

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PATOLOJİ (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**KEDİ VE KÖPEKLERDE ANEMİ BULGULARI
GÖSTEREN ENFEKSİYÖZ VE NONENFEKSİYÖZ
HASTALIKLARDA ERİTROSİT MORFOLOJİLERİNE
SİTOPATOLOJİK YAKLAŞIM**

AHMET ALPEREN ÖZLER
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nihat TOPLU

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-22019 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2023

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Patoloji Anabilim Dalı (Veteriner) Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Ahmet Alperen ÖZLER tarafından hazırlanan “Kedi ve Köpeklerde Anemi Bulguları Gösteren Enfeksiyöz ve Nonenfeksiyöz Hastalıklarda Eritrosit Morfolojilerine Sitopatolojik Yaklaşım” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: .../08/2023

Üye (T.D.) : Prof. Dr. Nihat TOPLU Aydın Adnan ... (imza) ...
Menderes Üniversitesi

Üye : (ünvan, adı soyadı) (üniversite) (imza) ...

Üye : (ünvan, adı soyadı) (üniversite) (imza) ...

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenim sürecinin her aşamasında ve bu çalışmanın ortaya konmasında bana yardımcı olan, ilgi ve uyarıları ile bilgilerini paylaşarak yol gösteren tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Nihat TOPLU'ya emekleri ve yardımları için teşekkür ederim. Doktora eğitimi boyunca katkıları ve önerilerini esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Recai TUNCA, Prof. Dr. Şule Yurdağül ÖZSOY, Prof. Dr. Hamdi AVCI ve Öğretim Üyesi Dr. Tuğrul EPİKMEN'e ve Araştırma Görevlisi Dr. Emrah İPEK'e teşekkür ederim. Yüksek Lisans tez çalışmam sürecinde bütün laboratuvar uygulamalarında yardımlarını benden esirgemeyen Araştırma Görevlisi Dr. Ayşe Nur AKKOÇ'a ayrıca teşekkür ederim.

Bu tez çalışması sürecinde, Bodrum Terapi Veteriner Polikliniği hekimlerine ve Uzm. Veteriner Hekim Canset ÖZDEN'e desteklerini esirgemeyerek bana sağladıkları katkılardan dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca hep yanımda olan, her koşulda desteklerini ve güvenlerini hissettiğim sevgili aileme ve nişanlıma da ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	xi
ÖZET	x
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Anemi	2
2.1.1. Anemilerin Etiyolojisi ve Sınıflandırılması	2
2.1.1.1. Rejeneratif Anemiler	3
2.1.1.1.1 Kan Kaybı Anemisi	7
2.1.1.1.2 Hemolitik Anemiler	8
2.1.1.1.2.1 İmmun Aracılı Hemolitik Anemiler	9
2.1.1.1.2.2. Kan Parazitleri Kaynaklı Görülen Anemiler	13
2.1.1.1.2.3 Heinz Cisimciği Anemisi	17
2.1.1.1.2.4. Kimyasal Etkenler ve Alimenter Kaynaklı Anemiler	18
2.1.1.1.2.5. Piruvat kinaz (PK) eksikliği	19
2.1.1.2. Rejeneratif Olmayan Anemiler	19
2.1.1.2.1. Kronik Böbrek Yetmezliğine Bağlı Nonrejeneratif Anemi	21
2.1.1.2.2. Demir Eksikliği Anemisi	23
2.1.1.2.3. Yangısal Hastalık Anemisi	26
2.1.1.2.4. Aplastik Anemi	27
2.1.1.2.5. Saf Kırmızı Hücre Aplazisi	28
2.1.1.2.6. Parvovirus Enfeksiyonu Kaynaklı Anemi	28
2.1.1.2.7. Miyelodisplastik Sendrom	29
2.2. Anemik Vakalarda Oluşabilecek Potansiyel Hatalar ve Belirteçleri	29
2.3. Eritrosit Morfolojileri	31
2.4. Doğru Numune Alma Yöntemi	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Gereç	37

3.1.1. Cihazlar.....	37
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	37
3.1.3. Hayvan Materyali.....	37
3.2. Yöntem	38
4. BULGULAR	41
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR.....	64
EKLER.....	70
Ek 1	70
Ek 2	71
BİLİMSEL ETİK BEYANI	72
ÖZ GEÇMİŞ.....	73

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AID	: Yangısal Hastalık Anemisi
AIHA	: Birincil Otoimmün Hemolitik Anemi
ALT	: Alanin Aminotransferaz
ANA	:Anti Nükleer Antikor
AST	: Aspartat Aminotransferaz
BUN	:Kan Üre Nitrojen
CREA	: Kreatin
Cu	: Bakır
DIC	: Yaygın İntravasküler Koagülasyon
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EPO	: Eritropoietin
Fe	: Demir
FELV	: Feline Lösemi Virus
FIV	: Kedi İmmun Yetmezlik Virüsü
HB	: Hemoglobin
HCT	: Hematokrit
HJB	: Howel Jolly Cisimcikleri
DEA	: Demir Eksikliği Anemisi
IMHA	: Bağışıklık Aracılı Hemolitik Anemi
IRIS	: International Renal Interest Society
KBH	: Kronik Böbrek Yetmezliği
MCH	: Ortalama Hücresel Hemoglobin

MCHC	: Ortalama Hücresel Hemoglobin Konsantrasyonu
MCV	: Ortalama Korpüsküler Hacim
nRBC	: Çekirdekli RBC
PCV	: Paketlenmiş Hücre Hacmi
PK	: Piruvat Kinaz
PHOS	: Fosfor
PRCA	: Saf Kırmızı Hücre Aplazisi
RBC	: Eritrosit
RDW	: Kırmızı Kan Hücreleri Dağılım Genişliği
RNA	: Ribonükleik Asid
SDMA	: Simetrik Dimetilarjinin
TBIL	: Total Bilirubin
TIBC	: Total Demir bağlama kapasitesi
Zn	: Çinko

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Olgunlaşmamış eritrositlerin kan frotilerindeki görünüşleri (Cornell University College of Veterinary Medicine, t.y. ‘den değiştirilmiş ve alınmıştır).....	5
Resim 2. Retikülosit salınımını gösteren eritropoez diyagramı (Harvey, 2012’ den değiştirilerek alınmıştır).	7
Resim 3. İmmün aracılı hemolitik aneminin patogenezi (Day, 2010’ dan değiştirilerek alınmıştır).	10
Resim 4. Şiddetli IMHA'lı bir köpektan alınan EDTA ile antikoagülanlı kanda kırmızı benekler olarak gözlenen otoaglutinasyon (Archer, 2013).	11
Resim 5. IMHA'lı bir köpekte bariz makroaglutinasyon gösteren pozitif slayt aglutinasyon testi (Archer, 2013).....	12
Resim 6. Demir döngüsü (Harvey, 2010’dan değiştirilerek alınmıştır).	25
Resim 7. Düşük ve yüksek serum demir seviyelerinde bağırsak demir emilim mekanizması (Naigamwalla ve diğerleri, 2012’ den değiştirilerek alınmıştır).	25
Resim 8. Makrositik gri-mavi polikromatofilik eritrositler (ok). Tek bir Howell - Jolly cisimciği (yıldız), periferik yerleşimli Mycoplasma haemofelis organizmalarının (ok başları) görüntüsü. Wright- stain; 100 x.	41
Resim 9. Oksidatif hasara uğramış eritrositlerde görülen Heinz cisimcikleri (ok başı). Tek bir adet sferosit (yıldız). Kedi (Olgu no: 21, 24). Wright stain. 100x.	45
Resim 10. Yapılan çalışmada kan yaymalarında görülen eritrosit morfolojileri. A. Hipokromazi, B. Stomatosit, C. Polikromazi, D. Gost cell, E. nRBC, polikromazi, F. Metarubrisit, megoloblast. G. Keratonosit, H. Ekinosit, polikromazi, nRBC, I. Heinz cisimciği, J. Polikromazi, nRBC, K. Şıştosit, L. Hipokromazi, M. Ekinoeliptosit, N. Eksentrosit, O. Heinz cisimciği, P. Dakrosit, R. Qrbc, S. Hipokromazi, T. Anizositozis, U. Howell jolly cisiimciği, V. Polikromazi, sferosit, W. Lökemi, X. Lökemi, hipokromazi, Y. Ekinoeliptosit, hipokromazi.	46
Resim 11. Kemik iliği yanıtının göstergesi olan nRBC’ler (ok), Babesia spp. etkeni (ok başı) ve Mycoplasma spp. (yıldız) görüldü. (A; kedi, olgu no: 32, B; kedi, olgu no: 11, C; köpek, olgu no; 8, D; köpek, olgu no: 19).Wright stain. 100x.	47
Resim 12. Ehrlichia spp. monositin sitoplazmasındaki morula görüntüsü (ok). (A; köpek, olgu no: 23, B; kedi, olgu no: 24, C; köpek, olgu no: 22). Wright stain.100x (Bodrum Terapi Veteriner Kliniği, 2023).	48

Resim 13. M. haemofelis enfeksiyonlu bir kediden alınan kan yayması. (A; olgu no: 11, B; olgu no: 17, C; olgu no: 7). Wright stain.100x.	49
Resim 14. Nötrofil stoplazmasında Anaplasma spp. görüntüsü (ok). (A; köpek, olgu no:24. May-Grünwald Giemsa. B, C; kedi, olgu no:24, D; kedi, olgu no: 5, Wright stain). 100 x.	50
Resim 15. Karaciğer ve kalp gibi organların fonksiyon bozukluklarında görülen, eritrosit sitoplazmasında vezikül içeren keratositler (ok başı) ve vezikülleri patlamış keratositler (yıldız). Düzensiz çıkıntılı akantositler (ok) ve düzenli çıkıntılara sahip eritrositler olan ekinositler (çarpı) görülmektedir. Kedi kan yayması (olgu no: 31). Wright stain. 100x. 51	51
Resim 16. Bir kedide Babesia Rossi görüntüsü (olgu no:32). Babesia etkenlerinin eritrosit stoplazmasındaki görüntüsü (ok başı), polikromatofilik eritrositler (ok), Howell-Jolly cisimcikleri (yıldız). Wright stain. 100x.	52
Resim 17. Hemoglobin konsantrasyonunun azalması ve orta kısımdaki solgunluğun artması ile karakterize olan hipokromik eritrositlerin görüntüsü. Wright stain. 100x.	53
Resim 18. Lökemik lenfomalı köpeğin periferik kan yaymasında görülen lenfositler (olgu no: 16) Wright stain. 100x.	53
Resim 19. Lenfomalı köpekten alınan lenf yumrusu aspiratı (olgu no: 20, 25). Wright stain. 100x.	54
Resim 20. Dirofilaria spp. mikrofiler görüntüsü (olgu no: 27). Wright stain. 40x.	54
Resim 21. Köpeklerden alınan kemik iliği aspirat yaymalarında megakaryosit gelişim evreleri. A; tek çekirdekli megakaryoblast. B; beş çekirdekli promegakaryosit. C; mavi sitoplazmaya ve çok sayıda kaynaşmış çekirdeğe sahip bazofilik megakaryosit. D; Çoklu kaynaşmış çekirdek yapısı içeren olgun megakaryosit. Wright stain. 100x.	55
Resim 22. Köpek (olgu no: 19) ve kedi (olgu no: 23) kan yaymasında aglütinasyon görseli. Wright stain. 100x.	55
Resim 23. Bir köpekte nötrofillerin sitoplazmalarında Hepatozoon canis morfofilleri (olgu no: 6) ve hipokromik eritrositler. Wright stain. 100x.	56
Resim 24. Bir köpekte (olgu no: 21) şistositik eritrosit görüntüsü. Wright stain. 100x.	56

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Anemi şiddetinin sınıflandırma kılavuzu (Ippsi ve diğeri 2021).....	39
Tablo 2. Anormal Hücrelerin Ortalama Sayısına Dayalı Eritrosit Morfolojisinin Yarı Kantitatif Değerlendirmesi. 100x/Mikroskopik Alanı (Harvey, 2012).....	39
Tablo 3. Anemik köpeklerin eritrosit yorumlanması için gerekli olan hemogram değerleri.....	42
Tablo 4. Anemik kedilerin eritrosit yorumlanması için gerekli olan hemogram değerleri.	43
Tablo 5. Olguların aneminin şiddetine göre dağılımı.	50

ÖZET

KEDİ VE KÖPEKLERDE ANEMİ BULGULARI GÖSTEREN ENFEKSİYÖZ VE NONENFEKSİYÖZ HASTALIKLARDA ERİTROSİT MORFOLOJİLERİNE SİTOPATOLOJİK YAKLAŞIM

Özler A. A. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Patoloji (Veteriner), Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2023.

Amaç: Kliniklere gelen ve hemogram sonuçlarına göre anemik olan kedi ve köpeklerin kan yayması hazırlanarak hızlı ve ucuz bir yöntemle, rejeneratif ve nonrejeneratif sınıflandırmasının yapılması ve klinik gidişatın tespiti hedeflenmiş olup bu yöntemin teşhis ve tedavide önemli bir yol gösterici olması açısından fayda sağlayacağı düşünüldü.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilen farklı ırk, yaş ve her iki cinsiyetten toplam 59 anemik 10 klinik olarak sağlıklı kedi ve köpekten alınıp gönderilmiş kanların rutin sitopatolojik muayenesi yapılmış olup, aynı örneklerin hemogram değerleri için hizmet alımı yapıldı. Kan yaymalarının incelenmesi Wright's eosin metilen mavisi ve May-Grünwald Giemsa boyaları ile yapıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelendi. Mikroskopik görüntülerin dijital fotoğrafları çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı. Tam kan analizleri kan sayım cihazı ile sayıldı.

Bulgular: Bu çalışmada eritrosit morfolojileri kromozom derecelerine göre sınıflandırıldı. Kan yaymalarında, anemik kedi vakalarında 10 kedide makrositik, 5 kedide mikrositik bir anemi görülürken köpek vakalarında 16 makrositik, 3 mikrositik vaka görüldü. 12 kedi kan yayması hipokromik görülürken, 8 köpek vakasında hipokromik olduğu bildirildi.

Sonuç: Anemik olan kedi ve köpeklerin kan yaymalarının hızlı ve ekonomik olarak hazırlanabildiği, aneminin sınıflandırmasının yapılabildiği, eritrosit morfolojilerinde değişikliklerin incelenmesi ile bazı spesifik hastalıkların kesin teşhisine yaradığı, kan yaymalarında görülen kan parazitlerinin teşhisinde ucuz, güvenli ve hızlı tanıya ulaştırdığı, klinik gidişatın tespitinin sağlanabildiği ve hastalıkların tedavilerinin ne derece olumlu yanıt alındığını gözlemlenmesini sağladı. Hedeflenmiş olan bu yöntemin teşhis ve tedavide önemli bir yol gösterici olması açısından fayda sağladığı görüldü.

Anahtar kelimeler: anemi, kedi, klinik patoloji, köpek, periferik yayma.

ABSTRACT

APPROACH TO CYTOPATHOLOGICAL EVALUATION OF ERYTHROCYTE MORPHOLOGIES IN INFECTIOUS AND NON-INFECTIOUS DISEASES SHOWING ANEMIA FINDINGS IN CATS AND DOGS

Abstract: Özler A. A. Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Pathology (Veterinary), Master's Thesis, Aydın, 2023.

Objective: The aim is to classify cats and dogs with anemia based on their hemogram results, using a fast and cost-effective method of preparing blood smears. This method, whether regenerative or non-regenerative, is intended for determining clinical progression and potentially serving as a significant diagnostic and therapeutic tool, offering guidance in diagnosis and treatment.

Materials and Methods: In this study, a total of 59 anemic animals (10 clinically healthy cats and dogs) of different breeds, ages, and both genders were included. Blood samples were collected and sent to the Department of Pathology for routine cytopathological examination, while the same samples were used for obtaining hemogram values through a service provider. Blood smears were prepared and examined using Wright's eosin-methylene blue and May-Grünwald Giemsa stains. The prepared slides were examined under a light microscope, and digital photographs of the microscopic images were taken and transferred to a computer. Complete blood counts were performed using a hematology analyzer.

Results: In this study, erythrocyte morphologies were classified according to chromatic degrees. Among the blood smears, 10 cats exhibited macrocytic anemia, and 5 cats exhibited microcytic anemia, while in dogs, 16 cases of macrocytic and 3 cases of microcytic anemia were observed. Hypochromic anemia was reported in 12 cat smears and 8 dog smears.

Conclusion: This study demonstrated that blood smears of anemic cats and dogs could be prepared rapidly and economically, allowing for the classification of anemia and the examination of erythrocyte morphologies, which can aid in the definitive diagnosis of specific diseases. It also highlighted that blood smears are a cost-effective, safe, and rapid diagnostic tool for the identification of blood parasites, the determination of clinical prognosis, and the

assessment of treatment responses. The targeted method proved to be a valuable guiding tool in diagnosis and treatment.

Keywords: anemia, cat, clinical pathology, dog, peripheral smear

1. GİRİŞ

Köpek ve kedilerde anemi; birçok hastalığın seyri veya sonucunda gelişen, yaygın görülen bir bulgudur. Kan kaybı veya eritrositlerin yaşam süresinin kısalması sonucu ortaya çıkan açığı eritropoezisin artırılması ile gideren anemiler rejeneratif anemi olup, periferal kanda retikülosit sayısında artış, kan yaymasında polikromazi ile karakterizedir. Buna karşın nonrejeneratif anemiler, farklı nedenlerden eritrosit yapımında azalmadan ileri gelir ve aneminin bu tipinde retikülosit sayısı normal, çoğunlukla da düşüktür (Weiss, 1984; Lippi ve diğerleri, 2021; Zachary, 2022). Anemi hayvanlarda çeşitli hastalıklar sonucu ya da hastalık sürecinde görülen yaygın bir bulgu olup kan kaybı, hemolize ve kemik iliği baskılanması yoluyla eritrosit üretimini azaltan hastalıklar anemiye neden olur (Nelson ve Couto, 2019). Kedi ve köpeklerde kan kaybı başlıca; travma, yaralanma, iç organlarda hasar, pire, keneler ve kancalı kurtlar gibi paraziter enfestasyon, gastrointestinal kanal, böbrek, idrar kesesi ya da dalakta tümör nedenlerinden kaynaklanır kaybedilir (Rebar ve Metzger, 2001; Nelson ve Couto, 2019). Hemolizin ana nedenleri ise; otoimmün hastalık, özellikle immün aracılı hemolitik anemi, kan parazitleri, kimyasallar veya toksinlerdir (Rebar ve Metzger, 2001; Zachary, 2022).

Sunulan bu tez çalışması kapsamında tam kan analizinde anemi durumu görülen kedi ve köpeklerin kan yaymalarının hazırlanması, incelenen yaymalar doğrultusunda anemi tipinin kan değerleri ile karşılaştırılması, kan tablosuna yansıyan patolojik durumların kan yaymalarında görülen sitopatolojik durumlar ile kıyaslanması ve gerekli durumlarda ek laboratuvar parametlerinin eklenerek bir bütün halinde değerlendirilmesi yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Anemi

Dolaşımdaki kanda alyuvar sayısının veya hemoglobin miktarının azalmasına ya da her ikisinin birden referans değerlerin altına düşmesine anemi denir. Sonuç olarak kanın oksijen taşıma kapasitesindeki azalmadır. Anemi, eritrositlerin kaybı, yapımında yetersizlik veya yıkımındaki artışa bağlı olarak şekillenmektedir. Kırmızı kan hücresi (RBC) kütlesinde bir azalma olarak tanımlanabilir. Pratik anlamda, paketlenmiş hücre hacmi (PCV) veya hematokrit (HCT), hemoglobin (Hb) konsantrasyonu veya RBC sayısının, tür için referans aralığının altına düşmesidir. PCV ve HCT terimleri birbirinin yerine kullanılır (Nelson ve Couto, 2019; Paltrımerı, 2017).

Anemi bir hastalıktan ziyade alta yatan bir hastalığın sonucunda oluşmuş bir bulgudur ve tüm organizmayı etkileyen bir durumdur. Hastanın genel durumu tamamen bozulur ve tedavi edilmezse ölümlü sonuçlanır (Turner ve diğerleri, 2022). Anemiden kaynaklanan ana klinik belirtiler köpeklerde ve kedilerde soluk veya sarı renkli mukoza zarları, kapillar dolum zamanında uzama, halsizlik, egzersiz toleransının azalması, pika (özellikle kedilerde) ve genel aktivitenin azalmasıdır; köpeklerde pika genellikle saf kırmızı kan hücresi aplazisi (PRCA) ile ilişkilidir. Bu klinik belirtiler akut veya kronik olabilir ve şiddette farklılık gösterebilir; klinik belirtilerin süresi aneminin mekanizmasını yansıtmayabilir (Nelson ve Couto, 2019).

2.1.1. Anemilerin Etiyolojisi ve Sınıflandırılması

Anemi, rejeneratif veya rejeneratif olmayan olarak sınıflandırılabilir (Maria ve Oikonomidis, 2016). Eritrosit değerlendirmesinde ana patolojik bulguları arasında anemi, eritrositoz, eritrosit morfoloji değişiklikleri ve hücre içi inklüzyonlar yer alır. Aneminin üç genel nedeni, kan kaybı (hemoraji), RBC yıkımı veya lizisi (hemoliz) ve azalmış RBC

üretimidir (erithroid hipoplazisi). Anemiye rejeneratif veya rejeneratif olmayan olarak sınıflandırmak, hastalığın mekanizması hakkında bilgi sağladığı için klinik olarak yararlıdır; rejeneratif anemi kanama veya hemolizi işaret ederken, eritroid hipoplazi veya aplazi gibi durumlar rejeneratif olmayan anemiye neden olur (Zachary, 2022).

Rejeneratif anemiler kanamalara ve hemolitik durumlara bağlı olarak sık görülürken, rejeneratif olmayan anemiler kronik hastalık anemisi, kronik böbrek yetmezliği anemisi, aplastik anemi ve beslenme kaynaklı anemi gibi durumları içerir (Maria ve Oikonomidis, 2016).

2.1.1.1. Rejeneratif Anemiler

Rejeneratif anemilerde eritrositler yıkıma uğrayarak veya kaybedilerek sayıları azalır. Bir aneminin karakterizasyonunda ilk adım, kemik iliği yanıtının değerlendirilmesidir. Eğer kemik iliği bir anemiye yanıt veriyorsa, anemi rejeneratif olarak sınıflandırılır ve aneminin nedeni kanama veya hemolizdir (Zachary, 2022). Rejeneratif anemilerde dolaşımda retikülositler veya polikromatofilik kırmızı kan hücreleri (olgunlaşmamış kırmızı kan hücreleri) bulunması, işlevsel bir kemik iliği olduğunun açık bir göstergesidir; dolayısıyla rejeneratif anemiler sadece hemoliz veya kan kaybı sonucunda oluşabilir. Rejeneratif anemiler kan kaybı veya hemolitik anemiler olarak sınıflandırıldığı için, aneminin ciddiyeti dalak kasılması ve ekstravasküler boşluktan geçen sıvının kan hacmini geri kazanması nedeniyle aneminin şiddeti maskelenebileceğinden, kan kaybının HCT değerine yansımaları bir ila üç gün sürebileceğini unutmamalıdır. Hastanın travma veya parazitik enfeksiyon öyküsü kan kaybını düşündürebilir. Ayrıca, bu gibi durumlarda toplam protein konsantrasyonu azalabilir. Diğer bir yararlı ayırt edici faktör, hemolitik anemilerin, genellikle kan kaybı anemilerinden çok daha fazla rejeneratif olmasıdır. Vücuttaki demir, hemolitik anemilerde korunur ve kan kaybıyla kaybedilir (Rebar ve Metzger, 2001; Nelson ve Couto, 2019).

Bir kemik iliği veya rejeneratif yanıt, periferik kanda olgunlaşmamış çekirdeksiz kırmızı kan hücreleri tanımlanarak değerlendirilir. Türlerin rejeneratif tepkileri farklıdır ve bir aneminin rejeneratif olup olmadığını belirlerken bu farklılıklar dikkate alınmalıdır. Polikromazi, kandaki olgunlaşmamış çekirdeksiz eritrositlerin bir özelliğidir. Olgunlaşmamış RBC, hücrelere mor bir renk veren hemoglobin kırmızısını dengeleyen orta

ila büyük miktarlarda RNA içerdiğinden mavidir. Birçok türde hücre retikülosit aşamasına ulaştığında, yaklaşık 2 gün kemik iliğinde kalır, daha sonra dolaşım sırasında RNA'sını ve yüzey zarının bir kısmını kaybederek olgunlaşmasını tamamlamak üzere serbest bırakılır. Bu genellikle dalakta gerçekleştirilir (Cornell University College of Veterinary Medicine, t.y.). Rejenerasyonun periferik kan yayması üzerinde değerlendirilmesi mümkündür. Köpeklerde ve kedilerde rejenerasyon; polikromatofillerin (Wright veya Diff-Quik boyası kullanılarak) veya retikülositlerin (yeni metilen mavisi boyası kullanılarak) varlığıyla belirlenir. Bu olgunlaşmamış RBC'ler RNA içerdiği için mavimsi renkte boyanırlar. Polikromatofiller ve retikülositler olgun RBC'lerden daha büyük olduğu için, rejenerasyonun bir diğer özelliği olan anizositoz görülür (Rebar ve Metzger, 2001).

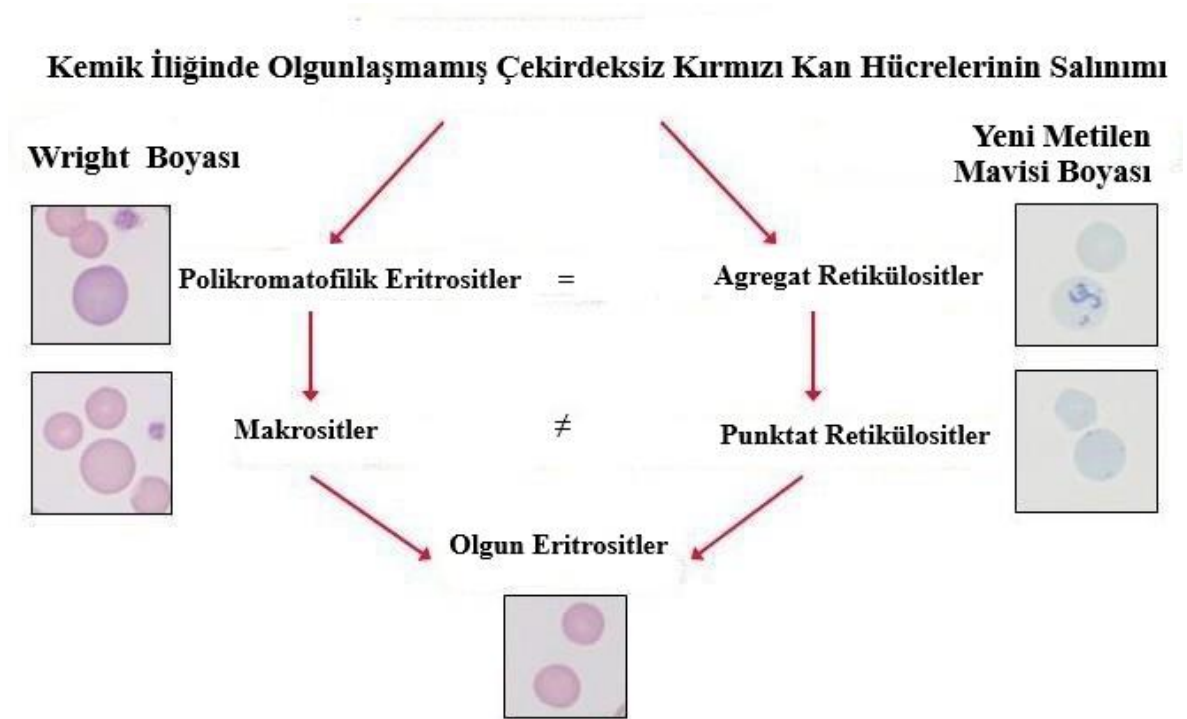
Hücre rengindeki değişiklikler arasında polikromazi ve hipokromazi bulunur. Polikromatofilik hücreler, yaygın bir mavi renge sahip büyük hücrelerdir. Bu hücreler, eritrosit rejenerasyonunun önemli bir göstergesi olduğundan, raporlama aneminin kemik iliği yanıtının derecesini yansıtmalıdır. Bu nedenle, tek tabaka alandaki belirli bir sayının önemi türler arasında değişir. Hipokromik hücreler, hücrenin çapının yarısından daha büyük olan merkezi solgunlukla ilişkili olarak anormal soluk bir renge sahip hücreler olarak tanımlanır. Yeterli sayıda hipokromik hücre bulunuyorsa, Ortalama Hücresel Hemoglobin (MCH) ve Ortalama Hücresel Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC) düşecektir. Normal kan yaymalarında hipokromik hücreler gözlenmemeli ve varlıkları belirtilmelidir (Weiss, 1984).

Romanowsky, wright veya diff-quick gibi boylar ile boyanan kan frotileri ile new metilen blue ile yapılmış frotilerin üzerinde farklı bir görünüme sahip iki tür olgunlaşmamış çekirdeksiz RBC vardır. Bu olgunlaşmamış RBC'ler: New metilen blue ile hazırlanmış frotilerdeki agregat retikülositler, wright boyası ile hazırlanmış bir yaymadaki tüm polikromatofiller retikülositlere karşılık gelmektedir. Punktat retikülositler, agregat retikülositlere oranla daha çok olgunlaşmış retikülositlerdir ve daha fazla RNA içerir. Kedide bu olgunlaşma evresi ortalama 12 ila 24 saat sürer (Zachary, 2022).

Sağlıklı köpeklerde (< %1,5 retikülositler) düşük sayıda polikromatofil görülür. Bir kan frotisinde polikromazi derecesi, kemik iliğinin bir anemiye yanıt verip vermediği konusunda iyi bir kılavuzdur, yeterli polikromatofil varsa anemi rejeneratiftir. Orta veya büyük miktarda RNA içerdiklerinde, agregat retikülosit olarak adlandırılırlar ve bir wright boyası veya diff-quick boylarla mor renkte boyanırlar, ancak sadece az miktarda RNA

içeriyorsa, noktasal retiküositler olarak adlandırılırlar (Weiss, 1984; Cornell University College of Veterinary Medicine, t.y). Polikromatofilik eritrositlerin yeni metilen mavisi ve Wright boyası arasındaki görüntü karşılaştırması Resim 1 de belirtilmiştir.

New metilen blue ile hazırlanmış frotilerdeki noktasal retiküositler, Wright ile boyalı bir yaymada makrositler olabilir. Noktalı retiküositler Wright boyası ile hazırlanmış bir frotide kırmızı boyanır çünkü mor lekelemek için çok az RNA'ya sahiptirler. Noktalı retiküositler, agregat retiküositlerden daha olgundur daha az RNA içerir ve olgun eritrositler kan dolaşımında dolaşırken yeniden modellenirler. Tüm noktalı retiküositlerin makrosit olmadığı gibi, tüm makrositlerin de noktalı retiküositler olmadığını unutulmamalıdır. Makrositler, anormal DNA metabolizması (örn. miyelodisplastik sendrom) dahil olmak üzere diğer mekanizmalar yoluyla oluşturulabilir (Zachary, 2022).



Resim 1. Olgunlaşmamış eritrositlerin kan frotilerindeki görünüşleri (Cornell University College of Veterinary Medicine, t.y. 'den değiştirilmiş ve alınmıştır).

Kanda görülen en yaygın nRBC tipi, tamamen hemoglobinize veya ortokromik metarubrisittir ve kırmızı sitoplazmalı ve küçük bir piknotik çekirdekli yapıdadırlar. Bununla birlikte, nedene bağlı olarak, polikromatofilik metarubrisitler ve daha erken aşamalar mor ile mavi-mor sitoplazmaya ve çekirdeğe sahip olan bazofilik rubrisit kanda

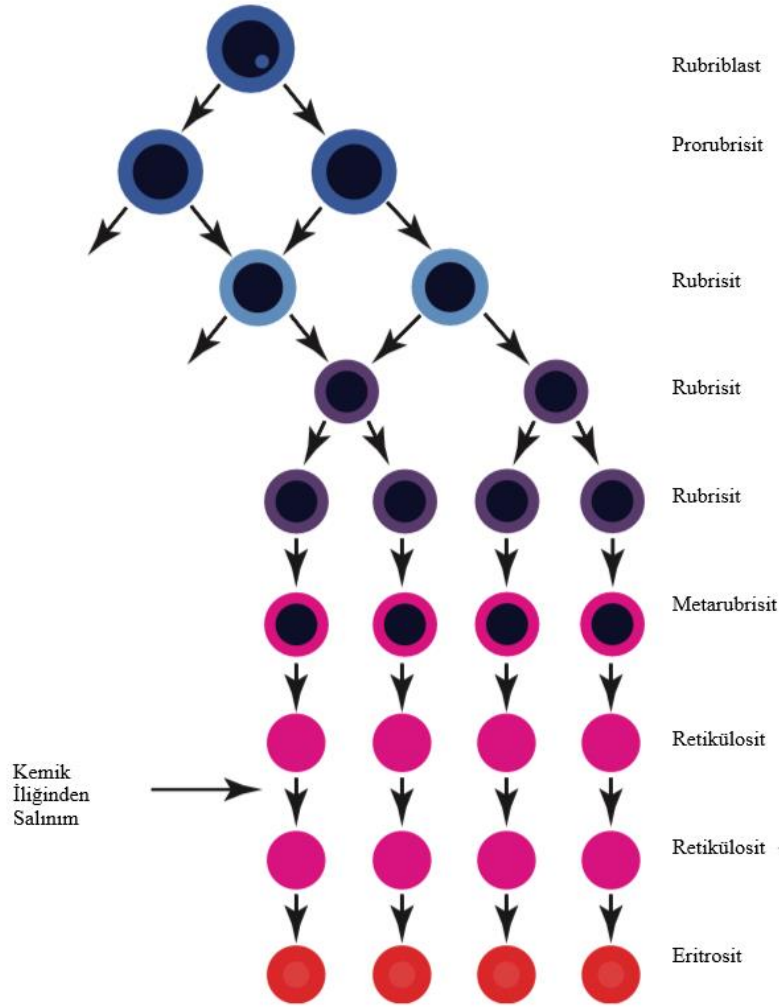
görülebilmektedir. Kanda nRBC'ler arttığında, buna normoblastoz, eritroblastoz veya metarubrisitoz denir (Harvey, 2017).

Nükleer olgunlaşma defektli anemilerde, tanısal bulgu, periferik kanda, kemik iliğinde veya her ikisinde megaloblastik eritrosit öncüllerinin varlığıdır. Megaloblastlar, çekirdeklerinin sitoplazmadan daha olgun olmadığı büyük eritrosit öncüleridir. Normal metarubrisitlerde küçük çekirdekler ve iyi hemoglobineleşmiş sitoplazma bulunur. Buna karşılık, megaloblastik metarubrisitlerde iyi hemoglobineleşmiş sitoplazma bulunur, ancak büyük çekirdekleri veziküler ve olgunlaşmamıştır. Megaloblastlar, sitoplazmik gelişme aşamasında normal kan hücrelerinden daha büyüktür; nükleik asit sentezini gerçekleştiremedikleri için daha az bölünürler. Normal mitozun önkoşulu olan nükleik asit sentezi yapamazlar (Rebar ve Metzger, 2001).

Çekirdekli RBC'ler de küçük miktarlarda bulunabilir, ancak polikromaziye göre her zaman daha az olmalıdır. Polikromazi olmadan çok sayıda nükleatlı RBC, genellikle kemik iliği stromal hasarını gösterir ve bu bulgu uygun olmayan çekirdekli RBC yanıtı olarak adlandırılır (Rebar ve Metzger, 2001).

Eritrositler, kemik iliğinde nükleatlı öncülerden üretilir. En erken tanınabilir öncü rubriblasttır ve onu prorubrisit, bazofilik rubrisit, polikromatofilik rubrisit ve metarubrisit izler. Metarubrisitten çekirdek dışarı atılır ve buna retikülosit denir (Harvey, 2017). Retikülosit salınımını gösteren eritropoez diyagramı Resim 2 de gösterilmiştir.

Nucleated red blood cells (nRBCs), lökosit sayımları manuel yöntemler veya otomatik elektriksel direnç hücre sayacı kullanılarak yapıldığında lökositlerle birlikte sayılır. Kan filmi incelenirken, her 100 lökosit başına düşen nRBC sayısı tablolanmalı ve her kan hücre tipi için mutlak hücre sayılarını hesaplamadan önce nRBC sayısına göre düzeltilmiş lökosit sayısı hesaplanmalıdır. Düzeltme yapılmış lökosit sayısı = ölçülen lökosit sayısı \times (1000 / (100 + nRBC)). Eğer otomatik hücre sayıcılar kullanılarak lökosit sayımları yapılıyorsa ve bu teknoloji nRBC'leri lökositlerden ayırabiliyorsa, yukarıdaki hesaplama gerekli olmayacaktır. Ancak, mevcut nRBC sayısı yine de kaydedilmelidir (Harvey, 2012).



Resim 2. Retikülosit salınımını gösteren eritropoez diyagramı (Harvey, 2012' den değiştirilerek alınmıştır).

2.1.1.1.1 Kan Kaybı Anemisi

Kan kaybı eksternal veya internal olabilir. İnternal kan kaybı, eritrositlerin vücutta parçalanması ve plazma proteinlerinin vücuttan kaybolmaması nedeniyle hemolitik anemiye taklit eder. Eksternal kan kaybı, eritrositlerin yanı sıra plazma proteinlerinin kaybına da neden olur, bu nedenle plazma protein konsantrasyonu değerlendirilmelidir. Hipoproteinemi veya rejeneratif anemi ile birlikte düşük normal plazma proteini, eksternal kan kaybını gösterir. Plazma proteini miktarı, eritrosit kaybından daha hızlı değişkenlik gösterir, bu nedenle hipoproteinemi daha yeni ve büyük hacimli kan kaybıyla ilişkilidir. Kronik kan kaybı, demir eksikliği anemisine neden olabilir. Kanamaya bağlı demir eksikliği anemisi, hızla eritrosit üreten ve demir depolarını kullanan genç

hayvanlarda daha hızlı oluşur. Kan kaybının başlamasından sonraki süre, laboratuvar sonuçlarının modelini büyük ölçüde etkiler. Vücuttaki eritroid kitlenin göstergesi olan Hct, Hgb konsantrasyonu ve RBC sayısı kan kaybindan sonraki ilk birkaç saat içinde artabilir. Bu en çok dalakları çok kasılan atlarda belirgindir ancak kontrollü deney durumları sırasında köpeklerde de görülebilir. Dalak, eritrosit miktarının yaklaşık %20'sini tutar ve dalak kontraksiyonu, kan kaybindan sonraki ilk 1-2 saat anemiye maskeleyebilir. Sıvı değişiminin hızı ve kanamadan sonra normal vasküler hacmin yenilenmesi, vasküler sistemde kalan eritrositlerin ve plazma proteininin ne kadar hızlı seyreltildiğini etkiler. Hematokritin aneminin gerçek şiddetini yansıtmaması 1-2 gün sürebilir. Dehidrasyon durumu Hct'deki düşüşleri geciktirebilir. Agresif sıvı tedavisi Hct'yi hızla azaltabilir ve hatta hemodilüsyona neden olabilir. Kan kaybı anemisi rejeneratiftir, ancak pre-rejeneratif anemi olarak adlandırılan ilk bir iki gün boyunca retikülositlerde herhangi bir artış beklenmez. Pik retikülositozun başlamasından 4-8 gün sonra beklenir. Retikülosit sayıları, başlangıçtan 2 hafta sonra azalır, ancak makrositik hipokromik eritrositler, önceki rejenerasyonun kanıtını vermek için dolaşımda kalır (Tvedten, 2010).

Kanama, eritrositlerin ve protein gibi diğer kan bileşenlerinin damar sisteminden kaçmasına neden olur. Kanama gastrointestinal lümenindeyse, proteinin bir kısmı emilebilir ve üreye dönüştürülebilir, bu da plazmadaki kreatinin ile ilgili olarak artan üre nitrojen konsantrasyonuna neden olur. İdrar yollarındaki kanama, idrar sedimentinde gözlenen eritrositler ile kırmızı idrara neden olabilir. Kanama nedenleri arasında travma, anormal hemostazis, bazı parazitler, ülserler ve neoplazi yer alır. İç ya da dış kanama şeklinde olan kanama, akut ya da kronik olabilir. Akut kanama sırasında, vücutta hemoglobin (Hgb) sentezi ve eritrosit rejenerasyonu için bol miktarda demir deposu vardır. Bununla birlikte, kronik dış kanamada, demir açısından zengin Hgb'nin sürekli kaybı vücudun demir depolarını tüketebilir. Demir depoları azaldıkça eritrosit rejenerasyonu da azalır ve sonunda demir eksikliği anemisine yol açar. Demir eksikliği anemisi zayıf ölçüde rejeneratiftir. Demir vücuttan kaybolmadığı ve eritropoiezis için yeniden kullanılabilirdiği için periton boşluğuna olduğu gibi kronik iç kanamalarda, demir eksikliği anemisi gelişmez (Zachary, 2022).

2.1.1.1.2 Hemolitik Anemiler

Dolaşımdaki eritrositlerin kitleler halinde yıkımı sonucu meydana gelen kansızlık halleridir. Mekanizmanın intravasküler mi, ekstravasküler mi yoksa bunların bir kombinasyonu mu olduğu, spesifik hastalık sürecine bağlıdır. (Eren ve Çiftçi, 2017; Zachary, 2022).

Hemoliz durumundan şüphelenildiğinde eritrosit morfolojileri yakından incelenmelidir. *Haemobartonella spp.*, *Babesia spp.* gibi hemolizin enfeksiyöz nedenleri, etkilenen hayvanlardan alınan kan filmlerinde görülebilir. Ek olarak, sferositler, şistositler ve Heinz cisimcikleri gibi belirli RBC morfolojik anormallikleri, belirli hemoliz türleri için belirteçler olabilir. Sferositoz, immün aracılı hemolitik anemilerde de mevcuttur (Rebar ve Metzger, 2001).

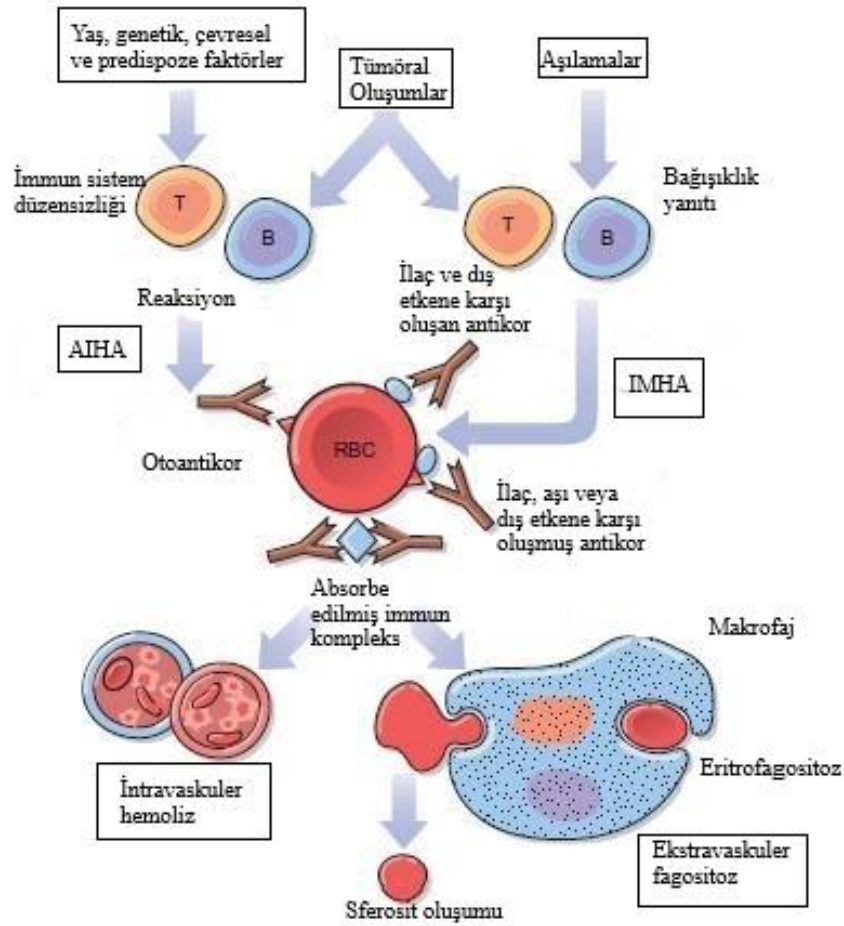
Genel olarak, hemolitik anemilerin klasik sekellerinden biri, plazma bilirubin konsantrasyonunda artış ile karakterize hiperbilirubinemi'dir. Sarı bir pigment olan bilirubin, hiperbilirubineminin eşik değerleri fazlasıyla aştığı durumlarda vücut sıvılarında veya dokularda gözle görülür sarılığın oluşmasına neden olur. İkterus olarak da bilinen sarılık, genellikle plazma bilirubin konsantrasyonu 2 mg/dL'yi aştığında saptanabilir. Bununla birlikte, hiperbilirubinemi ve sarılığın hemoliz için patognomonik olmadığına ve hepatopati veya kolanjiyopati gibi bozulmuş safra akışı durumlarında da ortaya çıkabileceğini de gözönünde bulundurulmalıdır. Sarılığa ek olarak, hemolitik anemi sıklıkla dalakta ekstrasvasküler hemoliz ve makrofaj hiperplazine, ayrıca dalağı kemik iliği dışı hematopoiezise sürükleyerek sekonder splenomegaliye yol açabilir. Hemoliz veya hemoglobinemi olarak adlandırılan intravasküler hemoliz, makroskobik olarak plazma veya serumun pembe renkli olması ile karakterizedir (Zachary, 2022).

2.1.1.1.2.1 İmmün Aracılı Hemolitik Anemiler

İmmün aracılı hemolitik anemi (IMHA), kırmızı kan hücreleri veya kemik iliği eritroid öncüllerinin, immünoglobulinin hücre membranına bağlanmasını takiben tip II aşırı duyarlılık reaksiyonu yoluyla yok edildiğinde ortaya çıkar. Bu aşırı duyarlılık durumu membran saldırı komplekslerinin oluşumuna giden terminal yol boyunca ilerlemesine ve dolaşımdaki eritrositlerin intravasküler hemoliz ile yok edilmesine neden olur. Alternatif olarak, yüzey immünoglobülinleri fagositik hücrelerden başlıca makrofajlar tarafından ifade edilen kompleman reseptörleri ile etkileşime girerek dalak veya karaciğerde yıkımlanarak ekstrasvasküler hemoliz sonucunda eritrositlerin hasar görmesine neden olabilir (Day, 2010). IMHA'nin mekanizması Resim 3'de özetlenmiştir.

Bir IMHA, doğası gereği birincil veya ikincil olabilir. İkincil IMHA, immünoglobulinin eritrositlere bağlanmasının altında yatan bir neden olduğunda ortaya çıkar. IMHA, neoplastik hastalıkta ikincil bir fenomen olarak veya antikorun RBC yüzeyi ile ilişkili bir enfeksiyöz ajan veya ilaca bağlı etkileşmesi durumunda ortaya çıkabilir. İkincil IMHA'ye aşılar, ilaçlar, neoplaziler,

enfeksiyonlar neden olabilir. Birincil idiyopatik IMHA'da altta yatan bir hastalık veya son ilaç, aşı uygulamasına dair kanıt yoktur ve antikor, RBC membranının kendi antijeni için spesifik olan gerçek bir otoantikor olarak kabul edilir. Bu hastalık şekli gerçek otoimmün hemolitik anemi (AIHA) olarak ifade edilmektedir. Bu nedenle, IMHA ve AIHA terimleri birbirinin yerine kullanılmamalıdır. AIHA, tek bir klinik antijen olarak ortaya çıkabilir veya birincil otoimmün immün aracılı trombositopeni (IMT; kombine hastalık Evans sendromu) birincil otoimmün immün aracılı nötropeni (IMN) ile eşzamanlı olarak tanınabilir veya multisistemik otoimmün hastalığın bir parçası olabilir. Bazı durumlarda, otoimmün yanıt, kemik iliği eritroid öncüllerine yöneliktir ve hem rejeneratif olmayan IMHA hem de edinilmiş saf kırmızı hücre aplazisini (PRCA) içeren bir değişim spektrumuna yol açar. Bu hastalık grubunda, öncü popülasyona ek olarak dolaşımdaki RBC'lerle reaksiyona giren otoantikorlar olabilir (Day, 2010; Archer, 2013).



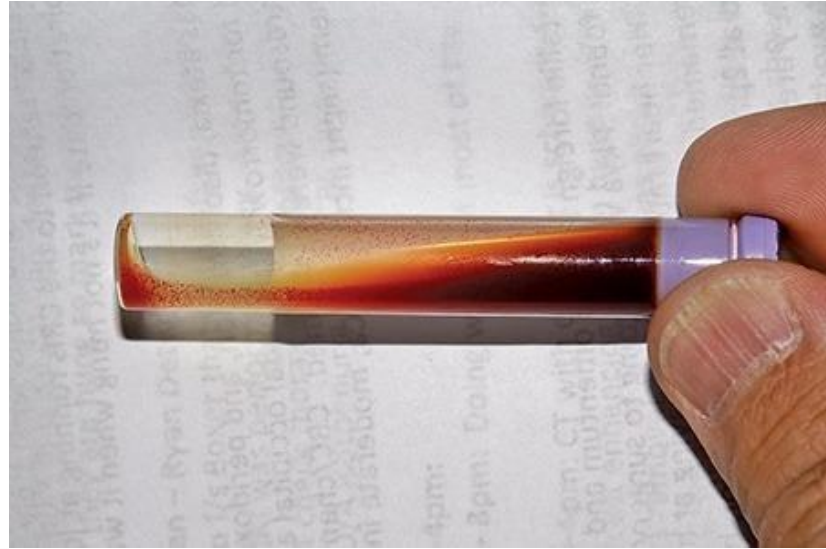
Resim 3. İmmün aracılı hemolitik aneminin patogenezi (Day, 2010' dan değiştirilerek alınmıştır).

Bağışıklık aracılı hemolitik anemi (IMHA) birincil (otoimmün, AIHA) veya tanımlanmış bir altta yatan nedene ikincil olabilir. AIHA'da, bir dizi predispoze faktör, kendiliğinden reaktif T ve B

hücrelerinin aktivasyonuna ve eritrosit membranında bulunan bir antijen için spesifik otoantikor üretimi sonucunda ortaya çıkar. İkincil IMHA'da eritrosit, enfeksiyöz ajan veya eritrosit membranı ile ilişkili ilaca yönelik bir immün yanıt sonucunda veya spesifik olmayan bir şekilde RBC yüzeyine adsorbe olan immün kompleksler sonucunda oluşur. Her iki durumda da RBC, tamamlayıcı fiksasyon ve "membran saldırı kompleksi (intravasküler hemoliz)" oluşumunun ardından yok edilebilir veya yüzey Fc reseptörü ve tamamlayıcı reseptörleri ifade eden fagositik hücreler ile etkileşime girebilir. Bu durumda eritrositler eritrofagositozla yıkımlanır veya bir sferosit oluşturmak için hücre zarının kısmi kaybına uğrayabilir. Bu süreçten sonra dalakta veya karaciğerde ekstravasküler hemoliz meydana gelir (Day, 2010).

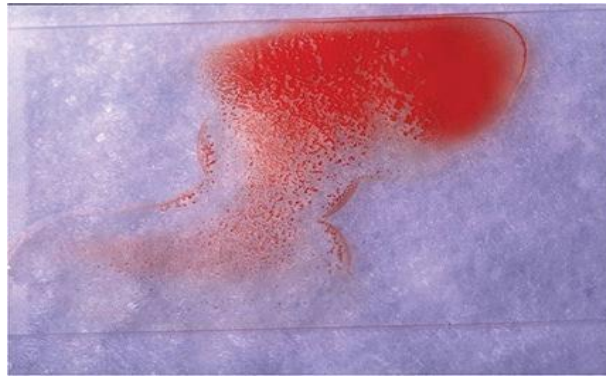
Anti-RBC Antikorları Spontan Otoaglutinasyon

Yüksek seviyelerde anti-RBC antikorları bazen birden fazla hücreye bağlanmalarına neden olarak spontan RBC aglutinasyonuna neden olur. Aglutinasyon, kan bir EDTA tüpüne veya bir mikroskop lamı üzerine yerleştirildiğinde kırmızı benekler olarak değerlendirilebilir (Archer, 2013). Makroaglutinasyonun EDTA tüpündeki görüntüsü Resim 4 de, lam üzerindeki görüntüsü Resim 5 de gösterilmiştir.



Resim 4. Şiddetli IMHA'lı bir köpekten alınan EDTA ile antikoagülanlı kanda kırmızı benekler olarak gözlenen otoaglutinasyon (Archer, 2013'den alınmıştır).

Slide aglütinasyon testi pratikte kolaylıkla gerçekleştirilebilir ve gerçek otoaglütinasyonu rouleaux oluşumuna sebep olan otoimmün kaynaklı olmayan eritrosit adezyonundan ayırt etmek için kullanılır. Testin yapılması için tek bir damla EDTA ile antikoagülanlı kan bir mikroskop lamı üzerine yerleştirilir ve salinle karıştırılır. Köpeklerde 1- 2 damla, kedilerde rouleaux geliştirme eğilimleri nedeniyle 3-4 damlatılmalıdır. Slayt ileri geri sallanır ve makro aglütinasyon açısından değerlendirilir. Çıplak gözle bariz aglütinasyon görülebilmektedir. Daha sonra karışımın üzerine bir lamel yerleştirilebilir ve slayt mikroaglütinasyon için bir mikroskop altında değerlendirilir. Bir kümede 4 veya daha fazla eritrosit birleşimi var ise pozitif yönde değerlendirilir. Gerçek aglütinasyon "üzüm kümeleri" olarak görünürken, rouleaux "sikke yığımları" olarak görünür. Rouleaux, ilave salin eklenerek ve eritrosit yıkama teknikleri ile otoaglütinasyondan ayrıca ayırt edilebilir. Ekstra tuzlu su genellikle rouleauxu dağıtır, ancak gerçek otoaglütinasyonu dağıtmaz. Otoaglütinasyon sadece yüksek antikor seviyelerinde görüldüğünden, negatif slayt aglütinasyon testi kesin olarak IMHA olmadığı anlamına gelmemektedir (Archer, 2013).



Resim 5. IMHA'lı bir köpekte bariz makroaglütinasyon gösteren pozitif slayt aglütinasyon testi (Archer, 2013'den alınmıştır).

Antinükleer Antikor Testi

Antinükleer antikor testi, nükleer antijenlere bağlanan antikorların varlığını tespit eden bir testtir. Bunlar arasında DNA, RNA, histonlar ve diğer nükleer proteinler bulunur. Standart ANA testi, hastanın serumunu birincil antikor olarak kullanarak dolaylı immunofloresans testinde bir doku kesiti yerine bir hücre hattı (Hep2 hücreleri) kullanılarak rat karaciğer dilimleri kullanılarak geliştirilir. Serum genellikle 1:20 oranında seyreltilir ve daha sonra iki katına çıkarılır. Hücrelerle inkübasyon, yıkama ve fluoresin ile etiketlenmiş bir türe özgü anti-globulinin eklenmesiyle devam eder. Nükleer floresansın varlığı, pozitif ve negatif boyanmış kontrol kuyularıyla karşılaştırılır ve her serum

seyreltisinde görülen floresansın ardışık gözleminden sonra bir titre belirlenir (Hansson, 2006; Gershwin, 2009).

ANA testinde görülen desenler arasında düzenli, noktalı, nükleolar ve kenarlı desenler bulunur. İnsan otoimmün hastalıklarında, floresan desenleri farklı otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilir. İnsan otoimmün hastalıklarında, floresan desenleri farklı otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilir. Veteriner otoimmün hastalıklarda ise ilişkiler daha spesifik değildir. Son yayında, Hansson-Hamlin ve arkadaşları, ANA titeri 100'den büyük olan 56 köpekte, köpeklerin %27'sinde kromozom pozitif, homojen ANA boyama deseni ve anemi de dahil olmak üzere çoklu organ sistemlerine bağlı klinik belirtiler gözlenmiştir. Köpeklerin %75'inde noktalı ANA boyama deseni görülmüş ve bu köpeklerde klinik belirtiler çoğunlukla kas-iskelet sistemiyle ilişkilidir. ANA testinin pozitif sonuçlarının olası olarak pozitif ve bağışıklık aracılı hastalıklarla uyumlu olacağı sonucuna varmışlardır. Bu sonuçlar, insan hastalarında sistemik lupus eritematozus tanısını sınıflandırmak için Amerikan Romatoloji Derneği tarafından kullanılan kriterlerle uyumludur (Hansson, 2006).

2.1.1.1.2.2. Kan Parazitleri Kaynaklı Görülen Anemiler

Ehrlichia canis, dünya çapında köpek monositik ehrlichiosis'in en önemli nedenidir. Bulaşma, kene vektörleri öncelikle Rhipicephalus sanguineus ve doğrudan kan inokülasyonu ile meydana gelir. Organizmalar mononükleer fagosit sisteminin hücrelerinde çoğalır ve lenfositlerde, monositlerde veya makrofajlarda görülebilir. Mononükleer hücreler içinde organizmalar, sitoplazmik bir vakuolde ikili bölünme ile çoğalırlar. Işık mikroskopisi ile noktalı, granüler bir görünüme sahip, morula olarak adlandırılan yuvarlak, değişken boyutlu, bazofilik sitoplazmik inklüzyonlar olarak görünürler. Periferik kandaki parazitemi düşüktür ve ilk enfeksiyondan sonra görülme ihtimali azalır. (Allison ve Meinkoth, 2010).

Hastalığın patogenezi endotel hücre, trombosit ve lökosit disfonksiyonunu içerir. Endotel hücrelerini enfekte eden bu ajanlar vaskülitise ve küçük kan damarlarında damar geçirgenliğinin artmasına neden olur. Sadece plazma kaybedilirse, hipotansiyon ve doku ödemi olur. Bununla birlikte, daha şiddetli vaskülitis; trombositopeni, DIC ve hipotansiyon potansiyeli olan mikrovasküler kanamaya neden olur. Trombositlerin enfeksiyonu, doğrudan trombosit lizisi, immun-aracılı mekanizmalar veya dalakta trombosit sekestrasyonu ile trombositopeniye neden olabilir. Lökosit disfonksiyonunun patogenezi belirsizdir ancak sepsis, inhibe edilmiş lökosit fonksiyonu, endotel hücre aktivasyonu ve trombosit tüketimini içerebilir. Kronik *E. canis* enfeksiyonu, bilinmeyen bir

mekanizma ile pansitopeni ve aplastik anemiye neden olabilir. Kan frotilerinin değerlendirmelerinde trombositopeni en sık görülen hematolojik anormalliktir; anemi ve nötropeni daha az görülür. Enfeksiyonun erken evrelerinde kan hücreleri, sitoplazmik, zara bağlı vakuoller içinde riketsiyal organizmaların kümeleri olan morula içerebilir. Zenginleştirilmiş katman (Buffy coat) frotilerinde organizmanın saptanma olasılığı artar (Zachary, 2022).

Anaplasma türleri tarihsel olarak, hemolitik anemiye neden olan geviş getirenlerin kırmızı kan hücrelerini enfekte ettiği düşünülmüştür. Ancak, birkaç *Ehrlichia spp.*'nin yeniden sınıflandırılmasıyla *Anaplasma spp.* olarak ifade edilmiştir. Anaplasma yeleri eritrositleri enfekte edenlerine *A. marginale*, granülositleri enfekte edenlere *A. phagocytophilum* veya trombositleri enfekte edenlere *A. platys* olarak adlandırılmıştır. Köpeklerde *A. phagocytophilum* enfeksiyonu yaygındır. Klinik belirtiler spesifik değildir ve ateş, anoreksi, depresyon, lenfadenopati ve splenomegali içerir. Bazı köpeklerde nötrofilik poliartrit ya da nöbetler de dahil olmak üzere birçok klinik bulguya sebebiyet verebilmektedir. Hafif ila şiddetli trombositopeni, en sık görülen hematolojik anormalliktir ve vakaların çoğunda görülür. Hafif ila orta derecede rejeneratif veya rejeneratif olmayan anemi de oluşabilir. Morulalar, *E. ewingii*'ninkine benzerdir ve enfeksiyonun akut fazı sırasında oldukça yüksek bir parazitemide nötrofillerde görülebilmektedir (Allison ve Meinkoth, 2010; Savidge, 2019). Anaplazmozis ek olarak immün aracılı ekstrasvasküler hemoliz yoluyla anemiye neden olabilmektedir (Zachary, 2022).

Mycoplasma türleri daha önce Haemobartonella ve Eperythrozoon olarak bilinen epieritrositik parazitler, Mycoplasma cinsine yeniden sınıflandırılmış ve yeniden adlandırılmıştır. Bir grup olarak, bu hemoplazmalar dünya çapında dağılıma sahiptir, çok çeşitli omurgalı hayvanları enfekte eder ve benzer özellikleri ve morfolojik özellikleri paylaşır. Rutin kan filmlerinde, RBC'lerde tek tek veya zincirler halinde görünen küçük bazofilik yuvarlak, çubuk veya halka şekilli organizmalardır. Elektron mikroskobu, bunların tek bir sınırlayıcı zara sahip olduklarını ve çekirdek veya farklı organellerden yoksun olduklarını göstermiştir. Organizmalar tipik olarak eritrosit zarlarındaki çöküntüler ve invaginasyonlarda bulunur ve zara hassas liflerle bağlı grnrlr. Hemoplazmaların klinik olarak belirgin hastalığa neden olma yetenekleri farklılık gösterir, ancak enfekte hayvanlar antibiyotik tedavisine rağmen taşıyıcı kalabilir; parazitemi stres zamanlarında yeniden ortaya çıkabilir. Tarihsel olarak tanı, kan filmlerinde hemoplazmaların saptanmasına dayanıyordu. Organizmalar genellikle RBC membranıyla ilişkili bulunur, ancak bazen plazmada serbest olarak bulunabilmektedir (Allison ve Meinkoth, 2010).

Enfeksiyonun etkileri spesifik organizmaya, doza ve konağın duyarlılığına bağlı olarak subklinik anemiden ölümcül anemiye kadar değişir. Çoğu hemoplazmanın bağışıklık sistemi

baskılanmış veya eş zamanlı hastalığı olan bireylerde akut hastalığa neden olma olasılığı daha yüksektir. Bununla birlikte, *M. haemofelis* bir istisnadır ve bağışıklık sistemi güçlü kedilerde akut hemolitik anemiye neden olma eğilimindedir. Anemi esas olarak ekstrasvasküler hemoliz nedeniyle oluşur, ancak intravasküler hemoliz de meydana gelir. Patojenik mekanizmalar tam olarak anlaşılmamış olsa da bakteriler tarafından doğrudan eritrositlerin hasarının yanı sıra immün aracılı bir bileşen de kuvvetle muhtemeldir. Rutin kan frotisinin değerlendirilmesinde, organizmalar değişik şekilli (koklar, küçük çubuklar veya halka formları) ve bazen kısa, dallanan zincirler halinde dizilmiştir. Özellikle kan antikoagülan bir tüpte uzun süre saklandıktan sonra yayma yapıldıysa, organizmalar kan frotisinin arka planında hücre dışı olarak da görülebilir. Akut hemoplazma enfeksiyonundan ölen hayvanlarda; solgun mukoza, ikterus, splenomegali ve dolgun safra kesesi ile birlikte tipik ekstrasvasküler hemoliz bulguları görülür. Dalağın kırmızı pulpasındaki mikroskopik lezyonlar arasında konjesyon, eritrofagositozis, makrofaj hiperplazisi, plazma hücresi sayısında artış yer alır. Kemik iliğinde hemoliz süresine bağlı olarak değişen derecelerde eritroid hiperplazisi görülür (Zachary, 2022).

Babesia keneler ile nakledilen hemaprotozoon apikompleks bir parazittir. Babesiosis; hemolitik anemi, ikterus, hemoglobinüri ve ateş gibi klinik bulgularla karakterizedir. Babesiosis'e neden olan diğer tür ise *Babesia gibsoni*'dir (Macwilliams 1987).

Babesiosisin 5 ana formu mevcuttur. Babesiosisin komplike formu yalnızca hemolitik süreç ile açıklanamaz. Ani şekillenen böbrek hasarı, nörolojik bulgular, akut respiratorik yetmezlik sendromu, hipotansif şok, hemokonsantrasyon, sarılık, hepatopati, rhabdomyolisis, yaygın intravasküler koagülasyon (DIC), koagülopati ve immün ilişkili hemolitik anemi gibi problemlerle birlikte görülmektedir (Jacobson ve Clark 1994; Uilenberg, 2006).

Perakut form, daha çok yavru köpeklerde gözlenmekte ve klinik bulgular ilk 24 saatte ortaya çıkmaktadır. Şiddetli intravasküler hemoliz ile birlikte soluk mukoz membranlar, hemoglobinüri, vaskulitis, vasküler durgunluk ve geniş doku hasarı görülmektedir (Taboada 1998). Hızla gelişen dolaşım yetmezliğine bağlı hipotansif şok ve pulmoner ödem sonucu ölüm görülmektedir (Macwilliams 1987, Turgut 2000)

Akut formda, hemolitik anemi ile birlikte depresyon, ateş, iştahsızlık, letarji, dehidrasyon, soluk mukoz membranlar, sarılık, solunum güçlüğü ve hızlı nabız gözlenmektedir. Bu formda hemoglobinemi ve hemoglobinüri görülmekte, splenomegali ve lenfadenopatide tespit edilebilmektedir. Baş ve bacaklarda ödem, peteşiyel kanama, keratit, iritis, stomatit, gastritis, myositis, asites, diyare ya da konstipasyon görülebilmektedir. Ölüm genellikle, kalp yetmezliği ve

akut solunum yetmezliği sonucu meydana gelmektedir (Mimoğlu ve diğerleri, 1969, Macwilliams 1987, Turgut 2000).

Kronik formda klinik bulgular belirgin değildir. Aralıklı ateş, iştahsızlık, kondisyon kaybı, hafif derecede anemi ya da sarılık görülebilmektedir. Bu form ortalama 1–3 ay sürebilir. Kronik forma yakalanan köpekler ya iyileşme belirtileri gösterir ya da kaşeksi nedeniyle ölüm şekillenebilir. İyileşen köpekler bağışıklık kazanır. Eğer bu köpekler endemik bölgede bulunuyorlarsa, bağışıklık yaşam boyu devam eder (Mimoğlu ve ark 1969, Macwilliams 1987).

Sub klinik form genellikle endemik bölgelerde görülmekte ve konakçı immun sistemi ile parazit arasında hassas bir denge bulunmaktadır. Enfeksiyon eş zamanlı hastalıklar, stres, immunsupresif tedavi gibi durumlarda klinil form tekrar ortaya çıkabilmektedir (Macwilliams 1987).

Nekropside, makroskobik lezyonlar başlıca hemoliz ile ilişkilidir ve soluk mukozal membranlar, sarılık, splenomegali, koyu kırmızı veya siyah böbrekler, kırmızı-kahverengi idrar, konjesyonlu dalak ile karakterize bulguları içerir kesit yüzünden kan sızar. Safra kesesi genellikle genişlemiş ve kolestazis görülür. Parazit bulunduran eritrositler en iyi şekilde böbrek, beyin ve iskelet kasından hazırlanan kan yaymalarında göze çarpar. Karaciğer ve böbrekteki mikroskobik bulgular hemolitik krizlerde görülebilir; anemiye bağlı dejenerasyon, periasiner hepatositlerin nekrozu, kolestazis ve tubuler epitelin dejenerasyonu ile birlikte hemoglobürik nefrozisi içerir. Kemik iliğinde eritroid hiperplazi bulunur. Akut formdan kurtulan hayvanlarda karaciğer, böbrek, dalak ve kemik iliğinde hemosiderin pigment birikimi vardır. Kronik olgularda dalağın kırmızı pulpasında makrofaj hiperplazisi mevcuttur (Zachary, 2022).

Hepatozoon canis enfeksiyonunun omurgalı konaklara aktarılması ya doğrudan vektör kenelerinin ya da enfektif sporozoitleri olan olgun oositleri içeren keneler tarafından bulaşmaktadır. Köpeklerde *Hepatozoon canis* enfeksiyonu farklı klinik belirtilere neden olmaktadır. Bu parazit genellikle hafif semptomlara neden olup subklinik bir seyir gösterir ancak hayatı tehdit edici belirtilere de neden olabilir. Hastalık ağır vakalarda ateş, anoreksi, uyuşukluk, kaşeksi, hiper globulinemi, kilo kaybı ve anemi ile karakterizedir (Baneth, 2001).

Hepatozoon canis enfeksiyonundan şüphelenilen köpeklerde periferik kandan hazırlanan frotilerin romanovsky boyaları ile boyamalarıyla nötrofillerin veya monositlerin içerisinde parazitin oval şekilli 8-12 / 3-6 µm boyutlarında görülmesi tanının konulması için yeter kabul edilmektedir (Baneth, 2001).

Diroflariozis, *Dirofilaria immitis* tarafından oluşturulan bir hastalıktır ve köpeklerde yaygındır, ancak evcil ve yabani kedigiller, yabani köpekgiller, fretler, denizaslanları, su sıçanları ve

atlar da dahil olmak üzere diğer memelilerde de görülebilir. Aedes, Culex ve Anopheles cinsi sivrisinekler, enfektif üçüncü evre larvaları taşıyarak bağ dokularından geçerek sonunda 3-4 ay sonra kalbe ulaşırlar ve orada yetişkin hale gelirler. Yetişkin kurtçuklar öncelikle pulmoner arterlerde ve sağ karıncıkta yerleşir, ancak yoğun enfestasyonlarda sağ atriya ve vena kavaya kadar uzanabilirler. Kuyruklu akciğer loblarında pulmoner venler genellikle fibröz kasık intimal proliferasyonu geliştirir, bu da pulmoner hipertansiyon ve sağ kalp yetmezliğine yol açar. Kurtçuk larvaları, yetişkinler ve hücre içi bakteri olan Wohlbachia, konakta eozinofilik ve nötrofilik endoarterit ve pürüzlü miyointimal proliferasyona neden olurlar. Yetişkinlerin öldürülmesine yönelik tedavi, tromboembolizmi, pulmoner hipertansiyonu şiddetlendirebilir ve granülomatöz reaksiyonlara yol açabilir. Kalp kurdu veya *Dirofilaria immitis*, özellikle köpekler olmak üzere evcil ve yabani etoburların kardiyovasküler parazitidir. *D. immitis* enfeksiyonu olan köpeklerde eritrosit sayısında belirgin bir azalma ile hafif bir anemi olduğunu görülmüştür. Veri analizi ayrıca eosinofili sayısında bir artış olduğunu gösterdi. Bununla birlikte, enfekte ve enfekte olmayan köpekler arasında anlamlı bir fark bulunmadı. *D. immitis* ile enfekte köpeklerde ana hematolojik bulgunun hafiften orta dereceye kadar anemi, hafiften şiddetli trombositopeni, belirgin lökositoz, orta dereceden belirgin nötrofilia, eosinofili ve monositosis olduğunu bildirilmiştir. RBC, Hb ve HCT düzeylerinde azalma görülmektedir (Shabnam ve diğerleri, 2010; Ranjbar ve diğerleri, 2010).

2.1.1.1.2.3 Heinz Cisimciği Anemisi

Heinz cisimciği anemisi, kırmızı kan hücresi üzerinde yok olmasına yol açan Heinz cisimciklerinin varlığı ile karakterize edilen bir tür anemidir. Kediler, diğer hayvanlardan daha fazla Heinz body anemisi riski altındadır. Kırmızı kan hücreleri, denatürasyona neden olan oksidatif ajanlara maruz kaldığında Heinz cisimcikleri oluşur. Heinz cisimciği anemisi bir rejeneratif anemi şeklidir, kırmızı kan hücreleri üretilmeye devam eder ancak bağışıklık sistemi, Heinz cisimlerinin oluşumu nedeniyle bu eritrositleri yok eder. En önemli sebepleri belirli ilaçlar, toksinler ve yiyecekler gibi oksitleyici maddelerin tüketiminden kaynaklanmaktadır. Kedi ve köpeklerde en sık Heinz cisimciği anemisine sebep olan nedenler arasında soğan zehirlenmesi, vitamin k3, naftalin, propilen glikol, benzokain, metilen mavisi, Zn, Cu, fenilhidrazin ve asetaminofen olduğu bildirilmiştir (Desnoyers, 2010).

2.1.1.1.2.4. Kimyasal Etkenler ve Alimenter Kaynaklı Anemiler

Çinkoya akut veya subakut maruz kalma ilişkili çoğu hemolitik anemi vakası, çinko içeren materyalin yutulmasıyla ilgilidir; en yaygın nedenleri cilt kremleri ve çinko içeren madeni paralardır. Çinko madeni paralar genellikle 1 yaşından küçük köpek ve kedilerin yabancı cisim yutma eğilimi fazla olmasından dolayı meydana gelmektedir. Yabancı çinko içeren cisim midedeki asidik ortam kaynaklı erezyona uğratarak emilim için daha fazla serbest çinkonun ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Desnoyesr, 2010).

Gurnee ve diğerleri (2007) çinko toksikozu olan 19 köpeğin kayıtlarını gözden geçirdiğinde en yaygın klinik bulguların bulgular kusma ve pigmentüri olduğu gözlemlenmiştir. Çinko toksikozunun bir sonucu olarak hemolitik aneminin genç küçük ırk köpekleri yaşlı büyük ırk köpeklere göre daha sık etkilediği görülmüş tedavi ile prognoz iyi olduğu ve etkilenen köpeklerin çoğunun kısa sürede taburcu olduğu bildirilmiştir.

K vitamini ve K vitamini antagonistleri, köpeklerde hem K vitamini uygulaması hem de K vitamini antagonisti intoksikasyonu oksidatif hasarın nedenleri olarak bildirilmiştir. K vitamini verilmesi durumunda hem K3 vitamini hem de K1 vitamini oluşumuna neden olabilir ve K3 vitamini K1 vitamininden daha toksiktir. Vitamin K3, hemoglobini ile reaksiyona girer ve bir ara ürün olan semikinon radikali üreterek oksihemoglobini methemoglobine okside eder. Semikinon, hidrojen peroksit üretmek için oksijen ile birleşebilir ve RBC membran hasarına katkıda bulunabilir. Sonuç olarak hem K vitamini uygulaması hem de K vitamini antagonisti intoksikasyonu, RBC'lerde oksidatif hasara neden olarak heinz cisimcikleri ve eksantrosit oluşumuna neden olabilir (Desnoyesr, 2010).

Soğan ve sarımsak tüketimi köpekler için toksik olabilir. Soğanda bulunan n - propil disülfid, sodyum n - propil tiyosülfat, sodyum trans - 1 - propenil tiyosülfat ve sodyum cis -1- propenil tiyosülfatın oksidatif hasardan sorumlu ajanlar olduğu düşünülmektedir. Sarımsak (*Allium sativum*) ve çin frenk soğanı (*Allium tuberosum*) yutulması da oksidatif hasara neden olabilir. Sarımsakta bulunan oksidatif ajan sodyum 2-propenil tiyosülfattır. Sarımsak ve/veya Çin frenk soğanı ile doğal zehirlenme durumlarında, eksantrositoz, aneminin heinz cisimciği oluşumundan daha belirgin bir özelliği gibi görünmektedir. Köpeklerde bu besinler sebebiyle oluşan zehirlenme vakalarında hayvanın ağırlığı ile heinz cisimciği gelişimi arasında bir korelasyon olduğu düşünülmektedir, çünkü heinz cisimciği anemisi daha çok küçük ırklarda görülmektedir. Akitas, Japon melezleri, Shibas, Jindos ve Çin Shar Pei, soğan kaynaklı oksidatif hasara daha duyarlıdır (Desnoyesr, 2010).

2.1.1.1.2.5. Piruvat kinaz (PK) eksikliği

Piruvat kinaz (PK) eksikliği, köpeklerin otozomal resesif geçişli bir genetik hastalığıdır ve yaşamı tehdit eden ciddi immün aracılı hemolitik anemiye neden olur. İlk olarak Basenjis'de belgelenmiştir, daha sonra labrador retriever, pug, beagle ve cairn terrier dahil olmak üzere diğer ırklarda rapor edilmiştir. Etkilenen köpeklerde kronik, dejeneratif, hemolitik anemi görülmektedir. Köpeklerde normal kırmızı kan hücresi sağkalımı PK eksikliğinde birkaç güne kadar düşmektedir. PK eksikliği olan köpekler, normalde fetal yaşam boyunca tüm dokularda bulunan ve eritroid öncülerinde ana izoenzim olarak kalan M2 tipi PK izoenziminin aracılık ettiği eritrosit PK aktivitesine sahiptir. Bu köpeklerde, eritroid olgunlaşması ilerledikçe normal eritrositlerde görülmeye başlayan normal R-tipi yoktur. M2- tipi izoenzimin ekspresyonunun R-tipi PK eksikliğini telafi ettiği düşünülür, ancak in vivo hemolizi engellemez. Klinik olarak etkilenen köpeklerde genellikle genç yaşta semptomlar ortaya çıkar ve soluk mukoza zarları, taşikardi, egzersiz intoleransı ve kilo kaybı ile karakterizedir. Akut hemolitik anemiden şüphelenilebilir ve abdominal palpasyon sırasında sıklıkla hepatomegali ve splenomegali görülür. Heterozigot köpekler genellikle asemptomatiktir ve aktif olmayan homozigot köpekler daha sonrasına kadar klinik semptomlar göstermeyebilir. Hematolojik analiz genellikle şiddetli, yüksek oranda rejeneratif bir anemi ve yüksek serum ferritin konsantrasyonu ortaya çıkar. Bazı köpekler daha sonra şiddetli hepatik sekonder hemokromatoz, ilerleyici miyelofibroz ve kemik iliğinde osteoskleroz gelişebilir. Kesin tanı için DNA testi gerekir ve kardeşlerin de test edilmesi önerilmektedir. Splenektomi ve glukortikosteroid kullanımı tedavide olumlu sonuç vermemektedir. Deneysel olarak, kemik iliği transplantasyonunun hastalığı iyileştirdiği ve köpüklü hücre vektörü kullanılarak yapılan gen terapisinin, köpeklerde bu hastalıkla ilişkili klinik belirtileri ortadan kaldırmak için güçlü etkinlik gösterdiği, ancak uzun süreli çalışmalara hala ihtiyaç duyulduğu gösterilmiştir (Whitney ve diğerleri, 1994; Garcia ve diğerleri, 2016).

2.1.1.2. Rejeneratif Olmayan Anemiler

Rejeneratif olmayan anemi, tam kan sayımında retikülositozis eksikliği ile karakterize edilir. Çoğu zaman bu, kemik iliğinde azalan üretimin bir sonucudur (yani eritroid hipoplazi). Eritrositler uzun süre kanda dolaşırlar, bu nedenle azalan üretimin neden olduğu anemiler yavaş gelişme eğilimindedir (Zachary, 2022; Winzelberg ve Hohenhaus, 2019).

Eritrosit üretiminin azalmasından kaynaklanan nonrejeneratif anemilerde, kemik iliğinin anemiye cevabıyla ilgili bulgular olan absulut retikülosit sayısı artmamıştır veya aneminin derecesine göre minimum artış göstermektedir. Nonrejeneratif anemiler, eritropoezisin azalması veya defektif eritropoezis sonucu oluşur. Nonrejeneratif anemilerin mekanizması genellikle kompleks olduğundan, anlaşılmaları rejeneratif anemilerden daha zordur. Genellikle normositiktirler. İstisnaları arasında mikrositik aneminin olduğu kronik demir eksikliği, bakır yetersizliği, pyridoksin yetersizliği ve İngiliz Springer Spaniel Irkı köpeklerdeki diseritropoiezis ve makrositik aneminin olduğu folik asit eksikliği, kedilerin FeLV enfeksiyonu, eritrolökemi, bazı myelodisplastik bozukluklar bulunur. Eritrositlerde diyagnostik morfolojik değişiklikler yoktur. Çoğu nonrejeneratif anemiler, sekonder problemlerden kaynaklanırlar. Diyagnostik çalışmalarda neoplazi, renal veya hepatik hastalıklar veya kronik yangı gibi primer hastalıklar üzerinde durulur. Hemogramda azalma gösteren hücrelerin belirlenmesi birinci basamağı oluşturur. Pansitopeni denen eritrosit, lökosit ve trombosit sayılarının birlikte azalması veya bisitopeni denilen üç hücre tipinden ikisinde azalma, genellikle kemik iliği hastalıkları olduğunu gösterir. Bu hastalıklar kemik iliği biyopsisi ve aspirasyonu ile teşhis edilir (Kayar, 2013).

Kedi eritrositlerinin beklenen hayatta kalma süresi 73 gündür, bu 100-115 gün olan köpeklerden daha kısadır. Eritrositler hücrel hasarları biriktirir ve bu durum eritrositlerin retiküloendotelyal sistem tarafından dolaşımdan çıkarılmasını tetikler (Olson ve Hohenhaus, 2019).

Lökopeni ve trombositopeninin olmadığı nonrejeneratif anemilerde kanda lökopeni ve trombositopeni olmayan nonrejeneratif anemi sadece eritroid hücreleri etkileyen kemik iliği anormallliğini gösterir. Bu çeşit hafif-orta şiddetli anemi kronik renal hastalık endokrin yetmezlikler ve kronik hastalık anemisinde oluşur. Lökopeni ve trombositopeninin olduğu nonrejeneratif anemilerde kemik iliği ya hiposellulardır ya da normal hematopoietik prokürsörlerin yerini yüksek sayıda anormal hücreler almıştır. Kemik iliği hipoplazisi veya aplazisi ve myelofithizisinden başka, kanda bazen pansitopeni olabilir. Bunun örnekleri arasında kedilerde son dönem cytauxzoonosis ve septisemi gelişmiş olan anemik hayvanlar bulunur. Bu bozukluklar, kan hücrelerinin periferik kullanımı ve yıkımlanmasıyla ilgilidir. Köpek ve kedilerde nonrejeneratif aneminin en yaygın nedenleri arasında kemik iliğinde tümör hücrelerinin bulunmasına bağlı oluşan myelofithisis, saf kırmızı hücre aplazisi, kronik kan kaybı, kronik renal yetmezlik, hipotiroidizm ve myelosupresif viral enfeksiyonlar ve myelotoksik ilaç kullanımınıdır (Kayar, 2013). Hastalıklı kemik iliği yaşlanan eritrositlerin yerine yenisini koyamadığı için rejeneratif olmayan anemiler gelişir (Taker, 2006).

2.1.1.2.1. Kronik Böbrek Yetmezliğine Bağlı Nonrejeneratif Anemi

Rejeneratif olmayan anemi insanlarda ve evcil hayvanlarda kronik böbrek yetmezliğinin beklenen bir komplikasyonudur. Kronik böbrek yetmezliği bulunan hastalarda aneminin ana nedeni, Eritropoetin üretiminin azalmasıdır. İnsanlarda bilinen diğer katkıda bulunan faktörler arasında iltihaplanma, kanama, demir eksikliği, metabolik hasar veya mekanik hasar nedeniyle azalmış eritrosit sağkalımı ve üremik toksinlerin anti-proliferatif etkileri yer alır. Eşzamanlı hastalıklar, böbrek hastalığı olan hastalarda anemi riskini artırabilir. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda rejeneratif olmayan aneminin sık görülmesi, veteriner literatüründe iyi belgelenmiştir. Bu tür hayvanlar tipik olarak uygun olmayan şekilde düşük plazma eritropoetin konsantrasyonlarına sahiptir (Fry, 2010).

Anemi, tipik olarak normokromik, normositer ve rejeneratif olmayan kronik böbrek hastalığı (KBH) olan köpeklerde yaygın bir bulgu olarak kabul edilir. Anemi, herhangi bir KBH IRIS (International Renal Interest Society) aşamasında ortaya çıkabilmesine rağmen, şiddeti böbrek fonksiyon kaybı ile ilişkilidir (Lippi ve diğerleri, 2021). IRIS tarafında oluşturulan sınıflandırma basamaklarında köpeklerde evre 1 için kreatin değeri 1,4 mg/dl' nin altı, evre 2 için 1,4 - 2,8 mg/dl aralığı, evre 3 için 2,9 – 5,0 mg/dl, evre 4 için 5,0 mg/dl' in üstü kabul edilmiştir. Aynı sınıflandırma kedilerde evre 1 için 1,6 mg/dl ve altı, evre 2 için 1,6 – 2,8 mg/dl, evre 3 için 2,9 – 5,0 mg/dl ve evre 4 için 5,0 mg/dl' nin üstü olarak kabul edilmiştir (International Renal Interest Society, t.y).

Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda anemi, IRIS evreleme sistemine göre köpeklerin yaklaşık %60 ını etkileyen bir bulgu olarak görülmüştür. Bu evreleme sisteminde şiddet arttıkça (evre 3 ve 4'te) anemi görülme sıklığı artmaktadır (Lippi ve diğerleri, 2021).

Kronik böbrek yetmezliğine bağlı anemilerde anizositoz en sık görülen morfolojik anormalliktir. Farklı morfolojik anormallikler arasında, parçalanmış kırmızı kan hücrelerinin ve Howell-Jolly cisimlerinin sıklığı, KBH'nin ilerlemesi ile anlamlı bir ilişki göstermektedir. Anemi, KBH durumlarında sık rastlanan bir bulgudur ve çoğunlukla rejenerasyon oranının zayıf olmasıyla ilişkilidir (Lippi ve diğerleri, 2021).

Morfolojik anormalliklere göre anizositoz en sık saptanan bulgulardan biridir. Anizositoz, geçmişten günümüze böbrek yetmezliği ile ilişkilendirilmiş olup, RBC'lerin boyutlarının yüksek değişkenliği ifade eden bir terimdir. Anemi seyrinde, anizositoz bulgusu ve ayrıca yüksek RDW, demir, folik asit ve vitamin B12 eksikliği veya yansı ve ayrıca hemolitik üremik sendrom gibi farklı patolojik durumları yansıtabilir. KBH'de demir metabolizması, bir yandan kronik kanamaya bağlı devam eden demir kayıpları, sık kan örnekleri ve diyaliz seansları sırasındaki kayıplar nedeniyle

önemli ölçüde etkilenebilir ve diğer yandan, bir retiküloendotelyal hücre demir blokajı ile. Özellikle, KBH hastalarında, demirin bağırsaktan emiliminin bozulmasından ve retiküloendotelyal hücre demir blokajından sorumlu olan hepsidin serum konsantrasyonunda önemli ölçüde artış olabilir (Lippi ve diğerleri, 2021).

Howell-Jolly cisimcikleri (HJB'ler), KBH evresinin ilerlemesiyle sıklığı artan başka bir morfolojik anormallikti. Böbrek yetmezliği sırasında HJB'lerin varlığı rejenerasyonun ve üremik toksinlerin varlığına bağlı olarak kan-kemik iliği bariyerindeki olası bir değişiklikten kaynaklanabilir. KBH'nin ileri evrelerinde artan HJB sayısı, makrofajların düşük fagositoz aktivitesi nedeniyle HJB'lerin kan dolaşımından uzaklaştırılmasının azaldığı sistemik enflamasyon ve yüksek oksidatif hasar durumuyla da ilişkili olabilir (Lippi ve diğerleri, 2021).

KBH'deki aneminin ana mekanizması, RBC öncüllerinin zayıf olgunlaşmasından ve farklılaşmasından sorumlu olan eritropoetin (EPO) eksikliği kabul edilmiştir. EPO eksikliğinin yanı sıra, KBH hastalarında diğer anemi nedenleri ilerleyici olarak tanımlanmıştır. Kemik iliğinin eritropoetine verdiği bozulmuş yanıt, dolaşımdaki üremik toksinlerin etkisinin, enflamasyonun, B vitamini eksikliğinin veya eritropoez için azalmış demir depolarının bir sonucu olarak ortaya çıkabilir. Metabolik ve/veya vasküler ortamın RBC sağkalımı üzerindeki etkilerinden dolayı, üremik hastalarda eritrositlerin ömrü genellikle normalden daha kısadır (Lippi ve diğerleri, 2021).

KBH'li köpeklerde anemi ile ilgili birincil mekanizma renal eritropoetin üretiminin azalmasıdır. Eritropoetin, hücrel hipoksiye yanıt olarak renal peritübüler fibroblast benzeri tip-1 interstisyel hücrelerde üretilir ve eritrosit progenitör hücrelerinin hayatta kalmasını artırarak kemik iliğinde kırmızı kan hücresi üretimini uyarır. KBH'li köpeklerde sıklıkla rejeneratif olmayan anemi bildirilmiştir ve bu hastalarda, kemik iliği aspiratları genellikle normal lökopoiez ve megakaryositopoez ile çok az sayıda eritroid öncülleri görülmektedir (Lippi ve diğerleri, 2021).

Kedilerde etkisiz eritropoez, çeşitli yangı durumlarında görülen sitokin anormalliklerinin bir sonucu olarak da ortaya çıkar ve genellikle kronik hastalık anemisi olarak adlandırılabilir (Olson ve Hohenhaus, 2019).

İnsanlarda eritropoez uyarıcı ajanların tedavisinin kanıtlanmış riskleri arasında tromboembolizm, tümör büyümesinin desteklenmesi ve sağkalımın azalması yer alır. Bu ajanların tedavi amacıyla kullanımına bağlı artan eritropoez ve buna karşın yeterli olmayan demir arasındaki dengesizliğe bağlı olarak geçici fonksiyonel demir eksikliği ile sonuçlandığı gösterilmiştir, bu durumda demir desteği gerektiği unutulmamalıdır. Hayvanlarda rekombinant insan eritropoetini kullanılmasının olası bir yan etkisi, belirgin eritroid hipoplazisidir, en şiddetli yan etkisi saf kırmızı

hücre aplazisidir. Bu durumun, yalnızca rekombinant eritropoetini nötralize etmekle kalmayan, aynı zamanda hastanın endojen eritropoetin ile çapraz reaktif olan antikorların uyarılması nedeniyle meydana geldiği varsayılmaktadır. Bu komplikasyon, insan eritropoetin ile tedavi edilen köpeklerde, kedilerde ve atlarda görülmüştür (Fry, 2010).

Rejeneratif yanıt sırasında genellikle RDW değerlerinde artış ve retikülositoz gözlenir. Sağlıklı ve yetişkinlerde normalde kemik iliğinden agregat retikülositleri salarlar ve bu daha sonra ortalama 24 saatte olgunlaşmayı tamamlarlar. RDW değeri ve retikülositler, IRIS evresinin ilerlemesiyle azaldığı gözlemlenmiştir ve bu durum zayıf rejenerasyonunu doğrulamıştır. Aneminin şiddetlenmesine yanıt olarak MCV'nin artmaması ile de desteklenmektedir (Lippi ve diğerleri, 2021).

Fizyolojik koşullarda, rejenerasyon varlığında MCV artma eğilimi gösterir, bu da olgunlaşmamış retikülositlerin veya olgun olanlardan daha büyük polikromatofilik eritrositlerin dolaşıma salındığını göstergesi olmaktadır. Bu nedenle azalan rejenerasyon sürecinin bir başka kanıtı, KBH'nin ilerlemesiyle birlikte düşük polikromazi sıklığıdır. IRIS evre 2'de evre 3 ve 4'e kıyasla daha yüksek derecede polikromazi bulgusu, erken evrelerde kemik iliğinin daha yoğun bir rejenerasyon yanıtının olduğudur. Polikromazi genellikle olgunlaşmamış RBC formlarının erken salınımı ile ilişkilidir. KBH'nin ilerlemesinin, olgunlaşmamış RBC'lerin salınımını azaldığı ve kemik iliği aktivitesini baskılandığının göstergesidir (Lippi ve diğerleri, 2021; Neiger ve diğerleri, 2002).

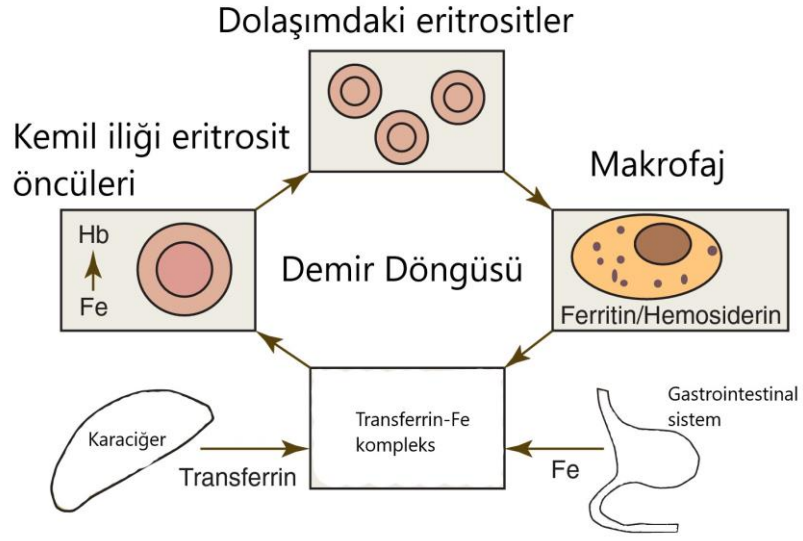
2.1.1.2.2. Demir Eksikliği Anemisi

Demir, hemen hemen tüm canlı organizmalar için gereklidir ve çoklu metabolik fonksiyonun ayrılmaz bir parçasıdır. En önemli işlevi hemoglobinde oksijen taşınmasıdır. Köpeklerde ve kedilerde demir eksikliği anemisine genellikle kronik kan kaybı neden olur ve hayvanlar anemiye adapte olabileceğinden bazı durumlarda tesadüfen farkedilebilir. Şiddetli demir eksikliği, değişken bir rejeneratif yanıt ile mikrositik, hipokromik, potansiyel olarak şiddetli anemi ile karakterizedir. Köpeklerde ve kedilerde demir eksikliği anemisi en sık olarak kronik eksternal kan kaybına bağlı sekonder olarak oluşur. Vücuttaki demir depolarının büyük bir miktarı azalınca kadar klinik tablo oluşturmaz. Tedavi, kan kaybına neden olan altta yatan asıl sebep ortadan kaldırılması ve demir depolarını eski haline getirilmesidir (Naigamwalla ve diğerleri, 2012)

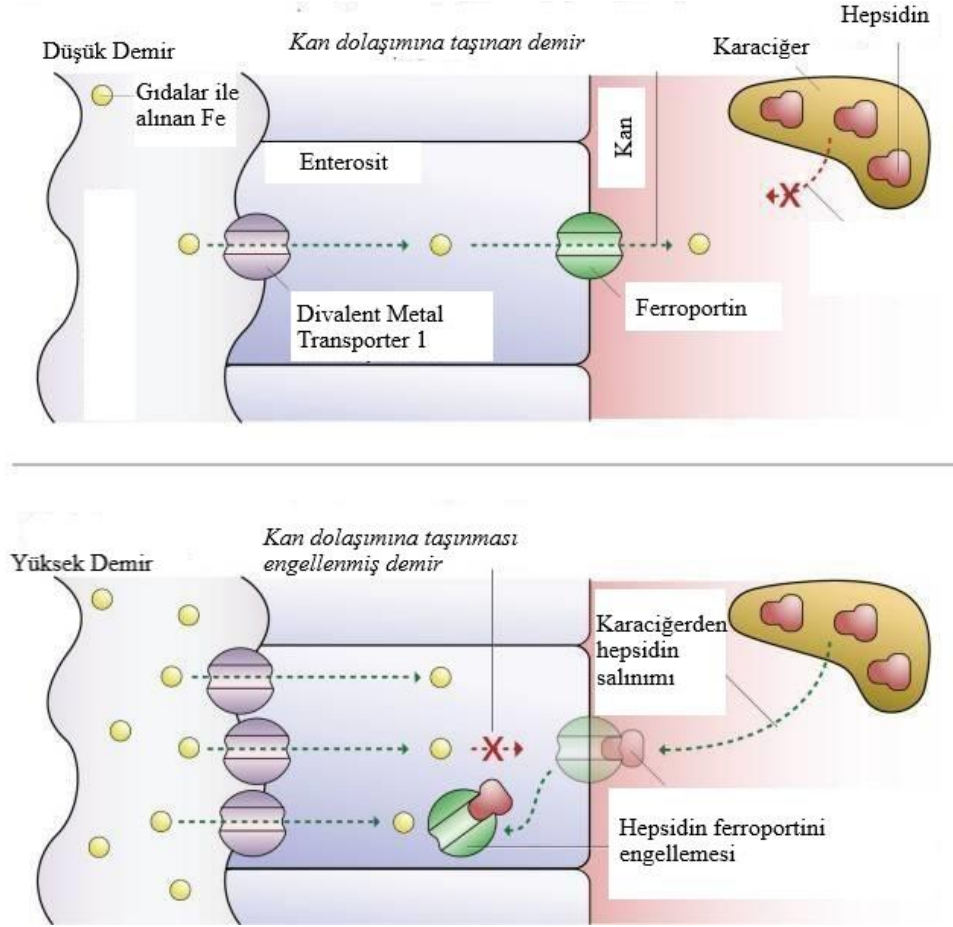
Eksternal kanamalarda kan kaybının yanında Fe kaybı da oluşur. İnternal kanamada vücut dışına demir kaybı yoktur. Vücutta demirin %60-70'i aktif formda hemoglobin, myoglobin ve nöroglobin olarak, %25- 30 depo formda ferritin, hemosiderin olarak, %0,1 i taşınabilir formda

transferrin olarak bulunur. Hemoglobinin normal biyosentezi için protoporfirin globin ve demir gereklidir. Demir fonksiyonları arasında hemoglobindeki Hem'in merkezinde yer alan iki değerlikli Fe, oksijeni bağlayıp taşınmasından başka, DNA replikasyonu ve tamiri, protein sentezi, hücre proliferasyonu, krebs döngüsü, nörotransmitter sentezi ve immün fonksiyonlar gibi birçok yerde kullanılmaktadır. Sağlıklı bir hayvanda demir vücuda sadece gıdayla alınır. Fonksiyonel demirin çoğu hemoglobinde bulunur, daha küçük miktarlar ise miyogloblin ve sitokromlarda bulunur. Demir taşıyıcı proteinlerin üretim yeri olan karaciğer hem ferritin hem de hemosiderin olarak en büyük fonksiyonel olmayan demir depolarını içerir (Voyvoda, 2020). Vücuttaki demir döngüsünün şematik görüntüsü Resim 6 da gösterilmiştir.

Hepsidin esas olarak karaciğerden sentezlenen, dolaşımda bulunan idrarla atılan bir peptid hormon olup sistemik demir dengesinin ana düzenleyicisidir. Son olarak bakteriyel patojenlere karşı miyeloid hücrelerden de sentezlendiği gösterilmiştir. Hepsidin fazla yapımı ile doğan hayvanlar çok kısa sürede demir eksikliğinden ölürken, hepsidin yapan tümörlerde demir kullanımı bozulduğu için ciddi demir eksikliği ortaya çıkar. HAMP geni mutasyonu ile hepsidin eksikliği olduğunda da aşırı demir birikimi olur. Hepsidin bu düzenlemeyi demirin kullanımı ve depolanmasını koordine ederek, demirin plazmaya çıkışını engelleyerek yapmaktadır. Hepsidin ince barsaktan demir emilimini azaltır, makrofajlar tarafından yaşlı eritrositlerden çıkarılan ve tekrar plazmaya verilen demirin makrofaj çıkıp plazmaya verilmesini ve hepatik depolardan mobilizasyonunu engeller. Eritropoetik aktivite artışı, hipoksi, organizma demir depolarının azalması durumlarında hepatik hepsidin sentezi azalır. Organizmaya demir yüklenmesi, yangı ise hepsidin sentezini artırır. Enflamasyon ister akut isterse kronik olsun hipoferrinemi ile sonuçlanır. Buna neden olan faktörlerden en önemlisi de akut faz proteini olarak artan hepsidindir. Hepsidin demir metabolizmasına negatif etkisi ve hipoferrinemi oluşturması yanında in vitro olarak eritroid öncü hücrelerin proliferasyonlarını ve yaşam sürelerini azaltığı buna bağlı eritropoezi bozduğu görülmüştür (Uysal, 2007). Hepsidin mekanizma özeti Resim 7 de gösterilmiştir.



Resim 6. Demir döngüsü (Harvey, 2010'dan değiştirilerek alınmıştır).



Resim 7. Düşük ve yüksek serum demir seviyelerinde bağırsak demir emilim mekanizması (Naigamwalla ve diğerleri, 2012' den değiştirilerek alınmıştır).

Gastrointestinal kanaldan emilen Fe kan dolaşımına geçer ve karaciğerden sentezlenen transferrine bağlandıktan sonra eritropoez amaçlı hemoglobin sentezi için kemik iliğine gider. Bu sayede hemoglobin sentezlenir ve yeni oluşan eritrositler sirkülasyona verilir. Sirkülasyonda eritrositlerin yaşam süresi dolduktan sonra makrofajlar tarafından fagosite edilir ve hemoglobin açığa çıkar. Hemoglobinden serbestlenen Fe ya plazmaya döner ya da ferritin ve hemosiderin olarak depo edilir. Sağlıklı bir canlıda gıdadan alınan demirin yaklaşık olarak %5-10'u emilir. Kan kaybında gıdalarla alınan demir emilim miktarı artacaktır (Harvey, 2010). Demir eksikliğinin temel nedenleri arasında demirin yetersiz alınması, absorpsiyon bozuklukları, demir kaybındaki artış ve ihtiyacın artması gibi durumlarda karşımıza çıkmaktadır. Demir noksanlığı başlangıçta rejeneratif bir tablo seyrederken devamında yeterli demir olmadığı için normal bir eritropoezi yürütemez bu nedenle gelişen anemi non rejeneratif bir durum gösterir. Kronik kan kaybı demir noksanlığı anemisinin en önemli nedenidir. Fe kaybı en çok gastrointestinal kaynaklı kanamalı tümörler, ülserojen etkisi olan glükokortikoid gibi ilaçlar, parazitler, hematuri, burun kanaması, deride kanamalı patolojiler, trombositopeni, renal ve hepatik hastalıklara bağlı sekonder olarak, kan transfüzyonu amacıyla sık flebotomi sonucunda oluşur (Naigamwalla ve diğerleri, 2012). Gıdalar ile alınan demir üç değerlikli demirdir, emilebilmesi için iki değerlikli hale geçmesi gerekir ve bunun gerçekleşmesini sağlayan midedeki hidroklorik asittir. Hidroklorik asitin azalmasına sebep olan anti asit kullanımı, H₂ reseptör kullanımı, yangısal bağırsak hastalığı veya kronik ishal durumlarında hidroklorik miktarı azalacağı için demir emilimi olumsuz yönde etkilenmektedir (Harvey, 2010; Naigamwalla ve diğerleri, 2012; Zachary, 2022).

2.1.1.2.3. Yangısal Hastalık Anemisi

Yangısal hastalık anemisi (AID), köpeklerde ve kedilerde aneminin en yaygın nedenlerinden biridir. Karakteristik olarak nonrejeneratif bir anemidir ve hafif, orta şiddette bir anemidir. Enfeksiyon, yangı, immün aracılı ve neoplastik hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli kronik bozukluklarla sonucunda oluşabilir. AID genellikle hipoferremi, düşük ile normal serum toplam demir bağlama kapasitesi normal veya yüksek vücut demir depolaması ve kemik iliğinin eritrosit üretimini yeterince artıramaması ile karakterizedir. AID'nin fizyolojik rolünün, mikrobiyal demir erişimini sınırlamak için normal immünolojik yanıtın bir parçası olduğu düşünülmektedir. AID'nin çok faktörlü nedenleri olmasına rağmen, ana patofizyolojik mekanizma fonksiyonel demir eksikliğidir. Ek olarak, AID'nin klinik patolojik özellikleri arasında kısalmış eritrosit ömrü, demir metabolizmasının

inhibisyonu ve kemik iliğinde bozulmuş eritropoietin aracılı eritropoez bulunur (Fry 2010).

AID aslında fonksiyonel bir demir eksikliği durumu olduğundan, hipoferremi ve eritrosit morfolojisindeki çeşitli değişiklikler dahil olmak üzere gerçek demir eksikliği anemisi (DEA) ile bazı klinik benzerlikler göstermektedir (Schaefer ve diğerleri 2007). Gerçek demir eksikliği anemisinde MCV ve MCHC'de azalma, orta ile belirgin trombositoz ve kırmızı kan hücresi dağılım genişliğinde bir artış ile karakterizedir. Ek olarak, kan frotilerinde karakteristik değişiklikler olan keratositleri ve şistositleri içeren hipokromik eritrositleri içerir (Weiss ve diğerleri, 2010; Neiger ve diğerleri, 2002). AID ve DEA arasında ayırım yapmak zor olabilir, ancak demir parametreleri ve karakteristik eritrosit morfolojisi tanı koymaya yardımcı olabilir. Total demir bağlama kapasitesi, serumdaki transferrin konsantrasyonunu yansıtır (Harvey, 2008). Köpeklerde, total demir bağlama kapasitesinin demir eksikliğinde biraz arttığı (Fry ve Kirk, 2006) ve terebentin ile indüklenen AID'de azaldığı rapor edilmiştir (Chikazawa ve Dunning, 2013). Ancak köpeklerde yetersiz beslenmenin de plazma transferrin konsantrasyonunda azalmaya neden olduğu unutulmamalıdır. AID ve DEA arasındaki önemli patofizyolojik farklılıklardan biri toplam vücut demir deposudur, AID'de artar, ancak DEA'de azalır (Naigamwalla ve diğerleri, 2012). Bunlarla birlikte, altta yatan hastalıklar çeşitli başka hematolojik değişikliklere yol açtığından dolayı, beslenme yetersizlikleri, hipotiroidizm, miyelodisplazi, ilaç reaksiyonları, kronik böbrek hastalığı ve kanama gibi diğer anemi nedenleri ekarte edildikten sonra AID'nin kesin tanısı konulmalıdır (Chikazawa ve Dunning, 2016).

2.1.1.2.4. Aplastik Anemi

Aplastik anemi, kanda bisitopeni veya pansitopeni ve kemik iliğinin yağ dokusu ile yer değiştirmesi ile karakterize klinik bir sendromdur. Hematopoietik hücreler neredeyse yoktur ve kalan hücre sayısı genellikle lenfositler ve plazma hücrelerinden oluşur. Sekonder miyelofibrozis ve lösemiler gibi miyelofizik bozukluklarla ilişkili pansitopeniler, hipoplastik miyelodisplastik sendromlar, pure red cell aplazisi, hemofagositik sendrom, miyelonekroz ve kemik iliğinin enflamatuvar bozuklukları bunun dışındadır. Aplastik anemi, akut ve kronik formlarda ortaya çıkabilir. Bazı ilaç veya virüs kaynaklı aplazi türlerinde görüldüğü gibi, kemik iliği baskılanması akut olarak meydana gelirse, nötropeni tipik olarak 1 hafta içinde gelişir, ardından 9-14 gün sonra trombositopeni gelişir (Weiss ve diğerleri, 2010).

Kırmızı kan hücrelerinin uzun ömrü nedeniyle anemi uzun süre gelişmez. Bu nedenle, akut aplastik anemi tipik olarak bir nötropeni ve trombositopeni ile karakterizedir. Akut aplastik anemi en

sık olarak kemik iliğinde hızla bölünen progenitör veya proliferatif hücrelerin yıkımı ile ilişkilidir. Kronik aplastik anemide hematolojik diskrazi daha yavaş gelişir ve orta ile şiddetli normositik normokromik rejeneratif olmayan anemi, nötropeni ve trombositopeni ile karakterizedir. Kronik aplastik anemi en sık kök hücre yıkımı ile ilişkilidir (Weiss ve diğerleri, 2010).

2.1.1.2.5. Saf Kırmızı Hücre Aplazisi

Saf kırmızı hücre aplazisi (PRCA), eritropoezin seçici başarısızlığı ile karakterize bir durumu tanımlar. Başlıca bulgular şiddetli anemi, retikülositopeni ve kemik iliğinde eritroid öncüllerinin yokluğu veya aşırı tükenmesini sonucunda oluşur. Anemi normositik ve normokromiktir. Saf kırmızı hücre aplazisi, terim aynı anlama gelse de özellikle kemik iliğinin panhipoplazisini belirtmek için kullanılmış olan aplastik anemiden ayırt edilmelidir. Saf kırmızı hücre aplazisi hem köpeklerde hem de kedilerde görülür ve çoğunlukla kemik iliğindeki erken eritroid öncü hücrelere saldıran edinilmiş bir bağışıklık tepkisinden kaynaklanır. Bu, birincil immün aracılı hastalık süreci olarak veya rekombinant eritropoietin tedavisinin bir yan etkisi olarak ortaya çıkabilir. Seçici eritroid hücre yıkımı, viral enfeksiyonlara veya değiştirilmiş canlı virüs aşılması sonucunda sekonder olarak da meydana gelebilir. (Weiss ve diğerleri, 2010).

2.1.1.2.6. Parvovirus Enfeksiyonu Kaynaklı Anemi

Parvovirüs enfeksiyonu veya aşılması ilk başlarda, köpeklerde saf kırmızı hücre aplazisinin olası bir nedeni olarak düşünülmüştür. İnsanlarda Parvovirus B19 enfeksiyonu saf kırmızı hücre aplazisinin bir nedenidir. Köpeklerde parvovirus, eritroid öncü hücrelerini kolayca enfekte ederek ve akut aplastik anemiye neden olabilmektedir. Bununla birlikte, köpeklerin modifiye edilmiş canlı parvovirüs aşısı ile aşılmasından 1 – 3 hafta sonra şiddetli eritroid ve megakaryositik aplazi bildirilmiştir. Bazı köpeklerde aplazi geri dönüşümsüz olup ve ölümlerle sonuçlanırken, bazı vakalarda köpekler iyileştiği gözlemlenmiştir (Weiss ve diğerleri, 2010).

2.1.1.2.7. Miyelodisplastik Sendrom

Miyelodisplastik sendromların ayırt edici özellik olarak periferik sitopeniye yol açan etkisiz hematopoez ve periferik kan veya kemik iliğinde displazi kanıtı vardır. Kedilerdeki bazı miyelodisplastik sendrom vakaları, FeLV enfeksiyonuna ikincil olarak ortaya çıkar ve kemik iliği kök hücrelerinde retroviral kaynaklı mutasyonlara neden olur. Kedilerde miyelodisplastik sendrom en sık orta veya şiddetli anemi ile ilişkilidir, ancak bisitopeni ve pansitopenide yaygındır. Periferik kan nötrofillerinde gözlenen displastik değişiklikler dev nötrofiller, halka şekilli çekirdekli nötrofiller ve hipersegmentli nötrofillerdir. Bazı miyelodisplastik sendrom tiplerinde akut miyeloid lösemiye geçiş sıklığıdır (Valenciano ve diğerleri, 2010).

2.2. Anemik Vakalarda Oluşabilecek Potansiyel Hatalar ve Belirteçleri

Anemi; gerçek anemi ile pseudo anemi olmak üzere iki şekilde görülebilir ve pseudo anemi, plazma hacmindeki artışa bağlı olarak hafif düşük hematokrit düzeyi ve normal eritrosit seviyeleri ile karakterizedir ve bu durum, konjestif kalp yetmezliği, gebelik ve intravenöz sıvı tedavisi sonrasında ortaya çıkabilir, ayrıca dehidrasyon durumlarında anemi belirtileri baskılanabilir ve orta ile şiddetli anemi durumlarında dehidrasyon derecesine bağlı olarak anemi düzeyi hafif anemi olarak algılanmasına neden olabilir (Harvey, 2012). Asıl kriter hematokrit ve hemoglobin miktarındaki azalmadır çünkü eritrosit sayısı her anemide azalma göstermez (Arun, 2013).

Oksijen taşıma kapasitesi düştüğü, taşipne dispne, senkop, siyanotik bir durum olmaksızın hipoksi durumlarında, mukozalarda durgunluk fark edilebildiğinde. Azalan kan volümünde, zayıf periferik nabız durumlarında, solgun, uzayan kapillar dolun zamanın durumlarında, altta yatan temel hastalık durumlarında, kronik hastalığa bağlı anemi durumlarında, bazı tümöral oluşumlara bağlı olarak, kemik iliğini baskılayan durumlarda tam kan sayımına başvurulmalıdır (Voyvoda, 2020).

Hematokrit (HCT/PCV) değeri azalmış, hemoglobin (Hb) konsantrasyonu düşmüş, eritrosit sayısı azalmış veya normal olduğu durumlarda anemi durumu değerlendirilmelidir. Anemi durumu değerlendirilirken dikkat edilmesi gereken kriterler; yaş (Yetişkin bireylere oranla pediatrik bireylerde hct, hb ve rbc oranlarının daha düşük olması normaldir), ırk (St. Bernard %35-40, Geryhounds %52-60), hidrasyon durumu, türe özgü referans değerler, analiz farklılıkları ve analiz hataları göz önünde tutulmalıdır. HCT%: $RBC \times MCV/10$ olmalıdır. Bu fark %3-5'den fazla ise analitik bir hata

yönünden değerlendirilmelidir (Voyvoda, 2020).

Aneminin derecesi, plazma protein konsantrasyonları ile bağlantılı olarak ayrıca değerlendirilmelidir. Protein konsantrasyonları yükselirse, hayvan dehidre olabilir ve anemi, eritrosit kütle ölçümlerinin gösterdiğinden daha şiddetli olabilir (Rebar ve Metzger, 2001).

Kan örneklerinin bekletilmesi sonucunda eritrositler şişer ve bu HCT ve MCV değerinde artış, MCHC değerinde azalmaya neden olur. Lipemik durumlarında Hb ve MCHC yüksek çıkabilmektedir. Kan alma tüpünün yetersiz doldurulması eritrositlerde büzüşmeye PCV ve MCV değerinin düşük, MCHC değerinin yüksek gözükmeye, otoaglutinasyon durumlarında HCT düşük, MCV yüksek gözükmeye sebep olmaktadır (Voyvoda, 2020).

HCT değerleri belirgin şekilde azalana kadar (yaklaşık <10% veya daha az) veya akut belirtiler geliştirdiğinde klinik olarak belirgin hale gelirler. Hasta sahipleri anemiye uyum sağlamaya yönelik bazı değişiklikleri de fark edebilir, örneğin taşikardi veya artmış bir prekordiyal vuruş. Bir anemik hayvan sahibinden anemnez alırken sorulması gereken sorular;

- Evcil hayvan şu anda herhangi bir ilaç alıyor mu?

Bazı ilaçlar hemoliz, gastrointestinal kan kaybı veya kemik iliği hipoplazisine neden olabilir.

- Hasta sahipleri bulunduğu ortamda kan veya koyu dışkı fark ettiler mi?

Tümör veya mide ülserinden kaynaklanan gastrointestinal kanama, köpeklerde demir eksikliği anemisine (DEA) neden olabilir.

- Hasta sahipleri hayvan üzerinde herhangi bir parazit fark ettiler mi?

Şiddetli pire ve kene enfestasyonu anemiye sebep olabilir veya kan parazitlerinin aktarılmasına yol açabilir.

- Kedi yakın zamanda felin corona virus, felin panlökopeni, felin lösemi virusü (FeLV) veya felin immün yetmezlik virusu (FIV) enfeksiyonları için test edildi mi?

Retrovirüsler, parvo virus, corona virus kemik iliği hipoplazisine, myelodisplaziye veya lösemiye neden olabilir, bunlar da sitopenilere yol açabilir.

- Evcil hayvanınız yakın zamanda aşılandı mı?

Modifiye canlı aşılar trombosit fonksiyon bozukluğu veya trombositopeni sonucu kanama oluşturabilir veya immün aracılı hemolizle ilişkili olabilir.

- Köpek yakın zamanda çiftleşme önleyici aşılar veya idrar kaçırma için herhangi bir enjeksiyon

aldı mı? Östrojen türevleri kemik iliği aplazisine veya hipoplazisine neden olabilir (Nelson ve Couto, 2019).

2.3. Eritrosit Morfolojileri

Eritrosit morfolojisindeki değişiklikler, yaklaşık olarak yarıya yakın bir şekilde eritrositlerin birbirine temas ettiği tek tabaka (100X) alanda nicel olarak değerlendirilir. Şiddetli anemik hayvanlarda böyle bir tek tabaka alanı bulunmayabilir. Bu yaymalarda morfolojik anormallikler, eritrositlerin bir hücre çapı mesafesiyle ayrıldığı iki alanda sayılabilir (Weiss, 1984).

Kedi ve köpeklerin eritrositleri çekirdeksizdir ve çoğu diskositoz adı verilen bikonkav disk şeklindedir. Bikonkav şekil, boyanmış kan preparatlarında gözlenen eritrositlerin merkezi solgunluğuna yol açar. Yaygın evcil hayvanlar arasında, köpeklerde bikonkavite ve merkezi solgunluk en belirgindir ve aynı zamanda en büyük eritrositlere sahiptirler (Harvey, 2001).

Eritrosit içerikleri arasında Heinz cisimleri, Howell-Jolly cisimleri, bazofilik noktalanma ve kan parazitleri bulunabilir (Weiss, 1984).

Kedi eritrositleri, köpek eritrositlerinden daha küçük ve boyut olarak at eritrositlerine benzer, çekirdeksiz bikonkav disklerdir (diskositler). Kedi eritrositlerinin bikonkavitesi, köpek kan filmlerine kıyasla, kedi kan filmlerinde daha az merkezi eritrosit solgunluğu ile sonuçlanan, köpeklerde daha az belirgindir (Harvey, 2017). Bu eritrosit morfoloji değişikliklerinin sebepleri patolojik, fizyoplojik veya sekonder kaynaklı olabilmektedir (Weiss, 1984).

Eritrositlerin tam olarak değerlendirilebilmesi için boyut, şekil, renk ve hücresel inklüzyonların göz önünde bulundurulması gereklidir. Boyut değişiklikleri arasında mikrositoz, makrositoz ve anizositoz bulunur. Ortalama Hücresel Hacim (MCV), genellikle makrositoz ve mikrositozun güvenilir bir göstergesidir. Bununla birlikte, bir kan örneğinde hem makrositler hem de mikrositler varsa, MCV yalnızca baskın değişikliği yansıtır veya normal aralık içinde olabilir. Laboratuvar sonuçlarında hücre boyutunu gösteren bir gösterge olarak MCV göz önünde bulundurulur, ancak yaymalarda makrositik veya mikrositik eritrositlerin değerlendirilmesi gerekmektedir. Eritrosit şekil değişikliğinin altında yatan mekanizmaya (patolojik, fizyolojik veya yapay) göre değişmektedir. Poikilositoz, eritrosit şeklinin herhangi bir değişikliğini tanımlayan genel bir terimdir. Poikilositoz, mevcut olan belirli şekil değişikliği türüne göre daha ileri değerlendirilmelidir (Weiss, 1984).

Poikilositozis anormalliklerin varlığını tanımlamak için kullanılan genel terim. Belirli anormal

şekiller için özel terminoloji kullanılsa da her bir şekil değişikliği tipini ölçmek, şekil değişikliğinin nedenini belirlemekten daha az önemli olabilir. Poikilosit oluşumu, yaygın damar içi pıhtılaşma, karaciğer hastalığı, kardiyomiyopati, miyeloid neoplazmalar, böbrek yetmezliği ve doksorubisin toksisitesi dahil olmak üzere eritrosit parçalanması ile ilişkili çeşitli bozukluklarda ortaya çıkar (Harvey, 2017).

Polikromazi; Wright boyalı kan yaymasında hafif mavi görünen, boyanabilir sitoplazmik RNA'ya sahip, olgunlaşmamış çekirdeksiz eritrositlerdir. Tüm polikromatofilik eritrositler retikülositlerdir ancak tüm retikülositlerin Wright boyalı kan yaymalarında polikromatofilik olarak boyanmak için yeterli sitoplazmik RNA içermeyebilmektedir. Agregat retikülositleri, rutin olarak boyanmış kan filmlerinde polikromatofilik (mavimsi-kırmızı) eritrositler olarak görünür. Bu renklenme, kırmızı lekeli hemoglobin sentezleyen hücrelerde mavi lekeli RNA'nın varlığından kaynaklanır. Kedilerdeki noktasal retikülositler, bu hücrelerin mavimsi görünmesi için yeterli RNA içermez. Artmış polikromazinin varlığı, kanamaya veya artmış eritrosit yıkımına (hemoliz) yanıt olarak beklendiği gibi bir agregat retikülositozun mevcut olduğunu gösterir (Harvey, 2001, 2012, 2017; Zachary, 2022; Rebar ve Metzger, 2001; Moore, 2012; Weiss, 1984).

Anizositoz; kan frotilerinde eritrosit çaplarındaki değişimi ifade eder. Artan sayıda retikülosit üretildiğinde meydana geldiği gibi, normalden önemli sayıda daha büyük hücre mevcut olduğunda artan anizositoz gözlemlenebilir. Sonuç olarak, artmış anizositoz genellikle rejeneratif aneminin bir özelliğidir. Bununla birlikte, rejeneratif olmayan anemisi olan bazı kedilerde diseritropoez sırasında büyük eritrositler de üretilebilir (Harvey, 2001, 2012, 2017; Zachary, 2022; Rebar ve Metzger, 2001; Moore, 2012; Weiss, 1984).

Hipokromazi, hemoglobin konsantrasyonunun azalması ve orta kısımdaki solgunluğun artması ile karakterize olan eritrositlerin varlığına işaret eder. Artmış hipokromazi genellikle kronik demir eksikliği anemisi olan köpeklerde gözlenir. Şiddetli demir eksikliği anemisi olan yavru kediler dışında, genellikle demir eksikliği olan kedilerde hipokromazi belirgin değildir (Harvey, 2001, 2012, 2017; Zachary, 2022; Rebar ve Metzger, 2001; Moore, 2012; Weiss, 1984).

Sferositler; otoimmün kaynaklı anemilerin tanısında önemli bir öneme sahiptir. Sferositler, normal hücrelere göre daha küçük ve daha koyu kırmızı renkte olan, merkezi solukluğu olmayan eritrositler olarak tanımlanır. Köpeklerde, normal eritrositlerin büyük boyutları ve diskosit şekli nedeniyle sferositler kolaylıkla tanımlanabilir. Diğer türlerde ise, normal olarak daha küçük eritrositlere ve merkezi solukluğun eksikliğine sahip oldukları için sferositoz çok daha belirgin değildir (Weiss, 1984). Hücre şişmesi veya hücre zarı kaybından kaynaklanan küresel eritrositler,

sferositler olarak adlandırılır. Sferositler merkezi solukluktan yoksundur ve lekeli kan filmlerinde normalden daha küçük çaplara sahiptir. Karşılaştırıldığında, kan filmlerinin tüylü ucunda bulunan yassı eritrositler merkezi solukluğa sahip değildir, ancak çapları büyüktür. Kedi eritrositlerinin küçük boyutu ve sınırlı merkezi solgunluğu nedeniyle, sferositlerin kedilerde kesin olarak tanınması zordur. Sonuç olarak, özellikle immün aracılı hemolitik anemi teşhisi için bir kriter olarak kullanıldığında, kedilerde sferositoz tanımı dikkatli bir şekilde ifade edilmelidir. Sferosit oluşumunun diğer potansiyel nedenleri arasında eritrosit parazitleri, oksidan hasarı ve depolanmış kanın transfüzyonu yer alır. Mikrosferositler, eritrosit parçalanmasından kaynaklanabilir (Harvey, 2001, 2012, 2017; Zachary, 2022; Rebar ve Metzger, 2001; Moore, 2012; Weiss, 1984).

Kodositler; merkezi nokta şeklinde boyanmış alanları mevcut olan solgunluğu artmış, rejeneratif anemilerde görülebilen eritrosit morfolojileridir. Klinik açıdan pek önem taşımazlar. Bununla birlikte, polikromazi olmadığında kodositler, hemoglobinin içeriğinin azalması (hipokromazi) veya hücre zarında kolesterol yüklenmesi gibi durumları yansıtabilir. Bu durumlar kronik karaciğer, dalak veya böbrek hastalıklarında görülebilir (Weiss, 1984).

Ekinositler; dikenli yapıdaki bu hücreler sık sık hayvanlarda görülür. En sık gözlenen dikenli hücre tipi ekinositlerdir. Ekinositler, hücre yüzeyinin tamamına yayılmış, sayıca fazla, eşit aralıklı, keskin çıkıntılardan karakterizedir. Genellikle yapay değişiklikleri temsil eder, ancak potansiyel patolojik öneminden dolayı bildirilmelidir. Patolojik ekinoitler, "burr hücreleri" olarak adlandırılanlar, böbrek hastalıklarında rapor edilmiştir ve ekino-sferositler ise pirüvat kinaz eksikliğinde rapor edilmiştir (Weiss, 1984). Boyalı kan yaymaları gözlemlendiğinde, ekinositler genellikle aşırı EDTA, uygun olmayan kan filmi hazırlama veya kan filmi hazırlamadan önce uzun süreli numune saklamadan kaynaklanan bir artefaktır. Üremik kedilerde ekinositoz (önceden krenasyon olarak adlandırılır) bildirilmiştir. Ekino-eliptosit terimi iki morfolojinin birlikte olduğu durumlarda kullanılmakta dolup glomerulonefritli bir köpekte görülmüştür (Harvey, 2001, 2012, 2017; Zachary, 2022; Rebar ve Metzger, 2001; Moore, 2012; Weiss, 1984).

Dakrositler; uzunlamasına veya sivri uçlu uzantılara sahip gözyaşı damlası şeklindeki eritrositlerdir. Miyeloproliferatif bozukluğa sahip köpeklerin ve kedilerin kanında, glomerulonefriti olan köpeklerde bildirilmiştir (Harvey, 2001).

Eksentrosit; hemoglobini hücrenin bir bölümüne lokalize olan, böylece hücrenin geri kalan kısmında görünür şekilde yetersiz hemoglobin bulunan eritrositlere verilen isimdir. Eritrosit membranının sitoplazmik yüzeyinin zıt bölgelerinin yapışmasıyla oluşurlar. Sadece küçük bir sitoplazma etiketi kalan eksentrositler yuvarlak hale gelmişse "piknosit" olarak adlandırılabilir.

Soğan, asetaminofen ve K vitamini toksikasyonuna maruz kalmış hayvanlarda daha sık görülmektedir (Harvey, 2001).

Akantositler; patolojik eritrositlerdir. Genellikle düzensiz çıkıntıları olan, uçları tırtıklı veya yuvarlak olan hücrelerdir. Köpeklerde karaciğer ve dalak hastalıklarıyla ilişkilendirilmiştir. Akantosit tipi hücreler laboratuvarımızda, iltihabi ve metabolik bozukluklarla ilişkili olarak çeşitli sığırlarda tespit edilmiştir. Kan yaymalarında bazen ekinosit ve akantosit özelliklerini bir arada taşıyan üçüncü bir tür dikenli hücre de gözlenir. Bu hücreler ekinoakantosit olarak adlandırılmıştır (Weiss, 1984). Spiküle biçimdeki bu eritrositler düzensiz aralıklı, değişken boyutlu spiküllere sahiptirler. Karaciğer hastalığı olan kedilerde ve DIC ve konjestif kalp yetmezliği gibi eritrosit parçalanmasına neden olan bozuklukları olan kedilerde tespit edilmiştir (Harvey, 2001, 2012, 2017; Zachary, 2022; Rebar ve Metzger, 2001; Moore, 2012; Weiss, 1984).

Şistositler; intravasküler pıhtılaşma, vaskülit, hemanjiyosarkom, kaval sendromu ve endokardit dahil olmak üzere eritrosit yıkımını düşündüren, çeşitli koşullara ikincil intravasküler travmadan kaynaklanabilen eritrositlerdir (Paltrinieri, 2017; Moore, 2012).

Eliptositler; eliptik veya oval şekilli eritrositler eliptositler (veya ovalositler) olarak sınıflandırılır. Miyeloid neoplazmaları, hepatik lipidozis, porto sistemik şantları ve doksorubisin toksisitesi olan kedilerde tanımlanmıştır (Harvey, 2001, 2012, 2017; Zachary, 2022; Rebar ve Metzger, 2001; Moore, 2012; Weiss, 1984).

Keratositler; bir veya daha fazla sağlam ya da yırtılmış vezikül gibi görünen eritrositlerdir. Bir vezikülün yırtılması, bir veya iki çıkıntının oluşmasına neden olur. Keratositler, karaciğer hastalığı, portosistemik şantlar, DIC, kalp hastalığı ve doksorubisin toksisitesi dahil olmak üzere kedilerde çeşitli bozukluklarda gözlenmiştir (Harvey, 2001, 2012, 2017; Zachary, 2022; Rebar ve Metzger, 2001; Moore, 2012; Weiss, 1984).

Hayalet hücreler; periferik kan yaymalarının hazırlanması öncesinde hücrelerin lizise uğradığının göstergesidir. Eritrosit membranları, intravasküler hemoliz sonrasında dolaşımdan hızla uzaklaştırılır; bu nedenle eritrosit hayaletlerinin varlığı ya yakın zamandaki intravasküler hemoliz ya da kan örneği toplandıktan sonra kan tüpünde in vitro hemolize işaret eder. Hemolizin bir oksidan tarafından oluşturulduğu durumlarda, eritrosit hayaletleri içinde Heinz cisimleri görülebilir. Bu lekeli eritrositler lipemik örneklerde görülmektedir (Harvey, 2012).

Howell-Jolly cisimcikleri; rutin Romanowsky tipi kan boyalarıyla boyandığında koyu mavi görünen küçük, küresel nükleer artıklardır. Bunlar, metarubrisit çekirdeğinin atılması sırasında nükleer parçalanma veya çekirdek zarının yırtılması sonucunda kemik iliğinde oluşur ve bazı nükleer

materyal geride kalır. Köpeklerin aksine, Howell-Jolly cisimcikleri genellikle normal kedilerin kanında düşük sayılarda bulunur. Bu içerikler, eritrositlerin dolaşırken dalak tarafından uzaklaştırma işlemiyle splenik sinüsler arasındaki dar yarıklardan geçerken giderilir. Howell-Jolly cisimcikleri genellikle rejeneratif anemilerde artmış olarak görülür (Harvey, 2001, 2012, 2017; Zachary, 2022; Rebar ve Metzger, 2001; Moore, 2012; Weiss, 1984).

2.4. Doğru Numune Alma Yöntemi

Doğru hematolojik yorumlamayı sağlamak için mümkün olduğunca artefaktları en aza indirmek önemlidir. Hatalı kan toplama teknikleri, yetersiz örnek hacimleri, uzun süreli örnek saklama ve gecikmiş örnek analizi, artefakt oluşumu için fırsatlar sunar. Doğru kan toplama teknikleri, örneğin pıhtılaşmasından kaynaklanan yanlış sonuçların önlenmesine yardımcı olur. Doğruluğu sağlamak için, hücresel travmayı en aza indirecek ve pıhtılaşma mekanizmalarının aktive olmasını önleyecek şekilde, hematolojik örnekleri mümkün olan en büyük kan damarından almak ve pıhtılaşan örnekleri tekrar test etmek önemlidir. Hematolojide kullanılan antikoagülanlar arasında etilendiamintetraasetik asit (EDTA), heparin ve sitrat bulunur. Hücresel detayı diğer antikoagülanlardan daha iyi koruduğu için, EDTA kan filmi hazırlamak için tercih edilen antikoagülandır (Rebar ve Metzger, 2001; Moore, 2012).

Yetersiz örnek hacmi, doğru olmayan hematoloji sonuçlarının yaygın bir nedenidir. Antikoagülanlı kan toplama tüplerini tamamen doldurmak, yanlış olarak azalmış bir paketlenmiş hücre hacmi (PCV) ve yanlış olarak azalmış hücre sayılarını önler ve kırmızı kan hücresi küçülmesini engeller (Rebar ve Metzger, 2001).

Hematolojik örnekleri mümkün olan en kısa sürede analiz etmek, antikoagülanlara maruziyetten kaynaklanan artefakt oluşumunu ve depolama ve sevkiyat nedeniyle hücre bozulmasını önler. Örnekleri toplandıktan sonraki üç saat içinde incelenmeli veya yapay olarak artmış HCT ve MCV ile azalmış MCHC'yi önlemek için 4°C'de buzdolabında saklanmalıdır. Kan yayması hazırlanmadan önce kan tüpü yavaş bir şekilde karıştırılmalıdır (Rebar ve Metzger, 2001).

Eski numunelerde kan yayması oluştururken, nötrofil hipersegmentasyonu ve lenfositik nükleer distorsiyonun yanı sıra monosit vakuolizasyonu, monosit psödopod oluşumu ve trombosit agregasyonu meydana gelebilir. Bu morfolojik yapıların oluşmasını önlemek için, kan filmlerini

alındıktan sonra bir saat içinde hazırlanmalı, ayrıca yetersiz boyamayı önlemek için formalin ve formalin içeren kapları tüm kan ve sitolojik yaymalardan uzak tutulmalıdır (Rebar ve Metzger, 2001).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Cihazlar

Çalışma kapsamında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında bulunan mikroskop (Olympus BX51) ve distile su cihazı kullanıldı. Hizmet alımı yapılarak tam kan sayımında kullanılan hemogram cihazı (Mindray BC-5000), retikülosit yüzdesi hesaplaması ve sayımı yapabilen hemogram cihazı (Idexx ProCyte One Haematology Analyser), biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere biyokimya cihazı (Catalyst One Veterinary Chemistry Analyzer) kullanıldı. FCoV pozitif kedilerin taşıdığı korona virus antijen titresi ölçümü için FCoV Immunocomb (Biogal Galed Labs) cihazı kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Hazırlanan preparatların boyanması için Wright's eosin metilen mavisi ve May-Grünwald Giemsa boyaları kullanıldı.

3.1.3. Hayvan Materyali

Çalışmada hayvan materyali olarak Adnan Menderes Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalına gönderilen kan örnekleri kullanılmıştır. Bu çalışmada Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilen farklı ırk ve yaştan ve her iki cinsiyetten 59 anemili (32 kedi ve 27 köpek) ve 10 klinik olarak sağlıklı (5 kedi ve 5 köpek) toplam 69 kedi ve köpekten vena cephalica antebrachi'den tekniğine uygun olarak 1 mL'lik antikoagülanlı (EDTA) tüplere alınıp anabilimdalına gönderilmiş kanlarının rutin sitopatolojik muayenesi yapılmış olup, aynı örneklerin hemogram değerleri için hizmet alımı

yapılmıştır. Hizmet alımı sonucu hemogram değerlerine göre RBC, HGB, HCT değerleri normal referans aralığında olan kedi ve köpekler sağlıklı kabul edilip kontrol grubuna dahil edilmiştir.

3.2. Yöntem

Kan yaymasının kalitesi ve boyaması değerlendirme sonuçlarına direk etki etmesi nedeniyle, çalışmadaki kan numuneleri; temiz bir lam üzerine damlatılan kanın çekme veya itme tekniği ile optimal bir hızda hareket ettirilmesi prensibine dayalı olarak gerçekleştirilmiştir (Allison ve Meinkoth, 2007; Harvey 2012; Rebar ve Metzger, 2001; Moore, 2012). Kan damlatılan birinci lamın itici veya çekici ikinci bir lam ile kan damlasının önüne 30 ila 45 derece açıyla yerleştirilerek bir kama oluşturuldu. Birinci ve ikinci lam kan damlası, uygun açı ile temas ettirildikten sonra ikinci lamın kenarlarına ulaşmaya kadar bekletildi, itici lam hızla birinci slaydın sonuna kadar ilerletildi. Bu sırada aşağıya doğru bir basınç uygulanmamasına dikkat edildi (basınç uygulamak çizgilere yol açabilmektedir). İdeal olarak, kan sürüntüsü lamın yarısını veya 2/3'ünü kaplayacak şekilde yerleştirildi ve lam sonuna doğru giderek daha ince yayma gerçekleştirildi. Eritrositleri bozabilecek su artefaktını önlemek için kan sürüntüsünün tamamen kuruması beklendi. Kullanışlılık açısından, tamamen kuru olduğunda kan sürüntüsünü boyamak için geleneksel Romanovsky boyaları kullanıldı.

Çalışmaya dahil edilen anemik kedi ve köpeklerden alınan kan örneklerinden en az 3 adet kan yayması preparatı oluşturulmuştur. Kan yaymaları tespit edildikten sonra sitopatolojik inceleme için Wright's Eosin Metilen Mavisi ve May-Grünwald Giemsa boyaları ile boyandı. Boyamayı takiben preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus BX51) 10x ila 100x büyütme aralığında incelendi. Ayrıca mikroskopik dijital fotoğraflar çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı. Tam kan analizleri kan sayım cihazı (Mindray BC-5000) ile sayıldı, retikülosit sayımı için retikosit yüzdesi ve sayımı yapabilen kan sayım cihazı (Idexx ProCytte One Haematology Analyser), biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere biyokimya cihazı (Idexx Catalyst One Veterinary Chemistry Analyzer) kullanıldı.

Anemik vakaların sınıflandırılmasında Lippi ve diğerlerinin (2021) referans aralıkları kullanılmış olup tablo 1'de modifiye edilmiştir.

Tablo 1. Anemi şiddetinin sınıflandırma kılavuzu (Lippi ve diğerleri 2021).

	Köpek	Kedi
Hafif	30 - 37	20 - 26
Orta	20 - 29	14 - 19
Şiddetli	13 - 19	10 - 13
Çok Şiddetli	<13	<10

Değerler yüzde olarak hematokrit veya paketlenmiş hücre hacmidir.

Eritrosit morfolojileri incelemesinde görülen anormal hücrelerin ortalamasına dayalı sayımı Harvey (2012) 'de belirtilen sınıflandırmaya göre düzeltilerek aşağıdaki verilere göre yapılmıştır.

Tablo 2. Anormal Hücrelerin Ortalama Sayısına Dayalı Eritrosit Morfolojisinin Yarı Kantitatif Değerlendirmesi. 100x/Mikroskobik Alanı (Harvey, 2012).

	+1	+2	+3	+4
Anizositozis				
Köpek:	7-15	16-20	21-29	>30
Kedi:	5-8	9-15	16-20	>20
Polikromazi				
Köpek:	2-7	8-14	15-29	>30
Kedi:	1-2	3-8	9-15	>15
Hipokromazi				
Kedi ve köpek:	1-10	11-50	51-200	>200

Poikilositozis

Kedi ve köpek: 1-10 11-50 51-200 >200

Sferosit

Kedi ve köpek: 5-10 11-50 51-150 >150

Ekinosit

Kedi ve köpek: 5-10 11-100 101-250 >250

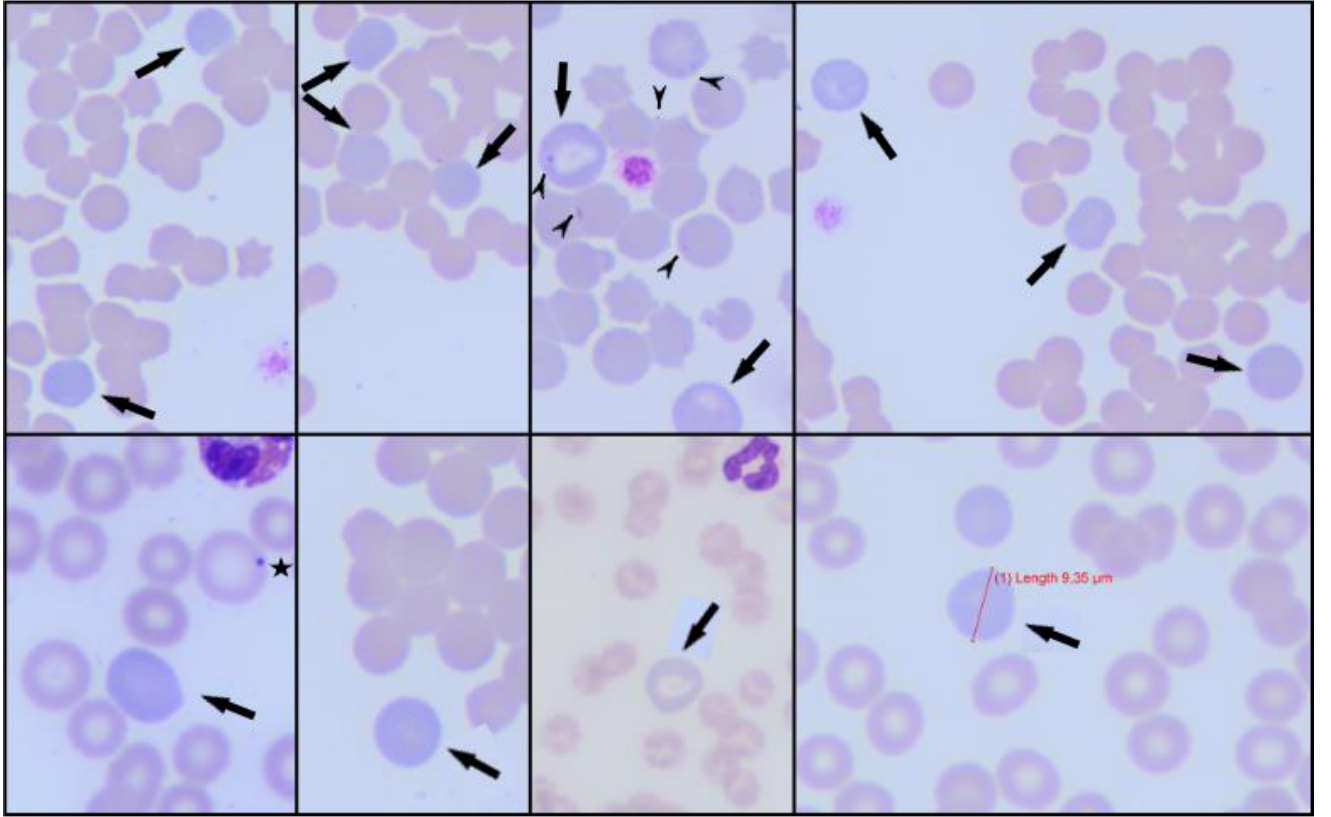
Akantosit, Keratosit, Eliptosit, Dakrosit, Stomatosit

Kedi ve köpek: 1-2 3-8 9-20 >20

4. BULGULAR

Bu çalışmada, 32 anemik kedi ve 27 anemik köpekte kan morfolojisi ve klinik bulguların değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Kan yaymaları oluşturularak mikroskop altında incelenen örneklerde eritrosit morfolojileri sınıflandırıldı.

Eritrositler kromozü derecelerine göre sınıflandırıldı. Kan yaymaları incelendiğinde, anemik kedi vakalarının 10'unda (olgu no: 1, 5, 6, 11, 13, 14, 18, 20, 23, 29) makrositik, 5'inde (olgu no: 21, 22, 25, 28, 31) mikrositik bir anemi görüldü. Anemik köpek olgularında ise 18'inde (olgu no: 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 16, 17, 18, 19, 20, 24, 26, 27) makrositik, 3'ünde (olgu no: 13, 23, 25) mikrositik anemi tespit edildi. Ayrıca, 11 kedi (olgu no: 1, 5, 6, 9, 11, 14, 15, 16, 22, 23, 32) ve 8 köpek olgusunda (olgu no: 2, 3, 6, 7, 10, 23, 25, 27) hipokromik kan yayması gözlemlendi. Makrositik eritrosit örnekleri Resim 8 de belirtilmiştir.



Resim 8. Makrositik gri-mavi polikromatofilik eritrositler (ok). Tek bir Howell - Jolly cisimciği (yıldız), periferik yerleşimli Mycoplasma haemofelis organizmalarının (ok başları) görüntüsü. Wright- stain; 100 x.

Anemik kedi (olgu no:3, 7, 15, 16, 21) ve köpeklerde (olgu no: 8, 11, 12, 13, 14, 23) aneminin şiddeti arttıkça genel durumun kötüleştiği gözlemlendi. Bu durum, dışarıdan gelen tepkilere yanıtılaşma, hipoksik solunum, mukoz membranlarda solgunluk, egzersiz intoleransı, agoni durumu, kapillar dolun zamanının uzaması gibi ortak bulgularla birlikte gözlemlendi.

Aneminin sınıflandırılması hemotokrit değerlerine göre yapılmış olup hemogram sonuçlarında elde edilen veriler tablo 3 ve tablo 4 de gösterildi.

Tablo 3. Anemik köpeklerin eritrosit yorumlanması için gerekli olan hemogram değerleri.

No	RBC (x10 ¹² L)	HGB (FL)	HCT %	MCV (FL)	MCHC(g/L)
1	3,58	8,1	25,3	70	312
2	3,37	7,7	26,2	77,8	282
3	2,92	6,9	22	75,4	314
4	3,07	7,4	23	71,3	311
5	3,68	9,5	30,1	80,8	314
6	3,92	9,5	31,9	81,4	298
7	3,72	8,9	29,8	80	299
8	4,3	10	31,6	73,4	316
9	4,13	10,5	32,4	78,5	324
10	3,2	7,5	28,9	90,4	259
11	3,77	9,2	28,4	75,3	323
12	4,29	10,5	31,9	74,3	329
13	3,37	7,1	23,1	55	307
14	3,74	7,9	25,9	69,3	307
15	1,97	5,6	18,1	92,3	307
16	3,6	10,2	28,4	78,8	361
17	0,92	2,6	7,5	81,8	340
18	3,69	9,9	29,3	79,4	338
19	3,34	8,6	26,5	79,2	325
20	2,48	6,1	19,2	77,3	316
21	3,33	7,8	26,2	77	286
22	0,75	2,4	5	66,8	380

23	1,78	4,6	10	58	370
24	1,71	5	11,7	67,5	375
25	5,91	10,8	30	51,6	355
26	1,12	3,9	8,6	76,5	370
27	5,9	10,9	30	80	255

N olgu numarası olarak ifade edilmiştir.

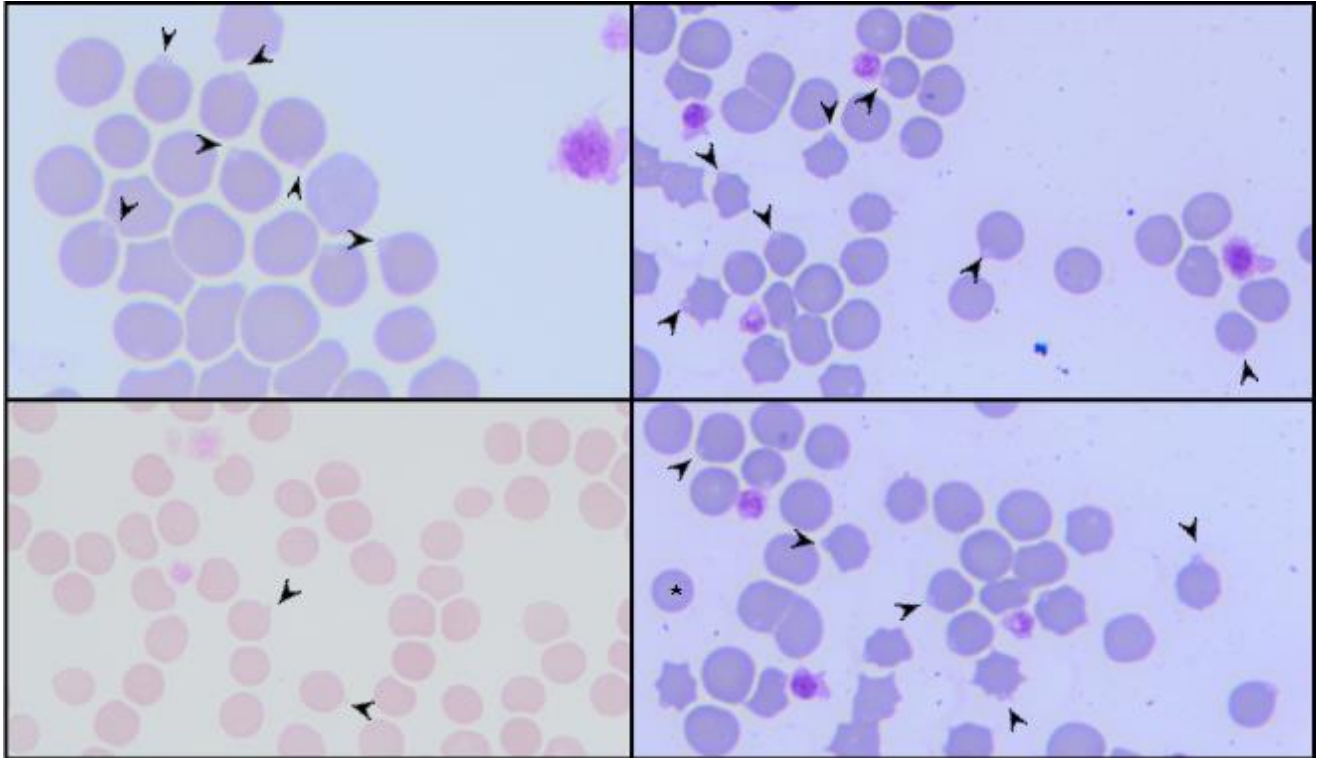
Tablo 4. Anemik kedilerin eritrosit yorumlanması için gerekli olan hemogram değerleri.

No	RBC (x10 ¹² L)	HGB (FL)	HCT %	MCV (FL)	MCHC(g/L)
1	2,72	5,4	20,6	75,6	264
2	3,73	6,8	18,9	50,7	359
3	4,43	6,5	20,4	46,1	318
4	4,36	5,4	18,3	41,9	295
5	4,06	6,6	25,2	62	264
6	2,38	4,3	16	67,1	272
7	2,95	4,2	13,3	45,2	299
8	3,08	5,3	15,5	50,3	340
9	5,12	5,4	22,6	44,1	241
10	4,02	5,6	18	44,7	310
11	1,42	3,7	12,7	89,2	291
12	4,69	6,6	21,1	45,1	311
13	3,99	6,6	22,5	56,3	292
14	1,99	3,7	11,9	59,5	310
15	4,09	5,1	17,7	43,2	289
16	1,88	2,2	8,2	43,8	268
17	1,95	3,1	8,2	42,2	373
18	3,62	5,9	20,9	57,6	283
19	4,07	6,3	20,9	51,3	302
20	3,42	6	18,8	54,9	321
21	3,14	5,2	16,4	52,3	319
22	4,31	4	14,4	33,5	275

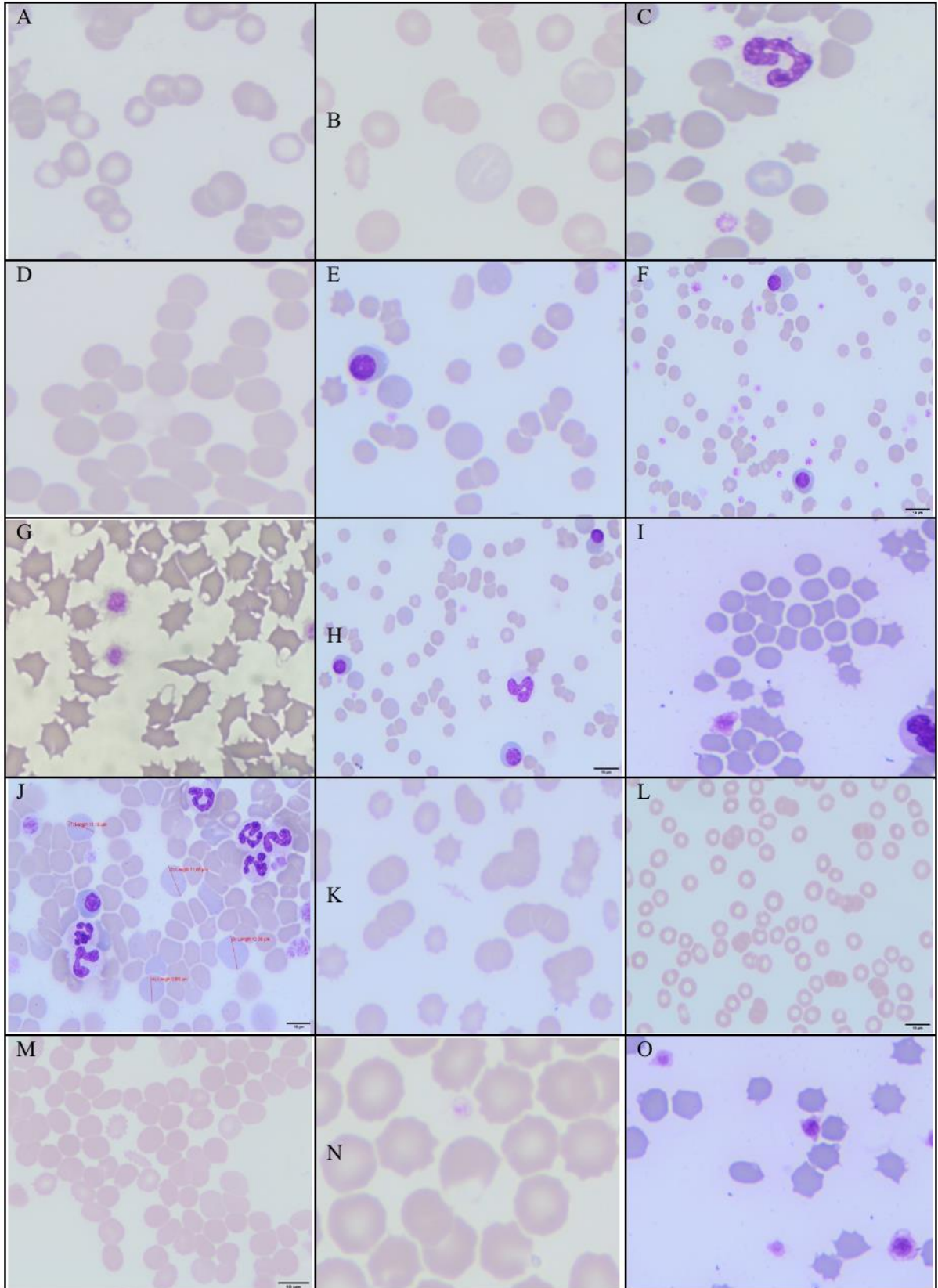
23	1,15	2,5	9,8	85	256
24	1,85	2,8	9,3	50,4	300
25	4,66	13	20	37,5	437
26	5,18	8,9	25	48	350
27	4,57	7	19	43	354
28	5	5	16	29	369
29	4,38	5,3	14	34	352
30	3,74	4,3	14	37	300
31	8	10	26	34	350
32	5	7	26	49	280

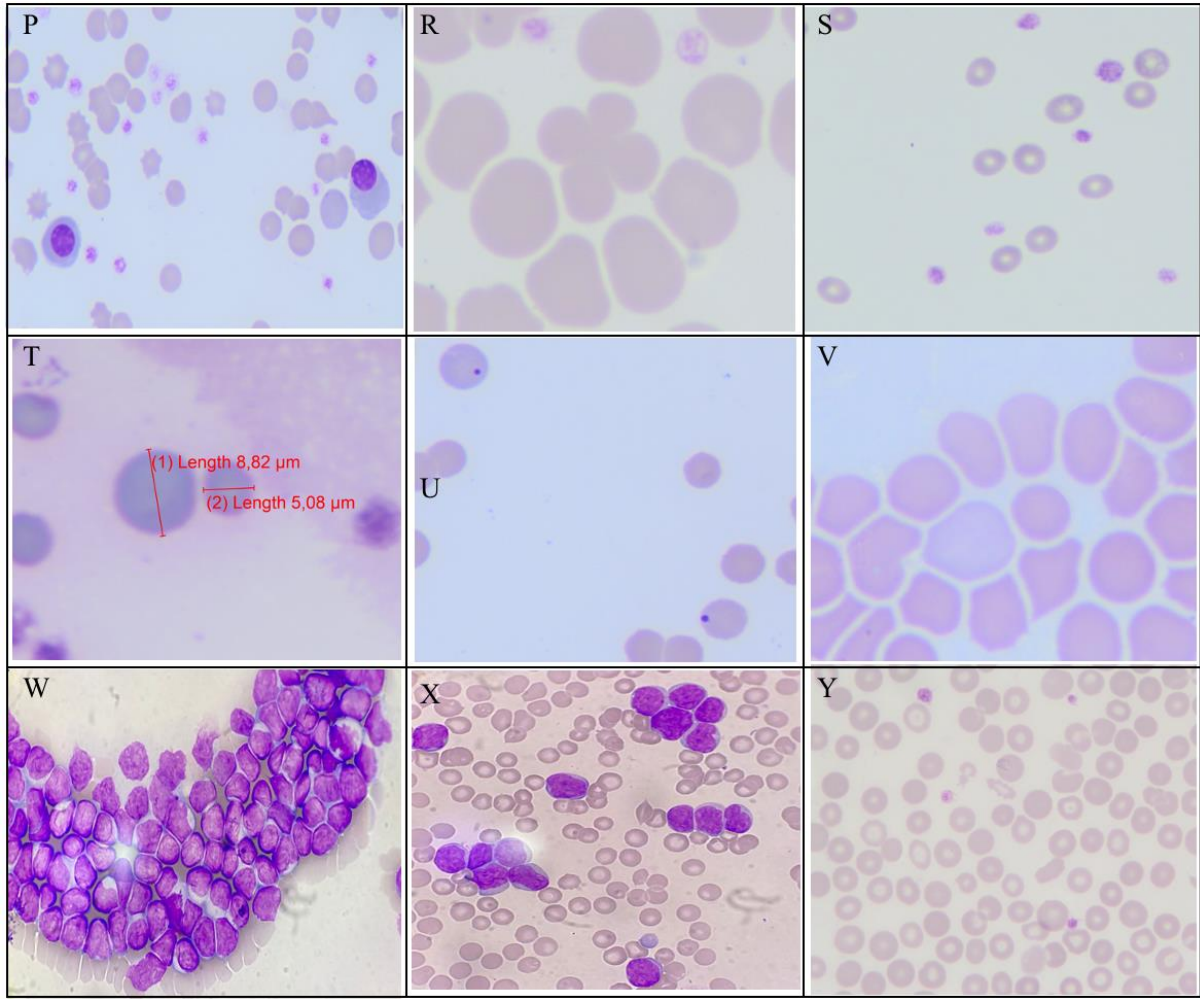
N olgu numarası olarak ifade edilmiştir.

Kan yaymasında Heinz cisimciği görülen 2 kedi (olgu no:21, 24) olgusunun normositik normakromik bir anemi, biyokimyasal analizlerinde böbrek parametlerinde BUN, CREA, PHOS ve SDMA değerlerinde artış gözlemdi. Olgu 24’de anemik bulgulara ek olarak konvülzyon ve nöbet ile birlikte uygun olmayan ektoparaziter damla uygulaması sonucunda kliniğe başvurduğu anemnezine ulaşıldı. Olgularda görülen Heinz cisimciği örnekleri Resim 9 da gösterilmiştir.



Resim 9. Oksidatif hasara uğramış eritrositlerde görülen Heinz cisimcikleri (ok başı). Tek bir adet sferosit (yıldız). Kedi (Olgu no: 21, 24). Wright stain. 100x.

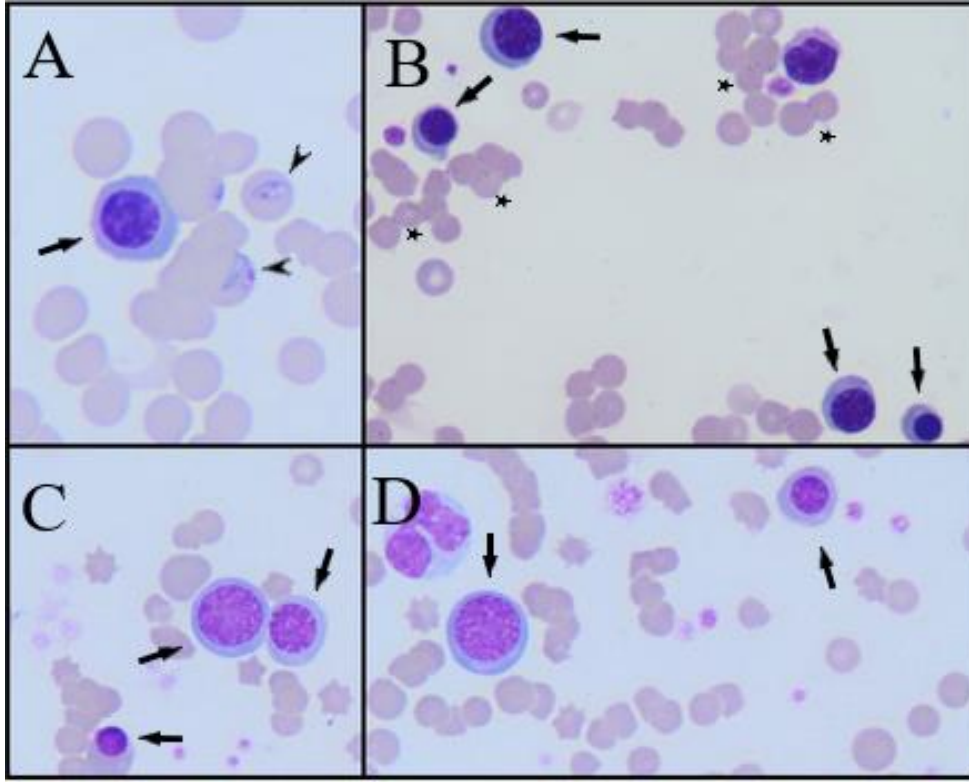




Resim 10. Yapılan çalışmada kan yaymalarında görülen eritrosit morfolojileri. A. Hipokromazi, B. Stomatosit, C. Polikromazi, D. Gost cell, E. nRBC, polikromazi, F. Metarubrisit, megaloblast. G. Keratonosit, H. Ekinosit, polikromazi, nRBC, I. Heinz cisimciği, J. Polikromazi, nRBC, K. Şiştosit, L. Hipokromazi, M. Ekinoeliptosit, N. Eksentrosit, O. Heinz Cisimciği, P. Dakrosit, R. Qrbc, S. Hipokromazi, T. Anizositozis, U. Howell jolly cisiimciği, V. Polikromazi, sferosit, W. Lökemi, X. Lökemi, hipokromazi, Y. Ekinoeliptosit, hipokromazi.

Kemik iliğinin eritropoietin yanıtına verdiği ve güçlü bir rejeneratif aneminin göstergesi olan nRBC'ler; bu çalışmada retikülosit yüzdesi yüksek olan (Olgu no: 11, 15, 16, 17, 18, 20, 24) ve tümöral oluşumu olan köpeklerde (Olgu no: 4, 6, 8, 11, 16, 18, 19, 20) daha fazla görüldü. Bir adet Alman Çoban ırkı bir köpek (Olgu no: 21) kan yaymasında Qrbc görüldü. Ek olarak Howel-Jolly cisimcikleri 14 (olgu no: 1, 3, 4, 6, 8, 11, 15, 16, 17, 18, 20, 22, 26, 27) anemik köpekte bildirildi.

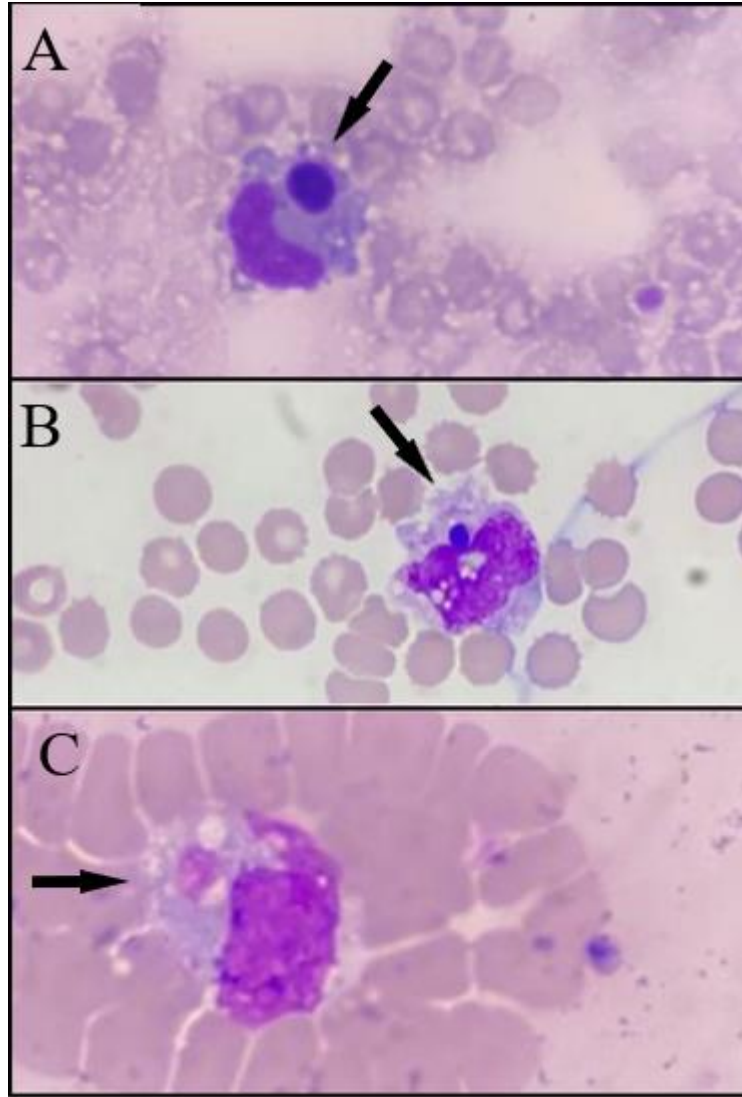
Makrositik normokromik rejeneratif anemisi olan ve kan paraziti bulunduran kedilerde (Olgu no: 5, 7, 11, 17) daha sık nRBC görülmüştür. Görülen nRBC'lerin birkaçı Resim 11 de gösterilmiştir.



Resim 11. Kemik iliği yanıtının göstergesi olan nRBC'ler (ok), Babesia spp. etkeni (ok başı) ve Mycoplasma spp. (yıldız) görüldü. (A; kedi, olgu no: 32, B; kedi, olgu no: 11, C; köpek, olgu no; 8, D; köpek, olgu no: 19).Wright stain. 100x.

İncelenen 27 anemik köpekten 8'inde (olgu no: 1, 3, 5, 7, 12, 13, 14, 15) kronik böbrek hastalığı, 9'unda (olgu no: 4, 8, 9, 11, 16, 18, 19, 20, 25) tümöral oluşum ve 13'ünde (olgu no: 1, 2, 3, 6, 7, 12, 13, 14, 15, 22, 23, 24, 27) kan paraziti görüldü. Böbrek hastalığı görülen köpeklerin (olgu no: 1, 7, 13, 14) 4'ünde *Leishmania spp.* pozitif görüldü. Bir adet köpekte (olgu no: 5) hem böbrek hastalığı hem de hipertrofik kardiomyopati tanısı konulmuştur. 2 köpekte (olgu no: 22, 23) hem *Leishmania spp.* hem de *Ehrlichia spp.* pozitif görüldü. On üç kan paraziti pozitif köpekten 1'inde (olgu no: 27) dirofilariozis, 1'inde (olgu no: 6) *Hepatozoon canis*, 3'ünde Ehrlichiozis (olgu no: 3, 22, 23), 8'inde Leishmaniozis (olgu no: 1, 2, 7, 13, 14, 15, 22, 23) tanısı konulmuştur. Tümöral oluşumu olan köpeklerden 2'sinde (olgu no: 4, 9) hemanjiosarkom, 1'inde (olgu no: 8) anal sac adenokarsinom, 1'inde(olgu no: 11) osteosarkom, 1'nde (olgu no: 19) perivasküler duvar tümörü, 1'inde (olgu no: 18) abdominal leiomyosarkom, 2'sinde (olgu no: 20, 25) multisentrik lenfoma tanısı konulmuş olup, 1'inde lökemik lenfoma (olgu no: 16) safhasında olduğu ve kan yaymasında blastik form lenfositler görüldü. Tümöral oluşumlar hem sitopatolojik hem de histopatolojik olarak

doğrulandı. Kanama kaynaklı anemisi 2 köpekten 1'inde (olgu no: 17) arterial ruptur sebepli akut kan kaybı, diğer köpekte (olgu no: 8) ise tümöral oluşum sebepli kronik kan kaybı anemisi görüldü.

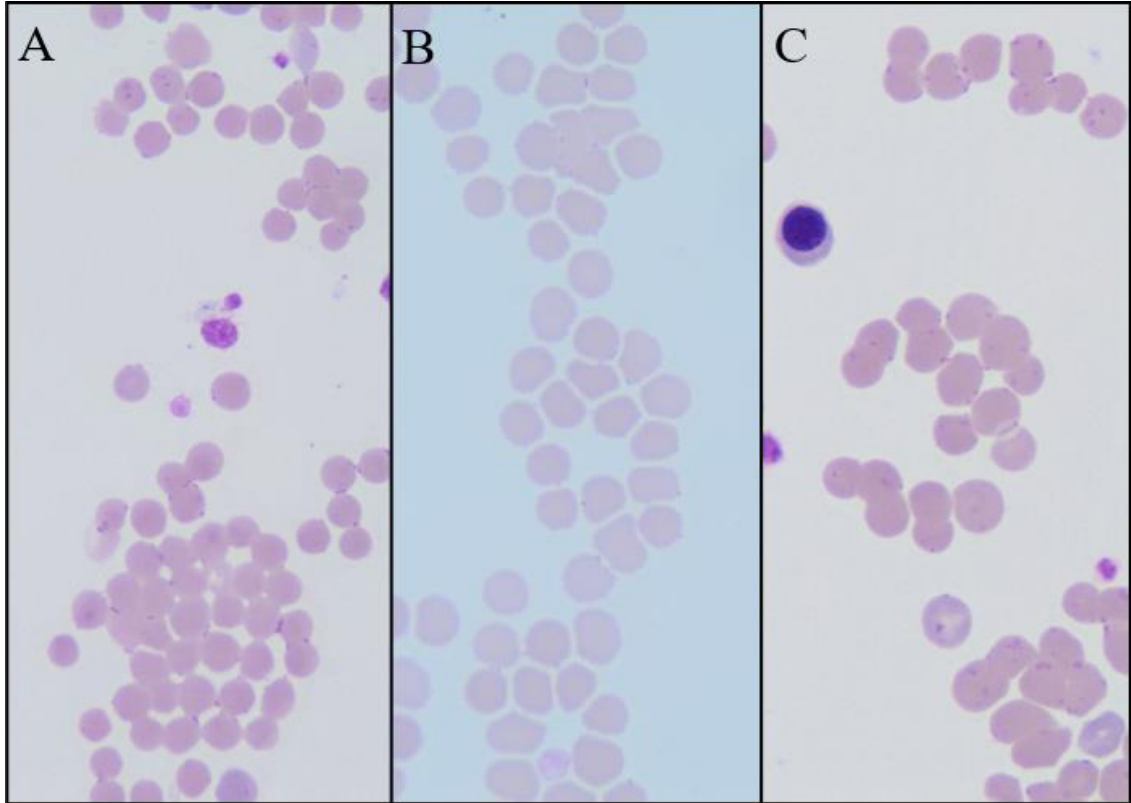


Resim 12. Ehrlichia spp. monositin sitoplazmasındaki morula görüntüsü (ok). (A; köpek, olgu no: 23, B; kedi, olgu no: 24, C; köpek, olgu no: 22). Wright stain.100x (Bodrum Terapi Veteriner Kliniği, 2023).

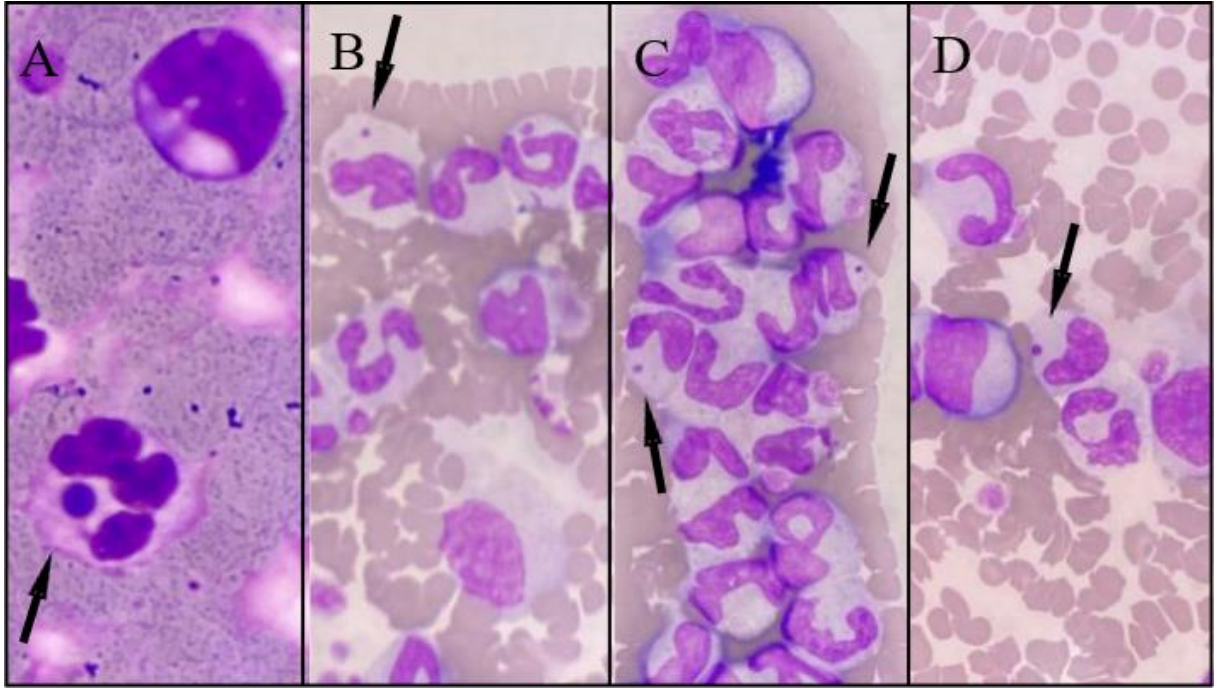
Sunulan tez çalışmasında, 10 kedi olgusunda (olgu no: 1, 6, 10, 12, 17, 18, 22, 26, 27, 29) feline corona virusu'na (FcoV) karşı oluşan IgG antikor seviyeleri değerlendirildi. Bu çalışmada, ImmunoComb feline coronavirus test kiti kullanılarak yapılan test sonuçlarında antikor seviyelerinin yüksek olduğu (s4 ve üstü) belirlendi. Antikor seviyesi yüksek olan kedilerden 4'ünde efüziv FIP (olgu no: 1, 6, 18, 22), 2'sinde nörolojik FIP (olgu no: 26, 27) ve 1'inde nörolojik ile birlikte oküler form (olgu no: 17) görüldü. Ayrıca, bu kedilerde alb/glob oranlarının 0.5 g/dl'den düşük olduğu ve

total bilirubin seviyelerinin yüksek olduğu tespit edildi. Korona virus antikoru yüksek olan kedilerin 3'ünde (olgu no: 10, 12, 29) herhangi bir klinik FIP bulgusu görülmedi. Antikor seviyesi yüksek olan kedilerin (olgu no: 6, 17, 27) 3'ünde *Hemobartonella spp.* etkenlerine rastlandı ve ek olarak 2 hastada (olgu no: 6, 26) FIV antikoru pozitif olarak saptandı. Çalışma sonuçlarına göre, kedi corona virus taşıyan tüm kedilerin içeri-dışarı kedisi olduğu ve başka kedilerle temas halinde olduğu anamnez bilgisiyle belirlendi.

Yapılan çalışmada, 32 anemik kediden, feline panlökopeni virus açısından klinik bulgu gösteren kedilerin 6 tanesinin (olgu no: 2, 3, 8, 16, 19, 25) dışkı antijen testi açısından pozitif olduğu görüldü. Ayrıca, 32 anemik kedinin 6'sında *Hemobartonella spp.* (olgu no: 5, 6, 7, 11, 17, 27), 2'sinde *Anaplasma spp.* tanısı (olgu no: 5, 24) konuldu. Kan yaymalarında, *Hemobartonella spp.* türleri ile howel jolly cisimciklerinin ayırımına dikkat edilmesi gerektiği, *Hemobartonella* türlerinin Howel Jolly cisimciklerinden daha küçük olduğu ve eritrosit çeperlerine yerleşme eğiliminde olduğu gözlemlendi. *Hemobartonella* türlerinin eritrosit çeperindeki görüntüleri Resim 13 de, *Anaplasma* türlerinin nötrofil sitoplazmasındaki görüntüleri ise Resim 14 de gösterilmiştir.



Resim 13. *M. haemofelis* enfeksiyonlu bir kediden alınan kan yayması. (A; olgu no: 11, B; olgu no: 17, C; olgu no: 7). Wright stain.100x.



Resim 14. Nötrofil stoplazmasında *Anaplasma spp.* görüntüsü (ok). (A; köpek, olgu no:24. May-Grünwald Giemsa. B, C; kedi, olgu no:24, D; kedi, olgu no: 5, Wright stain). 100 x.

Yapılan bu çalışmadaki anemik olguların anemi şiddetine göre sınıflandırması Tablo 5’de verilmiştir.

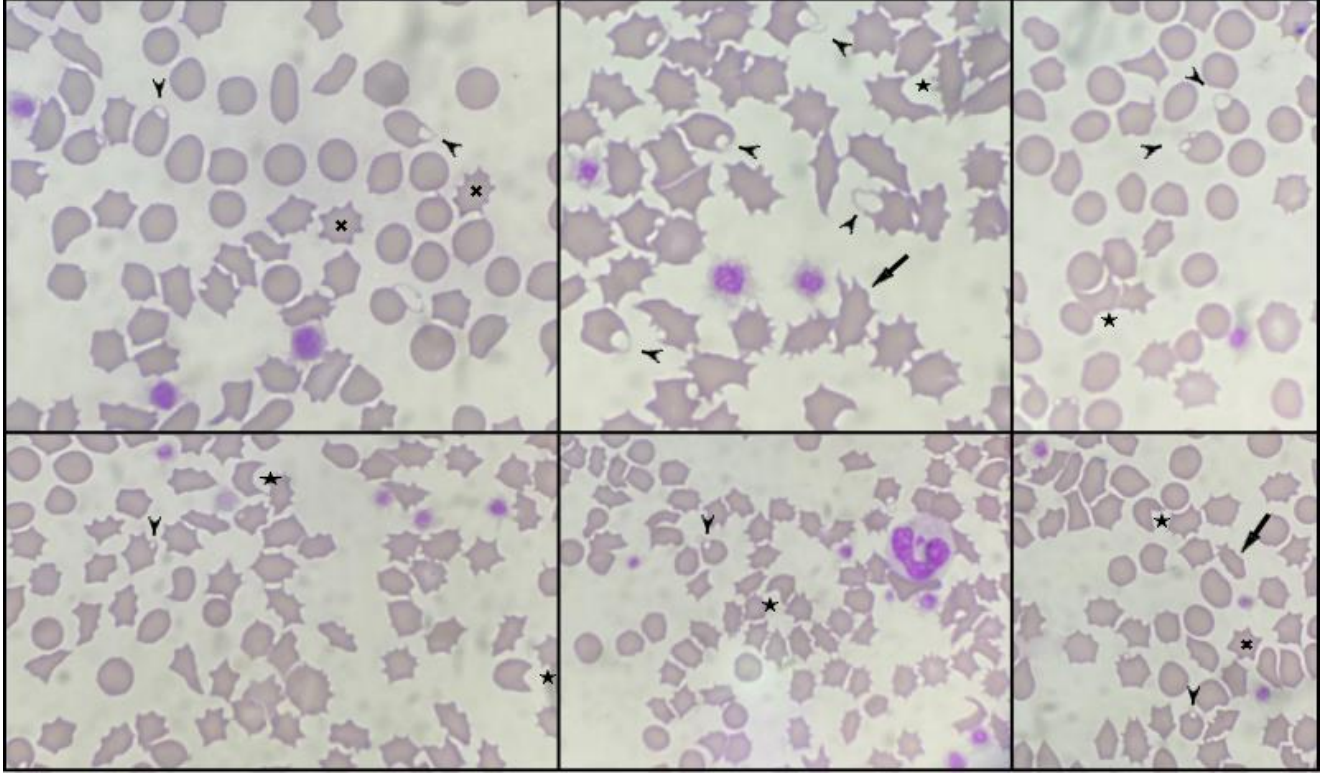
Tablo 5. Olguların aneminin şiddetine göre dağılımı.

	KÖPEK	KEDİ
HAFİF	7	12
ORTA	14	12
ŞİDDETLİ	2	4
ÇOK ŞİDDETLİ	4	4

Değerler yüzde olarak hematokrit veya paketlenmiş hücre hacmidir.

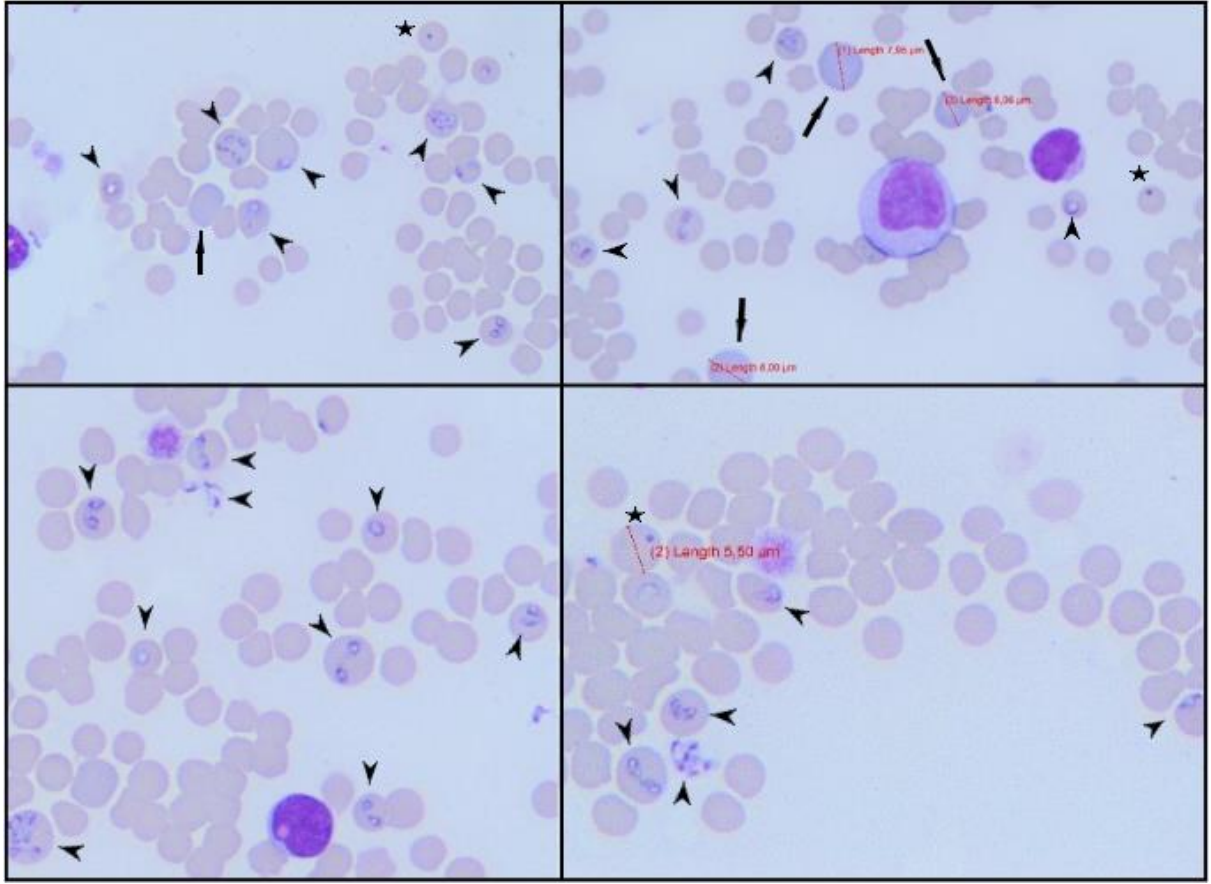
Bu çalışmada, anemik kedi olgularının 5’inde kronik böbrek hastalığı (olgu no: 4, 14, 21, 31) tespit edildi ve laboratuvar bulgularıyla doğrulandı. Ek olarak, 2 olguda kardiyorenal sendrom (olgu no: 21, 31) ile birlikte hipertrofik kardiyomiyopati tanısı konuldu. Hipertrofik kardiyomiyopati tanısı konulan bir hastanın kan yaymasında (olgu no: 31) eritrosit morfolojisi açısından keratonsitlerin

derecelendirilmesi +3 seviyesinde görüldü. Keratinsitlerin vezikül içeren ve veziküllerin patlamış görüntüsü Resim 15 de gösterilmiştir.



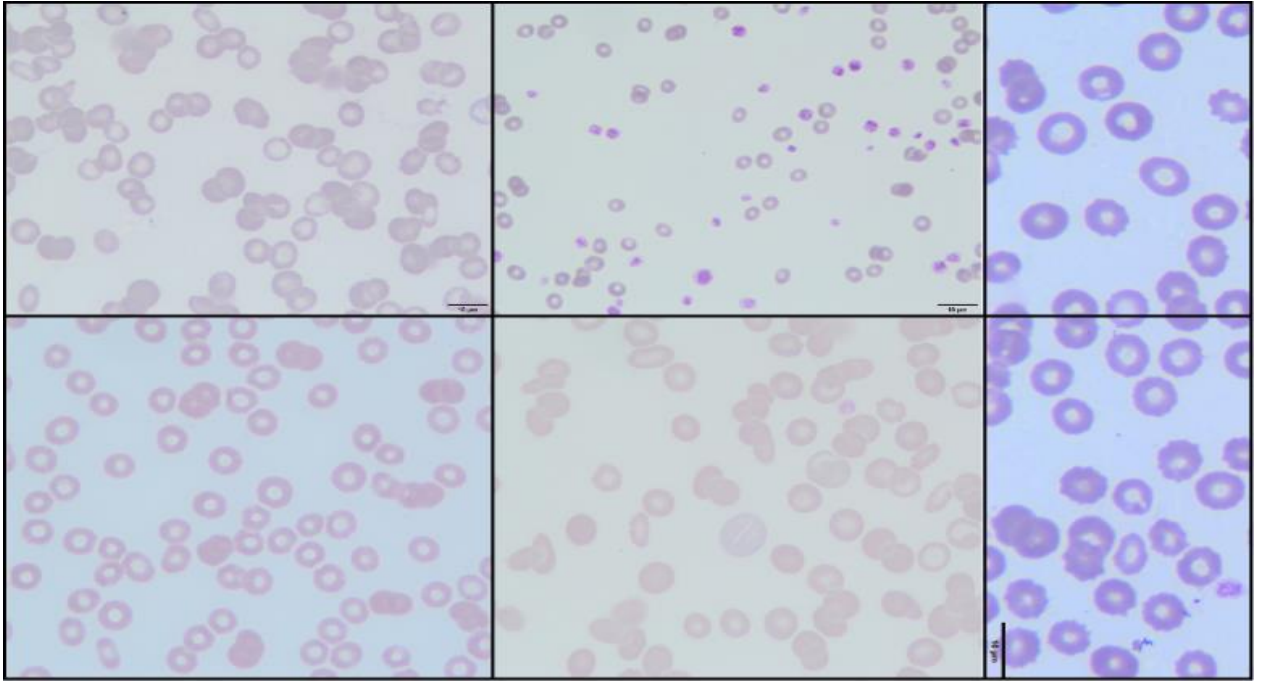
Resim 15. Karaciğer ve kalp gibi organların fonksiyon bozukluklarında görülen, eritrosit sitoplazmasında vezikül içeren keratinsitler (ok başı) ve vezikülleri patlamış keratinsitler (yıldız). Düzensiz çıkıntılı akantositler (ok) ve düzenli çıkıntılara sahip eritrositler olan ekinositler (çarpı) görülmektedir. Kedi kan yayması (olgu no: 31). Wright stain. 100x.

Klinik bulgu olarak ikterus ve hemoglobüri, anoreksi gibi belirtiler görülen anemik bir kedinin (olgu no: 32) üzerinde 4 adet kene görüldü. Hemogram bulgularında rejeneratif orta şiddetli bir anemi, artmış total lökosit sayısı, MCHC değerinde düşüklük ve trombositopeni tespit edildi. Biyokimyasal analizlerde ise total protein, globülin ve total bilirubin değerlerinin normal referans aralıklarının üzerinde olduğu belirlendi. Yapılan kan yaymasında ise babesia etkenleri tespit edildi. Polikromazinin +3 seviyesinde olduğu görüldü. Polikromazik eritrositler Resim 16 da gösterilmiştir.



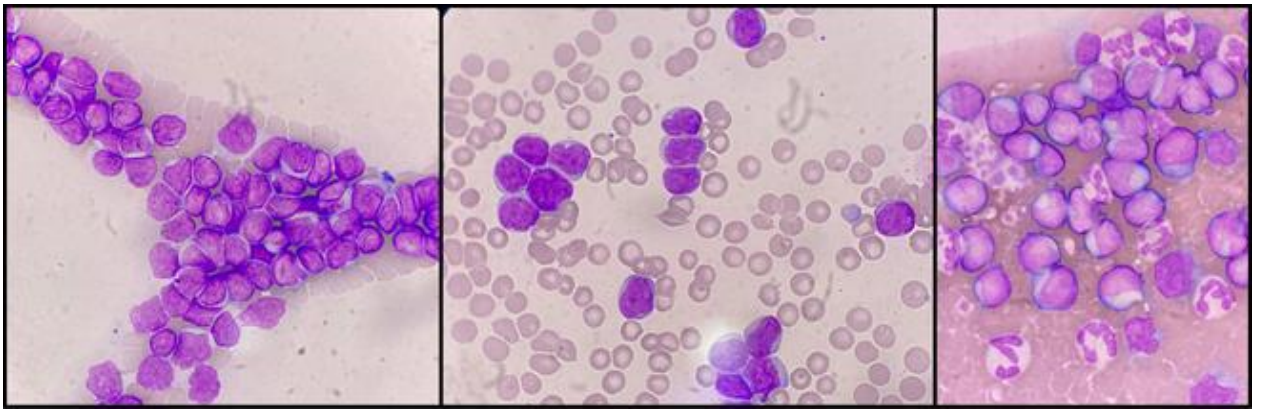
Resim 16. Bir kedide Babesia Rossi görüntüsü (olgu no:32). Babesia etkenlerinin eritrosit stoplazmasındaki görüntüsü (ok başı), polikromatofilik eritrositler (ok), Howell-Jolly cisimcikleri (yıldız). Wright stain. 100x.

Akut kan kaybı olan bir köpekte (olgu no: 17) kanamanın sebebinin travmatik arteriel damar rupturuna bağlı olduğu ilk kan yaymasında normositik normokromik bir anemi görülür iken takip eden günlerde alınmış olan kan örneklerinin yaymasında, hipokromik ve makrositik eritrosit oranlarının arttığı görülmüş olup, travmanın 8. günündeki kan yaymasında hipokromazi oranının +2 olarak raporlandı. Eritrosit merkezleri boya almamış olarak gözüken hipokromik eritrositler Resim 17 de gösterilmiştir.

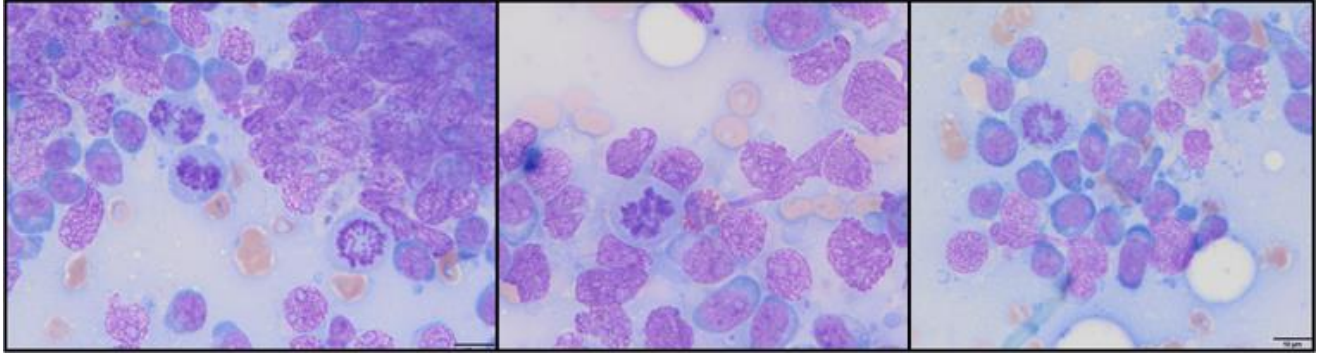


Resim 17. Hemoglobin konsantrasyonunun azalması ve orta kısımdaki solgunluğun artması ile karakterize olan hipokromik eritrositlerin görüntüsü. Wright stain. 100x.

Lökemik lenfoma durumu olan anemik bir köpek (olgu no:16) kanından hazırlanan periferik yaymada, 100x'lik büyütmede blastik lenfosit yoğunluğu nedeniyle eritrosit incelemesi daha zor olduğu görüldü (Resim 18). Multisentrik lenfoma tanısı konan köpeklerin (olgu no: 20, 25) lenf yumrularının ince iğne aspirasyon tekniği ile alınan lenf aspiratı örneklerinin incelemesinde (Resim 19); blastik form lenfositlerin sayısında artış ve mitotik figürler belirlendi ve bu durumun eritrosit incelemesini zorlaştırdığı görüldü.

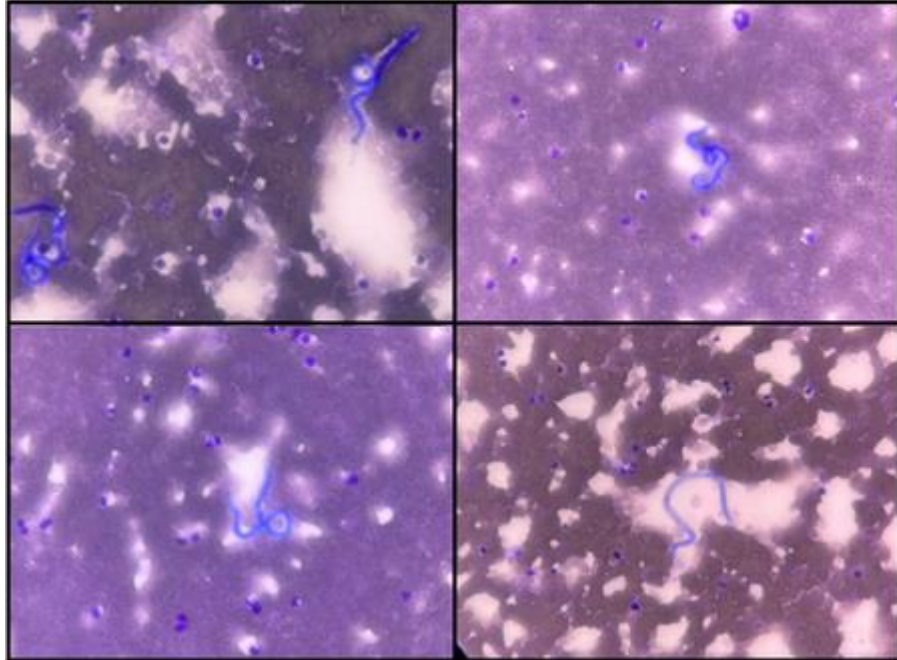


Resim 18. Lökemik lenfomalı köpeğin periferik kan yaymasında görülen lenfositler (olgu no: 16) Wright stain. 100x.



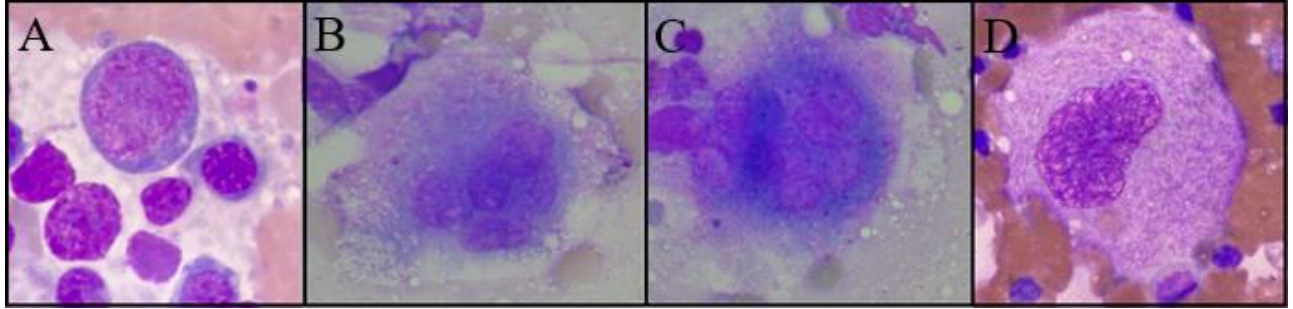
Resim 19. Lenfomalı köpekten alınan lenf yumrusu aspiratı (olgu no: 20, 25). Wright stain. 100x.

Geçmişini bilinmeyen 5 yaşında bir köpekte (olgu no: 27) anemnez bulgusunda egzersiz intoleransı şikâyeti ile kliniğe gelen hemogram değerlerinde makrositik hipokromik rejeneratif bir anemi görülmüş olup yapılan kan yaymasında *Dirofilaria spp.* mikrofilerleri görüldü, yapılan ekokardiografik muayenede kalp içerisinde erişkin *Dirofilaria* etkenleri ile tanı doğrulanmış olup mikrofilerlerin kan yaymasında düşük büyütmede bile net bir şekilde görüldüğü ve eritrositlerin rolex formasyonu eğiliminde olduğu gözlemlendi (Resim 20).

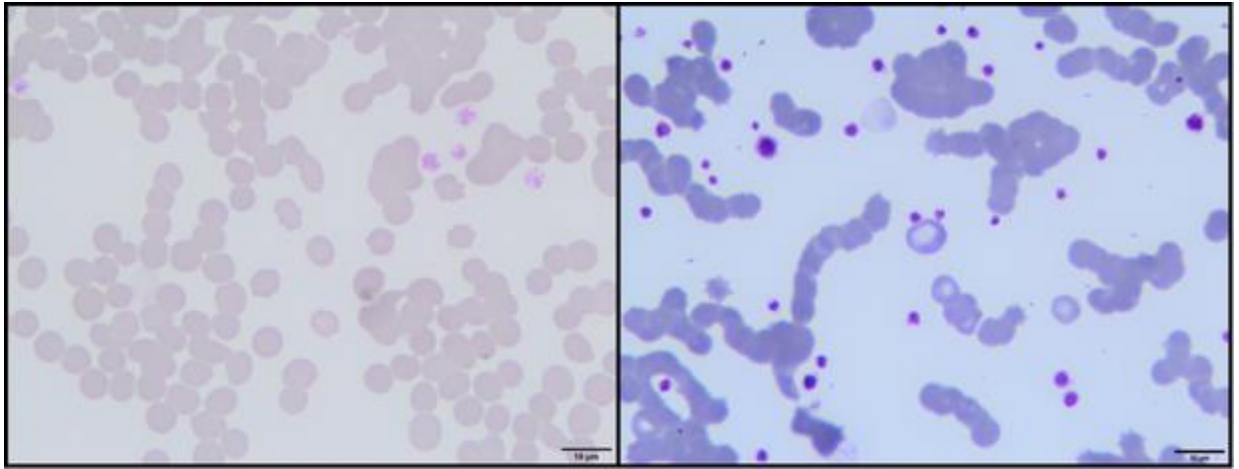


Resim 20. *Dirofilaria spp.* mikrofiler görüntüsü (olgu no: 27). Wright stain. 20x.

Bir köpekte (olgu no: 10) parvoviral enteritis antikoruna pozitif idi ve kemik iliği sitopatolojik olarak incelendi. Kemik iliğinde megakaryositlerin sitoplazmalarında vakuol oluşumu, makrofajları sayıca artmış ve eritrofagositoz görüldü. Kemik iliğinde megakaryosit gelişim evrelerinin sınıflandırılması Resim 21 de gösterilmiştir.



Resim 21. Köpeklerden alınan kemik iliği aspirat yaymalarında megakaryosit gelişim evreleri. A; tek çekirdekli megakaryoblast. B; beş çekirdekli promegakaryosit. C; mavi sitoplazmaya ve çok sayıda kaynaşmış çekirdeğe sahip bazofilik megakaryosit. D; Çoklu kaynaşmış çekirdek yapısı içeren olgun megakaryosit. Wright stain. 100x.

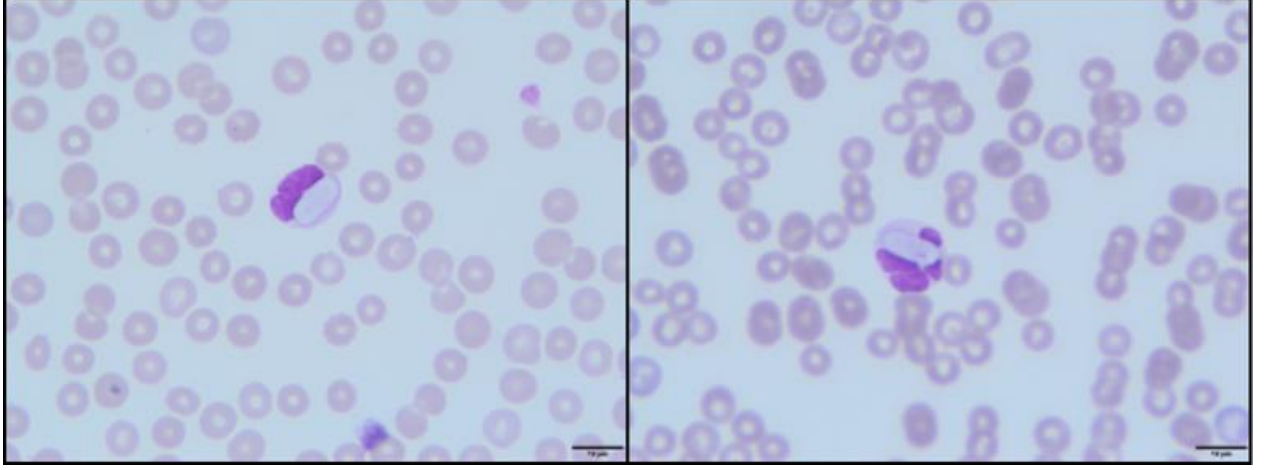


Resim 22. Köpek (olgu no: 19) ve kedi (olgu no: 23) kan yaymasında aglütinasyon görseli. Wright stain. 100x.

Anemik olarak kliniğe başvuran ve makro aglütinasyon testi pozitif olan 7 köpekten 5 tanesinde ANA testinden (olgu no: 2, 9, 19, 23, 26) pozitif sonuç elde edildi. Kan yaymalarında sferositler 0 ila +3 oranında dağılım göstermiştir. Bu köpek olgularında 2'sinde tümöral oluşum (olgu no: 9, 19), 2'sinde kan paraziti (olgu no: 2, 23) bildirilmiş olup 1 adet köpekte (olgu no: 26) herhangi bir ikincil sebebe rastlanmamıştır.

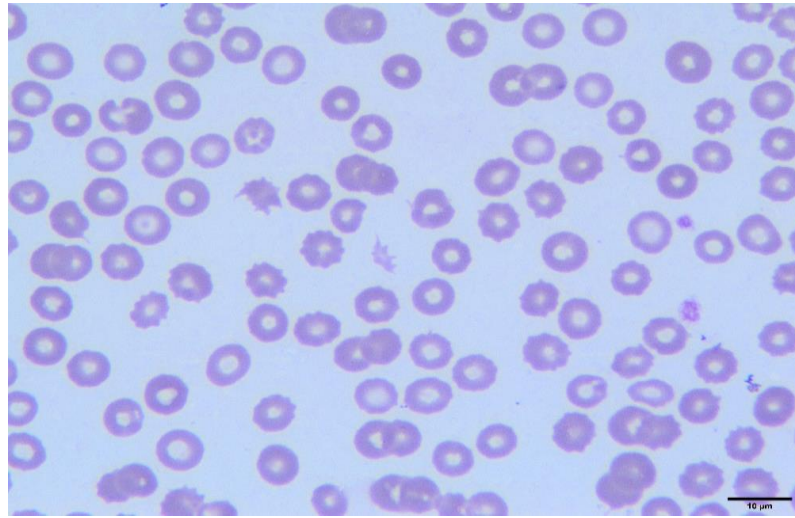
Hazırlanan kan yaymasında makrositik hipokromik bir anemi görülen ve trombositopeni ile

seyreden bir köpekte (olgu no:6), nötrofil sitoplazmasında görülen *Hepatozoon canis* etkenleri Resim 23 de gösterilmiştir.



Resim 23. Bir köpekte nötrofillerin sitoplazmalarında *Hepatozoon canis* morfofjileri (olgu no: 6) ve hipokromik eritrositler. Wright stain. 100x.

Altı aylık yılan toksinine maruz kalan anemik bir kedinin (olgu no: 15) hemogram ve kan yaymasında rejeneratif olmayan, mikrositik, hipokromik bir anemi, poikilosit oranı +2, morfolojik olarak da çok sayıda şistositik eritrositler görüldü. Biyokimyasal analizlerde ALT, TBIL, AST ve kan glukozu seviyesinin referans aralıklarının üzerinde olduğu raporlandı. Şistositler (Resim 24) ek olarak juvenil hiperglisemi durumu görülen bir köpekte (olgu no: 21) bildirildi.



Resim 24. Bir köpekte (olgu no: 21) şistositik eritrosit görüntüsü. Wright stain. 100x.

5. TARTIŞMA

Anemi, bir hastalıktan ziyade alta yatan bir hastalığın sonucunda oluşmuş klinik-patolojik bir bulguyu yansıtan bir semptomdur. Anemi oluşum şiddetine göre tüm organizmayı etkileyebilir ve tedavi edilmezse ölüme sonuçlanabilmektedir (Turner ve diğerleri, 2022). Anemi, subklinik kaldığı durumlarda hayvan sahipleri ve hatta veteriner hekimlerce çoğu zaman gözden kaçabilmekte ve sorunların daha da kronikleşmesine ve hatta geri dönüşümsüz patolojilere evrilebilmektedir. Bu bağlamda özellikle hekimler sağlıklı görünüm sergileyen hayvanlar dahil, anemi olasılığını her zaman tanı parametrelerine dahil etmeleri ve alta yatan etiyolojiyi iyi analiz ederek sorunun büyümesine engel olmaları gerekmektedir. Günümüzde anemi ve çeşitlerini belirleyen oldukça gelişmiş hemogram cihazları geliştirilmiştir. Bu cihazlar kısa zamanda hekime anemiye ilişkin çok önemli parametreler sunsa da bazı durumlarda çok ciddi yanlışlamaları da beraberinde getirmektedir. Örneğin çekirdekli eritrositleri lökosit olarak değerlendirmeleri, psödo anemi, hemodilüsyon ve dehidrasyon durumlarında hemogram cihazları tek başına yeterli ve doğru sonuç göstermeyebilir. Diğer yandan eritrosit morfolojisini temel alan patolojiler hala en iyi şekilde kan yaymaları boyamalarında, mikromorfolojik değişikliklere göre tayin edilmekte ve burada elde edilen morfolojik veriler ışığında alta yatan patoloji ve etiyoloji hakkında daha net sonuçların elde edilmesine olanak sağlanabilmektedir. Sunulan bu tez çalışmasında, tez kapsamına alınan kedi ve köpek olgularına hemoanalizatör ve yayma sonuçları birlikte ele alınmış, anemiye neden olan etiyolojilerin de ne çeşit bir anemi ile sonuçlandığı literatür bilgileri eşliğinde değerlendirilmiş ve tartışılmıştır.

Anemiden kaynaklanan başlıca klinik belirtiler, köpeklerde ve kedilerde soluk veya sarı renkli mukozalar, halsizlik, egzersiz toleransının azalması, pika (özellikle kedilerde) ve genel aktivitenin azalmasıdır; köpeklerde pika genellikle saf kırmızı kan hücresi aplazisi (PRCA) ile ilişkilidir. Bu klinik belirtiler akut veya kronik olabilir ve şiddette farklılık gösterebilir; klinik belirtilerin süresi aneminin mekanizmasını yansıtmayabilir (Nelson ve Couto, 2019). Sunulan çalışmada köpeklerin % 37'sinde, kedilerin % 40' ında koma halinde kliniğe başvurduğu ve bu durumun aneminin şiddeti ile doğru orantılı olarak arttığı görüldü.

Romanowsky boyalı preparatlardan genellikle beklenen kabul gören bir boyama şeması vardır; bu şemaya göre çekirdek mor, lökosit sitoplazmaları mavi, bazofil granüller mor-siyah, eozinofil granüller kırmızı-pembe, nötrofil granüller mor, trombosit granülleri mor ve eritrositler pembe renkte olmalıdır (Marshall ve diğerleri, 1975). Diff-Quik boyaması, yaygın olarak kullanılan wright tipi hızlı

bir boya türü olmakla birlikte bazofil veya mast hücre granüllerini iyi bir şekilde boyamadığı bildirilmiştir (Harvey, 2001). Romanowsky tipi boyalar, sitopatolojide yaygın olarak kullanılan çok ince ve düzgün yayılmış preparasyonlarla kullanım için oluşturulmuş ve tasarlanmıştır (Krafts ve Pambuccian, 2011). Kan yayması incelemelerinde eritrositlerin birbirine yakın olduğu ve yaklaşık yarısının birbirine temas ettiği bir alana "Monolayer" alan olarak ifade edilmiş olup şiddetli anemik hayvanlarda, monolayer alanlar bulunmakta zorlanılmaktadır. Eritrositler genellikle birbirine temas morfolojik anormalliklere sahip eritrosit sayısı iki alan için sayılması önerildi. (Harvey, 2012).

Yapılan bu çalışmada da Wright boyamanın May Grünwalt'a göre rejeneratif belirteçlerden polikromatofilik eritrositlerin, howel jolly cisimciklerinin ve çekirdekli eritrositlerin daha iyi gözlemlenebildiği görülmüştür. Diğer yandan, anemi şiddeti arttıkça 100x büyütme alanında daha az sayıda eritrosit incelemesine olanak verdiği görülmüş, bu nedenden dolayı şiddetli ve çok şiddetli anemilerde 100x büyütmede en az iki mikroskop sahası taranmış değerlendirilmeler semikantitatif olarak sonuçlara yansıtılmıştır. Sunulan çalışmada elde edilen mikromorfolojik, hemoanlizatör ve biyokimyasal veriler ışığında köpeklerin % 26'ında hafif, % 51'inde orta, % 7'sinde şiddetli ve % 16'sında çok şiddetli oranda anemik olduğu; kedilerde ise %38'inde hafif, % 38 'inde orta, % 12'sinde şiddetli ve % 12'sinde çok şiddetli oranda anemik bulgular sergilediği görülmüştür. Olguların çoğunluğunun orta şiddette anemini döneminde saptanması; hasta sahiplerinin hayvanlarının hastalandığı durumlarda ve klinik semptomların şekillendiği dönemde hekime ihtiyaç duymaları ve akabinde hemogram verilerinde ilk anemi sonuçlarının alınmasına bağlanmıştır. Bu veriler anemilerin erken ve hafif formları ile saptanabilmesi için hayvanların her yıl sağlık taramalarından geçirilerek gerek hemogram gerekse sitolojik incelemelerde anemiye ilişkin parametreler ya da altta yatan etiyolojilerin belirlenmesi, sorunların büyümeden elimine edilebilmesi için gerekli olduğunu ortaya koymaktadır.

Otoimmün hemolitik anemiler birincil veya ikincil olabilir. İkincil IMHA, immünoglobulinin eritrositlere bağlanmasının altında yatan bir neden olduğunda ortaya çıkar. Neoplaziler, ikincil hastalıklar veya antikorun eritrosit yüzeyi ile ilişkili bir enfeksiyöz ajan veya ilaca bağlı etkileşmesi durumunda ortaya çıkabilir. İkincil IMHA'ye aşılarda, ilaçlar, neoplaziler, enfeksiyonlar neden olabilir. AIHA; eritrosit membranında bulunan bir antijeni için spesifik otoantikor üretimi sonucunda ortaya çıkar veya birincil otoimmün aracılı trombositopeni ile birlikte seyredebilir. Bu durum Evans sendromu olarak isimlendirilmektedir. (Day, 2010; Archer, 2013). Bu çalışmada, otoimmün hemolitik aneminin morfolojik görünümünden olan makro ve mikroaglutinasyon bulguları köpek (% 25) ve kedilerde (% 4) görülmüştür. Anemik köpeklerden ANA testi ve makro aglutinasyon testi pozitif olan vakaların klinik öykülerinde 2 olguda kan paraziti, 2 olguda tümöral oluşum gözlenmiş olup 1 olguda

herhangi bir ikincil sebebe rastlanmamıştır. Diğer yandan kan paraziti (köpek % 48, kedi % 25) tanısı konmuş olan hastalarda tedavi sonucunda hemogram değerleri normale dönmüş olup, köpek olgularının 1/3' ünde trombositopeninin düzelmediği veya tekrar ettiği görülmüş ve Evans sendromu tanısı olarak değerlendirilmiştir. Bu hastalarda glukokortikosteroid tedavisine olumlu yanıt alınmıştır. Ehrlichiosis veya leishmaniozis kaynaklı makro aglütinasyon testi pozitif immun aracılı anemisi olan olan köpeklerde Evans sendromu görülme oranı %13 olarak belirlendi.

Sferositler, otoimmün kaynaklı anemilerin tanısında önemli bir öneme sahiptir ve normal hücrelere göre daha küçük ve daha koyu kırmızı renkte, merkezi solukluğu olmayan eritrositlerdir (Weiss, 1984). Hücre şişmesi veya hücre zarı kaybına bağlı oluşmaktadır (Rebar ve Metzger, 2001). Ortalama köpek eritrosit çaplarının 7 µm, kedi eritrositlerine 5.8 µm olduğunu göz önünde bulundurulursa; köpek kan yaymalarında sferosit tanımlanmasının daha kolay olduğu bildirilmiştir (Moore, 2012; Weiss, 1984). Bu morfoloji kedi ve köpeklerde çinko ve asetaminofen toksikasyonu gibi oksidatif hasarlarda, zehirlenmelerde, hipersplenizm, pirüvat kinaz eksikliği, endokarditis, mikroanjyopatik hemolitik bozukluklar, hemangiosarkom veya hemolitik üremik sendrom gibi eritrosit fragmentasyonu ile ilişkili bozukluklar gibi patolojilerin altta yattığı bildirilmiştir (Garden ve diğerleri, 2019). Bu çalışma olgularında köpeklerin % 19'unda ve kedilerin % 4'ünde sferosit morfolojileri tanımlanmış olup kan yaymalarında sferositler +1 ila +3 oranında dağılım gösterdi.

Eritrosit zarlarını doğrudan parçalayan kimyasalların neden olduğu hemolizlere örnek olarak bakteriyel hemolizinler, yılan veya böcek zehirinde bulunan toksinler, eritrosit morfolojilerinde değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (Dell'Orco ve diğerleri, 2005; Goddard ve diğerleri, 2011; Paltrinieri, 2017). Bu morfolojik değişikliklerden şistositler; intravasküler travma, intravasküler pıhtılaşma, vaskülitis, hemanjiyosarkom, kaval sendromu ve endokarditis dahil olmak üzere çeşitli patolojik koşullarda intravasküler travmadan kaynaklanan düzensiz eritrositik fragmanları şeklinde görülmektedir (Paltrinieri, 2017; Moore, 2012). Sunulan çalışmada da yılan toksikasyonu, hemanjiyosarkoma ve perivasküler duvar tümörü görülen anemik vakalarda şistosit sayısında artış kaydedildi.

Hemolitik anemilerde vücut dışına demir kaybı olmaması nedeniyle, demir eksikliği anemisi görülmemekte ve dolayısıyla da eritrosit merkezlerindeki kromazi durumu korunmaktadır; kan kaybı anemilerinin eksternal formunda vücuttaki demirin azalması eritrositlerin morfolojilerinde hipokromik bir görünüme neden olmaktadır (Rebar ve Metzger, 2001; Naigamwalla ve diğerleri, 2012; Zachary, 2022). Sunulan çalışmada, köpeklerin % 20'sinde ve kedilerin de ise % 15'nde demir eksikliğine bağlı hipokromik anemi gözlenmiştir. Bu morfolojisinin altında yatan patolojiler köpeklerde kan parazitleri, bağırsak emilim bozuklukları, akut ve kronik kan kayıpları, kedilerde ise

hemorajik gastroenterit, kemik iliğinin baskılanması olduğu kaydedilmiştir. Bu patolojiler, Rebar ve Metzger (2001), Naigamwalla ve diğerleri (2012) ile Zachary (2022) literatür bildirimleriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Eritrositler, hacim veya boyut olarak referans değerlerinden daha küçük olduklarında "mikrosit" olarak adlandırılır. Birçok hastalık, MCV veya MCHC konsantrasyonunda düşüğe neden olabilir. Köpeklerde mikrositozis, genellikle demir eksikliği anemisi ile ilişkilidir. Ancak bazen diğer patofizyolojik durumlarda da ortaya çıkabilir (Paltrinieri ve diğerleri, 2010; Gavazza ve diğerleri, 2012). Akut kan kaybı olan bir köpekte takip eden kan kayma değerlendirilmelerinde eritrositlerin kromatofilik yapısında azalma, hipokromik eritrosit sayısında artış, rejenerasyonun pozitif bir belirteci olduğu kanısına varıldı.

Çekirdekli eritrositlerin dolaşımında bulunması genellikle güçlü bir rejeneratif anemiye sahip hastalarda görülür ve bunlar kemik iliğinin eritropoietin yanıtının bir göstergesidir. nRBC'ler genellikle polikromatofilik veya hemoglobinize sitoplazmaya ve yuvarlak çekirdeklere sahiptir. NRBC'ler rejeneratif bir yanıtın bir parçası olduğunda, polikromazi, anizositoz ve anemi olası olarak mevcut olmaktadır (Goggs, 2014). İnsan hekimliğinde nRBC sayısının artışı ile mortalite arasında pozitif korelasyon bildirilmiş olup, veteriner tıbbında nRBC sayısı sistemik yangısal yanıt sendromu (Goggs, 2014), sepsisli hayvanlarda (Desai ve diğerleri, 2012), sıcak çarpması durumlarında (Aroch ve diğerleri, 2009), yükselmiş total lökosit sayısı durumlarında, anemi şiddeti ile doğru orantılı olarak nRBC sayısının artığı bildirilmiştir (Jennifer ve diğerleri, 2014). NRBC varlığı rejenerasyon belirtisi olmakla birlikte, prognoz açısından sayısının fazlalığı klinik prognozu olumsuz etkilediği ve nRBC'li kedi ve köpeklerde iyileşme süresinin daha uzun olduğu görülmüştür (Jennifer ve diğerleri, 2014; Goggs, 2014). Sunulan bu çalışmada, rejeneratif anemi bulgularına ek olarak nRBC'lerin, köpeklerin % 37'sinde ve kedilerin % 15'inde bildirilmiş olup kedi ve köpeklerde alta yatan patolojiler; rejenerasyon, kan paraziti, tümöral oluşumlar olarak belirlenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada lenfoma, karsinom ve mast hücreli tümör kemoterapisi alan köpeklerin kan yaymalarında nRBC'lara daha sıkça rastlandığı görülmüştür. Diğer araştırmacılar, çok şiddetli nRBC artışı özellikle CHOP protokolü ile tedavi edilen lenfomaya sahip köpeklerde ve daha az ölçüde vinblastin ve prednizon ile tedavi edilen mast hücreli tümörü olan köpeklerde raporlamışlardır (Desai ve diğerleri, 2012). Bu çalışmada rapor edilen kedi ve köpek verilerine göre anemiye ek olarak lenfoma, hemangioperiostoma, leimiyosarkom, fibrosarkom, osteosarkom, anal kese adenokarsinom gibi tümöral oluşumu olan tüm olgularda anemi şiddetindeki değişikliklere rağmen, prognozu iyi olan ve tümöral oluşumu olmayan kedi ve köpeklerle karşılaştırıldığında, nRBC görülen kedi ve köpeklerde prognozun kötüleşme olasılığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ek olarak bu çalışma olgularından lenfoma tedavisi gören 1 adet köpekte tedavi öncesinde de nRBC görülmüş ve aneminin şiddetlenerek devam ettiği ve

tekrarlayan kan yaymalarında polikromazi, howel Jolly cisimcikleri ve nRBC sayısında artış tespit edilmiş; nRBC'deki artışın sebebinin aneminin şiddetine bağlı olarak gelişen rejenerasyona bir yanıt mı veya kemoteröpotik ajan kaynaklı görülen bir durum mu olduğunun ayırımına varılamamıştır.

Rejeneratif aneminin diğer önemli morfolojik bulgusu olan retikülosit sayısı ve yüzdesi; kedi ve köpeklerde rejenerasyonu tanımlamak için eritrosit indeksleri ve polikromazi kullanmanın duyarlılığı, özgülülüğü ve öngörü durumu çeşitli araştırmacılarca belirlenmiştir (Hodges ve Christopher, 2011; Weiss, 1984; Zachary, 2022; Moore, 2012). Bu çalışmada retikülosit sayısı arttıkça polikromatofik eritrositlerin, Howel - Jolly cisimciklerinin sayısının arttığı görülmüş olup, nRBC oranının altında yatan ikincil bir hastalığa bağlı olarak her rejenerasyonun şiddetine göre doğru oranda artmadığı, bazı durumlarda azaldığı görüldü.

Rejeneratif olmayan anemilerin asıl sebepleri arasında, kronik böbrek yetmezliği anemisi, aplastik anemi, beslenme kaynaklı ve kronik hastalık anemisi gibi durumları içerir (Maria ve Oikonomidis, 2016). Tam kan sayımında retikülositozis eksikliği ile karakterize edilir. Eritropoezisin azalması veya defektif eritropoezis sonucu oluşur. Çoğu nonrejeneratif anemiler, sekonder problemlerden kaynaklanırlar. Probleme bağlı kemik iliğini etkileyen her sonuçta rejeneratif olmayan anemi görülebilmektedir (Kayar, 2013). Hastalıklı kemik iliği yaşlanan eritrositlerin yerine yenisini koyamadığı zaman rejeneratif olmayan anemiler gelişir (Taker, 2006). Yapılan bu çalışmada mikrositik görülen kedi (% 16) ve köpeklerde (% 11), kan yayması incelemesinde eritrositlerde anizositozun tipik olarak belirgin ve eritrositlerin mikrositer bir yapıda ve orta kısımlarının solgunlaştığı, rejeneratif belirteçlerden polikromazinin bazı durumlarda hiç belirli olmadığı, kemik iliği yayması incelenen olgularda megakaryosit öncülerinin daha az bulunduğu, toksik değişiklikler bildirildi.

Köpek kan yaymalarında quatrefoil RBC (Qrbc) olarak geçen eritrosit morfolojisi, dört yapraklı RBC olarak da ifade edilmekte olup sıklıkla köpeklerde tümöral oluşumu, enteropatisi olan geriatric hastalarda bildirilmiş olup sıklıkla Golden Retriever, Alman Çoban ve Labrodor ırklarında görülmüş olmasıyla birlikte yapılan çalışmalarda spesifik bir hastalığın belirteci kabul edilmemiştir (Gavazza ve diğerleri, 2014). Bu çalışmada quatrefoil RBC morfolojisi, juvenil hiperglisemisi olan 4 aylık, erkek, Alman Çoban köpeğinde dikkati çekmiştir.

Hepatozoon Canis paraziti genellikle asemptomatik seyretmekle birlikte, şiddetli anemiye neden olabileceği bildirilmiştir (Baneth, 2001). Bu çalışmada bir adet köpekte nötrofillerin sitoplazmalarında *Hepatozoon Canis* saptanmış; bu vakada trombositopeni ve hemoglobin konsantrasyonunun azaldığı, morfolojik olarak eritrositlerin çaplarının büyüdüğü, orta kısımlarında solgunluğun arttığı, nötrofil

sitoplazmasında etkenlerin görüldüğü makrositik hipokromik bir anemi raporlandı.

Babesia türleri keneler ile nakledilen hemaprotozoon apikompleks parazitlerdir; hemolitik anemi, ikterus, hemoglobinüri ve ateş gibi klinik semptomlarla seyrederek (Macwilliams 1987; Penzhorn ve Oosthuizen, 2020). Komplike, perakut, akut, kronik ve sub klinik olmak üzere 5 ana formu mevcuttur (Macwilliams 1987). Köpek babesiasisi olarak bilinen *B. rossi*'nin köpeklerden kedilere yapay yolla aktarılmasına yönelik üç ayrı deneme başarısız olmuştur (Robertson, 1901; Thomas ve Brown, 1934). Sunulan çalışmada ise, klinik bulgular ve laboratuvar sonuçları ile hemolitik anemi tanısı konulan ve sitolojik morfolojinin de rejeneratif anemiyi gösteren Babesiozisli bir kedide; PCR analizi sonucuna göre etkenin *B. rossi* olduğu doğrulanmıştır. Köpekleri enfekte eden *B.rossi* Türkiye'de daha önce kedilerde rapor edilmemiştir.

Köpeklerde visceral leishmaniozis böbrek tutulumu, çoğu enfekte köpekte ortaya çıkmakta olup glomerülonefritis, immün kompleks birikimiyle, membranoproliferatif glomerülonefrit ve böbrek yetmezliğiyle ilişkilendirilir (Grauer ve Dibartola, 1997). Böbrek hasarı, enfeksiyonun başlangıcında başlayabilir, ancak sadece ileri aşamalarda proteinüri ve yüksek kan kreatinin düzeyleriyle belirgin hale gelir. Leishmaniozis'li köpeklerin ölümlerinin ana nedeni altında böbrek yetmezliği yatmaktadır (Solano ve diğerleri, 2009). Leishmaniozis'li köpekler genellikle hastalığın koagülasyon bozukluklarından kaynaklanan burun kanaması, hematüri ve kanlı ishal gibi belirtiler görülebilmektedir (Koutinas ve Koutinas, 2014). Soares ve arkadaşlarının (2005) yaptığı bir çalışmada, visceral leishmaniozisi olan köpeklerin %58.88'inde anemi bulgusu görülmüş olup aneminin kan kaybı, kırmızı hücre yıkımı, kemik iliği aplazisi veya hipoplazisi kaynaklı olduğu bildirilmiştir. Yaptıkları çalışmada Leishmanialı köpeklerde anemi tipinin %60 oranında normositik normokromik tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada köpeklerde leishmaniozis ve anemili köpek oranı % 30 bildirilmiştir. Leishmaniozisli köpeklerin % 42'sinde makrositik hipokromik, % 29'unda normositik hipokromik, % 29'unda normositik normokromik bir anemi bildirilmiştir. Leishmaniozisli köpeklerin % 71'inde de böbrek değerlerinde artış kaydedilmiştir. Klinik bulgu olarak en belirgin semptomlar tüy ve deri sağlığında bozulmalarla birlikte, lenfadenopati olarak raporlanmıştır. Lenfadenopatisi olan köpekleri lenf yumrularından yapılan ince iğne aspirasyonlarından hazırlanan kan yaymalarında *Leishmania spp.* amastigot formlarının görülmesi ile teşhis kesinleştirildi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Veteriner klinik ve hastanelerde anemi ve çeşitlerini belirleyen gelişmiş hemoanalizatör cihazlar, kandaki lökosit ve eritrosit değerleri için kapsamlı sonuçlar sunsa da rejeneratif anemilerde çekirdekli eritrositleri lökosit olarak değerlendirmeleri, psödo anemi, hemodilüsyon ve dehidrasyon durumlarında ise yanıltıcı sonuçlara neden olabilmektedir. Bunun yanı sıra, eritrosit morfolojisindeki değişiklikler ile eritrosit ve lökositlere lokalize olan mikropların morfolojileri tanımlanamamaktadır. Kan yaymaları boyamalarında ise eritrositler ve lökositlerdeki mikromorfolojik değişiklikler yanında kantitatif sayımlara da olanak sağlamaktadır. Diğer yandan eritrosit ve lökositlerde lokalize olan mikrobun morfolojik yapısına göre, anemi ya da direkt hastalık etiyojisinin tansısının konulmasına olanak sağlayabilmektedir. Sunulan bu tez çalışmasında, kedi ve köpek olgularında hemogram, biyokimyasal parametreler eşliğinde kan yaymalarında eritrosit morfolojileri değerlendirilmiş, anemiler sınıflandırılmış ve altta yatan patolojiler hakkında değerlendirmelerde bulunulmuştur. Sonuçlar, yalnızca hemogram veriler ile anemilere yaklaşımın klinik tanı için yetersiz kaldığı, bu parametrelere sitopatolojik verilerin eklenmesi ile morfolojik ve etiyojik tanıya önemli katkılar sağladığı görülmüştür. Tedavi süreçlerinde de hemogram ve sitopatolojik verilerin tekrarlanması ile, tedavideki prognozun ve başarının değerlendirilmesi açısından son derece önemlidir. Kan yaymalarının hazırlanması ve boyanma işlevi donanımlı bir laboratuvara ihtiyaç duyulmaması ve de çok ekonomik olması büyük avantajları da beraberinde getirmektedir. Bu tez çalışmasından çıkan bir diğer sonuç da Türkiye’de Veteriner Fakültelerinde yer almayan “Klinik Patoloji” birimlerinin kurulması ve öğrencilere de ders kapsamında anlatılması ve tatbik ettirilmesidir.

KAYNAKLAR

- Allison, R. W. ve Meinkoth J. H. (2010). Anemia Caused by Rickettsia, Mycoplasma, and Protozoa. Douglas J. Weiss, K. Jane Wardrop (Ed.), *Veterinary Hematology*, in (6. bs, ss.199-210). Blackwell Publishing Ltd. Archer T. (2013). Diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia. <https://todaysveterinarypractice.com/diagnosis-of-immune-mediated-hemolytic-anemia-adresinden-erişildi>.
- Allison, R. W., Meinkoth, J. H. (2007). Hematology without the numbers: in-clinic blood film evaluation. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 37(2), 245–vi. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2006.10.002>
- Aroch, I., Segev, G., Loeb, E., Bruchim, Y. (2009). Peripheral nucleated red blood cells as a prognostic indicator in heatstroke in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(3), 544–551. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0305.x>
- Arun, S. (2013). Kan patolojisi. <https://cdn.istanbul.edu.tr/FileHandler2.ashx?f=kan-hastaliklari-patolojisi1.pdf> 16.05.2023 adresinden erişildi.
- Baneth, G. (2001). Canine hepatozoonosis. *Encyclopedia of Arthropod-transmitted Infections of Man and Domesticated Animals* (Ed. M. W. Service). CABI Publishing, Wallingford. ss. 215-220.
- Chikazawa, S., Dunning, M. (2016). A review of anaemia of inflammatory disease in dogs and cats: Review of anaemia of inflammatory disease. *Journal of Small Animal Practice*. 57. 348-353. [10.1111/jsap.12498](https://doi.org/10.1111/jsap.12498).
- Cornell University College of Veterinary Medicine. (t.y.). Regeneration. Erişim adresi: <https://eclinpath.com/hematology/anemia/assessment-regeneration/> (Erişim tarihi: 11 Mayıs 2023).
- Day, J. M. (2010). Immune - Mediated Anemias in the Dog. Douglas J. Weiss, K. Jane Wardrop (Ed.), *Veterinary Hematology*, in (6. bs, ss.216-224). Blackwell Publishing Ltd.
- Desai, S., Jones, S. L., Turner, K. L., Hall, J., ... Moore, L. J. (2012). Nucleated red blood cells are associated with a higher mortality rate in patients with surgical sepsis. *Surgical Infections*, 13(6), 360–365. <https://doi.org/10.1089/sur.2011.089>
- Desnoyers, M. (2010). Anemias Associated with Oxidative Injury. Douglas J. Weiss, K. Jane Wardrop (Ed.), *Veterinary Hematology*, in (6. bs, ss.234-244). Blackwell Publishing Ltd.

- Eren, H., Çiftçi M. K., Ortatatlı, M., Hatipoğlu, F., Özdemir, Ö. (2017). Hematopoyetik Sistem. H. Eren ve M. K. Çiftçi (Ed.), *Veteriner Sistemik Patoloji 2.Cilt içinde* (2.bs., ss. 105-107). Konya: Selçuk Üniversitesi Basımevi.
- Fry, M. M. (2010). Anemia of Inflammatory, Neoplastic, Renal, and Endocrine Diseases. Douglas J. Weiss, K. Jane Wardrop (Ed.), *Veterinary Hematology*, in (6. bs, ss.248-249). Blackwell Publishing Ltd.
- Fry M. M., Kirk C. A. (2006). Reticulocyte indices in a canine model of nutritional iron deficiency. *Veterinary Clinical Pathology*. 2006;35:172-181
- Garcia-Gomez, M., Calabria, A., Garcia-Bravo, M., Benedicenti, F., Kosinski, P., López-Manzaneda, S., ... Segovia, J. C. (2016). Safe and Efficient Gene Therapy for Pyruvate Kinase Deficiency. *Molecular therapy: The Journal Of The American Society Of Gene Therapy*, 24(7), 1187–1198. <https://doi.org/10.1038/mt.2016.87>
- Garden, O. A., Kidd, L., Mexas, A. M., Chang, Y. M., Jeffery, U., Blois, S. L., ... Szladovits, B. (2019). ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats. *Journal Of Veterinary Internal Medicine*, 33(2), 313–334. <https://doi.org/10.1111/jvim.15441>
- Gavazza, A., Ricci, M., Brettoni, M., Gugliucci, B., Pasquini, A., Rispoli, D., ... Lubas, G. (2014). Retrospective and Prospective Investigations about "Quatrefoil" Erythrocytes in Canine Blood Smears. *Veterinary Medicine International*, 2014, 409573. <https://doi.org/10.1155/2014/409573>
- Gavazza, A., Rispoli, D., Bernabo, N. ve Lubas, G. (2012). Retrospective and observational investigation of canine microcytosis in relationship to sex, breed, diseases, and other complete blood count parameters. *Comparative Clinical Pathology*, 21 (5), 545-553.
- Gershwin, L. J. (2009). Clinical significance of positive antinuclear antibody test (Proceedings). <https://www.dvm360.com/view/clinical-significance-positive-antinuclear-antibody-test-proceedings>, 19.05.2023 adresinden erişildi.
- Goggs R. (2014). Normoblasts: not always normal. *The Veterinary Record*, 175(20), 506–507. <https://doi.org/10.1136/vr.g6972>
- Gurnee, C.M., Drobatz K.J. (2007). Zinc intoxication in dogs: 19 cases (1991–2003). *Journal of the American Veterinary Medical Association* April 15, 2007, Vol. 230, No. 8, Pages 1174-1179. doi:<https://doi.org/10.2460/javma.230.8.1174>
- Grauer G. F., Dibartola S. P. (1997). Afecções glomerulares. In: Ettinger S. J., Feldman E. C. *Tratado De Medicina Interna Veterinária: Moléstia Do Cão e Do Gato*. 4. ed. São Paulo: Manole, 1997: 2432-52

- Hansson-Hamlin H., Lilliehöök I., Trowald-Wigh G. Subgroups of canine antinuclear antibodies in relation to laboratory and clinical findings in immune-mediated disease. *Veterinary Clinical Pathology*. 2006 Dec;35(4):397-404.
- Harvey J. W. (2017). The feline blood film. *Journal Of Feline Medicine And Surgery*, 19(5), 529–540. <https://doi.org/10.1177/1098612X17706466>
- Harvey, J. W. (2001). *Atlas of Veterinary Hematology: Blood and Bone Marrow of Domestic Animals*. 2001 W.B. Saunders (US). ISBN: 978-0-7216-6334-0. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-6334-0.X5001-4>
- Harvey, J. W. (2012). *Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide And Color Atlas*. Elsevier Saunders, St. Louis Missouri, USA. 2012. ISBN: 9781-4377-0173-9.
- Hodges, J., Christopher, M. M. (2011). Diagnostic accuracy of using erythrocyte indices and polychromasia to identify regenerative anemia in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238(11), 1452–1458. <https://doi.org/10.2460/javma.238.11.1452N7>
- International Renal Interest Society (t.y). IRIS treatment recommendations for CKD. Erişim adresi: <http://www.iris-kidney.com/> (Erişim tarihi: 11 Mayıs 2023).
- Jacobson L. S., Clark I. A. (1994). The pathophysiology of canine babesiosis: new approaches to an old puzzle. *Journal of South African Veterinary Association*, 65, 134-145.
- Jennifer, B., Gilad, S., Bilu, G., Michal, M.T., Itamar. A. (2014). Peripheral Nucleated Red Blood Cells in Cats and their Association with Age, Laboratory Findings, Diseases, Morbidity and Mortality - A Retrospective Case-Control Study. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 69. 182-191.
- Kayar, A. (2013). Kan hastalıkları. <https://cdn.istanbul.edu.tr/FileHandler2.ashx?f=kan-hastaliklari.pdf> adresinden erişildi.
- Krafts, K. P., Pambuccian, S. E. (2011). Romanowsky staining in cytopathology: History, advantages and limitations. *Biotechnic Histochemistry: Official Publication Of The Biological Stain Commission*, 86(2), 82–93. <https://doi.org/10.3109/10520295.2010.515492>
- Koutinas, A. F., Koutinas, C. K. (2014). Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniasis Due to *Leishmania infantum*/ *Chagasi Veterinary Pathology*. 51, 527–538.
- Lippi, I., Perondi, F., Lubas, G., Gori, E., Pierini, A., D'Addetta, A., ... Marchetti, V. (2021). Erythrogram Patterns in Dogs with Chronic Kidney Disease. *Veterinary Sciences*, 8(7), 123. <https://doi.org/10.3390/vetsci8070123>.



- Macwilliams, P. S., (1987) Erythrocytic rickettsia and protozoa of the dog and cat. *Vet Clin North Am Small Animal Practic*, 17: 1443–1461.
- Marshall, P. N., Bentley, S. A., Lewis, S. M. (1975). An evaluation of some commercial Romanowsky stains. *Journal of Clinical Pathology*, 28, 680 - 685.
- Maria, K. K., Oikonomidis, I. L. (2016). The interpretation of erythrogram in dog and cat. *Hellen J Compan Anim Med*. 2016;5:1-16.
- Mimoğlu, M., Göksu, K., Sayın, F. (1969). *Veteriner ve Tıbbi Parazitoloji II* (ss. 880–959).
- Naigamwalla, D. Z., Webb, J. A., Giger, U. (2012). Iron deficiency anemia. *The Canadian veterinary journal*, 53(3), 250–256.
- Moore, F. (2012). The ABCs of RBCs. *Milwaukee Veterinary Medical Association*, 2012.
- Neiger, R., Hadley, J., Pfeiffer, D. U. (2002). Differentiation of dogs with regenerative and non-regenerative anaemia on the basis of their red cell distribution width and mean corpuscular volume. *The Veterinary record*, 150(14), 431–434. <https://doi.org/10.1136/vr.150.14.431>
- Nelson, R. W., Couto, C. G. (2019). *Small Animal Internal Medicine*, 6th ed. Elsevier - Health Sciences Division.
- Paltrınerı, S. (2017). The diagnostic approach to anaemia in the dog and cat. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 65(3), 149–164. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15529>.
- Paltrınerı, S., Preatoni, M. ve Rossi, S. (2010). Microcytosis does not predict serum iron concentrations in anaemic dogs. *The Veterinary Journal*, 185, 341-343.
- Penzhorn, B. L., Oosthuizen, M. C. (2020). Babesia Species of Domestic Cats: Molecular Characterization Has Opened Pandora's Box. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 134. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00134>
- Ranjbar, S., Mohri, M., Helan, J., Jamshidi, K., Kashefnej, M. (2010). ClinicoPathologic Evaluation of the Canine Heartworm Infestation. *Research Journal of Parasitology*. 5. 90-98. doi:10.3923/jp.2010.90.98.
- Rebar, A., Metzger, F. (2001). Interpreting hemograms in cats and dogs. *Veterinary Medicine -Bonner Springs then Edwardsville*.
- Robertson, W. (1901). Malignant jaundice in the dog. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 14, 327-336. doi:10.1016/S0368-1742(01)80065-5

- Savidge, C. (2019). Granulocytic Anaplasmosis. <https://www.cliniciansbrief.com/article/granulocytic-anaplasmosis>, 14.06.2023 adresinden erişildi.
- Taboada, J. (1998). Babesiosis. In Greene, C. G. (Ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 2nd edn, (ss. 473–481). Philadelphia: WB Saunders.
- Thomas A. D., Brown M. H. V. (1934). An attempt to transmit canine biliary fever to the domestic cat. *Journal of the South African Veterinary Medical Association*, 5:179–81.
- Turner, J., Parsi, M., Badireddy, M. (2022). Anemia. *In Stat Pearls*. StatPearls Publishing.
- Turgut, K. (2000). Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Genişletilmiş 2. Baskı. Bahçivanlar Basım Sanayi A.Ş.
- Tvendten, H. (2010). Laboratory and Clinical Diagnosis of Anemia. Douglas J. Weiss, K. Jane Wardrop (Ed.), *Veterinary Hematology*, in (6. bs, ss.152-160). Blackwell Publishing Ltd.
- Uilenberg G. (2006) Babesia historical overview, *Veterinary Parasitology*,138: 3–10.
- Uysal, Z. (2007). Hepsidin ve demir metabolizması. In 6. Hematoloji İlk Basamak Kursu Eğitim Kitabı, Ulusal Hematoloji Kongresi: Ankara: 14-20. https://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/6_IBK_01.pdf adresinden erişildi.
- Valenciano, A. C., Decker, L. S., Cowell R. L. (2010). Interpretation of Feline Leukocyte Responses. Douglas J. Weiss, K. Jane Wardrop (Ed.), *Veterinary Hematology*, in (6. bs, ss.343). Blackwell Publishing Ltd.
- Voyvoda, H. (2020, Aralık 09). Köpeklerde anemi; demir desteği, kan transfüzyonu hangi durumlarda yapılır? [Sözlü sunum] Küçük Hayvan Veteriner Hekimler Derneği, Online Kongre.
- Schaefer, J. J., Needham, G. R., Bremer, W. G., Rikihisa, Y., Ewing, S. A., Stich, R. W. (2007). Tick acquisition of *Ehrlichia canis* from dogs treated with doxycycline hyclate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(9), 3394–3396. doi:10.1128/AAC.00358-07
- Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., ... Baneth, G. (2009). Directions for the Diagnosis, Clinical Staging, Treatment and Prevention of Canine Leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, 165, 1-18.
- Weiss, D. J. (1984). Uniform evaluation and semiquantitative reporting of hematologic data in veterinary laboratories. *Veterinary Clinical Pathology*, 13 2, 27-31 .
- Weiss, D. J., Wardrop, K. J., Schalm, O. W. (2010). *Schalm's veterinary hematology* (6th ed.). Wiley-Blackwell.

- Winzelberg O. S., Hohenhaus, A. E. (2019). Feline non-regenerative anemia: Diagnostic and treatment recommendations. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 21(7), 615–631. doi:<https://doi.org/10.1177/1098612X19856178>
- Whitney, K. M., Goodman, S. A., Bailey, E. M., Lothrop, C. D., Jr (1994). The molecular basis of canine pyruvate kinase deficiency. *Experimental hematology*, 22(9), 866–874.
- Zachary, J.F. (2022). *Pathologic Basis Of Veterinary Disease*, 7th ed. Elsevier. ISBN: 978-0-323-71313-9.

EKLER

Ek 1

**T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HADYEK)**

Aydın, 27/10/2021

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2021 Yılı X. Oturum
Sayı : 64583101/2021/152
Proje Başlığı : Kedi ve Köpeklerde Anemi Bulguları Gösteren Enfeksiyöz ve Nonenfeksiyöz Hastalıklarda Eritrosit Morfolojilerine Sitopatolojik Yaklaşım.
Proje Yürütücüsü : Nihat TOPLU
Proje Ekibi : Ahmet Alperen ÖZLER

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:
İnsan embriyosu ve östusu kullanılması
İnsan embriyosu ve östusu dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması
İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. Mehmet SARIERLER Başkan
Prof. Dr. M. Dincer BILGIN Başkan Yardımcısı
Prof. Dr. Tahirhan DEMİR Üye

Prof. Dr. İzzet SONMEZ Üye
Prof. Dr. Serkan BAKIRCI Üye
Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAARSIZAN Üye

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder ÜSTÜNDAG Üye
Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ Üye
Öğr. Gör. Dr. Ayşe Güler GÜLER ORYAŞIN Sor. Vet. Hek. Üye

Hüseyin YARCAN Sorumlu Vet. Hek. Üye
Seray TEKİRDAŞ HAYTAP Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir

Ek 2

Özel Muayene Formu

Veteriner Hekim: Ahmet Alperen Özler

Yüksek Lisans Tezi: Kedi ve Köpeklerde Anemi Bulguları Gösteren Enfeksiyöz ve Nonenfeksiyöz Hastalıklarda Eritrosit Morfolojilerine Sitopatolojik Yaklaşım

BİLGİ ONAM FORMU

...../...../2023

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Nihat TOPLU'nun yürütücülüğü yaptığı "Kedi ve Köpeklerde Anemi Bulguları Gösteren Enfeksiyöz ve Nonenfeksiyöz Hastalıklarda Eritrosit Morfolojilerine Sitopatolojik Yaklaşım" başlıklı yüksek lisans tezi için köpeğimden kan alınacağı ve yapılacak laboratuvar analizlere ilgili verilerin bu çalışma dışında herhangi bir başka çalışmada kullanılmayacağı şahsıma sözlü ve yazılı olarak bildirildi.

Hayvan sahibi olarak, yukarıda belirtilen çalışmada köpeğim/kedim bulunmasını kabul ediyorum.

Hasta Sahibinin Adı Soyadı

İmza

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Yüksek Lisans Tezi: Kedi ve Köpeklerde Anemi Bulguları Gösteren Enfeksiyöz ve Nonenfeksiyöz Hastalıklarda Eritrosit Morfolojilerine Sitopatolojik Yaklaşım” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Öğrencinin Adı ve Soyadı

Ahmet Alperen ÖZLER

03/08/2023

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : ÖZLER Ahmet Alperen
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Muğla / 16.04.1997
Telefon : 0 531 898 84 48
E-posta : alperenozler48@gmail.com
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2020

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2020	Bodrum Terapi Veteriner Polikliniği	Veteriner Hekim

