonuçlarına benzer şekilde, otomatik ve manuel sayımda elde edilen trombosit sayıları arasında t-test ile yapılan karşılaştırma sonucuna göre, istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmadı ($P=0,78$). Buna göre periferik yayma preparatla yapılan trombosit sayımlarının otomatik sayım cihazından elde edilen sayımla benzer sonuçlar verdiği, bu açıdan değerlendirildiğinde her iki yönteminde usulüne uygun yapıldığında güvenle

kullanılabilecek ve uygulama açısından hekimin kararına bırakılabilecek yöntemler olduğu ortaya konuldu.

Brooks (1999) ve Barr ve McMichael (2012) gibi yazarlar trombositlerdeki fonksiyon bozukluğu ve eksikliğine bağlı bazı ırkların (Collie, Spitz, Basset Tazıları, Amerikan Cocker Spaniel vs.) predizpozisyon gösterdiğini bildirmiştir. Pek çok literatürde köpekler için alınan ortalama referans aralıkları çalışılan cihaza ve ırka göre küçük değişimler göstermekle birlikte, referans aralığını, Auman ve ark. (2013), göre, $200-500 \times 10^9/L$, Boudreaux (2010), $186-545 \times 10^3 \mu L$, Dudley ve ark. (2017), $108-433 \times 10^9/L$, Hackner (2016), $150-500 \times 10^3 \mu L$ ve Mayhew ve ark. (2013), $117-398 \times 10^3 \mu L$ olarak kabul etmişlerdir. Yapılan bu tez çalışmasında her yaşta ve cinsiyetteki Sivas Kangal köpeklerinde bulunan değerler yukarıda anılan literatürlerdeki referans değer aralıkları içerisinde bulundu. Bu değerler arasında, puberta dönemindeki köpeklerin trombosit sayılarının, otomatik sayımda ($P=0,023$) ve manuel sayımda ($P=0,026$), erişkin köpeklerin trombosit sayılarından düşük olduğu görüldü. Çeşitli araştırmacılar (Fogelberg ve ark., 1990; Masuda ve ark, 1991 ve Yue ve ark., 1995) ratlarda ve tavşanlarda yaptıkları çalışmalarda, östrojen ve testosteron gibi cinsiyet hormonlarının, damar duvarından TXA_2 ve prostasiklin gibi vazoaaktifaminlerin salgılanmasını uyararak vazokonstriksiyonu arttırdığını belirtmişlerdir. Buna göre puberta dönemindeki köpeklerde trombosit sayısının az olmasının dezavantajlarının, bu dönemde salgılanmaya başlayan cinsiyet hormonlarının etkisiyle trombositlerin fonksiyonlarında artışa sebep olacağından pıhtılaşmanın olumsuz etkilenmeyeceği düşünülmektedir. Ayrıca puberta dönemindeki dişi köpeklerin trombosit sayıları erkek köpeklerin trombosit sayılarından daha yüksek kaydedildi. Buna göre puberta dönemindeki köpeklerin trombosit sayılarının, hem otomatik ($P=0,004$) hem de manuel sayımda ($P=0,006$) cinsiyetler arası farkın anlamlı olduğu görüldü. Bu durum Schwertz ve Penckofer'in (2001) çalışmalarında bildirdikleri gibi kadınlardan elde edilen trombositlerden erkeklerden elde edilen trombositlerden daha az trombotik olduğu bildiriyle uyumlu bulundu. Bu durum puberta döneminde olan erkeklerde, her ne kadar referans alınan değerler içerisinde yer alsada sayısal olarak diğer gruplardan daha az

olan trombositlerin, fonksiyonel açısından trombotik etkisinin yüksek olduğu ve hemostazın sağlanmasında yeterli görevi yapabildiği düşüncesiyle açıklanabilir.

4.6. Hemostatik Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Hemostatik testler, klinik bulgulara ve hastanın geçmişine göre hastaya uygulanması gerekli olan analizlerdir. Kanamaya bağlı hastalığın karakterize edilebilmesi için hemostatik testlerin yapılması oldukça önemlidir (Hackner, 2011). Çünkü kanama bozuklukları primer olarak ortaya çıkabileceği gibi vücudun hemostatik dengesini bozan hemorajik şok, hipoksi, hipotermi, metabolik asidoz, travmalar, enfeksiyöz ajanlar, sitokinler ve çeşitli abnormaliteler ile multiple organ yetmezlikleri ve dolaşım bozukluklarıyla sekonder olarak da gelişebilir. Bu sebeple kanama bozuklukları kliniklerde hekimler tarafından dikkatle alınan anamnez ve kan sonuçlarının iyi değerlendirilmesiyle bir hastalığın sebebi olabileceği gibi başka bir hastalığın sonucu olarak da ortaya çıkabilmektedir (Kurachi ve ark., 2000 ve Palta ve ark., 2014). Ancak bu testler yüksek hassasiyet gerektiren özelleşmiş test teknikleri olduğundan ve özel laboratuvar malzemeleri, cihazları ile türe özgü test kitlerine gereksinim doğurduğundan, örneklerin toplanmasından işlenmesine kadar ki tüm süreçler için uygulanan hastaya ve laboratuvar şartlarına göre standardize edilmelidir. Sonuçların bireyden bireye ve uygulanan analiz yöntemine göre değişebileceği de unutulmamalıdır (Deniz, 2000; Hackner, 2011 ve Wiinberg ve ark., 2007).

Çöl (2003), yaptığı tez çalışmasında, Gezer (2012), Herring ve McMichael (2012) ve Mischke ve ark. (2003), yaptıkları çalışmalarda, PT ve aPTT gibi hemostatik test analizlerinin yapılabilmesi için numunelerin % 3,2 'lik sodyum sitrat içeren kan tüplerine, 1 kısım antikoagülana 9 kısım kan olacak şekilde (1:9 oranında) toplanması gerektiğinden söz etmiştir. Molares ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada % 3,2'lik sodyum sitratlı tüp ile % 3,8'lik sodyum sitratlı tüp arasında testlerin güvenilirliği bakımından anlamlı bir fark oluşturacak değişimlerin olmadığını

belirtmiştir. Yapılan bu çalışmada bireysel hataların önüne geçilerek güvenli bir şekilde, deneysel bir örnekliğin sağlanması ve pseudotrombositopeni gibi beklenmeyen ve klinik tabloyla uyuşmayan hemostatik test sonuçlarının önüne geçilmesi amacıyla numuneler % 3,2'lik sodyum sitratlı tüplere 1:9 oranında toplandı.

Bu tez çalışmasında sekonder hemostaziste meydana gelen kanama bozukluklarının tespit edilebilmesi için, hayvanlara PT, aPTT ve D-dimer testleri uygulandı. Bu testlerin seçilmesindeki amaç, pıhtılaşma kaskatında ve fibrinoliziste gelişebilecek olan kusurların aynı zamanda değerlendirilebilmesini sağlamaktır. Bu testlerden PT (protrombin zamanı) testi; pıhtılaşma kaskatının ekstrinsik ve son ortak yolunda meydana gelen kanama bozukluklarının, aPTT (aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı) testi; intrinsik ve son ortak yolda karşılaşılabilecek bozuklukların ve D-dimer testi ise fibrinolizisle ilgili sorunların belirlenmesinde kullanılmaktadır (Castellone, 2008; Deniz, 2000; Epstein ve ark., 2013; Palta ve ark., 2014; Raber, 1990; Weisbrot ve Hollenberg, 1980 ve Wiinberg ve ark., 2007). Diğer bir ifadeyle, PT testi; faktör III, VII, X, V, II ve fibrinojen kaynaklı bozuklukların taranmasında kullanılır. Buna karşılık aPTT testi, faktör XII, XI, IX, VIII, X, V, II ve fibrinojen kaynaklı sorunların belirlenmesinde kullanılan bir analiz yöntemidir (Deniz, 2000; Gezer, 2012; Hackner, 2011 ve Raber, 1990). Bu şekliyle düşünüldüğünde PT testi, bahsedilen faktör eksikliklerinin, akut karaciğer yetmezliği ve hastalıklarının tanısında, K vitamini eksikliğinde ya da antagonizmine sebep olabilecek kimyasal ajan kullanımında ve varfarin zehirlenmelerinin tanısında güvenle kullanılabilir. aPTT testi ise, başta hemofili A (faktör VIII) ve hemofili B (faktör IX) hastalığı ve Hageman faktör (faktör XII) eksikliği olmak üzere, faktör VII ve faktör XIII dışındaki tüm faktör eksiklik ve noksanlıklarının, von Willebrand hastalığı, yaygın intravasküler koagülopati (DIC) tanısında kullanılır. Ayrıca Lupus antikoagülanı ve antifosfolipid antikoru varlığının ortaya konulmasında da kullanılabilir. D-dimer testi ise fibrinolizisle ilgili sorunların ortaya konmasında fibrin artı ürünlerinin belirlenmesine dayalı bir test olup, kronik karaciğer ve böbrek hastalıkları ile yaygın intravasküler koagülopati (DIC) tanısında tercih edilir

(Epstein ve ark., 2013; Hackner, 2011 ve Herring ve McMichael, 2012 ve Stokol ve ark., 2000). Yapılan bu tez çalışmasında Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyetler arası sekonder hemostazis kaynaklı herhangi bir kanama bozukluğunun varolup olmadığını ortaya koymak üzere bahsedilen testler tüm numunelere uygulandı.

Deniz (2000) ve Kumano ve ark. (2012), yaptıkları çalışmalarda belirttiği gibi, aPTT testi için *in vivo* olarak kollajenin yaptığı görevi *in vitro* olarak yerine getirmek üzere kullanılan kaolin, selit, silika, elajik asit vb. içeren pek çok reaktif vardır. Bu reaktiflerden silika, aPTT testleri için yüksek duyarlılık göstermekte ve sıkça kullanılmaktadır. Bu sebeple Lupus antikoagülanı gibi fosfolipid bağımlı antikoların varlığını ortaya koymak için yüksek duyarlılıklı aPTT testlerine ihtiyaç duyulur. Ancak Kumano ve ark. bu çalışmalarında, Deniz (2000), silikat içeren reaktiflerin, %100 duyarlılığa sahip olduğu için tercih edildiğini belirten açıklamasının aksine, elajik asit içeren reaktiflerin silika içeren reaktiflerden daha yüksek duyarlılıkta olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu sebeple bu tez çalışmasında da, aPTT testlerinin yapımında elajik asit içeren reaktif tercih edildi.

Kisker ve ark. (1982), yaptıkları çalışmada koyunların ortalama PT süresini; 11,4 sn, aPTT süresini 41,5 sn., Perez ve Mendoza (2017), sağlıklı merkep ve atlarda yaptıkları çalışmada, merkeplerde PT süresini; 12,1 sn aPTT süresini; 33,4 sn, atlarda PT süresini; 11,2 sn ve aPTT süresini; 38,8 sn olarak bulmuşlardır. Irmak ve Güzelbekteş (2003), yine Irmak ve ark. (2006), yaptıkları çalışmalarda buzağuların ortalama PT sürelerini 27,78 sn, aPTT sürelerini ise 42,4 sn olarak belirtmişlerdir. Hackner (2011) kedilerde ortalama PT süresinin 9-12 sn ve aPTT süresinin 15-21 sn olduğunu vurgulamıştır. Yapılan bu çalışmadaki PT ve aPTT sonuçları yaş ve cinsiyet ayrımı yapmaksızın birey bazında incelendiğinde farklı hayvan türlerinin sağlıklı bireyleri arasında PT ve aPTT sürelerinin, sayısal olarak birebir aynı olmasa da birbirine oldukça yakın olduğu görüldü. Buna göre PT ve aPTT süreleri, farklı hayvan türleri arasında yakınlık göstermektedir.

Bruchim ve ark. (2017) alışmada, yüksek sıcaklıklara (evresel şartlar ve egzersize bağlı) maruz kalan köpeklerde PT ve aPTT süresinin uzadığını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada köpeklerin hemostatik test değerlerinin etkilenmemesi düşünülerek, kan örneklerinin tamamı tüm hayvanlardan, aynı çevresel şartlarda (Mayıs ayında) ve dinlenim halindeyken toplandı. Ayrıca tüm köpeklerin kan örnekleri, hipotermi ve hipertermi sınırları içerisine girmeyen sağlıklı normotermik hayvanlardan alındı. Dolayısıyla alışmamızda, uygun ortam şartları sağlandığından, hemostatik test değerlerinin termoreglasyona bağlı sebeplerden etkilenmediği düşünülmektedir.

Rubanick ve ark. (2017), kliniklere, pek çok değişik hastalık şüphesiyle getirilen farklı ırklardan (Daksund köpeği, Labrador, Bullmastiff, Goldendoodle, Avustralya oban Köpeği, İngiliz Cocker Spaniel, Fransız Bulldog, King Cavalier Spaniel, Walker Tazısı, Labradoodle, Border Collie, Pit Bull, İngiliz Spaniel ve Greyhound Tazısı) köpekte PT ve aPTT sürelerinin değişimini incelemiş ve enfeksiyona bağlı hastalıklarda PT ve aPTT sürelerinin uzadığı bildirmişlerdir. Er ve Ok 2015 yılında yaptıkları çalışmada Parvoviral enteritli enfekte köpeklerde PT ve aPTT sürelerinin uzadığını belirtmişlerdir. Valchev ve ark. (2008), hazırladığı derlemede antikoagülanlı rodentisitler tarafından intoksikasyona uğrayan köpeklerde pek çok sistemik hasar oluşmakla beraber bu rodentisitlerin vitamin K epoksit redüktazı inhibe etmesi sebebiyle hayvanlarda aktif K vitamini eksikliğine sebep olduğunu buna bağlı olarak PT ve aPTT sürelerinde uzamalar görüldüğünü belirtmişlerdir. Uhrikova ve ark. (2013), gastrik dilatasyon volvulus (GDV) şüphesi olan köpeklerde operasyon sonrası PT ve aPTT sürelerinin uzadığını ortaya koymuşlardır. Yılmaz ve ark. (2002), septik şoklu köpeklerde, Irmak ve ark. (2006), septik şoklu buzağılarda yaptıkları çalışmada, PT ve aPTT sürelerinin uzadığına dikkat çekilmiştir. Ayrıca Levi ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada, enfeksiyona bağlı vücutta yaygın intravasküler koagülopatiler (DIC) ve multiple organ yetmezliği gibi kanamaya bağlı bozuklukların gelişebileceğini belirtmişlerdir. Yukarıda anılan literatürlerden elde edilen sonuçlar ile bu tez çalışmasının sonuçları karşılaştırıldığında, bu çalışmada kullanılan köpeklerde PT ve aPTT sürelerinin

sağlıklı hayvanların değerleriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Bu durum tezde kullanılan Sivas Kangal köpeklerinde, kanamaya bağlı bir bozukluğa sebep olabilecek düzeyde herhangi bir enfeksiyon durumu olmadığına bir göstegesini olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte enfeksiyonların değerlendirilmesinde kullanılan (Büyükkaya ve ark., 2014; Goddard ve ark., 2008; Hauptman ve ark., 1997 ve Horne ve ark., 2005) akyuvar sayıları ve akyuvar formülünü oluşturan hücrelerden; nötrofil ve lenfosit oranlarının sağlık köpeklerin değerlerinin dışına çıkmış sonuçların gözlenmemiş olması da enfeksiyon bulunmadığını doğrulayacak nitelikte değerlendirilmiştir.

Buna göre, hayvanlarda meydana gelen enfeksiyöz hastalıklar, travmalar ve operatif işlemler, PT ve aPTT sürelerinin birinde veya ikisinde birden uzamalara sebep olabileceği gibi akut fazdaki hastalıklarda bazen bu değerler normal sınırlar içinde seyredebilmektedir (Mayhew ve ark., 2013). Bu sebeple sadece PT ve aPTT sürelerinde görülen uzamaya bağlı olarak, vücutta herhangi bir enfeksiyonun varlığından söz etmek doğru olmaz. Bu sonuca ancak alınan anamnez, klinik semptomlar, hematolojik kan analizleri ile birlikte hemostatik analizlerin beraber yorumlandığı durumlarda varılabilir.

Massicotte ve ark. (1986), farklı hayvan türlerinin yavrularında ve erişkinlerinde pıhtılaşma testlerinin farklı sonuçlardan bahsetmişlerdir. Barthélemy ve ark. (2015) Beagle ırkı köpeklerde yaptığı çalışmada genç köpeklerin pıhtılaşma sürelerinin (CT) yaşlı köpeklerden daha uzun olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu tez çalışmasında ise PT sürelerinin yaşa bağlı değişimi $P=0,036$ düzeyinde anlamlı bir fark göstermiştir. Bu çalışmada yavru Kangal köpeklerinin PT süreleri puberta dönemindeki köpeklerden daha kısa bulunmuştur. Bu yönüyle çalışma bahsedilen literatürlerden ayrılmaktadır. Bu durum artan cinsiyet hormonlarının etkisiyle (Fogelberg ve ark., 1990; Masuda ve ark., 1991 ve Yue ve ark., 1995) puberta döneminde bulunan Kangal köpeklerinde daha düşük olan trombosit sayısının, PT

süresinde uzamaya sebep olabileceği düşünölmekle birlikte yine de bu değerin referans değerler içinde kaldığı da tespit edilmiştir.

Pek çok araştırmacı cinsiyetin hemostatik parametreleri etkilediğinden bahsetmiştir (Aslan ve ark., 2016; Lobetti ve Dippenaar, 2000 ve Türkmen ve ark.; 1997). Brooks ve ark. (2005), hemofilili A hastalığı saptanan erkek Golden Retriever ırkı köpeklerde yaptıkları çalışmada uzayan aPTT (>10-17sn) süresinin varlığına dikkat çekmişlerdir. Roeloffzen ve ark. (2010), farklı yaş ve cinsiyetteki insanlarda yaptıkları çalışmada, cinsiyetler açısından PT ve aPTT sürelerinin önemli bir değışim göstermediğini, buna karşın 50 yaş altı ve 50 yaş üstü erkeklerin aPTT süreleri arasındaki farkın (P=0,03) önemli olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde, yapılan bu çalışmada da tüm yaş gruplarını kapsayacak biçimde Sivas Kangal köpeklerinin PT ve aPTT değerlerinin cinsiyetten etkilenmediğı bulunmuştur.

Herring ve McMichael (2012), yaptıkları bir derlemede, köpekler için hemostatik değer aralıklarını PT testi için; 6-11 sn, aPTT testi için; 10-25 sn olarak vermişlerdir. Hackner (2011), yayınladığı bildiri de, köpekler için en uygun PT süresini 7-10 sn olarak belirtirken kullanılan koagulometre cihazına göre değışebileceğini göz önünde bulundurarak 20 saniyeden az olabileceğini de vurgulamıştır. Araştırmacı aynı şekilde aPTT süresinin en uygun 9-12 sn arasında olduğunu belirtirken diğere taraftan 120 saniyeden az olması gerektiğini de ifade etmiştir. Boudreaux ve ark. (1994), Spitz köpeklerinde yaptıkları çalışmada PT süresinin referans değerlerini 6,1-10,1 sn, aPTT süresinin referans değerini, 8,0-14,4 sn olarak belirlemişlerdir. Kumano ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada PT süresinin referans değerinden bahsetmezken, elajik asit içeren reaktif kullanılarak yapılan aPTT test süresinin referans değerinin 28,0-40,2 sn olarak kabul edilmesi gerektiğinden bahsetmişlerdir. Tüm bu bilgiler göz önünde bulundurulduğunda Sivas Kangal köpeklerinde pıhtılaşma profili oluşturmak üzere yapılan bu tez çalışmasında PT süresinin her yaş ve cinsiyette literatürlerde farklı köpek ırkları için belirtilen referans değer aralıkları içerisinde olduğı göröldü. Bu anlamda elde edilen değerler diğere araştırmacıların sonuçlarıyla uyum içerisinde olduğı gözlemlendi. Tüm PT

süreleri içerisinde puberta dönemindeki Kangal köpeklerinin PT süreleri yavrularınkinden daha yüksek kaydedildi ($P=0,036$). Buna göre, PT süresi, cinsiyetler arası değişimden etkilenmezken yaş faktöründen etkilenmektedir. Benzer şekilde araştırmamızdan elde ettiğimiz aPTT süresi verileri incelendiğinde, tüm yaş ve cinsiyetlerde aPTT süreleri farklı ırklardaki köpeklerle çalışan bazı araştırmacıların (Hackner, 2011 ve Herring ve McMichael, 2012) referans aralıkları içerisinde yer alsa da kimi araştırmacıların (Boudreaux ve ark., 1994 ve Kumano ve ark., 2012) referans değerleriyle uyum göstermemektedir. Çalışmadan elde edilen aPTT değerleri arasındaki sayısal farklar istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Buna göre, aPTT değerleri Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyet faktöründen etkilenmemektedir. Ancak sonuçlara göre farklı köpek ırkları arasında farklı sonuçların görülebileceği de düşünülmelidir.

Daha önce de ifade edildiği gibi, aPTT testi, başta hemofili A ve hemofili B hastalığı olmak üzere faktör VII ve faktör XIII dışındaki tüm faktör eksiklik ve yokluğu ile von Willebrand hastalığı, yaygın intravasküler koagülopati (DIC) tanısında kullanılan bir test olduğu için hemostatik testler arasında önemli bir yere sahiptir (Brooks, 1999; Gezer, 2012; Herring ve McMichael; 2012; Kaptan 2006; Raber, 1990 ve Weisbrot ve Hollenberg, 1980). Kayar ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada farklı yaş gruplarındaki köpeklerde von Willebrand Hastalığı görülme olasılığının yaşa göre değiştiğini ve cinsiyet ayrımı yapmaksızın hastalığı taşıyan erişkinlerin yavrularının tamamında hastalığın görüldüğünü ve normal kanama zamanına sahip olsalar dahi PT ve aPTT sürelerinin de ölçülmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Aslan ve ark. (2016), yaptıkları ve aralarında Sivas Kangal köpeğinin de olduğunu çalışmalarında von Willebrand Hastalığı görülme oranının Kangal köpeklerinde %11.1 pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmadan elde edilen veriler ışığında ortalama değerlere göre her yaş grubunda trombositler ile PT süresinin normal sınırlar içinde olması ancak aPTT değerinin kimi araştırmaların (Boudreaux ve ark., 1994 ve Hackner, 2011) farklı ırklar için bildirdikleri referans değerlerin dışında kalması, sonuçların D-dimer miktarının belirlenmesi testi de dahil olmak üzere ileri moleküler ve genetik çalışmalarla desteklenmesi gerekliliğini doğurmaktadır. Yapılan bu çalışmada aPTT testi alt ve üst sınırları 2,9-29,0 sn

arasında bulunduğundan, Sivas Kangal köpeklerinde bireysel olarak, anılan literatürlerin referans değerleri arasına girmeyen köpeklerin sonuçları D-dimer miktarı açısından da değerlendirilmiş ve herhangi bir kanama bozukluğu şüphesi akla getirmemektedir. aPTT testi ile beraber değerlendirilen bu ileri tanı testi sonuçları, Aslan ve ark. (2016), sonuçlarından farklı bulunmuştur. Başka bir deyişle, tezde değerlendirilen köpeklerde kanama bozuklarından herhangi biri tespit edilmemiştir. Bu nedenle özellikle fibrinolizis ile ilgili sorunların da devreye girdiği durumlarda, aPTT süresi, verdiği sonuçlar açısından tek başına yetersiz kalacağından, aPTT testinin, yüksek duyarlılığa sahip D-dimer fibrin artık ürünlerin belirlenmesi testi ile birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir (Brooks, 1999; Gezer, 2012; Herring ve McMichael; 2012; Kaptan 2006; Raber, 1990 ve Weisbrot ve Hollenberg, 1980).

Çalışmada kullanılan hemostatik testlerden bir diğeri de D-dimer fibrin artık ürünlerinin belirlenmesi testidir. D-dimer testi lateks aglutinasyon yöntemiyle değerlendirilebileceği gibi ELİSA yöntemiyle de ölçülebilmektedir. Ancak ELİSA yöntemi lateks aglutinasyona göre duyarlılığı daha yüksek bir test tekniği olduğu için (Noyan, 2012) bu çalışmada ELİSA tekniği ile D-dimer miktarı belirlenmiştir. Kang ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada sağlıklı köpeklerin normal D-dimer miktarını <500 ng/ml olarak, Dewhurst ve ark. (2008), ise 0,1-0,5 mg/l olduğunu, Epstein ve ark. (2013), ile Nelson ve Andreasen (2003), ise yaptığı çalışmalarda normal köpeklerdeki D-dimer miktarını 0-250 ng/ml olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, pulmoner emboli (PE), tromboemboli (TE) ve DIC gibi hastalıklarda, enfeksiyon ve kanser gibi patolojik bozukluklarda, kalp yetmezliklerinde ayrıca gebelikte, yaşla birlikte, siyah ırk insanlarda ve neonatal dönemde bu değer artacağını ve sayısal değerinin >500 ng/ml olarak ifade edilebileceğini belirtmişlerdir (Dewhurst ve ark., 2008; Epstein ve ark., 2013; Kang ve ark., 2016; Karagöz ve Serdar, 2013; Nelson ve Andreasen, 2003; Noyan, 2012 ve Stokol ve ark., 2000) . Yapılan bu tez çalışmasında tüm yaş ve cinsiyetteki Kangal köpeklerinde D-dimer miktarı <500 ng/ml içerisinde hesaplanmakla birlikte yaş ve cinsiyet bakımından incelendiğinde istatistiki olarak anlamlı sonuçlar elde edildi. Çalışmada kullanılan köpeklerdeki D-dimer miktarı dişilerde erkeklerden daha yüksek bulundu (P=0,024).

Schwartz ve Penckofer (2001), yazdıkları derlemelerinde, artan östrojen miktarının fibrinolitik aktiviteyi arttırdığını ve Bonithon-Kopp ve ark. (1988), ise testesteron miktarının artışının fibrinolizisi inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Bu durum dişilerde yüksek olan D-Dimer miktarının artan östrojen seviyesinden, erkeklerde düşük olan D-Dimer miktarının ise negatif korelasyonla ilişkilendirilmiş olan yüksek testesteron miktarından kaynaklandığını düşündürmektedir. Ayrıca yapılan bu çalışmayla D-dimer miktarının yaşla doğru orantılı bir şekilde arttığı ortaya konulmuştur. Bu sayısal fark ($P=,004$) istatistiki olarak da anlamlı bulunmuştur. Karagöz ve Serdar (2013), ve Noyan (2012), yaş ilerledikçe D-dimer seviyesinin arttığına yönelik ifadesi, yapılan bu çalışmada, D-dimer miktarının yaşla birlikte yükseldiğinin ortaya konulmasıyla desteklenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemizde büyük bir öneme sahip yerli ırklarımızdan biri olan Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyete bağlı olarak bazı pıhtılaşma parametreleri izlenip farklılıklarının ortaya konulmasının hedeflendiği bu çalışmayla, Kangal köpeklerinin pıhtılaşma profili belirlendi. Böylece son derece değerli bir ırk olan Sivas Kangal köpekleri için gerek gen kaynağının korunması ve iyileştirilmesi adına gerekse temel bilimler ve klinik bilimlere referans olabilecek nitelikte bulgular ortaya konulmaya çalışıldı.

Yapılan bu tez çalışmasından elde edilen bilgilere dayanarak, öncelikle kanama bozuklarının tanısı amacıyla yapılacak olan testler seçilirken, alınan anamnez ve klinik belirtiler sonucunda şüphe duyulan hastalık ile çalışılacak olan hayvanın ırk, yaş ve cinsiyet gibi fizyolojik değişkenleri ve testlerin uygulama pratikliği göz önünde bulundurulmalıdır. Seçilen bu testlerin sonuçları değerlendirilirken, hematolojik ve hemostatik testler birlikte yorumlanmalıdır.

Yapılan bu çalışmayla, Sivas Kangal köpeklerinde hematolojik kan parametreleri ve trombosit sayıları ile birlikte hemostatik test değerlerinin yaş ve cinsiyete göre farklılıkları belirlendi ve referans değerler elde edildi. Buna göre, trombosit sayısının yaşa bağlı değiştiği ancak genel olarak cinsiyetten etkilenmediği görüldü. Aynı şekilde, PT süresinin yaşa bağlı değişim gösterdiği ancak cinsiyetten etkilenmediği buna karşın aPTT süresinin yaş ve cinsiyetin her ikisinden de etkilenmediği ortaya konuldu. Ancak aPTT süresinin, bazı araştırmacılara göre referans kabul edilen değerler içinde yer almasına karşılık bazı araştırmacılara göre bu değer referans kabul edilen değerlerden bir miktar sapsmış olması nedeniyle, bu duruma yol açabilecek olan sebeplerin ortaya konulabilmesi için, çalışmanın, moleküler biyoloji ve genetik çalışmalarla multidisipliner bir boyut kazandırılarak genişletilmesi önerilmektedir. Bahsedilen aPTT süresinin, referans değerlerin dışına

çıkma sebepleri genetik olarak belirlenene kadar, aPTT süresi normal sınırlar içinde olan hayvanların damızlık olarak kullanılması uygun görülmektedir.

Yapılan bu çalışmayla D-dimer miktarının yaş ve cinsiyet faktörlerinden etkilendiği ortaya konuldu. Buna göre D- dimer miktarı yaşla birlikte doğru orantılı olarak artmaktadır. Aynı zamanda bu değer dişilerde erkeklerden daha yüksektir. Bu bilgiler ışığında ileri yaşlarda ve özellikle diş köpeklerde hastaya yaklaşım, tanı ve tedavi yönteminin belirlenmesinde olası emboli riskine karşı veteriner hekimler bilinçli olmalıdır.

Yapılan bu tez çalışması sonucunda, ortaya konulan pıhtılaşma profiline ait parametreler belirlenirken kullanılan testler, fakültemiz Merkez Tanı Laboratuvarı'nda rutin olarak yapılabileceği ortaya konulmuştur. Bu sayede artık fakültemizde diğer ırk köpeklerin de pıhtılaşmaya bağlı hastalıklarının tanı ve tedavilerine katkı sağlanabilecektir. Bununla beraber, bahsi geçen pıhtılaşma testlerinin, özellikle cerrahi işlemlere alınacak olan hastalarda, incelenmesi gereken rutin kan parametreleri arasına girmesi konusunda klinik bilimler bilgilendirilecektir. Bu sayede bu çalışmayla elde edilen veriler, sadece Veteriner Fizyoloji alanında değil aynı zamanda klinik bilimlere de hizmet edecektir.

Ayrıca Sivas İli, Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kangal Köpeği Araştırma ve Yetiştirme Müdürlüğü'nün talebi üzerine, tez çalışmasından elde edilen veriler müdürlükle paylaşılacak ve bünyesinde bulunan Kangal köpeklerinin yetiştirilmesinde, bu çalışmadan elde edilen veriler referans olarak kullanılabilir.

Bu bilgiler ışığında, başta Sivas Kangal köpekleri olmak üzere diğer köpek ırklarında da pıhtılaşmaya bağlı hastalıkların tanı ve tedavisi ile hayvanlarda cerrahi müdahale gerektiren durumlarda hastaya yaklaşım alternatiflerinin veteriner hekim

tarafından rahatlıkla belirlenmesi sağlanmış olacaktır. Ayrıca veteriner hekimlerin bu verilere ulaşabilmesiyle, sekonder pıhtılaşma sorunlarına bağlı olarak gelişen hayvan ölümlerinin de önüne geçilebilecektir.

Son olarak, ülkemiz için hem yetiştiricilik hem de gen kaynağı bakımından ekonomik bir yere de sahip olan Kangal köpekleri başta olmak üzere diğer hayvanlar açısından da düşünüldüğünde, pıhtılaşma testlerinin rutin olarak kullanılması kanama bozukluklarına bağlı hastalıkların teşhis ve tedavi sürecini kısaltacağından, bu tez çalışmasının, hem hasta sahibine hem de ülke ekonomisine katkı sağlayacağı da düşünülmektedir.

ÖZET

Sivas Kangal Köpeklerinde Yaş ve Cinsiyet Bağlı Bazı Pıhtılaşma Parametrelerinin Belirlenmesi

Hemostaz, vasküler bütünlüğün bozulmasının ardından, hasarlı bölgenin onarımı ve kanın durdurulması için kan pıhtısı oluşumu ve oluşan pıhtının çözülmesinin, patolojik pıhtı (tromboz) oluşturmaksızın, kontrollü bir şekilde sağlanmasıdır. Kan pıhtılaşması, hem hemostazın bir parçası olmakta hem de yaşamsal faaliyetlerin devamlılığını sağlamaktadır. Bu yönüyle kan pıhtılaşması pek çok fizyolojik ve patolojik olayda da kritik önem taşır. Cerrahi, anestezi ve diğer pek çok invaziv işlem gerektiren patolojik durumda, hasta hayvan hem hemorajik hem de trombotik abnormaliteler bakımından incelenmelidir. Çünkü var olan herhangi bir abnormalite çok daha ciddi bir dolaşım bozukluğunu tetikleyebilir.

Pıhtılaşmaya bağlı bozuklukları erken dönemde teşhis etmek için en önemli ölçüt, pıhtılaşma sürelerinin belirlenmesidir. Pıhtılaşma süreleri, pıhtılaşmanın tüm aşamalarında rol oynayan pıhtılaşma faktörlerinin işlevlerine bağlı olarak değişiklik gösterir. Bu aşamalar, çeşitli testlerle kontrol edilmektedir. Bahsi geçen pıhtılaşma testlerinden hastaya uygun olan testin seçilebilmesi, alınan anamnez ve klinik belirtiler doğrultusunda hangi dönemde hangi testin yapılacağına belirlenebilmesi ve yapılan testin etkin bir şekilde yorumlanabilmesi için pıhtılaşma mekanizmasının çok iyi bilinmesi gerekir.

Bu çalışmada, Türkiye'ye özgü bir ırk olan Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyet göz önünde bulundurularak bazı pıhtılaşma parametrelerinin belirlenmesi amaçlanmış ve elde edilen değerlerin gerek temel bilimlere gerekse klinik bilimlere açısından diğer ırklar için de bir kaynak oluşturması hedeflenmiştir.

Sunulan bu tez projesinde, köpekler, yaş ve cinsiyetleri göz önünde bulundurulmak üzere 6 farklı gruba ayrılmış ve toplamda 42 Kangal köpeği kullanılmıştır. Bu köpeklerden proje boyunca sadece 1 defa kan alınmış, geri kalan işlemlerin tamamı laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiştir. Örneklere hematolojik ve hemostatik kan testleri uygulanmıştır. Bu testler sırasıyla; Tam Kan Sayımı, Periferik Yayma Preparat Yöntemiyle Trombosit Sayımı, Protrombin Zamanı (PT), Aktive Edilmiş Parsiyel Tromboplastin Zamanı (aPTT), D- dimer Fibrin Artık Ürünlerinin Analizi' dir. Yapılan testlerden elde edilen veriler gruplar arasında istatistiki olarak iki yönlü varyans analizi ve t-testi ile değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak Sivas Kangal köpeklerinde yaş ve cinsiyete bağlı olarak bir pıhtılaşma profili ortaya konulmuştur. Buna göre Kangal köpeklerinde trombosit sayıları yaş faktöründen, otomatik sayımda ($P=0,023$) ve manuel sayımda ($P=0,026$) etkilenirken, genel olarak cinsiyetten etkilenmemektedir. Aynı şekilde PT süreleri yaşa bağlı olarak gruplar arasında ($P=0,036$) anlamlı bir değişim gösterirken aPTT süresi, yaş ve cinsiyetten etkilenmemektedir. Fibrin artık ürünlerinin varlığını gösteren D-dimer miktarı ise yaşa ($P=0,004$) ve cinsiyete ($P=0,024$) bağlı olarak değişim göstermektedir. Sonuç olarak, Sivas Kangal köpeklerinde, yaş ve cinsiyetler arası, ırka bağlı bir kanama bozukluğu olmadığı kanısına varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Kangal köpeği, Koagülasyon, Pıhtılaşma testleri.

SUMMARY

Determination of Some Coagulation Parameters According to Age and Sex in Sivas Kangal Dogs

Hemostasis is a formation of blood clots and fibrinolysis of blood clots that is formed by controls without formation of pathological clots (thrombosis) after deformation of vascular collectivity. Blood coagulation is a part of hemostasis and provides sustainability of vital activities. For this reason, blood coagulation has a critical importance for lots of physiological and pathological events. In a pathological condition requiring surgery, anesthesia and, like many other invasive procedures, the patient must be examined for both hemorrhagic and thrombotic abnormalities. Because any existing abnormality can trigger a much more serious circulatory disorder.

The most important criterion for early identification of coagulation-related disorders is the determination of coagulation times. Coagulation times vary depending on activities of coagulation factors, which have a role in all stages of coagulation. These stages are controlled by various tests. The mechanism of coagulation has to be known very well in order to be able to choose an appropriate test among the above-mentioned ones for the patient, determine the utilization time and effectively interpret the test.

In this study, it is aimed to determine some parameters of the coagulation tests by taking into consideration physiological varieties such as age and gender in Kangal dogs, which are an inherent species in Turkey. In addition, it is targeted that the values obtained by the tests will be a source for other breeds in both basic sciences and clinical sciences.

In this submitted thesis project, dogs were separated into 6 different groups considering their age and gender. Accordingly, the total of 42 Kangal dogs was used. During the project, blood was received from these dogs only once. All of the remaining procedures were performed in the laboratory. Hematological and hemostatic blood tests were applied to the specimen. These tests are; Totally Blood Count, Platelet Count with Peripheral Smear, Prothrombin Time (PT), Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT), D-dimer Fibrin Degradation Products Analysis. Finally, the parameters that are obtained will be evaluated by two-way analysis of variance and t-test statistically.

As a result, a coagulation profile has been introduced in Sivas Kangal dogs depending on age and gender. According to the findings of this study, platelet counts in Kangal dogs registered a statistically significant change with age by automatic ($P=0.023$) and manual count ($P=0.026$). Likewise, PT duration was also significantly different between groups ($P=0.036$), but age and gender change in aPTT duration was not statistically significant. In addition, the level of D-dimer, which indicates the presence of fibrin degradation products was assessed and alterations between ages ($P=0,004$) and genders ($P=0.024$) were found to be statistically significant in AxG interaction. Consequently, it has concluded that there is no clotting problem in the Sivas Kangal dogs that may have been caused by the hematologic insufficiency and/or deficiency due to the breed.

Keywords: Coagulation, Coagulation tests, Kangal dog.

KAYNAKLAR

- ALATZAS GD, MYLONAKIS EM, KAZAKOS MG, KOSTOULAS P, KONSTANTINOU KM, POLIZOPOULOU SZ (2014). Reference values and repeatability of buccal mucosal bleeding time in healthy sedated cats. *JFMS*, **16(2)**: 144 -148.
- ALTUNÇUL V (1997). Köpeklerde kan parametrelerinin ırk ve cinsiyet yönünden incelenmesi. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **23(1)**: 43-48.
- ANITHA K, ITAGI I, ITAGI V (2014). Comparison of platelet count by peripheral smear method and automated in pregnant women. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*, **4**: 39-42.
- ANONİM (2011). Hematolojik preparat hazırlama. *MEB Tıbbi Laboratuvar Kılavuzu*. "s.: 1-40".
- ANONİM (2015). Coagulation assay. Erişim Adresi: [<http://www.eclinpath.com/hemostasis/tests/screening-coagulation-assays/>]. Erişim Tarihi: 19.06.2015.
- AR CM (2013). K vitaminine bağlı faktörlerin birlikte eksikliği tanı ve tedavi kılavuzu. *Türk Hematoloji Derneği Tanı ve Tedavi Kılavuzu*. "s.: 83-93".
- ASLAN Ö, ARSLAN K, KELEŞ I, AKYÜZ B, ULUSAN M, İLGAR GE, AKÇAY A (2016). Köpeklerde von Willebrand faktör antijen seviyesi ve von willebrand faktör geni arasındaki ilişkinin belirlenmesi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, **22(4)**: 585-590.
- AUMANN M, ROSSI V, BOEDEC LK, DIQUELOU A (2013). Comparison of the buccal mucosal bleeding time in dogs using 3 different-sized lancet devices. *Vet Clin Pathol*, **42(4)**: 451-457.
- BACHMAN E, TRAVISON TG, BASARIA S, DAVDA MN, GUO W, LI M, WESTFALL JC, BAE H, GORDEUK V, BHASIN S (2013). Testosterone induces erythrocytosis via increased erythropoietin and suppressed hepcidin: evidence for a new erythropoietin/hemoglobin set point. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. **69(6)**: 725-735.
- BAJPAI R, RAJAK C, POONIA M (2015). Platelet estimation by peripheral smear: reliable, rapid, cost-effective method to assess degree of thrombocytopenia. *Inter J Medical Sci Prac*, **2(2)**: 90-93.
- BARR JW, MCMICHAEL M (2012). Inherited disorders of hemostasis in dogs and cats. *Topics in Compan An Med*, **27**: 53-58.
- BARTHÉLEMY A, RANNOU B, FORTERRE M, VERWAERDE P, BONNET-GARİN JM, POUZOT-NEVORET C, GOY-THOLLOT I (2015). Differences between coagulation and cytokine profiles in dogs of different ages. *The Veterinary Journal*, **205**: 410-412.
- BEGGS LA, YARROW JF, CONOVER CF, MEULEMAN JR, BECK DT, MORROW M, ZOU B, SHUSTER JJ, BORST SE (2014). Testosterone alters iron metabolism and

- stimulates red blood cell production independently of dihydrotestosterone. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **307**: 456-461.
- BONITHON-KOPP C, SCARABIN PY, BARA L, CASTANIER M, JACQUESONA, ROGER M (1988). Relationship between sex hormones and haemostatic factors in healthy middle-aged men. *Atherosclerosis.* **71**: 71-76.
- BOUDREAUX KM, CRAGER C, DILLON RA, STANZ K, TOIVIO-KINNUCAN M (1994). Identification of an intrinsic platelet function defect in spitz dogs. *J Vet Intern Med,* **8(2)**: 93-98.
- BRAHİMİ M, OSMANİ S, ARABİ A, ENTA-SOLTAN B, TAGHEZOUT Z, ELKAHİLİ SB, BEKADJA AM (2009). Kan yaymasında eritrosit ve trombosit oranı incelenerek trombosit sayısının tayini. *Turk J Hematol,* **26**: 21-24.
- BROOKS BM, CATALFAMO LJ, BROWN AH, IVANOVA P, LAVOGLIO J (2002). A hereditary bleeding disorder of dogs caused by a lack of platelet procoagulant activity. *Blood,* **99(7)**: 2434-2444.
- BROOKS M (1999). A review of canine inherited bleeding disorders: biochemical and molecular strategies for disease characterization and carrier detection. *The Journal of Heredity,* **90**: 112-118.
- BROOKS MB, BARNAS JL, FREMONT J, RAY J (2005). Cosegregation of a factor VIII microsatellite marker with mild hemophilia A in Golden Retriever dogs. *J Vet Intern Med.* **19(2)**: 205-210.
- BRUCHIM Y, KELMER E, COHEN A, CODNER C, SEGEV G, AROCH I (2017). Hemostatic abnormalities in dogs with naturally occurring heatstroke. *J Vet Emerg Crit Care.* **27(3)**: 315-324.
- BULUT T (2015). Kanama, hemostaz, cerrahide kan ve kan ürünlerinin kullanımı. Erişim Adresi: [<http://www.oocities.org/turkerbulut/trKanama.html>]. Erişim Tarihi: 31.07.2015.
- BUYUKKAYA E, KARAKAS MF, KARAKAS E, AKÇAY AB, TANBOGA IH, KURT M, SEN N (2014). Correlation of neutrophil to lymphocyte ratio with the presence and severity of metabolic syndrome. *Clin Appl Thromb-Hem.* **20(2)**: 159-163.
- CALDWELL HS, HOFFMAN M, LİSMAN T, MACİK GB, NORTHUP GP, REDDY RK, TRİPODİ A, SANYAL JA (2006). Coagulation disorders and hemostasis in liver disease: pathophysiology and critical assessment of current management. *Hepatology,* **44**: 1039-1046.
- CASANAVE EB, TENTONI J (2014). Comparative fibrinolysis. *Fibrinolysis and Thrombolysis,* **4**: 83-105.
- CASTELLONE D (2008). Animals and coagulation. Erişim Adresi: [<http://www.aniara.com/Blog/Coagulation-Corner/Archives/2008/08/HISTORY-OF-BLOOD-COAGULATION.aspx>]. Erişim Tarihi: 16.07.2015.
- CHAPIN JC, HAJJAR KA (2015). Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood.* **29(1)**: 17-24.

- CHOI SY, HWANG JS, KIM IH, HWANG DY, KANG HG (2011). Basic data on the hematology, serum biochemistry, urology, and organ weights of beagle dogs. *Lab Anim Res.* **27(4)**: 283-291.
- ÇINAR M, ERAT S, ARIKAN Ş, MAMAK N, OĞRAK ZY, GUZEL M (2010). Kangal köpeklerinde bazı biyokimyasal parametreler üzerine yaş ve cinsiyetin etkisi. *J Fac Vet Med Univ Erciyes*, **7(2)**: 109-116.
- ÇÖL R (2003). Tavşanlarda endotoksin ile oluşturulan dissemine intravasküler koagülasyon üzerine Vitamin E ve Prednisolon'un etkileri. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi Konya, Türkiye.
- ÇÖL R, MONTGOMERY A, IAZBIK CM, DEFELICE A, SAAVEDRA VP, COUTO G (2013). Whole-blood thrombelastography using calcium chloride activation in healthy cats. *Turk J Vet Anim Sci*, **37**: 68-75.
- DAHLBÄCK B (2000). Blood coagulation. *Lancet*, **355**: 1627–1632.
- DAVIE EW (2003). A brief historical review of the waterfall/cascade of blood coagulation. *J. Biol. Chem*, **278**: 50819-50832.
- DENİZ A (2000). Kedi ve köpeklerde kan pıhtılaşma sisteminin kontrol metotları. *Vet. Bil. Derg*, **16(1)**: 151-159.
- DEWHURST E, CUE S, CRAWFORD E, PAPASOULIOTIS K (2008). A retrospective study of canine D-dimer concentrations measured using an immunometric "Point-of-Care" test. *J Small Anim Pract.* **49(7)**: 344-348.
- DODDS J W (1975). Further studies of canine von willebrand's disease. *Blood*, **45**: 221-230.
- DUDLEY A, BYRON JK, BURKHARD MJ, WARRY E, GUILLAUMIN J (2016). Comparison of platelet function and viscoelastic test results between healthy dogs and dogs with naturally occurring chronic kidney disease. *Am J Vet Res.* **78(5)**: 589-600.
- EPSTEIN ES, HOPPER K, MELLENA SM, JOHNSON RL (2013). Diagnostic utility of D-dimer concentration in dog with pulmonary embolism. *J Vet Intern Med*, **27**: 1646-1649.
- FOGELBERG M, VESTERQVIST O, DICZFALUSY U, HENRIKSSON P (1990). Experimental atherosclerosis: effects of estrogen and atherosclerosis on thromboxane and prostacycline formation. *Eur J Clin Invest.* **20**: 105-110.
- GALE JA (2011). Current understanding of hemostasis. *Toxicol Pathol*, **39(1)**: 273-280.
- GENTRY AP (2004). Comparative aspects of blood coagulation. *Vet J*, **168**: 238-251.
- GEORGE JN (2000). Platelets. *Lancet*. **355**: 1531-1539.
- GEZER S (2012). Koagülasyontestlerinin klinikte kullanımı. *HematoLog*, **2**: 8-32.
- GODDARD A, LEISEWITZ AL, CHRISTOPHER MM, DUNCAN NM, BECKER PJ (2008). Prognostic usefulness of blood leukocyte changes in canine parvoviral enteritis. *J Vet Intern Med.* **22**: 309-316.

- GOPEGÜİ RR, FELDMAN FB (1987). von Willebrand's disease. *Comp Clin Path*, **7**: 187-196.
- HACKNER GS (2011). Bleeding disorders: Diagnostic Approach Simplified. Cornell University Veterinary Specialists. p.: 1-15.
- HARPER EJ, HACKETT RM, WILKINSON J, HEATON PR (2003). Age-related variations in hematologic and plasma biochemical test results in Beagles and Labrador Retrievers. *JAVMA*. **223(10)**: 1436-1442.
- HARVEY JW (2015). Differential Diagnosis of Bleeding Disorders in Dogs. The 86th FVMA Annual Conference, Florida. Erişim:[<http://www.eventscribe.com/2015/FVMAannual/assets/handouts/176941.pdf>], Erişim Tarihi: 12.07.2015.
- HAUPTMAN JG, WALSHAW R, OLIVIER NB (1997). Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. *Vet Surg*. **26(5)**: 393-397.
- HERRING J, MCMICHAEL M (2012). Diagnostic approach to small animal bleeding disorders. *Top Companion Anim Med*. **27**: 73-80.
- HORNE BD, ANDERSON JL, JOHN JM, WEAVER A, BAIR TL, JENSEN KR, RENLUND DG, MUHLESTEIN JB (2005). Which white blood cell subtypes predict increased cardiovascular risk? *J Am Coll Cardiol*. **45(10)**: 1638-1643.
- IRMAK K, GÜZELBEKTEŞ H (2003). Septisemi şüpheli buzağılarda koagülasyon profilinin değerlendirilmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. **9(1)**: 85-87.
- IRMAK K, SEN I, COL R, BİRDANE MF, GÜZELBEKTES H, CİVELEK T, YILMAZ A, TURGUT K (2006). The evaluation of coagulation profiles in calves with suspected septic shock. *Vet Res Commun*. **30**: 497-503.
- JOBLING L, EYRE L (2013). Haemostasis, blood platelets and coagulation. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*. **14(2)**: 51-53.
- JOHNSTON TD, CHEN Y, REED RL (1994). Functional equivalence of hypothermia to specific clotting factor deficiencies. *J Trauma*. **37(3)**: 413-417.
- JOHNSTONE BI, CRANE S (1981). von Willebrand's disease in two families of doberman pinschers. *CVMA*. **22**: 239-243.
- KALAYCIOĞLU L (1979). Kanın Pıhtılaşma Mekanizması Ve Hayvanlarda Tesbit Edilen Bazı Pıhtılaşma Bozuklukları. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg*. **26(3)**: 206- 214.
- KANG HM, HEO YRA, PARK MH (2016). Evaluation of D-dimer concentration in clinically 3 dogs with high risk of thromboembolic disease. *Pak Vet J*, **36(2)**: 219-223.
- KAPTAN K (2006). Trombosit hastalıklarında temel tanısal yaklaşım. 5. İlk Basamak Kursu Bildirisi. "s.: 11-15".
- KARAGÖZ İS, SERDAR (2013). D-dimer ve tanısal önemi. *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med*. **39(3)**:197-204.

- KARAKAŞ M (2003). Hayvan Fizyolojisi Laboratuvar Klavuzu. "2. Baskı", "s.: 8".
- KAYAR A, OR ME, GÖNÜL R, AKDENİZLİ E, PARKAN Ç, BAKIREL U, DODURKA HT (2006). von Willebrand's disease in german shepherd dogs in the marmara region (Turkey). *Revue Med. Vet.* **157(1)**: 11-15.
- KIRBAŞ A, ÖZKANLAR Y, ÖZKANLAR S, AKTAŞ SM (2012). Bir köpekte şiddetli burun kanaması ve valfarin toksikasyonu. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.* **7(3)**: 201-209.
- KISKER CT, ROBILLARD JE, CLARKE WR (1982). Blood coagulation changes after hypoxemia: a fetal lamb model. *Pediatr Res.* **16(1)**: 8-12.
- KLAASSEN JK (1999). Reference values in veterinary medicine. *Lab Med.* **30(3)**: 194-197.
- KUMANO O, IEKO M, NAITO S, YOSHIDA M, TAKAHASHI N (2012). APTT reagent with ellagic acid as activator shows adequate lupus anticoagulant sensitivity in comparison to silica-based reagent. *J Thromb Haemost.* **10(11)**: 2338-2243.
- KURACHI K, ZHANG K, AMERI A, HUO J, ATODA H, KURACHI S (2000). Genetic and molecular mechanisms of age regulation (homeostasis) of blood coagulation. *IUBMB Life.* **49**: 189-196.
- LEE H, INGVERTSEN TB, KIRPENSTEIJN J, JENSEN A, KRISTENSEN TA (2006). Quantification of surgical blood loss. *Vet Surg.* **35**: 388-393.
- LEVİ M, KELLER TT, GORP VE, CATE TH (2003). Infection and inflammation and the coagulation system. *Int J Cardiovasc Res.* **60**: 26-39.
- LOBETTI RG, DIPPENAAR T (2000). von Willebrand's disease in the german shepherd dog. *J S Afr Vet Assoc.* **71(2)**: 118-121.
- LUNA LG (1992). Compilation Wright's(-Giemsa) staining. Histopathologic methods and color atlas of special stains and tissue artifacts. "p. 275".
- MALOK M, TITCHENER EH, BRIDGERS C, LEE BY, BAMBERG R (2007). Comparison of two platelet count estimation methodologies for peripheral blood smears. *CLIN LAB SCI.* **20(3)**: 154-160.
- MARTINI ZW, HOLCOMB BJ, USCILOWICZ MJ, DELGADO VA, PUSATERI, EA (2004). Alterations in coagulation induced by hypothermia and acidosis in swine. *NATO STO.* **109(21)**: 1-10.
- MASSICOTTE P, MITCHEL L, ANDREW M (1986). A comparative study of coagulation systems in newborn animals. *Pediatr Res.* **20(10)**: 961-965.
- MASUDA A, MATHUR R, HALUSHKA PV (1991). Testosterone increases thromboxane A2 receptors in cultured rat aortic smooth muscle cells. *Circ Res.* **69**: 638-643.
- MATTHEWS ME, ESHAR D (2016). Coagulation parameters of captive black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*). *Comp Clin Pathol.* **25**: 219-223.

- MAYHEW DP, SAVINGY RM, OTTO MC, BROWN CD, BROOKS BM, BENTLEY MA, RUNGE JJ, CALLAN BM (2013). Evaluation of coagulation in dogs with partial or complete extrahepatic biliary tract abstraction by means of thromboelastography. *J Am Vet Med Assoc.* **242**: 778-785.
- MISCHKE R, DIEDRICH M, NOLTE I (2003). Sensitivity of different prothrombin time assays to factor VII deficiency in canine plasma. *Vet J.* **166**: 79-85.
- MORALES F, COUTO CG, IAZBIK MC (2007). Effects of 2 concentrations of sodium citrate on coagulation test results, von Willebrand factor concentration, and platelet function in dogs. *J Vet Intern Med.* **21(3)**: 472-475.
- NELSON OL, ANDREASEN C (2003). The utility of plasma D-dimer to identify thromboembolic disease in dogs. *J Vet Intern Med.* **17(6)**: 830-834.
- NICHOLS TC, HOUGH C, AGERSO H, EZBAN M, LILLICRAP D (2016). Canine models of inherited bleeding disorders in the development of coagulation assays, novel protein replacement and gene therapies. *J Thromb Haemost.* **14(5)**: 894-905.
- NIELSEN L, HANSEN MK, JENSEN AL, KRISTENSEN AT (2009). Breed-specific variation of hematologic and biochemical analytes in healthy adult Bernese Mountain dogs. *Vet Clin Path.* **39(1)**: 20-28.
- NOYAN T (2012). Klinik tanı ve laboratuvar pratijinde D-dimer testi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi.* **10(1)**: 35-40.
- O'BRIEN MA, McMICHAEL MA, BOEDER KL, LEES G (2014). Reference intervals and age-related changes for venous biochemical, hematological, electrolytic, and blood gas variables using a point of care analyzer in 68 puppies. *J Vet Emerg Crit Car.* **24(3)**: 291-301.
- OĞRAK ZY (2009). Researches on litter size in kangal breed of turkish shepherd dogs. *JAVA.* **8(4)**: 674-676.
- ÖZTÜRK H (2017). Fizyolojik parametreler ve klinik yönden değerlendirilmesi. "Bölüm 2". *Koyun Keçi Hekimliği*. Ed.: Yarsan E. 45-72.
- PALTA S, SAROA R, PALTA A (2014). Overview of the coagulation system. *Indian J Anaesth.* **58**: 515-523.
- PARK JE, HONG SG, KANG JT, OH HJ, KIM MK, KIM MJ, KIM HJ, KIM DY, JANG G, LEE BC (2009). Birth of viable puppies derived from breeding cloned female dogs with a cloned male. *Theriogenology.* **72**: 721-730.
- PEREZ EA, MENDOZA FJ (2017). Characterisation of clotting factors, anticoagulant protein activities and viscoelastic analysis in healthy donkeys. *Equine Vet J.* **49(6)**: 734-738.
- PIETRANGELO A (2017). Coagulation tests. Erişim: [\[http://www.healthline.com/health/coagulation-tests#Results5\]](http://www.healthline.com/health/coagulation-tests#Results5), Erişim Tarihi: 12.07.2015.

- RABER MN (1990). Coagulation tests. Clinical Methods, The History, Physical, and Laboratory Examinations. "3rd. Ed." "Chapter 157" "p.: 739-742".
- RASCHE H (2001). Haemostasis and thrombosis: an overview. *Eur Heart J.* **3**: 3-7.
- ROELOFFZEN WW, KLUIN-NELEMANS HC, MULDER AB, VEEGER NJ, BOSMAN L, DE WOLF JT (2010). In normal controls, both age and gender affect coagulability as measured by thrombelastography. *Anesth Analg.* **110(4)**: 987-994.
- ROSSET E RANNOU B, CASSELEUX G, MONFRAY KC, BUFF S (2012). Age-related changes in biochemical and hematologic variables in Borzoi and Beagle puppies from birth to 8 weeks. *Vet Clin Path.* **41(2)**: 272-282.
- ROUSTSALO K, Coagulation tests. Erişim:[<http://www.vcahospitals.com/main/pet-health-information/article/animal-health/coagulation-tests/278>], Erişim Tarihi: 12.07.2015.
- ROVIRA S, MUNOZ A, BENITO M (2007). Hematologic and biochemical changes during canine agility competitions. *Vet Clin Path.* **36(1)**: 30-35.
- RUBANICK VJ, PASHMAKOVA BM, BISHOP AM, BARR WJ (2017). Correlation between thromboelastography and traditional coagulation test parameters in hospitalized dogs. *Veterinary Medicine: Research And Reports.* **8**: 21-26.
- SCHWERTZ DW, PENCKOFER S (2001). Sex differences and the effects of sex hormones on hemostasis and vascular reactivity. *Heart Lung.* **30(6)**: 401-428.
- SEE MA, SWINDELLS L, SHARMAN JM, HAACK LK, GOODMAN D, DELAPORTA A, ROBERTSON I. FOSTER FS (2009). Activated coagulation times in normal cats and dogs using max-act™ tubes. *Aust Vet J.* **87**: 292-295.
- SMITH SA (2010). Shalm's Veterinary Hematology. Hemostasis. "6th. Ed." "Section 7" "Chapter 84".
- STOKOL T, BROOKS BM, ERB NH, MAULDIN EG (2000). D-dimer concentrations in healthy dogs and dogs with disseminated intravascular coagulation. *Am J Vet Res.* **61**: 393-398.
- TELLER P, WHITE TK (2009). The physiology of wound healing: injury through maturation. *Surg Clin N Am.* **89**: 599-610
- TRIPLETT AD (2000). Coagulation and bleeding disorders: review and update. *Clin Chem.* **46:8** 1260–1269.
- TÜRKMEN G, ÖZCAN M, MENĞİ A (1997). Kangal ve alman çoban köpeği ırklarının bazı biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması. *J Fac Vet Med Univ Istanbul.* **23(2)**: 301-310.
- UHRIKOVA I, MACHACKOVA K, LEXMAULOVA LR, REHAKOVA K, DOUBEK J (2013). Disseminated intravascular coagulation in dogs with gastric dilatation-volvulus syndrome. *Vet Med-Czech.* **58 (11)**: 587–590.
- ULUTİN ON (1976). The platelets: fundamentals and clinical applications. "1st. Ed.", "Chapter 14".

- VALCHEV I, BINEV R, YORDANOVA V, NIKOLOV Y (2008). Anticoagulant rodenticide intoxication in animals - A review. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* **32(4)**: 237-243.
- WEBB DI, PARKER L, WEBB K (2004). Platelet count assessment from peripheral blood smear (PBS). *Alaska Med.* **46(4)**: 92-95.
- WEISBROT MI, HOLLENBERG ML (1980). Platelet counting methods. *Am J Clin Pathol.* **11**: 307-312.
- WEISS DJ, BRAZZELL JL (2006). Detection of activated platelets in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *J Vet Intern Med.* **20(3)**: 682-686.
- WHITTEN CW, GREILICH PE (2000). Thromboelastography ® : Past, present, and future. *Anesthesiology.* **92**: 1223-1225.
- WIINBERG B, JENSEN LA, HANSEN KM, ROJKJAER R, JOHANSSON IP, GADE PL, GRAM XD, KRISTENSEN TA (2007). Study on biological variation of haemostatic parameters in clinically healthy dogs. *Vet J.* **174**: 62-68.
- WU Y (2015). Contact pathway of coagulation and inflammation. *Thromb J.* **13(17)**: 2-9.
- YAN H, MAO Q, MA Y, WANG L, CHEN X, HU Y, GE H (2016). Sea water immersion aggravates burn injury causing severe blood coagulation dysfunction. *Biomed Res Int.* p.: 1-6.
- YAVRU AH (2006). Pıhtılaşma sistemi ve monitörizasyonu. *Turk J Intense Care.* **4(2)**: 74-79.
- YILMAZ O, ERTUĞRUL M (2011). Spread story of Kangal (*Karabash*) shepherd dogs in the world. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst Der.* **1(3)**: 117-120.
- YILMAZ Z, YALÇIN E, İLÇÖL Y (2002). Septik şoklu köpeklerde koagülasyon profilinin değerlendirilmesi. *Turk J Vet Anim Sci.* **26**: 171-176.
- YUE P, CHATTERJEE K, BEALE C, POOLE-WILSON PA, COLLINS P (1995). Testosterone relaxes rabbit coronary arteries and aorta. *Circulation.* **91**: 1154-1160.
- ZAR JH (2010). Biostatistical analysis. "5th Ed."

EKLER

EK.1. Hayvan deneyleri yerel etik kurulu kararı.



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 23/11/2016
TOPLANTI NO : 2016-23
DOSYA NO : 2016-133
KARAR NO : 2016-23-194

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.İlksin Pişkin'in yaptığı, araştırmacı olarak Uzm.Vet.Hek.Burcu İnsal'ın katıldığı "Sivas Kangal Köpeklerinde Yaş ve Cinsiyete Bağlı Bazı Pıhtılaşma Parametrelerinin Belirlenmesi" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiştir. Söz konusu çalışma Üniversite Senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi"nin 7. maddesi (h) kapsamında ele alınmış olup, çalışmanın Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu iznine tabi olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof.Dr.M.Taner KARAOĞLU (Başkan)	Viroloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof.Dr.Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof.Dr.Fatih CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E	
Prof.Dr.Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünler Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	K	
Prof.Dr.Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Yrd.Doç.Dr.Mehmet SAĞLAM (Üye)	Cerrahi Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Yrd.Doç.Dr.Atilla ÖZGÜR (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	—

Adres: Ankara Üniversitesi Rektörlüğü 06100 - Tuzlaköy/ANKARA Telefon : 0 (312) 232 60 40 / 2101 Faks : 0 (312) 232 60 49

Yrd.Doç.Dr.Gülner GÖLLÜ BAHADİR (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	-
Uzm.Vet.Hek.Atıla İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	
Dr.Vet.Hek.Gürbüz ERTÜRK (Üye)	Active Veteriner Sağlık Merkezi	Serbest	E	
Uzm.Vet.Hek.Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E	
Fatma Aysun COŞKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K	-

EK.2. Deneý hayavnları kullanım sertifikası.



DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI

Sertifika No: 2

Burcu İnsal

Bilkent Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı
tarafından düzenlenen 80 saatlik

“Deneý Hayvanları Kullanım Kursu” ve sınavını
başarıyla tamamlayarak sertifika almaya hak kazanmıştır.

Dr. K. Can AKÇALI
Bilkent Üniversitesi

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı

18-27 Ocak 2010
Bilkent Üniversitesi
ANKARA

Prof. Dr. Abdullah ATALAR
Bilkent Üniversitesi
Rektörü

Bu kurs, T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nün, Deneý Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programına Dair Genelgesine (2007/11) uygun olarak hazırlanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı: Burcu

Soyadı: İNSAL

Doğum yeri ve tarihi: Ankara – 05.05.1983

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni durumu: Evli, 1 çocuklu

İletişim adresi ve telefonu: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Dışkapı Yerleşkesi, 06110, Altındağ/Ankara

II. Eğitimi

Doktora; Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, 2015-Devam ediyor.

Erasmus Eğitimi; Freie Universität Berlin Institute of Veterinary Anatomy, Berlin-Almanya, 20-24 Ekim 2014

Yüksek Lisans; Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, 2014-2017.

Doktora; Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 2013-Devam ediyor.

Lisans; Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2001-2006.

Veteriner Hekimliği Yaz Stajı; Saint Istvan University Faculty of Veterinary Medicine Department of Small Animal Surgery, Budapeşte-Macaristan, Haziran-Ağustos 2005.

Lise Eğitimi: Sokullu Mehmet Paşa Lisesi-Yabancı Dil Ağırlıklı Programı, Ankara

Ortaöğretim: Ahmet Haşim İlköğretim Okulu, Ankara

İlköğretim: Dikmen Merkez İlkokulu, Ankara

Yabancı Dili: İngilizce

III. Ünvanları

2006: Veteriner Hekim

2010: Uzman (33/e)

2017: Uzman (Master Derecesi)

IV. Mesleki Deneyimi

2014: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı; Öğretim Elemanı (Uzman)

2013-2014: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Merkez Tanı Laboratuvarı; Öğretim Elemanı (Uzman)

2010-2013: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı; Öğretim Elemanı (Uzman)

2007-2010: Bilkent Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü;

Görev: Deney hayvanları araştırma ünitesi sorumlu veteriner hekimi

Balık laboratuvarı kurucu ve sorumlu veteriner hekimi

Manyetik Rezonans Görüntüleme Merkezi (UMRAM) kurucu ve sorumlu veteriner hekimi

Hayvan deneyleri yerel etik kurulu üyesi

V. Üye olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Anatomi Derneği

Atçılık Derneği

VI. Bilimsel İlgi Alanları

Evcil memelilerde hematolojik tanı yöntemleri

Davranış fizyolojisi

Kök hücre teknolojisi ve tedavi yöntemleri

MRG teknikleri

Anatomik preparat hazırlama ve saklama teknikleri

Farklı hayvan türleri ve dokularda plastinasyon tekniklerinin uygulanması

Yayınlar:

OTO C, BAKICI C, **İNSAL B***, YILMAZ B, OZEN D (2018). Evaluation of the acceptability of fresh dog cadavers in anatomy education. *Indian J Anim Res*, DOI: 10.18805/ijar.B-808. (*sorumlu yazar).

İNSAL B, PİŞKİN İ (2017). Kemik Dokusunun Fizyolojisi. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, **28(1)**:28-32.

EKİM O, HAZIROĞLU RM, **İNSAL B**, BAKICI C, AKGÜN RO, TUNALI S (2017). A modified S10B silicone plastination method for preparation and preservation of scaled reptile specimens. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* **64**: 155-160

EKİM O, **İNSAL B**, BAKICI, HAZIROGLU RM, AKGUN RO (2014). Yılanlarda soğuk ortam tekniği ile tüm vücut silikon plastinasyonu. *Dicle Üni. Vet. Fak. Derg.* **1(2)**: 9-22

MUMCUOĞLU M, BAGISLAR S, YUZUGULLU H, ALOTAIBI H, SENTURK S, TELKOPARAN P, GUR-DEDEOĞLU B, **CINGOZ B**, BOZKURT B, TAZEBAY UH, YULUG IG, AKCALI CK, OZTURK M. (2010). The ability to generate senescent progeny as a mechanism underlying breast cancer cell heterogeneity. *Plos One*, **5(6)**: 1-12.

SENTURK S, MUMCUOĞLU M, GURSOY-YUZUGULLU O, **CINGOZ B**, AKCALI C, OZTURK M (2010). Transforming growth factor-beta induces senescence in hepatocellular carcinoma cells and inhibits tumor growth. *Hepatology*, **52(3)**: 966-974.

Sözlü Bildiriler:

İNSAL B, PISKIN I, KOCKAYA M (2018). Comparison Of The Results of Automatic and Manual Thrombocytes Count In Sivas Kangal Dogs. 1st International Health Science and Life Congress. 2-5 Mayıs 2018, Burdur-Türkiye (Sözlü Sunum).

İNSAL B, HAZIROĞLU RM, ORHAN İO, OTO C, KAYA İB, TURKMEN N (2018). Yeni Geliştirilen EL1S Tespit Solüsyonunun Köpek Kadavraları Üzerindeki Etkinliğinin Değerlendirilmesi Üzerine Pilot Çalışma. 4th International Biosidal Congress. 25-29 Mart 2018, Antalya-Türkiye (Sözlü Sunum).

BAKICI C, AKGÜN RO, EKİM O, **İNSAL B**, BİLGİLİ H, ÇAKIR A, BUMİN A (2018). Colorimetric and Radiologic Investigations of S10B Plastination Stages Performed to Dog Knee Joints. 1st International Congress on Sports, Anthropology, Nutrition, Anatomy and Radiology/SANAR2018, 3-5 Mayıs 2018, Kapadokya-Türkiye (Sözlü Sunum).

EKİM O, AKYOL AA, HAZIROĞLU RM, AKYOL A, **İNSAL B**, ARAL N, BAKICI C, ÖZDOĞAN ÖE, AKGÜN RO (2017). Children Voices in A Silent Department: A Different Perspective on Anatomy Departments. Meeting of Young Anatomists, 12-14 July 2017. Brno-Czech Republic (Sözlü Sunum).

EKİM O, HAZIROĞLU RM, ÇAKIR A, ORHAN İÖ, OTO Ç, AYVALI M, BAKICI C, AKGÜN RO, **İNSAL B**. Ankara Üniversitesi Anatomi Müzesi'nin Kuruluş Süreci ve Güncel Faaliyetlerinin Değerlendirilmesi. 9. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 7-10 Eylül 2015. Elazığ-Türkiye (Sözlü Sunum).

Poster Bildirileri:

İNSAL B, ORHAN İO, AKGÜN RO. The color change analysis of the effects of different fixation solutions on the sheep's heart. 1. Uluslararası - 10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi, 13-16 Ekim 2017. Afyon- Türkiye. (Poster Sunum).

ORHAN İO, EKİM O, **İNSAL B**. Investigation of corneal slope of the owl by imaging techniques. 1. Uluslararası-10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi, 13-16 Ekim 2017. Afyon-Türkiye. (Poster Sunumu).

İNSAL B, EKİM O, BAKICI C, AKGÜN RO, HAZIROĞLU RM, TUNALI S. Plastinasyon tekniğinin medulla spinalis üzerindeki büzüşme etkisinin kalitatif ve

- kantitatif yöntemlerle değerlendirilmesi. 9. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 7 – 10 Eylül 2015. Elazığ-Türkiye. (Poster Sunum).
- BAKICI C, EKİM O, AKGÜN RO, İNSAL B, ÇAKIR A. Sinir dokunun farklı impregnasyon polimerleri ile silikon plastinasyonu: pigmentasyonun son ürünlerdeki etkilerinin değerlendirilmesi. 9. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 7-10 Eylül 2015. Elazığ-Türkiye. (Poster Sunum).
- AKGÜN RO, EKİM O, BAKICI C, İNSAL B, AYVALI M, ORHAN İÖ, ATANASOFF A Veteriner jinekoloji eğitiminde kullanılmak üzere dişi genital organlarının silikon plastinasyon metodu ile hazırlanması. 9. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 7 – 10 Eylül 2015. Elazığ-Türkiye. (Poster Sunum).
- EKİM O, İNSAL B, HAZIROĞLU RM, BAKICI C, AKGÜN RO. Low-temperature silicone plastination of scaled reptiles. International VETİstanbul Group Congress, (2015). p.:630-631. St. Petersburg-Russia. (Poster Sunum).
- EKİM O, AKGÜN RO, BAKICI C, İNSAL B. Silicone plastination of mammalian bones with low-temperature technique: an alternative method for the preservation of osseous structures. International Congress of Anthropological Sciences, (2015). p.:112-112. Ankara-Turkey. (Poster Sunum).
- EKİM O, BAKICI C, İNSAL B, AKGÜN RO, BİLGİLİ H, ÇAKIR A. Alternative methods for veterinary orthopaedic education: low temperature silicone plastination of knee joint. 3rd. Veterinary Orthopaedics and Traumatology Congress, (2015). p.: 187-188. Ankara-Turkey. (Poster Sunum).
- AYALOĞLU BUTUN F, TERZIOĞLU KARA E, KOCAK H, GULTEKİN S, BAYIN S, İNSAL B, GURSEL İ, AKCALI KC. Role of eustrogen on the maintenance and homing capacity of bone marrow derived rat mesenchymal stem cells. ISSCR 7th Annual Meeting; 8-11th July, 2009, Barcelona-Spain. (Poster Sunum).
- CELİK H, İNSAL B, ACİKEL V, AKIN B, OLCUM S, ERTURK İO, ATALAR E. Safe mri setup for deep brain stimulator: in-vivo experiment. ESMRMB 26th Annual Scientific Meeting; 1-3rd October, 2009, Antalya-Turkey. (Poster Sunum).
- İNSAL B, CAN P, TURAN HM, ÖZKUL A, BESALTİ O. Treatment of corneal necrosis with allogenic mesenchymal stem-cell transplantation in cats. BIOMED

- 17th International Biomedical Science & Technology Symposium; 23-25th, November, 2011, Ankara-Turkey. (Poster Sunum).
- KELEŞ SB, CİRİT B, CISDIK B, BOSTANCI AB, ARGİN Ş, APTİOĞLU B, **İNSAL B**, OTO Ç. Köpekte beyin loplarnın 3d yazıcı ile modellenmesi. 19. Uluslararası Veteriner Hekimliği Öğrencileri Bilimsel Araştırma Kongresi, 2-4 Mayıs 2017, İstanbul –Türkiye. (Poster Sunum).
- ÖZLER H, ERSOY M, ÇEVİRGEN İ, YILMAZ E, İNCE A, **İNSAL B**, ORHAN İÖ. Memelilerde modifiye taksidermi. 19. Uluslararası Veteriner Hekimliği Öğrencileri Bilimsel Araştırma Kongresi, 2-4 Mayıs 2017, İstanbul –Türkiye. (Poster Sunum).
- ÖNDER F, YÖYLER E, TAŞKIN F, ÇEVİRGEN İ, **İNSAL B**, ORHAN İÖ. Farklı maserasyon ve taksidermi metotları kullanarak bir kedinin yarım taksidermisi.19. Uluslararası Veteriner Hekimliği Öğrencileri Bilimsel Araştırma Kongresi, 2-4 Mayıs 2017, İstanbul –Türkiye. (Poster Sunum).
- ÇEVİRGEN İ, YILMAZ E, ERSOY M, APTİOĞLU B, ŞENCAN S, ŞAFAK E, **İNSAL B**, DEMİRBAŞ YS. Barınaktan sahiplenilen bir köpeğin eğitimiyle çocuklara hayvan sevgisinin aşılması.19. Uluslararası Veteriner Hekimliği Öğrencileri Bilimsel Araştırma Kongresi, 2-4 Mayıs 2017, İstanbul –Türkiye. (Sözlü Sunum)
- İNSAL E, **İNSAL B**, TAŞ N, ZEREN G, BUNDUR A, ŞEYHAN E. Sokak hayvanı rehabilitasyon merkezlerinde hayvan refahına yönelik iyileştirmelerin sahiplendirmeye olan etkisi. 19. Uluslararası Veteriner Hekimliği Öğrencileri Bilimsel Araştırma Kongresi, 2-4 Mayıs 2017, İstanbul –Türkiye. (Sözlü Sunum)
- TAŞDEMİR E, GÜR B, ÖZER E, ÜNSAL B, **İNSAL B**, İNSAL E. Sokak hayvanları popülasyon kontrol çalışmalarında kullanılan yakalama yöntemlerinin hayvan refahı ve ekonomik analizi. 19. Uluslararası Veteriner Hekimliği Öğrencileri Bilimsel Araştırma Kongresi, 2-4 Mayıs 2017, İstanbul –Türkiye. (Sözlü Sunum).
- ŞEYHAN E, **İNSAL B**, BAKICI C, ALBAYRAK F, YILMAZ E, TAŞ N, TOMOR İK, EKİM O. Çeşitli yaş gruplarındaki çocuklarla müze etkinlikleri. III. Ulusal Çocuk Gelişimi Öğrenci Kongresi. 5-7 Mayıs 2016. Ankara-Türkiye. (Poster Sunumu).

APTİOĞLU B, İNSAL B, BAKICI C, ÇEVİRGEN İ, ERSOY M, ŞENCAN MS, BUNDUR A, EKİM O. İlköğretim çağındaki çocuklarla müzede eğitim ve atölye çalışmaları. III. Ulusal Çocuk Gelişimi Öğrenci Kongresi. 5-7 Mayıs 2016. Ankara-Türkiye. (Poster Sunumu).

ERSOY M, İNSAL B, ÇEVİRGEN İ, BUNDUR A, APTİOĞLU B, YILMAZ E, İNCE A, EKİM O. Kanatlıların taksidermisinde soğuk silikon kullanılarak trofe hazırlanması. 18. Uluslararası Veteriner Hekimliği Öğrencileri Bilimsel Araştırma Kongresi, 26-28 Nisan 2016, İstanbul –Türkiye. (Poster Sunum).

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Ödüller:

EKİM O, BAKICI C, İNSAL B, AKGÜN RO, BİLGİLİ H, ÇAKIR A. Alternative methods for veterinary orthopaedic education: low temperature silicone plastination of knee joint. 3rd. Veteriner Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi. 5- 6 Haziran 2015. Ankara – Turkey. (Poster Sunum Üçüncülük Ödülü).

AKGÜN RO, EKİM O, BAKICI C, İNSAL B, AYVALI M, ORHAN İÖ, ATANASOFF A. Veteriner jinekoloji eğitiminde kullanılmak üzere dişi genital organlarının silikon plastinasyon metodu ile hazırlanması. 9. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 7 – 10 Eylül 2015 Elazığ-Türkiye. (Poster Sunum Birincilik Ödülü).

ERSOY M, İNSAL B, ÇEVİRGEN İ, BUNDUR A, APTİOĞLU B, YILMAZ E, İNCE A, EKİM O. Kanatlıların taksidermisinde soğuk silikon kullanılarak trofe hazırlanması. 18. Uluslararası Veteriner Hekimliği Öğrencileri Bilimsel Araştırma Kongresi, 26-28 Nisan 2016, İstanbul –Türkiye. (Poster Sunum Birincilik Ödülü).

Projeler:

“Çevre Bilinci ve Barınak Gönüllülüğü Eğitim Projesi”, Proje No: 118B591, TÜBİTAK PROJESİ, **Yürütücü**, 2018-Devam ediyor.

“Sivas Kangal Köpeklerinde Yaş ve Cinsiyete Bağlı Bazı Pıhtılaşma Parametrelerinin Belirlenmesi” , Proje No: 17L0239016, Ankara Üniversitesi BAP, **Araştırmacı**, 2017-Devam ediyor.

“Ankara Veteriner Anatomi Müzesi Eğitim Projesi” , TÜBİTAK 4004 Proje No: 115B131, TÜBİTAK PROJESİ, **Araştırmacı**, 2015-2016.

“KANILTEK- Kansere özgün etken madde tarama ve prelinik ilaç geliştirme teknolojileri projesi” DPT, **Araştırma Teknisyeni**, 2007-2010.

Konferans/Seminer Ve Paneller (Panelist Olarak):

Köpeklerle Barış Çalıştayı, **Düzenleme Kurulu Üyesi**, Mayıs 2018

1st International Veterinary Student Congress, **Danışma Kurulu Üyesi**, Nisan 2018

Veteriner Patoloji’ de Plastinasyon Teknikleri ve Kullanım Alanları Çalıştayı, Veteriner Patoloji Derneği, **Eğitmen**, Aralık-2016

14. Ulusal Sinir Bilim Kongresi, “Beyin Plastinasyonu” Kursu, **Eğitmen**, 26-29 Mayıs 2016

Antropoloji, Radyoloji ve Anatomi (ARA2015) Kongresi, Plastinasyon Çalıştayı,, **Eğitmen**, 12-13 Kasım 2015 Ankara-Türkiye

“Let’s do the science” Avrupa Bilim Şenliği, TÜBİTAK, HORIZON 2020, **Eğitmen**, 2015

“Let’s do the science” Avrupa Bilim Şenliği, TÜBİTAK, HORIZON 2020, **Eğitmen**, 2014

Deney Hayvanları Kullanım Kursu, Bilkent Üniversitesi, **Yürütücü-Eğitmen**, 2010

VIII- Diğer Bilgiler

Antropoloji, Radyoloji ve Anatomi (ARA2015) Kongresi, 12-13 Kasım 2015 Ankara-Türkiye

9. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi 7 .- 10 Eylül 2015 Elazığ-Türkiye

3. Veteriner Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi, 5 - 6 Haziran 2015, Ankara-Türkiye
Uluslararası Antropoloji Bilimleri Kongresi (ICAS 2015), Ankara, 2015
17. Uluslararası Biyomedikal Bilim ve Teknoloji Sempozyumu, Ankara Üniversitesi
Kök Hücre Enstitüsü, 2011, Ankara-Türkiye
1. Kök Hücre Öğrenci Sempozyumu, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2011,
Ankara-Türkiye
- V. TÜBA Kök Hücre Sempozyumu, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2010,
Ankara-Türkiye
- Laboratuvar Hayvanları Bilimi ve Deneysel Araştırmalar Sempozyumu, GATA-
Kırıkkale Üniversitesi Vet. Fak., 2009, Kırıkkale-Türkiye
- Ankara Biyoteknoloji Günleri, Veteriner Bilimlerinde Biyoteknoloji, Ankara
Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, 2008, Ankara-Türkiye
- C. elegans* Genetiği ve RNA İnterferans Kursu, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji
Enstitüsü, 2007, Ankara-Türkiye
- Anorektal ve Plastik Cerrahi Esasları Kursu, İstanbul Üniversitesi, Veteriner
Fakültesi, 2005, İstanbul-Türkiye
- Ankara Üniversitesi Veteriner Müzecilik Eğitim Topluluğu, 2016- Halen devam
ediyor. Görev: **Danışman**