

Kumadin Etkisi Altında Hemostaz Mekanizmalarının Ultrastrüktürel ve Fonksiyonel Değişikliği

Dr. Ramazan Kayapınar¹, Dr. Gülara Hüseyinova², Dr. Gültekin Mahmudova³,

ÖZET

Tavşanların trombosit ve periferik damarlarına, küçük (0.5 mg/Kg) ve büyük (5.0 mg/Kg) dozlarda indirekt kumadin etkisinin neden olduğu ultrastrüktürel ve fonksiyonel değişiklikler incelendi.

Bulgularımızda küçük dozların etkisiyle kanın pıhtılaşma sürecinde; trombositlerde ve damar duvarında hafif distrofik, destrüktif değişiklikler (reversibl) görüldü. Buna göre trombositlerin adezyon ve agregasyonu korunmakta, fakat nispeten bozulmaktaydı. Ultrastrüktürel ve fonksiyonel değişiklikler nedeniyle, enzim sentezi aktivitesinin azalmasına bağlı olarak hemostaz süreçlerinde bozukluklar meydana gelmekteydi. Bununla ilgili olarak damarların vazokonstriksiyonu oluşmakta ve eritrosit agregasyonu da bozulmaktaydı. Damar duvarında hafif diapedez izlendi.

Büyük dozun etkisiyle trombositlerde ve damarlarda daha aşırı derecede destrüktif, dejeneratif ve nekrobiotik değişiklikler (irreversibl) izlendi. Bu değişiklikler; trombosit agregasyonunun bozulduğunu, eritrosit aglutinasyonunun oluşmadığını ve aşırı hemorajiyi karakterize eden eritropedezi göstermektedir. Bunun yanı sıra plazmaraji ve ödem de gözlemlendi.

Anahtar kelimeler : Trombosit, damar, Kumadin, Ultrastrüktür.

GİRİŞ

Kumadin (coumadin), kumarin türevi bir antikoagulandır. Tüm antikoagulanlar gibi (1, 2, 3, 4), kumadin de karaciğerde yapılan pıhtılaşma faktörlerinin (faktör II, VII, IX, X) sentezinin son basamağını önleyerek etki oluşturmaktadır (5).

Bu çalışmada kumadin etkisi altında, hemostaz sürecinde makromoleküler düzeyde meydana gelen değişikliklerin başlangıç mekanizmalarını incelemeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma 15 erişkin hayvanda yapıldı.

1. Grup : 5 tavşana, 10 gün 0.5 mg/kg dozunda (küçük doz) kumadin indirekt yolla, sonda ile mideye verildi.

2. Grup : 5 tavşana, 10 gün 5 mg/Kg dozunda (büyük doz)

SUMMARY

The ultrastructural and functional effects of low (0.5 mg/Kg) and high (5.0 mg/Kg) doses of indirect coumadin on platelets and peripheral vessels were investigated in rabbits.

It was observed that low doses induced some (reversible) destructive and mild dystrophic changes in platelets and on vessel walls and also affected the coagulation process. Despite to relative decrease, the adhesion and aggregation properties of the platelets were not lost by these mild changes. Ultrastructural and functional changes caused a reduction in the activity of the enzyme synthesis which resulted in a deterioration in the haemostasis processes. It was also observed that vasoconstriction in the haemostasis processes. It was also observed that vasoconstriction and erythrocyte aggregation in the vessels ceased a mild diapedesis occurred across the vessel wall.

High doses resulted in a severe and irreversible destructive, degenerative and necrobiotical changes in platelets and the vessels. These changes were interpreted as the deterioration of the aggregation properties of the platelets and severe haemorrhage characterized by erythropedesis. This picture was also accompanied by plasmorrhage and edema.

Key Words : Platelet, Vessel, Coumadin, Ultrastructure.

kumadin indirekt yolla sonda ile mideye verildi.

3. Grup : 5 tavşan ise kontrol olarak değerlendirildi.

Onuncu gün sonunda tavşanlardan kan alınarak trombositler ayrıldı ve periferik ana damar örnekleri çıkarılarak alındı. Örnekler % 2.5 fosfat tamponlu glutaraldehid prefiksasyonu ve yine tamponlu % 1'lik osmium tetroksit postfiksasyonundan sonra, dehidratasyon yapılarak, Epon 812 ile bloklandı. Kesitler uranilasetatla ve Reynold'un kurşun boyası ile kontrastlandırılarak JEM-100 "B" elektron mikroskobu ile incelendi.

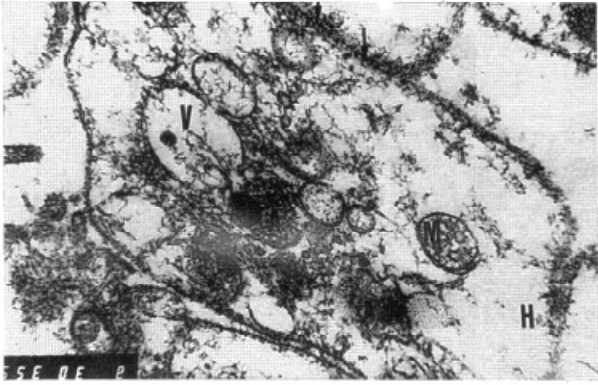
BULGULAR

Kumadinin küçük dozunun uygulandığı örneklerin elektron mikroskopik incelenmesinde; trombositlerde ve damarlarda,

1 Trakya Üniversitesi Sağlık hizmetleri Meslek Y.O. Yard. Doç. Dr.

2 Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD, Uzm. Dr.

3 Bakü, Cerrahi Klinik ve Araştırma Enst. Uzm. Dr.



Resim 1 : Kumadinin küçük dozu etkisi altında trombositler. Agregasyon dönemi korunmaktadır.

(1) Daralmış trombositler arası aralıklarda lipidlerin izlendiği (H) hydomerin berraklaşması, lipoproteid komplekslerinin kaybolması (M) mitokondrilerin vakuolizasyonu (distrofisi) ; (V) bir α -granülünün degranülasyonu ve vakuolle çevrilmesi; (A) bozulmamış α -granüller, görülmektedir. X20 000.

genellikler venüllerde, bazı değişiklikler gözlemlendi.

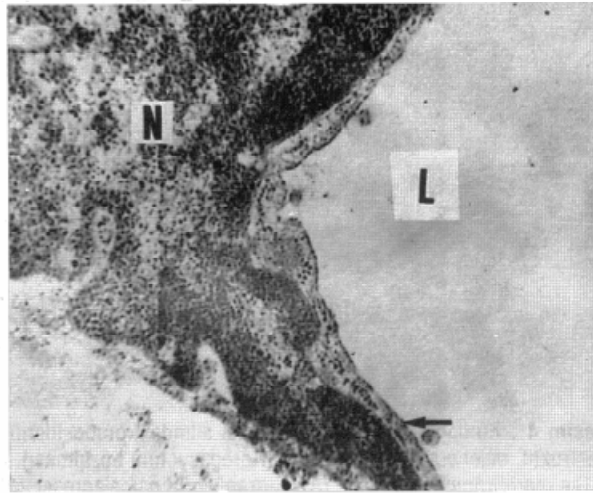
Trombositlerin çoğu oval şekilli idi ve yüzeylerinde çıkıntılar görülmekteydi. Hyalomer bölümünde, reaktif olarak, endoplazmik retikulumun lipoprotein komplekslerinin proliferasyonu izlendi. Granülomer bölümlerinde ise genellikle berraklaşma ve vakuollerin meydana geldiği, α -granüllerin miktarının azaldığı ve hatta kaybolduğu izlendi. Mitokondrilerin dış membranları korunmakta, fakat matrikslerinde, distrofik olayları karakterize eden, vakuolizasyon dikkati çekmekteydi.

Agregasyonun başladığı, kümeleşmiş trombositlerde; trombositler arası aralıklar daralmış ve lipidlerle dolmuştu. Trombositlerin matrikslerinde distrofi ve destrüktif olaylar bulunmaktaydı; mitokondrilerin vakuolizasyonu, α -granüllerinin degranülasyonu ve α -granüllerin vakuollere dönüşmesi dikkati çekmekteydi (Resim 1).

Bunun yanı sıra damarlar genellikle genişlemişti. Ayrıca, endotel hücrelerinin uzantıları dikkati çekmekteydi. Nukleuslar reaktif olarak şişmiş ve düzensiz kaba kromatinli görünümdeydiler. Nukleusların büyüklüğüne göre sitoplazma daralmış fakat organeller korunmaktaydı (Resim 2).

Bazal membranlar az diferansiye idiler, bazılarının fragmantasyona uğradığı görülmekteydi. Damarlarda eritrositlerin kümeleştiği yerlerde eritrositler arası aralıklar oldukça geniş idi. Endotel hücreleri arası aralıklarda da bazı genişlemeler dikkati çekmekteydi. Az miktarda eritrosit ve lökosit diapedezi görülmekteydi. Kollajen liflerde ve düz kas hücrelerinde ödem ve dezorganizasyon mevcuttu. Kumadinin büyük dozu etkisi altında trombositlerde, hyalomer ve granülomer bölümlerde daha derin destrüktif, dejeneratif, nekrobiotik değişiklikler gözlemlendi. Trombositler oval ve düzensiz şekilli idi, bazılarında çıkıntılar bulunmaktaydı. Hyalomer ve granülomer bölümlerde endoplazmik retikulumun, α -granüllerinin, mitokondrilerin parçalanma belirtileri ya da küçük, büyük vakuollere dönüştükleri saptandı (Şekil 3).

Trombosit agregasyonunda bozulma dikkati çekmekteydi,



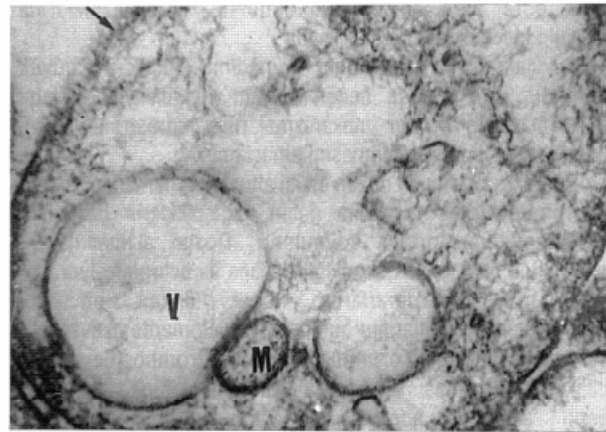
Resim 2 : Kumadinin küçük dozu etkisi altında damar. (L) Geniş Lümen; (N) hipertrofik ve düzensiz endotel nükleusu; (i) endotelin çıkıntısı, görülmektedir. X10 000.

dış membranları genellikle bozulmuş ve net olarak izlenememekteydi, α -granüllerin parçalandığı ya da dejeneratif şekillere dönüştükleri görülmekteydi (Resim 4).

Bununla paralel olarak endotel hücrelerde derin distrofik, destrüktif ve dejeneratif değişiklikler izlendi. Bazı endotel hücrelerde derin distrofik, destrüktif ve dejeneratif değişiklikler izlendi. Bazı endotel hücrelerde çıkıntılar bulunmaktaydı. Sitoplazmalarında ise organellerin çoğunun vakuolize olduğu ve kaybolduğu izlendi.

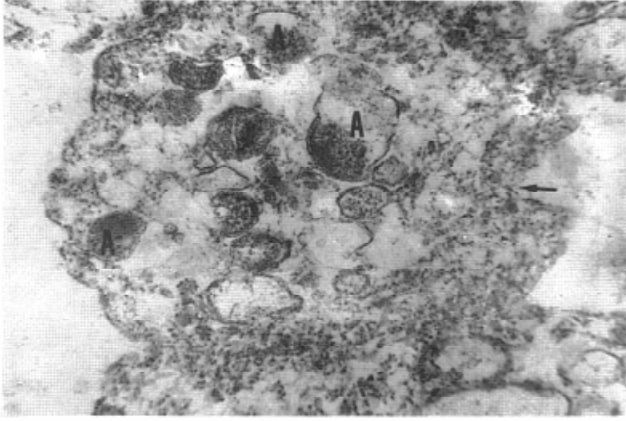
Bazal membranların fragmantasyonu, bazı yerlerde parçalanma izlenmekteydi. Damar lümenlerinin çok fazla genişlemiş olduğu dikkati çekmekteydi ve içinde eritrositler tek tek görünmekteydi, genellikle kümeleşmeler bulunmamaktaydı.

Endotel hücrelerin aralıkları fazlaca genişlemiş, bu aralıklarda eritrosit ve lökosit diapedezi belirgin olarak izlenmekteydi (Resim 5) Kollajen liflerin ve düz miyositlerin



Resim 3 : Kumadinin büyük dozu etkisi altında trombositlerde destrüktif ve dejeneratif değişiklikler.

(I) Oval şekilli trombosit; (V) büyük vakuol meydana gelmesi; (M) mitokondri distrofisi, görülmektedir. X 30 000.



Resim 4 : Kumadinin büyük dozu etkisi altında trombositlerin destrüktif, dejeneratif değişiklikleri. (Agregasyonun bozulması). (A) Dış membranın bozulması; (A) α -granüllerin parçalanması ve patolojik formların meydana gelmesi, görülmektedir. X20 000.

yaygın ödemi, dezorganizasyonu, mukoid ve fibrinoid şişme görüldü.

Kontrol grubun elektron mikroskopik incelemesinde trombositler ve damarlar normal şeklinde görünmekteydiler.

TARTIŞMA

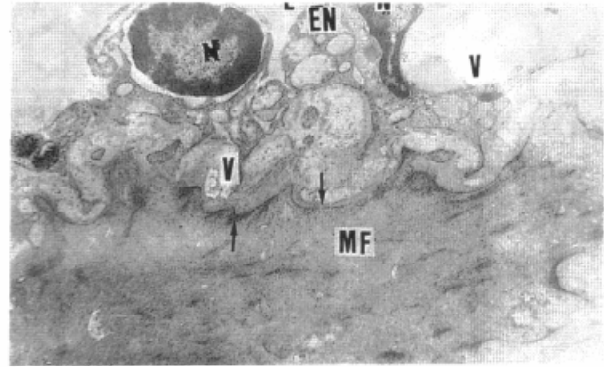
Bilindiği gibi hemostaz sürecinde hem damarsal hem de trombositler mekanizmalar rol oynar ve trombositlerin adezyonu, agregasyonu koagülasyon, eritrositlerin aglutinasyonu ve plazma presipitasyonu olayları gerçekleşir. (6).

Antikoagulanlar hem trombositler, hem de damarsal değişikliklere sebep olmaktadır. Buna bağlı olarak koagülasyon sürecinin evreleri bozulmaktadır. Bozukluklar primer olarak makromoleküler düzeyde başlamaktadır (7). Ultrastrüktürel bozukluklar fonksiyonel olarak trombositlerde ve damar duvarında enzim sentezi aktivitesini bozmaktadır. Bazı antikoagulanların farklı dozları ve bazı ilaçlarla birlikte kullanılması organizmada koagülasyon sistemini bozuyor, hemoraji, plazmoraji ve diğer komplikasyonlara sebep oluyor. Buna göre antikoagulanların hemostaz mekanizmalarına etkisinin incelenmesi çok önemlidir.

Bu çalışmamızda indirekt kumadinin küçük ve büyük dozlarının organizmada neden olacağı koagülasyon sistemi değişikliklerinin primer mekanizmalarının ultrastrüktürel ve fonksiyonel olarak incelenmesini amaçlamıştık.

Bulgularımız her iki dozun etkisi altında periferik damarlarda ve trombositlerde meydana gelen değişikliklerin başlangıç mekanizmalarını ortaya koymuştur. Dozun artmasına ve toksikliğine bağlı olarak bozukluklar daha da belirginleşiyor.

Elektron mikrograflarda küçük dozun etkisiyle; trombositlerin uzantılarının bulunması, hyalomerde aktivasyon, dış membranların korunmuş olması, trombositler arası aralıkların daralması ve bu aralıklarda lipidlerin azalmasının tespit edilmesi adezyon ve agregasyonun nispeten korunduğunu gösteriyor. Granülomer bölümlerde ultrastrüktürel distrofik, destrüktif, dejeneratif değişiklikler (mitokondrilerin vakuolizasyonu, α -granüllerin degranülasyonu



Resim 5 : Kumadinin büyük dozu etkisi altında damarda distrofik, destrüktif değişiklikler. (L) Damar lümeni; (EN) endotelin distrofisi; (V) Vakuol; (MF) miyositlerin ödemi, görülmektedir. X12 000.

ve vakuollere çevrilmesi) ise fonksiyonel olarak serotonin, retraktozim, tromboplastin faktörü ve ATP sentezlerinin bozulmasını gösteriyor.

Geniş damar lümenlerinde eritrositlerin arasının genişlemiş olması ve eritrositlerin az miktarda bulunması, eritrosit aglutinasyonu döneminin hafif derecede meydana geldiğini göstermektedir. Bilindiği gibi retraktozim vazokonstriksiyon fonksiyonunu taşımaktadır (8). Damarların genişlemiş olması retraktozim sentezi aktivitesinin azaldığına işaret etmektedir.

Endotelin bazı hücrelerinde nükleus şişmesi ve düzensiz bir şekilde bulunması, hücresel çıkıntıların meydana gelmesi, onların aktifliğini göstermektedir. Kollajen liflerin ve miyositlerin ödemi, dezorganizasyonu, destrüksiyonu da plazmoraji başladığını göstermektedir. Endotel hücrelerde hafif bozukluklara bağlı, hemorajiyi karakterize eden eritropedez, hafif derecede bulundu.

Büyük dozun etkisi altında; trombositlerde reversibl distrofik ve destrüktif değişikliklerle beraber, irreversibl dejeneratif ve nekrobiyotik değişiklikler artmaktaydı. Bu değişikliklere bağlı olarak primer agregasyon dönemi bozulmakta ve oluşamamaktaydı. Enzimlerin aktivitesinin azalması ve bozulmasına bağlı olarak damarlar genişliyor, koagülasyon ve eritrosit aglutinasyon dönemleri bozuluyor ve oluşmuyor. Eritrosit aglutinasyonunun bozulmasını, damarlarda eritrositlerin tek tek bulunması açıkça göstermektedir. Paralel olarak damar endotelinde distrofik, destrüktif ve dejeneratif değişiklikler, bazal membranların parçalanması ve endotel hücre aralıklarının genişlemesi diapedez olaylarının (Eritrolöko-pedez) aşırı derecede artmasını göstermektedir. Bununla ilişkili olarak hemoraji olayı da artmaktaydı. Kollajen fibrillerde ve miyositlerdeki destrüksiyonlar, desorganizasyonlar ve yaygın ödem de plazmoraji olaylarının artmasını göstermektedir.

Sonuç olarak : kumadinin küçük dozunun etkisinin kanın antikoagulan sürecinde, trombositlerde ve damarlarda ultrastrüktürel olarak hafif reversibl distrofik ve destrüktif değişiklikler meydana getirdiği gözlemlendi. Fonksiyonel olarak enzim sentezi aktivasyonu azalmakta, buna bağlı olarak

agregasyon ve diğer dönemlerine sürmesi nispeten bozulmaktaydı (küçük antiagregasyon etkisi).

Kumadinin büyük dozunu etkisinin, yukarıda sözü edilen yapılarda aşırı irreversibl destrüktif, dejeneratif ve nekrobiyotik değişiklikler meydana getirdiği, enzim sentezi aktivitesinin iyice azalmasına ve bozulmasına neden olduğu gözlemlendi.

Trombositlerin agregasyonu genellikle oluşmamaktaydı (antiagregasyon etkisi). Buna bağlı olarak diğer dönemler (koagulasyon, eritrosit aglutinasyonu ve plazma presipitasyonu) de bozulmaktaydılar. Tromboplastin, retraksiyon ve diğer fonksiyonların aktivitesini azalmasına ve bozulmasına bağlı olarak hemoraji başlamaktaydı.

KAYNAKLAR

1. Kinlough-Rathbone, RL, Packham MA, Perry DW. Lack of stability of aggregates after, thrombin-induced reaggregation of thrombin-degranulated platelets. Thromb-Haemost, 1992 ; 67 (4), 453-457.
2. Ferrer-Lopez P, Renesto P. Heparin inhibits neutrophil-induced platelet activation via cathepsin. J Lab Clin Med, 1992; 119 (3), 231-239.
3. Belitser NV, Anishchuk MG, Role of exogenous fibrinogen in processes of degranulation of trombocytes stimulated with trombin. Ultrastructural study using. Fibrinogen labeled with colloidal gold. Tsitol-Genet, 1992; 26(1), 3-8.
4. Hüseyinova G, Kayapınar R- Mahmuova G, Heparin ve Butazolidin etkisi altında trombositlerde ultrastrüktürel ve fonksiyonel değişikliklerin incelenmesi. Trakya Üniversitesi Tıp Fak. Der, 1994, 9(1). basımda
5. Dökmeci I, Farmakoloji : İlaç uygulamalarında temel kavramlar. İstanbul, Nobel Tıp kitabevleri, 1992; 288.
6. Cotran RS, Kumar V- Robbins Pathologic Basis of Disease, 4th ed. Philadelphia: Saunders, 1989; 95-98.
7. Serov VV, Paukov VS, Ultrastrukturnaya Patologiya moskva Izdatelstova "medizina", 1975 ; 73-84.
8. Guyton AC. Textbook of medical physiology, 8th ed. Philadelphia: Saunders, 1991; 390-400.