

# KÖPEKLERDE PLAZMA FİBRİNOJEN DÜZEYLERİNİN GEBELİK TANISI AMACIYLA KULLANILMASI

Ayhan BAŞTAN\*  
Nil ERÜNAL\*\*

Mustafa KAYMAZ

Murat FINDIK\*\*  
Özlem ÖZLER\*\*\*

## Use of plasma fibrinogen concentrations for the pregnancy diagnosis in bitch

**Summary:** *The objective of this study was to investigate plasma fibrinogen concentrations in pregnant and nonpregnant bitches and increase in plasma fibrinogen concentrations may be confirmatory tests for pregnancy in bitches.*

*Ninety bitches which were different days of pregnancy or diöstrus periods were used as a material. During pregnancy, fibrinogen concentration increased between days 20 to 50 after mating. Fibrinogen concentration was obtained  $376 \pm 9$ ,  $445 \pm 21$  and  $245 \pm 15$  mg/dl between 20 to 30, 30 to 50 and after 50 day of pregnancy respectively. However, mean fibrinogen concentration was obtained 245 mg/dl in nonpregnant bitches.*

*During pregnancy, fibrinogen concentration was higher values from days 20 to 50 ( $P < 0.001$ ) than those in nonpregnant dogs, and values similar to those in nonpregnant dogs after day 50 ( $P > 0.001$ ).*

*It is concluded that, fibrinogen assay may be useful for pregnancy diagnosis in bitch and also recommended as a effective confirmatory test for pregnancy in bitches.*

**Özet:** *Bu çalışmada gebe ve gebe olmayan köpeklerde fibrinojen konsantrasyonlarının incelenmesi ve fibrinojen konsantrasyonundaki artışların gebeliklerin saptanmasında doğrulayıcı bir test olabilirliğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.*

*Araştırmada gebeliğin ve diöstrusun farklı dönemlerinde bulunan gebe ve gebe olmayan 90 adet köpek kullanılmıştır.*

*Gebe köpeklerde gebeliğin 20-30, 30-50 ve 50 günden daha ilerki dönemlerinde fibrinojen konsantrasyonu sırasıyla  $376 \pm 9$ ,  $445 \pm 21$  ve  $245 \pm 15$  mg/dl saptandı. Oysaki, gebe olmayan köpeklerden elde edilen ortalama fibrinojen konsantrasyonu  $245 \pm 9$  mg/dl idi. Gebe köpeklerde gebeliğin 20-50 günleri arasında fibrinojen konsantrasyonu belirgin şekilde yüksekti ( $P < 0.001$ ) ve gebeliğin 50. gününden sonra ise gebe olmayanlarla aralarında pek fark yoktu ( $P > 0.001$ ).*

*Sonuç olarak, köpeklerde fibrinojen ölçümleri gebeliklerin belirlenmesinde faydalı bir yöntem olduğu ve doğrulayıcı bir test olarak kullanılabileceği kanısına varıldı.*

**Anahtar Kelimeler:** *fibrinojen, gebelik, köpek*

### Giriş

Akut faz reaksiyonu, sebebi ne olursa olsun doku yıkımı olan hayvanlarda yangısel reaksiyona bağlı olarak ortaya çıkan bir olaydır

(6,9). Bu olgu karaciğerde üretilen akut faz proteinlerinin yapım ve salınımı sonucu hasara uğrayan dokuyu restore etmek amacıyla gerçekleşir. Bu proteinlerin konsantrasyonu

\* Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji A.B.D.

\*\* Araş.Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji A.B.D.

\*\*\* Araş.Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Fizyoloji A.B.D.

reaksiyon sırasında artmaktadır. Fibrinojen gibi bazı akut faz proteinlerinin fonksiyonlarının tam olarak bilinmesine karşın C-reaktif protein ve sero-mucoid gibilerin fonksiyonları bilinmemektedir (6,7,9). Köpeklerde C-reaktif protein, akut faz proteinlerinin en önemlilerinden biridir ve travma, yangı veya enfeksiyonların sebep olduğu doku yıkımlarını sonucu ortaya çıkmakta ve yıkımların başlamasını izleyen ilk 24 saatte plazma konsantrasyonu normalin 100 katına ulaşmaktadır. Akut faz proteinleri karaciğerde sentez edilmekte, yapımları sitokrinler ve doku yıkımlanma sırasında monositlerce ortaya çıkarılan tümör nekroz faktörlerince uyarılmaktadır (8,13).

Plazma fibrinojen düzeyleri yangılarda, neoplastik olgularda, gebelik ve oral kontraseptivlerin kullanımında artmaktadır (1,3,4,6,10). Köpeklerde gebelik ile ilgili olarak hemotokritte azalma ve plazma volümünde artış söz konusudur (4,5). Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda köpeklerde gebeliğin saptanmasında C-reaktif proteinler ve plazma fibrinojen seviyesindeki artışlar doğrulayıcı bir olarak test kullanılmıştır (3,7,11,14). Araştırmacılar (3,4,7,9,11) akut faz reaktant proteinlerindeki artışların plasentasyon oluşumu sırasındaki uyarımlar, enfeksiyon ve yaralanmayla ilgili yangısal reaksiyonlara bağlı olabileceğinin göz önünde tutulması gerektiğine dikkat çekmektedirler. Concannon ve ark. (4,5) gebelikte fibrinojen konsantrasyonda luteinize hormon dalgasından sonraki 21-30. günler arasında artış olduğunu ve gebeliğin 21-50. günlerinde  $539 \pm 29$  mg/dl' den daha yüksek iken aynı dönemde gebe olmayanlarda  $188 \pm 8$  mg/dl olduğunu bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar 50. günden sonra gebe ve gebe olmayanlar arasında fark olmadığını, köpek reaktif proteinlerinin gebeliğin 26-50. günlerinde düzeylerinde bir artış söz konusu iken düzeylerinin köpek ırklarına göre değişeceğini dikkat çekmektedirler.

Bu araştırmada gebe köpeklerde gebeliğin farklı dönemlerinde ve gebe olmayan köpeklerde plazma fibrinojen

konsantrasyonunun belirlenmesi, gebe olanlarla olmayanlar arasındaki farklılıkların ortaya konulması, aynı zamanda plazma fibrinojen konsantrasyonuna bakılarak gebeliklerin teşhis edilebilirliğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

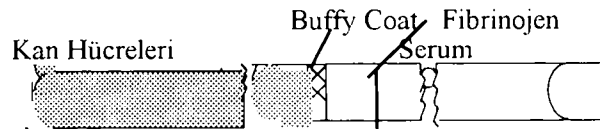
### Materyal ve Metot

Araştırmada 15'i gebeliğin 20-30., 15'i gebeliğin 30-50. günlerinde ve 15'i 50. gün ve daha ileri dönemlerinde ve diöstrusun 20-30., 15, 30-50., 15 ile 50. gününde 15 olmak üzere toplam 90 köpek kullanıldı. Çiftleşme günü gebeliğin 1. günü kabul edildi. Çalışmaya alınan köpekler herhangi bir sağlık problemi olmayanlar arasından seçildi. Köpeklerin gebe olup olmadıkları çiftleşmeden 20 gün sonra ultrasonografi ile belirlendi. Gebeliğin 20-30., 30-50. ve 50. günden daha ileri dönemlerindeki gebe köpeklerle ve diöstrusun 20-30., 30-50 ve 50. günlerinde bulunanlar köpeklerden bir defa EDTA'lı tüplere steril koşullarda vena cephalica antebraia'dan 10 ml kan alındı. Kanlar fibrinojen düzeylerinin belirlenmesi amacıyla Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına iletildi. Fibrinojen tayini Millar Metoduna göre yapıldı (1).

İstatiksel hesaplamalar Minitap t- test programıyla yapıldı.

### Millar Metodu:

1. 10 ml EDTA'lı tüp içindeki kan mikrohematokrit tüp içerisinde çekildi ve tüp kapatıldı.
2. Mikrohematokrit santrifüjde 5 dk santrifüj edildi.
3.  $56 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $\pm 1^\circ\text{C}$ )'lik su banyosunda 3 dk tutuldu, plazma sütununun tamamen su yüzeyinin altında olmasına dikkat edildi.
4. Su banyosundan sonra mikrohematokrit tüp 3 dk sonra santrifüj edildi. Fibrinojen, lökosit (buffy coat) tabakası üzerinde toplandı.



Şekil.1. Miller metodu.

Figure.1. Miller's Method.

AB uzunluğu (fibrinojen sütunu), asıl plazma sütunu uzunluğuna (AC) oranlandı. Fibrinojen sütununun okunması oküler mikrometreli bir mikroskop kullanılarak

kolaylaştırıldı ve okuma 0.1mm'ye en yakın şekilde yapıldı. Buna göre oküler mikrometrede 1 çizgi 0.037 mm olarak kabul edildi. Plazmadaki fibrinojen miktarı;

5.  $AB/AC \cdot 100 = \text{ml/dl}$ ' ye çevrildi.
6.  $\text{ml/dl} \cdot 100 = \text{mg/dl}$  dönüştürüldü.

## Bulgular

Gebeliğin 20-30. günleri arasında bulunan köpeklerde (n=15) plazma fibrinojen konsantrasyonu 356-401 mg /dl arası değişmekle beraber ortalama  $376 \pm 9$  mg/dl bulundu. Otuz-50. günlerde bu değer 310-592 mg/dl olmakla birlikte ortalama  $445 \pm 21$  mg/dl, 50. günden sonra ise  $245 \pm 15$  mg/dl olarak saptandı.

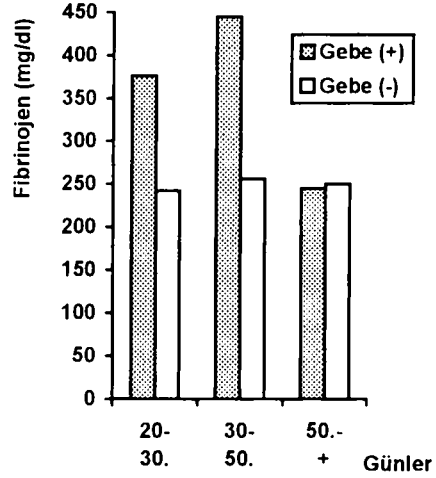
Gebe olmayan ve diöstrusun 20-30., 30-50. ve 50. gününden sonraki dönemlerde plazma fibrinojen düzeyi sırasıyla  $242 \pm 19$  mg/dl,  $250 \pm 17$  mg/dl ve  $256 \pm 11$  mg/dl olarak belirlendi. Diöstrusta saptanan ortalama değer ise  $250 \pm 9$  mg/dl idi.

Gebe köpeklerde plazma fibrinojen konsantrasyonu gebeliğin 20. gününden itibaren artmaya başladı, 30-50. günler arasında maksimum konsantrasyona ulaştı. 50. günden itibaren tekrar azalmaya başladı ve bu dönemde bazal düzeyde seyretti.

Bu araştırmada gebeliğin 20-30. ve 30-50. günlerindeki köpeklerde plazma fibrinojen konsantrasyonu farklılık taşımaktaydı. İstatiksel açıdan bu fark anlamlıydı ( $P < 0.001$ ). Gebeliğin 50. gün ve sonrasında daha evvelki dönemlerindeki değerle kıyaslandığında farklılık daha da belirgindi ( $P < 0.001$ ).

Gebe olmayanlarda diöstrusun farklı dönemlerinde plazma fibrinojen konsantrasyonları arasında belirgin bir fark yoktu ( $P > 0.001$ ). Gebe ve gebe olmayan köpeklerde plazma fibrinojen konsantrasyonu

karşılaştırıldığında gebeliğin 20-50. günlerinde olan köpeklerle gebe olmayan diöstrusun 20-50. günlerindeki köpeklerde plazma fibrinojen konsantrasyonunda büyük farklılıklar vardı ( $P < 0.001$ ). Oysaki gebeliğin 50. gün ve daha ileri dönemleriyle gebe olmayan köpeklerde fibrinojen konsantrasyonlarında belirgin bir fark yoktu ( $P > 0.001$ ).



Şekil.2. Gebe ve gebe olmayan köpeklerde plazma fibrinojen seviyesi.

Figure.2. Plasma fibrinogen levels in pregnant and non-pregnant bitch.

Tablo.1. Gebe ve gebe olmayan köpeklerde plazma fibrinojen değerleri ( $\bar{X} \pm SD$ )  
Table.1. Plasma fibrinogen concentrations in pregnant and nonpregnant bitches ( $\bar{X} \pm SD$ ).

Gebelik Dönemi (Diöstrus günleri)	20-30	30-50	50-Doğum
Gebe Köpekler	$376 \pm 9$ mg/dl <sup>a</sup>	$445 \pm 21^b$ mg/dl	$245 \pm 15^c$ mg/dl
Gebe Olmayanlar	$242 \pm 19^*$ mg/dl	$250 \pm 17^{**}$ mg/dl	$256 \pm 11^{***}$ mg/dl

a-b-c  $P < 0.001$

a-\*  $P < 0.001$

b-\*\*  $P < 0.001$

c-\*\*\*  $P > 0.001$

## Tartışma ve Sonuç

Fibrinojen düzeyleri yangılarda, neoplastik olgularda, gebelik ve oral kontraseptivlerin kullanımında artmaktadır (2,3,4,6). Köpeklerde gebelik ile ilgili olarak hemotokritte azalma ve plazma volümünde artış söz konusudur. Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda köpeklerde gebeliğin saptanmasında C-reaktif proteinler ve plazma fibrinojen seviyesindeki artışlar doğrulayıcı bir test kullanılmıştır (8,9,11). Pekçok araştırmacı (1,3,4,9,10,12) gebelikte fibrinojen konsantrasyonunun luteinize hormon dalgasından sonraki 20-30. günler arasında artış olduğunu, gebeliğin 20-50. günlerinde

maksimum düzeye çıktığını Concannon ve ark. (4,5) gebeliğin 21-50 günlerinde plazma fibrinojen konsantrasyonu-nun  $539 \pm 29$  mg/dl'den yüksek olduğunu, bu dönemde gebe olmayanlarda ise fibrinojen düzeyinin  $188 \pm 8$  mg/dl olduğunu bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar 50. günden sonra gebe ve gebe olmayanlar arasında fark olmadığını belirtmektedirler.

Bu araştırmada plazma fibrinojen konsantrasyonu gebeliğin 20. gününden itibaren artmaya başladığı, bu artışın 30. günde daha da belirginleştiği ve 30-50. günlerde maksimum konsantrasyona ulaştığı, gebeliğin 50. günden itibaren fibrinojen seviyesi düştüğü

ve bazal seviyeye indiği görüldü. Gebeliğin 50. gününden sonraki değer ile gebe olmayan köpeklerdeki değer arasında bir farklılık yoktu. Bu sonuçlar yukardaki araştırmacıların bulgularına benzerlik taşımaktadır.

Bazı araştırmacılar köpek reaktif proteinlerinin gebeliğin 26-50. günlerinde düzeylerinde bir artış söz konusu iken düzeylerinin köpek ırklarına göre değişeceğine dikkat çekmektedirler.

Concannon ve ark. (4) yaptıkları bir çalışmada fibrinojen konsantrasyonunu daha önceki yapılan çalışmalardan 10 kat daha az bulmuşlardır.

Araştırma sonucunda plazma fibrinojen konsantrasyonu araştırmacıların saptadıklarından biraz farklılık taşımaktadır. Biz bu farklılığı yapılan ölçüm tekniklerine ve fibrinojen konsantrasyonunun farklı ırk köpeklerde sağlıklı ölçümler yapılmaması sonucu standardize edilememesinden kaynaklandığı şeklinde düşünmekteyiz.

Sonuç olarak bizim bulgularımız gebe köpeklerde fibrinojen konsantrasyonunun devamlı olarak arttığını ve bu artışın yalancı gebe veya gebe olmayan köpeklere oranla çok daha belirgin olduğu, bu yöntemin bu türlerde gebelik teşhis yöntemi olarak kullanılabilirliği görüşünü desteklemektedir. Çok daha önemlisi birçok laboratuvar ölçümleri yapılarak fibrinojen ölçümlerinin standardize edilmesi, bu yöntemin bir diğer önemi radyoaktif bir maddenin kullanılmasına ihtiyaç göstermemesidir. Bununla birlikte çok sayıda ve farklı ırklarda fibrinojen düzeylerinin ölçülerek doğru ve güvenli gebelik teşhis yöntemi olup olamayacağı belirlenmeli, fibrinojen konsantrasyonuna bakarak gebelik teşhisi yapılacak köpeklerde öncelikle subklinik enfeksiyon veya klinik yangısel bir reaksiyon olup olmadığının önceden bilinmesi gerekli olup, fibrinojen düzeyindeki artışlar gebeliğin 50. gününden sonra belirgin olmadığı göz önünde tutulmalı, bu dönemde bu yöntemin gebelik teşhisinde kullanılmasının hatalara sebep olacağı bilinmelidir. Fibrinojen düzeyine bakılarak gebelik teşhisi gebeliğin 30-50. günleri arasında yapılmalı, gebeliğin başlangıcı olarak ilk çiftleşme, preovulator LH dalgası, vaginal sitolojik bulgular veya progesteron ölçümleri temel alınmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Benjamin, M.M. Outline of Veterinary Clinical Pathology. (1979). Third Edition. Ames, Iowa. 117.
2. Brun, E., Lingaas, F. and Larsen, H.J. (1989). Turbimetric measurement of immunoglobulin G in serum using an automatic centrifugal analyser. Research in Vet Sci 46: 168-171.
3. Castracane, D., Gimpel, T., Prien, S. (1995). Peri-implantation changes in plasma fibrinogen in women and rats. Biol Reprod 52: 189-190.
4. Concannon, P., Gimpel, T., Newton, L. and Castracane, D. (1996). Postimplantation increase in plasma fibrinogen concentration with increase in relaxin concentration in pregnant dogs. AJVR 57:(9) 1382-1385.
5. Concannon, P.W., Powers, M.E. and Holder, W. (1977). Pregnancy and parturition in the bitch. Biol Reprod 16: 517-526.
6. Conner, J.G. and Eckersall, P.D. (1995). Acute phase response in the dog following surgical trauma. Res Vet Sci 45: 107-110.
7. Eckersall, P.D., Harvey, M.J.A. and Ferguson, J.M. (1993). Acute phase proteins in canine pregnancy. J Reprod Fertil 47: 159-164.
8. Eckersall, P.D., Conner, J.G. and Harvie, J. (1991). An immunoturbidimetric assay for canine C-reactive protein. Vet Res Commun 15: 17-24.
9. Eckersall, P.D. and Conner, J.G. Bovine and Canine Acute Phase Proteins. (1988). Vet Res Commun 12: 169-178.
10. Doolittle, R.F. Fibrinogen and Fibrin. (1981). Scientific American 245: 92-101.
11. Gentry, P.A., Liptrap, R.M. (1977). Plasma levels of specific coagulation factors and estrogens in the bitch during pregnancy. J. Small. Anim. Pract. 18: 267-275.
12. Rossi, E., Mondonico, P., Lombardi, A. and Preda, L. (1988). Method for the determination of functional (clottable) fibrinogen by the new family of ACL coagulometers. Thrombosis Research 52: 453-468.
13. Sortino, M.A., Cronin, M.J. and Wise, P.M. (1989). Fibrinogen stimulates dog following surgical trauma. Res Vet Sci 45: 107-110.
14. Thatcher, M.J.D., Shille, V.M. and Buhi, W.C. (1994). Canine conceptus appearance and de novo protein synthesis in relation to the time of implantation. Theriogenology 41: 1679-1692.