

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ KÜRSÜSÜ

KÖPEKTE FİBRİNOLİTİK AKTİVİTE ÜZERİNE
48/80 MADDESİNİN ETKİLERİ

FARMAKOLOJİ DALINDA TIP BİLİMLERİ

DOKTORA (M.Sc.Dr.) TEZİ

HUGHETTE EYÜBOĞLU

İSTANBUL

1976

Ö N S Ö Z

Tezimin yöneticisi ve Farmakoloji Kürsüsü Direktörü Sayın Prof.Dr. Alâeddin Akcasu'ya göstermiş olduğu kıymetli ilgi, yakınlık ve sabırlı tutumu ile Kürsüsü olanaklarından istifade etmemin sağlanması hususunda teşekkür etmeyi borç bilirim.

Aynı zamanda, Prof.Dr. Bülent Berkarda'ya da, tezimin hazırlanmasındaki kıymetli yardım ve eleştirileri için teşekkür ederim.

İçindekiler

Giriş	1
Fibrinoliz-Fibrinolitik aktivite	7
Literatürde verilen metodların irdelenmesi	14
Materyel ve metodlar	21
Hayvan deneyleri	26
Bulgular	31
İrdeleme	41
Sonuç	47
Özet	48
Summary	49
Literatür	50

Fibrinoliz, 19.cu yüzyılın son ve 20.ci yüzyılın ilk yarılarında dikkati çekmeğe başlayan ve uzun bir süre hekimlerin, fizyologların, bakteriyolog ve biyokimyacıların zaman zaman gözlem ve deneylerine konu teşkil etmiş bulunan bir olaydır.

Bu konuda yayınlanmış ilk gözlem, tanınmış İtalyan patoloğu Morgagni'nin 1761 de basılmış olan "De Sedibus et Causis Morborum" isimli eserinde anı ölüm vakalarından bahseden bölümde görülür (1). Bundan 25 yıl sonra John Hunter anı ölüm vakalarında kanın pıhtılaşma özelliğini kaybettiğini yazmıştır. Bu yazara göre, damarların içindeki kan sıvı halde bulunmakta ve vücut dışına alındıktan sonra da pıhtılaşmamaktadır (2).

Dastre (3), köpeklerde ağır kanamalar yaratıldıktan sonra alınan kan-daki pıhtıların süratle eridiğini tesbit etmiş ve bu olaya fibrinoliz adını vermiştir.

Bu olayı aktif olarak değiştirmeye ilk girişen araştırmacı Denys (4) olmuştur. Bu araştırmacı, in vitro şartlarda, seruma kloroform ilâve ederek fibrinolitik, daha doğrusu proteolitik aktiviteyi arttırmayı başarmıştır. Bu bulgu 1903'de Delezenne ve Pozerski (5) tarafından da doğrulanmıştır. Aynı yıl Hedin (6) kanın globülin fraksiyonunda spontan fibrinolitik aktivitenin bulunduğunu göstermiş ve daha sonra Opie ve Barker (7) nötral tuzlarla çöktürme metodu ile albümin ve globülin fraksiyonlarını ayırmayı başarmış ve fibrinolitik aktivitenin globülin fraksiyonunda kaldığını göstererek Hedin'i teyit etmişlerdir.

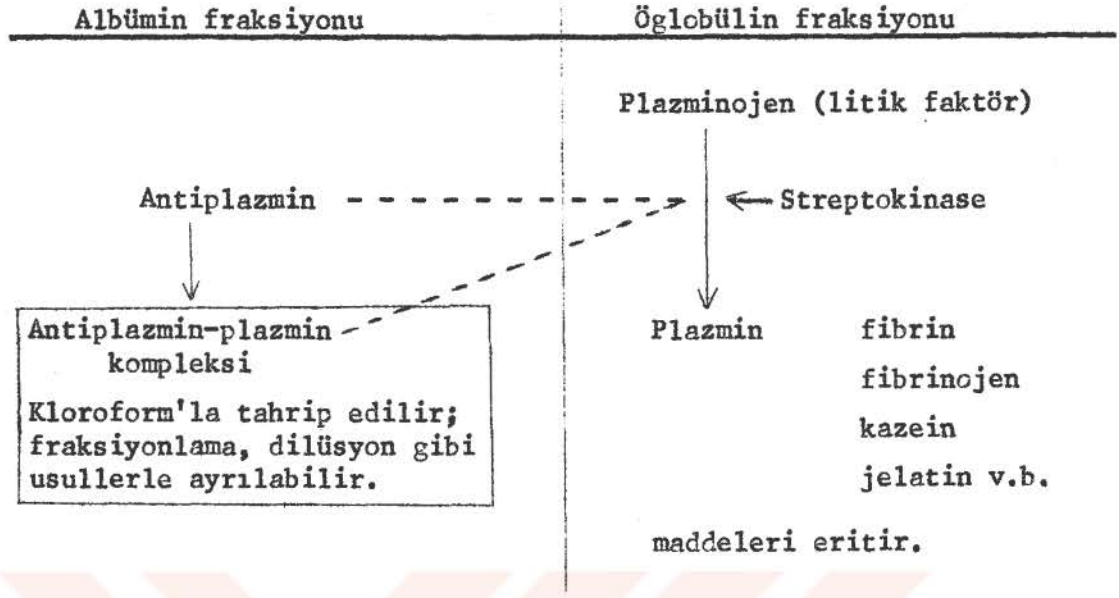
Morawitz (8) 1906'da anı ölen kişilerin pıhtılaşmayan kanını, normal-lerden alınan kana pıhtılaşmadan önce ve pıhtılaşmadan sonra ilâve ederek pıhtılaşmanın önlenemediğini veya mevcut pıhtının eriyebildiğini görerek anı ölenlerin kanındaki faktörün hem fibrinojene hem de fibrine etkili olduğunu saptadı.

Dale ve Walpole (9) 1916'da kloroformun serum antitripsinini tahrip ettiğini göstermişlerdi; bundan sonra da, serumda fibrinolitik ve proteolitik aktiviteleri inhibe eden maddeyle tripsin inhibitörünün aynı madde olduğunu

görüşü ortaya çıkmıştır. Nolf (10,11,12,13,14) 1905'te bu konuyla ilgilenmeğe başlamış ve yarım yüzyılı aşan araştırma hayatında zaman zaman fibrinolizle ilgili yayınlar yapmıştır. Bu araştırmacı şok, anafilaksi, pepton enjeksiyonu ve hepatektomi gibi olayların fibrinolize etkilerini incelemiş; fibrinolizin pıhtılaşmayı sağlayan bir enzimin etkisinin devamı sonucunda meydana geldiğini ileri sürmüştür. Damar cidarı endoteli üzerinde fibrin meydana geldiğini ve bunun fibrinoliz etkisiyle eridiğini ilk defa ortaya atan da yine Nolf olmuştur. 1937'de Schmitz (15) asid ortamda çöktürme usulüyle serum albümininden fibrinolitik enzimi ayırmıştır. Schmitz fibrinoliz inhibitörünün normal şartlarda fibrinolizi önlemekte etkili olduğunu; fibrinolitik pro-enzimle aktivatörünün ancak fibrin üzerine adsorbe oldukları takdirde inhibitörün etkisinden kurtularak fibrinolize yol açtıklarını ileri sürmüştür. Bu görüş 25 yıl unutulduktan sonra 1960'larda tekrar ortaya atılmıştır. Bu şekilde fibrinoliz meydana getiren maddenin, serumun euglobulin fraksiyonunda bulunduğu ve pH 5.2 dolaylarında çöktürülebildiği 1937 senesinde gösterilmiştir.

1933'te Tillett ve Garner (16) deneysel fibrinolize başka bir açıdan yaklaşmışlardır. Bu araştırmacılar, bazı hemolitik streptokok suşlarına ait filtratların kan pıhtılarını süratle erittiğini görmüşler; filtratta fibrinogen ve fibrin için spesifik olan proteolitik bir enzimin varlığını düşünmüşler ve buna "fibrinolizin" adını vermişlerdir. 1941 senesinde Milstone (17) streptokoklardan elde edilen streptokinazın pürifiye edilmiş fibrinogen üzerine hidrolitik bir etkiye sahip olmadığı, fakat ortalama globülin ihtiva eden serum fraksiyonu ilâve edilecek olursa fibrinolitik aktivitenin ortaya çıktığını saptadı. 1944'de Kaplan (18) globülin fraksiyonundaki maddenin sadece streptokok filtratıyla değil, fakat aynı zamanda kloroformla da aktive edilebildiğini göstermiştir. Christensen (19), Christensen ve MacLeod (20) 1945'te gerek kloroform ve gerek streptokok ekstraktıyla aktivasyon sonunda meydana gelen enzimin aynı madde olduğunu bulmuşlar ve bunun tripsin'den farklı olduğunu göstermişlerdir. Böylece çeşitli aktivasyon mekanizmalarının tek bir enzim üzerinden etkili oldukları anlaşılmıştır. Christensen ve MacLeod streptokok filtratındaki etkili madde için streptokinase, plazmatik fibrinolizi sağlayan pro-enzim için plasminogen ve bunun aktif şekli için de plasmin terimlerini teklif etmişlerdir. Plasmini inhibe eden ve albümin fraksiyonunda bulunan maddeye de antiplasmin adı verilmiştir (Şekil 1). Bütün klâsik kitaplara alınmış bulunan bu şema o zamanki bilgilere göre değerlendirilecek olursa anlatılmak istenenden ne kadar uzak olduğu görülebilir. Plazminogen yalnız başına fibrini eritmediği mutlaka plazmine dönmesi gerektiği bilindiği halde plazminojene litik faktör denmesi isimlendirmenin karışıklığa yol açmasına

neden olmuştur. Eğer plazminojen litik karaktere sahip değilse ve ona fonksiyonel bir isim verilmek gerekiyorsa prolitik faktör, plazmine ise litik faktör denmesi gerekirdi.

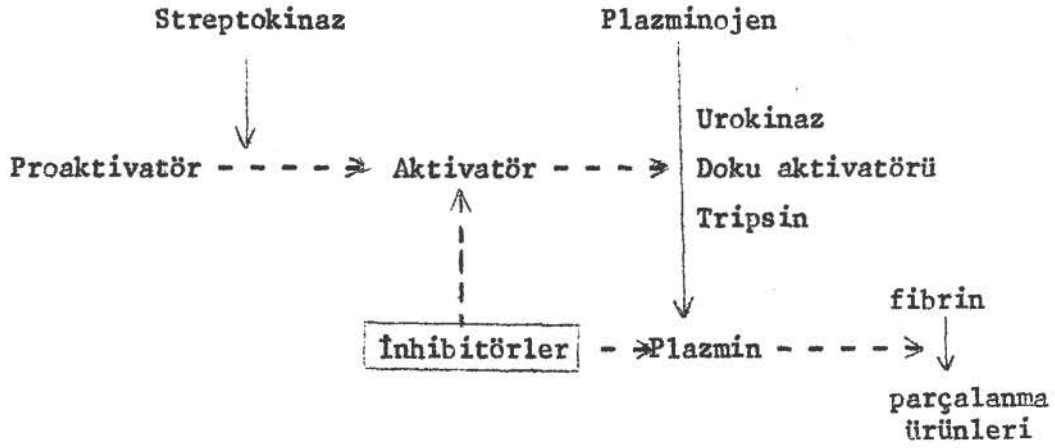


Şekil.1

Plazminojen ve plazmin'in kandan elde edilmesi için ilk önemli girişim E.J. Cohn ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu araştırmacılar bu proteinleri plazmadan soğukta alkol ile fraksiyonlama metoduyla ayırmışlardır (21).

Bundan birkaç yıl sonra problemler ortaya çıkmağa başlamıştır. Geiger (22) bazı hayvanlardan elde edilen plazminojen'in streptokinaz tarafından aktive edilebilmesi için bir başka faktöre daha ihtiyaç olduğunu ileri sürmüştür. Bu konuyu inceleyen Mullertz ve Lassen (23) 1950'de, sığır plazminojeninin streptokinaz ile aktive olmadığını; fakat ortama az miktarda normal insan plazması ilâve edilirse aktivasyonun derhal meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, insan plazmasında inaktif bir pro-aktivatör olduğunu; streptokinazın bunu aktive ettiğini ve böylece meydana gelen aktivatörün plazminojen'i plazmin'e dönüştürdüğünü düşünmüşlerdir.

Diğer taraftan bir başka yoldan giden Astrup ve Darling (24) ve Astrup ve Permin (25) doku ekstraktlarının da, fibrine bağlanmış bulunan plazminojeni aktive ettiğini göstermişler; Demuth ve Riessen (26) kanda inaktif bulunan bir fibrinolitik proenzimin dokulardan gelen bir madde tarafından aktive edildiğini ileri sürmüştür (2. şekle bakınız).



Şekil. 2

Görüldüğü gibi, bazı noktaların henüz şüpheli olmasına rağmen, doku ekstraktlarının, bazı vücut sıvılarının, streptokinaz ve kloroformun etkilerinin hep aynı noktada, yani, plazminojen üzerinde birleştiği, 1950-1960 arasında, çoğunluk tarafından kabul edilmiş oldu.

Müllertz (27,28) normal fibrinolitik aktivite durumunda dolaşımda küçük miktarlarda plazminojen aktivatörü bulunduğunu; fakat serbest plazmin bulunmadığını ortaya koydu. Son zamanlarda gösterildiği gibi stres hallerinde artan fibrinolitik aktivitede yüksek aktivatör seviyelerine karşılık plazminde artma görülmemesi Müllertz'in görüşünü desteklemektedir. Normalde plazmada bulunan küçük miktarlardaki aktivatörün önceden teşekkül etmiş olan aktivatörünü devamlı olarak işleyen bir inaktivasyon ve/veya yıkılma mekanizmasının bir ürünü mü olduğu, yoksa daha kompleks bir başka mekanizmaya bağlı mı bulunduğu aydınlatılması gerekli bir problemidir.

Çeşitli uyaranların fibrinolitik aktiviteyi arttırdıkları bilinmektedir. Biggs ve ark. (29), Ogston ve ark. (30) zihnî gerilimlerin fibrinolitik aktiviteyi arttırdığını göstermişlerdir. Keza, aynı artma adrenalın zerklerinden ve ağır egzersizden sonra da gösterilmiştir (31,32,33). Bu sonuncu durumda, fibrinoliz artmasının endojen adrenalinden ileri geldiği genellikle kabul edilmektedir (34,35,36,37). Fantl ve Simon (38) elektroşok tedavisinden sonra; Tagnon ve ark. (39) anoksi sırasında; Kwaan ve ark. (40,41,42,43) lokal iskekiye bağlı olarak; Soulier ve Koupernik (44) yüksek dozda asetilkolin zerklerinden sonra; Eichenberger (45) ve Von Kaulla (46,47) pirojen bakteri polisakkaridlerinin zerkini takiben fibrinolitik aktivitede artma olduğunu bildirmişlerdir. Çeşitli maddelerin ve bu arada nikotinik asid (48,49), serotonin (50)

sülfonilüre bileşikleri (51), testosteron ve nandrolon (52), klofibrat (53), fenformin (54), böyle özellikleri olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmacıların hiçbiri antiplazminde azalma bildirmediğine göre, yukarıda görülmüş olan fibrinoliz artmaları doğrudan doğruya dolaşıma artan miktarda aktivatör karışmasından ileri gelmektedir. Bu enzimin kaynağı muhtemelen damar cidarı endoteli olarak kabul edilmektedir (Todd, 55,56,57,58 ve Warren 59,60,61,62).

Aktivatörün, insanda ve deney hayvanlarında, dolaşıma karışmasının mekanizması birçok araştırmalara konu olmuştur (63,64,34,65,66,35,67,36).

Holemans köpeklerle (63,64,65) çalışarak adrenerjik mekanizmayı kabul etmemekte; fibrinoliz artmasını, perivasküler mast hücrelerinin histamin deşarjı yaparak endotel hücresi zarının geçirgenliğini arttırması ve aktivatörün böylece dolaşıma katılmasıyla izah etmektedir. Aynı araştırmacı, fibrinoliz aktivasyonu üzerine vazoaaktif değişikliklerin önemli rol oynadığını ve vazodilatasyonun vazokonstriksiyondan çok daha fazla etkili olduğunu gösterdi. Cho ve ark. (66) da, çeşitli vazoaaktif maddelerle (adrenerjik reseptör bloku yapan maddeler, histamin, histamin deşarjı yapan maddeler, antihistaminikler) çalıştıktan sonra, adrenerjik mekanizmayı reddetmekte, fibrinolitik aktivasyonun histamin aracılığıyla olduğu sonucuna varmaktadır.

Tanser (67) insanlarda yaptığı incelemelerde, monoamino-oksidad (MAO) inhibitörlerinin ve adrenerjik blokerlerin fibrinolitik aktivite üzerine etkisiz olduklarını bildirmiştir.

Buna karşılık Cash (68) ve Akokan (69) insanda adrenalin ve spesifik blokerleri kullanarak, beta reseptörler aracılığıyla fibrinolitik aktivasyon meydana geldiği sonucuna varmışlardır.

Yukarıdan beri bir özetini vermeğe çalıştığımız fibrinolitik aktivite hakkındaki görüşleri iki zıt grupta toplayabiliriz:

- 1- Damar cidarına yakın bulunan mast hücrelerinin histamini salıvermeleri sonucu aktivatörün dolaşıma geçerek fibrinolitik aktiviteyi arttırması,
- 2- Herhangi bir nedenle endojen adrenalin seviyesinin yükselmesi fibrinolitik aktivitenin artmasına yol açmaktadır.

İkinci görüşü doğrulamak amacıyla yapılan deneyler, problemin çözülmesinden ziyade daha da karışıklığa yol açmış, araştırmacıların bir grubu MAO inhibitörlerinin ve adrenerjik blokerlerinin fibrinolitik aktivite üzerine etkisiz olduğunu gösterirken (67), diğerleri ise aksi sonuca varmakta ve

adrenerjik sistem reseptörlerinin spesifik blokerlerini kullanarak fibrinolitik aktivitenin artmasını beta reseptörler aracılığıyla izah etmektedirler.

Araştırmacılar arasındaki bu anlaşmazlık aşağıdaki ihtimallerden ileri gelebileceğini düşünmekteyiz.

- 1- İnsanlarda tesbit edilen fibrinolitik aktivite artışının nedenlerinin araştırılması için konuya uygun bir model hayvanın daha henüz bulunmamış olması,
- 2- Gerek insanlar gerekse hayvanlar üzerinde yapılan deneylerin plânlanması, sonuçlarının değerlendirilmesinin farmakolojik açıdan yetersiz oluşu,
- 3- Kanda tesbit edilmiş olan fibrinolitik aktivitenin ölçümü için kullanılan metodların yetersizliği,
- 4- Bulunduğu varsayılan ve sonuç olarak fibrinolitik aktivite olarak kendini gösteren oluşum zincirinin halkalarının tam tanımlanmamış olması.

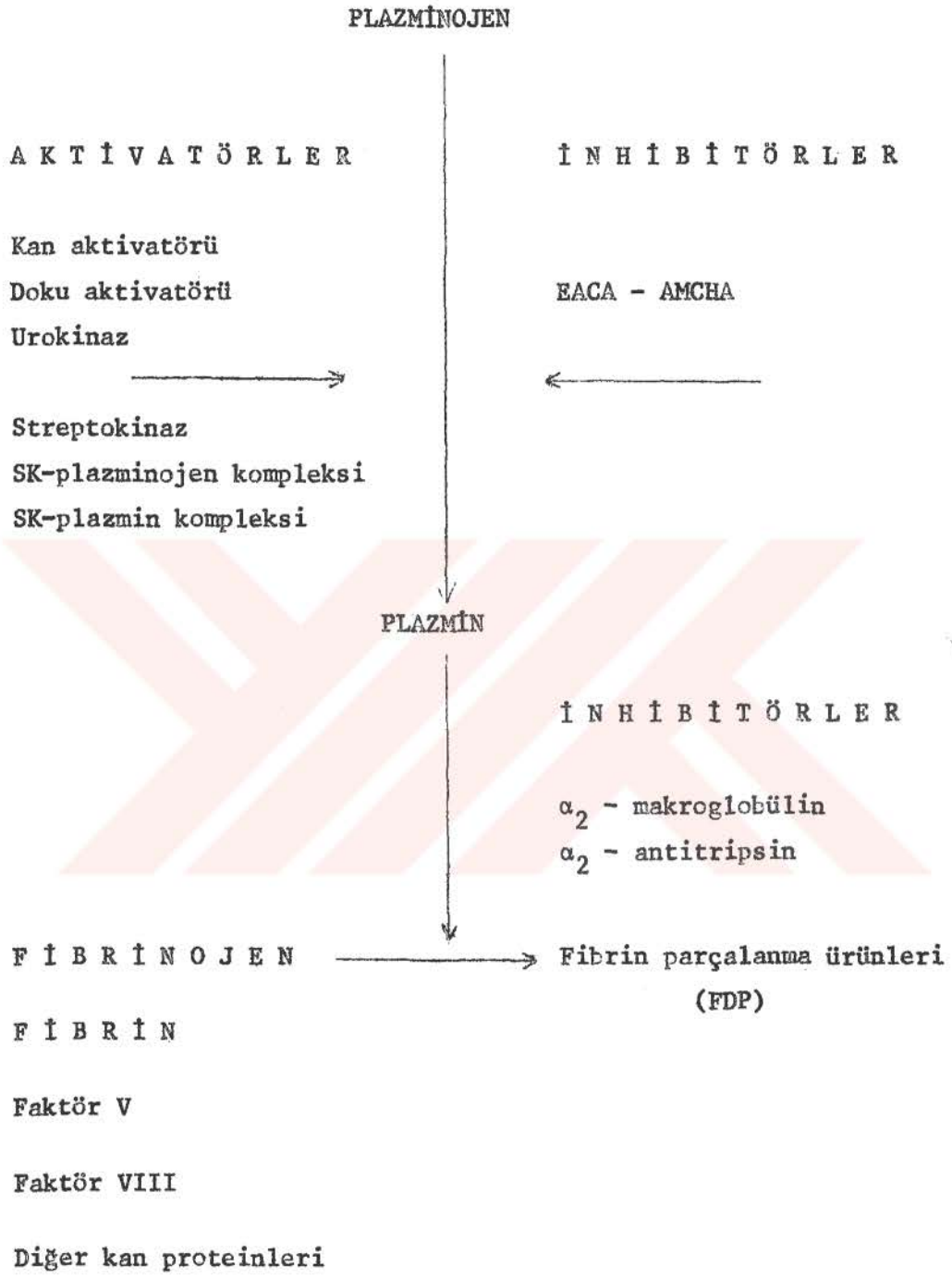
Fibrinolitik aktivite değişiminin karmaşık mahiyetine biraz da olsa açıklık getirmek ve fibrinoliz olayını biraz daha yakından incelemek ümidi ile bu çalışma yapılmıştır.

1970 yılında yapılan araştırmalar, beta reseptörlerinin fibrinolitik aktiviteyi arttırarak etkilediğini göstermiştir. Bu sonuçlar, beta reseptörlerinin fibrinolitik aktiviteyi arttırarak etkilediğini göstermiştir.

Araştırmacılar arasındaki bu anlaşmazlık aşağıdaki ihtimallerden ileri gelebileceğini düşünmekteyiz.

- 1- İnsanlarda tesbit edilen fibrinolitik aktivite artışının nedenlerinin araştırılması için konuya uygun bir model hayvanın daha henüz bulunmamış olması,
- 2- Gerek insanlar gerekse hayvanlar üzerinde yapılan deneylerin plânlanması, sonuçlarının değerlendirilmesinin farmakolojik açıdan yetersiz oluşu,
- 3- Kanda tesbit edilmiş olan fibrinolitik aktivitenin ölçümü için kullanılan metodların yetersizliği,
- 4- Bulunduğu varsayılan ve sonuç olarak fibrinolitik aktivite olarak kendini gösteren oluşum zincirinin halkalarının tam tanımlanmamış olması.

Bu çalışmada, fibrinolitik aktiviteyi arttırarak etkilediğini göstermiştir. Bu sonuçlar, beta reseptörlerinin fibrinolitik aktiviteyi arttırarak etkilediğini göstermiştir.



Şekil. 3

Fibrinoliz - Fibrinolitik Aktivite

"Fibrinoliz olayının anlayış düşüncesi, bu husustaki hakikat ile hayali birbirinden ayırmanın her zaman kolay olmadığı bir düzeye erişmiştir. Zamanın süreci, bu alanda çalışan araştırmacıların düşüncelerinde bazen hakikatle bir bağdaşma temayülüne yol açmış olsa bile, birçok fikirlerin daha henüz hipotezden ileri gitmediğini kabul etmek yerinde olacaktır. Hakikaten fibrinoliz büyük bir ihtimalle çok önemli bir sistem olduğu anlaşılmaktadır, fakat onun sonuçları daha henüz tahminden ileri gitmediği ve bu olayın metodlarının hâlâ daha ilkel bir düzeyde olduğu ancak çok yeni farkına varılabildi. Bu nedenler bugün için fibrinolitik sistem hakkındaki herhangi bir görüş yarım ve tahminidir", Recent advances in blood coagulation, sayfa 229, G.R. Fearnley.

Normal şartlarda, in vitro ve steril bir kan pıhtısı günlerce erimeden kalabilir. Buna karşılık bazı başka şartlarda ise, pıhtı kısa zamanda eriyebilir ve bu olaya *fibrinoliz* denir. Bu sonuncu durumda, plazmanın fibrinolitik aktivitesinin artması plasminojen aktivatörlerinin artması ile izah edilmektedir.

Bir başka karışıklık nedeni de fibrinoliz, proteoliz ve tromboliz terimlerinin bazen birbirinin yerine kullanılmasıdır. Burada fibrinoliz terimini, sadece fibrinin proteolitik enzim etkisiyle parçalanması olayı için kullanmak gerekmektedir. Tromboliz ve trombolitik aktivite terimleri ise, trombus ve fibrinli eksüda'nın in vivo erimeleri olayının bütünü anlatmak için kullanılmalıdır. Proteoliz ve proteolitik aktivite terimleri ise plazmin ve diğer proteolitik enzimlerin, fibrin, fibrinogen ve kazein gibi substrat olabilen bütün proteinler üzerindeki etkilerini anlatmak için kullanılmalıdır.

Bu tariflere bağlı kalınarak düşünülürse, bugüne kadar yapılmış olan birçok klinik araştırmanın aslında, kanın proteolitik enzimlerinin fibrin substratı üzerindeki etkisini ölçmekten ibaret olduğu sonucuna varılır.

Aynı şekilde, in vitro metodlarla plazminojen aktivatör seviyelerinin artmış olduğunun gösterilmesi; in vivo olarak o canlıda paralel bir tromboliz veya proteoliz artmasının meydana geldiğini ileri sürmemize yetmez. Bu sonuncu iddiayı ispatlamak için, kandaki fibrinogen seviyelerinin düşmüş olduğunu göstermek gerekir.

Bugüne kadar, bu konudaki araştırmaların çoğu kandaki proteolitik enzim seviyelerinin fibrin substratı üzerine etkisini ölçmek temeline dayanmaktaydı. Daha açık söylemek gerekirse, in vitro metodlarla, sadece plazminojen aktivatör seviyelerindeki değişiklikler ölçülebilmektedir. Bu değişikliklerin in vivo etkilerle karşılaştırılmasını pek az araştırmacı yapabirmiştir.

Bidwell ve McFarlane (70) insan kanında ağır egzersizden sonra plazminin fibrinojen üzerine etkisi olmadığını ve yine bu kişilerden fibrinolitik aktivite (F.A.) plazmin inhibitöründen de etkilenmediğini gösterdiler. Kwan, McFazean ve Cook (71) insanda adrenalın enjeksiyonunun plazmin-fibrinojen reaksiyonunu etkilemediğini gösterdiler. Kwan (43) bu durumdaki plazminin özelliklerinin daha önce Mole (72) tarafından kadavra plazmininde bildirilmiş olan özelliklere sahip olduğunu gösterdi. Bu bulgulardan şu sonuçları çıkarabiliriz:

- 1) İn vitro çalışmalarda gösterilmiş olan plazminojen aktivatör seviyelerindeki artmalar, yetersiz testlerin bir ürünü olabilir veya,
- 2) Plazminojen aktivatörleri hakikaten artmakta, fakat, deneyden önce veya deney sırasında ortaya çıkmış bulunan inhibitör bir mekanizma, plazminojenin aktive olmasını önlemektedir.

Fibrinolitik Sistemin Biyokimyası

Diğer taraftan, son yıllarda fibrinolitik sistem biyokimyası büyük gelişmeler göstermiş, bu sistemin birçok faktörleri izole edilerek özellikleri anlaşılmağa başlanmıştır. Aşağıda bu faktörler kısaca tarif edilmektedir.

Pro-aktivatör

Fibrinolitik sistemin aktive olabilmesi için bir proaktivatörün lüzumu ortaya atılmıştır. Bu proaktivatörün herhangi bir madde ile aktive edilerek fibrinolitik sistem harekete geçmekte ve plazminojenden plazmin meydana gelerek, gerek fibrinojeni, gerekse fibrine etki ederek ya fibrinojenin azalmasına ya da oluşmuş olan fibrinin lizisine yol açmaktadır. Fakat teorik olarak yapılan bu yaklaşımda düşünülen pro-aktivatörün tabiat ve varlığı halen tartışma konusudur. Önceleri, streptokinazın pro-aktivatörü aktive ettiği, ve böylece plazminojenden plazmin meydana geldiği düşünülürken; bugün birçok araştırmacılar bunu kabul etmemekte, proaktivatör olarak kabul edilen maddenin aslında streptokinaz ile 1:1 molar oranda reaksiyona giren plazminojen ve/veya plazmin olduğunu ve bu kompleksin kuvvetli bir plazminojen aktivatörü olarak etki yaptığını ileri sürmektedirler (73,74,75,76,77). Buna karşılık başkaları ise plazmada iki tip proaktivatör olduğunu düşünmekte; bunları A ve B ile göstermekte ve A'nın plazmada kazeinolitik aktiviteyle ilgili olduğunu; buna karşılık esterolitik aktiviteyle ilgisi olmadığını ileri sürmektedirler (78,79).

A k t i v a t ö r

	Kaynak	Aktivite	
Streptokinaz	Bakteriyel	?	47,600
Stafilokinaz	Bakteriyel	?	-
Urokinaz	İdrar	Peptidaz	54,700
Tripsin	Pankreas	Proteaz	31,300
Doku	Kalp-böbrek	Peptidaz	24,000
Kan	Eritrosit ve plasma	-	-

Şekil. 4

Plazminojen-plazmin sisteminin aktivatörlerini anlatan terminolojide bazı problemler bulunmaktadır. Astrup ve arkadaşları, proaktivatöre tesir eden SK gibi maddelere lizokinaz, buna karşılık, plazminojene tesir edenlere fibrinokinaz adını vermişlerdir.

McFarlane (80) plazminojene aktivatörlerine kinaz denmesini teklif ederek bunun, bu maddelerin çok spesifik fonksiyonlarını biyokimyasal açıdan belirtmek için daha doğru olacağını ve kargaşalığı daha azaltacağını ileri sürmüştür.

Biyosimik olarak bu aktivatörler, enzimatik reaksiyonları katalize eden inorganik maddeler olarak kabul edilmektedir. Literatürde aktivatör olarak tarif edilen bu maddelerin çok değişik tiplerde olmasına rağmen bunların bir kısmı plazminojen molekülünde bir tek arginilvalin bağını parçaladıkları için çok spesifik proteinazdırlar (81,82).

Bunların birçok dokularda, dolaşan kanda, idrarda, bazı vücut sıvılarında ve bazı hücrelerde bulunduğu bildirilmiştir (55,56,57,58,83,84,86,87, 88). (Şekil 4).

Aşağıda bunların tiplerini kısaca göreceğiz.

a) Doku aktivatörü: Plazminojeni aktive edebilen bu enzim oldukça saf olarak domuz kalb ve ovaryumlarından elde edilmiş; insanda uterus, böbrek üstü bezleri, prostat, tiroid, akciğer ve ovaryum gibi organlarda da oldukça yüksek miktarlarda bulunmuştur. Bu aktivatörün hücrelerde lisosomal granüllerde bulunduğu zannedilmekte ve bu nedenle ekstraksiyonu ve pürifikasyonu güç olmaktadır.

b) Kan aktivatörü: Normalde kanda küçük miktarlarda bulunan bu enzimin kaynağı damar endotelyumudur. Endotel hücresinde solübl ve diffüzyona hazır bir durumdadır. Bazılarına göre ayrıca kanda, Hageman faktörünün aktivasyonu sırasında bazı prekürsör maddelerden de meydana gelebilmektedir. Oda ısısında çok labil olup, yarılanma süresi 15 dakikadır. Bu yüzden özellikleri iyi bilinmemektedir. 40°C'da daha dayanıklı olduğu ve fibrin formasyonu sırasında stabilize olduğu sanılmaktadır. Plazmanın öglobulin fraksiyonunda çöktürülebilmektedir.

c) Ürokinaz: Bu enzim çok dayanıklı bir protein olup 54,700 (89,90) molekül ağırlığındadır. Bir peptidaz olan bu proteolitik enzim, lizin ve/veya arginin bağlarını parçalayarak plazminojen'i aktive etmektedir. Bir başka etki şekli de, lizin-arginin esterlerinin hidrolize edilmesi olabilir. Bu etki birinci mertebeden kinetik kuralına göre olmaktadır. Ürokinaz muhtemelen böbrekte yapılmaktadır ve kan aktivatörünün idrara geçmiş şekli değildir (91,92).

Asetil-lisin metil esteri substrat olarak kullanıldığında kan aktivatörüyle ürokinazın yarattıkları reaksiyonların birbirinden farklı kinetik sabitelere sahip oldukları görülmektedir. Keza ürokinaz'ın immünolojik bakımdan da insan sütünde, ovaryumlarda ve böbrek üstü bezlerinde bulunan aktivatörden farklı olduğu tesbit edilmiştir (91).

Bakteriyel Aktivatörler

Bunların en önemlisi olan, streptokinaz 47,600 molekül ağırlığında bir proteindir (93). Önceleri streptokinaz aktivitesinin türden türe değişen bir etkiye sahip olduğu; insan plazminojenini kolayca aktive ettiği halde, sığır plazminojenini doğrudan doğruya etkilemediği kabul edilmiştir (94). Buna göre streptokinazın önce stoikiometrik olarak plazmadaki bir proaktivatörü aktivatör haline getirdiği ve ondan sonra aktivatörün plazminojeni plazmine dönüştürdüğü düşünülmüştür (75,95). Fakat yakın zamanda streptokinazın plazminojen'i doğrudan doğruya aktive edebildiği; bunu doğrudan doğruya yapabildiği gibi, eşmolar plazmin+streptokinaz kompleksi teşkil ederek te yapabildiği gösterilmiştir (96,97,98,100). Bu sonuncu kompleks, gerek insanda ve gerek sığırdaki plazminojen aktivatörü olarak etki göstermektedir.

Plazminojen

Bu madde yaklaşık olarak 81.000 molekül ağırlığına sahip bir beta globülin olup, 4.2 S sedimentasyon kat sayısına sahiptir. pH 2,9 da +9,4 elektroforetik mobilitesi vardır (81). Nerede yapıldığı iyi bilinmemektedir. Kandaki konsantrasyonu % 20-40 mg olup, aktivatörler aracılığıyla plazmin'e dönüşür.

Plazmin

Plazminojen molekülünden bir tek arginin valin bağının ayrılması sonucu plasmin meydana gelir ve tripsine benzeyen bir endopeptidazdır. 48.000 molekül ağırlığına sahip bir ağır zinciri ve 25.700 molekül ağırlığında bir hafif zinciri vardır. Ağır zincirde amino-terminal olarak lisin ve karboksil terminal olarak arginin; hafif zincirde ise aminoterminal valin ve karboksil terminal asparagin bulunmaktadır. Her iki zincir bir tek disülfid bağıyla bağlanmıştır. Plasminin mol. ağırlığı 75.000, sed. kat sayısı 3.95, elektroforetik mobilitesi pH 2,9 da +7,6 olarak tarif edilmiştir (81,82). İnsan plasmininde bir tek proteolitik aktif bölge bulunur (101, 102). Aktif bölgenin, serin ve histidin bakiyesinin bulunduğu saptanmıştır (101). İnsan plasmini tripsin gibi substrat özelliği gösterir ve α -aminolizin ve arginin esterlerinin hidroksilini katalize eder (103). Plazmin insanda S-sulfofibrinojen molekülündeki lizin ve arginin peptid bağlarının % 59 unu parçalarken tripsin, bunların % 80 ini parçalamaktadır (104). Plasmin, fibrin, fibrinojen, protrombin, Fak.II (105), Fak.

VIII (106), glukagon, ACTH, büyüme hormonu (107), ve komplemanın bazı kısımlarını parçalar (108).

Inhibitörler

Normalde plazmada plazmini 10 kere inaktive edebilecek kadar büyük miktarlarda antiplazminik aktivite vardır. Bu aktivite non-spesifik proteinaz inhibitörlerinden ileri gelmekte olup, bunlar bir taraftan plazmini, bir taraftan da plazminojen aktivasyonunu inhibe ederler. Bunların en tanınmışları α_1 anti-tripsin, ve α_2 makroglobülin'dir. Birincisi, 47.000 mol. ağırlığında olup, yavaş tesirlidir ve irreverzibl inhibisyon yapar (109,110). İkincisi, 845.000 mol. ağırlığında olup, derhal tesir eder, ve reversibl olan bir inhibisyon yapar(111).

Kandaki inhibitör kapasite hakkındaki bildirilerde birbiri ile çelişen bulgulara rastlanmaktadır. Bunlar, muhtemelen metod farklarından ve spesifik olmayan ölçmelerden ileri gelmektedir. Bu arada 80.000 mol. ağırlığına sahip bir plazminogen aktivasyon inhibitörünün varlığından da söz edilmektedir (112).

Literatürde Verilen Metodların İrdelenmesi

Plazminojen-plazmin sisteminin komponentlerini tayin etmek için kullanılacak metodların seçimi bazı güçlükler göstermektedir. Bu güçlüklerin bir kısmı kullanılan substrat'tan ; bir kısmı da sistemin kompleks tabiatından ileri gelmektedir. Fibrinoliz konusunda şüpheli olan, ve çeşitli testlerle nelerin ölçüldüğünden tam emin olamayan bazı araştırmacıları desteklemek amacıyla, literatürden bazı ilginç cümleleri buraya alıyorum (113):

"Fibrinolitik tayinler çok hassastır, fakat her defasında başka sonuç verirler. Buna karşılık proteolitik testler çok az hassas, fakat kantitatif bakımdan daha değerlidir".

"Plazminojen ve plazmin'in tayinlerinin proteolitik aktiviteleri üzerinden yapılmasını tavsiye ederiz. Çünkü diğer metodlar çok yanlışlara sebep oluyorlar". Bu cümlenin yazıldığı sıralarda immünolojik metodlar henüz bilinmediğine göre, "diğer metodlar" deyimiyle acaba ne kastedilmektedir?

"Sentetik substratlar plazmin tayini için yeterli derecede spesifik değildirler. Serumda arjinin ve lizin esterlerini hidrolize edebilen plazminden başka enzimler de vardır. Eğer bu çeşit substratlar kullanılacaksa, o takdirde plazmanın plazmin-dışı esteraz aktivitesini de hesaba katmak gerekir".

"Plazminojen ve plazmin genellikle birlikte ölçülür. Normal şartlarda, bulunan aktivitenin büyük kısmının plazminojene ait olduğu düşünülmektedir".

İşte bu karışık metodlar dünyasında, 4 tip tayin metodu sayılabilir: fibrinolitik, proteolitik, sentetik substratlar ve çok yakın zamanlarda da immünolojik metodlar. Fibrinolitik metodları proteolitik gruba sokarak, aşağıdaki gibi bir sınıflandırma yapabiliriz:

- 1) Proteolitik substrat tayinleri: Fibrin ve fibrinogen (114,115,116,117, 118,119,120,121,122,123,124,125,126, 127,128);
Jelatin (129,130,131);
Kazein (132,133,134);
Azokol (135);
Protamin kompleksleri (136)
- 2) Sentetik substrat tayinleri : Lizin-arjinin esterleri (137,138,139, 140,141);
- 3) İmmünolojik tayinler : Radyal immünodifüzyon (142)

Biyolojik sıvılarda, plazminojen-plazmin sisteminin aktivitesi aktivatör ve inhibitörler tarafından kontrol edilmektedir. Plazmanın fiziko-şimik durumunda meydana gelebilecek olan değişiklikler (örneğin dilüsyon) yanlış sonuçlar alınmasına yol açabilirler. Dilüsyon, inhibitörlerin sulanmasına ve böylece aktivitenin artmış gibi bulunması sonucuna götürür. Şu halde, plazminojen-plazmin taylorlerinde, aktivatör ve inhibitörlerin tesirlerini yok edecek metodlara ihtiyaç vardır ve bugün henüz bu ihtiyaç karşılanmamıştır.

Bugün eldeki metodlar içinde en doğrusu immünolojik metod gibi görünmektedir. Fakat maalesef radyal immüno-difüzyon metoduyla plazminojen taylorinin de tam doğru olmadığı anlaşılmıştır. Çünkü bu metod da plazminojen ve plazmini ayırmayıp, birlikte ölçmektedir (143,144,145). Bunun sebebi, aralarında pek az fark bulunan bu iki protein molekülünün immünolojik olarak aynı şekilde davranmalarıdır. Dolayısıyla antiserumun spesifik olmadığı anlaşılmaktadır.

Sentetik substratlar da spesifiklik bakımından yetersizdirler. Ayrıca bunlar pahalıdır ve laboratuvarlarda standardize edilmeleri güçtür. Bu nedenle, fibrinogen ve fibrin substrat olarak tercih edilmektedirler. Çünkü bunlar fizyolojik maddelerdir; kolay elde edilebilirler ve taylorler nisbeten basit ve çabuk yapılabilir. Astrup'un fibrin tabakası (fibrin plate) metodunun şöhretinin nedeni budur. "Fibrinolitik aktivitenin" "doğru" olarak ölçülmesini sağlayan bir metod olarak tarif edilmiş bulunan fibrin tabakası metodunun (146), aşağıda (Şekil 5) gösterilen şekillerde kullanılmak suretiyle proaktivatör, aktivatör ve plazmin seviyelerini ölçtüğü ileri sürülmüştür:

Tabakanın Cinsi	Tabakada Bulunan Faktörler			Streptokinaz	Aktivatör	Plazmin
	Pro-aktivatör	Plazminojen	Fibrin			
İnsan Fibrini	+	+	+	+	+	+
Sığır Fibrini	0	+	+	-	+	+
Isıtılmış Sığır fib.	0	0	+	-	-	+

Şekil. 5

Fibrin tabakası metodu yirmi yılı geçen bir süreden beri kullanılmakta olmasına rağmen, proaktivatör, aktivatör ve plazmin aktivitelerinin iddia edildiği şekilde tam ve sahih olarak ölçüldüğüne inanmak zordur. Belki metodun çok geniş teorik bir irdelemeye tâbi tutulması bu çalışmanın konusu dışına çıkmaktadır; fakat yine de konuya ışık tutabilmesi ümidiyle bazı açıklamalar yapmak faydalı olacaktır.

Şimdi, önce tabakanın yapılması için kullanılan substratı yani fibrinogeni inceliyelim. Bu madde sadece plazminojen-plazmin sistemi için spesifik olmadığı gibi; ayrıca en önemli mahzurlarından birisi de Cohn fraction I'den elde edildiği için önemli derecede başka proteinlerle bulaşık olmasıdır. Bunlar arasında plazminojen, α_1 -antitripsin ve α_2 -makroglobülin gibi makroglobülinler de bulunmaktadır. Dolayısıyla ölçme sistemi hem plazminojen aktivatörlerine hem plazmine ve hem de α_1 -antitripsine ve α_2 -makroglobülinin inhibitör etkilerine duyarlı olmaktadır. Bulaşık bulunan plazminojenin ısıtılarak tahrip edilmesi teklif edilmekte ise de, bu sırada fibrin substratının da kalitesi ve proteolitik parçalanmaya karşı duyarlılığı değişmektedir. Plazminojenin tahrip edilmesi sırasında uygulanan ısı derecesi ve ısıtılma süresine göre deneylerde erime alanının değişmeler gösterdiği saptanmıştır. Bu çeşitli sonuçların en önemli nedeni herhalde fibrin substratında meydana gelen kalite değişiklikleridir. Bu nedenle plazminojenin ısı ile tahribi yerine fibrin substrat üzerine etkisi olmayan kimyasal bir aktivatör inhibitörünün ilâvesi düşünülmüş ve plazmin dozajında, bu amaç için bazı araştırmacılar sisteme Epsilon Amino Caproic Acid (EACA) ilâve edilmesini önermişlerdir (147).

Cohn metodu ile muhtelif hayvanlardan elde edilen Frak. I'deki fibrinogenler arasında streptokinaza karşı dayanıklı olduğu kabul edilen sığır fibrinogeninin metodda kullanılması ileri sürülmüştür (23,148,149). Kullandığımız metodun kontrolünü yapmak ve literatürde verilmiş bulunan sonuçlarını teyid etmek için deneyleri streptokinaz ile tekrar etmek lüzumunu hissettik. Bu amaçla sığır fibrinogeni ile hazırlanmış fibrin tabakası üzerine çeşitli konsantrasyonlarda streptokinaz damlatarak lizis meydana gelip gelmediğini saptamak için deneyleri tekrar ettik. Sonuç olarak streptokinazın ısıtılmış sığır fibrin tabakasında da eritici özelliği olduğunu gördük. Kullandığımız sığır fibrinogeni Sigma Fabrikalarının Cohn Frak.I, type I (No:122C-0800 ve 49B-1920) dir. Kullandığımız streptokinaz ise, Behring ve Lederle fabrikalarına aittir. Bu gözlemimize dayanarak konuşmak gerekirse Astrup'un fibrin tabaka metodunu izah eden şemaya göre, proaktivatör seviyelerini tayin edilmesinin mümkün olmaması gerekir.

Testin ikinci fazı öglobülin ile ilgili olan fazdır. Serumun distile suya karşı diyalizi ile mevcut elektrolitlerin uzaklaştırılmasının serumda bulunan proteinlerden bir kısmının çökmesine yol açacağı bilgisi Scherer (1841) ve Denis (1940) ile başlamaktadır (150). Serum proteinlerinden elektrolitsiz ortamda çöken fraksiyonuna öglobülin ismi Hofmeister tarafından verilmiştir. Diyaliz yoluyla elde edilen bu fraksiyonun heterojen proteinlerden oluştuğu saf bir protein molekülü olmadığı uzun zamandan beri bilinmektedir. Genellikle öglobülin fraksiyonunda düşük dansiteli lipoproteinler, makroglobülinler, özellikle gama-M, bir kısım gama-G immünoglobülin, serüloplazmin ve B_{1c} globülinler bulunmaktadır. Sandor (151,152)un bildirdiğine göre öglobülin çökeltisi sabit bir karışımdan ziyade elektrolitten yoksun ortamın pH'ına bağlı olarak değişiklikler göstermektedir. Esasen proteinlerin izoelektrik noktaları göz önünde tutulduğu takdirde öglobülin fraksiyonunun pH'ı ya tabii olmasının zorunlu olduğu ortaya çıkmaktadır. Öglobülin elde etmek için kullanılan klâsik metod serumun distile suya karşı diyalize edilmesidir. Distile su yerine dilüe fosfat tampon solüsyonu kullanılması maksada daha uygundur. Bu metod çok uzun ve el tutucu olduğu için fibrinolitik aktivite deneylerinde öglobülin fraksiyonu daha basit metodla elde edilmektedir. Bu metod ileride bildirildiği için burada bahsedilmeyecektir. Bu şekilde elde edilen öglobülin fraksiyonunda fibrinolitik aktivite inhibitörleri yoktur buna mukabil aktivatörler, plazminojen ve biraz da plazmin mevcuttur. Bunların dışında bir miktar da fibrinojen bulunur. Serumun dilüsyonu arttıkça öglobülin verimi yükselir (153).

Bu fraksiyonlar izole edilip tampon eriyiğinde eritildikten sonra içindeki bütün komponentlerin bu eriyik fibrin tabakası üzerine konuluncaya kadar hiç değişmeden kalacaklarını kabul etmek oldukça güçtür. Mümkündür ki, bu eriyik fibrin tabakası konuncaya kadar içindeki plazminojen aktivasyona uğrayarak ya tamamen plazmine dönüşebilecek veya kısmen plazmine döşürken bazı serbest aktivatörler de eriyikte kalmış olacaktır. Birinci şık geçerli olduğu takdirde ısıtılmamış fibrin tabakasında plazminin proteolitik aktivitesi ölçülmüş olacaktır. Daha komplike olan ikinci şık gerçekleştiği takdirde, hem öglobülin fraksiyonunun plazminin aktivitesi ve hem de buna ilâve olarak fibrin tabakasındaki plazminojenin öglobülin eriyiğindeki plazmine geri kalan serbest aktivatör tarafından aktive edilmesi sonucu meydana gelen aktivite ölçülmüş olacaktır. Şu halde Mc Nicol ve arkadaşlarının (154) plazminin-plazminojeni de aktive edebileceği görüşünü gözden uzak tutmamak gerekir.

Bu durumda, bir taraftan öglobülin fraksiyonu ile fibrin tabakasının plazminlerinin ve diğer tarafından da fibrin tabakasındaki plazminojenin kombine aktiviteleri ölçülmüş olacaktır. Bu durumda, hakikaten öglobülin fraksiyonunun

içerde neler olduğunu ve neler oluştuğunu düşünmek ve sonuç olarak ölçülenin ne olduğu hakkında karar vermek bize güç bir problem gibi gözükmektedir. Fibrinojen müstahzarlarında (Cohn Fraksiyon I) α_2 -macroglobülin α_1 -antitripsin maddelerinin bulunması da önemli bir mahzur teşkil etmektedir. Çünkü böylece değerlendirilmesi veya kontrol edilmesi güç inhibitör bir etkinin ortaya çıkması ihtimal dahiline girmesidir.

Bütün bu sıraladığımız nedenlerle, standard ısıtılmamış fibrin tabakasının, aktivatör seviyelerini tayin için yetersiz olduğu sonucuna varılmıştır. İnsanda plazma öglobülin fraksiyonunun mahiyetine birçok çalışmalar yapılmış fakat diğer memelilerde pek fazla çalışma yapılmamış ve insandaki bulguların hayvanlara da uygulanabileceği gibi bir kanı bazı yazılarda ifade edilmiştir. Bu çalışmamız sırasında görmüş olduğumuz gibi köpek ve insan öglobülin fraksiyonu arasında önemli farklar bulunmaktadır. Birinci fark, aynı pH da türe özgü polivalan antiserum kullanarak insan ve köpek öglobülin fraksiyonlarının immün elektroforetik görünümünde ortaya çıkmaktadır. Köpekteki fraksiyon, türe özgü monovalan antiserumların eksikliği nedeniyle tam idantifiye edemediğimiz daha geniş bir çeşitlilik arzeden proteinleri ihtiva etmektedir. İkinci önemli bir fark öglobülin fraksiyonlarını dondurup sakladıktan sonra ortaya çıkmaktadır. Bilindiği gibi insan plazması veya öglobülin fraksiyonu -20°C dondurulduktan sonra saklanırsa, fibrinolitik aktivite tedricen azalmaktadır (150). Örneğin bu şartlarda saklanmış bir insan öglobülin fraksiyonu 3 ay sonra eritilip litik aktivitesi yeniden incelendiğinde başlangıca göre azalmış bulunmaktadır. Köpekte aynı deney tekrarlandığında sonuç farklı bulunmuştur. Köpek plazması veya öglobülin fraksiyonunun -20°C bir sene saklandıktan sonra tekrar tetkikinde litik aktivitede bir azalma görülmemiştir. Hattâ bunun aksine, eritip tekrar dondurdukça aktivitenin arttığı görülmüştür. Yaptığımız bir deneyi zikredek olursak bir köpekte çeşitli aralıklarla 20 kan örneği alınmış ve başlangıçta bunların litik aktiviteleri tayin edilmiş ve aralarında aktivite farkları tesbit edilmiştir. Bundan sonra bu 20 kan örneği dondurulup saklanmış ve haftada bir kere örnekler eritilip aktiviteler tayin edilmiştir. Görülmüştür ki başlangıçta örnekler arasında farklar bulunur iken bir süre sonra bu farklar ortadan kalkmakta ve sonuçlar eşit bulunmaktadır. Bu bulguların nedenini kesin olarak bilmiyoruz. Fakat hipotetik olarak bunun köpeğin öglobülin fraksiyonunda bulunan bir plazmin veya aktivatörünün inhibitör labilitesinden ileri geldiği düşünülebilir (Tablo 1, 2, 3).

Bu gözlemler bize, gerek plazminojen-plazmin sisteminin ve gerek plazmanın non-spesifik proteolitik aktivitesinin değişikliklerini ölçebilecek en uygun substratın ısıtılmış fibrin tabakası olduğunu ve diğer metodların yetersiz bilgi

vereceği kanaatını vermektedir. Isıtılmış fibrin tabakası plazminojen- α_2 makroglobülinden temizlenmiş olduğu için uygun bir substrat telâkki edilebilir. Kanımızca fibrin tabaka metodu aktivatör veya plazminojen hakkında ayrı ayrı tam bilgi verecek mahiyette bir metod değildir. Bu sadece genel aktivitenin bir indeksi olabilir. Plazminojen-plazmin sistemi için- daha iyi bir metodun bulunmaması muhtemelen çeşitli araştırmacı grupların bulguları arasındaki farkları kısmen izah edebilir.

Bu çalışmamızda, biz plazminojen-plazmin sisteminin proteolitik aktivitesini ve plazma non spesifik proteolitik aktivitesini Astrup'un ısıtılmış fibrin tabakası ile inceledik (120,121).

İkinci bir metod olarak kazeini substrat olarak kullandık. Bundan maksat fibrin tabakası metodu ile bir ilişki kurulup kurulamayacağını saptamaktır. Her iki testi öglobülin fraksiyonu ile yaptık. Böylece plazminojen-plazmin sistemi inhibitörlerini ortadan kaldırmak istedik (116).

İn vivo proteolitik aktiviteyi ölçebilmek ümidi ile ayrıca kanda fibrinogen seviyelerini tayin ettik. Bu maksatla, Clauss'un trombin metodunu kullandık (155). Deneylerimizde ayrıca, kanda dolaşan heparin miktarını da ölçmek için, trombin zamanı (158) metodunu kullandık. Bunun nedeni deneylerimizde kullandığımız 48/80 maddesinin histamin liberatörü olması ve mast hücrelerinden histamin ile birlikte heparin açığa çıktığının bilinmesidir.

Kan Nümunesi	4.cü günü	18.ci günü	28.ci günü
1	40 mm ²	144 mm ²	148 mm ²
2	40 mm ²	144 mm ²	169 mm ²
3	37 mm ²	112 mm ²	148 mm ²
4	40 mm ²	75 mm ²	121 mm ²
5	48 mm ²	116 mm ²	148 mm ²
6	63 mm ²	98 mm ²	148 mm ²
7	104 mm ²	146 mm ²	170 mm ²

Tablo. 1

Tablo. 2

Kan Nümunesi	4.cü günü	15.ci günü	22.ci günü
1	148 mm ²	148 mm ²	148 mm ²
2	89 mm ²	160 mm ²	148 mm ²
3	70 mm ²	146 mm ²	
4	69 mm ²	144 mm ²	
5	41 mm ²	108 mm ²	134 mm ²
6	58 mm ²	92 mm ²	134 mm ²
7	135 mm ²	132 mm ²	169 mm ²
8	131 mm ²	100 mm ²	144 mm ²
9	84 mm ²	77 mm ²	114 mm ²
10	91 mm ²	144 mm ²	146 mm ²
11	140 mm ²	144 mm ²	144 mm ²
12	103 mm ²	123 mm ²	144 mm ²
13	149 mm ²	160 mm ²	
14	147 mm ²	160 mm ²	148 mm ²
15	53 mm ²	144 mm ²	144 mm ²

Kan Nümunesi	4.cü günü	14.cü günü	21.ci günü
1	54 mm ²	139 mm ²	148 mm ²
2	45 mm ²	100 mm ²	148 mm ²
3	90 mm ²	123 mm ²	151 mm ²
4	25 mm ²	67 mm ²	148 mm ²
5	38 mm ²	79 mm ²	127 mm ²
6	36 mm ²	144 mm ²	144 mm ²
7	119 mm ²	118 mm ²	144 mm ²
8	60 mm ²	132 mm ²	-
9	32 mm ²	104 mm ²	104 mm ²
10	86 mm ²	90 mm ²	134 mm ²
11	35 mm ²	136 mm ²	144 mm ²
12	52 mm ²	108 mm ²	148 mm ²
13	70 mm ²	110 mm ²	-
14	104 mm ²	125 mm ²	-
15	61 mm ²	73 mm ²	94 mm ²

Tablo. 3

M A T E R Y E L V E M E T O D L A R

Öglobülin fraksiyonu (151,152)

Reaktif maddeler:

- 1- % 3,8 konsantrasyonunda sodyum sitrat eriyiği üzerine alınan kan.
(Bir hacim sitrat, 9 hacim kana ilâve edilecek). Bu kan kullanılmaya kadar buz üstünde bekletilmiştir.
- 2- Asetik asit: % 1,6 konsantrasyonda asetik asit hazırlanır ve kullanılacağı zaman 100 kere damıtık su ile sulandırılır ve buz üstünde saklanır.
- 3- Fosfat tampon: 0,05 molar, pH 7,8
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12 \text{ H}_2\text{O}$ 17,9 gr.
Damıtık su 1000 cc.

Teknik

Plazma, dakikada 3000 devirle, 10 dakika santrifüj edilerek ayrılır. 0,5 ml plazma bir tübe alınır ve üzerine yavaşça 9,5 ml miktarında yukarıda bahsettiğimiz nihayi asetik asit eriyiği ilâve edilir. Böylece pH sı 5,2 olan bir karışım elde edilir. Bu karışım, 20 dakika, + 4°C'de tutulur ve ondan sonra 10 dakika süre ile, dakikada 3000 devirde santrifüj edilir. Üstte kalan sıvı kısmı atılır ve tüpler bir süre baş aşağı tutularak dipteki çökeleğin asitli sudan tamamen kurtarılması sağlanır. Bundan sonra çökeleğe 0,25 ml tampon eriyiği ilâve edilir.

Fibrin tabakaları (120,121)

Reaktif maddeler:

- 1- Sığır fibrinojen eriyiği: Fosfat tampon içinde litrede % 0,6 konsantrasyon olacak şekilde ayarlanır.

Trombin eriyiği: Fosfat tampon ile 1 ml/20 ünite (NIH) düşecek şekilde eriyik hazırlanır.

Fosfat tampon 0,05 M. pH 7,8
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12 \text{ H}_2\text{O}$ 17,9 gr.
Damıtık su 1000 ml.

Mertiyolat eriyiği: 1 litre fosfat tamponuna bir gram mertiyolat ilâve edilerek hazırlanır.

Teknik

Fibrinojen yukarıda anlatılmış bulunan konsantrasyonda hazırlanır. Eritme işlemi 37°C yapılır. Bu eriyiğe bakterilerin üremelerini önlemek için mertiyolat ilâve edilir. (nihayî konsantrasyon 100.000:1 olacak şekilde). Aynı büyüklükte standart petri kutuları alınır, her birine eşit miktarda, örneğin 8 ml fibrinojen eriyiği dökülür. Bunun üzerine 0,2 ml trombin eriyiği ilâve edildikten sonra petri kutusu yatay bir masa üzerinde hafifçe dairesel hareketler yaptırılarak, fibrinojenin uniform bir tabaka şeklinde pıhtılaşması sağlanır. Meydana gelen fibrin tabakaları 20 dk. kımıldatılmadan bırakıldıktan sonra, 45 dk. süre ile, rutubetli bir atmosfer içinde ve +85°C tutulur. Bundan sonra, petri kutuları yeniden 20 dakika hiç kımıldatılmadan bırakılır.

Petri kutusunun içindeki fibrin tabakası 4 eşit bölgeye ayrılır ve etkisi araştırılacak madde, dikkatle fibrinin üzerine damlatılır. Fibrin üzerine damlatılan maddenin, muntazam küresel bir damla şeklinde bırakılmasına dikkat edilmelidir (bir çiğ damlası gibidir). Bundan sonra tabakalar 37°C lik bir etüvde, 18 saat inkübe edilir. Etüvde, uygun derecede rutubet bulunmasına dikkat edilmelidir. Buharlaşma ile petri kutusunun kapağında su yoğunlaşmasını önlemek için kapağın iç tarafına tam uyacak şekilde kesilmiş bir süzgeç kağıdı yerleştirilir. Orijinal metoda göre sonuçlar, fibrin tabakası üzerindeki erime alanının birbirine dik 2 çapının çarpımı ile bulunan sayı mm² alan olarak ifade edilirdi. Bundan sonra, sonuçlar her deneyin taban değerlerine dayanarak yapılan bir korelasyon eğrisine dayanılarak % aktivite olarak ifade edilir.

Proteolitik Aktiviteyi Ölçmek İçin Kullanılan Modifiye Kazeinolitik Metod(116):

Proteolitik enzim kazeini hidrolize eder ve burada açığa çıkan tirozin bir ultra violet spektrofotometresi aracılığı ile ölçülür. Bu yolla SK veya urokinaz ile aktive edilip plazmine dönüşen plazminojen ve serbest plazmin ölçülebilir (156,157).

Reaktif maddeler:

- Bu test için kullanılacak kazein Hammarsten kalitesinde olmalıdır. Ticarete bulunan preparasyon kullanılmadan önce aşağıdaki şekilde saflaştırmalıdır.

9 gr kazein

300 ml fosfat tamponunda süspansiyon haline getirilir ve bu süspansiyon kaynamakta olan bir su banyosunda, 15 dk. tutulur. Bundan sonra eriyik soğutulur ve pH 2 ye ulaşıncaya kadar, yavaş yavaş asitlendirilir. Bunun için HCl eriyiği kullanılır. Bu eriyiğe, 1,7 M

perklorik asit eriyiğinden 450 ml ilâve edilir ve buzdolabında ertesi sabaha kadar muhafaza edilir. Ertesi sabah, 30 dk. sürede 6000 devirle santrifüj edilir. Çökelek alınır ve damıtık su ile 3 veya 4 kere yıkanır. Bundan sonra bu çökelek 100 ml fosfat tamponunda eritilir ve pH si NaHCl ile 7,5'a getirilir ve süzülür. Bundan sonra, protein miktarı % 3 gr olacak şekilde bir eriyik hazırlanır ve bu eriyik küçük porsiyonlar halinde -20°C dondurularak saklanır.

- Fosfat tampon 0,05 M pH 7,8
Na₂HPO₄, 12 H₂O pH 7,8
Damıtık su 1000 ml
- Streptokinaz eriyiği: Fosfat tampon içinde ve ml/2000 ünite düşecek şekilde hazırlanır.
- Perklorik asit 0,5 M : Bunu hazırlamak için 500 ml damıtık suya 42,8 ml % 70 perklorik asit ilâve edilir ve bundan sonra toplam hacim 1 litreye ulaşınca kadar damıtık su ile tamamlanır.
- Tirozin standardı: l-tirozin 0,1 N HCl içinde eritilerek bir ml/100 µg olacak şekilde eriyik hazırlanır.

Teknik:

Bir test tübüne, aşağıdaki reaktifler gösterilen sıra ile koyulur:

- kazein 3 ml
- fosfat tampon 2,4 ml
- öglobülin fraksiyon 0,5 ml
- streptokinaz 0,1 ml

Bu karışımdan daha sonraki çalışmada kontrol teşkil etmesi için, 2 ml çekilir ve içinde 3 ml 0,05 M perklorik asit bulunan bir tübe aktarılır. Geriye kalan karışım 37°C 60 dakika inkübe edilir. Bu inkübasyonun sonunda, inkübe edilmiş karışımdan 2 ml alınır ve 3 ml perklorik asit ihtiva eden bir başka tübe ilâve edilir. Böylece bir beyaz çökelek elde edilir. İyice karıştırılır ve tüpler oda hararetinde en az 30 dk. bekletilir. İstenirse tüpler buzdolabında bir gece bırakılabilir. Bundan sonra tüpler 20 dakika süre ile 5000 tur/dk hızla santrifüje edilir. Üstteki kısım ucuna pamuk sarılmış bir pastör pipeti yardımı ile çekilir ve bunun optik dansitesi bir spektrofotometrede 280 µg dalga boyunda okunur. Blank (kör) olarak inkübasyondan önce çekilip perklorik asit ile muamele görmüş olan ilk tüp kullanılır. Tirozin miktarının tayininde, daha önce 10 µg-ile 100 µg arasında değişen konsantrasyonlarda hazırlanmış tirozin eriyikleri aracılığı ile yapılmış bir kalibrasyon eğrisinden yararlanılır. Sonuçlar Remmert-Cohen üniteleriyle ifade edilir. Buradaki 1 kazein ünitesi, 37°C/1 saate 450 µg tirozin açığa çıkaran aktiviteye eşittir.

FİBRİNOJEN TAYİNİ (Clauss metodu)

Metodun esası:

Bu metodun istinad ettiği esas prensip, fazla miktarda trombin etkisi altında fibrinojenin fibrine dönüşü zamanını ölçmeye dayanmaktadır. Bu şartlar altında fibrinojenin fibrine dönüş zamanı fibrinojen miktarı ile ilgili olduğu için fibrinojenin miktar tayini pıhtılaşma zamanı ile ölçülmektedir.

Reaktif maddeler:

Mililitre tampon içinde 60 NIH ünitesi trombin ihtiva eden trombin eriyiği (Thrombin Roche, Basel, İsviçre gibi). Bu eriyik, ağzı lastik bir mantar ile tıkalı ve -25°C saklanması gereken küçük porsiyonlar halinde bulunmaktadır. -25°C saklandığı halde ancak üç ay süre ile kullanılabilir. 37°C de kullanılabilmek için önce ana eriyik soğuk bir yerde erimeye terk edilir ve sonra oda ısısında tutulabilir. Bir kere eritilmiş ana eriyik 20 dakika içinde kullanılmalıdır. Yirmi dakikadan sonra atılmalıdır. Trombin eriyiğinin aktivitesini ölçmek için on defa sulandırıldıktan sonra 0,2 ml miktarı 0,2 ml sulandırılmamış plazmaya ilâve edilir. Eğer pıhtılaşma 10-14 saniyede gerçekleşirse solüsyonun aktivitesi yeterlidir (Ana eriyiği sulandırmak için bir hacim stok solüsyondan 9 hacim tampon solüsyonuna ilâve etmek kâfidir).

Teknik:

Test yapılacak plazma tampon solüsyonu ile on defa sulandırılır. Bütün tayin 37°C da yapılır. Önceden bir dakika süre ile 37°C ısıtılmış 0,1 ml plazma üzerine 0,1 ml trombin solüsyonu ilâve edildikten sonra bir mekanik çalkalayıcı yardımı ile karıştırılır. Koagülasyonun başlangıcı ya Kolle çengeli aracılığı ile ya da manüel metodla tesbit edilir ve ölçülür. Fibrinojen miktarının hesaplanmasını kolaylaştırmak için koagülasyon zamanının 10-40 saniye arasında olmalıdır. Eğer koagülasyon zamanı 10 saniyeden kısa ise plazma daha fazla sulandırılmalıdır. Bazı özel hallerde 1/50 konsantrasyonuna kadar sulandırılmak gerekebilir. Eğer koagülasyon zamanı 40 saniyeden uzun ise daha az dilüe veya hiç dilüe edilmemiş plazma kullanılmalıdır. Önceden hazırlanmış bir standard eğri aracılığı ile ölçülen koagülasyon zamanı mg % fibrinojene çevrilmelidir. On misli sulandırılmanın dışındaki dilüsyonlarda hesaplar ona göre düzeltilmesi gerekir.

Tedavi dozlarında kullanılan heparinin herhangi bir etkisi yoktur ya da yapılan tayinlerin değerlerinde belirgin bir değişiklik yapacak düzeyde değildir.

T R O M B İ N Z A M A N I (158)

Metodun esası:

Sınırlı miktarda trombin etkisi altında plazmada fibrin oluşumunun hızının ölçülmesi.

Reaktif maddeleri:

Trombin (Roche, Basel, İsviçre) mililitresinde 10 NIH olacak şekilde distile su içinde eritilir. Hemen kullanılacak miktarları kapsayan ve kauçuk mantarla kapatılmış tüpler -20°C derecede muhafaza edilir. Hemen kullanılmadan önce ve ısınmaya vakit bırakılmadan sıvı haline getirilir ve 1:1 oranında tekrar sulandırılarak mililitresinde 5 NIH kapsayan eriyik elde edilir.

Teknik:

Bütün prosedür 37°C de yapılır. Su banyosunda önceden bir dakika ısıtılmış 0,2 ml sitratlı plazma bir tübe konur, buna önceden ısıtılmamış trombin eriyiğinden 0,05 ml ilâve edildikten sonra ya elle veya bir araçla karıştırılır. Bir Kolle çengeli aracılığı ile koagülasyonun ilk başlaması tesbit edilerek ölçülür. Aynı şekilde deney mililitresinde 5 NIH kapsayan trombin eriyiği ile de tekrar edilir.

Normal değerler:

Mililitresinde 10 ünite ihtiva eden trombin ile 13 ± 2 saniye

Mililitresinde 5 ünite ihtiva eden trombin ile 24 ± 3 saniyedir.

H A Y V A N D E N E Y L E R İ

Deneyler her iki cinsden ve ağırlıkları 8-15 Kg arasında değişen köpekler üzerinde yapılmıştır. Yukarıda açıklandığı gibi "fibrinolitik aktivite" üzerine hayvanların, ellenmesi, stress, anestezi, operasyonunda etkili olabileceği ve bunların deneylerin diğer kısımlarında elde edeceğimiz sonuçların izahında karışıklıklara yol açabileceği göz önünde tutularak, her hayvanın bazal fibrinolitik aktivitelerini tesbit için aşağıdaki yol takip edilmiştir:

1- Köpekler anesteziye edilmeden önce yirmi dakika ara ile vena sefaneus externa'dan kan numuneleri alındı.

2- İkinci kan numunesi alındıktan sonra aynı venden 30 mg/Kg pentobarbital verilerek anesteziye edildi. Yine aynı şekilde yirmi dakika ara ile iki kan numunesi alındı.

3- Bundan sonra hayvanın vena femoralisinden vena kava inferiyor'a kadar giden bir kateter kondu. Böylece damardan verilen drogun hiçbir yerde takılıp kalmadan doğrudan doğruya dolaşıma verilmesi temin edildi. Sonra aynı şekilde vena jugularis kanüle edildi. Burada da kanülün ucunun vena kava süperiyor'a kadar erişmesine dikkat edildi. Böylece kan numunelerinin komplikasyonsuz alınması sağlanmış oldu. Kullanılacak droglar arter basıncına etkili droglar oldukları için bunların etkilerinin başlangıcı ve süresi ile normale dönüşü karotise konan bir kanül aracılığı ile arter basıncı bir cıvalı manometre kullanılarak isli kağıda yazdırıldı. Bu şekilde hazırlanmış hayvanlardan yirmi dakika ara ile iki kontrol kan numunesi alındı.

Çeşitli plâna uygun olarak droglar vena femoralis yoluyla hayvana verildi ve duruma uygun olarak eşit aralıklarla kan numuneleri vena jugularise konulan kanül aracılığı ile alındı. Bütün kan numuneleri onda bir 3,8 % lik sodyum sitrat ihtiva edecek miktarlarda alınarak tayinler yapılınca kadar buz içinde muhafaza edildi. Her kan numunesi alındıktan yarım saat içinde öglobülün fraksiyonlarının elde edilmesi için gerekli dikkat gösterildi. Fibrinolitik olayı üzerine herhangi bir etkisi olmaması için hayvanlar bütün deney süresince hiç heparinize edilmedi (159).

Hayvanlara drogların verilmesi zamanları için farklı maksatlara uyacak şekilde farklı plânlar takip edildi. Bu deney plânları aşağıda gösterilmiştir:

1- 48/80 ile akut deneyler:

- a) 0,5 mg/Kg, 1 mg/Kg, 0,2 mg/Kg dozlar yazılış sıralarına göre hayvanlara deneyin gerektirdiği zaman aralıkları ile vena yolundan verildi.
- b) Diğer bir grup hayvana ise tek doz olarak 0,2 mg/Kg enjekte edildi.

2- Hayvanlarda mast hücrelerini ortadan kaldırmayı temin için yapılan kronik 48/80 deneyleri: Önceden mast hücreleri ortadan kaldırıldıktan sonra:

- a) 0,5 mg/Kg, 1 mg/Kg, 0,2 mg/Kg 48/80 verilmesi,
- b) Sadece tek bir doz olarak 0,2 mg/Kg 48/80 verilerek yapılan deneyler.

3- Devamlı 48/80 perfüzyonu deneyleri.

4- Devamlı histamin perfüzyonu deneyleri.

1.a- 48/80 ile akut deneyler (5 köpek)

Yukarıda izah edildiği şekilde kontrol kan numuneleri alındıktan sonra anestetize edilmiş intakt hayvanlara üç değişik dozda 48/80 intravenöz olarak verildi ve aşağıdaki sıra ile kan numuneleri alındı:

- a) 0,5 mg/Kg 48/80 verildikten sonra beşinci, yirminci ve kırkinci dakikalarda örnek kanları alındı.
- b) Birinci 48/80 enjeksiyonunda seksen dakika geçtikten sonra hayvana 1 mg/Kg 48/80 tekrar edildi ve aynı zaman aralıklarında üç kan numunesi alındı.
- c) İkinci 48/80 nin etkisi geçtikten sonra 0,2 mg/Kg 48/80 tekrar verildi. Bu doz ikinci dozdan daha küçük olduğu için arter basıncında büyük bir değişiklik meydana getirmede. Bu deney içinde aynı zaman aralıkları ile tekrardan üç kan numunesi alındı.

1.b- Tek doz olarak verilen 0,2 mg/Kg 48/80 deneyleri (13 köpek)

Hayvan deneyleri girişinde izah edildiği gibi bazal değerlerin elde edilmesi için gerekli kan numuneleri alındıktan sonra 0,2 mg/Kg 48/80 damar içinden verildikten 1,2,3,4,5,7,9,11,13,15,20,30,40 dakika sonra kan numuneleri alındı.

2.a- Kronik 48/80 deneyleri (7 köpek)

Köpeklerde mast hücreleri ve onların histaminlerinin tam bir deplesyonunu elde etmek için aşağıdaki yol izlenmiştir. Köpeklere aşağıdaki listede gösterildiği gibi gittikçe artan dozlarda 48/80 damar içersinden birbirini takip eden üç gün de verilmiştir:

Birinci gün	sabah: 0,2 mg/Kg
	akşam: 0,5 mg/Kg
İkinci gün	sabah: 1 mg/Kg
	akşam: 1,5 mg/Kg
Üçüncü gün	sabah: 1,5 mg/Kg
	akşam: 1,5 mg/Kg

Dördüncü günü, önceden tarif edildiği gibi mast hücreleri elimine edilmiş olan bu hayvanlar deneye alındılar. Kontrol değerler için seri ha-

linde kanlar alındıktan sonra aşağıda belirtildiği sıra ile hayvanlara 48/80 verildi:

- a) 0,5 mg/Kg verildikten 5, 20 ve 40 dakika sonra kan nümuneleri alındı.
- b) Hayvan birinci enjeksiyonun etkisinden kurtulduktan sonra 1,0 mg/Kg 48/80 verildi ve aynı aralıklarla ikinci seri kan nümuneleri alındı.
- c) Son doz olarak 0,2 mg/Kg 48/80 verildi ve aynı aralıklarla kanlar tekrar alındı.

2.b- Kronik 48/80 deneyleri (7 köpek)

Bu seri kronik deneylerde mast hücreleri ve onların histaminleri aynı gün içinde deplesyona uğratıldıktan sonra fibrinolitik aktivite ölçümleri yapıldı. Bu seri deneyde hayvanlar uyutulduktan ve kontrol kan nümuneleri alındıktan sonra aşağıdaki şekilde 48/80 verilerek deneyler sürdürüldü:

- a) Hayvanlara 10'ar dakika ara ile 0,1 mg/Kg, 0,2 mg/Kg, 0,4 mg/Kg, 0,5 mg/Kg ve 0,8 mg/Kg 48/80 damar içinden verildi.
- b) Otuz dakika bekledikten sonra üç kontrol kan nümuneleri beşer dakika ara ile alındı.
- c) Sonra 0,2 mg/Kg 48/80 damardan verildikten 1,3,5,10,20,30 uncu dakikalarda kan nümuneleri alındı.

3- Kontinü 48/80 perfüzyonu (3 köpek)

Bilindiği üzere akut 48/80 enjeksiyonları geçici de olsa hipotansiyona sebep olmaktadır. Bu nedenle hipotansiyonun muhtemel etkilerini önlemek ve sadece 48/80'nin etkilerini araştırmak için 48/80 tansiyon düşürmeyecek dozlarda devamlı perfüzyonu yapıldı. Devamlı perfüzyon için hayvanlar aşağıdaki şekilde hazırlandı ve kan nümuneleri alındı:

- a) Köpekler anesteziye edildikten sonra kontrol değerleri elde etmek için belirli aralıklarla üç kan nümunesi alındı.
- b) Üç köpeğe 30 gama/Kg/dák. 48/80 solüsyonu perfüze edildi. Devamlı perfüzyonu yapmak için kontinü perfüzyon aracı kullanıldı ve bir hayvan için total verilen perfüzyon sıvısının hacminin 30 ml geçmemesine dikkat edildi.
- c) Hayvanlara perfüzyon yapılırken her 10 dakikada bir kan nümunesi alındı.

4- Devamlı histamin perfüzyonu (3 köpek)

48/80'in fibrinolitik aktivite üzerine etkisinin histamin yoluyla olup olmadığını anlamak için yalnızca histamin verilen hayvanlardaki fibrinolitik aktivite değişiklikleri ile mukayese edilmesi gerekir. Diğer taraftan

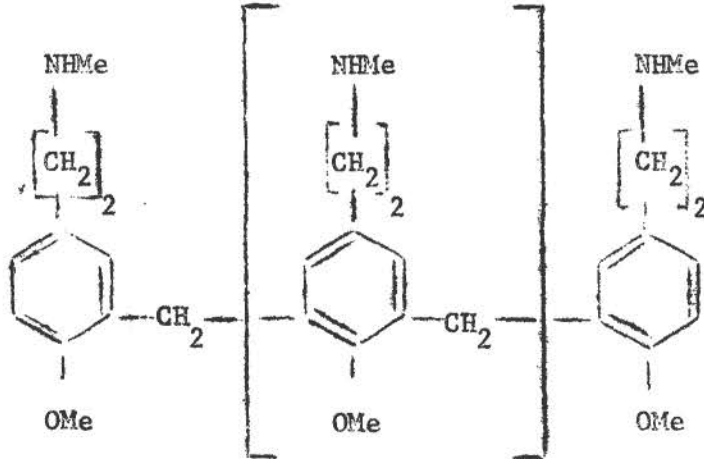
histamin enjeksiyonları arter basıncında düşmelere yol açtığından, hipotansiyonun neden olabileceği homeostatik mekanizmanın da endirekt yoldan fibrinolitik aktivite üzerine etkili olabileceği akla gelebilir. Bunu önlemek için hipotansiyona sebep olmayacak miktarlardaki histaminin devamlı olarak perfüzyonu ile alınacak sonuçların devamlı 48/80 perfüzyonları sonuçları ile karşılaştırılması gerekir. Bu sonuca erişebilmek için aşağıdaki yol takip edilmiştir.

- a) Standard değerleri elde etmek için, köpek anesteziye edildikten sonra belirli aralıklarla üç kan numunesi alındı.
- b) Devamlı perfüzyon makinesi aracılığı ile 0,1 gama/Kg/min 90 dakika süre ile histamin solüsyonu perfüze edildi. Bu süre içinde total perfüzyon solüsyonunun 30 ml'yi geçmemesine dikkat edildi.
- c) Perfüzyon yapılırken başlangıçtan beşinci dakikadan itibaren her onbeş dakikada bir kan numuneleri alındı.
- d) Perfüzyonun kesilmesinden 15 ve 30 uncu dakikalarda da kan numuneleri alındı.

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler:

48/80 M A D D E S İ

48/80 p-methoxy-n-methylphenylethylamine'in formaldehid ile yaptığı bir kondansasyon ürünüdür. Genel olarak açık formülü aşağıda gösterilmiştir. 48/80 in özel bir jenerik ismi yoktur. Sadece araştırma maddesi olarak kullanılmaktadır.



Bu madde muhtemelen dimer, trimer ve tetramerlerin bir karışımıdır. Şimdiye kadar bilinen en aktif histamin liberatörüdür (160). Genel olarak buna histamin liberatörü denilmekle beraber buna "mast hücreleri depletörü" demek daha yerinde olacaktır. Çünkü 48/80 sadece histamini değil mast hücrelerinde bulunan serotonin ve heparin gibi diğer aktif maddeleri de açığa çıkarır. Hogberg ve arkadaşlarına (161) göre 48/80 mast hücrelerinin membranında bulunan bir litik enzimi aktive ederek etkili olmaktadır. Normal olarak bu enzimin

aktivitesi bir inhibitör aracılığı ile engellenmektedir. 48/80 gibi bir liberatör yardımı ile bu inhibitör etkisiz hale getirilirse litik anzim aktif hale geçer ve bağlı bulunduğu membrana etki ederek onun geçirgenliğini arttırır.

H İ S T A M İ N

Histamin genellikle gerek hayvan gerekse bitkilerde normal olarak bulunan bir biyojen amindir. Histaminin bütün fonksiyonları kesinlikle bilinmemekle birlikte mikrosirkülasyonun otokontrolunu yapan aminler arasındadır. Yapısı 4-(2-aminoethyl)-imidazol veya diğer bir deyişle B-imidazolyl-ethylamine'dir. Vücutta histidin dekarboksilezin etkisi ile histidinden meydana gelir.



Histamin vücudun hemen hemen her dokusunda bulunur. Dokular dışında gerek fizyolojik gerekse patolojik sıvılarda da değişik miktarlarda bulunmaktadır. Dokularda bulunan histaminin büyük bir kısmı mast hücreleri denilen hücreler içersinde bulunur (162,163). Mast hücrelerinin dışında bulunan histaminin bir fonksiyonu olup olmadığı daha henüz aydınlatılamamıştır. Histamin mast hücrelerinde granüllere bağlı olarak bulunur. Hücre içinde iken herhangi bir aktivite göstermez. Fakat hücrelerin membranının geçirgenliği arttığı zaman veya hücreler parçalandıkları zaman açığa çıkarak farmakodinamik etkilerini gösterir. Histaminin mikrosirkülasyondaki rolü kabul edilmekle beraber sinir dokusunda kimyasal bir transmittör olarak bir görevi olup olmadığı daha henüz açık bir şekilde gösterilmiş değildir. Mamafi kedilerde gangliyonları uyardığı kaydedilmiştir (164). Fakat daha sonraları yapılan diğer araştırmalarda üst servikal gangliyon perfüzyonlarında blok yapıcı bir etkiye sahip olduğu ileri sürülmüştür (165).

Mast hücrelerinde depolanmış bulunan histamin bazı maddeler tarafından serbest hale geçirilebilir. Bu maddelere histamin liberatörleri ismi verilmektedir. Histamin liberatörleri arasında en aktifi polimer tabiatında olan 48/80, dekstran, polyvinylpyrrolidon'lardır. Tween 20 gibi sürfas aktif maddeler, morfin, d-tübokürarin gibi alkaloidler ve stilbamidin gibi bazı kimyasal maddeler de histamin liberatörleridir.

B U L G U L A R

Proteolitik aktivite, bir hayvandan diğerine önemli farklar gösterdiğine göre, birbiri ile karşılaştırabilecek güvenilir sonuçlar elde etmek için metodolojinin dikkat ile ayarlanması gerekmektedir. Bu maksat ile, her köpekte, deneylerden önce başlangıç 0 çizgisini bulmak için elde edilen değerlerin ortalaması alınmış ve bu ortalama diğer 100 % proteolitik aktiviteye eş kabul edilmiştir. Bundan sonra, normale göre artmalar veya azalmalar % olarak kolayca hesaplanmıştır. Buna benzer sonuçlar, bir araya getirilip karıştırılmış kontrol kanlarından çeşitli sulandırmalar ile elde edilen korelasyon eğrisi çizildikten sonra, benzer sonuçlar elde edilmiştir.

0 çizgisi

Fibrinolitik aktivite tarihçesinde bahsedilmiş olduğu gibi proteolitik aktivitesini birçok faktörler etkilemektedir. Bu nedenle güvenilir kontrol başlangıç değerleri elde etmek için, büyük dikkat gösterilmiştir. Normal aktivite, yani 100 % aktivite olarak her köpekten uyanık iken, ardı ardına alınan 2 kan numunesinde elde edilen değerlerin ortalaması kabul edilmiştir.

Bundan sonra köpeğe uygulanan anestezi ve ameliyatın neden olduğu aktivite değişiklikleri, bu başlangıç değerlerine göre hesaplanmıştır. Stress, nembütal veya ameliyatın travması, köpeğin proteolitik aktivitesini fazla etkilememektedir. 42 köpekte ortalama değerler şöyle bulunmuştur (Normal aktivite % 100 olduğuna göre):

nembütal'den sonra	% 98,3
ameliyattan sonra	% 97,5

bulunmuştur.

Bu bulgulara göre nembütalden sonra ve ameliyattan sonraki fibrinolitik aktivitelerle normal köpeklerdekine nazaran büyük farklar göstermediğine göre droglardan önce alınmış bulunan altı numunenin aktivitelerinin ortalaması her köpek için kontrol değer olarak kabul edilmiştir. Bu ortalama değer % 98,6±23,9 olarak hesaplanmıştır. Deney hayvanı olarak kullanılmış 42 köpeğin drog enjeksiyonundan önce verdiği değerlerin ortalaması yüz kabul edildiğine göre drog- ların proteolitik aktivitede meydana getirdikleri değişiklikleri metod bölümünde verilen sıraya göre gözden geçirelim.

1.a- 48/80 ile akut deneyler:

Akut 48/80 deneylerinde köpeklerde histamin deplesyonu yapan en emin doz 0,5 mg/Kg olduğu için bu dozla deneylere başlanmıştır. Bu doz hayvanlara damardan verildikten yarım dakika sonra, derin bir hipotansiyon meydana gelir. Bu hipotansiyon açığa çıkan histamine aittir. Mast hücrelerinden histaminle birlikte heparin ve bazı hayvanlarda 5HT de açığa çıkar. İkinci doz 1 mg/Kg olarak seçilmiştir. Bu doz ilk dozun parçalayamadığı geride kalan mast hücrelerini ortadan kaldırmak için daha fazla histamin deşarjına sebep olur. Tabii ki bu histaminde normale dönmüş olan arter basıncından tekrar bir düşmeye sebep olur. Üçüncü doz ilk dozdan daha küçük olarak seçilmiştir. Bu doz ilk iki dozdan sonra artık parçalayacak mast hücresi kalmadığı için herhangi bir hipotansiyona sebep olamaz. Her 48/80 den sonra 5, 20, ve 40 dakika sonra kan nümuneleri alınarak proteolitik aktiviteleri ölçülmüş ve bu aktivitelerin kontrol aktivitelerinden yüzde sapışları hesap edilmiştir. 6 köpeği kapsayan bu deneylerin sonuçları istatistik analize tâbi tutularak elde edilen sonuçlar tablo 4'de özetlenmiştir. 0,5 mg/Kg 48/80'den beş dakika sonra proteolitik aktivitede 13 %, 20 dakika sonra 3 % ve 40 dakika sonra 4 % gibi bir artış tesbit edilmiştir. Proteolitik aktivitede tesbit edilen bu değişiklikler istatistiki olarak bir anlam taşımamaktadır.

0,5 mg/Kg 48/80'den sonra verilen 1 mg/Kg 48/80'den sonra aktivitenin normale nazaran düştüğü tesbit edilmiştir. Bu düşüş 5 dakika sonra 21 %, 20 dakika sonra 27 % ve 40 dakika sonra 19 %'a ulaşmıştır. İstatistiki olarak anlamlılık derecesi en yüksek sonuç 20 dakikada elde edilmiştir. Bu seri deneyde üçüncü doz 0,2 mg/Kg olarak damardan verilmiştir. Bu arter basıncında bir değişiklik yapmadığı halde proteolitik aktivitede bir yükselmeye yol açmıştır. Bu bulguların sonuçları şekil 6'da gösterilmiştir.

1.b- Tek bir doz olarak verilen 0,2 mg/Kg 48/80'nin akut etkisi:

Bu seri deney, 1a bölümünde yapılan deneylerin bir tamamlayıcısı niteliğindedir. Birinci seri deneylerde en belirgin etkinin histamin deplesyonundan sonra verilen 0,2 mg/Kg 48/80 ile görüldüğünü tesbit etmiştik. Bu deneyleri tamamlamak için intakt bir hayvanda doğrudan doğruya 0,2 mg/Kg 48/80 ile deneylerin yapılması gerek mast hücrelerinden gelen maddelerin gerekse doğrudan doğruya drogun molekülünün proteolitik aktiviteye etkili olup olmadığını göstermesi bakımından önemlidir. Bu seri hayvana 0,2 mg/Kg 48/80 verildikten sonra ilk beş dakikada her dakikada onbeşinci dakikaya kadar her iki dakikada bir, sonra 20.ci ve 40 ıncı dakikalarda nümuneler alınmıştır. Bu deneylerde kullanılan 7 adet köpekten alınan sonuçlar istatistikî değerlendirilmeye tâbi tutularak elde edilen sonuçlar tablo 5'te özetlenmiştir. Tablonun tetkikinden de anlaşılacağı gibi proteolitik aktivite en çok 3-5'inci dakikalarda bir artış

göstermiştir. Bu artış kontrol değerlerine göre 23 % ye kadar ulaşmıştır. Bu değerlerin anlamlılık derecesi 0,001'den fazladır. Beşinci dakikadan sonra proteolitik aktivitede yavaş yavaş bir azalma meydana gelmekte ve 15 inci dakikadan sonra kontrol değerlerine inmektedir. Bu deney serisinde fibrinolitik aktivite değerlerinin artması ile fibrinojen miktarında bir ilişki olup olmadığı da araştırılmış kanda fibrinojen miktarlarında bir azalma tesbit edilememiştir. Bu da bize fibrinolitik aktivitenin artması ile fibrinojen miktarları arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir (Tablo 6). Bu sonuçların grafiği şekil 7'de dir.

2.a- Kronik olarak histamin deplesyonu yapılmış köpeklerde belirli aralıklarla verilen üç doz (0,5 mg/Kg, 1 mg/Kg ve 0,2 mg/Kg) 48/80 in etkisi: Bu seri deneyde yedi adet köpek önceleri metod bölümünde detayları verildiği şekilde üç gün arka arkaya damardan 48/80 yapılarak mast hücreleri imkân nisbetinde tahrip edilmiştir. Bu şekilde hazırlanmış kronik köpeklerde 1.a bölümünde yapıldığı şekilde deneyler tekrar edilmiştir. Bu şekilde önceleri mast hücreleri kısmen yok edilmiş ve kısmen de ihtiva ettikleri histaminleri boşaltılmış halde iken 48/80 in etkisi araştırılmıştır. Bu seri deneylerin sonucunda elde edilen proteolitik aktivite değerleri istatistiki metodlarla değerlendirildikten sonra tablo 7'de gösterilmiştir. 0,5 mg, 1 mg/Kg ve 0,2 mg/Kg dozlarda verilen 48/80 anlamlı bir etki göstermediği tesbit edilmiştir. Bu bulgulara göre 1.a ve 1.b serisi deneylerde bulunan sonuçlar 48/80 molekülünün direkt etkisinden ileri gelmediğini ispatlamaktadır. Bu şekilde hazırlanmış köpeklerin de fibrinojen miktarları ölçülmüş kayda değer bir değişiklik görülmemiştir (tablo 8). Trombin zamanları ölçülerek bu esnada açığa çıkan heparinin etkisi de incelenmiş, sadece ilk yapılan 0,5 mg/Kg 48/80'in beşinci dakikada trombin zamanını 11,5 saniyeden 22,1 saniyeye çıkardığı tesbit edilmiştir. Fakat trombin zamanında uzama diğer dozlarda görülmemiştir (Tablo 9). Bu sonuçların grafiği şekil 8'de dir.

2.b- Kronik histamin deplesyonu ile akut histamin deplesyonu arasında fibrinolitik etki yönünden herhangi bir fark olup olmadığını anlamak için akut deplesyon yapılmış hayvanlarda 0,2 mg/Kg 48/80 in etkileri araştırıldı. Bunun için hayvanlar uyutulduktan sonra onar dakika ara ile küçük dozdan başlamak üzere, metod kısmında anlatıldığı şekilde 48/80 damardan verildi. Küçük dozdan başladığı için her dozdan sonra meydana gelen histamin deşarjı büyük bir arter basıncı düşmesine yol açmadan 0,8 mg/Kg 48/80'e kadar çıkılabilirdi. Hayvanlar son 48/80 enjeksiyonundan sonra 30 dakika kendi haline bırakılarak hayvanların normal hale dönmeleri temin edildi. Üç kan numunesi alındıktan sonra 0,2 mg/Kg 48/80 verildi ve 1,3,5,10,20 ci dakikalarda kan numuneleri alınarak fibrinolitik aktivitesi tayin edildi. Bu şekilde yapılmış olan yedi köpeğin sonuçları istatistikî değerlendirme yapılarak tablo 10'da gösterilmiştir. Fibrinolitik aktivite artışı 10.cu dakikalarda en yüksek değerine erişti. Bu değer anlamlılık derecesi

<.10 bulundu. Bu sonuçların grafiği şekil 9'de gösterilmektedir. Aynı kan numunelerinden yapılan fibrinojen miktarları ölçülmeleri ve trombin zamanı tayinleri, anlamlı bir değişiklik meydana gelmediğini gösterdi (Tablo 11,12).

3- Devamlı 48/80 perfüzyonu:

Yukarıdaki deneylerde görüldüğü gibi 48/80 enjeksiyonlarından elde edilen sonuçlar bu maddenin ya doğrudan ya da dolaylı yoldan fibrinolitik aktiviteye etkili olduğunu göstermektedir. Histamin deplesyonu yapılmış hayvanlarda 48/80'in etkisinin anlamlılık derecesi çok düştüğüne göre molekülün kendisinin değil bu maddenin mast hücrelerine etki ederek inhibitör ve aktivatör diyebileceğimiz bir takım maddeleri açığa çıkararak fibrinolitik aktiviteye etki ettiğini göstermiş olsa bile açığa çıkan inhibitör veya aktivatörün açığa çıkış şartlarını aramak için arter basıncına etkili olmayacak miktarda birim zamana isabet edecek şekilde devamlı perfüzyonun yapılması durumun aydınlanması yönünden önemli görüldüğünden bu seri deneyler yapıldı. Devamlı perfüzyon yapılmış üç köpeğin fibrinolitik aktivitesi sonuçları tablo 13'de özetlenmiştir. Fibrinolitik aktivitenin anlamlı bir şekilde arttığı dönem perfüzyonun yirminci dakikasına rastlamaktadır. Bundan sonra aktivite normal seviyeye inmekte ve deneyin sonuna kadar istatistiki bakımdan anlamsız farklılaşma ile devam etmektedir. Fibrinolitik aktiviteye paralel olarak ölçülen fibrinojen miktarında bir değişme olmadığı halde trombin zamanında başlangıçta bir artma gözlenmiştir (Tablo 14). Trombin zamanında bu artma onuncu dakikada belirgin ve otuzuncu dakikada en yüksek bir düzeye varmaktadır. Ondan sonra perfüzyonun devam etmesine rağmen gittikçe düşerek yüzüncü dakikada normal değerlere dönmektedir. Bu sonuçlar tablo 15'de ve şekil 10'da gösterilmektedir.

4- Devamlı histamin perfüzyonu:

48/80'den sonra görülen fibrinolitik aktivitedeki değişikliklerin mast hücrelerinden açığa çıkan histaminden ileri gelip gelmediğini saptamak için histamin perfüzyonu deneyi plânlanmıştır. Histamin arter basıncına etkili bir madde olduğu için deneylerde kullanılan birim zamana isabet eden histamin miktarının arter basıncına etkili miktarının altında kalmasına dikkat edildi. Arter basıncının düşmesi baroreseptörler aracılığı ile yine fibrinolitik aktiviteye etkili olması muhtemel bir takım hormonların, örneğin adrenalın salgılanmasına yol açabileceği aşîkârdır. Bu nedenle deneylerde devamlı arter basıncı kaydedilmiş ve bir refleks meydana getirebilecek derecede bir düşüş meydana verilmemesi temin edilmiştir. Bu deneyler üç köpek üzerinde yapıldı. Fibrinolitik aktivite sonuçları tablo 16'da özetlenmiştir. Sonuçlara göre histaminin fibrinolitik aktivite üzerine etkisi olmadığı perfüzyonun ilk 45 dakikasındaki sonuçlardan anlaşılmıştır. 60 cı dakikada 121 % seviyeye çıkması burada histaminden ziyade deneyin şartlarının etkisi olduğu kanısını bizde uyan-

dırdı. Histamin sadece vazoaaktif bir madde değil, damarlara etkili olan dozlarda altında sekretuvar sisteme de etkilidir. Düşüncemize göre 60 dakika gibi geç görünen etki histaminin sekretuvar etkisi ile izah edilebilir. Histamin perfüzyonları fibrinojen miktarlarına ve trombin zamanına etkili görülmemiştir (tablo 17, 18).

1.a- Proteolitik Aktivite

	Dakika	Ortalama	Standard Sapma	t değeri	P değeri
48/80 0.5 mg/Kg	5'	% 113	± 19	1.9	.20 >P>.10
	20'	% 103	± 21	0.513	0.60
	40'	% 104	± 19	0.6	P > .50
48/80 1.0 mg/Kg	5'	% 79	± 14	1.86	.20 >P>.10
	20'	% 73	± 13	2.39	.10 >P>.0.05
	40'	% 81	± 26	0.283	.80 >P>.70
48/80 0.2 mg/Kg	5'	% 138	± 10	1.29	.30 >P>.20
	20'	% 116	± 20	1.34	.30 >P>.20
	40'	% 105	± 33	0.326	.80 >P>.70

Tablo. 4

1.b- Proteolitik Aktivite

	Dakika	Ortalama	Standart Sapma	t değeri	P değeri
48/80 Kg/0.2 mg	1	% 99	± 20	1.36	.30<P<.20
	2	% 104	± 10	3.15	0.02<P<0.01
	3	% 116	± 15	4.16	0.01<P<0.001
	4	% 122	± 19	4.09	0.01<P<0.001
	5	% 123	± 18	3.56	0.01<P<0.001
	7	% 114	± 31	2.08	0.1 <P<0.05
	9	% 106	± 20	2.09	0.1 <P<0.05
	11	% 105	± 25	1.61	0.2 <P<0.10
	13	% 107	± 15	2.76	0.05<P<0.02
	15	% 99	± 28	0.709	0.6 <P<0.5
	20	% 98	± 18		
	40	% 102	± 4		

Tablo. 5

1.b- Fibrinojen

	Ortalama	Standart deviasyon
Kontrol	273 mg	± 14 mg
Test	275 mg	± 25 mg

Tablo. 6

2.a- Proteolitik Aktivite

	Dakika	Ortalama	Standart Sapma	t değeri	P değeri
48/80 0.5 mg/Kg	5'	% 101	± 29	0.862	.50>P>0.40
	20'	% 105	± 22	0.085	P>0.9
	40'	% 103	± 34	0.304	.80>P> .70
48/80 1.0 mg/Kg	5'	% 87,5	± 21	0.353	.80>P> .70
	20'	% 108	± 54	0.887	.50>P> .40
	40'	% 112	± 56	0.800	.50>P> .40
48/80 0.2 mg/Kg	5'	% 94	± 27	1.134	.30>P> .20
	20'	% 93	± 23	1.215	.30>P> .20
	40'	% 94	± 20.6	0.496	.70>P> .60

Tablo.7

2.a- Fibrinojen

	Ortalama	Standart Sapma
Kontrol	348 mg	± 35 mg
Test	334 mg	± 19 mg

Tablo.8

2.a- Trombin Zamanı (Saniye olarak)

Ortalama Kontrol Değeri 11.5"			
48/80 Dozu	Zaman (Dakika olarak)		
	5'	20'	40'
0.5 mg/Kg	22.1"	14.5"	15"
1.0 mg/Kg	11"	12"	12"
0.2 mg/Kg	14"	13"	16"

Tablo. 9

2.b- Proteolitik Aktivite

	Dakika	Ortalama	Standart Sapma	t değeri	P değeri
48/80	1	% 102	± 18	0.634	.60<P<.50
	3	% 95	± 29	0.365	.80<P<.70
	5	% 106	± 32	1.76	.20<P<.10
0.2 mg/Kg	10	% 127	± 14	1.945	.20<P<.10
	20	% 102	± 6	0.175	.90<P<.80

Tablo. 10

2.b- Fibrinojen

	Ortalama	Standart sapma
Kontrol	261 mg	± 9 mg
Test	252 m2	± 22.8. mg

Tablo. 11

2.b- Trombin Zamanı (Saniye olarak)

Ortalama Kontrol Değeri 10.7"					
48/80 Dozu	Zaman (Dakika Olarak)				
	1'	3'	5'	10'	20'
0.2 mg/Kg	11.2"	10.5"	11.1"	12.6"	11.2"

Tablo. 12

3.o- Proteolitik Aktivite

	Dakika	Ortalama	Standart sapma	t değeri	P değeri
48/80 / Perfüzyon	10	% 105	± 19	1.27	0.30>P>0.20
	20	% 121	± 3	9.22	0.01>P>0.001
	30	% 95	± 15	0.844	0.50>P>0.40
	40	% 80	± 16	2.48	0.10>P>0.05
	50	% 86	± 3	0.65	0.60>P>0.50
	60	% 95	± 20	1.22	0.40>P>0.30
	80	% 90	± 34	0.46	0.70>P>0.60
	100	% 108	± 23	0.50	0.70>P>0.60

Tablo. 13

3.o- Fibrinojen

	Ortalama	Standart sapma
Kontrol	266 mg	± 18.6 mg
Test	293 mg	± 32.5 mg

Tablo. 14

3.0- Trombin Zamanı (Saniye olarak)

Kontrol	10'	20'	30'	40'	50'	60'	80'	100'
12.2	19.8"	22"	43"	27.5"	13.5"	12"	14"	13.5"

Tablo. 15

4.0- Proteolitik Aktivite

	Dakika	Ortalama	Standard Sapma
Histamin perfüzyon	5	% 110	± 12
	15	% 110	± 18
	30	% 98	± 11
	45	% 100	± 13
	60	% 121	± 12

Tablo. 16

4.0- Fibrinojen

	Ortalama	Standart sapma
Kontrol	203 mg	± 8.5
Test	175 mg	± 12.0

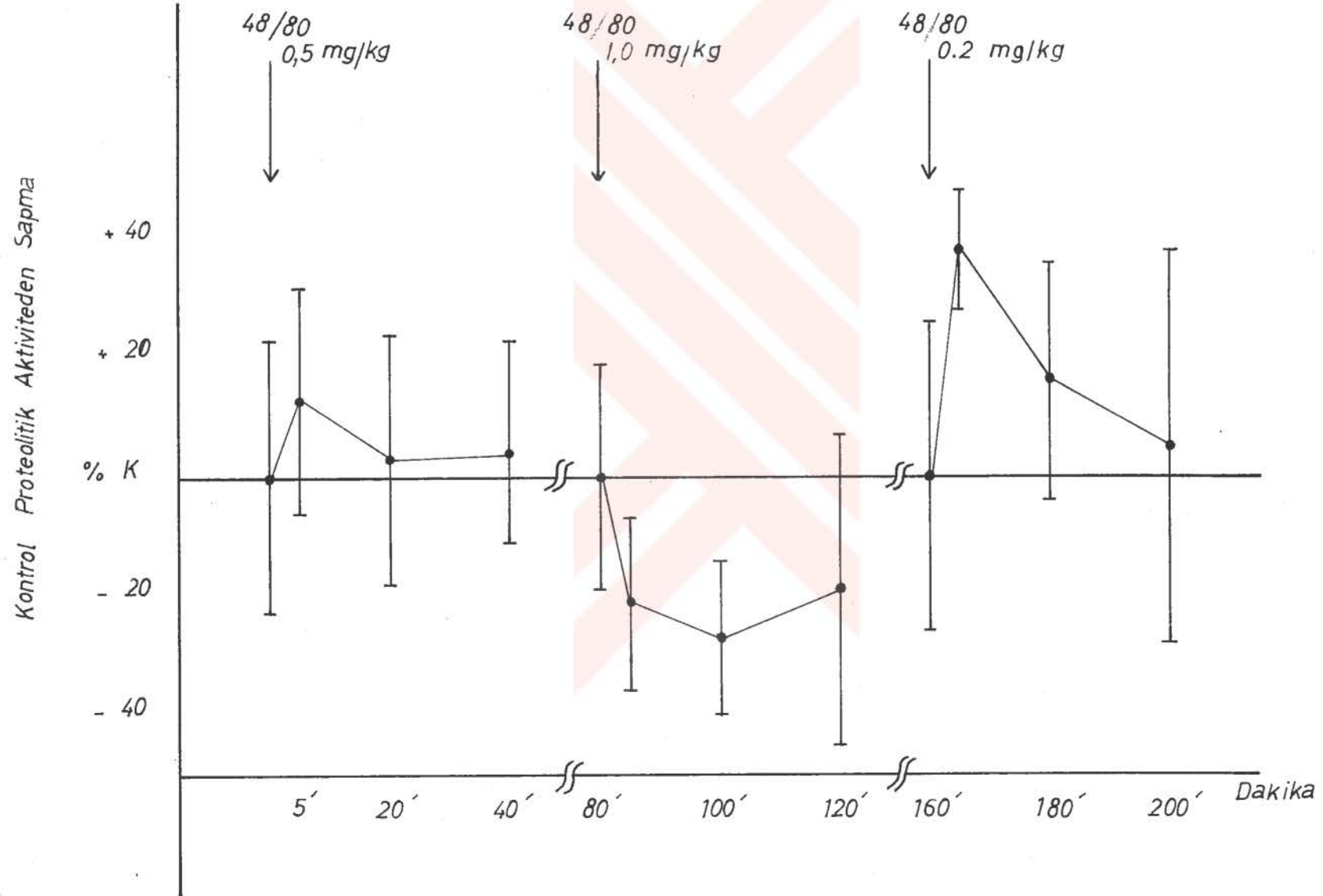
Tablo. 17

4.0- Ortalama Trombin Zamanı

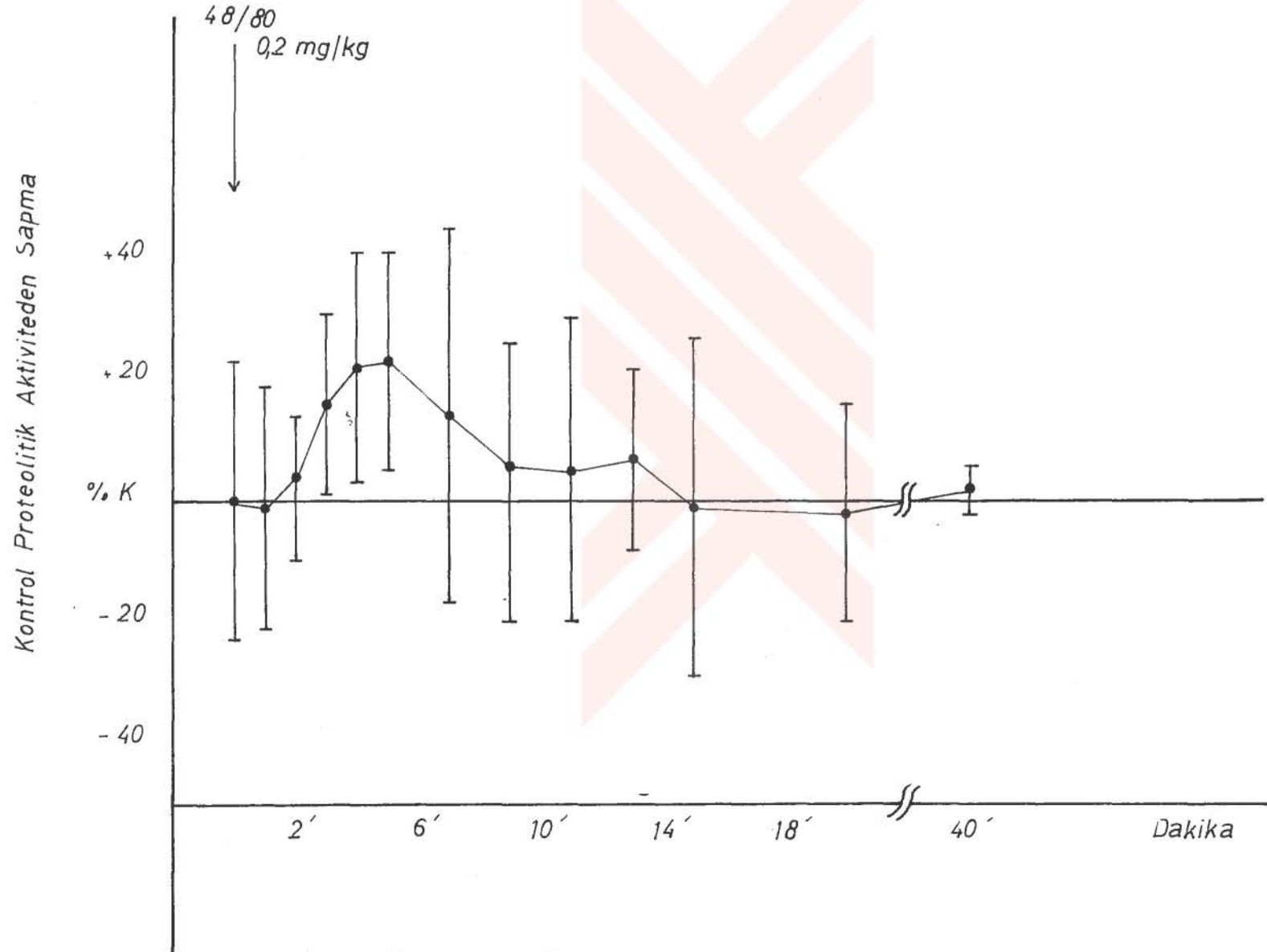
Kontrol	5'	15'	30'	45'	60'
10.5	11.5"	12.5"	11.5"	12.5"	12.2"

Tablo. 18

Köpeklerde (n=5) i.v verilen değişik doz 48/80 nin
proteolitik aktivite üzerine etkileri

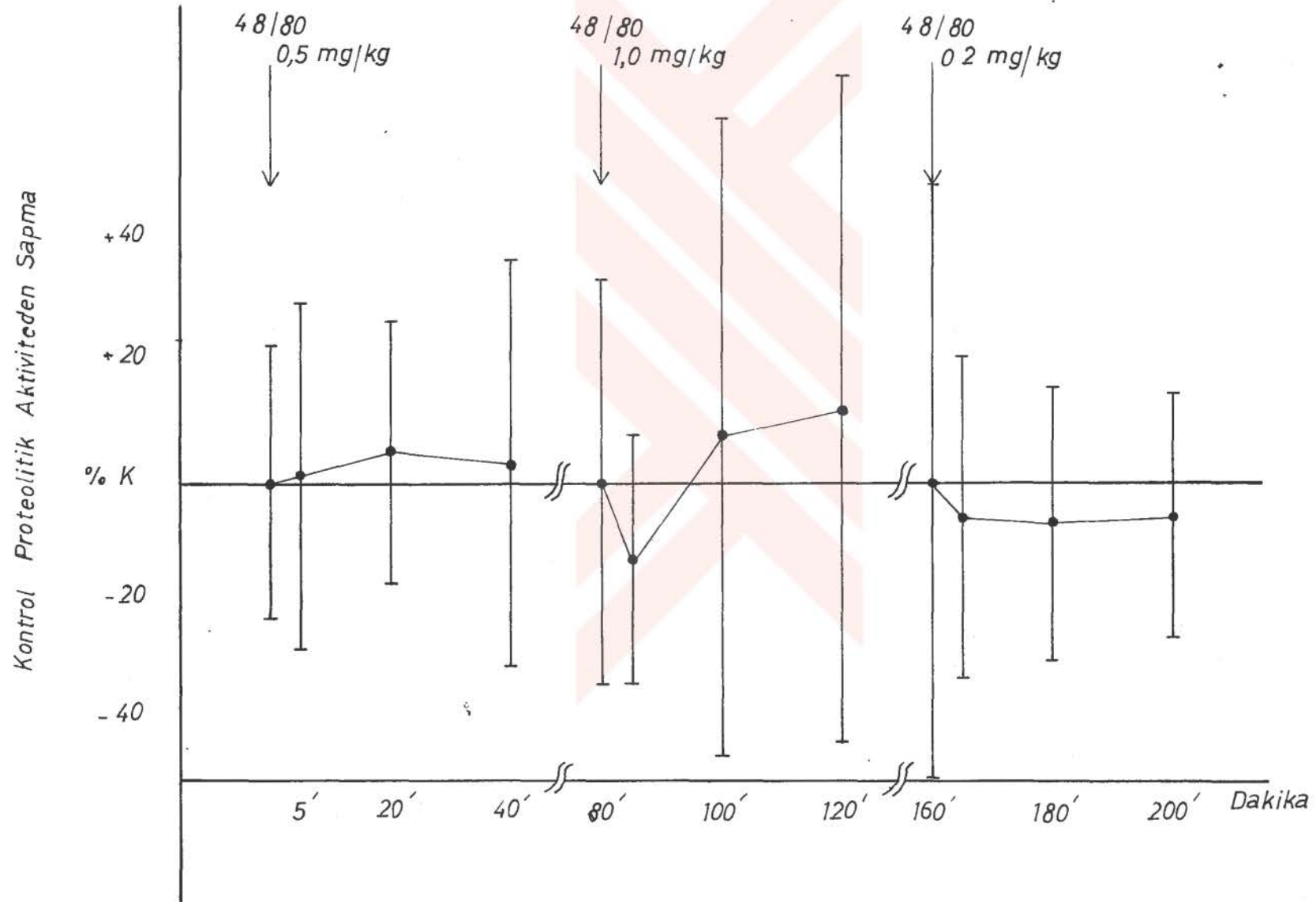


Köpeklerde (n=7) I.V. 0,2 mg/kg 48/80 nin
Proteolitik aktivite üzerine etkisi

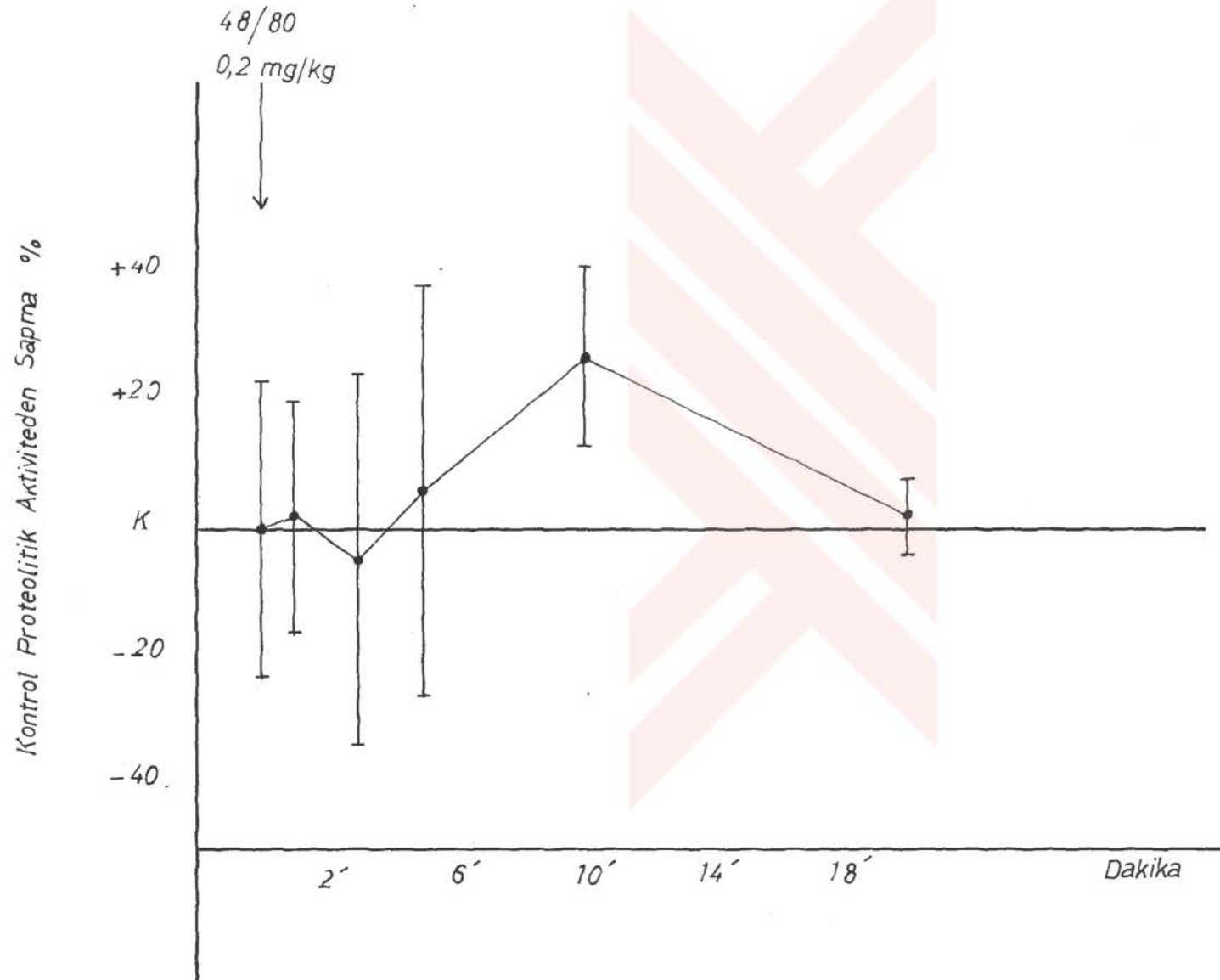


3 gün 48/80 ile histamin depoları boşaltılmış köpeklerde (n=7)

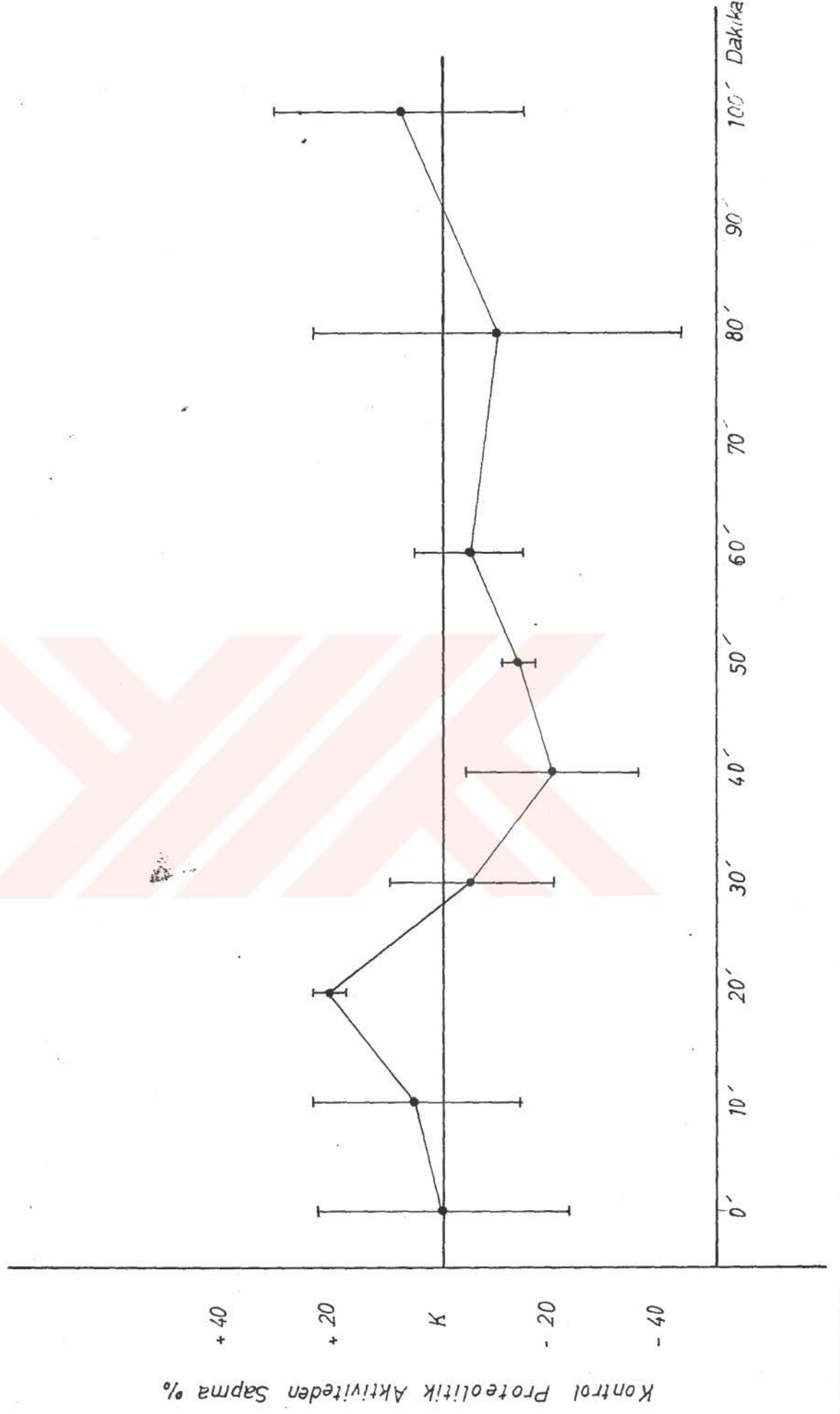
I.V. 48/80 nin proteolitik aktivite üzerine etkisi



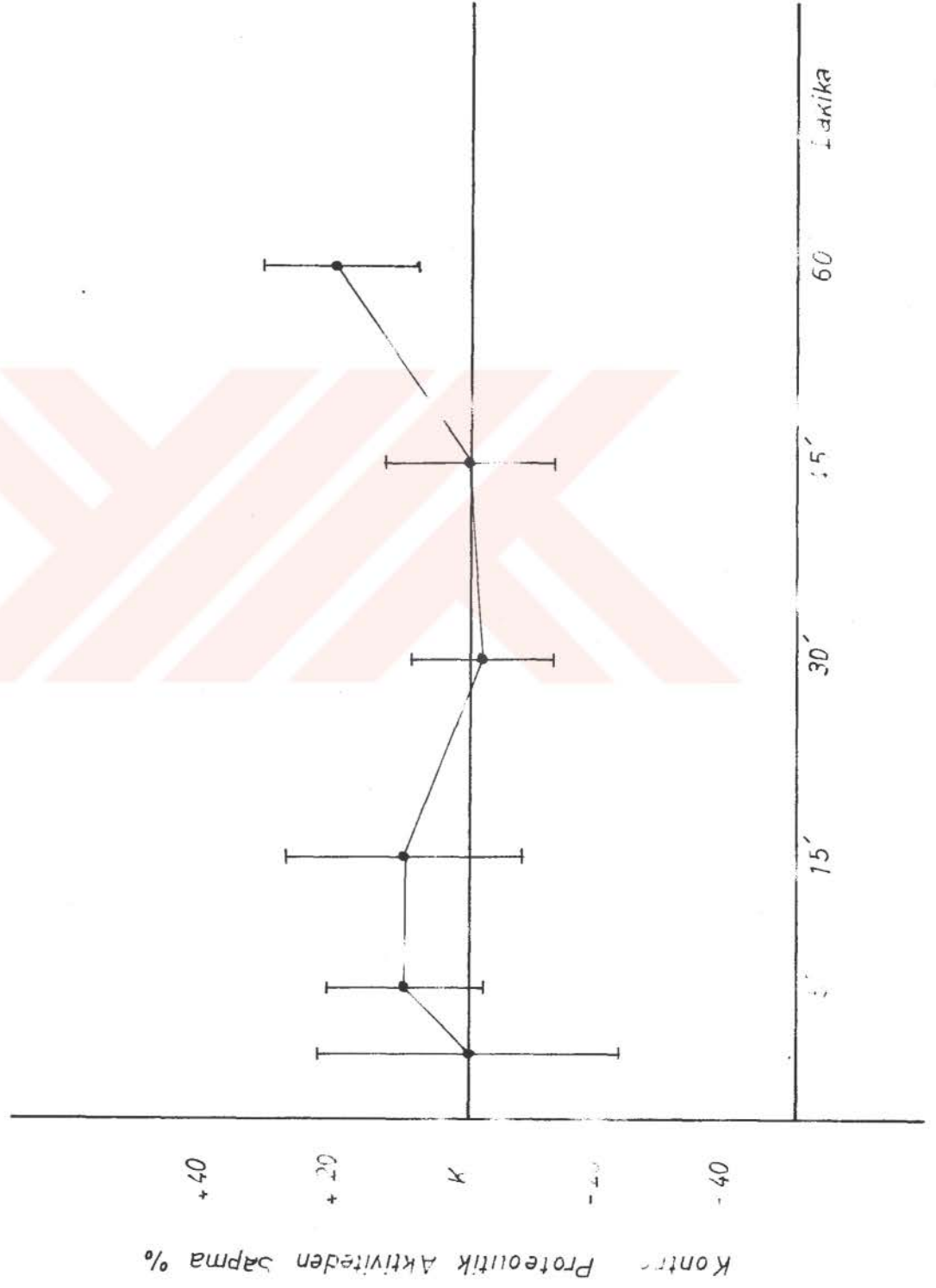
Akut 48/80 Depresyonundan Sonra 0,2 mg/kg 48/80 nin etkisi (n:7)



Devamlı 48/80 Perfüzyonu (30 X/kg/dak) (n=3)



Histamin Perfüzyonu (0,18/kg/dak) (n:3)



İ R D E L E M E

Bu bölüme başlarken, bu çalışmaya bizi götüren çeşitli nedenleri, bir kere daha gözden geçirmek ve aradığımız cevapları belirtmek faydalı olacaktır.

Fibrinolitik mekanizma ile, histamin arasında ilişki bulunması ihtimali kuvvetli olmakla birlikte, mast hücrelerinde proteolitik enzimler ve/veya aktivatörler birlikte inhibitörlerin de bulunabileceği ve bunlardaki özelliklerin fibrinoliz olayındaki bazı değişikliklerden sorumlu olabilecekleri ihtimali de çok önemlidir (166,167,168). Köpekte fibrinoliz mekanizması hakkında en geniş çalışmalardan biri Cho ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (66). Bu gruptan ilk hipotezi, fibrinolizde ortak mekanizmanın otonom transmitterler aracılığı ile olduğu şeklinde idi. Fakat bu görüşün yanlış olduğu anlaşılmıştır. Bu araştırmacılar bundan sonra tesadüfen seçilmiş 25 drog ile çalışmışlardır. Bunların arasında, histamin, serotonin, angiotensin, 48/80 gibi vasoaktif ilâçlar yanında, EACA, oksitosin, pitresin, digoksin gibi ilâçlar bulunmakta idi. Bunların bir kısmı, fibrinolitik aktiviteyi arttırırken bir kısmı da herhangi bir özellik göstermemiştir. Vasoaktivite kan basıncı ve hiperglisemi fibrinolitik aktiviteyi önemli surette etkileyen faktörler olarak ortaya çıkmıştır. Keza, hipofizektomi ve adrenalektomi gibi endokrin değişiklikler ve nefrektomi ve splenektomi gibi ameliyatlar da fibrinolitik mekanizmayı etkilememişlerdi. Böylece, fibrinolitik aktiviteyi arttıran bazı ilâçların mekanizmalarının temelinde bir ortak etken, veya bir ortak yol aranmış olup, histaminin bu faktör olduğu düşünülmüştür. Cho ve arkadaşları, histamin ile ilgili çalışmalarında Hogberg-Uvnas'ın (169,170) histamin açığa çıkaran maddelerde ortak bir özellik olarak NH_2 ve SH gruplarının bulunması gerektiği, bulgularına dayanmışlar ve her ne kadar plazma fibrinolitik aktivitesini arttıran ilâçların histamin deşarjı yaptığını göstermemişler ise de, histamin deşarjı yapan ilâçların etkili olmasının muhtemel olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, mast hücrelerinden histaminin açığa çıkması sırasında proteaz ve başka enzimlerin de açığa çıkacaklarını ileri sürmüşlerdir. Son zamanlarda köpeklerde çalışan Holemans (48,48a) perivasküler mast hücrelerinin fibrinolitik aktivatörden zengin olduğunu (168) ve kuvvetli mekanik etkilerin veya kuvvetli vasoaktif değişikliklerin lokal olarak histamin deşarjı yaptığını, bunun civardaki hücre zarları geçirgenliğini arttırarak hücrelerden fibrinolitik aktivatörlerin dışarı sızmasına yol açtığını bildirmiştir.

Burada mast hücreleri hakkında bazı bilgileri kısaca gözden geçirmek istiyoruz. 19.asır sonlarında, Von Recklinghausen mast hücrelerini tarif

ettikten ve Ehrlich bu hücreleri iyice inceleyip isimlerini verdikten sonra, bu hücreler ile çalışmalar başlamış fakat bugüne kadar bunlarda bulunan biyolojik aktif maddelerin incelemesi ve listesi tamamlanmamıştır. 1937'de Jorpes ve arkadaşları mast hücresi granülünde bulunan metakromatik komponentin heparin olduğunu göstermişlerdir. Bunun arkasında, mast hücrelerinin aynı zamanda, histamin depolaması ve deşarjı ile de ilgili olduğu gösterilmiştir (171,172). Fareler gibi bazı hayvanlar da mast hücreleri büyük miktarda serotonin (5HT) ihtiva etmektedir. Lagunof ve arkadaşları, 1963 yılında, mast hücrelerinde aktif bir proteolitik enzim bulunduğunu ve bunun kazein, albumin, insülin, moleküllerini hidrolize ettiğini göstermişlerdir (173). Bu enzimin, kimotripsin ile homospesifik bir esteraz aktivitesi olduğu gösterilmiştir. Mast hücresi kinazı adı verilen bu enzimin, mast hücrelerinin büyük granüllerinde, heparin ve histamin ile birlikte aktif bir şekilde bulunduğu bildirilmiştir. Yine aynı araştırmacı grubuna göre köpekte ve insanda mast hücrelerinde, tripsin ile homospesifik olan ikinci bir enzim daha bildirilmiş olup, buna mast hücresi triptazı adı verilmiştir ve bu enzimin fonksiyonu henüz tam olarak belirlenmemiştir.

Mast hücreleri özellikle iyi damarlanmış gevşek bağ dokusu içinde bulunurlar. Bu bağ dokusu, kan damarları çevresinde, sinirler çevresinde veya çeşitli duktüsler çevresinde yer alabildiği gibi seröz boşlukların yüzeyleri altında muköz membranlarda veya dermisde yer alabilir. Hücrelerde meydana gelen histamin, özel granüllerde heparin ile elektrostatik şekilde bağlanarak depo edilir. Böylece enzimlerin, tahrip edici etkisinden korunmuş olan histamin, mast hücresi parçalandığı veya daha hafif uyaranlara maruz kaldığı zaman, histamini salıverir. Mast hücrelerinin ömürlerinin 14 gün civarında olduğu hesaplanmıştır. Bu hücreler genellikle hayatlarına kan damarları civarından başladıktan sonra olgunlaştıkça, damarlardan uzaklaşıp civardaki bağ dokusu içine yerleşirler.

İlaçların etkilerini analiz etmeden önce, her hayvan deneyi ile ilgili olarak, güvenilir bir 0 çizgisi veya başlangıç değeri bulmak çok önemlidir. Yukarıda da bahsettiğimiz gibi, proteolitik aktiviteyi etkileyen pek çok faktör bulunduğundan, deneylerimizin en önemli safhalarından biri bu başlangıç değerlerinin güvenilir olmasını sağlamaktır.

Köpeklerimizde, uyanık iken, anestezi yapıldıktan sonra ve ameliyattan sonra her bir safhada 2 şer kere olmak üzere 6 kontrol kanı alınmış ve bunların ortalaması % 100 aktiviteyi temsil etmiştir. Köpek uyanık iken, elde edilen değerleri % 100 olarak kabul ettiğimizde nembital ile anesteziyi proteolitik aktiviteyi hemen hiç etkilenmediğini bulduk (ortalama % 98.3).

Daha ilginç olanı, damarların yani arter ve venlerin kanülle edilmesi ve çeşitli dokuların zedelenmesi ile birlikte giden ameliyat stressinin de proteolitik aktiviteyi arttırmadığını bulmuş olmamızdır (% 97.5). Aktivatörlerin damar endotellerinde büyük miktarda olduğu daha önceleri bildirilmiş olduğuna göre, bizim bu bulgumuz hakikaten ilginç olmaktadır (174,175,176).

Herhangi bir farmakolojik deneyde elde edilen bulguların uygulanan ilâca bağlı olup olmadığını göstermek için, genellikle takip edilen yol, bir doz-cevap eğrisi yapılmasıdır. Böyle bir eğrinin 48/80 ile çalışırken hazırlanması oldukça güçlük arz etmektedir; çünkü tam hayvanlarda 0,5 mg/Kg verildiğinde mast hücrelerinden çok büyük bir histamin deşarjı olmakta ve hayvan 2 saate kadar sürebilen bir şok devresine girmektedir. Dolayısı ile meydana gelen proteolitik aktivite değişiklikleri yeterli bir şekilde değerlendirilememektedir.

48/80 ile çalışılırken 2.ci bir problem de bu ilâç ile mast hücresi popülasyonunda meydana gelen parçalanma veya tahribin kantitatif değerlendirilememesidir.

Bugünkü bilgilere göre, genellikle ilk doz verildiğinde yaşlı hücreler tamamen parçalanıp harap olmakta; genç hücreler ise iki çeşit değişim gösterebilmektedirler. Bunların bir kısmı, granüllerini kaybetmekte, yani parçalanmadan heparin ve histamin deşarjı yapmakta; diğer bir kısmı ise bu ilk doza direnç göstermekte ve ancak ikinci veya 3.cü dozda histamini salıvermektedirler.

Bu faktörler göz önüne alınarak birinci deney serisi düzenlenmiş olup burada tam hayvanlara, düzenli aralarda üç ayrı dozda 48/80 maddesi verilmiştir. Literatüre uygun olarak deneylerimizde etkili ilk doz olarak 0.5 mg/Kg dozu seçmiş bulunuyoruz. Bu doz, arter basıncındaki düşmeyi kanıtladığı gibi oldukça iyi bir histamin deşarjı yapmaktadır. Bulgularımıza göre bu sırada histamin ve heparin deşarjı yanında, ayrıca bir miktar proteolitik enzim ve/veya aktivatör veya inhibitör mast hücrelerinden deşarjı olabilmekte veya daha evvel de sözünü ettiğimiz şekilde bu sonuncu maddelerin deşarjı histamin liberasyonu sonucu meydana gelen şiddetli vasoaktif değişikliğin venöz endotellerden bu aktivatör veya inhibitörlerin deşarjına yol açması şeklinde olabilmektedir.

Fibrinolitik değişikliğin en anlamlı olduğu zaman 5.ci dakikaya rastlamakta olup bu sırada ortalama aktivite % 113 bulunmuştur. 20' dakikada değerler başlangıç düzeyine dönmekte olup bu sırada ortalama aktivite % 103 tür. İlk doz olarak 0,5 mg/Kg 48/80 verip büyük bir dozu büyük kan basıncı değişik-

liklerinden korkmadan vermek mümkündür zira, ilk doz ile mast hücrelerindeki histaminin büyük bir kısmı esasen salıverilmiş bulunmaktadır. Bu nedenle ikinci doz olarak 1 mg/Kg 48/80 uyguladık. Bunun ile daha az miktarda heparin-histamin deşarjı meydana gelmiştir. Bu dozdan sonra çok ilginç olarak 5 dak. proteolitik aktivite % 79'a inmiş, 20. dakikada % 73, 40.dakikada % 81 bulunmuştur. Bundan her ne kadar histamin yine de vasoaktif değişiklikler yapabilecek miktarda salıverilse de proteolitik aktivitede artma değil tersine bir azalma olduğu sonucunu çıkarabiliriz. Şu halde bu yüksek doz ile geriye kalan mast hücreleri etkilendiği sırada, belki de bu hücrelerden inhibitör maddeler de salıverilebilmektedir. Bir diğer imkân da, 48/80 maddesinin, direkt moleküler bir inhibisyon yapabilmesi olasılığıdır. Üçüncü olarak denediğimiz doz, 0,2 mg/Kg bunun daha fazla bir histamin deşarjı yapmadığı kan basıncında bir düşme olmaması ile kanıtlanmıştır. Bunun ile beraber bu deneyde 5.dk. sonra % 138, 20' sonra % 116 ve 40' sonra % 105 olarak bulunmuştur. Görünüşe göre bu son 48/80 dozu ile artık vasoaktif değişiklikler meydana getirilmemekte; hücreler içinde gerekli ilâç eşiği aşılmakta ve daha önce histamin-heparin ve inhibitör salgısı yapmış olan hücrelerde bu defa geriye kalan aktivatörlerin ve/veya proteolitik enzimlerin deşarjı meydana gelmektedir. Bu birinci grub deneylerimizin sonunda histaminin proteolitik aktivite mekanizması üzerine direkt bir etkisi olduğu şüpheli bulunmaktadır. Bulgularımıza göre ilâç dozuna bağlı bir cevap elde edilememektedir. Bu nedenle tek dozda 0,2 mg/Kg verilerek çalışılmıştır. Zira, maksimum aktiviteye 4. ve 5. dakikalar arasında ulaşılmakta ve bu sırada, aktivite düzeyleri % 122 ve % 123 bulunmakta olup, bu değerler diğer deney dizimizde 0,5 mg/Kg gibi daha yüksek bir dozla elde edilen değerlerden daha yüksek olmaktadır. Bütün deney süresince, fibrinogen düzeyleri değişmemiş olup, bu da in vivo bir proteolitik olay olmadığını göstermektedir. Nisbeten düşük olan bu dozla yani 0,2 mg/Kg verilmesi ile kan basıncında hafif bir düşme olduğuna göre açığa çıkan histamin miktarı nisbeten daha azdır ve bunun ile endotel cidarından aktivatörlerin veya proteolitik enzimlerin deşarjı için gerekli olan kuvvetli vasoaktif değişikliklerin sağlandığı şüphelidir. Böylece, bu ilk bulgularımızdan, mülhem olarak, 48/80 maddesinin proteolitik aktivite üzerine direkt moleküler bir etkisi olup olmadığını araştırdık. Bunun için şema 2 a'da gösterildiği gibi daha önce histaminden fakir kılınmış köpekler kullanılmıştır.

Bu deney şartlarına göre, pratik olarak bu köpeklerin mast hücresi popülasyonunun tamamen tahrip edildiği ve heparin-histamin deposunun boşalmış olduğu kabul edilebilir. Sonuçlar göstermektedir ki, 48/80 maddesi direkt olarak proteolitik aktivite üzerine inhibitör veya aktivatör bir etki yapmamaktadır. Bunu ayrıca in vitro çalışmalarla da kontrol etmiş bulunuyoruz. Fibrin tabakalarını

trombin ile pıhtılaştırmadan önce, 48/80 maddesi ilâve ettikten sonra yapılan incelemelerde, proteolitik aktivite üzerine direkt bir etki olmadığını saptamış bulunuyoruz. Yine in vivo deney sırasında kanda yapılan fibrinojen tayinlerinde kontrol değerlerinin 348 mg %, ve deney değerlerinin % 334 mg olduğunu saptamış bulunuyoruz ve dolayısı ile, 48/80 maddesinin in vivo proteolize etkisi olmadığını görüyoruz. Trombin zaman değerlerine gelince, birinci değerler hariç, diğerleri normal bulunmuştur. Burada 48/80 ilk dozunu takiben kontrol grubunda trombin zamanı 11,5" iken ilâçlı grupta bu zaman 22" bulunmuş olup bu da önemli bir histamin heparin deşarjının vuku bulduğunu göstermektedir. Mast hücrelerinin proteolitik aktivite mekanizmasındaki rolünü gösteren bir diğer bulgu serisi de tek doz ve 0,2 mg/Kg verilen 48/80 maddesi ve meydana getirilen akut fakirleştirme (depletion) deney ile gösterilmektedir. Deneylerimizde, ilk saatler zarfında depletion elde edildiğinde muayyen bir miktar mast hücresi popülasyonu tahrip edilmektedir. Bunlar genellikle yaşlı popülasyon olup, kan damarlarının en uç bölgelerinde bulunmaktadır. Geriye kalan sağlam mast hücreleri ise daha sonra verilen bir 48/80 dozuna duyarlı bulunmaktadır. Bu müteakip doz neticesinde kan basıncında önemli bir değişiklik olmayışı büyük bir histamin deşarjı vuku bulmadığını göstermekle beraber, kalan hücrelerin bu sırada harap olması mütaddır ve 10 dakikada % 127 ye varan proteolitik aktivite oluşumu bu olayı kanıtlamaktadır. Burada bu deneyin incelenmesinde, bu intakt veya sağlam kalmış mast hücrelerinden belirli bir noktada proteolitik bir enzim veya bir aktivatörün salındığı kabul edilebilir. Yine bu arada ilâve edelim ki, fibrinojen ve trombin zamanı testleri kontrol değerlerinden önemli farklar göstermemişlerdir. Bundan sonra, kan basıncında önemli değişiklik meydana getirmeden devamlı surette, histamin, proteolitik enzim ve aktivatör ve inhibitör deşarjını mast hücrelerinden sağlayacak şekilde bir deney düzenlenmiştir. Bunun için 48/80 in 2 saat süre ile damar içine, damla damla perfüsyonu yapılmış ve sonuçlar kan basıncı değiştirmeksizin bir miktar histamin deşarjı olduğunu göstermiştir. Bunun en iyi ispatını histamin ile birlikte heparin deşarjı olduğunu gösteren trombin zamanı deneyinin sonuçları vermiştir. Gerçekten, başlangıçta kontrol değeri 12,2" iken perfüsyonun 10' dak. trombin zamanı 19,9" 20 dak. 22" ve 30" dak. 43" yükselmiştir. Bu çok anlamlı artmalar, deney hayvanın kanında o sırada çok önemli miktarda heparin dolaşmakta olduğunu göstermektedir. Perfüsyonun 40. dakikasında dahi, trombin zamanının 27,5" gibi yüksek bir düzeyde kaldığı görülmektedir. Bu bulgular histaminin de doğrudan doğruya proteolitik aktiviteyi etkilemediğini göstermektedir, zira hücrelerden deşarj trombin zamanı ile de kanıtlandığı gibi, perfüzyonun 30. dakikasında meydana geldiği halde, o sırada bulunan proteolitik aktivite en yüksek seviyede değildir. Yeni bir başka delil, deşarj 20 ve 40 dakikalarda aynı olduğuna göre, histaminin aynı dere-

cede salgılanmış olması ve bu dakikalarda bulunan proteolitik aktivitenin birbirine benzer olması gerekirken, durum böyle değildir. 20" dakikada proteolitik aktivite % 121 ve 40' dakikada % 80 bulunmuştur. Burada aynı zamanda hem aktivasyon hem de inhibisyon yapan bir olayın bulunduğu intibai edinilmektedir.

Bunun sonucu olarak da, mast hücrelerinin aynı zamanda histamin heparin proteolitik enzim aktivatör ve inhibitörleri birlikte salıverdiğini düşünmek mümkündür. Heparinin proteolitik aktiviteyi inhibe ettiği görüşü de çok sağlam olarak kanıtlanmış bir görüş değildir.

Devamlı histamin perfüzyonu kullanarak yapılan son deneyimizde histaminin doğrudan doğruya proteolitik aktiviteyi etkilemediğini göstermektedir. Bu deney sırasında histamin ile çalışmanın bazı güçlükleri de ortaya çıkmaktadır. Perfüzyon sırasında verilen histaminin bir kısmı, çok muhtemelen devamlı bir şekilde parçalanmakta ve geriye kalan aktif maddenin miktarı tam olarak bilinmemektedir. Perfüzyon süresi uzatıldığı zaman ise, histaminin sekonder etkileri tabloya karışmakta ve proteolitik aktivitede meydana gelen değişiklikleri doğrudan doğruya histamine bağlamak çok güçleşmektedir.

Şu halde, sonuç olarak köpekte histamin doğrudan doğruya proteolitik aktivite mekanizması ile ilgili olduğunu gösteren delilleri deneylerimizde elde edememiş bulunmaktayız. Fakat mast hücrelerinin histamin ve heparin yanında proteolitik aktiviteyi etkileyebilecek miktarlarda proteolitik enzimlerin aktivatörlerini ve inhibitörlerini salıverdiğini söylemenin mümkün olduğunu zannediyoruz.

Sonuç

Sonuç olarak, fibrinolitik sistem aktivasyonunun histaminden ileri geldiğini bildiren Hølemans ve Cho'nun (65-66) bu görüşlerine katılmakta güçlük çektiğimizi belirtmek isteriz. Deneylerimizde, histaminin kan basıncını etkilenmeyecek miktarlarda zerkedildiğinde fibrinolitik aktiviteyi arttırmadığını saptanmış bulunuyoruz.

48/80 maddesiyle deneylerimize gelince, bu ilacın doğrudan doğruya moleküler bir etkisi olmamakla beraber, mast hücrelerinden gerek aktivatörlerin ve gerek inhibitörlerin salınmasına sebep oluşu sonucu fibrinolizde aktivasyon veya inhibisyon yapabilmektedir. Bulgularımıza göre, 0.2 mg/kg gibi küçük dozlarda aktivatör salınması ön planda olmakta; buna karşılık 1 mg/kg gibi yüksek dozlarda inhibitör salınması önem kazanmaktadır. Bu nedenle, 48/80 maddesinin yüksek dozda verilmesinin mutlaka fibrinolitik aktivite artmasını gerektirmeyeceği anlaşılmaktadır.

Özet

Bu çalışma ile neyi gösterdiğimizi veya ne öğrendiğimizi özetliyelim. Acaba fibrinoliz bilgisine bir katkımız oldu mu ?

1) Fibrinolitik sistemin çeşitli faktörlerini ölçmek için kullanılan metodlar yetersiz olup, bu kompleks mekanizmayı aydınlatma ümitlerimizi gerçekleştirmede bize yardımcı olamamaktadır. İn vitro elde edilen sonuçların, in vivo durumu yansıtmadıkları aşikârdır. Bu metodlar daha çok teorik spekülasyonlar yapmamıza yardım etmektedirler.

2) Histamin kan basıncını değiştirmeyen dozlarda fibrinolitik aktivite üzerine doğrudan doğruya etki yapmamaktadır.

3) 48/80 maddesi kendi başına fibrinoliz üzerine moleküler bir etki yapmamaktadır. Bununla beraber, uygulanan doza bağlı olmak üzere mast hücrelerinden aktivatörler ve inhibitörler salınmasına yol açarak fibrinolitik aktivitede artma veya azalmaya sebep olmaktadır. 0.2 mg/kg gibi küçük dozlar, büyük miktarda aktivatör salınmasına yol açarken, 1.0 mg/kg dozu daha çok inhibitör deşarjına yol açmaktadır.

Summary

It now seems appropriate to establish what exactly has been learned or demonstrated by this work. Has something been added to the field of fibrinolysis ? To summarize one can say the following:

1) Methods used to evaluate the different components of the fibrinolytic system are most inadequate, and are a strong limiting factor to our hopes of enlightening this complex mechanism. It appears highly improbable that results obtained in vitro will reflect the actual in vivo situation. But rather, we must assume that they allow us to speculate rather theoretically.

2) Histamine by itself, at doses not affecting blood pressure will exert no direct immediate effect on fibrinolytic activity.

3) Compound 48/80 by itself has no direct molecular effect on fibrinolytic activity, but rather, through the release of activators and inhibitors from mast cells, will exert either an activating or inhibiting action, according to the dose used. Low doses, such as 0.2 mg/kg will achieve a high degree of activator release, while doses of 1.0 mg/kg will result in higher release of inhibitors from mast cells.

L I T E R A T U R

- 1- Morgagni J.B.
De Sedibus et causis Morborum per Anatomen indagatis .
Second Edition 1761.
- 2- Hunter J.
Treatise on the Blood Inflammation and Gunshot Wounds.
London: G. McNicoll 1794.
- 3- Dastre A.
La Fibrinolyse dans le sang.
Arch. de physiol. norm. et path. 5:661-663 1893
- 4- Denys P.S. et Marbaix De H.
Les peptonisations provoquées par le chloroforme.
Cellule 5:197 1889.
- 5- Delezenne C. et Pozerski E.
Action du serum sanguin sur la gélatine en présence de chloroforme.
Comp. rend. Soc. de Biol. 55:327-329 1903.
- 6- Hedin S.G.
On the presence of proteolytic enzyme in normal serum of ox.
J. Physiol. 30:195-201 1903.
- 7- Opie E.L. and Barker B.I.
Leucoprotease and anti-leucoprotease of mammals and birds.
J. Exper. Med. 9:207-221 1907.
- 8- Morawitz P.
Uber einige post mortale Blutverandeungen.
Beith. z. chem. Physiol. W. Path. 8:1-14 1906.
- 9- Dale H.H, and Walpole G.S.
Biochem. J. 10:331 1916.
- 10- Nolf P.
Arch. Int. Physiol. 3:1 1905.

- 1- Nolf P.
Arch. Int. Physiol. 6:1 1908a.
- 12- Nolf P.
Arch. Int. Physiol. 6:1 1908b.
- 13- Nolf P.
Contribution a l'étude de la coagulation du sang : la fibrinolyse.
Arch. Int. Physiol. 6:306 1908c.
- 14- Nolf P. and Adant M.
In: Fourth Congress of the European Society of Hematology. Amsterdam 1953.
- 15- Schmitz A.
Hoppe-Seyl. Z. 250:37 1937.
- 16- Tillett W.S. and Garner R.L.
Fibrinolytic activity of hemolytic streptococci.
J. Exper. Med. 58:485-502 1933.
- 17- Milstone H.
Factor in normal human blood which participates in streptococcal fibrinolysis.
J. Immunol. 42:109-116 194y.
- 18- Kaplan M.H.
Nature and role of lytic factor in hemolytic streptococcal fibrinolysin.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 57:40-43 1944.
- 19- Christensen L.R.
Streptococcal fibrinolysis: proteolytic reaction due to serum enzyme activated by streptococcal fibrinolysin.
J. Gen. Physiol. 28:363-383 1945.
- 20- Christensen L.R. and MacLeod C.M.
Proteolytic enzyme of serum: characterization, activation and reaction with inhibitors.
J. Gen. Physiol. 28:559-583 1945.
- Cohn E.J. et al.
Preparation and properties of serum and plasma proteins.
J. Am. Soc. Chem. 68:459-475 1946.

- 22- Geiger W.B.
J. Immunol. 69:597 1952.
- 23- Mullertz S. and Lassen M.
An activator system in blood indispensable for formation of plasmin by SK.
Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y. 82:264 1953.
- 24- Astrup T. and Darling S.
Contribution to chemistry of prothrombin.
Acta Physiol. Scandinav. 5:97-102 1943.
- 25- Astrup T. and Permin P.M.
Fibrinolysis in animal organism.
Nature(London) 159:681 1947.
- 26- Demuth F. and Von Riese I.
Eiweisstoffwechsel normaler und bösartiger Gewebe in vitro.
Biochem. Ztschr. 203:22-49 1928.
- 27- Mullertz S.
Mechanism of activation and effect of plasmin in blood.
Acta Physiol. Scandinav. 38:suppl.130 1956.
- 28- Mullertz S.
Activation of plasminogen.
Ann. New York Acad. Sci. 68(1):38 1957.
- 29- MacFarlane R.G. and Biggs R.
Observations on fibrinolysis. Spontaneous activity associated with surgical operation trauma, etc.
Lancet 2:862 1946.
- 30- Ogston D. McDonald G.A. Fullerton H.W.
The influence of anxiety in tests of blood coagulability and fibrinolytic activity.
Lancet Sept.15 1962.
- 31- Biggs R. and MacFarlane R.G.
Observations on fibrinolysis. Experimental production by exercise or adrenalin.
Lancet 402 1947.

- 32- Ogston D. and Fullerton H.W.
Changes in fibrinolytic activity produced by physical activity.
Lancet Sept.30 1961.
- 33-Cash J.D.
Effect of moderate exercise on the fibrinolytic system in normal young men and women.
Brit. Med. J. 2:502-506 1966.
- 34- Pohala N.J. Yen C.Y. and Singher H.O.
Effect of neuroactive drugs on production of fibrinolytic activity.
Am. Journ. Physiol. 202(5):984 1962.
- 35- Genton E. Kern F. and von Kaulla K.
Fibrinolysis induced by pressor amines.
Am. J. Med. vol.31 Oct. 1961.
- 36- Cohen R. Epstein S.T. Cohen L.S. and Dennis L.H.
Alterations of fibrinolysis and blood coagulation induced by exercise and the role of beta adrenergic receptor stimulation.
Lancet ii:1264 1968.
- 37- Garder A.M.A. Clarkson A.R. and Cash J.D.
The plasminogen activator and coagulation factor VIII response to adrenaline, nor-adrenaline, isoprenaline and salbutamol in man.
Thromb. Research :211 1973.
- 38- Fantl P. and Simon S.E.
Fibrinolysis following electrically induced convulsions.
Australin J. Exper. Biol. and Med. Sci. 26:521 1958.
- 39- Tagnon J.J. et al.
The occurrence of fibrinolysis in shock, with observations on the prothrombin time and the plasma fibrinogen during hemorrhagic shock.
Am. J. Med. Sci. 211:88 1946.
- 40- Kwann H.C. Lo R. and McFadzean J.S.
Production of plasma fibrinolytic activity within veins.
Clin.Sci. 16:241 1957.
- 41- Kwaan H.C. Lo R. and McFadzean J.S.
Lysis of thrombi experimentally produced within veins.
Brit. J. Haemat. 4:51 1958.

- 42- Kwaan H.C. Lo R. and McFadzean J.S.
Inhibition of plasma fibrinolytic activity by exercised ischaemic muscles.
Clin. Scie. 17:361 1958.
- 43- Kwaan H.C. and McFadzean J.S.
Plasma fibrinolytic activity induced by ischaemia.
Clin. Sci. 15:245 1956.
- 44- Soulier J.P. et Koupernik C.
Constance de la fibrinolyse au cours du choc acétylcholinique.
Sang 19:362 1948.
- 45- Eichenberger E.
Fibrinolyse nach intravenöser injektion bakterieller pyrogene.
Acta Norveg. 9:202 1955.
- 46- Von Kaulla K.
Intravenous protein-free pyrogen. A powerful fibrinolytic agent in man.
Circulation 17:187 1958.
- 47- Von Kaulla K.
Fibrinolysis induced in humans by bacterial pyrogens.
In: Proc. Sixth International Congr. Inter. Soc. Haemat. New York :454 1958.
- 48- Weiner M. Redisch W. and Steele J.M.
Occurrence of fibrinolytic activity following administration of nicotinic acid.
Proc. Soc. Exper. Med. 98:755 1958.
- 49- De Nicola P. Gibelli A. and Turazza G.
Comparative research on the fibrinolytic action of different nicotinic acid derivatives following their prolonged administration into rabbits.
Thromb. et Diath. Haemorrh. Vol. XV no 1/2 1966.
- 50- Kwaan H.C. Lo R. and McFadzean J.S.
Production of plasma fibrinolytic activity in vivo by serotonin (5 hydroxy-tryptamine) creatine sulphate.
Clin. Sci. 16:241 1957.
- 51- Fearnly G.R. Chakrabarti R. and Vincent C.T.
Lancet 2:622 1960.

- 52- Fearnly G.R. Chakrabarti R.
Lancet 2:128 1962.
- 53- Fearnly G.R. Chakrabarti R.
Acta Cardiol. Brux. 19:1 1964.
- 54- Fearnly G.R. Chakrabarti R.
Acta Cardiol. Brux. 19:7 1964.
- 55- Todd A.S.
The histological localization of fibrinolysin activator.
Journ. Path. Bact. 78:281 1959.
56. Astrup T. and Preden K.C.
Isolation and purification of a tissue plasminogen activator and its comparison with urokinase.
Biochem. Vol 8 No 1 1969.
- 57- Aoki N. and von Kaulla K.
The extraction of vascular plasminogen activator from human cadavers and a description of some of its properties.
Am. J. Clin. Path. 55:171 1971.
- 58- Todd A.S.
Localization of fibrinolytic activity in tissues.
Brit. Med. Bull. 20:210 1964.
- 59- Warren B.A.
Fibrinolytic properties of vascular endothelium.
Brit. Journ. Exper. Path. 44:365 1963.
- 60- Fearnly G.R. and Ferguson J.
Arterio-venous differences in natural fibrinolysis.
Lancet 11:1040 1957.
- 61- Chakrabarti R. Birks P.M. and Fearnly G.R.
Origin of blood fibrinolytic activity from veins and its bearing on the fate of venous thrombi.
Lancet 1:1288 1963.

- 62- Naimi S Goldstein R. and Proger S.
Studies of coagulation and fibrinolysis of the arterial and venous blood in normal subjects and patients with atherosclerosis.
Circulation 27:904 1963.
- 63- Holemans R.
Enhancing the fibrinolytic activity of the blood by vasoactive drugs.
Med. Exp. 9:5.12 1963.
- 64- Holemans R.
Vasoactive changes mediate the production of increased fibrinolytic activity in dogs.
Lancet 2:364 1963.
- 65- Holemans R. Mann D.S. Mlynarczyk E.J. and Potezs B.J.
Drug induced plasminogen activator release.
Thromb. Diath. Haemorrh. 18:298 1967.
- 66- Cho M.H. and Choy W.
Induction of increased fibrinolytic activator in plasma by various drugs.
Thromb. et Diath. Haemorrh. Vol:XI 372-391 1964.
- 67- Tanser A.R. and Smellie H.
Observations on adrenaline induced fibrinolysis in man.
Clin. Scien. 26:375-380 1964.
- 68- Cash J.D. Woodfield D.G. Allen A.G.E.
Adrenergic mechanism in the systemic plasminogen activator response to adrenaline in man.
Brit. Journ. Haemat. 18:487 1970.
- 69- Akokan G.
Doğentlik tezi 1971.
- 70- Bidwell E. and MacFarlane R.G.
Observation on fibrinolysis.
Biochem. J. 49:XIII 1951.
- 71- Kwaan H.C. McFadzean A.J.S. and Cook J.
Plasma fibrinolytic activity in cirrhosis of the liver.
Lancet 1955.

- 72- Mole R.H.
Fibrinolysin and the fluidity of the blood post-mortem.
Path. Bacteriol. 60:413 1948.
- 73- Ablondi F.B. and Hagan J.
Stability of the activator of bovine plasminogen.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 93:414 1956.
- 74- de Renzo E.C.
Activation of plasminogen by streptokinase.
In: Conference on thrombolytic agents. Editor Roberts H.R. Geratz J.D. Chapel Hill. University of North Carolina Press.
- 75- Alkjaersig N. Fletcher A.P. and Sherry S.
The activation of human plasminogen. II- A kinetic study of activation with trypsin, urokinase and streptokinase.
Journ. of Bioc. Chem. 233:86 1958.
- 76- Kline D.L. and Fishman J.B.
Improved procedure for the isolation of human plasminogen.
Journ. Biol. Chem. 236:3232 1961.
- 77- Summaria L. Chung Mei Ling Groskoff W. and Robbins K.C.
The active site of bovine plasminogen activator. Interaction of streptokinase with human plasminogen and plasmin.
Journ. Biol. Chem. 243:144 1968.
- 78- Takada A. Takada Y. and Ambrus J.L.
Pro-activators in the fibrinolysin system.
Thromb. Diath. Haemor. Suppl. 47:37 1971.
- 79- Takada Y. and Ambrus J.L.
Comparative study of pro-activators of the fibrinolytic system in three mammalian species.
Thromb. Diath. Haem. 21:594 1969.
- 80- MacFarlane R.G.
Development of ideas of fibrinolysis.
Brit. Med. Bull. Vol 20 No 3 1964.
- 81- Robbins K.C. and Summaria L.
Biochemistry of fibrinolysis.
Thromb. Diath. Haem. Suppl. 47:9 1971.

- 82- Robbins K. Summaria L. Hsieh B. and Shah R.
Mechanism of activation of human plasminogen to plasmin. The peptide chain
of human plasmin.
Journ. Biol. Chem. 242:2333 1967.
- 83- Fletcher A.P. Bierderman O. and Moore D.
Abnormal plasminogen plasmin system activity in patients with hepatic
cirrhosis:its causes and consequences.
Journ. Clin. Invest. 43:681-695 1964.
- 84- Albrechtsen O.K.
The fibrinolytic agents in saline extracts on human tissues.
Scand. Journ. Clin. Lab. Invest. 10:91-96 1958.
- 85- Albrechtsen O.K.
The fibrinolytic activity of animal tissues.
Acta Physiol. Scand. 39:284 1957.
- 86- ~~Albrechtsen~~ O.H.
The fibrinolytic activity of human tissues,
Brit. J. Haemat. 3:284 1957.
- 87- Astrup T and Stage A.
Isolation of asoluble fibrinolytic activator from animal tissue.
Nature 170:929 1952.
- 88- Sandberg H. Razai M. Bangavan T.T. Bellet S. Feinberg L.J. and Hunter S.
Organ distribution of fibrinolytic activity in man.
J. Lab. Clin. Med. 61:592 1963.
- 89- White W.F. Barlow G.H. and Mozen M.M.
Biochemistry 5:2160 1966.
- 90- Lesuk A. Terminiellef. and Traver J.H.
Crystalline human urokinase, some properties.
Science 147:830 1965.
- 91- Kucinski C.S. Fletcher A.P. and Sherry S.
Effect of urokinase anti-serum on plasminogen activators demonstration of
immunological dissimilarity between plasminogen activator and urokinase.
Journ. Clin. Invas. 47:1238-1253 1968.

- 92- Bernik M.B. and Kwaan H.C.
Origin of fibrinolytic activity in cultures of human kidney.
Journ. Lab. Clin. Med. 70:560 1967.
- 93- Blatt W.F. Segal H.S. and Gray J.L.
Purification of streptokinase and human plasmin and their interaction.
Thromb. Diath. Haem. 11:393 1964.
- 94- Clifton E.E. and Downie G.R.
Variations in proteolytic activity of serum of animals including man.
Proc. Soc. for Exp. Biol. Med. 73:559 1950.
- 95- Troll W. and Sherry S.
The activation of human plasminogen by streptokinase.
Journ. Biol. Chem. 213:881 1955.
- 96- Summaria L. Hsieh B. Robbins K.
The specific mechanism of action of human plasminogen to plasmin.
Journ. Biol. Chem. 242:4279 1967.
- 97- Kline D.L. and Tsao C.H.
Activation of human plasminogen by streptokinase in absence of plasmin
streptokinase activator.
Am. Journ. Physiol. 220:440 1971.
- 98- Ling C.M. Summaria L and Robbins K.C.
Isolation and characterization of bovine plasminogen activator from a human
plasminogen-streptokinase mixture.
J. Biol. Chem. 242:1419 1967.
- 99- Summaria L. Hsieh B. Groskopf W.R. and Robbins K.C.
Direct activation of human plasminogen by streptokinase.
Proc. Soc. Exp. Biol. New York 130:737 1969.
- 100- Heimburger N.
Basic mechanism of action of streptokinase and urokinase.
Thromb. Diath. Haem. Suppl. 47:21-30
- 101- Groskopf W.R. Hsieh B.H. Summaria L. and Robbins K.C.
Studies on the active center of human plasmin. The serine and histidine
residues.
J. Biol. Chem. 244:369 1969.

- 102- Summaria L. Hsieh B. Groskopf W.R. and Robbins K.C.
The isolation and characterization of the S-carboxymethyl B light chain derivative of human plasmin. The localization of the active site on the B light chain.
J. Biol. Chem. 242:5046 1967.
- 103- Sherry S. Alkjaersig N. and Fletcher A.P.
Activity of plasmin and streptokinase activator on substituted arginine and lysine esters.
Thromb. Diath. Haem. 16:18 1966.
- 104- Wallen R. Iwanaga S.
Differences between plasmin and tryptic digests of human S sulfo-fibrinogen.
Bioch. Biophys. Acta. 154:414 1968.
- 105- Alagülle D. et Soulier J.P.
Action des enzymes proteolytiques sur le sang total "in vitro". Modifications des facteurs de coagulation et du complément.
Semaines de Hop. de Paris. 32:355 1956.
- 106- Lewis J.H. Howe A.G. and Ferguson J.H.
Thrombin formation: II The effects of lysin (fibrinolysin, plasmin) on prothrombin, ac-globulin and tissues thromboplastin.
Journ. Clin. Invest. 28:1507 1949.
- 107- Mirsky I.A. Perisutti G. and Davis N.C.
Destruction of glucagon, adrenocorticotrophin and somatotropin by human blood plasma.
Journ. Clin. Invest. 38:14 1959.
- 108- Pillemer L. Ratnoff O.O. Blum L. and Lepow I.H.
The inactivation of complement and its components by plasmin.
Journ. Exp. Med. 97:573 1952.
- 109- Rimon A. Shamash V. and Shapiro B.
The plasmin inhibitor of human plasma, its action on plasmin, trypsin, chymotrypsin and thrombin.
J. Biol. Chem. 241:5102 1966.
- 110- Dudok de Wit C.
Investigations on the inhibitors of the fibrinolytic system.
Thromb. Diath. Haem. 15 X 1964.

- 111- Mehl J.W. O'Connell W. and de Groot J.
Macroglobulin from human plasma which forms an enzymatically active compound with trypsin.
Science 145:821 1964.
- 112- Bennett N.B.
A method for the quantitative assay of inhibitor of plasminogen activation in human serum.
Thromb Diath. Haem. 17:12 1967.
- 113- Sherry S. Fletcher A. and Alkjaersig N.
Fibrinolysis and fibrinolytic activity in man.
Physiol. Rev. 39:343 1959.
- 114- Bidwell E.
Fibrinolysins of human plasmas.
Bioch. J. 55:497 1953.
- 115- Fearnley G.R. Balmforth C. and Fearnley E.
Evidence of diurnal fibrinolytic rhythm with a simple method of measuring fibrinolysis.
Clin. Scien. 16:645 1959.
- 116- Milstone H.
A factor in normal human blood which participates in streptococcal fibrinolysis.
J. Immunol. 42:109 1941.
- 117- Kowalski E. Kopec M. and Niewarowski S.
Evaluation of euglobulin method for determination of fibrinolysis.
J. Clin. Path. 12:215 1959.
- 118- von Kaulla K. and Schultz R.L.
Methods for the evaluation of human fibrinolysis. Studies with two combined techniques.
Am.Journ. Clin. Path. 20:104 1958.
- 119- Johnson A.J. Semar M. and Newman J.
Estimation of fibrinolytic activity by whole blood euglobulin clot lysis.
In: Tocantins L.M. and Kozal L.A. eds: Blood coagulation hemorrhage and thrombosis. New York Grune and Stratton 1955.

- 120- Astrup T. and Mullertz S.
The fibrin plate method for estimation of fibrinolytic activity.
Arch. Biochem. Biophys. 40:346 1952.
- 121- Lassen M.
Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method.
Acta Physiol. Scand. 27:371 1952.
- 122- Brakman P.
Bovine fibrinogen without detectable plasminogen.
Anal. Bioch. 11:149 1965.
123. Alkjaersig N. Fletcher A.P. and Sherry S.
The mechanism of clo dissolution by plasmin.
J. Clin. Invest. 38:1086 1959.
- 124- Pappenhagen A.P. Koppel J.L. Olwen J.H.
Lyse of fluorescein labelled fibrin for the determination of fibrinolytic activity.
J. Lab. Clin. Med. 59:1039 1962.
- 125- Astrup T. and Egeblad K.
Thromboelastographic patterns produced by fibrinolytic agents incorporated in fibrin.
Amer. J. Physiol. 209:84 1965.
- 126- Hartert H.
Klin. Wschr. 26:577 1948.
- 127- Niewarowski P.S.
Plasminogen dosage.
Path. Biol. 7:2557 1959.
- 128- Blatrix C. Vignal A. and Steinbuch M.
A fibrinolytic method for the dosage of plasminogen.
Hemostase 3:2 1963.
- 129- Christensen L.R.
Streptococcal fibrinolysis a proteolytic reaction due to a serum enzyme activated by streptococcal fibrinolysin.
J. Gen. Physiol. 28:363 1945.

- 130- Kaplan M.H.
Nature and role of lytic factor in hemolytic streptococcal fibrinolysis.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 57:40 1944.
- 131- Ungar G. and Mist S.H.
Release of serum fibrinolysin by specific antigen,peptone and certain poly-saccharides.
J. Exper. Med. 90:39 1949.
- 132- Remmert L.F. and Cohen P.
Partial purification and properties of a proteolytic enzyme of human serum.
J. Biol. Chem. 181:431 1949.
- 133- Christensen L.R.
Action of proteolytic enzyme on casein proteins.
Arch. Biochem. Biophys. 53:128 1954.
- 134- Kaplan E.H.
Action of fibrinolysin (plasmin) on proteins.
Proc. Soc. Exper. Biol. J. Med. 85:142 1954.
- 135- Todd E.W.
Methods for the titration of total plasmin and of trypsin inhibitor.
J. Exper. Med. 89:295 1949.
- 136- Kjeldgaard N.O. and Ploug J.
Urokinase,an activator of plasminogen from human urine. II Mechanism of plasminogen activation.
Biochem. et Biophys. Acta 24:289 1957,
- 137- Hagan J.J. Ablondi F.B. and Hutchings B.L.
Use of copper amino acid complexing for determining amino esterase activity.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 92:629 1956.
- 138- Lassen M.
The esterase activity of fibrinolytic system.
Biochem. J. 69:360 1958.
- 139- Roberts P.S.
Measurements of rate of plasmin action on synthetic substrate.
J. Biol. Chem. 232:285 1958.

- 140- Schultz R.L. Moorman J.A. Matorish L.C. and Lincoln A.F.
Evaluation of synthetic substrate methods for clinical determination of fibrinolysis.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 94:198 1957.
- 141- Troll W. Sherry S. and Wachman J.
Action of plasmin on synthetic substrates.
J. Biol. Chem. 208:85 1954.
- 142- Mancini G. Vaerman J.P. Carbonara A.O. Heremans J.F.
A single radial diffusion method for the immunological quantitation of proteins.
In: Prot. Biol. Fluids. 11th coll. Buges :370-373 1964.
- 143- Chung Mei Ling Summaria L. and Robbins K.
Isolation and characterization of bovine plasminogen activator from human plasminogen streptokinase mixture.
Journ. Biol. Chem. 242:7 1969.
- 144- Robbins K.C. Summaria L. Elwyn P and Barlow G.H.
Further studies on the purification and characterization of human plasminogen and plasmin.
J. Biol. Chem. 240:541 1965.
- 145- Robbins K.C. and Summaria L.
Immunochemistry 3:29 1966.
- 146- Kwaan H.C.
Disorders of fibrinolysis.
Clin. of North Amer. Jan. 1972.
- 147- Sawyer S.D. Fletcher A.P. Alkjaersig N. and Sherry S.
J. Clin. Invest. 39:426 1969.
- 148- Norman P.S.
Studies of the plasmin system. I. Measurement of human and animal plasminogen. Measurement of an activator in human serum.
J. Exp. Med. 106:423 1957.
- 149- Albrechtsen O.K. Strom O. and Claassen J.
Fibrinolytic activity in some body fluids.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 310:10 1958.

- 150- Cohn E.J.
Harvey lectures 34:124 1939.
- 151- Sandor G.
Compt. Rend. 248:3361 1959.
- 152- Sandor G. Slizewicz P. Sandor M. and Chiche P.
Compt. Rend. 244:525 1957.
- 153- Blix S.
Studies on the fibrinolytic system in the euglobulin fraction of human plasma.
Scand. J. Clin. Lab. Inv. Vol 13 suppl 58.
- 154- McNicol G.P. and Devies J,A,
Fibrinolytic enzyme system.
Clin. in Hemat. Vol 2 No 1 Feb. 1973.
- 155- Clauss A.
Gerinnungsphysiologische schnell metode zur bestimmung des fibrinogens.
Acta Haemat. 17:237 1957.
- 156- Remmert L.F. and Cohen P.P.
J. Biol. Chem. 181:431 1949.
- 157- Johnson A.J. Line D.L. and Alkjaersig N.
Assay methods and standard preparations for plasmin, plasminogen and urokinase in purified systems.
Thromb. Diath. Heam. 21:259 1959.
- 158- Hemker J.C. and Loeliger E.A.
Human blood coagulation.
J.J.Viltkamp Springerverlaj. New York:189 1969.
- 159- Holemans R. Adamis Dignysios and Horace J,F.
Interaction of heparin with fibrinolysis.
- 160- Paton W.D.M.
Compound 48/80: a potent histamine liberator.
Brit. J. Pharmac. 6:499 1951.

- 161- Hogberg B. and Övnas B.
The mechanism of the disruption of mast cells produced by 48/80.
Acta Physiol. Scand. 41:345 1957.
- 162- Riley J.F.
The mast cells.
Livingston. Edinburgh 1959.
- 163- Riley J.F. and West G.B.
The presence of histamine in tissue mast cells.
J. Physiol. 120:528 1953.
- 164- Konzett H.
The effect of histamin on an isolated sympathetic ganglion.
J. Mt. Sinai Hosp. New York 19:149 1952.
- 165- Gertner S.B. Kohen R.
Effect of histamine on ganglionic transmission.
Brit. J. Pharmac. 14:179 1959.
- 166- Benditt E.P. and Arase M.
An enzyme in mast cell with properties like chemotrypsin.
J. Exp. Med. 110:451 1959.
- 167- Gkenner Č.G. Hapser V.K. and Cohen L.A.
Histochemical demonstration of a trypsin like esterase activity in mast cells.
J. Histochem. Cytochem. 10:109 1961.
- 168- Ende J and Auditore J.
Fibrinolytic activity of human tissues and dog mast cell.
Am. J. Clin. Path. 36:16 1961.
- 169- Hogberg B. and Övnas B.
Inhibitory action of allicin on degranulation of mast cells produced by compound 48/80, histamine liberator from ascaris, lecinthinas A and antigen.
Acta Physiol. Scand. 44:157 1958.
- 170- Hogberg B. Övnas B.
Further observation on disruption of rat mesentery mast cells by compound 48/80, antigen-antibody reaction, lecinthinas A and decylamine.
Acta Physiol. Scand. 48:133 1960.

- 171- Riley J.F.
J.Path. Bact. 65:461 1953.
- 172- Riley J.F. and West G.B.
J.Physiol. 120:528 1953.
- 173- Lagunóff D. and Benditt E.P.
Proteolytic enzyme of mast cells.
Ann. New York Acad. Scien. 103:185 1963.
- 174- Barchewitz G. Guilbert A. and Laurent G.
Activité fibrinolytique des veines.
Path. Biol. Mars Vol.20 No 5-6 1972.
- 175- Pandolfi E. Milsson I.M. and Robertson B.
Fibrinolytic activity of human veins.
Lancet 2:127 1967.
- 176- Todd A.S.
The histological localisation of fibrinolytic activator.
J. Path. Bact. 78:281 1959.

TÜRDOK TEZ ÖZ FORMU

KEY WORDS

ANAHTAR KELİMELER

(Konuyu içeren kelimelerin Türkçe ve İngilizce verilmesi)*

TEZİN KONUSU
(ait olduğu bilim dalı)

Tezin adı

Tezin adının
İngilizce çevirisi

Tezin cinsi
(Dr.,Doç., Uzmanlık tezi)

Tezin yazarının
soyadı ve adı

Tezin sunulduğu
Üniversite, Fakülte,
Akademi ve diğer
Kuruluşlar

Tezin kabul tarihi,
yayınlanmışsa; basım yeri,
yayınlayan, basım tarihi

Tezin yöneticisinin
akademik unvanı ve adı

Sayfa sayısı : 67,

Özet dili (Tür., İng., Fr., v.s.) türkçe, ing.

Yararlanılan kaynak sayısı; kaynakça,
bibliyografya veya referans sayısı : 176 ref.

Seri kaydı

☐ Yayınlanmış (Kitap olarak)

☐ Metin teksirdir

☐ Daktilo olarak çoğaltılmıştır.

DİKKAT : Tezin bir kopyesinin gönderilmesi gereklidir. Gönderilmemesi halinde teze nasıl ulaşılabileceğinin bildirilmesi; Kuruluş veya kütüphane adı :

Tezin yalnızca yazarda olması halinde adresi :

Ayrı basımların gönderilmemesi rica olunur.

* Örneğin : Tezin adı Antibiyotikler ise ve kapsamı bu isimle yeterince belirlenemiyorsa yani kapsamı Antibiyotiklerin kullanılması, yan etkileri, pazarlaması ve imalatı varsa, ozaman konunun iyice belirlenebilmesi için Antibiyotikler altında verilecek kelimelerle Antibiyotiklerin kullanımı, yan etkisi, imalatı ve pazarlaması konuyu içeren anahtar kelimeler olarak verilmelidir. Ancak bundan sonradır ki tezin konusunun içeriliğine ulaşılabilsin. Bu işlem ise yalnızca tez yazarı tarafından yapıldığı zaman sağlıklı olacaktır. Böylece konuya yaklaşım araştırmacı için kolaylaşacak ve konu indeksi buna göre hazırlanacaktır.

kontrollü juf

KÖPEKTE FİBRİNOLİTİK AKTİVİTE
ÜZERİNE 48/80 MADDESİNİN
ETKİLERİ.

Doktora

EYÜBOĞLU, İsmet

İstanbul Üniv. Cerrahpaşa
Tıp Fak., 1976

Prof. Dr. Alâeddin Akcasu

TÜBİTAK