

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**VETERİNERLİK İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**REJENERATİF VE NONREJENERATİF ANEMİLİ**  
**KÖPEKLERDE SERUM HEPİDİN KONSANTRASYONUNUN**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**BUSE KOCAMAN**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 64583101 / 2021 / 128 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2024**

## KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik İç Hastalıkları Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Buse KOCAMAN tarafından hazırlanan “Rejeneratif ve Nonrejeneratif Anemili Köpeklerde Serum Hepsidin Konsantrasyonunun Değerlendirilmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 02 /02 /2024

Üye	: Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA	Aydın Adnan Menderes	.....
(T.D.)		Üniversitesi Veteriner Fakültesi	
Üye	: Prof. Dr. Abuzer ACAR	Afyon Kocatepe Üniversitesi	.....
		Veteriner Fakültesi	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi G. Emek TUNA	Aydın Adnan Menderes	.....
		Üniversitesi Veteriner Fakültesi	

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

Öğrencilik hayatım boyunca, Hekim olmanın yanında iyi bir insan olmanın da eğitimimizin bir parçası olduğunu hissederek geçirdiğim yılların ve gelen mezuniyetin ardından, yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince de, bilgi ve tecrübesiyle kendime rehber edindiğim, bu tez çalışmasında bana en büyük desteği gösteren ve öğrencisi olmaktan onur duyduğum değerli öğretmenim ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Bülent ULUTAŞ'a, Doç. Dr. Ceren DİNLER AY'a ve Dr. Öğr. Üyesi G. Emek TUNA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için babam Sefa GENÇSOY, annem Fethiye GENÇSOY, eşim Şükrü Can KOCAMAN ve değerli meslektaşım Tuğrul KIRKULAK'a teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
RESİMLER DİZİNİ .....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
ÖZET .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Aneminin Tanımı.....	2
2.2. Aneminin Patofizyolojisi.....	3
2.3. Anemilerin Sınıflandırılması .....	4
2.3.1. Kemik İliği Yanıtına Göre Sınıflandırma.....	5
2.3.2. Morfolojik Sınıflandırma.....	6
2.3.3. Patofizyolojik Sınıflandırma.....	10
2.3.3.1. Rejeneratif Anemiler .....	10
2.3.3.2. Nonrejeneratif Anemiler.....	12
2.4. Aneminin Klinik Özellikleri.....	15
2.5. Anemilerde Laboratuvar Bulguları.....	16
2.6. Demir Metabolizması .....	18

2.6.1. Demirin Fizyolojik Rolü.....	19
2.6.2. Vücutta Dağılımı .....	19
2.6.3. Demir Regülasyonu .....	20
2.6.4. Demir Profiline Değerlendirilmesi.....	21
2.7. Hepsidin.....	24
2.8. Demir Metabolizma Bozukluklarında Profil .....	29
2.9. Köpeklerde Önceki Hepsidin Çalışmaları .....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
3.1. Hayvan Materyali .....	35
3.2. Yöntem .....	37
3.2.1. Muayene Protokolü ve Alt Gruplandırma .....	37
3.2.2. Laboratuvar Analizler.....	38
3.3. İstatistiksel Değerlendirme .....	42
4. BULGULAR .....	44
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	61
KAYNAKLAR.....	62
EKLER .....	76
Ek 1. ADÜ- HADYEK Raporu .....	76
Ek 2. Bilgi Onam Formu .....	77
EK 3. Hasta Gözlem Formu .....	78
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	79
ÖZ GEÇMİŞ.....	80

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AIHA</b>	: Otoimmün Hemolitik Anemi
<b>B12</b>	: Siyanokobalamin
<b>B6</b>	: Piridoksin
<b>cDNA</b>	: Tamamlayıcı/ Komplementer DNA
<b>Co</b>	: Kobalt
<b>CPVE</b>	: Canine Parvoviral Enterit
<b>CRP</b>	: C-Reaktif Protein
<b>Cu</b>	: Bakır
<b>dL</b>	: Desilitre
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>EDTA</b>	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
<b>ELISA</b>	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
<b>ERFE</b>	: Eritroferron
<b>Fe</b>	: Demir
<b>g</b>	: Gram
<b>GDF11</b>	: Büyüme Farklılaşma Faktörü 11
<b>GDF15</b>	: Büyüme Farklılaşma Faktörü 15
<b>Hb</b>	: Hemoglobin
<b>HCT</b>	: Hematokrit Değer
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>INF-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon

<b>İMHA</b>	: İmmun Aracılı Hemolitik Anemi
<b>İQR</b>	: Çeyrekler Açıklığı
<b>kDa</b>	: Kilodalton
<b>L</b>	: Litre
<b>LC-MS/MS</b>	: Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi
<b>LIBC</b>	: Serum Latent Demir Bağlama Kapasitesi
<b>MCHC</b>	: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu
<b>MCV</b>	: Ortalama Eritrosit Hacmi
<b>mg</b>	: Miligram
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>mRNA</b>	: Messenger RNA
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen
<b>PLT</b>	: Trombosit
<b>RBC</b>	: Eritrosit Sayısı
<b>RDW</b>	: Eritrosit Dağılım Genişliği
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>sat</b>	: Serum Demir Konsantrasyonunun TIBC'ye Oranı
<b>TIBC</b>	: Toplam Demir Bağlama Kapasitesi
<b>TNF</b>	: Tümör Nekrozis Faktör
<b>TP</b>	: Total Protein
<b>TS</b>	: Transferrin Saturasyonu
<b>TWSG1</b>	: Twisted Gastrulation Protein Homolog 1
<b>WBC</b>	: Total Lökosit

<b><math>\alpha</math></b>	: Alfa
<b><math>\beta</math></b>	: Beta
<b><math>\mu\text{g}</math></b>	: Mikrogram
<b><math>\mu\text{mol}</math></b>	: Mikromol
<b><math>\mu\text{L}</math></b>	: Mikrolitre
<b><math>\mu\text{mol}</math></b>	: Mikromol



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Aneminin algoritması.....	9
Şekil 2. Köpeklerde rejeneratif ve nonrejeneratif aneminin genel nedenleri .....	10
Şekil 3. Demir dengesi .....	19
Şekil 4. Demir sirkülasyonu .....	21
Şekil 5. Karaciğerden hepsidin sentezi ve ve demir metabolizmasındaki rolü .....	27
Şekil 6. Hepsidin standart eğrisi.....	42
Şekil 7. Köpeklerin genel sağlık durumlarına göre dağılımları .....	44
Şekil 8. Sağlıklı ve anemi grubundaki köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonları .....	47
Şekil 9. Sağlıklı ve anemi grubundaki köpeklerde absolut retikülosit sayıları .....	48
Şekil 10. Sağlıklı, rejeneratif ve nonrejeneratif anemi grubundaki köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonları.....	49
Şekil 11. Sağlıklı, rejeneratif ve nonrejeneratif anemi grubundaki köpeklerde absolut retikülosit sayıları .....	50
Şekil 12. Aneminin şiddetine göre serum hepsidin konsantrasyonları .....	52
Şekil 13. Aneminin şiddetine göre absolut retikülosit sayıları.....	52

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> Anemili bir köpekte solgun ağız mukozası.....	15
<b>Resim 2.</b> Bir köpekten kan alımı.....	38
<b>Resim 3.</b> Analizlerin yapıldığı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Hastanesi Laboratuvarı ve çalışmada kullanılan tam otomatik kan sayım cihazı .....	39
<b>Resim 4.</b> Mikroskopta retikülosit görünümü .....	40
<b>Resim 5.</b> Numunelerde ELISA testi sırasında görülen renk değişimi .....	40

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Köpeklerde HCT değere göre anemi şiddetinin sınıflandırılması.....	3
<b>Tablo 2.</b> Köpeklerde anemi tipinin retikülosit sayısına göre sınıflandırılması.....	6
<b>Tablo 3.</b> Anemilerin morfolojik olarak sınıflandırılması.....	7
<b>Tablo 4.</b> Köpeklerde aneminin etiopatogenezi .....	14
<b>Tablo 5.</b> Köpeklerde serum demir parametrelerinin referans değerleri.....	22
<b>Tablo 6.</b> Demir eksikliğinin safhaları ve biyobelirteçleri.....	30
<b>Tablo 7.</b> Demir metabolizması bozukluklarında kandaki değerler.....	31
<b>Tablo 8.</b> Köpeklerde önceki hepsidin çalışmaları.....	32
<b>Tablo 9.</b> Köpeklerin tanımlayıcı özellikleri.....	35
<b>Tablo 10.</b> Rejeneratif ve nonrejeneratif gruplar.....	39
<b>Tablo 11.</b> Köpeklerin yaş ve cinsiyete göre dağılımı. ....	45
<b>Tablo 12.</b> HCT değere göre anemili köpeklerde şiddetine göre anemi dağılımları.....	45
<b>Tablo 13.</b> Sağlıklı ve anemi grubu köpeklerin kan parametreleri ve serum hepsidin konsantrasyonları.....	46
<b>Tablo 14.</b> Sağlıklı ve anemili gruptaki köpeklerin hematolojik parametreleri ve serum hepsidin konsantrasyonları .....	47
<b>Tablo 15.</b> Sağlıklı, rejeneratif ve nonrejeneratif anemi alt gruplarındaki köpeklerin hematolojik parametreleri ve serum hepsidin konsantrasyonları .....	49
<b>Tablo 16.</b> Sağlıklı, hafif ve orta şiddetli anemili köpeklerin hematolojik parametreleri ve serum hepsidin konsantrasyonları.....	51
<b>Tablo 17.</b> Serum hepsidin konsantrasyonu ve absolut retikülosit sayıları arasındaki ilişkiler	53

## ÖZET

### REJENERATİF VE NONREJENERATİF ANEMİLİ KÖPEKLERDE SERUM HEPİDİN KONSANTRASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

**Kocaman B. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2024.**

**Amaç:** Hepsidin, demir metabolizmasının düzenlenmesindeki temel hormondur. Bu çalışmada anemili köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonunun durumunun belirlenmesi, rejeneratif ve nonrejeneratif anemili köpeklerde bu hormonun serum konsantrasyonunun karşılaştırılması ve retikülosit sayısı ve aneminin şiddeti ile serum hepsidin konsantrasyonu arasındaki ilişkilerin ortaya konulması amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi'ne getirilen 20 sağlıklı (kontrol) ve verileri dikkate alınan 47 anemili toplam 67 köpek değerlendirildi. Klinik muayenede anemi ile ilişkili bulgular gösteren hastaların hemogram sonuçlarından aneminin varlık ve şiddeti; absolut retikülosit sayısı değerlendirilerek aneminin tipi (rejeneratif ve nonrejeneratif) belirlendi. Serum hepsidin konsantrasyonu tür spesifik ELISA kiti ile ölçüldü. Belirtilen parametrelerin ölçümü bir kez yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar ve korelasyonlar, uygun parametrik ve nonparametrik testlerle gerçekleştirildi.

**Bulgular:** Rejeneratif anemi grubunun ortalama HCT değeri (%23,4) nonrejeneratif anemi grubu köpeklerin değerinden (%27,7) düşük, ortalama absolut retikülosit sayısı ise yüksek bulundu ( $135,2 \times 10^3/\mu\text{L}$  vs.  $49,9 \times 10^3/\mu\text{L}$ ). Sağlıklı (71,00 ng/mL) ile anemik (70,70 ng/mL) ve rejeneratif (68,82 ng/mL) ile nonrejeneratif anemili (71,60 ng/mL) köpeklerin ortanca serum hepsidin konsantrasyonları arasındaki farklar istatistiksel anlamlı değildi. Rejeneratif anemili köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonu ve absolut retikülosit sayısı arasında pozitif zayıf korelasyon ( $r=0,48$ ) olduğu belirlendi.

**Sonuç:** Köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonunun aneminin tipi ve şiddetine göre anlamlı farklılıklar göstermediği, rejeneratif anemide serum hepsidin konsantrasyonu ve absolut retikülosit sayısı arasında pozitif zayıf korelasyon dışındaki korelasyonların göz ardı

edilebilecek düzeyde olduğu belirlendi. Köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonunun aneminin tipi ve Şiddetine göre durumunun, serumda akut faz proteinler ve proinflamatuvar sitokin konsantrasyonları altında değerlendirilmesinin yararlı olacağı kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Anemi, Hepsidin, K pek

## ABSTRACT

### EVALUATION OF SERUM HEPCIDIN CONCENTRATION IN DOGS WITH REGENERATIVE AND NONREGENERATIVE ANAEMIA

**Kocaman B. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Faculty of Veterinary Medicine, Master Thesis, Aydın, 2024.**

**Objective:** Hepcidin is the main hormone in the regulation of iron metabolism. In this study, it was aimed to determine the status of serum hepcidin concentration in dogs with anaemia, to compare the serum concentration of this hormone in dogs with regenerative and nonregenerative anaemia and to reveal the relationships between reticulocyte count and severity of anaemia and serum hepcidin concentration.

**Material and Methods:** For this purpose, a total of 67 dogs, 20 healthy (control) and 47 dogs with anemia whose data were considered, presented to Aydın Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine Animal Hospital were evaluated. The presence and severity of anemia were evaluated from the hemogram results of patients who show anemia-related findings during clinical examination; the type of anemia (regenerative or non-regenerative) was determined by evaluating the absolute reticulocyte count. Serum hepcidin concentration was measured using a species-specific ELISA kit. Measurement of the specified parameters was carried out once. Between-group comparisons and correlations were performed with appropriate parametric and nonparametric tests.

**Results:** The mean HCT value of the regenerative anemia group (23.4%) was lower than the value of the nonregenerative anemia group dogs (27.7%), and the mean absolute reticulocyte count was higher ( $135.2 \times 10^3/\mu\text{L}$  vs.  $49.9 \times 10^3/\mu\text{L}$ ). The differences between median serum hepcidin concentrations of healthy (71.00 ng/mL) and anemic (70.70 ng/mL) and regenerative (68.82 ng/mL) and nonregenerative anemia (71.60 ng/mL) dogs were not statistically significant. A weak positive correlation ( $r=0.48$ ) was between serum hepcidin concentration and absolute reticulocyte count in dogs with regenerative anemia.

**Conclusion:** It was indicated that serum hepcidin concentration in dogs did not show significant differences according to the type and severity of anemia, and that correlations

other than a weak positive correlation between serum hepcidin concentration and absolute reticulocyte count in regenerative anemia were negligible. It was concluded that it would be useful to evaluate the serum hepcidin concentration in dogs according to the type and severity of anemia, under the acute phase proteins and proinflammatory cytokine concentrations in the serum.

**Keywords:** Anaemia, Dog, Hpcidin

# 1. GİRİŞ

Anemi, birçok hastalığın seyri ya da sonucunda ortaya çıkan bir bulgudur ve eritrositlerin yapımı ile yıkımı ya da kaybı arasındaki dengenin bozulmasıyla ortaya çıkar. Anemi; laboratuvar bulgu olarak eritrosit sayısı veya hematokrit (HCT) değeri ve hemoglobin (Hb) konsantrasyonunun azalmasıyla karakterizedir. Başlıca kan kaybı (hemoraji), eritrositlerin yaşam sürelerinin kısalması (hemoliz) veya eritrosit üretiminin azalması (hipoplastik/aplastik anemi) sonucu gelişir. Eritrositlerin yapımı, yıkımı ya da kaybı arasındaki dengenin bozulması sonucunda kemik iliğinin verdiği yanıtla göre rejeneratif ve nonrejeneratif anemiler olmak üzere 2 gruba ayrılır. Bu kapsamda gelişen aneminin rejeneratif mi yoksa nonrejeneratif mi olduğu, rutinde periferal kanda absolut retikülosit sayısı ve/veya May Grünwald-Giemsa/New Metilen Blue yöntemi ile boyanmış kan frotisinde eritrositlerin başta büyüklük, şekil ve boya alma özelliği değerlendirilerek belirlenir. Anemiler patofizyolojik mekanizmaya göre; kan kaybına bağlı (hemorajik anemiler), eritrosit yıkımındaki artışa bağlı (hemolitik anemiler) ve eritrosit üretimindeki azalma ve/veya defekt eritropoezisten kaynaklanan (hipoplastik/aplastik) anemiler olmak üzere sınıflandırılır. Kemik iliği yanıtı patofizyolojik mekanizma ile birlikte değerlendirildiğinde; hemorajik ve hemolitik anemiler rejeneratif, hipoplastik/aplastik anemiler ise nonrejeneratif anemi olarak tanımlanır. Hepsidin, ağırlıklı olarak karaciğerde hepatositler tarafından sentezlenen ve demir metabolizmasının düzenlenmesinde görev alan temel hormondur. Duodenumdan diyetle demir absorpsiyonunu, makrofajlardan geri kazanılan demirin alınmasını ve hepatositlerde depolanmış demirin salınmasını engelleyerek demir homeostazisini sağlar. Köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonunun anaplasmoz (Deniz ve Şahinduran, 2020) ve hematokromatozda (Ganz ve Nemeth, 2011) azaldığı; ehrlichioz (Bottari ve diğerleri, 2016), kronik böbrek yetmezliği (Grimes ve diğerleri, 2012) ve Canine Parvovirus enfeksiyonunda (Salem ve diğerleri, 2018) ise arttığı önceki çalışmalarda belirlenmiştir. Literatürde anemili köpeklerde kemik iliğinin yanıtına (rejeneratif, nonrejeneratif anemi) ve aneminin şiddetine göre serum hepsidin konsantrasyonundaki değişime ilgili bir çalışma belirlenmemiştir. Bu nedenle sunulan çalışmada, köpeklerde aneminin tipine ve şiddetine göre serum hepsidin konsantrasyonunun durumu ve bu hormonun retikülosit sayısı ile ilişkisi değerlendirildi.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Aneminin Tanımı

Eski Yunanca bir kelime olan anemi (an- olmayan/bulunmayan emia- kan) vücutta hiç kan bulunmamasıdır (Voigt ve Swist, 2011). Ancak aşırı miktarda kan kaybı olan bir hayvanın bile dolaşımında bir miktar kanın kaldığı düşünüldüğünde bu tanımlama klinik ve laboratuvar bulgularla uyumlu değildir. Bu kapsamda anemi, birçok hastalığın seyri ya da sonucunda gelişen, varlığı laboratuvar parametreleri ile belirlenen ve şiddetli olduğunda hastada klinik bulguların ortaya çıktığı bir semptomdur.

Anemi, eritrositlerin üretimi, yıkımı ya da kaybı arasındaki dengenin bozulmasıyla meydana gelir (Mills, 2012; Voigt ve Swist, 2011) ve absolut veya relatif olarak şekillenebilir (Dheer, 1997; Erslev, 1990; Voigt ve Swist, 2011). Pseudo veya yalancı anemi olarak da tanımlanan relatif anemide eritrosit sayısı referans aralıkta olup, hematolojik bir bozukluk da yoktur. Ancak plazma hacminin düzenlenmesinde bir bozukluk veya yenidoğanlarda ve gebelikte olduğu gibi plazma hacminin artması veya özellikle izotonik kristalloid solüsyonların fazla infüzyonu (hiperhidrasyon) sonucu gelişebilir (Dheer, 1997; Erslev, 1990; Jain, 1993; Voigt ve Swist, 2011). Buna karşın daha sık görülen ve klinik olarak daha önemli olan absolut veya gerçek anemide sirkülasyondaki eritrosit sayısında çoğunlukla azalma görülür (Dheer, 1997; Jain, 1993).

Şiddeti ve tipi ile bağlantılı olarak hastada ciddi olumsuzluklara sebep olabilen anemilere köpeklerde de sık karşılaşılır. Anemilerde görülen laboratuvar bulguları fizyolojik alt sınırın altına düşen, eritrosit sayısı (RBC), hematokrit değeri (HCT) ve hemoglobin (Hb) konsantrasyonu olarak tanımlanabilir (Mills, 2012). Meydana gelen anemilerin çoğunda HCT değeri, RBC ve Hb konsantrasyonunun fizyolojik değerinin altında olması beklenir fakat demir eksikliği anemisinde RBC normal sınırlarda olabilir, HCT değeri ve Hb konsantrasyonunda ise azalma görülür (Harvey, 2008; Tvedten 2010). Bu durum kemik iliğinde normoblastların Hb sentezinin yetersizliği sonucu bölünmeye devam etmesi ve mikrositer hipokrom hücrelerin gelişmesiyle ilişkilidir (Weiss ve Wardrop, 2011).

Aneminin şiddeti, HCT değerine göre 4 gruba ayrılır. Bunlar; hafif, orta, şiddetli ve çok şiddetli anemilerdir (Tablo 1). Aneminin şiddetine göre orta ve şiddetli anemiler, genelde

birincil hematolojik hastalığı ya da önemli bir sorunun varlığına işaret eder. Hafif şiddetteki anemiler de genelde hematolojik kaynaklı olmayan hastalıkları işaret eder (Tvedten, 2010). Şiddetli ve orta derece şiddetindeki anemiler klinik açıdan tespit edilebilirken, hafif şiddetli anemiler ancak laboratuvar bulgularıyla belirlenebilir (Tvedten, 2010).

**Tablo 1.** Köpeklerde HCT değere göre anemi şiddetinin sınıflandırılması (Tvedten, 2010, 2022).

Aneminin Derecesi	HCT %
Hafif	>30- ≤ 36
Orta	>20- ≤ 30
Şiddetli	>13- ≤ 20
Çok Şiddetli	<13

## 2.2. Aneminin Patofizyolojisi

Bir canlının vücudundaki hücrelerin yaklaşık %25'ini eritrositler oluşturur. Eritropoezis, kemik iliğinde gerçekleşir ve stromal ağ, sitokinler ve eritropoetin hormonu tarafından kontrol edilir. Bir dizi farklılaşma basamağını takiben retikülositler şekillenir. Kemik iliğindeki retikülositler 3-4 gün sonra sirkülasyondaki olgun eritrositler halini alır ve sirkülasyona geçer (Latimer ve Duncan, 2011; Olver, 2010). Köpeklerde eritrositlerin yaşam süresi yaklaşık 110-120 gün civarındadır (Balch ve Mackin, 2007; Bennet ve diğerleri, 1981; Burgess ve diğerleri, 2000; Voigt ve Swist, 2011). Yaşlı eritrositler dalak, kemik iliği ve karaciğerdeki makrofajlar tarafından yıkımlanır. Bir köpeğin vücudunda her saniye yaklaşık 800.000 eritrositin üretildiği ve yıkımlandığı tahmin edilmektedir (Aytuğ, 2019; Balch ve Mackin, 2007). Sağlıklı organizmada eritrosit yapımı ile yıkımı arasında bir denge bulunur. Sağlıklı hayvanlarda normal yaşlanma ve hasara bağlı olarak eritrositlerin yaklaşık %1'i sirkülasyondan uzaklaştırılır, aynı oranda eritrosit üretilerek eritrosit yapımı ile yıkımı arasındaki denge korunur (Olver, 2010). Bu dengenin eritrosit yıkımının ve kaybının çok hızlı ya da eritrosit üretiminin çok yavaş olması nedeniyle bozulması sonucu anemi ortaya çıkar.

Patofizyolojik olarak anemi, azalan RBC sayısı veya HCT değer ve Hb konsantrasyonu sonucu oksijen taşıma kapasitesinin düşmesi ve buna bağlı sistemik doku hipoksisi ve eritropoetin üretiminin artmasıdır. Denge koşullarında kemik iliği 6-8 günde yeni eritrosit

üretebilir. Maksimum ihtiyaç halinde ve yeterli yapı taşı kaynağı (Fe, vitamin B12, folik asit) ile kemik iliği eritropoezisi 5-6 kat kadar artırabilir (Olver, 2010). Eritrosit yıkımı veya kaybı sonucu şekillenen açığa kemik iliğinin eritropoezisi artırarak yanıt vermesi rejeneratif, söz konusu yanıtın az olması veya olmaması nonrejeneratif anemi olarak tanımlanır. Hemogram sonuçlarına göre rejeneratif anemilerde periferal kanda 4-5 gün içerisinde rejenerasyon belirtileri olan polikromazi, retikülositozis ve çekirdekli eritrositler (normoblastlar) ve makrositer-hipokrom eritrositler belirgin olarak görülmelidir (Tvedten, 2010). Ayrıca rejenerasyon kan tablosunda eritrositlerin ortalama eritrosit hacminde (MCV) artış, ortalama eritrosit Hb konsantrasyonunda (MCHC) ise azalma ile kendini gösterir (Thrall, 2012; Tvedten, 2010). Nonrejeneratif anemiler morfolojik olarak genelde normositer-normokrom karakterdedir ve kemik iliği rejenerasyon bulguları (retikülositozis, polikromasi vb.) çok az ya da hiç yoktur (Latimer ve Duncan, 2011; Thrall, 2012; Tvedten, 2010). Nonrejeneratif anemilerde eritrosit indeksinin nötrofil ve trombosit sayısı ile birlikte değerlendirmesi, etiolojinin belirlenmesine katkı sağlar. Hafif-orta şiddette nonrejeneratif anemiye yol açan kronik yangı, renal hastalık ve neoplazi olgularında primer nedenler, bu sorunlara ilgili lökogram, biyokimyasal analizler, sitoloji vb. daha spesifik testlerle belirlenebilir. Kronik yangı/hastalık anemisinde hastada sıklıkla hiperfibrinojenemi, hipoalbuminemi ve hiperglobulinemi saptanır. Kronik renal yetmezliğe bağlı anemilerde ise hastada çoğunlukla azotemia, hipoalbuminemi ve proteinuri dikkati çeker (Fry, 2010; Latimer ve Duncan, 2011; Thrall, 2012; Tvedten, 2010).

Anemi temel olarak kan kaybı (hemoraji), eritrositlerin yaşam süresinin kısalması (hemoliz) ve eritrosit üretiminin azalması sonucu gelişir (Tvedten, 2010). Hemolitik anemi, eritrositlerin kan damarlarında (intravasküler) ve/veya mononükleer sistemde (ekstravasküler) yaşam süresinin kısalması/yıkımlanmasının artmasıyla oluşur. Genel olarak ekstravasküler hemoliz intravasküler hemolizden daha yaygın görülür. Nonrejeneratif anemi, eritropoezisin azalması veya defekt eritropoezis sonucu gelişir (Latimer ve Duncan, 2011).

### **2.3. Anemilerin Sınıflandırılması**

Anemiler, yaşamı tehdit eden boyuta ulaşabilir. Bu nedenle anemide altta yatan sebebin bulunması, spesifik ve doğru tanı ile uygun tedavi yönteminin belirlenebilmesi için gereklidir. Aneminin altında yatan hastalığın tanısında, anemiyi daha önceden belirlenmiş gruplara veya

taniya fayda sağlayacak kategorilere yerleştirebilmek için kanın bazı özellikleri kullanılır. (Tvedten, 2010; Voigt ve Swist, 2011).

Anemiler; kemik iliği yanıtına, morfolojilerine ve patofizyolojilerine göre 3 şekilde sınıflandırılır. Kemik iliği yanıtına göre, rejeneratif ve nonrejeneratif anemiler olmak üzere 2 gruba ayrılır. Patofizyolojik sınıflandırmaya göre; kan kaybına bağlı anemiler, artan eritrosit yıkımlanması (hemoliz) ve azalan eritrosit üretimi veya defekt eritropoezis olmak üzere 3 kategoriye ayrılır. Bir başka sınıflandırma da periferal kan frofisinin veya tam kan sayımındaki eritrositlerin ortalama eritrosit hacmi ve ortalama eritrosit Hb konsantrasyonu değerlendirilerek yapılan morfolojik kriterlere göre sınıflandırmadır.

### **2.3.1. Kemik İliği Yanıtına Göre Sınıflandırma**

Kemik iliği yanıtına göre anemiler periferal kanda bulunan olgunlaşmamış eritrosit (retikülosit) sayısının değerlendirilmesine göre rejeneratif ve nonrejeneratif olarak iki gruba ayrılmaktadır (Cowgill ve diğerleri, 2003; Çelik ve Şahin, 2021; Voigt ve Swist, 2011). Eritropoetin başta böbrek dokusundaki üretiminin artması daha sonra da hipoksi nedeniyle kandaki konsantrasyonunun arttığı durumlarda retikülositler dolaşıma daha hızlı salınır. Dolaşımdaki retikülosit sayısı akut kan kayıplarında ve kemik iliği yanıtının olduğu hemoliz durumlarında da artar ve bu durumlar rejeneratif anemi olarak tanımlanır (Thrall 2012; Voigt ve Swist, 2011). Kemik iliği fizyolojik bir sınır ile rejeneratif yanıt gösterir. Hemolitik anemilerde en yüksek düzeyde görülen rejeneratif yanıt 6-8 kat iken, hemorajik anemilerde 2-4 kat düzeyindedir. Hemorajik ya da hemolitik anemilerin başlangıcından sonraki 2-4 gün içerisinde periferal kanda rejenerasyona ait bir bulguya rastlanmayabilir (Voigt ve Swist, 2011). Nonrejeneratif anemiler ise anemi meydana geldikten sonra periferal kandaki retikülosit sayısının beklenenden az olması veya hiç olmaması olarak tanımlanabilir. Kemik iliği ya da eritrosit üretimindeki azalma, eritropoeziste meydana gelen bozukluklar sonucunda nonrejeneratif anemiler oluşabilmektedir (Mills, 2012; Voigt ve Swist, 2011). Absolut retikülosit sayısı, geliştirilmiş otomatik kan sayım cihazları ve periferal kan örneğinden New Methylene Blue boyama yöntemi ile hazırlanan frotilerde manuel olarak hücrelerin sayılması ile hesaplanabilmektedir (Cowgill ve diğerleri, 2003; Tablo 2).

**Tablo 2.** Köpeklerde anemi tipinin retikülosit sayısına göre sınıflandırılması (Cowgill ve diğerleri, 2003).

<b>Retikülositer Yanıt</b>	<b>Absolut Retikülosit Sayısı (a)</b>
<b>Normal/ Nonrejeneratif (b)</b>	<80.000
<b>Rejeneratif Hafif</b>	80.000-150.000
<b>Rejeneratif Orta</b>	150.000-300.000
<b>Rejeneratif Şiddetli</b>	>500.000

(a): Absolut retikülosit sayısı (/ $\mu$ L): retikülosit yüzdesi x RBC sayısı ( $\times 10^3$  / $\mu$ L)

(b): Anemi durumlarında nonrejeneratif olarak değerlendirilir.

### 2.3.2. Morfolojik Sınıflandırma

Anemiler, morfolojik olarak eritrosit sayısı ve Hb konsantrasyonu ile belirlenen ortalama eritrosit hacmi ve ortalama eritrosit Hb konsantrasyonuna göre sınıflandırılır.

Köpeklerde fizyolojik olarak MCV değerinin 60-77 fL ve MCHC değerinin de 32-36/30-36 g/dL olduğu belirtilmektedir (Tvedten 2010; Voigt ve Swist, 2011). Eritrosit hacminin normalden daha az olması mikrositik, normal hacimde olması normositik ve normalden daha büyük hacimli olması ise makrositik anemi olarak tanımlanır. Eritrositlerin Hb konsantrasyonunun normalden daha az olmasına hipokromik anemi, normal konsantrasyonda olmasına ise normokromik anemi adı verilir (Tablo 3). Hiperkromik durum ise MCHC değerinin intravasküler hemoliz, lipemi ve Heinz cisimciklerinin etkisi ile hatalı olarak yüksek ölçülmesi sonucunda meydana gelir (Thrall, 2012; Tvedten, 2022; Voigt ve Swist, 2011).

**Tablo 3.** Anemilerin morfolojik olarak sınıflandırması (Tvedten, 2010).

MCV (60-77 fL)	MCHC (32-36 g/dL)	Anemi
N	N	Normositik, normokromik
N	↓	Normositik, hipokromik
↑	N	Makrositer, normokromik
↑	↓	Makrositer, hipokromik
↓	N	Mikrositer, normokromik
↓	↓	Mikrositer, hipokromik

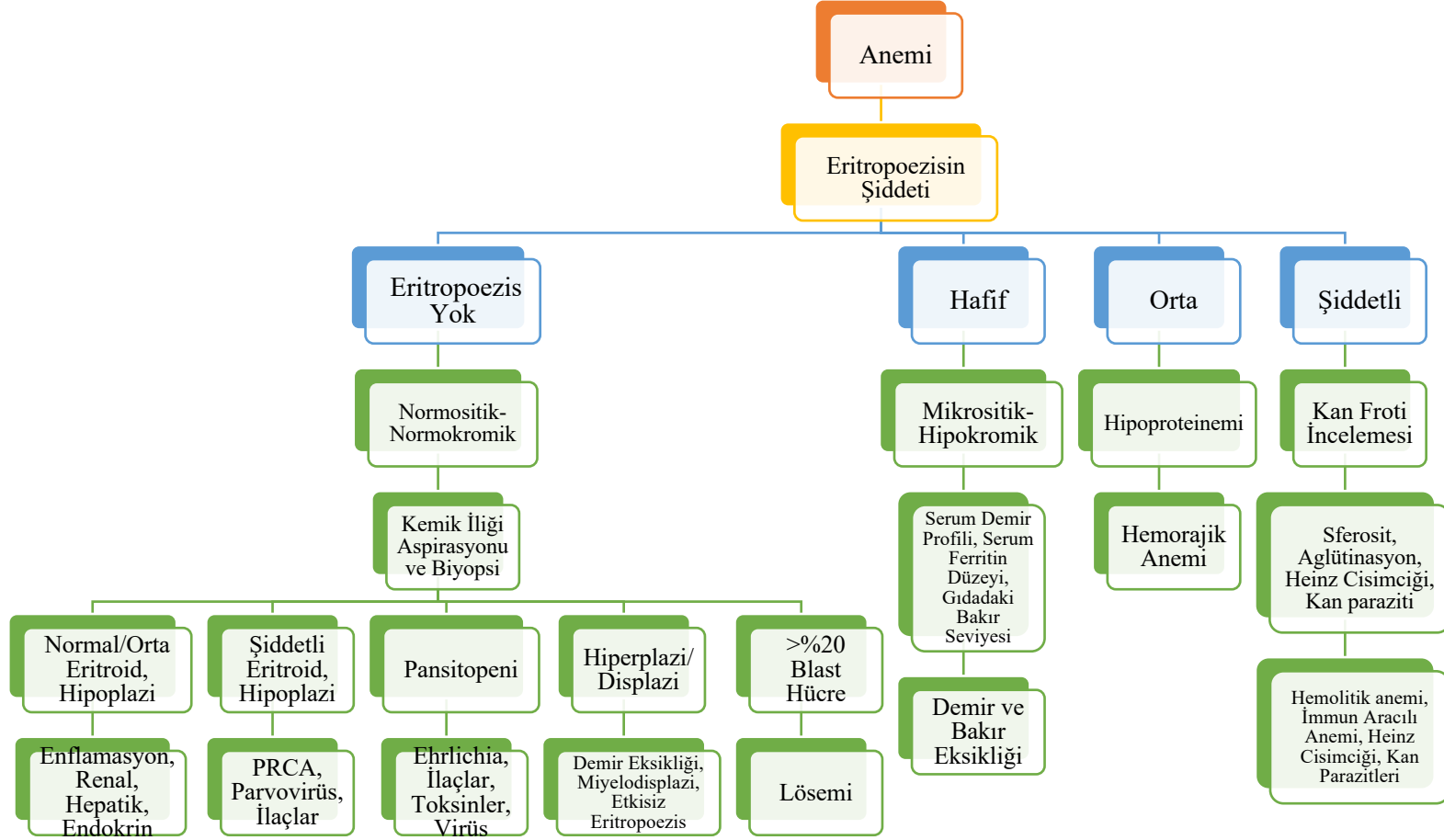
N: normal değer aralığında; ↑: artma; ↓: azalma.

Morfolojik sınıflandırma etiyolojik kaynağın tespitine katkıda bulunur. Örneğin mikrositik anemiler genellikle demir eksikliği sonucunda oluşmaktadır (Mills, 2012). Ayrıca, mikrositozis fizyolojik olarak Akita ve Shiba Inus ırkı köpeklerde ve portosistemik şantlı köpeklerde görülebilir (Mills, 2012; Paltrinieri ve diğerleri, 2010; Steinberg ve Olver, 2005). Poodle ırkı köpekler (Rizzi ve diğerleri, 2000) ve Greyhound ırkı köpekler diğer köpek ırklarına göre yüksek MCV değerine sahiptirler. Yenidoğan köpek yavrularında da MCV değeri yüksektir ve bu değer 2-3. aylardan sonra normal seviyeye düşmektedir (Aytuğ, 2019; Latimer ve diğerleri, 2003).

Makrositik anemiler, retikülosit hücrelerinin normal eritrosit hücrelerine göre daha büyük hacme sahip olması sebebiyle kemik iliğinin fonksiyonel olarak çalıştığının göstergesidir (Thrall, 2012). Ancak retikülositozis veya polikromazi olmadan da makrositozisin görüldüğü durumların varlığı bilinmektedir. Nonrejeneratif anemilerde, hemoraji ya da hemoliz durumlarında retikülositlerin sirkülasyona verilmediği prerejeneratif dönemde ve bazı rejeneratif anemi durumlarında normositik anemi görülebilmektedir (Hodges ve Christopher, 2011; Thrall, 2012). Eritrositlerin Hb konsantrasyonuna göre normokromik olduğu durumlarda renkleri normal ve MCHC değeri fizyolojik sınırlar içerisindedir. Eritrositlerin Hb konsantrasyonuna göre hipokromik olduğu durumda eritrositlerin rengi solgun ve MCHC değeri fizyolojik değerinin altındadır. Hiperkromik durumda MCHC değeri normalden yüksektir ve eritrositlerin renkleri koyudur fakat bu durum genelde hemoliz veya oksiglobin tedavisi sonucunda meydana gelir (Aytuğ, 2019; Latimer ve diğerleri, 2003).

Nonrejeneratif anemiler genellikle normositik-normokromik, makrositik-normokromik veya mikrositik-hipokromik karakterdedir (Latimer ve Duncan, 2011; Tvedten, 2010). Eritrosit boyutunun ve hemoglobin düzeyinin normal olduğu normositik-normokromik anemi (Tvedten, 2010), hemorajik ve hemolitik anemilerde rejenerasyon öncesi dönemde görülebilir. Ayrıca kronik yangı başta olmak üzere kronik böbrek hastalığında eritropoetin eksikliği ile ilişkili olarak, endokrin bozukluklar, kemik iliği depresyonu, toksinler (örneğin kurşun zehirlenmesi) apse ve neoplazi olgularında da görülür (Latimer ve Duncan, 2011; Fry, 2010). Makrositik-normokromik anemi; B vitamini, folik asit veya Co eksikliğinde ortaya çıkmaktadır (Latimer ve Duncan, 2011). Kronik kan kaybı sonucunda görülen gelişen demir eksikliğinde eritrositler mikrositik olsa da hipokromasi bulunmayabilir. Makrositik hipokromik anemiler, genelde akut kan kaybı veya hemoliz sonrası görülür (Sodikoff, 2001). Kronik enflamasyon anemisi (Sodikoff, 2001) ve kronik Fe ve Cu eksikliği anemileri mikrositik ve hipokromik karakterdedir (Aytuğ, 2019; Tvedten, 2010; Thrall, 2012). Aneminin rejeneratif karakter gösterdiği köpeklerde yapılan bir çalışmada köpeklerin %11,8'inde makrositik hipokromik anemi görüldüğü bildirilmiştir (Hodges ve Christopher, 2011).

Şekil 1'de eritropoetik aktiviteye göre aneminin morfolojik sınıflandırılması ve olası nedenleri özetlenmiştir.



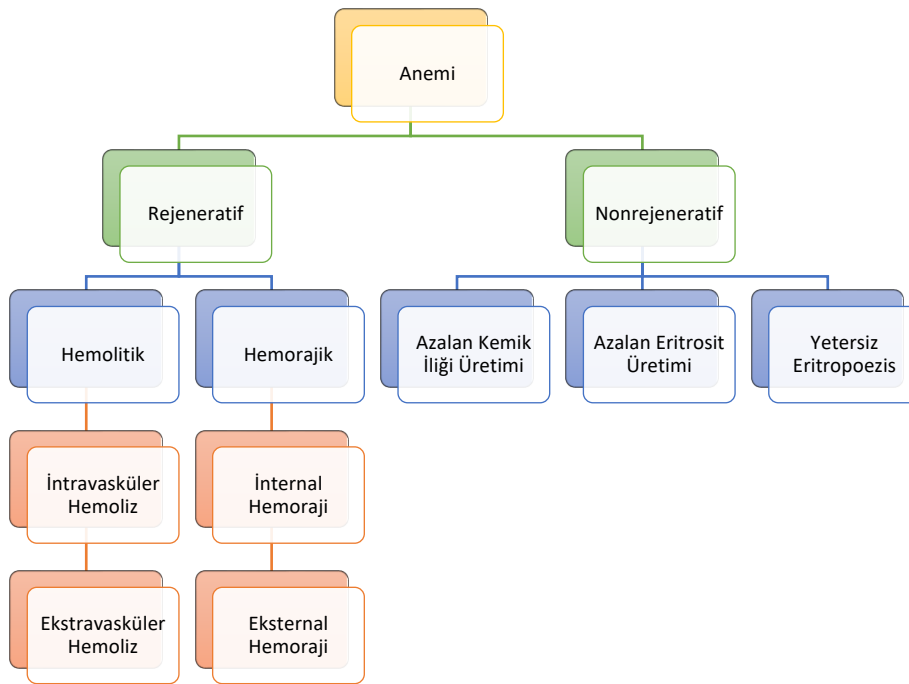
Şekil 1. Aneminin algoritması (Tvedten, 2022).



### 2.3.3. Patofizyolojik Sınıflandırma

Anemilerin patofizyolojik olarak sınıflandırılması tanı açısından oldukça önemlidir. Kemik iliği yanıtının periferal kanda bulunan olgunlaşmamış eritrositlerin (retikülosit) sayısına göre yapılan (Tablo 2) bu sınıflandırmada anemiler rejeneratif ve nonrejeneratif olarak iki ana gruba ayrılır (Cowgill ve diğerleri, 2003; Tvedten, 2010, 2022).

Rejeneratif ve nonrejeneratif özellik gösteren anemilerin genel olarak sınıflandırılması Şekil 2’de gösterildi.



Şekil 2. Köpeklerde rejeneratif ve nonrejeneratif aneminin genel nedenleri (Mills, 2012)

#### 2.3.3.1. Rejeneratif Anemiler

Rejeneratif anemiler, hemolitik anemi (eritrositlerin yıkımlanması) ya da hemorajik anemi (kan kaybına bağlı) sonucu gelişir.

**Hemolitik anemi;** sirkülasyondaki eritrositlerin anormal düzeyde yıkımı sonucunda meydana gelen bir durumdur. Hemoliz; intravasküler, ekstravasküler olabilir ya da her ikisini birden içerebilir (Tvedten, 2022); bu durum altta yatan hastalık sürecine bağlıdır (Eren ve diğerleri, 2017; Zachary, 2021). Hemolizin etiyolojik nedenleri çeşitlilik göstermektedir ve tanıya destek olmak için eritrosit morfolojisi incelenmelidir. Hemolitik anemili köpeklerde,

alınan kanın plazması eritrositlerin yıkımı sebebiyle genellikle koyu sarı ya da turuncu (ikterik) renktedir. Plazma protein seviyeleri normaldir ya da eritrositlerin yıkımı sebebiyle hafif artmıştır (Voigt ve Swist, 2011). Hemolitik anemili hayvanlardan alınan kan örneklerinden hazırlanan frotilerinde şistositler, sferositler, paraziter etkenler (*Babesia* spp.) ve otoimmün aglütinasyon gibi hemolize neden olan spesifik değişiklikler görülebilir (Voigt ve Swist, 2011). Hemolitik anemide plazma bilirubin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak ile oraya çıkan hiperbilirubinemi görülmektedir. Plazma bilirubin konsantrasyonunun eşik değeri aştığı durumlarda vücut sıvılarında ve dokularda gözle görülebilen sarılık oluşur. Sarılık, ikterus olarak tanımlanır ve plazma bilirubin konsantrasyonunun 2 mg/dL'yi aştığı durumlarda gözle tespit edilebilir. İkterus, hemoliz için patogonomik bir bulgu değildir. Hepatopati ve kolanjiyopati gibi safra kanalı hastalıklarında da ikterus görülebilmektedir (Zachary, 2021).

İmmün aracılı hemolitik anemi (IMHA) eritrositler ya da kemik iliği eritroid öncül hücre membranlarına immunoglobulinlerin bağlanması sonucunda tip II aşırı duyarlılık reaksiyonu nedeniyle parçalanması ile meydana gelir. Aynı zamanda immunoglobulinler fagositik aktivite gösteren makrofajlar ile etkileşime geçerek dalak ya da karaciğerde yıkımlanırlar ve ekstrasvasküler hemoliz ile eritrosit hücrelerinin hasar görmesine sebep olurlar (Day, 2010). IMHA, hemolitik anemiler içinde önemli bir yere sahiptir. İmmün aracılı hemolitik anemi, primer ya da sekonder olarak görülebilir. Sekonder IMHA'da enfeksiyöz ajanlar, neoplazi, aşı uygulamaları ya da ilaçlar gibi altta yatan bir nedene bağlı olarak meydana gelir. Primer IMHA'nın oluşumunun altında yatan bir hastalık, ilaç kullanımı ya da aşı uygulaması yoktur. Primer otoantikörler, hayvanın kendi eritrosit membranı antijenlerine karşı üretir ve gerçek otoimmün hemolitik anemi (AIHA) olarak adlandırılır. Sonuç olarak IMHA ve AIHA terimleri aynı değildir ve birbirleri yerine kullanılmamalıdır (Archer ve Mackin, 2013; Day, 2010).

**Hemorajik anemi;** eksternal veya internal kan kaybı sonucu gelişen anemi olup, bu tip anemi görülen köpeklerden alınan kan plazması berraktır. İnternal kan kaybında eritrositler vücut içerisinde parçalanır ve plazma proteinlerinde kayıp meydana gelmez bu yönüyle hemolitik anemiye taklit eder. Eksternal kan kaybında eritrositler ile birlikte plazma proteinlerinde de kayıp meydana gelir (Voigt ve Swist, 2011). Hipoproteinemi ya da rejeneratif anemi ile birlikte plazma protein seviyesinin normal ya da düşük olması eksternal kan kaybını işaret eder (Tvedten, 2010). Sağlıklı bir hayvanda akut, ölümcül olmayan kanamanın hemen ardından (yaklaşık 1 saate kadar), kan hacmindeki azalma kanın plazma ve

şekilli elemanları ile orantılı olduğu için hastanın HCT değeri veya hemoglobininde herhangi bir değişiklik tespit edilemez (Voigt ve Swist, 2011). Sonraki birkaç saat içinde, vücut kan hacmini eski haline getirmek için vücudun diğer bölümlerinden vasküler kanala sıvı aktarılır. Daha sonra genellikle rejeneratif bir yanıt (polikromazi, anizositoz, artmış eritrosit hücre dağılım genişliği (RDW), retikülositoz) gözlenir. Daha uzun süreli kanamalar rejeneratif veya nonrejeneratif olarak veya demir eksikliği anemisi ile uyumlu özelliklerle ortaya çıkabilir (Tvedten, 2022). Bu sıvının seyreltici etkisi ile HCT değeri, hemoglobin, RBC ve plazma proteininde düşüşe neden olur. Dalak veya kemik iliğinde depolanmış eritrositler serbest kalır. Böbrekler, düşük oksijen seviyesi sebebiyle kemik iliğinden eritropoetin salgılamasını uyarır. Eritrosit üretimi, dolaşımında en erken anlamlı sayıda yeni hücrenin görülmesinden önce 3-5 gün sürer. Tam iyileşme 2-3 hafta sürebilir (Voigt ve Swist, 2011). Gastrointestinal kanalda meydana gelen kanamada proteinin bir kısmı emilebilir ya da üreye dönüşebilir. Vücut akut kanamada eritrosit üretimi ve hemoglobin sentezi için gerekli olan demir deposuna sahiptir. Fakat kronik eksternal kanamada demir yönünden zengin olan hemoglobin kaybı nedeniyle vücuttaki demir depolarında azalma meydana gelir. Vücutta demir depolarının azalmasıyla eritrosit rejenerasyonu da azalır ve sonuç olarak demir eksikliği anemisi meydana gelir (Zachary, 2021).

### 2.3.3.2. Nonrejeneratif Anemiler

Nonrejeneratif anemiler, kemik iliğinde tüm hücre tiplerinin üretiminin azalması, eritrosit üretiminde azalma veya yetersiz eritropoez sonucu gelişir.

**Kemik iliğinde üretimin azalmasında**, azalan eritropoeze nötrofil ve trombosit üretimindeki azalma eşlik ederse anemi aplastik, sadece eritrosit üretiminde azalma varsa hipoplastik anemi olarak tanımlanır (Latimer ve Duncan, 2011; Olver, 2010; Tvedten, 2010; Thrall, 2012). Kronik yangı, kronik böbrek hastalıkları ve kemik iliği depresyonuna bağlı eritropoezde azalma, Hb veya DNA sentezi bozukluklarına bağlı defektif eritropoezis de nonrejeneratif anemiye neden olmaktadır (Voigt ve Swist, 2011).

**Sadece eritrosit üretimindeki azalma**, efektif RBC üretimindeki azalma ya da etkisiz eritropoez varlığında şekillenerek nonrejeneratif anemi görülebilir. RBC üretiminin azalmasının yaygın nedenleri arasında gıda alımının azalması veya malabsorbsiyon gibi bozukluklardan kaynaklanan eksiklikler (örneğin; Fe, B12, Folik asit) edinsel veya kalıtsal kemik iliği bozuklukları (örneğin; aplastik anemi veya malignitenin neden olduğu kemik iliği

infiltrasyonu), kemoterapi, ilaç veya diğer kemik iliği supresyon yöntemlerinin kullanılması ve tropik hormonların (örneğin; eritropoetin, tiroid hormonları, androjenler) düzeylerindeki azalma yer almaktadır (Kundrapu ve Noguez, 2018).

**Yetersiz eritropoezde;** eritropoezin azalması kemik iliğinden kaynaklanabileceği gibi kemik iliği dışındaki farklı problemlerden (örneğin; sistemik bir hastalık) de kaynaklanabilir. Kemik iliğinin eksternal hastalıklar tarafından baskılanmasının patogenezi multifaktöriyeldir. Demir kullanılabilirliği ve eritrosit üretimi azalmıştır. Bu nedenle anemiye karşı rejeneratif yanıt azalmıştır ve bu sürece sitokinler aracılık eder (Drobatz ve diğerleri, 2018; Waner ve Harrus, 2000). Anemi genellikle hafif şiddetlidir (HCT köpeklerde %30-36) ve altta yatan hastalığın klinik belirtileri genellikle baskındır. Buna karşılık, aplastik anemi, miyelodisplazi, miyeloproliferatif bozukluklar ve miyelofibrozis gibi kemik iliği hastalıkları, öncül kök hücrelerin ve/veya kemik iliği çevresinin hasar görmesinden kaynaklanır. Hastalığın erken evreleri genellikle granülositopeni ve trombositopeni ile karakterize olup, aneminin şiddeti hafiftir ya da hiç anemi görülmez. Nötropeni, kemik iliği hasarından 5-6 gün sonra, trombositopeni ise 8-10 gün sonra gelişir. Eritrositlerin yaşam sürelerinin uzun olması nedeniyle anemi genellikle hafiftir veya yoktur (Drobatz ve diğerleri, 2018; Weiss, 2000).

Köpeklerde anemilerin etiyopatogenezisi Tablo 4’de özetlenmiştir.

**Tablo 4.** Köpeklerde aneminin etiopatogenezi (Drobatz ve diğerleri, 2018; Mills, 2012; Tvedten, 2022).

	ANEMİ	NEDENLER	MEKANİZMA
TİPİ	KATEGORİSİ		
Nonrejeneratif Anemi	<b>Kemik iliği üretiminde azalma</b>	İlaçlar (sulfanamidler) Enfeksiyöz ajanlar (Ehrlichiosis, Leishmaniosis) Virusler Hormonlar (östrojen) Radyasyon Toksosite	Kemik iliği aplazisi (pansitopeni ya da bisitopeni)
		Miyelofibrozis Granulamatöz yangısal hastalıklar (histoplazmozis, milier tüberküloz) Kemik iliği neoplazmi, lökemi, metastaz (karsinoma, melanoma)	Miyelofitiz (pansitopeni ya da bisitopeni)
	<b>Eritrosit üretiminde azalma</b>	İmmun sistem kaynaklı	Eritrosit aplazisi
		Endokrin yetersizlik (hipotiroidizm, hiperöstrojenizm) Kronik renal yetmezlik	Eritropoetinde azalma ve sitokinlerin üretimi baskılaması
		Kronik parazitizm Kronik karaciğer hastalıkları Yangısal hastalığa bağlı anemi	Sitokinlerin üretimi baskılaması ve farklı kompleks mekanizmalar
	<b>Yetersiz eritropoezis</b>	Kurşun zehirlenmesi Folik asit, vitamin B12, kobalt ve faktör eksiklikleri (kemoterapi, sulfanamidler, antiepileptik ilaçlar)	Nükleotid sentezinde bozukluklar
Kurşun zehirlenmesi Cu <sup>+</sup> ve vitamin B6 eksiklikleri Fe <sup>+</sup> eksikliği anemisi (kronik kan kaybı, gastrointestinal hasar)		Hemoglobin sentezinde bozukluklar	
Rejeneratif Anemi	<b>Hemolitik Anemi</b>	Eritrosit membranındaki anormallikler, Eritrositlerdeki şekil bozuklukları Biyokimyasal bozukluklar (piruvat kinaz, fosfofruktokinaz, methemoglobin redüktaz eksiklikleri)	Eritrositlerdeki genetik hasarlar
		Enfeksiyöz ajanlar (babesiosis) Biyokimyasal farklılıklar (hipofosfatemi, Heinz cisimcikleri) Bakteriyel, hayvan ve bitki hemolizinleri (Clostridium haemolyticum, örümcek ve sinek venomları) Kimyasal hemolizinler (ağır metaller) İmmun kaynaklı hemolitik anemi Eritrositlerin mekanik hasarı	Eritrositlerdeki edinsel hasarlar
	<b>Hemorajik Anemi</b>	İç/dış paraziter enfestasyonları (kene, bit, pire, kancalı kurt enfestasyonu) Gastrointestinal veya ürogenital sistem kanamaları Travma (karaciğer, dalak rupturu, araba kazası) Anevrizma ya da neoplazm rupturu (hemangiosarkom) Operasyon Trombosit hasar ve eksiklikleri Koagulopati DIC	Kan kaybı

## 2.4. Aneminin Klinik Özellikleri

Anemi ile ilişkili klinik bulguların çoğu dokulara yeterli oksijen sağlanamamasından kaynaklanmaktadır. Sistemik doku hipoksisi kompenzasyon mekanizmaları ile kompanse edilemediğinde klinik bulgular ortaya çıkar. Anemi ilişkili klinik bulguların şiddeti, temel hastalığın seyrine göre değişebilmektedir (Thrall, 2012; Voigt ve Swist, 2011). Kemik iliği disfonksiyonu ve kronik kan kaybında meydana gelen klinik bulgulardan hipoksi dışındakiler kompanse edilebildiği için hafiftir. Buna karşın akut şiddetli anemide ya da anemi şiddetinin fazla olduğu durumlarda kompenzasyon mekanizmaları yetersiz kaldığı için akut gelişen kan kaybı ya da eritrosit yıkımına durumları ölüme neden olabilir (Harvey, 2010).

Aneminin hafif şiddette (HCT: %30-36) olduğu köpeklerde bariz bir klinik bulguya rastlanmazken, şiddetli anemik köpeklerde klinik bulgular daha belirgindir. Perakut ve akut gelişen orta-şiddetli anemilerde klinik bulgular belirgindir. Kronik kan kayıplarında doku hipoksisi aşamalı olarak gerçekleşir ve bu durum da hastanın HCT değerinin %15'in altına düşmeden aneminin belirlenmesini güçleştirir.



**Resim 1.** Anemili bir köpekte solgun ağız mukozası (Orijinal; Olgu No: 54).

Orta-şiddetli derecede anemik hastalarda anamnez verileri; güçsüzlük, letarji, anoreksi, kilo kaybı, eksersiz intoleransı veya sinkopu kapsar. Klinik belirtiler genellikle azalan

oksijenizasyon veya kompenzatorik mekanizmalarla ilişkilidir ve mukoz membranlarda solgunluk (Resim 1) ± sarılık, letarji, eksersiz intoleransı, kapillar dolum zamanının uzaması, taşipne veya dispne, taşikardi ve endokardial üfürümü kapsar (Drobatz ve diğerleri, 2018; Harvey, 2022; Voigt ve Swist, 2011). Hayvanda altta yatan sistemik bir hastalık olduğunda kilo kaybı, anoreksi, febris veya lenfadenopati gibi spesifik olmayan bulgular görülebilir. Fiziksel muayenede hemoraji, epistaksis, hematüri ve melena görülmesiyle veya kan emen ektoparazit varlığı ile belirlenir. Görülebilen mukozalar ikterik ve solgun olduğunda eritrositlerin hızlı yıkımlanmasından şüphelenilir. Hemolitik anemilerde şiddeti ile ilişkili olmak üzere, ortak fiziksel muayene bulgularına ikterus; intravasküler hemolizde hemoglobinüri; üriner sistem kaynaklı kanamalarda (piyelonefritis) hematuri eşlik edebilir (Thrall, 2012; Tvedten, 2022).

## 2.5. Anemilerde Laboratuvar Bulguları

Değerlendirmede ilk adım, hayvanda anemi olup olmadığını belirlemek ve varsa şiddetini değerlendirmektir (Tvedten, 2022). Hemogram ve kan biyokimya analizindeki parametre değişiklikleri aneminin şiddeti, nedeni ve hastalığın seyrini göstermektedir. Anemi varlığı ve şiddetinin belirlenmesi için rutin olarak tam kan sayımı yapılır ve bu kapsamda HCT değer, eritrosit sayısı ve Hb konsantrasyonu değerlendirilir (Tvedten, 2022).

Tam kan sayımı sonuçlarını etkileyen preanalitik (yaş, ırk, cinsiyet, örnek alım zamanı ve saklanması, antikoagulant tip ve miktarı vb.) ve analitik faktörlerin değerlendirmede dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır (Thrall, 2012; Tvedten, 2010; Jossel ve Allison, 2007). Bu preanalitik ve analitik hatalar HCT, Hb konsantrasyonu ve eritrosit sayısı arasında uyumsuzluğa neden olabilir. Örneğin tok hayvandan alınan kandaki lipemi MCHC değerini arttırabilir. Eritrositler EDTA içinde zamanla şişer, bu nedenle HCT ve MCV uzun süre beklemiş örneklerde artar ve yanlış sonuca neden olur. Fakat Hb konsantrasyonu değerinde sapmaya sebep olmaz. Heinz cisimcikleri eritrositleri daha kırılğan hale getirebilir, bu nedenle mikrohematokrit değer ölçümünde santrifüjünde parçalanarak HCT değerini düşürürler. Eritrositler parçalandıktan sonra süspansiyonda kalan Heinz cisimcikleri optik yoğunluğu artırır ve Hb konsantrasyonunu yanlış şekilde yükseltir (Tvedten, 2022).

Sağlıklı erişkin bir köpekte RBC:  $5.5-8.5 \times 10^6/uL$ ; HCT: 37-55 % ve Hb: 12-18 g/dL olarak kabul edilmektedir. Anemiyi belirlemek için değerlerin yorumlanırken hayvanın yaşı

ve ırkı da bilinmelidir. Çünkü tazı gibi büyük ırk köpeklerin HCT değeri normal ırklara göre %50-65 daha yüksektir. Herhangi bir anemi durumunda bu ırklardaki değerler normal köpek ırk referans aralıklarına düşer ve anemiyi gizler. Aynı şekilde yavru köpeklerde sağlıklı erişkin köpek değerlerinden daha düşüktür. Örneğin, 6 haftalık yavru bir köpeğin HCT değeri %26-30, retikülositleri %4,5 ve plazma proteini 5,0-5,6 g/dL olabilir (Tvedten, 2022). Yorumlama esnasında hastanın hidrasyon durumu da göz önünde bulundurulmalıdır. Hematokrit değer, aneminin ciddiyetini ancak hayvan normal hidrasyona ve kan hacmine kavuştuğunda yansıtır. Kan kaybından sonra kan hacminin normale dönmesi ve HCT değerinin aneminin ciddiyetini göstermesi 1-2 gün sürebilir (Ingram ve Coopersmith, 1969; Tvedten, 2022).

Demir eksikliği anemisinde olduğu gibi, bazı anemi tiplerinde eritrositlerin mikrositik olması nedeniyle, eritrosit sayısı referans değerlerde bulunurken, HCT ve Hb değerleri düşüktür (Tvedten, 2010). Bu nedenle anemi varlığının ortaya konulmasında eritrosit sayımı tek başına yeterli değildir. Eritrosit dağılım genişliği de, anizositozun göstergesi olup, artan RDW heterojen eritrosit popülasyonuna işaret eder ve Fe eksikliğinin erken tanısında kullanışlıdır (Thrall, 2012; Tvedten, 2020). Klasik sayımla ya da bazı kan sayım cihazlarında otomatik olarak belirlenebilen retikülosit sayısı, kemik iliğinin anemiye yanıtının objektif olarak değerlendirilmesini sağlar (Latimer ve Duncan, 2011). Tam kan sayımında total lökosit (WBC) ve trombosit (PLT) sayısı da aneminin etiyojisi konusunda ön fikir verir.

Periferik kan froti incelemesi, tam kan sayımı yanında aneminin değerlendirmesinde kullanılan temel laboratuvar analizidir. Değerlendirme, eritrositlerin özellikle büyüklüğü, rengi, şekli ve inklüzyonlar yönüyle yapılır (Latimer ve Duncan, 2011). Kemik iliğinin anemiye yanıtı, Giemsa veya May-Grünwald + Giemsa (Pappenheim) ile boyanan kan frotesinin rejenerasyonun göstergesi olan polikromazi, makrositler, bazofilik noktalama ve normoblast yönünden incelenmesi ile değerlendirilir (Thrall, 2012; Tvedten, 2010). Periferik kan frotesinde atipik veya yorumlanmayan genç hücreler görüldüğünde, nonrejeneratif aneminin nedeni belirlenemediğinde veya bisitopeni veya pansitopeni olgularında kemik iliği sitolojisi endikedir (Thrall, 2012; Tvedten, 2012).

Anemili bir hayvanda aneminin doğurduğu sonuçların serum biyokimyasal yansımaları prerenal veya renal azotemi, laktat konsantrasyonunda artış, O<sub>2</sub> saturasyonunda azalma ve potasyum konsantrasyonunda artışı içerir. Aneminin etiyojisine ve altta yatan temel hastalığın belirlenmesine yönelik spesifik laboratuvar testleri kullanılır. Bu testler, konulan şüpheli tanının teyidini veya reddini sağlar. Bu kapsamda hemorajik anemilerde flotasyon



yöntemi ile dışkının endoparazitler yönünden kontrolü, gastrointestinal kan kaybı şüphesinde dışkıda gizli kan aranması ve koagülasyon faktör eksikliklerinde koagülasyon testleri yapılır. Serum total protein (TP) konsantrasyonu ölçümü, hemorajik aneminin hemolitik anemiden ayırımında önemlidir (Thrall, 2012; Tvedten, 2010). Hemolitik anemilerde azalan HCT değere normal veya artan serum TP konsantrasyonu eşlik ederken, hemorajik anemilerde HCT değerindeki azalma ile orantılı serum TP konsantrasyonunda azalma daha olasıdır (Thrall, 2012; Tvedten, 2010). Hemolitik anemilerde, hemolizin intravasküler veya ekstravasküler olmasına göre, hastada hiperbilirubinemi, hemoglobinemi, hemoglobinuri ve bilirubinuri görülür (Latimer ve Duncan, 2011; Thrall, 2012; Tvedten, 2010).

Kronik yangı anemisine çoğunlukla hipoalbuminemi, hiperglobulinemi ve hiperfibrinojenemi eşlik eder. Bu nonrejeneratif anemide serum ferritin konsantrasyonu ve kemik iliği Fe miktarı normal-artmış, total demir bağlama kapasitesi normal-azalmış iken, Fe noksanlığı anemisinde serum ferritin konsantrasyonu ve kemik iliği Fe miktarı azalma, total demir bağlama kapasitesinde ise normal-artış saptanır (Harvey, 2008).

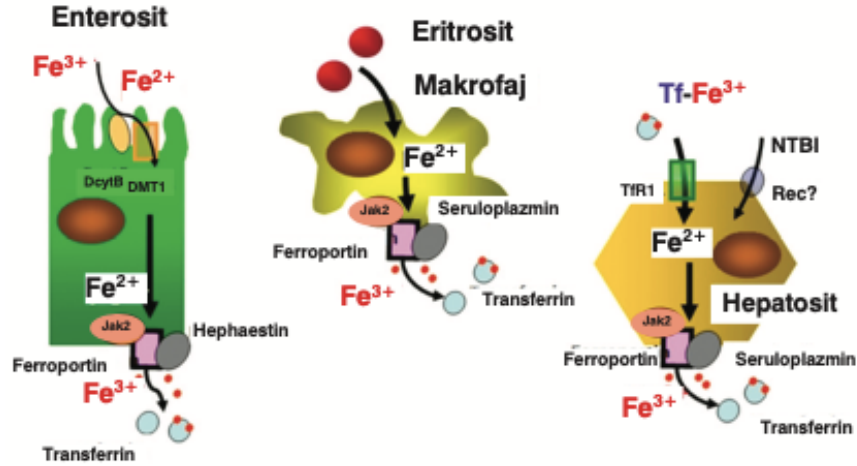
## 2.6. Demir Metabolizması

Demir, neredeyse tüm canlılar için gerekli bir elementtir. Demir alımı, kaybı veya düzenlenmesindeki bozukluklar, ciddi ve hatta yaşamı tehdit edici olabilen bir dizi klinik anormalliğe yol açabilir (McCown ve Specht, 2011).

Diyette bulunan ferri formundaki demir ( $Fe^{+3}$ ) iyonları, ferro demir ( $Fe^{+2}$ ) iyonlarına indirgenir ve duodenal enterositler tarafından emilir. Enterositlere alındıktan sonra  $Fe^{+2}$  oksitlenebilir ve ferritin olarak depolanabilir veya plazmaya gönderilebilir. Demirin enterositten plazmaya hareketi, bazolateral membran taşıma proteini ferroportin aracılığıyla gerçekleşir. Plazmaya girdikten sonra demir, çeşitli dokulara dağıtılmak üzere taşıma proteini transferrine bağlanır (Andrews, 2008; Harvey, 2008; Grimes ve diğerleri, 2012). Ferritin olarak depolanan demir, enterosit villusundan ince bağırsak lümenine geri döner (Şekil 3).

Demir, tüm dokularda birçok proteinin içeriğinde kullanılır fakat demirin çoğunluğu eritroid hücrelerde hemoglobin sentezlemek için gereklidir. Hemoglobin sentezi için  $Fe^{+3}$ 'ün,  $Fe^{+2}$ 'ye indirgenmesi gerekir. Yaşlı eritrositler makrofajlar tarafından fagosite edilir. Fagositoz sonucunda ortaya çıkan hemoglobin parçalanır sonrasında plazmaya geri dönebilir ya da makrofajlarda ferritin ve hemosiderin olarak depolanır (Harvey, 2008). Demir

metabolizmasının sistemik kontrolü, büyük ölçüde diyetten emilimi ve hücre içi demir depolarının mobilizasyonunu sınırlayarak demirin biyoyararlanımını azaltan bir hormon olan hepsidine bağlıdır (Grimes ve diğerleri, 2012).



Şekil 3. Demir dengesi (Evim ve diğerleri, 2012).

### 2.6.1. Demirin Fizyolojik Rolü

Demir; hemoglobin ve miyoglobin oluşumu, nörotransmitter ve miyelin üretimi, kolajen oluşumu, bağışıklık sistemi işlevi, enerji metabolizması, DNA ve RNA sentezi ve birçok enzim sistemi (örneğin; katalazlar, sitokromlar) dahil olmak üzere çeşitli biyokimyasal yolların ayrılmaz bir bileşenidir (Edison ve diğerleri, 2008; Lieu ve diğerleri, 2001; McCown ve Specht, 2011). Tüm hücreler demire ihtiyaç duyar, ancak demirin büyük çoğunluğu eritroid hücre öncülleri tarafından hemoglobin üretiminde kullanılır. Bu nedenle, vücuttaki demir miktarında azalma ile sonuçlanan demir homeostazındaki anormallikler anemiye sebep olur (McCown ve Specht, 2011).

### 2.6.2. Vücutta Dağılımı

Hayvanlarda 9-22 mg/kg, kanın ise 2 mL'inde yaklaşık 1 mg demir bulunur (Harvey, 1997; McCown ve Specht, 2011; Smith, 1997). Vücuttaki demir taşıma, fonksiyonel ve depo olmak üzere 3 farklı formda bulunur. Dolaşımda demir, plazma proteini transferrine bağlanır. Taşıma görevindeki demir toplam vücut demirinin %1'ini temsil eder. Hemoglobin,

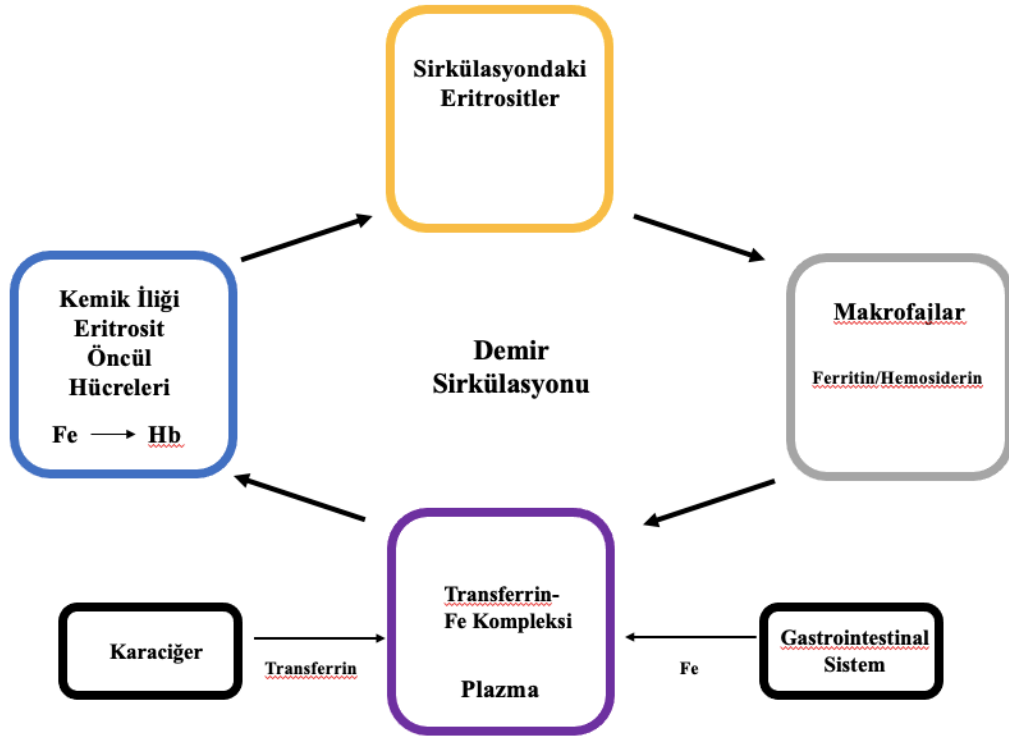
miyogloblin ve enzimlerdeki demir fonksiyonel formu temsil eder. Vücuttaki demirin üçte ikisinden fazlası olgun eritrositler ve eritroid öncüllerindeki hemoglobinde bulunur. İlave %10-15'lik bir kısım ise kastaki miyoglobinde ya da diğer dokulardaki enzim ve sitokromlarda bulunur. Vücutta kalan demir öncelikle hepatositlerde ve mononükleer fagosit sisteminin makrofajlarında depolanır (Andrews, 1999; McCown ve Specht, 2011). Hepatositler sadece demir depolamakla kalmaz, aynı zamanda hepsidin, transferrin ve demir homeostazında önemli olan diğer proteinleri de sentezler (Anderson ve Frazer, 2005; Grimes ve diğerleri, 2012; Rivera ve diğerleri, 2005). Vücutta karaciğerde depolanan demirin %95'i hepatositlerde ferritin olarak, kalan %5'lik demirin ise çoğunluğu Kupffer hücrelerinde hemosiderin olarak bulunur (Donovan ve diğerleri, 2006; McCwon, 2011).

### **2.6.3. Demir Regülasyonu**

Demir homeostazı; intestinal demir emiliminin sıkı bir şekilde düzenlenmesi, demirin eritropoezis için kullanılması, yaşlanan eritrositlerden demirin geri dönüşümü ve demirin hepatositler ve makrofajlar tarafından depolanması olmak üzere belli başlı durumlar ile sağlamaktadır. Bağırsaktan demirin emilimi diyetle alınan demir miktarına bağlıdır. Çünkü demir vücuttan aktif olarak atılmaz; vücuttaki toplam demir miktarı bağırsak emiliminin düzenlenmesi yoluyla kontrol edilir. Bu önemli bir kavramdır, çünkü aşırı demir yüklenmesi durumunda vücut demir atılımını düzenleyemez (Grimes ve diğerleri, 2012; Hentze ve diğerleri, 2010). Bu mekanizma "diyet düzenleyicisi" olarak adlandırılır (Andrew, 1999; Edison ve diğerleri, 2008; McCown ve Specht, 2011). Bir çalışmada büyümekte olan köpeklere diyetle demir verildikten sonraki birkaç gün boyunca duodenal enterositlerinin demir emilimine dirençli olduğu bildirilmiştir. Dolaşımdaki demir ile vücuttaki toplam demir "Depo düzenleyicisi" mekanizması ile düzenlenmektedir. Bu mekanizma enterositleri sonraki demir emilimi için programlamaktadır. Bir diğer düzenleyici olan "Eritropoetik düzenleyici" ise eritropoetik aktiviteye göre demir emilimini ayarlar. Eritropoetik düzenleyici, demir emilimini depo düzenleyiciden daha fazla arttırabilme yeteneğine sahiptir, bu da vücuttaki demirin çoğunluğunun eritropoezis için kullanıldığı düşünüldüğünde mantıklı bir durumdur (Andrews, 1999; McCown ve Specht, 2011). Bir "humoral hipoksi düzenleyicisi", akut hipoksi durumunda demir emiliminde bir artışa neden olur. Bu düzenleyicinin eritropoetik düzenleyiciden farklı olup olmadığı belirsizdir (McCown ve Specht, 2011). Son olarak, bir "enflamatuar düzenleyici" enfeksiyon ve/veya enflamasyon ortamında hücresel demirin

tutulmasını sağlar. Bu mekanizma demiri patojen mikroorganizmalardan uzak tutmaktadır (Andrews, 1999; Edison ve diğerleri, 2008; McCown ve Specht, 2011).

Plazmadaki demir, karaciğerde sentezlenen bir taşıma proteini olan transferrine bağlanır. Demir tüm dokulara transferrin ile taşınır, ancak demirin çoğu gelişmekte olan eritroid hücrelerde hemoglobin sentezinde kullanılmaktadır. Yaşlı eritrositler makrofajlar tarafından fagosite edilir ve hemoglobin parçalanır. Serbest kalan demir plazmaya geri dönebilir ya da makrofajlarda ferritin ve hemosiderin olarak depolanır (Şekil 4). Normal koşullar altında plazmadaki demirin neredeyse tamamı eritrositleri fagosite eden ve parçalayan makrofajlar tarafından salınan demirden gelir. Normal bireylerde plazmadaki demirin yalnızca yaklaşık %3'ü gastrointestinal (GI) kanaldaki enterositlerde meydana gelen Fe emiliminden ile sağlanmaktadır (Harvey, 2008). Demir metabolizmasının düzenlenmesi veya düzensizliği, demir eksikliği, kronik yangı anemisi, portosistemik şant, bakır eksikliği ve demir fazlalığı (örneğin; demir toksisitesi, diyetle aşırı demir yüklenmesi, hemolitik anemi) dahil olmak üzere birçok bozukluğun patofizyolojisinde önemlidir (Grimes ve diğerleri, 2012; Weiss ve Wardrop, 2011).



Şekil 4. Demir sirkülasyonu (Harvey, 2008).

#### 2.6.4. Demir Profiline Değerlendirilmesi

Demir profilinin değerlendirilmesinde serum demir parametreleri kullanılmaktadır (Tablo 5). Makrofajlardan plazmaya demir transferinin arttığı hemolitik anemi ve diseritropoezisli hayvanlarda (Harvey ve Smith, 1994; Smith, 1992; Stewart ve diğerleri, 1953; Weiss ve Lulich, 1999); plazmadan demir transferinin azaldığı, hipoplastik veya aplastik anemide (Lange ve diğerleri, 1976; Smith, 1992; Stokol ve Blue, 1999; Stokol ve diğerleri, 2000); aşırı demir yüklemesinde (Sprague ve diğerleri, 2003); glukokortikoidlerin uygulanmasını takiben köpeklerde (Adamama-Moraitou ve diğerleri, 2005; Harvey ve diğerleri, 1987); ve kronik hepatopati köpeklerde (Soubasis ve diğerleri, 2006) serum demir konsantrasyonu artmaktadır (Harvey, 2008). Serum demir konsantrasyonu hem demir eksikliğinde (Furugouri, 1972; Harvey ve diğerleri, 1987; Kolb, 1963; Mollerberg ve diğerleri, 1975; Weiser ve Kociba, 1983) hem de inflamasyonda (Feldman ve diğerleri, 1981; Kolb, 1963; Neumann, 2003) genellikle düşüktür (Andrews ve Smith, 2000; Harvey, 2008).

**Tablo 5.** Köpeklerde serum demir parametrelerinin referans değerleri (Harvey, 2008; Weeks ve diğerleri, 1988).

Analiz	Değerler
Demir ( $\mu\text{mol/L}$ )	5,9-26,3
TIBC ( $\mu\text{mol/L}$ )	50,5-69,1
Ferritin ( $\mu\text{g/L}$ )	80-800

Serum total toplam demir bağlama kapasitesi (TIBC), toplam serum transferrin (apotransferrin, monotransferrin, diferrik transferrin) konsantrasyonunun bir ölçüsüdür çünkü plazma demirinin önemsenmeyecek miktarı diğer proteinlere bağlı bulunmaktadır. TIBC, serum demiri ve serum latent demir bağlama kapasitesinin (LIBC) ölçülmesi ve bu değerlerin toplanmasıyla hesaplanır. Transferrinin demirle doygunluk yüzdesi, serum demir konsantrasyonunun TIBC'ye bölünmesi ve 100 ile çarpılmasıyla hesaplanır. Serum TIBC inflamatuvar bozukluklarla ilişkili olarak azalır (Feldman ve diğerleri, 1981; Harvey, 2008; Ottenjann ve diğerleri, 2006).

Serum demir konsantrasyonunun TIBC'ye oranı doygunluk yüzdesi (%Sat), Transferrin Saturasyonu (TS) olarak tanımlanır, TS genellikle %20 ile %50 arasındadır. Serum demir

konsantrasyonunu ve TIBC'yi etkileyen faktörler TS'nu da etkiler. TS'un %20'den daha düşük olması demir eksikliğini düşündürür. Hemokromatozis hastalarında %Sat tipik olarak %50'den yüksektir (Bohn, 2013). Büyümekte olan genç köpeklerde diyetle ilgili demir eksikliği anemisi üzerine yapılan deneysel bir çalışmada serum TIBC'de hafif bir artış bildirilmiş (Fry ve Kirk, 2006), doğal demir eksikliği anemisi olan köpeklerde ise serum TIBC'nin normal sınırlarda bulunmuştur (Weiser ve O'Grady, 1983). TIBC, aşırı demir yüklemesi olan bazı hayvanlarda (Sprague ve diğerleri, 2003) ve kronik hepatopati köpeklerde (Soubasis ve diğerleri, 2006) artabilir. Serum ferritin konsantrasyonu, insanlarda ve evcil hayvanlarda dokudaki demir depolarının göstergesidir (Weeks ve diğerleri, 1989). Kronik hemolitik anemisi (örneğin; piruvat kinaz ve fosfofrüktokinaz eksikliği) olan köpeklerde (Harvey ve Smith, 1994), malign histiyositoz (Newlands ve diğerleri, 1994) ve tekrarlanan kan transfüzyonuna bağlı hemokromatozda (Sprague ve diğerleri, 2003) bildirildiği gibi, vücuttaki depo demir miktarında meydana gelen artış sonucunda serum ferritin düzeyinde artış meydana gelmektedir. Demir eksikliği olan hayvanlarda serum ferritini azalır (Harvey ve diğerleri, 1987; Weeks ve diğerleri, 1990). Serum ferritini bir akut faz proteindir; dolayısıyla demir depolarının arttığı durumlara ek olarak inflamatuvar koşullarda da artması beklenir (Ottensmeyer ve diğerleri, 2006). Sonuç olarak, serum ferritin konsantrasyonu gerçek demir eksikliğini (serum ferritini düşüktür) inflamatuvar hastalık anemisinden (serum ferritini normal veya yüksektir) ayırt etmeye yardımcı olabilir. Eşlik eden inflamasyon mevcutsa ve kandaki ferritin konsantrasyonunda artışa neden olmuşsa gerçek demir eksikliğinin gözden kaçabileceği unutulmamalıdır.

Prusya mavisi boyası kemik iliğindeki hemosiderin depolarını değerlendirmek için kullanılır. Sütten yeni kesilen köpeklerin kemik iliği bu boyama yöntemi ile boyandığında boyanabilen demir miktarı ya azdır ya da hiç yoktur. Bu durum, emzirme döneminin sonunda vücuttaki demir depolarının azlığından kaynaklandığı düşünülmektedir (Fry ve Kirk, 2006). Kemik iliğindeki boyanabilir demir genellikle eritroid hücrelerin fagositozunun arttığı hemolitik anemi ve diseritropoezisli hayvanlarda (Canfield ve diğerleri, 1987; Holland ve diğerleri, 1991; Weiss ve Lulich, 1999) ve inflamatuvar hastalık anemisi de dahil olmak üzere eritrosit üretiminin azalmasından kaynaklanan anemili durumlarda artmaktadır (Feldman ve diğerleri, 1981).

Demir depoları (ferritin ve hemosiderin) çeşitli organlardaki hem olmayan demir konsantrasyonları ölçülerek doğrudan belirlenebilir. Tüm vücuttaki hem olmayan demir depolarının ölçülmesi arzu edilse de bu klinik olarak imkansızdır ve çoğu araştırmada pratik

değildir. Sonuç olarak, hem olmayan demir konsantrasyonu karaciğer ve dalakta belirlenir çünkü bu organlar büyük miktarlarda depolanmış demir içerir ve kolayca biyopsi yapılabilir (Harvey, 2008). Dokularda bulunan toplam demir miktarı ferritin ve hemosiderin olarak depolanan demire ek olarak hemoglobin, miyogloblin ve belirli enzimler de dahil olmak üzere hem içeren proteinleri kapsamaktadır (Smith, 1997). Hem olmayan demir depoları demir eksikliğinde azalır ve aşırı demir yükü olduğu durumlarda artar. Hem olmayan demir depoları, hemolitik anemisi olan hayvanlarda ve eritrosit üretiminin azalması sonucunda anemi meydana gelen hayvanlarda artmaktadır. Bu durumlar vücuttaki toplam demir miktarındaki artıştan ziyade normal dolaşımdaki eritrositlerde hemoglobinde bulunan hem demirin makrofajlarda ferritin ve hemosiderin olarak depolanan hem olmayan demire kaymasıyla ilişkilidir (Harvey, 2008).

## 2.7. Hepsidin

Hepsidin; 2000'li yıllarda karaciğerde sentezlendiği belirlenen, dolaşımda bulunan ve idrarla atılan bir peptid hormon olup, sistemik demir dengesinin ana düzenleyicisidir. Park ve diğerleri (2001), hepsidinin keşfi ve demir homeostazının araştırılmasına öncülük etmişlerdir. Belirtilen araştırmacılar, insanların çeşitli vücut sıvılarının antimikrobiyal özelliklerinin incelendiği bir çalışmada idrarda bulunan karaciğer kaynaklı (hep-) ve *in vitro* antibakteriyel özelliklere (-cidin) sahip olan yeni bir peptid bulmuştur ve bu peptidi hepsidin (hepatik bakterisidal protein) olarak adlandırmışlardır. Hepsidin antimikrobiyel peptid olarak keşfinden sonra sistemik demir hemostazındaki rolünü diyetle demir verilen farelerin karaciğerlerinde hepsidin mRNA'sının aşırı eksprese olması göstermiştir (Pigeon ve diğerleri, 2001). Hepsidin geninden yoksun farelerde demir yüklenmesi, karaciğer ve pankreasta demir birikimi gelişmiştir. Bunun aksine, karaciğere özgü bir promotörün kontrolü altında hepsidini aşırı eksprese eden farelerde şiddetli demir eksikliği anemisi gelişmiştir (McCown ve Specht, 2011; Nicolas ve diğerleri, 2001; Nicolas ve diğerleri, 2002). Tek doz sentetik hepsidin enjeksiyonu, farelerde sadece 1 saat içinde derin bir hipoferremiye neden olmuş ve bunun etkileri 72 saate kadar sürmüştür (McCown ve Specht, 2011; Rivera ve diğerleri, 2005). Deneysel olarak besinsel demir eksikliği anemisi oluşturulan köpeklerde hepatik hepsidin gen ekspresyonu belirgin şekilde azalmış ve hepatik transferrin reseptör gen ekspresyonu artmıştır (Fry ve diğerleri, 2009; Grimes ve diğerleri, 2012). Bu gelişmeler ışığında hepsidin, demir

metabolizmasının düzenlenmesindeki temel hormon olarak görülmektedir (Başol ve diğerleri, 2007; D'Angelo, 2013; Ganz ve diğerleri, 2008; Pagani ve diğerleri, 2019).

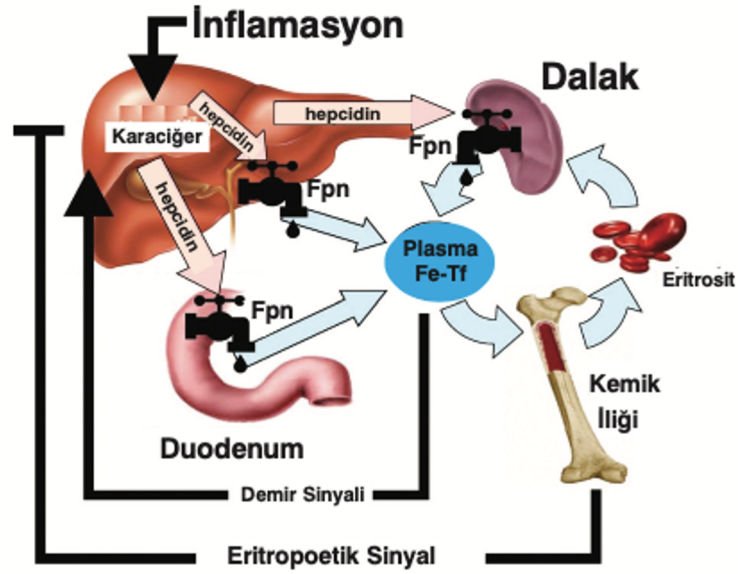
Hepsidin; ağırlıklı olarak karaciğerde hepatositler tarafından sentezlenir (Naigamwalla ve diğerleri, 2012) ve 20, 22 ya da biyolojik olarak aktif 25 amino asit içeren (Edison ve diğerleri, 2008; McCown ve Specht, 2011; Pagani ve diğerleri, 2019; Tvedten, 2022) formları belirlenmiştir ve bu formlar 84 aminoasit içeren pro-hepsidinden elde edilmiştir (Hunter ve diğerleri, 2002). Hepatositler hepsidin sentezinin birincil bölgeleridir ve fizyolojik koşullarda hepatik hepsidin ekspresyonu bir dizi protein tarafından düzenlenir. Bu proteinler hücre içi ve dışı demir konsantrasyonu, eritroid faktörler ve enflamatuar sitokinlere bağlı olarak hepsidin ekspresyonunu azaltır ya da artırırlar (Ganz, 2011; Grimes ve diğerleri, 2012; Zhang ve Enns, 2009). Ayrıca hepsidinin az miktarda inflamatuvar monositler ve makrofajlar tarafından da üretildiği bilinmektedir (Edison ve diğerleri, 2008; McCown ve Specht, 2011). Bazı araştırmalar, hepsidinin böbrek tübüllerinden de sentezlenebileceğini öne sürmektedir (Kulaksız ve diğerleri, 2005; McCwon, 2011). Küçük boyutu (kabaca 2,8 kDa) nedeniyle, hepsidinin böbrekler tarafından süzülmesi düşünülmektedir (Dallalio ve diğerleri, 2006; McCwon, 2011).

Hepsidinin birincil rolü plazmadaki demir miktarını azaltmaktır (Grimes ve diğerleri 2012). Antimikrobiyel etki olarak hepsidin bakterilerin üremesi ve patojenik etki oluşturabilmeleri için gerekli olan Fe seviyesinin sınırlı tutularak doğal bir bağışıklık sağlar (Bullen, 1981). Bu yönü ile bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. Bakteriyel enfeksiyonlarda kandaki Fe seviyesi, Fe'in doku ve hücrelerde tutulması ile düşürülür, bu savunma sisteminin temel düzenleyicisi hepsidindir (Ganz, 2003). Hepsidin ekspresyonu hücre içi ve hücre dışı demir depoları, eritropoetik aktivite ve yangısal durum ile düzenlenir. Hepsidin, intestinal demir emilimi ve makrofaj ile hepatositlerde depolanmış demirin salınımını kısıtlayarak hücrelerden plazmaya *in vivo* olarak demir akışını azaltır. Hepsidin bu etkilerini spesifik reseptör proteini olan ferroportin ile etkileşime girerek gerçekleştirir (Ganz, 2011; Ganz ve Nemeth, 2011; Grimes ve diğerleri, 2012; Hentze ve diğerler, 2010; Nemeth ve diğerleri, 2004). Ferroportin, demir transferinin düzenlenmesinde en önemli moleküldür ve enterositler, makrofajlar, hepatositler, plasental trofoblastların yüzeyinde bulunur (Başol ve diğerleri, 2007; McCown ve Specht, 2011; Nemeth ve Ganz, 2006; Rossi, 2005). Hepsidin ile ferroportin etkileşime geçerek ferröz demirin membranlar arasındaki geçişi sağlanır (Nemeth ve diğerleri, 2004; Tvedten, 2022). Oluşan hepsidin-ferroportin kompleksi lizozomlar içerisinde parçalanır ve patojen mikroorganizmaların



kullanabileceği Fe (Andrews, 2008; McCown ve Specht, 2011; Singh ve diğerleri, 2011) hücreler (hepatosit, makrofaj, enterosit) içerisinde kalır. Bu mekanizma sonucunda intestinal Fe Emilimi ve plazmadaki Fe seviyesinde azalma meydana gelir. Bu mekanizma, yangı ve inflamasyon durumlarında hepsidin tarafından sağlanır (Ganz, 2003; Tvedten, 2022).

Demir, organizmalar için yaşamsal faaliyetler ve biyokimyasal reaksiyonlar için gerekli, dengede tutulması gereken bir bileşendir. Hepsidin, temel olarak duodenumdan diyetle demir absorpsiyonunu, makrofajlardan geri kazanılan demirin alınmasını ve hepatositlerden depolanmış demirin salınmasını engelleyerek demir homeostazisini sağlar (D'Angelo, 2013; Ganz ve Nemeth, 2012; Nemeth ve diğerleri, 2003; Nicolas ve diğerleri, 2002; Park ve diğerleri, 2001; Singh ve diğerleri, 2011; Jordan ve diğerleri, 2009; Weinstein ve diğerleri, 2002; Şekil 5). Hepsidin mRNA'sı vücuttaki Fe seviyesi ile orantılı olarak değişmektedir; vücuttaki Fe seviyesinin arttığı durumlarda hepsidin konsantrasyonunda azalma meydana gelir (Nemeth ve Ganz, 2009; Pigeon diğerleri, 2001). Hepsidin, vücuttaki demir depolarının korunmasını sağlayarak eritropoezis için gerekli olan Fe'i temin eder (Singh ve diğerleri, 2011). Vücuttaki demir depoları yeterli ya da yüksek olduğu durumlarda karaciğerden hepsidin sentezi artırılarak intestinal kanalda ferroportin-hepsidin kompleksi oluşturulur ve Fe'in enterositlerden plazmaya taşınması engellenir. Demir depolarının yeterli olmadığı durumlarda ise hepsidin konsantrasyonu azalarak Fe'in enterositlerden plazma transferrinine aktarılması (Franchini ve diğerleri, 2010; Ganz ve Nemeth, 2011; Naigamwalla ve diğerleri, 2012; Nemeth ve Ganz, 2009; Singh ve diğerleri, 2011) ve dolayısıyla demirin plazmaya girmesi sağlanır (D'Angelo, 2013; Ganz ve Nemeth, 2012; Pagani ve diğerleri, 2019; Pak ve diğerleri, 2006; Ramos ve diğerleri, 2011). Eritropoietik öncüller hepsidin üretimi ile ilişkilidir ve bu hücreler vücutta demirin kullanıldığı birincil alan olduğu için aralarındaki bu ilişki anlamlıdır (Grimes ve diğerleri, 2012; Pak ve diğerleri, 2006). Bu nedenle etkili eritropoietik aktivite vücuttaki yeterli demir miktarına bağlıdır. Eritropoez ile hepsidin sentezinin azalması arasındaki mekanizma kesin olarak bilinmemekle birlikte, hipoksi veya eritropoietin gibi eritropoezi indükleyen faktörlerden ziyade kemik iliği aktivitesi (eritropoezis) ile daha doğrudan ilişkili olduğu görülmektedir (Ganz, 2011; Grimes ve diğerleri, 2012; Hentze ve diğerleri, 2010). Eritropoezis uyarıldığında, eritroid hücrelerden hepatositler tarafından hepsidin üretimini azaltmak için GDF11, GDF15, TWSG1 ve ERFE gibi uyarıcı bileşenler salgılanır, böylece eritropoezide kullanılmak üzere bağırsaktan demir Emilimi engellenir, dalak ve karaciğerden demir salınımı artırılır ve dolaşımdaki demir miktarı yükselir (Wang ve diğerleri, 2017).



**Şekil 5.** Karaciğerden hepcidin sentezi ve ve demir metabolizmasındaki rolü (Evim ve diğerleri, 2012; Subha Palaneeswari ve diğerleri, 2013).

Hepsidin keşfinden çok önce, yangısal durumlarda demirin vücutta sınırlandırılması evrimsel adaptasyon olarak kabul edilmiştir (Ganz ve Nemeth, 2009; Grimes ve diğerleri, 2012; Theurl ve diğerleri, 2009). Hepsidin keşfinden sonra yangı anemisinin mekanizması açığa kavuşturulmuştur. Hepsidin bir akut faz proteinidir (Nemeth ve diğerleri, 2003) ve hem akut hem de kronik sistemik yangısal ve enfeksiyon gibi eritropoezisin baskılandığı durumlarda serum hepcidin konsantrasyonu artmaktadır (Grimes ve diğerleri, 2012; Kemna ve diğerleri, 2005; Theurl ve diğerleri, 2009). İnterlökin 1 ve 6 (IL-1 ve IL-6) hepcidin transkripsiyonunu düzenleyen inflamatuvar sitokinlerdir (Hentze ve diğerleri, 2010; Lee ve diğerleri, 2005); lipopolisakkarit (LPS) de aynı şekilde hepcidin üretimini indükler (Ganz, 2011); ve diğer inflamatuvar sitokinlerin ve moleküllerin de benzer etkileri olabilir (Grimes ve diğerleri, 2012). Artan hepcidin konsantrasyonu sonucunda hipoferremi meydana gelir (Donovan ve diğerleri, 2006; D'Angelo, 2013; Grimes ve diğerleri, 2012; McCown ve Specht, 2011; Nemeth ve Ganz, 2006; Pagani ve diğerleri, 2019; Peyssonau ve diğerleri, 2006) ve bu durum yangısal hastalıkların erken dönemlerinde görülür. Enfeksiyon ve yangı durumlarında meydana gelen hipoferremi eritropoezis için gerekli Fe'in azalmasına sebep olur dolayısıyla demir eksikliği anemisi oluşur (Camaschella ve Nai, 2016; Ganz ve Nemeth 2012; Grimes ve diğerleri, 2012; Pagani ve diğerleri, 2019). Subakut ya da kronik enfeksiyonlar, enflamatuvar durumlar ya da neoplastik hastalıklarda kronik hastalık anemisi görülür. Etiyolojisi nedeniyle enflamasyon anemisi olarak adlandırılır (Santosh ve diğerleri, 2015; Toprak ve Aslan Karaoğlu, 2016; Zarychanski ve Houston, 2008). Kemik iliğinin

baskılanmasına neden olan, kemik dokuya metastaz yapan ya da böbrekten eritropoetin sentezini engelleyen IL-1, IL-6, tümör nekrozis faktör (TNF- $\alpha$ ) ve interferon (INF- $\gamma$ ) gibi sitokinlerin üretimi ya da eritosit öncül hücreleri üzerinde etki gösteren inhibisyonu ile demir retiküloendotelial sistem, gastrointestinal sistem ve hepatositlerde birikir bu bir dizi reaksiyon kronik hastalık anemisinin mekanizmasını oluşturur (Toprak ve Aslan Karaoğlu, 2016). İnsanlarda yapılan bir çalışmada IL-6 infüzyonu sonrasında gerçekleşen hepsidin atılımının saatler içerisinde 7,5 kat arttığını ve bu durumun Fe seviyesinde %30'luk bir azalmayla beraber meydana geldiğini göstermiştir. Farelere yapılan bir çalışmada subkutan terebentin enjeksiyonu sonrasında oluşan yangı ile farelerdeki Fe seviyesinin azaldığı gösterilmiştir. Hepsidin ve IL-6 bulunmayan farelerde ise bu cevapların görülmediği belirtilmiştir (Ganz, 2003).

Günümüzde hepsidin ölçümü için en iyi test yöntemi konusunda bir fikir birliği yoktur. İnsanlarda rutin kullanım için standart testlerin olmadığı ancak serum hepsidin konsantrasyonunu ölçümü için birkaç immünoassay yöntem geliştirildiği ve değerlendirildiği rapor edilmektedir (Ganz ve diğerleri, 2008; Grimes ve diğerleri, 2012). Bunlardan bir veya daha fazlasının klinik uygulama için tercih edilen yöntem(ler) olarak ortaya çıkması muhtemel görünmektedir. Hepsidin proteinin küçük boyutu ve türler arasındaki homojenliğinin yüksek olması, sınırlı antijenik olmasının yararlı antikorların geliştirilmesini zorlaştırması (Malyszko, 2009); plazmadaki düşük konsantrasyonu ve plazmadan hızlı klerensi (Malyszko, 2009) nedeniyle laboratuvarında değerlendirilmesi zordur (Kroot ve diğerleri, 2009). Bazı araştırmacılar hepsidin biyolojik olarak aktif formu olan 25 aminoasitlik peptidin daha büyük öncüsü olan prohepsidin serum konsantrasyonunu ölçen enzime bağlı immünosorbent testi ELISA kullanmıştır (Grimes ve diğerleri, 2012; Sasu ve diğerleri, 2010). Ancak prohepsidin serumda kararsız bir analit olarak görüldüğünden ve seviyeleri idrar ve serum hepsidiniyle korelasyon göstermediğinden, bu verilerin uygunluğu tartışmalıdır. Aynı zamanda serumdaki hepsidin konsantrasyonunu ölçmek için kullanılan yöntemler arasında kütle spektrometresi (Castagna ve diğerleri, 2008) ve immünoassaylere dayalı testler yer almaktadır (Ganz ve diğerleri, 2008; Grimes ve diğerleri, 2012). Vizi ve diğerleri (2020, 2023), köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonunun sıvı kromatografisi kütle spektrometresi ile ölçümünü tanımlamışlardır.

Serum hepsidin konsantrasyonu ölçümü, demirle ilişkili bozuklukların tanısında ferritin ve diğer testlere tamamlayıcı veya faydalı bir alternatif olarak görülmektedir. Bu kapsamda yangısal durumlar ve ihtiyacın arttığı durumlarda hepsidin ve ferritin aynı yönde değişim

gösterir ancak hepsidin konsantrasyonundaki değişim feritin konsantrasyonundaki değişimden daha hızlıdır (Bohn, 2013). Serum hepsidin konsantrasyonları inflamasyon anemisi ile gerçek demir eksikliği anemisini ayırt etmeye yardımcı olabilir. Gerçek demir eksikliğinden kaynaklanan anemide serum hepsidin konsantrasyonundaki azalma, demir depolarındaki azalma ile ilişkiliyken, yangısal anemide depo demir seviyerleri yeterli olmasına rağmen artan serum hepsidin konsantrasyonu ile ilişkilidir (Ganz ve Nemeth, 2011; Grimes ve diğerleri, 2012).

Hepsidin agonistleri, hepsidin eksikliği ile ilişkili hastalıklarda aşırı demir yükünün tedavisinde ve önlenmesinde potansiyel kullanım için araştırılmaktadır (Ganz, 2011; Ganz ve Nemeth, 2011). Bu durumun aksine, hepsidin üretimini azaltan, hepsidini nötralize eden, ferroportin tarafından hepsidin bağlanmasını engelleyen veya ferroportin internalizasyonunu inhibe eden ajanlar, demir kısıtlı anemilerin tedavisinde yararlı olabilir (Ganz ve Nemeth, 2011).

## **2.8. Demir Metabolizma Bozukluklarında Profil**

Demir metabolizması ile ilişkili hastalıklar ya aşırı ya da yetersiz demir varlığı ile ilişkilidir. Bu durum, toplam demir miktarından ya da demirin fizyolojik kullanılabilirliğindeki değişikliklerden kaynaklanabilir (Bohn, 2013). Ticari diyetle beslenen yetişkin bir hayvanda demirin depolarının tükenmesinin tek sebebi kronik kan kaybıdır. Bu durum çoğunlukla gastrointestinal kanama (örneğin leiomyom, leiomyosarkom ve karsinom gibi kanamaya neden olan tümörler veya kortikosteroidler ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar gibi ülserojenik ilaçlardan kaynaklanan gastrik ülserasyon) ile ilişkilidir. Ektoparazitler (pireler) ve endoparazitler (kancalı kurtlar vb.) de özellikle yavru köpeklerde demir eksikliğine neden olabilir. Üriner sistem de kronik kan kaybının başka bir sebebi olabilir. Nadiren, koagülopatiler bu bölgelerden kronik kan kaybına yol açabilir. Vücuttaki demir depoları tükendiğinde, eritropoezis için daha az kullanılabilir hale gelir ve anemi ile sonuçlanır (Bohn, 2013).

Demir eksikliği; depo demir eksikliği, demir eksikliğine bağlı bozulan eritropoezis ve demir eksikliği anemisi olarak birbirini takip eden üç safhada gelişir ve tanımlanır. Evcil hayvanlarda demir eksikliği genellikle mikrositik anemi ile ortaya çıkana kadar fark edilmez. Demir eksikliği, bağırsakta yetersiz demir emiliminden (emziren hayvanlar dışında nadirdir)

veya kanama ve buna bağlı olarak vücuttan demir kaybından kaynaklanır (Harvey, 2008; Tablo 6).

**Tablo 6.** Demir eksikliğinin safhaları ve biyobelirteçleri (Harvey, 2008; Hastka ve diğerleri, 1994).

<b>Analiz</b>	<b>Demir Eksikliği</b>	<b>Demire Bağlı Bozulan Eritropoezis</b>	<b>Demir Eksikliği Anemisi</b>
<b>Kemik İliğindeki Demir</b>	Azalmış	Azalmış	Azalmış
<b>Serum Ferritin</b>	Azalmış	Azalmış	Azalmış
<b>Serum Demir</b>	Normal	Azalmış	Azalmış
<b>Transferrin Saturasyonu</b>	Normal	Azalmış	Azalmış
<b>Kandaki Hemoglobin</b>	Normal	Normal	Azalmış
<b>Eritrosit Hacmi</b>	Normal	Normal	Azalmış

Demir eksikliği anemisi ile ilişkili klinik belirtiler arasında soluk mukoz membranlar, uyuşukluk, halsizlik ve kilo kaybı veya büyüme geriliği yer alır. Bu belirtiler sadece hemoglobin sentezinin azalmasından değil, aynı zamanda miyogloblin, sitokromlar, sitrik asit döngüsü enzimleri ve diğer hem ve hem olmayan demir içeren enzimler ve demir içeren proteinlerdeki eksikliklerden kaynaklanır (Harvey, 2008; Kolb, 1963; Smith, 1997). Demir eksikliği anemisinin nedenine ve eşlik eden diğer bozuklukların varlığına bağlı olarak ishal, dermatit, hematüri, hematokezya ve melena gibi belirtiler görülebilir. Demir eksikliği olan hayvanlar, bağışıklığın azalması nedeniyle enfeksiyonlara karşı daha hassastır (Harvey, 2008; Kolb, 1963).

Demir eksikliği ile ilişkili beklenen bulgular arasında serum demir ve ferritin konsantrasyonlarında azalma, normal veya artmış TIBC ve düşük %Sat (serum demir konsantrasyonunun /TIBC = Transferin Doyumu/Saturasyonu (Tablo 7).

**Tablo 7.** Demir metabolizması bozukluklarında kandaki değerler (Harvey, 2008).

Hastalık	Serum Demiri	TIBC	%Sat	Ferritin	Kemik İliğindeki Demir	MCV	MCHC	Hepsidin Konsantrasyonu
<b>Demir Eksikliği Anemisi</b>	D	N/Y	D	D	D	D	N/D	D
<b>Kronik Hastalık/Yangı Anemisi</b>	D	N/D	N/D	N/Y	Y	N	N	Y
<b>Akut İnflamasyon</b>	D	N/D	N/D	N/Y	N	N	N	Y
<b>Hemolitik Anemi</b>	Y	N/D	Y	Y	N	N/Y	N/D	D
<b>Portosistemik Şant</b>	D	N/D	N/D	N/Y	N	D	D	?
<b>Akut Demir Toksikasyonu</b>	Y	N	Y	N	N	N	N	Y
<b>Hemokromatoz</b>	Y	D	Y	Y	Y	N	N	Y

D: Düşük Değer Y: Yüksek Değer N: Normal Değer ?: Bilinmeyen Değer

Serum hepsidin konsantrasyonundaki değişiklikler birkaç saat içinde gerçekleşirken, ferritindeki değişiklikler daha yavaştır (Kemna ve diğerleri, 2005), bu da hepsidini demir durumunun "gerçek zamanlı" bir belirteci haline getirir. Serum demiri, demir eksikliği olmayan hayvanlarda, özellikle de inflamasyon mevcut olduğunda genellikle düşüktür. Ferritin konsantrasyonu, inflamatuvar bir süreç mevcutsa demir eksikliği karşısında normal sınırlar içinde olabilir. Demir eksikliği anemisi genellikle tam kan sayımında mikrositoz veya hipokromazi görülene kadar fark edilmez (Bohn, 2013).

## 2.9. Köpeklerde Önceki Hepsidin Çalışmaları

Demir metabolizmasının düzenlenmesinin temel aracı olan hepsidin hormonu köpeklerde sınırlı sayıda çalışmada değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar Tablo 8'de özetlenmiştir.

**Tablo 8.** Köpeklerde önceki hepsidin çalışmaları.

Araştırmacı	Çalışmanın Amacı	Hayvan Materyali	Hayvan Sayısı (n)	Serum/Plazma Hepsidin Konsantrasyonu (ng/mL)	Çalışma Sonucu
Fry ve diğerleri, 2004	Köpek hepsidin genini klonlamak ve dizinlemektir.	Başka bir çalışma sonucu ötenazi uygulanan bir köpek.	1	Çalışmada hepsidin konsantrasyonu ölçümü yapılmamıştır (n=1).	Çalışmada köpek hepsidini ile insan hepsidininin homolog olduğu, köpeklerde de insanlarda olduğu gibi hepsidinin ağırlıklı olarak karaciğerden sentezlendiği sonucuna varılmıştır.
Frowde ve diğerleri, 2014	Konjenital Portosistemik Şanlı köpeklerin cerrahi müdahalesi sonrası RBC, MCV değerlerinde görülen artış ile hepatik hepsidin mRNA ekspresyonunun değişimi	Konjenital Portosistemik Şanlı köpek	18	Çalışmada hepsidin konsantrasyonu ölçülmemiş, hepatik hepsidin mRNA ekspresyon ölçümü gerçekleştirilmiştir.	RBC ve MCV değerlerinde operasyon öncesine göre anlamlı artış belirlenmiş, hepatik hepsidin mRNA ekspresyonunda ise anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir.
Şahinduran ve diğerleri, 2016	Sağlıklı köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonu ile parvoviral gastroenteritisli (CPVE) köpeklerde tedavi sürecinde enflamatuar mediatörler ve serum hepsidin konsantrasyonlarındaki değişimler	Parvoviral gastroenteritisli yavru köpek	15 sağlıklı ve 20 parvoviral gastroenteritli köpek	Sağlıklı Köpekler (n=15): 14.35±16.28 ng/mL; CPVE'li Köpekler (n=20): 0. Gün: 52.62±32.09 ng/mL	Sağlıklı köpeklere göre CPVE köpeklerde tedavi öncesi (0. Gün) serum hepsidin ve akut faz protein konsantrasyonu yüksek bulunmuş, tedavinin farklı günlerinde ilgili parametrelerde anlamlı azalmalar belirlenmiştir. Ayrıca sağlıklı köpeklerde hepsidin ve Fe konsantrasyon tedavi grubuna paralel günlerde alınan örneklerde negatif veya pozitif ilişkiler saptanmış, cinsiyetin serum hepsidin konsantrasyonunu etkilemediği belirtilmiştir.

**Tablo 8.** Köpeklerde önceki hepsidin çalışmaları (devam).

Araştırmacı	Çalışmanın Amacı	Hayvan Materyali	Hayvan Sayısı (n)	Serum/Plazma Hepsidin Konsantrasyonu (ng/mL)	Çalışma Sonucu
Salem ve diğerleri, 2018	Canine Parvoviral Enteritli köpeklerdeki klinik-patolojik parametrelerdeki değişikliklerin yanı sıra serum hepsidin seviyesindeki değişiklikler	Canine Parvoviral Enteritli köpek	5 sağlıklı ve 13 Canine Parvoviral Gastroenteritli köpek	Sağlıklı Köpekler (n=5) 10,895±1,712 ng/mL  Parvoviral Enteritisli Köpekler (n=13) 30,615±4,035 ng/mL	Canine Parvoviral Enteritli köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonunun anemi, lökopeni ve protein seviyesinde azalma ile birlikte yükselme eğiliminde olduğu sonucuna varılmıştır.
Deniz ve Şahinduran, 2020	<i>Anaplasma phagocytophilum</i> seropozitif köpeklerde serum hepsidin ve bazı hematolojik parametreler arasındaki ilişkileri değerlendirmek ve hepsidin bir biyobelirteç olarak kullanımını belirleme.	<i>Anaplasma phagocytophilum</i> seropozitif 20 ve kontrol grubu olarak 10 sağlıklı köpek.	<i>Anaplasma phagocytophilum</i> seropozitif 20 ve sağlıklı 10 köpek.	Sağlıklı Köpekler (n=10): 11,83±3,09 ng/mL;  Hasta köpekler (n=20) 36,16±12,99 ng/mL	Sağlıklı kontrol grubuna göre, <i>Anaplasma phagocytophilum</i> pozitif grubun serum hepsidin konsantrasyonunun yüksek olduğu, diğer parametrelerle birlikte serum hepsidin konsantrasyonunun enfeksiyonun tanısında biyobelirteç olarak kullanılabileceği kanısına varılmıştır.



**Tablo 8.** Köpeklerde önceki hepsidin çalışmaları (devam).

Araştırmacı	Çalışmanın Amacı	Hayvan Materyali	Hayvan Sayısı (n)	Serum/Plazma Hepsidin Konsantrasyonu (ng/mL)	Çalışma Sonucu
Vizi ve diğerleri, 2020	Altın standart kabul edilen sıvı kromatografisi/tandem kütle spektrofotometresi (LC-MS/MS) kullanılarak sağlıklı köpeklerde serum hepsidinkonsantrasyonunun belirlenmesi	25 farklı ırktan toplam 86 sağlıklı köpek	86 sağlıklı köpek	Sağlıklı Köpekler (n=86) Ortalama 16,6 ± 7,7 ng/mL	Cinsiyetin serum hepsidin konsantrasyonuna etkisinin olmadığı, farklı vücut ağırlıkları ve yaş gruplarının serum hepsidin değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Serum hepsidin konsantrasyonu ile demir konsantrasyonları, demir bağlama kapasiteleri, eritrosit sayıları, hemoglobin konsantrasyonları, MCV, MCHC ve CRP konsantrasyonları arasında herhangi bir korelasyon tespit edilememiştir.
Vizi ve diğerleri, 2023	Köpek hepsidin-25'in birden fazla izoformunun olup olmadığı incelenmesi.	Akut/kronik yangısı bulunan farklı hastalıklı 47 ve sağlıklı 25 köpek	47 hasta, 25 sağlıklı köpek	Sağlıklı Köpekler (n=25) Ortalama 79,8 ng/mL; Akut Renal Yetmezlik Bulunan Köpeklerde (n=4) Ortalama 143.9 ng/mL;  Kronik Renal Yetmezlik Bulunan Köpekler (n=9) Ortalama 97,8 ng/mL; Sistitli Köpek (n=2) Ortalama 161,4 ng/mL; rtosistemik Şanlı Köpekler (n=9) Ortalama 126,1 ng/mL; Pyometralı Köpekler (n=10) Ortalama 133,3 ng/mL; Çeşitli Hastalıklara Sahip Köpekler (n=13) Ortalama 122,1 ng/mL	Köpeklerde hepsidin-25α ve hepsidin-25β olarak adlandırılan iki farklı hepsidin-25 molekülü sentezlendiği ve bunların ortalama serum konsantrasyonlarının sırasıyla 28,1 ± 2,1 ng/mL ve 51,6 ± 3,4 ng/mL olduğu belirlenmiştir. Anlamlı korelasyon, her iki molekülün de köpekler tarafından birlikte sentezlendiğini göstermektedir. Akut veya kronik enflamasyonun varlığı, köpeklerde hem serum hepsidin-25α hem de hepsidin-25β konsantrasyonunda istatistiksel anlamlı bir artışa neden olmaktadır (P<0.0005).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun (ADÜ – HADYEK) 29.09.2021 tarihi ve **64583101 / 2021 / 128** sayılı iznine dayanarak gerçekleştirildi (Ek 1).

#### 3.1. Hayvan Materyali

Çalışmanın hayvan materyalini Haziran 2022 - Mayıs 2023 tarihleri arasında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Poliklinikleri'ne getirilen 20 sağlıklı ve 60 farklı hastalıklı anemik, 6 ay-13 yıl yaş aralığında, farklı ırklardan ve her iki cinsiyetten olmak üzere toplam 80 köpek oluşturdu. Araştırmaya dahil edilen 60 anemili köpekten, orta şiddette anemili 12 ve hafif şiddette anemili bir köpeğin uç/aykırı serum hepsidin konsantrasyonlarına sahip olması nedeniyle, çalışma 47 anemili köpek ve 20 sağlıklı köpeğin değerleri üzerinden gerçekleştirildi. Çalışmada değerlendirilen her bir köpek için hasta sahiplerinden onay alındı ve “Bilgi Onam Formu” (Ek 2) imzalatıldı. Tüm köpeklerin eşkâlleri, sağlık durumları kaydedildi (Ek 3). Köpeklerin 31'i (%46) erkek, 36'sı (%54) dişi, 47'si (%70) saf ve 20'si (%30) melez ırktı. Çalışmaya dâhil edilen köpeklerin tanımlayıcı özellikleri Tablo 9'da sunuldu.

**Tablo 9.** Köpeklerin tanımlayıcı özellikleri.

Köpek No	İrk	Yaş (ay/yıl)	Cinsiyet	Köpek No	İrk	Yaş (ay/yıl)	Cinsiyet
1	Kangal	3 Yaş	Dişi	7	Melez	9 Yaş	Erkek
2	Pug	11 Ay	Dişi	8	Melez	7 Yaş	Erkek
3	Golden Retriever	7 Yaş	Erkek	9	Kangal	7 Yaş	Dişi
4	Maltese Terrier	1 Yaş	Erkek	10	Cocker Spaniel	10 Yaş	Dişi
5	Cocker Spaniel	13 Yaş	Erkek	11	Belçika kurdu	7 Yaş	Dişi
6	Alman Köpeği	Çoban 7 Ay	Erkek	12	Melez	13 Yaş	Erkek

**Tablo 9.** Köpeklerin tanımlayıcı özellikleri (devam).

Köpek No	İrk	Yaş (ay/yıl)	Cinsiyet	Köpek No	İrk	Yaş (ay/yıl)	Cinsiyet
13	Belçika Kurdu	10 Ay	Dişi	34	Kangal	7 Ay	Dişi
14	Melez	4 Yaş	Erkek	35	Melez	9 Ay	Dişi
15	İngiliz Pointer	7 Ay	Dişi	36	Maltese Terrier	7 Ay	Erkek
16	Melez	11 Ay	Dişi	37	Kangal	6 Yaş	Dişi
17	İngiliz Pointer	5 Yaş	Dişi	38	Belçika Kurdu	7 Yaş	Dişi
18	Melez	8 Ay	Dişi	39	Pug	8 Ay	Erkek
19	Kangal	2 Yaş	Dişi	40	Belçika Kurdu	5 Yaş	Dişi
20	Golden Retriever	3 Yaş	Erkek	41	Melez	6 Ay	Erkek
21	Kangal	1 Yaş	Erkek	42	Labrador Retriever	8 Ay	Dişi
22	Melez	3 Yaş	Dişi	43	Melez	9 Ay	Dişi
23	Maltese Terrier	8 Ay	Erkek	44	Cocker Spaniel	6 Ay	Dişi
24	Kangal	6 Ay	Dişi	45	Kangal	8 Ay	Erkek
25	Cocker Spaniel	10 Ay	Dişi	46	Melez	13 Yaş	Dişi
26	Melez	6 Ay	Erkek	47	Golden Retriever	7 Yaş	Dişi
27	Golden Retriever	2 Yaş	Erkek	48	Alman Çoban Köpeği	10 Ay	Erkek
28	Melez	1 Yaş	Erkek	49	Melez	9 Yaş	Dişi
29	İngiliz Pointer	5 Yaş	Dişi	50	Rottweiler	7 Ay	Erkek
30	Maltese Terrier	7 Ay	Erkek	51	Melez	8 Yaş	Dişi
31	Alman Çoban Köpeği	3 Yaş	Dişi	52	Melez	3 Yaş	Erkek
32	Melez	2 Yaş	Erkek	53	Maltese Terrier	6 Ay	Erkek
33	Melez	8 Ay	Erkek	54	Cocker Spaniel	4 Yaş	Erkek

**Tablo 9.** Köpeklerin tanımlayıcı özellikleri (devam).

Köpek No	İrk	Yaş (ay/yıl)	Cinsiyet	Köpek No	İrk	Yaş (ay/yıl)	Cinsiyet
55	Belçika Kurdu	3 Yaş	Dişi	62	Kangal	2 Yaş	Dişi
56	Rottweiler	5 Yaş	Erkek	63	Pug	8 Ay	Dişi
57	Alman Çoban Köpeği	2 Yaş	Dişi	64	Rottweiler	7 Ay	Erkek
58	Kangal	10 Ay	Dişi	65	İngiliz Pointer	12 Yaş	Erkek
59	Melez	4 Yaş	Dişi	66	Melez	1 Yaş	Erkek
60	Maltese Terrier	3 Yaş	Erkek	67	Cocker Spaniel	3 Yaş	Dişi
61	Cocker Spaniel	5 Yaş	Dişi				

Çalışmaya dahil edilen sağlıklı köpekler aşı, genel sağlık kontrolü veya ellektif cerrahi (ovariohistrektomi ve kastrasyon) amacıyla getirilen hayvanlar arasından seçildi. Anemili köpekler, klinik muayenede anemi ile ilişkili bulgulara rastlanılan veya anemiden şüphelenilen hastalardan seçildi. Klinik bulgulardan anemi şüphesi konulan köpeklerde tam kan sayımıyla anemi varlığı onaylandı veya reddedildi. İki-4 hafta önce enjektale veya günlük oral demir preparatı verilen veya kan transfüzyonu uygulanmış anemili köpekler çalışmaya dâhil edilmedi. Anemi varlığı onaylanan köpeklerde aneminin şiddeti de HCT değere göre sınıflandırıldı (Tablo 1).

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Muayene Protokolü ve Alt Gruplandırma

İlgili polikliniklere getirilen ve klinik muayenede anemi ile ilişkili bulgularla (kanama, kene enfestasyonu, mukozalarda solgunluk veya sarılık, hematüri veya hemoglobinüri, kapillar dolum zamanının uzaması vb.) anemiden şüphelenilen hastalarda anemi varlığı üç parametrenin en az ikisinin ( $HCT < 37\%$ ;  $Hb < 12$  g/dL ve  $RBC < 5,5 \times 10^6/\mu L$ ) düşük olduğu hemogram sonuçlarıyla kesinleştirildi. Hemogram sonuçlarıyla anemi belirlenen köpeklerde

şiddetine göre anemi HCT sınır değerler; hafif  $>30 \leq 36$ ; orta  $>20 \leq 30$ ; şiddetli  $>13 \leq 20$  ve çok şiddetli  $<13$ ) dikkate alınarak sınıflandırıldı (Tvedten, 2010; Tablo 1).

### 3.2.2. Laboratuvar Analizler

Klinik olarak sağlıklı görülen köpeklerden ve klinik muayene bulguları temelinde anemi şüpheli veya anemili köpeklerden *Vena cephalica antebrachi*'den tekniğine uygun olarak 4 mL'lik antikoagülanlı (EDTA) ve 5 mL'lik serum tüplerine kan örnekleri alındı (Resim 2). Alınan antikoagülanlı (EDTA) kan örneklerinde tam kan sayımı otomatik kan sayım cihazı (Abacus VET5, Diatron MI LTD., Macaristan; Resim 3) kullanılarak gerçekleştirildi.



**Resim 2.** Bir köpekten kan alımı.

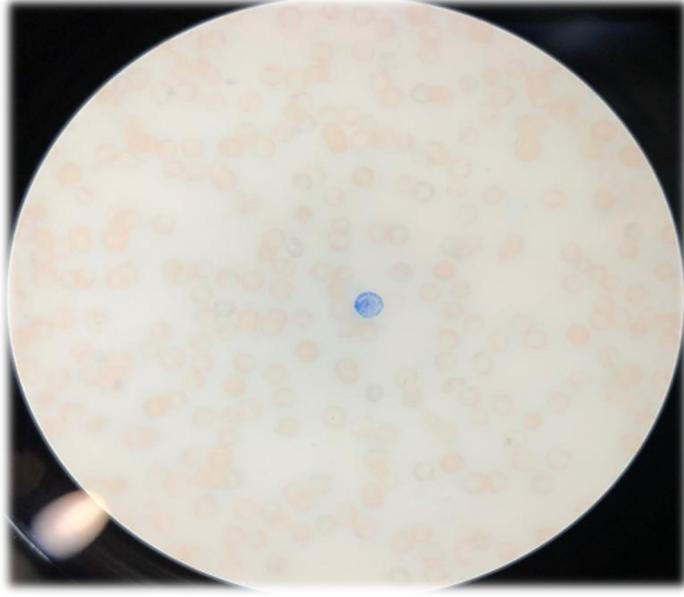


**Resim 3.** Analizlerin yapıldığı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Hastanesi Laboratuvarı ve çalışmada kullanılan tam otomatik kan sayım cihazı.

Absolut retikülosit sayısının belirlenmesi için New Methylene Blue boyama yöntemi ile mikroskopta en az 1000 eritrosit değerlendirilerek elde edilen retikülosit yüzdesi (%), köpeğin eritrosit sayısı ile çarpımıyla absolut retikülosit sayısı hesaplandı (Cowgill ve diğerleri, 2003; Resim 4). Anemili köpekler, absolut retikülosit sayıları (Tablo 2) dikkate alınarak rejeneratif ve nonrejeneratif olarak gruplandırıldı (Cowgill ve diğerleri, 2003; Tablo 10).

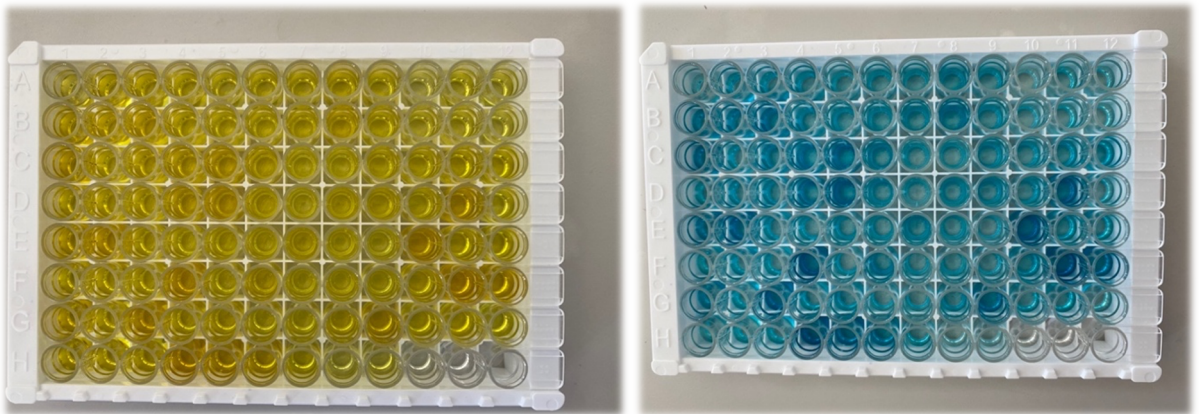
**Tablo 10.** Rejeneratif ve nonrejeneratif gruplar.

<b>Kemik İliği Yanıtı</b>	<b>(% ve absolut sayı)</b>
Rejeneratif	%21 (n= 10)
Nonrejeneratif	%79 (n= 37)
	% 100 N= 47



**Resim 4.** Mikroskopta retikülosit görünümü.

Sağlıklı ve anemili köpeklerden serum tüplerine alınan tam kan örnekleri oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 3000 devir/dk.'da 10 dakika santrifüje edildi ve serum örnekleri Eppendorf tüplerine alındı. Eppendorf tüplerine alınan serum örnekleri hepsidin konsantrasyonu ölçülene kadar  $-20^{\circ}\text{C}$  saklandı. Serum hepsidin konsantrasyonu köpek spesifik ELISA test kiti (Canine Hepsidin, Heps ELISA Kit, Katalog Numarası E0302Ca, BTLab, Çin) kullanılarak gerçekleştirildi (Resim 5). Ölçüm, üretici firmanın önerdiği çalışma prosedürüne göre gerçekleştirildi.

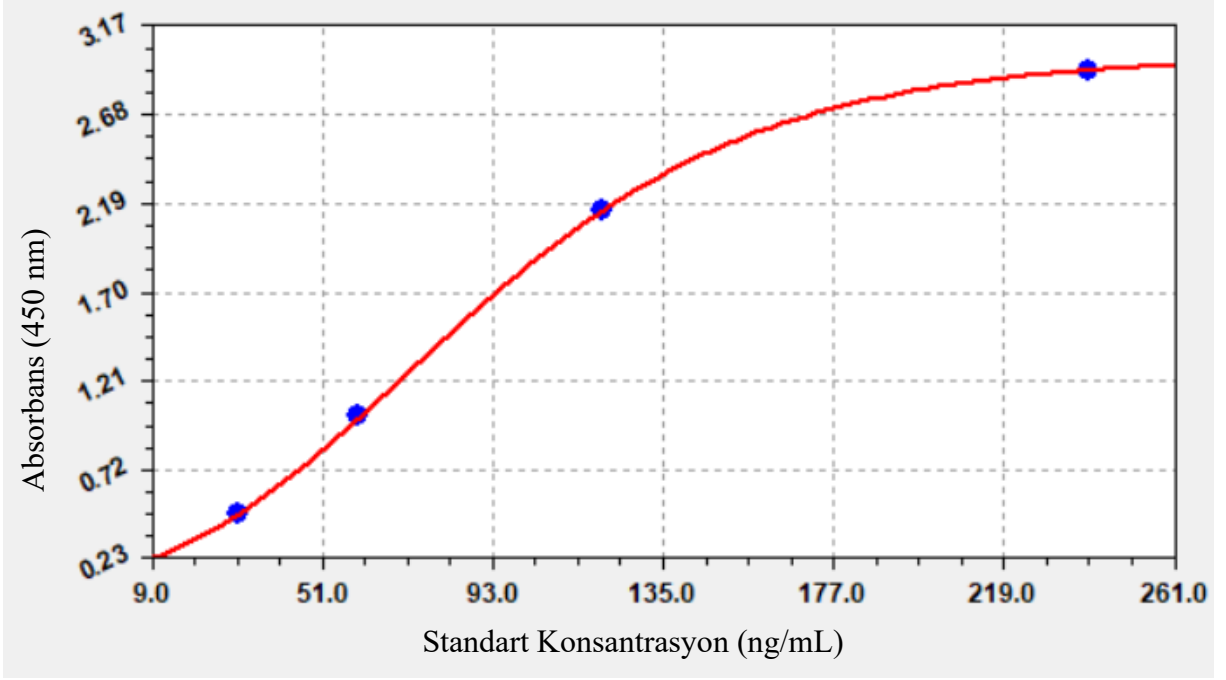


**Resim 5.** Numunelerde ELISA testi sırasında görülen renk değişimi.

Hepsidin Konsantrasyonu ölçümünde;

1. Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Test oda sıcaklığında gerçekleştirildi.
2. Test için gerekli şerit sayısı belirlendikten sonra şeritler kullanım için çerçevelere yerleştirildi.
3. Standart kuyucuklara 50 µl standart eklendi.
4. Örnek kuyucuklarına 40 µl örnek eklendi, ardından örnek kuyucuklarına 10µl anti-Hepc antikoru ve son olarak örnek ile standart kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP eklendi. İyice karıştırıldı. Plaka örtüldü ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. İnkübasyondan sonra plaka yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Her yıkama için kuyucuklar 300 µl yıkama tamponu ile 30 saniye ile 1 dakika bekletildi. Bu işlem beş kez tekrarlandı. Plaka kağıt havlu ile kurulandı.
6. Her bir kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A eklendi ve ardından her bir kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi B eklendi. Plaka örtülerek 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.
7. Her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi, mavi renk sarıya dönüştü.
8. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış ELISA Cihazı ile test gerçekleştirildi.
9. Serum hepsidin konsantrasyonu, standart eğri (Şekil 6) çizilerek CurveExpert 1.4 programı ile hesaplandı.





Şekil 6. Hepsidin standart eğrisi.

### 3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen veriler IBM SPSS Statistics 22.0 ve Analyse-It paket programlarında değerlendirildi. Sayısal verilerin dağılımları (HCT değeri, Hb konsantrasyonu, RBC sayısı, absolut retikülosit sayısı, retikülosit yüzdesi ve serum hepsidin konsantrasyonu) Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Sağlıklı (n=20) ve tipine ve şiddetine göre bir sınıflandırma yapılmaksızın anemi grubundaki köpeklerin (n=47) sayısal verilerinin normal dağılım göstermediği belirlendi. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası farklarının önemi Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.

Aneminin tipine göre (rejeneratif ve nonrejeneratif) sınıflandırılan ve sağlıklı köpeklerin HCT, RBC, Hb, absolut retikülosit sayısı ve retikülosit yüzdesi değerleri Shapiro-Wilk testinde normal dağılım göstermesi nedeniyle gruplar arası farklarının önemi tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Test sonucunda gruplar arası fark bulunan parametrelere ikili karşılaştırma testleri uygulandı ve anlamlı farklar üst harflendirmeler ile belirtildi. Normal dağılım göstermeyen serum hepsidin konsantrasyonunun gruplar arası farklarının belirlenmesi için Kruskal Wallis testi uygulandı.

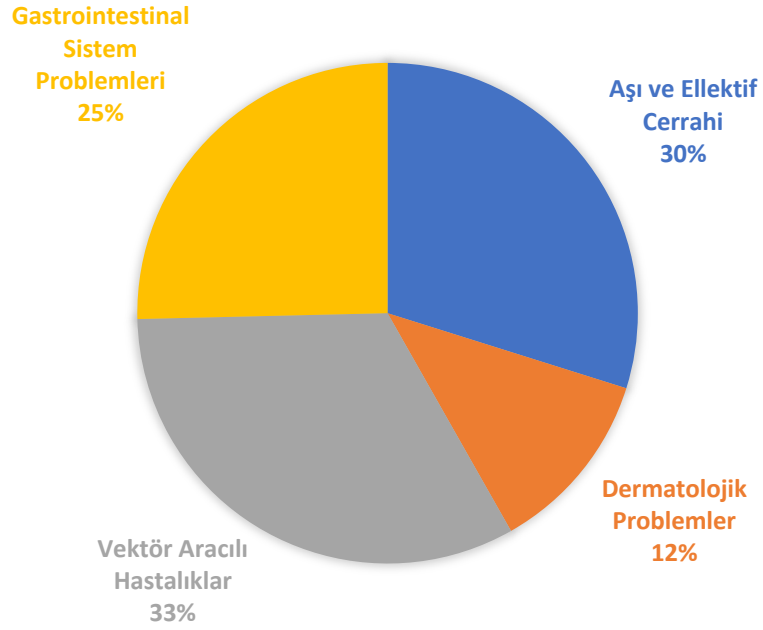
Aneminin şiddetine göre yapılan sınıflandırmada şiddetli ve çok şiddetli gruplarında yeterli örnek olmaması sebebiyle değerlendirmeye dahil edilmedi. Aneminin şiddetine göre

sayısal verilerin dağılımları sağlıklı, hafif ve orta şiddetli anemili köpeklerde Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Test sonucunda normal dağılım gösteren HCT, RBC ve Hb değerlerinin gruplar arası farklarının önemi tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile belirlendi. Normal dağılım göstermeyen absolut retikülosit sayısı ve retikülosit yüzdesi ile serum hepsidin konsantrasyonunun gruplar arası farklarının önemi Kruskal Wallis testi ile belirlendi. Gruplar arası fark bulunan parametrelere ikili karşılaştırma testleri uygulandı ve farklar üst harfler ile belirtildi.

Serum hepsidin konsantrasyonu ve absolut retikülosit sayısı değerleri arasındaki korelasyonlar genel anemi, aneminin tipi ve aneminin şiddeti temelinde Spearman Korelasyon Testi ile değerlendirildi. Korelasyonun gücü, korelasyon katsayısı  $r=0.00-0,30$  göz ardı edilebilir,  $0,30-0,50$  zayıf,  $0,50-0,70$  orta,  $0,70-0,90$  yüksek ve  $0,90-1,0$  çok yüksek olarak değerlendirildi (Mukaka, 2012). Tüm İstatistiksel değerlendirmelerde  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen 67 köpekten 20'si polikliniklere aşı, sağlık kontrolü veya ellektif cerrahi talebiyle getirilen köpeklerdi. Anemik 47 köpekten 8'i dermatolojik problemler, 22'si vektör aracılı hastalıklar, 17'si gastrointestinal sistem problemleri ile polikliniklere getirildi. Köpeklerin hastaneye getirilme şikâyetlerini gösteren dağılım Şekil 7'de gösterildi.



Şekil 7. Köpeklerin genel sağlık durumlarına göre dağılımları

Çalışmaya alınan sağlıklı ve anemik toplam 67 köpekten 20'si melez ırktı. Bunu Kangal (n = 10), Cocker Spainel (n = 7), Maltese Terrier (n = 6), Belçika Kurdu (n = 5), Alman Çoban Köpeği (n = 4), Golden Retriever (n = 4), İngiliz Pointer (n = 4), Pug (n = 3), Rottweiler (n = 3), Labrador Retriever (n = 1) ırkları takip etti.

Çalışmaya alınan köpeklerin yaş ve cinsiyete göre dağılımları Tablo 11'de özetlendi.

**Tablo 11.** Köpeklerin yaş ve cinsiyete göre dağılımı.

Yaş Grubu	Cinsiyet		Toplam (%)
	Erkek (%)	Dişi (%)	
0 - 1 yaş	20 (%)	21 (%)	41
> 1 - 2 yaş	9 (%)	4 (%)	13
> 2 - 7 yaş	13 (%)	21 (%)	34
> 7 yaş	6 (%)	6 (%)	12
<b>Toplam</b>	<b>46 (%)</b>	<b>54 (%)</b>	<b>100</b>
<b>Min – Max (yıl)</b>	<b>0,5 - 13</b>	<b>0,5 – 13</b>	<b>0,5 - 13</b>
<b>Ortalama (yıl)</b>	<b>3,18</b>	<b>3,58</b>	<b>3,38</b>
<b>Medyan (yıl)</b>	<b>1,00</b>	<b>3,00</b>	<b>2,00</b>

Klinik bulgulardan anemi şüpheli 47 köpeğin HCT (%) değere göre anemi şiddeti dağılımları Tablo 12’de sunuldu.

**Tablo 12.** HCT (%) değere göre anemili köpeklerde şiddetine göre anemi dağılımları.

HCT Değerine Göre Aneminin Derecesi	(%)	n
Hafif >30- ≤ 36	30 (%)	14
Orta >20- ≤ 30	60 (%)	28
Şiddetli >13- ≤ 20	6 (%)	3
Çok Şiddetli <13	4 (%)	2
	% 100	N= 47

Sağlıklı (n=20) ve anemili (n=47) köpeklerin hematolojik parametreleri ve serum hepsidin konsantrasyonlarının tanımlayıcı istatistikleri Tablo 13’de sunuldu.

**Tablo 13.** Sağlıklı (n=20) ve anemi (n=47) grubu köpeklerin kan parametreleri ve serum hepsidin konsantrasyonları.

Parametre	Grup	Ortanca	IQR	X±SD	Xmin-Xmax
<b>HCT (%)</b>	Sağlıklı	43,03	13,42	45,14 ± 7,75	35,70-61,06
	Anemik	28,10	6,60	26,80 ± 5,66	10,98-35,93
<b>Hb (g/dL)</b>	Sağlıklı	13,20	3,02	13,61 ± 2,26	10,20- 18,00
	Anemik	7,90	2,80	7,90 ± 1,95	2,80-10,70
<b>RBC (x10<sup>6</sup>/μL)</b>	Sağlıklı	6,38	1,69	6,58 ± 1,03	5,43-8,68
	Anemik	4,40	0,91	4,23 ± 0,87	1,44-5,48
<b>Retikülosit (%)</b>	Sağlıklı	9,15	3,53	9,14 ± 2,51	4,50-13,40
	Anemik	11,70	2,40	17,82 ± 13,62	8,70-58,40
<b>Absolut Retikülosit Sayısı (x10<sup>3</sup>/μL)</b>	Sağlıklı	57,56	14,99	58,04 ± 97,32	39,06-73,70
	Anemik	53,35	17,92	68,06 ± 38,58	30,83-178,02
<b>Hepsidin (ng/mL)</b>	Sağlıklı	71,00	46,12	83,46 ± 32,33	42,97-159,43
	Anemik	70,70	11,68	72,64 ± 22,55	32,73-204,75

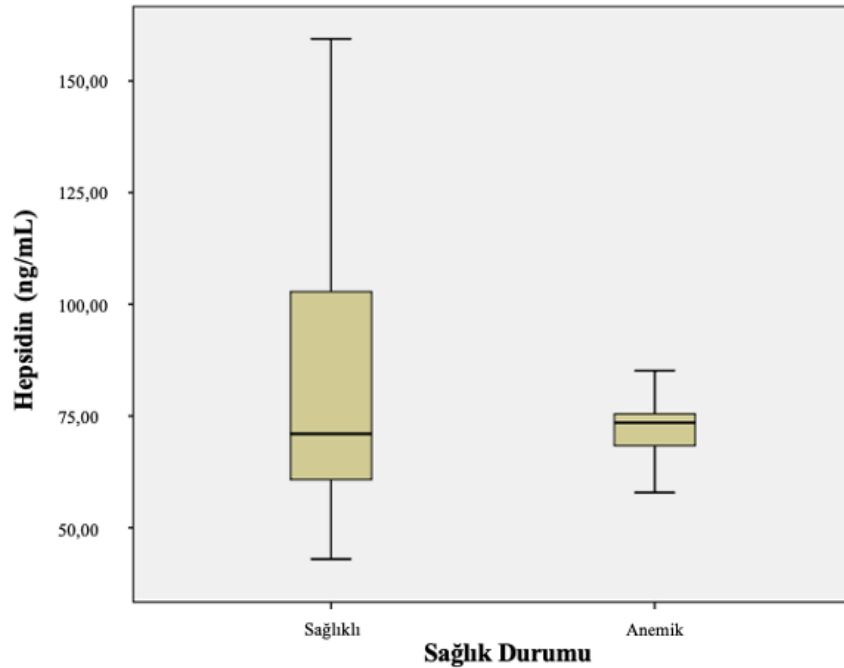
Sağlıklı ve anemili köpeklerde hematolojik parametreler ve serum hepsidin konsantrasyonları ve istatistiksel değerlendirmeler Tablo 14’de, bu grupların ortanca serum hepsidin konsantrasyonları ve absolut retikülosit sayıları da çeyrekler arası açıklıklarla (IQR) birlikte Şekil 8 ve Şekil 9’da gösterildi.

Tablo 14’de gösterildiği gibi, anemili grubun HCT değeri, RBC sayısı ve Hb konsantrasyonu sağlıklı köpeklerden istatistiksel anlamlı ( $p < 0,001$ ) düşük bulundu. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin (HCT, RBC, Hb, absolut retikülosit sayısı, retikülosit yüzdesi ve hepsidin konsantrasyonu) hasta ve sağlıklı köpeklerde ortanca değerleri arasındaki farkların anlamlılıkları Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirildiğinde; sağlıklı köpeklere göre anemi grubunun retikülosit yüzdesinin anlamlı düzeyde ( $p < 0,001$ ) yüksek olduğu, hasta ve sağlıklı köpeklerin ortanca absolut retikülosit sayısı ve serum hepsidin konsantrasyonları arasındaki farkların ise istatistiksel anlamlı olmadığı ( $p > 0,05$ ) belirlendi (Tablo 14).

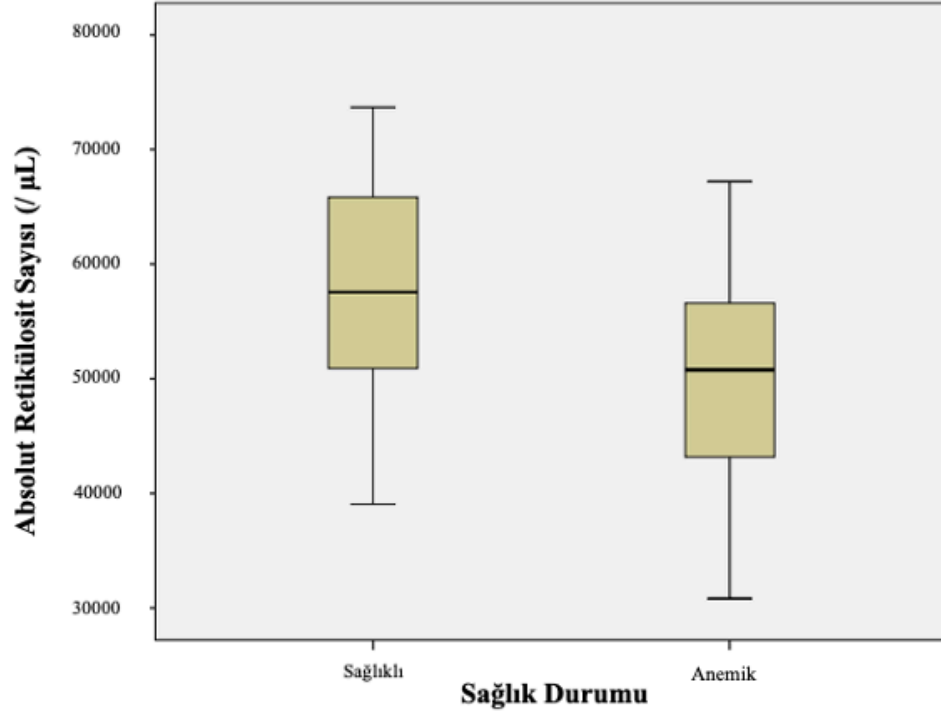
**Tablo 14.** Sağlıklı ve anemili gruptaki köpeklerin hematolojik parametreleri ve serum hepsidin konsantrasyonları [  $X \pm SD$  ve Ortanca (IQR)].

Parametre	$X \pm SD$		Ortanca (IQR)		p değeri
	Sağlıklı (n=20)	Anemik (n=47)	Sağlıklı (n=20)	Anemik (n=47)	
HCT (%)	45,14 $\pm$ 7,75	26,80 $\pm$ 5,66	43,03(13,42) <sup>a</sup>	28,10(6,60) <sup>b</sup>	p<0,001
Hb (g/dL)	13,61 $\pm$ 2,25	7,90 $\pm$ 1,95	13,20(3,02) <sup>a</sup>	7,90 (2,80) <sup>b</sup>	p<0,001
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	6,58 $\pm$ 1,03	4,23 $\pm$ 0,87	6,38(1,69) <sup>a</sup>	4,40 (0,91) <sup>b</sup>	p<0,001
Absolut Retikülosit Sayısı ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	58.04 $\pm$ 97.32	68.06 $\pm$ 38.58	57.56 (14.99)	53.35 (17.92)	p=0,396
Retikülosit (%)	9,14 $\pm$ 2,51	17,82 $\pm$ 13,62	9,15(3,53) <sup>b</sup>	11,70 (2,40) <sup>a</sup>	p<0,001
Hepsidin (ng/mL)	83,46 $\pm$ 32,33	72,64 $\pm$ 22,55	71,00 (46,12)	70,70 (11,68)	p=0,661

Aynı satırdaki, üst simgede farklı harfler bulunan gruplar arası farklar anlamlıdır (p<0,05).



**Şekil 8.** Sağlıklı ve anemi grubundaki köpeklerin serum hepsidin konsantrasyonları (Ortanca ve IQR).



**Şekil 9.** Sağlıklı ve anemi grubundaki köpeklerin absolut retikülosit sayıları (Ortanca ve IQR).

Sağlıklı, rejeneratif ve nonrejeneratif anemi grubundaki köpeklerin hematolojik parametreleri ve serum hepsidin konsantrasyonlarına ilgili istatistiksel değerlendirmeler Tablo 15’de, bu grupların ortanca serum hepsidin konsantrasyonları ve absolut retikülosit sayıları IQR değerleri Şekil 10 ve  $X \pm SD$  Şekil 11’de gösterildi.

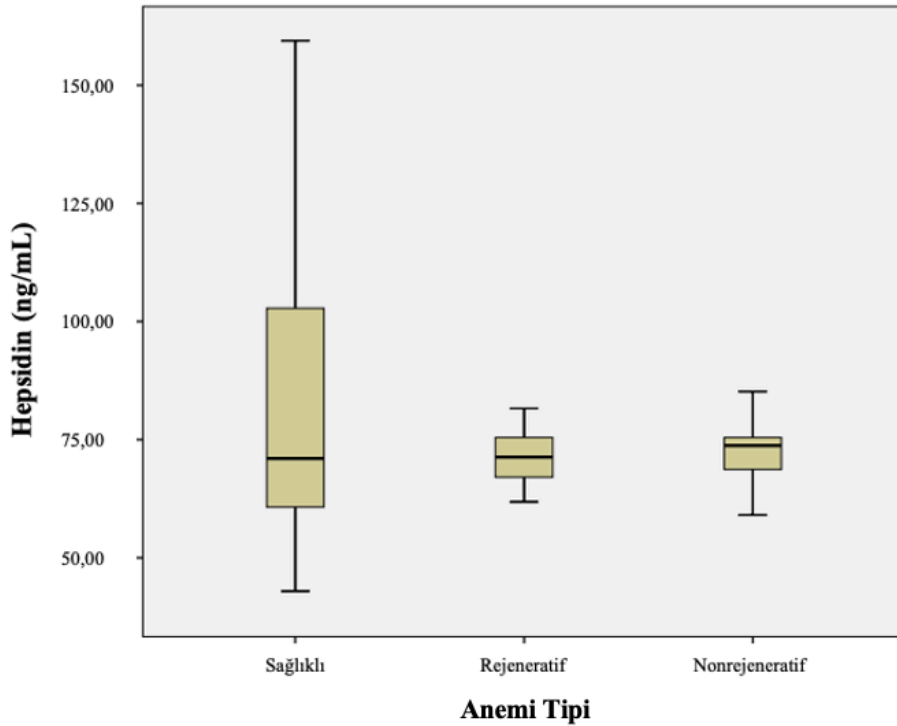
Bu üç grupta normal dağılım gösteren (HCT değer, RBC, Hb konsantrasyonu, absolut retikülosit sayısı ve retikülosit yüzdesi) ve normal dağılım göstermeyen (hepsidin konsantrasyonu) parametrelerin gruplar arası farkları ve farkların hangi grup(lar)dan kaynaklandığı değerlendirildi. Buna göre, HCT değer, RBC, Hb konsantrasyonu, absolut retikülosit sayısı ve retikülosit yüzde değerlerinin gruplar arasında anlamlı düzeyde ( $p < 0,001$ ) farklı olduğu, serum hepsidin konsantrasyonun ise gruplar arasındaki farkının istatistiksel anlamlı olmadığı ( $p > 0,05$ ) saptandı (Tablo 15). Çalışmanın dizaynı ile uyumlu olarak, rejeneratif ve nonrejeneratif anemi grubu köpeklerin ortanca HCT, RBC, Hb değerleri sağlıklı (kontrol) grubundan anlamlı düzeyde düşük bulundu. Rejeneratif anemi grubunun HCT, RBC, Hb değerleri, nonrejeneratif anemili köpeklerden anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlendi. Rejeneratif anemi grubundaki köpeklerin ortanca absolut retikülosit sayısı ve retikülosit yüzdesi, nonrejeneratif anemi grubu ve sağlıklı gruba göre önemli düzeyde yüksek

bulundu. Serum hepsidin konsantrasyonu, sağlıklı, rejeneratif ve nonrejeneratif anemili gruplar arası farklılıklarının istatistiksel anlamlı olmadığı belirlendi (Tablo 15).

**Tablo 15.** Sağlıklı, rejeneratif ve nonrejeneratif anemi alt gruplarındaki köpeklerin hematolojik parametreleri ve serum hepsidin konsantrasyonları ( $X \pm SD$  ve Ortanca (IQR)].

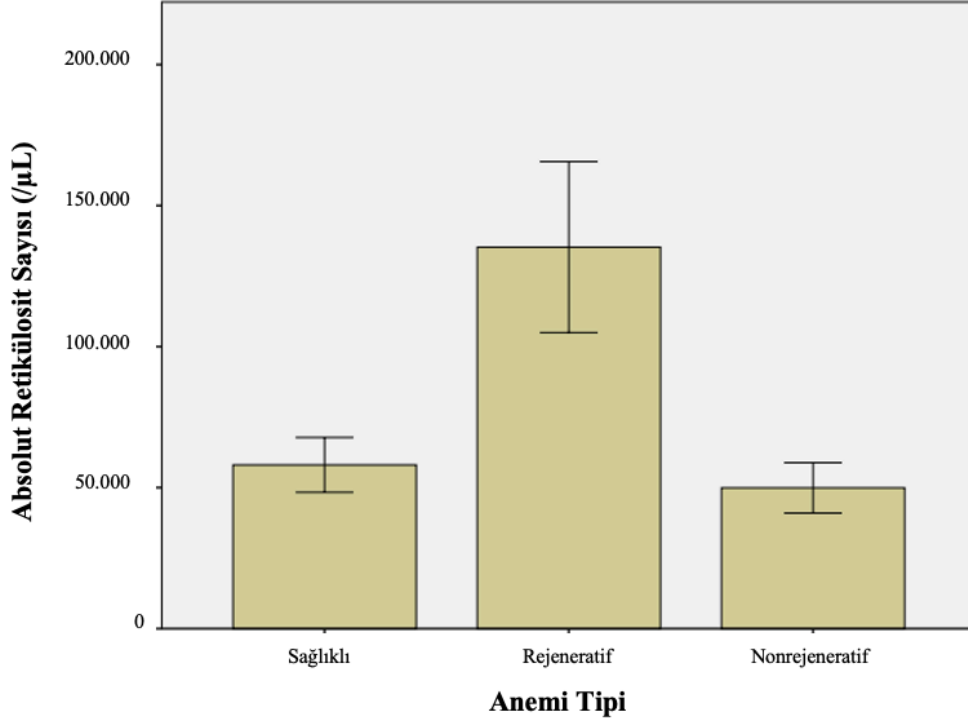
Parametre	$X \pm SD$			Ortanca (IQR)			p değeri
	Sağlıklı (n=20)	Rejeneratif Anemi (n=10)	Nonrejeneratif Anemi (n=37)	Sağlıklı (n=20)	Rejeneratif Anemi (n=10)	Nonrejeneratif Anemi (n=37)	
HCT (%)	45,13 $\pm$ 7,75 <sup>a</sup>	23,40 $\pm$ 7,80 <sup>b</sup>	27,70 $\pm$ 4,65 <sup>b</sup>	43,03(13,42 )	25,50(12,96)	28,20(6,60)	p<0,001
Hb (g/dL)	13,61 $\pm$ 2,25 <sup>a</sup>	6,58 $\pm$ 2,44 <sup>c</sup>	8,26 $\pm$ 1,65 <sup>b</sup>	6,38(1,69)	3,81(1,90)	4,56(0,81)	p<0,001
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	6,58 $\pm$ 1,03 <sup>a</sup>	3,41 $\pm$ 1,18 <sup>c</sup>	4,45 $\pm$ 0,61 <sup>b</sup>	13,20(3,02)	7,05(4,00)	8,30(2,45)	p<0,001
Absolut Retikülosit Sayısı ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	58.04 $\pm$ 9.73 <sup>b</sup>	135.20 $\pm$ 30.31 <sup>a</sup>	49.90 $\pm$ 8.91 <sup>b</sup>	57.56(14.99)	144.70(49.36)	50.80(13.76)	p<0,001
Retikülosit (%)	9,14 $\pm$ 2,51 <sup>b</sup>	42,42 $\pm$ 9,49 <sup>a</sup>	11,17 $\pm$ 1,11 <sup>b</sup>	9,15(3,53)	40,70(14,20)	11,30(1,40)	p<0,001
Hepsidin (ng/mL)	83,46 $\pm$ 32,33	70,59 $\pm$ 13,98	73,19 $\pm$ 24,48	71,00(46,12)	68,82(13,55)	71,60(11,30)	p=0,888

Aynı satırdaki, üst simgede farklı harfler bulunan gruplar arası farklar anlamlıdır (p<0,05).



**Şekil 10.** Sağlıklı, rejeneratif ve nonrejeneratif anemi grubundaki köpeklerin serum hepsidin konsantrasyonları (Ortanca ve IQR).





**Şekil 11.** Sağlıklı, rejeneratif ve nonrejeneratif anemi grubundaki köpeklerde absolut retikülosit sayıları ( $X \pm SD$ ).

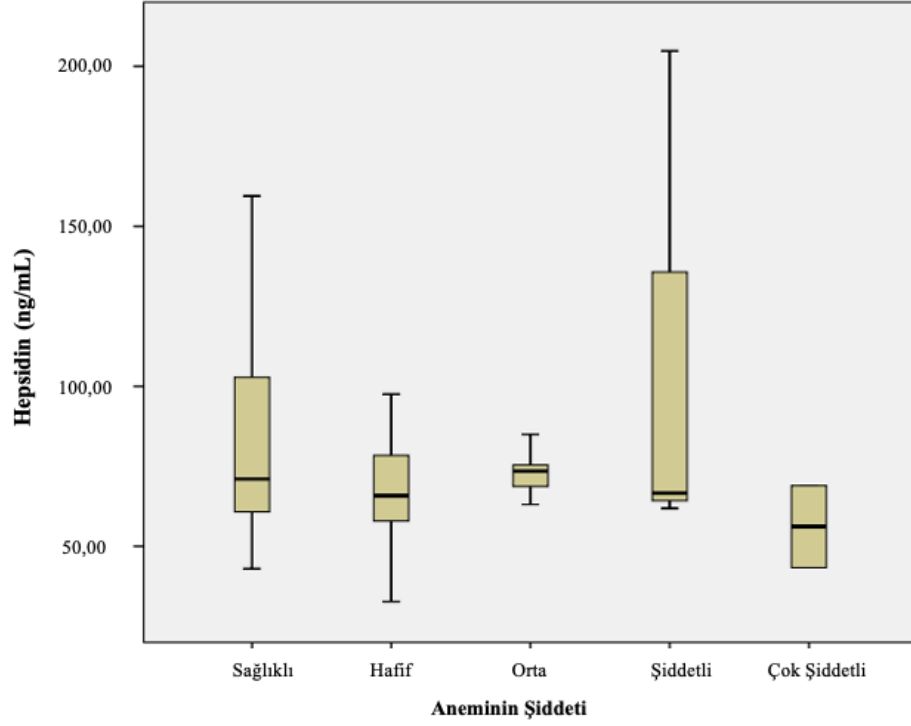
Çalışmada anemili köpekler HCT değere göre hafif, orta, şiddetli ve çok şiddetli olarak sınıflandırıldı. Şiddetli ve çok şiddetli anemi grubundaki örnek sayısının yeterli olmaması dolayısıyla Tablo 16'da sağlıklı, hafif ve orta şiddetli anemili köpeklerin hematolojik parametreleri ve serum hepsidin konsantrasyonları verildi. Ayrıca sağlıklı ile hafif, orta, şiddetli ve çok şiddetli grubundaki köpeklerin hepsidin konsantrasyonları ve absolut retikülosit sayılarının ortanca ile IQR değerleri de Şekil 12 ve Şekil 13'de sunuldu.

Tek yönlü varyans analizi (ANOVA), HCT değer temelinde aneminin şiddetine göre gruplandırılan köpeklerde HCT değer, RBC sayısı ve Hb konsantrasyonu; Kruskal Wallis testi retikülosit yüzdesinin gruplar arasındaki farklarının  $p < 0,001$  düzeyinde anlamlı olduğunu, absolut retikülosit sayısı ve serum hepsidin konsantrasyonunun ise gruplar arasında farklarının istatistiksel önemde olmadığını ( $p > 0,05$ ) gösterdi. Sağlıklı gruba göre, hafif ve orta şiddette anemi grubundaki köpeklerin; orta şiddette anemik köpeklerin de hafif anemi grubundaki köpeklere göre HCT değer, RBC sayısı, Hb konsantrasyonu önemli düzeylerde düşük bulundu. Retikülosit yüzdesi orta şiddette anemili köpeklerde sağlıklı köpeklere göre önemli düzeyde yüksek bulundu. Aneminin şiddetine göre gruplandırılan köpeklerin serum hepsidin konsantrasyonu ve absolut retikülosit değerleri açısından gruplar arası farklarının istatistiksel anlamlı olmadığı ( $p > 0,05$ ) görüldü (Tablo 16).

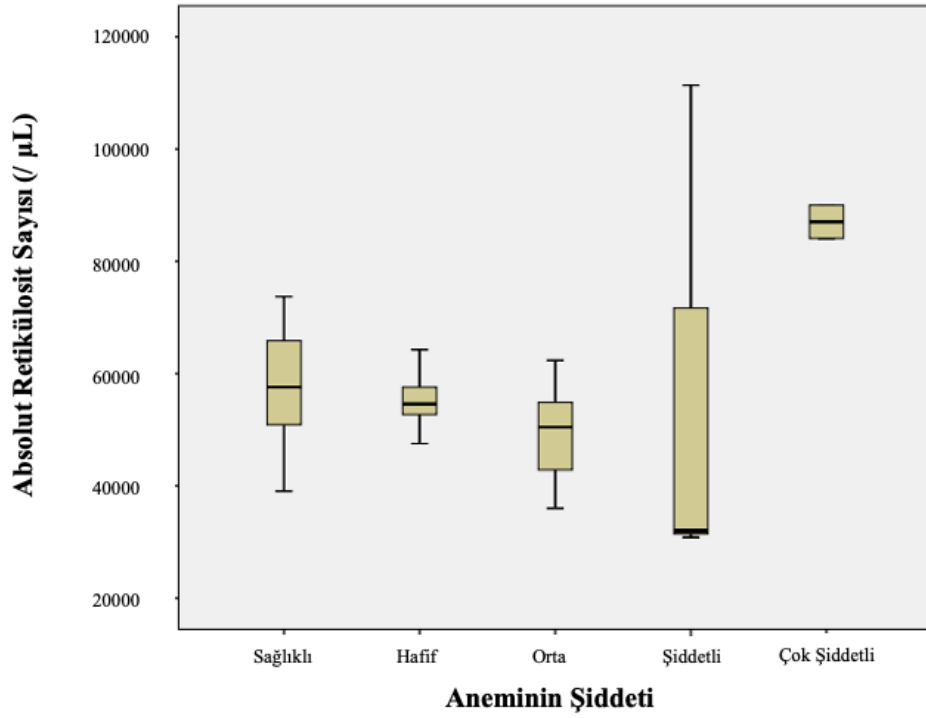
**Tablo 16.** Sağlıklı, hafif ve orta şiddetli anemili köpeklerin hematolojik parametreleri ve serum hepsidin konsantrasyonları [  $X \pm SD$  ve Ortanca (IQR)].

Parametreler	X±SD			Ortanca (IQR)			p değeri
	Sağlıklı (n=20)	Hafif Anemi (n=14)	Orta Şiddete Anemi (n=28)	Sağlıklı (n=20)	Hafif Anemi (n=14)	Orta Şiddete Anemi (n=28)	
<b>HCT (%)</b>	45,13±7,75 <sup>a</sup>	32,22±1,69 <sup>b</sup>	26,27 ±2,76 <sup>c</sup>	43,03 (13,42)	31,70 (3,00)	27,00 (4,53)	p<0,001
<b>Hb (g/dL)</b>	13,61±2,25 <sup>a</sup>	9,63±0,93 <sup>b</sup>	7,76±1,17 <sup>c</sup>	13,20 (3,02)	9,75 (1,20)	7,60 (1,98)	p<0,001
<b>RBC (x10<sup>6</sup>/µL)</b>	6,58±1,03 <sup>a</sup>	4,90±0,25 <sup>b</sup>	4,325±0,48 <sup>c</sup>	6,38 (1,69)	4,88 (0,38)	4,15 (0,70)	p<0,001
<b>Absolut</b>	58.04±9.73	69.35±34.86	67.13±41.87	57.56(14.99)	56.03 (12.64)	50.46 (18.28)	p=0,126
<b>Retikülosit Sayısı (x103/ µL)</b>							
<b>Retikülosit (%)</b>	9,14±2,51	14,25±7,51	16,32±11,57	9,15 (3,53) <sup>b</sup>	11,90(2,43) <sup>ab</sup>	11,40(1,83) <sup>a</sup>	p<0,001
<b>Hepsidin (ng/mL)</b>	83,46±32,33	66,61±16,54	72,71±5,60	71,00(46,12)	65,79 (22,41)	73,48 (6,71)	p=0,347

Aynı satır içinde, üst simgede farklı harfler bulunan değerler, gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu gösterir (p<0,05).



Şekil 12. Aneminin şiddetine göre serum hepsidin konsantrasyonları (Ortanca ve IQR).



Şekil 13. Aneminin şiddetine göre absolut retikülosit sayıları (Ortanca ve IQR).

Serum hepsidin konsantrasyonu ve absolut retikülosit sayısı değerleri arasındaki ilişkiler, tipi ve şiddetine bakılmaksızın genel anemi (n=47), aneminin tipi ve aneminin

şiddetine göre Spearman Korelasyon testi ile değerlendirildi (Tablo 17). Rejeneratif anemi grubunda absolut retikülosit sayısı ve serum hepsidin konsantrasyonu arasında pozitif zayıf korelasyon ( $r=0,479$ ) dışında diğer korelasyonların göz ardı edilebilecek kadar düşük olduğu saptandı.

**Tablo 17.** Serum hepsidin konsantrasyonu ve absolut retikülosit sayıları arasındaki ilişkiler.

	<b>Anemi Genel Hepsidin</b>	<b>Rejeneratif Anemi Hepsidin</b>	<b>Nonrejeneratif Anemi Hepsidin</b>	<b>Hafif Şiddette Anemi Hepsidin</b>	<b>Orta Şiddette Anemi Hepsidin</b>
<b>Anemi Genel Absolut Retikülosit Sayısı</b>	$p=0,746$ $r=-0,049$	-	-	-	-
<b>Rejeneratif Anemi Absolut Retikülosit Sayısı</b>	-	$p=0,162$ $r=0,479$	-	-	-
<b>Nonrejeneratif Anemi Absolut Retikülosit Sayısı</b>	-	-	$p=0,643$ $r=-0,079$	-	-
<b>Hafif Anemi Absolut Retikülosit Sayısı</b>	-	-	-	$p=0,334$ $r=0,279$	-
<b>Orta Şiddette Anemi Absolut Retikülosit Sayısı</b>	-	-	-	-	$p=0,514$ $r=0,129$

## 5. TARTIŞMA

Köpeklerde de sık görülen bir bulgu olan anemi, birçok hastalığın seyri ya da sonucunda ortaya çıkabilir ve şiddetli olduğu durumlarda yaşamı tehdit eder. Bu bulgu temelinde eritrosit yapımı ile yıkımı veya kaybı arasındaki dengenin bozulması, eritrosit yapımının azalması veya yıkım ile kaybın artması sonucu gelişir. Patofizyolojik olarak anemi, azalan RBC sayısı veya HCT değeri ve Hb konsantrasyonu sonucu oksijen taşıma kapasitesinin düşmesi ve buna bağlı sistemik doku hipoksisi ve eritropoetin üretiminin artmasıdır. Bozulan bu dengenin düzeltilmesi için kemik iliğinde eritropoezisin arttığı anemiler rejeneratif anemi, kemik iliği yanıtının yetersiz veya olmadığı anemiler de nonrejeneratif anemi olarak tanımlanır. Kemik iliğinin yanıtı diğerleri dışında periferik kanda retikülosit sayısı ile belirlenebilir. Bu kapsamda rejeneratif anemilerde genellikle retikülosit sayısı artar, nonrejeneratif anemiler ise azalma ve normal sınırlarda bulunur. Hepsidin; 2000’li yıllarda karaciğerden sentezlendiği keşfedilen, dolaşımda bulunan ve idrarla atılan bir peptid hormondur. Hepsidin, demir metabolizmasının ana düzenleyicisi olarak görülmektedir. Bu açıdan anemi ile hepsidin arasında sıkı bir ilişki bulunur. Bu çalışmada köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonunun aneminin tip (rejeneratif, nonrejeneratif) ve şiddetine (hafif orta, şiddetli, çok şiddetli) göre durumu ile absolut retikülosit sayısı arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesi amaçlandı.

Anemi ile ilişkili klinik bulguların çoğu dokulara yeterli oksijen sağlanamamasından kaynaklanır; sistemik doku hipoksisi kompenzasyon mekanizmaları ile kompanse edilemediğinde klinik bulgular ortaya çıkar. Aneminin hafif şiddette (HCT: %30-36) olduğu köpeklerde bariz bir klinik bulguya rastlanmazken, şiddetli anemik köpeklerde klinik bulgular belirgindir. Diğer yandan perakut veya akut gelişen, orta-şiddetli anemilerde klinik bulgulara rastlanır. Orta-şiddetli derecede anemik hastalarda anemnez verileri; güçsüzlük, letarji, anoreksi, kilo kaybı, eksersiz intoleransı veya sinkopu kapsar. Klinik belirtiler genellikle azalan oksijenizasyon veya kompenzatorik mekanizmalarla ilişkilidir ve mukoz membranlarda solgunluk ± sarılık, letarji, eksersiz intoleransı, kapillar dolum zamanının uzaması, taşipne veya dispne, taşikardi ve endokardial üfürümü kapsar. Hayvanda altta yatan sistemik bir hastalık olduğunda kilo kaybı, anoreksi, febris veya lenfadenopati gibi spesifik olmayan bulgular olabilir. Fiziksel muayenede hemoraji; epistaksis, hematüri ve melena görülmesiyle veya kan emen ektoparazit varlığı ile belirlenir. Görülebilen mukozalar ikterik

ve solgun olduğunda eritrositlerin hızlı yıkımlanmasından şüphelenilir. Bu çalışmada toplam 47 anemili köpekte HCT değere göre sınıflandırmada 14 köpekte aneminin hafif, 28 köpekte orta, 3 köpekte şiddetli ve 2 köpekte çok şiddetli olduğu görüldü. Orta-çok şiddetli anemili köpeklerde belirlenen klinik bulgular literatür bildirimlere (Thrall, 2012; Tvedten, 2012) benzer olması yanında, altta yatan etiyolojiyle de (Tablo 4) oğunlukla ilişkilendirilebilir nitelikte bulundu.

Bu çalışmada klinik bulgular temelinde anemi şüpheli hastalardan alınan tam kan örneklerinde otomatik kan sayım cihazıyla llen HCT değer, Hb konsantrasyonu ve RBC sayısıyla aneminin varlık ve şiddeti belirlendi. Kemik iliği yanıtına göre de aneminin tipi relatif ve absolut retikülosit sayısı ile değerlendirildi. Sağlıklı ve anemili köpeklerde belirtilen hematolojik parametrelerin tayini dışında her iki gruptaki köpeklerin serum hepsidin konsantrasyonu ELISA tabanlı köpek spesifik ticari test kullanılarak ölçüldü. Bu açıdan çalışmada amaca uygun parametreler seçildi.

Laboratuvar sonuçları, ilgili parametreleri etkileyen faktörler dikkate alınarak yorumlandığında hastalıkların tanı, şiddeti, seyri, prognozu, sağaltım etkinliğinin kontrolünde kullanılabilir (Dheer, 1997). Bu nedenle insanlarda ve hayvanlarda hematolojik ve serum biyokimyasal analizler ile ilgili parametreler, etkileyen faktörler dikkate alınarak değerlendirilir. Hematolojik parametreler ve serum biyokimyasal değerlerinin fizyolojik değer aralıkları biyolojik ve analitik faktörlere bağlı olarak önemli farklılıklar göstermektedir. Biyolojik endojen faktörler arasında; yaş, cinsiyet, ırk ve çalışmaya dâhil edilecek popülasyonun kriterleri yer alırken, ekzojen faktörler arasında biyolojik ritim, bakım ve stres bulunmaktadır. Bu alışma kapsamında köpeklerde değerlendirilen hematolojik parametrelerde öncelikle yaşa bağlı değişimler anlamlıdır (Anderson ve Gee, 1958; Dheer, 1997; Tvedten, 2022). Bu nedenle çalışmaya sağlıklı ve anemili gruplarda köpekler  $\geq 6$  aylık olanlar dâhil edildi. Örneklerin toplanması, taşınması ve santrifgasyonunu kapsayan başlıca preanalitik faktörler ile ölçümlerin tekniğine uygun gerçekleştirilmesi için gerekli analitik faktörler de laboratuvar analizlerde dikkate alındı. Irk, cinsiyet, biyolojik ritim ve bakım ve analiz yöntemine bağlı değişimler olmakla birlikte erişkin köpeklerde HCT: %37-%55; Hb: 12-18 g/dL ve RBC;  $5,5-8,5 \times 10^6/\mu\text{L}$  referans değerleri (Dheer, 1997; Hokamp ve Piccione, 2022) olarak genel kabul görmektedir. Bu çalışmada 20 sağlıklı köpekte belirlenen hematolojik parametreler literatür bildirimleriyle uyumludur. Köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonu sınırlı sayıda çalışmada değerlendirilmiştir (Tablo 8). Bu kapsamda Vizi ve diğerleri (2020), köpeklerde yaş, cinsiyet ve vücut ağırlığının serum hepsidin

konsantrasyonuna etkisinin olmadığını belirlemiş ve altın standart kabul edilen sıvı kromatografisi/tandem kütle spektrofotometresi (LC-MS/MS) ile ölçümde sağlıklı 86 köpekte serum hepsidin konsantrasyonunu  $16,6\pm 7,7$  ng/mL olarak rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada Vizi ve diğerleri (2023), köpeklerde serum hepsidin-25 $\alpha$  ve hepsidin-25 $\beta$  olarak adlandırılan iki farklı hepsidin-25 molekülü sentezlendiğini ve bunların ortalama serum konsantrasyonlarının sırasıyla  $28,1\pm 2,1$  ng/ml ve  $51,6\pm 3,4$  ng/ml olduğu ve 25 sağlıklı köpekte serum total hepsidin konsantrasyonu ortalamasını  $79,8$  ng/ml olarak belirlenmişlerdir. Şahinduran ve diğerleri (2016) 15 sağlıklı yavru, Deniz ve Şahinduran (2020) 10 sağlıklı köpekte serum hepsidin konsantrasyonunu sırasıyla  $14,35\pm 16,28$  ng/mL ve  $11,83\pm 3,09$  ng/mL olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada 20 sağlıklı köpekte  $83,46$  ng/mL olarak belirlenen ortalama serum hepsidin konsantrasyonunun Vizi ve diğerlerinin (2023) bildirimlerine yakın (Tablo 13), diğer 3 çalışmada bildirilen değerlerden ise yüksek bulundu. Bu durum, öncelikle ölçülen hepsidin molekülünün (hepsidin-25 $\alpha$  ve hepsidin-25 $\beta$ ) farklılığından kaynaklanabilir. Ayrıca, söz konusu çalışmalarda sağlıklı köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonları arasındaki uyumsuzluklar, biyolojik değişkenlerin ve ölçüm yöntemindeki farklılıkları da düşündürmektedir.

Hepsidin, tanımlandığı yıllarda karaciğerde üretilen, antimikrobiyel özellikli peptid olarak görülmüştür (Krause ve diğerleri, 2000; Park ve diğerleri, 2001). Takibi yıllarda ise hepsidin vücutta intestinal demir absorpsiyonunun ve makrofajlardan demirin geri dönüşümünün ana düzenleyicisi olduğu ortaya konulmuştur (Fleming ve Sly, 2002; Nicolas ve diğerleri, 2002). Bu kapsamda vücutta ekzojen veya endojen kaynaklı demir fazlalığında hepsidin sentezi uyarılır ve ince bağırsaklarda demir absorpsiyonu inhibe edilerek fazla demir yüklemesi/depolanması önlenir. Nitekim, kemoterapi uygulanan anemik farelerde eritropoetik aktivitenin baskılanması hepsidin düzeylerinde artışa yol açmıştır (Pak ve diğerleri, 2006). Buna karşın farklı nedenlere bağlı demir eksikliğinde hepsidin sentezi azalarak gıdadan demirin emilimi artmasıyla karaciğer, dalak ve kemik iliğindeki demir depolarındaki eksiklik tamamlanır (Zhang ve diğerleri, 2009). Bu durum, demir eksikliği olan bebeklerde, anemik farelerde demir düzeylerinin sağaltımla normale döndürülmesiyle hepsidin konsantrasyonun arttığı saptanmıştır (Cai ve diğerleri, 2016; Park ve diğerleri, 2001; Juanma ve diğerleri, 2014). Diğer yandan hepsidin mRNA'sının IL-6 tarafından indüklendiğinin gösterilmesiyle hepsidin tip II akut faz reaktan olarak değerlendirilmektedir (Fleming ve Sly 2001; Nemeth ve diğerleri, 2003). Kısaca hepsidin sentezi, vücutta demir depolanmasını önlemek için aşırı hemakromatoz gibi demir varlığında ve yangısal özellikle de kronik yangılarda artarken;

hipoksi ve eritropoezisin hızlanması/artması ile karakterize anemilerde inhibe edilir (Falzacappa ve Muckenthaler, 2005; Ganz, 2006). Bu temel bilgiler ışığında sunulan çalışma, genelinde anemili köpeklerde, özelinde ise aneminin tipi (rejeneratif ve nonrejeneratif) ve farklı şiddetteki anemilerde serum hepsidin konsantrasyonunun durumunun belirlenmesinin klinik anlamlı olabileceği düşüncesiyle gerçekleştirildi.

Bir hastada anemi tanısı klinik ve laboratuvar bulgular değerlendirilerek konulur. Anemi hafif olduğunda mukozalar ve konjunktivadaki solgunluk adspeksiyonla belirlenemez. Diğer yandan mukozalar ve konjunktivadaki her solgunluk anemi göstergesi değildir. Bu nedenle klinik bulgularla anemiden şüphelenilen olgularda hematolojik parametreler HCT değer, Hb konsantrasyonu ve RBC sayısı ölçülerek ortaya konulur. Bu çalışmada klinik olarak anemiden şüphelenilen köpeklerde ilgili hematolojik parametrelerin alt referans değerler HCT < 37, Hb <12 g/dL ve eritrosit sayısı < 5,5 10<sup>6</sup>/µL hastada anemi varlığı olarak değerlendirildi (Tablo 13). Herhangi bir şikâyeti bildirilmeyen, klinik bulgu belirlenmeyen ve HCT değer, Hb konsantrasyonu ve RBC sayısı referans aralıkta olduğu belirlenen köpekler sağlıklı olarak tanımlandı. Bu kriterler temelinde sağlıklı gruba göre, beklenileceği şekilde anemi grubundaki köpeklerin HCT değer, Hb konsantrasyonu ve RBC sayısı anlamlı düzeyde (p<0,001) düşük belirlendi (Tablo 14). Benzer şekilde iki grubun (sağlıklı-anemik; Tablo 14) ve sağlıklı ile rejeneratif anemi grubu retikülosit sayıları arasında farklar anlamlı bulunurken (Tablo 15), sağlıklı ve nonrejeneratif gruplar arası farklar ise istatistiksel anlamlı bulunmadı (Tablo 15). Bu durum, sağlıklı köpeklerde ve nonrejeneratif anemili köpeklerde absolut retikülosit sayısının <80.000 olması ve iki grup arasındaki farkın anemi olmasından ileri gelmektedir (Tablo 2). Çalışmada şiddetli ve çok şiddetli anemi grubunda yeterli sayıda hasta olmadığı için istatistiksel değerlendirme yapılmadı. Hafif ve orta şiddetli anemi grupları arasında retikülosit sayısı anlamlı farklılık göstermesi, hafif ve orta şiddetli anemi gruplarında retikülosit sayısında artışla karakterize rejeneratif, normal veya azalma görülen nonrejeneratif hasta bulunmasıyla ilişkilidir. Hemorajik ve hemolitik anemiler akut geliştiğinde anemi genelde şiddetli iken, nonrejeneratif anemiler ve bunlar içinde de birçok kronik enfeksiyon, yangı ve neoplastik oluşumlarda gelişen ve “kronik yangı” veya “hastalık anemisi” olarak nitelendirilen anemiler hafif-orta şiddetlidir (Cartwright, 1966; Dacie ve Lewis, 1991; Dheer, 1997; Madewell ve Feldman, 1980; King ve diğerleri, 1992). Bu çalışmada da nonrejeneratif anemiler orta şiddetliydi (HCT : >20- ≤ 30).



Demir, tüm canlı organizmalar için gerekli bir elementtir ve vücutta demir taşıma, fonksiyonel ve depolanan demir olmak üzere 3 formda bulunur. Demir homeostazı, intestinal emilimin sıkı bir şekilde düzenlenmesini, demirin eritropoezis için kullanılmasını, yaşlanan eritrositlerden demirin geri dönüşümünü ve demirin hepatositler ve makrofajlar tarafından depolanmasını içerir. Bunlara ek olarak "enflamatuar düzenleyici" enfeksiyon ve/veya enflamasyon ortamında hücrel demir tutulmasına neden olur. Bu mekanizmanın demiri patolojik organizmalardan uzak tutması mümkündür (Andrews, 1999; Edison ve diğerleri, 2008; McCown ve Specht, 2011). Hepsidin, vücutta demirin intestinal absorpsiyonunun ve makrofajlardan geri dönüşümünü sağlayan ana düzenleyici olup, sentezi vücutta demir depolanmasına neden olan durumlarda ve yangısal durumlarda artar, eritropoezis için gerçek demir ihtiyacının arttığı durumlarda inhibe edilir (Falzacappa ve Muckenthaler, 2005; Ganz, 2006). Bu yanıt, demirin kullanılabilirliğini en aza indirerek demir yükünü sınırlar ve patojenlerin büyümesini engeller. Bunun aksine, hipoksi ve anemiye yanıt olarak hepsidin ekspresyonu azalır ve eritropoez için daha fazla demir kullanılabilir hale gelir. Diğer yandan bağırsak demir emiliminin ve ferritin depolarından demir salınımının ana baskılayıcısı olarak tanımlanan hepsidin bilinen diğer tüm demir düzenleyicileri için bir aracı olduğu düşünülmektedir (Edison ve diğerleri, 2008; McCown ve Specht, 2011). Bu yönüyle, serum demir konsantrasyonu, vücutta depo demir miktarı, doku hipoksisi, eritropoezis ve yangı hepsidin konsantrasyonunu etkileyen faktörlerdir (Grimes ve diğerleri, 2012; Bohn 2013). Bu kapsamda serum hepsidin konsantrasyonunun farklı yangısal durumlarda ve (kronik) yangı anemisinde artması (Gabay ve Kushner, 1999) akut hemoraji, demir noksanlığı ve hemoliz sonucu gelişen anemilerde azalması beklenir (Pagani ve diğerleri, 2019). Bu çalışmada ise serum hepsidin konsantrasyonu rejeneratif ve nonrejeneratif anemi grupları arasında istatistiksel anlamlı farklılık göstermemesi (Tablo 15), hepsidin konsantrasyonunu etkileyen faktörlerle ilişkilendirilebilir. Hepsidin hormonu demir metabolizmasının temel düzenleyici olması dışında bir pozitif akut faz reaktandır (Gabay ve Kushner 1999; Gulhar ve Asfrac 2023). Rejeneratif anemilerde de altta yatan etiyolojiye bağlı olarak enfeksiyöz veya nonenfeksiyöz yangısal bir durum bulunabilir (Nemeth ve diğerleri, 2003). Bu durum da rejeneratif anemilerde serum hepsidin konsantrasyonunda beklenen azalmanın gerçekleşmemesi sonucunu doğurmuş olabilir. Çalışmada anemili köpekler absolut retikülosit sayısı dikkate alınarak rejeneratif ve nonrejeneratif anemili grup olarak ayrıldığı için bu iki grubun absolut retikülosit sayıları arasında istatistiksel farklılık olması beklenen bir sonuçtur. Buna karşın bu iki grupta serum hepsidin konsantrasyonu ile retikülosit sayıları

arasında yüksek anlamlı korelasyonlar bulunmaması, serum hepsidin konsantrasyonunun retikülosit sayısını doğrudan etkilemediğini veya etkisinin sınırlı olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmada aneminin tipi dışında, serum hepsidin konsantrasyonunda aneminin şiddetine göre de anlamlı farklılıklar belirlenmedi (Tablo 16). Çalışmada şiddetli ve çok şiddetli anemi gruplarında örnek sayısındaki yetersiz nedeniyle istatistiksel değerlendirme yapılamadı. Hafif ve orta şiddetli anemi gruplarında ise serum hepsidin konsantrasyonu arasında anlamlı farklılıklar bulunmaması, şiddeti hafif-orta olan anemilerin renal anemide olduğu gibi patojenezisinin (kan kaybı, hemoliz, toksik maddelerin kemik iliğini baskılaması ve yangı ilişkili demir metabolizması bozukluğu) kompleks olması ve kronik yangının başlıca faktör olmasına dayandırılabilir (Fry, 2010; Gyarmati ve diğerleri, 2011; Latimer ve Duncan, 2011; Tvedten, 2010).

İnsanlarda serum hepsidin konsantrasyonunun durumu özellikle demir noksanlığı ve bunun sonucu gelişen demir noksanlığı anemisi, kronik yangı anemisi ve hemakromatoz durumlarında söz konusu patolojileri karakterize eden hematolojik parametreler ve biyobelirteçler (serum demir konsantrasyonu, total demir bağlama kapasitesi, transferrin doyumu, serum ferritin konsantrasyonu, akut faz proteinler) altında değerlendirilmiştir. Çalışmalar demir noksanlığı ve anemisinde serum hepsin konsantrasyonunda azalma, kronik yangı anemisi ve hemakromatozda ise artış olduğunu ortaya koymuştur (Nemeth ve diğerleri, 2003). Hepsidin serumda farklı izoformları bulunmakta ve çalışmalarda serum hepsidin konsantrasyonu total veya izoform bazlı verilmektedir. Bu kapsamda sağlıklı insanlarda Handley ve diğerleri (2017) hepsidin 20, 22 ve 25 aminoasitlik izoformlarının ortalama konsantrasyonlarını sırasıyla 2,6, 0,97 ve 12,4 µg/L bulmuştur. Moe ve diğerleri (2013), hepsidin 6 farklı izoformu (Hep25, Hep 24, Hep23, Hep22, Hep21, Hep20, Hep19) olduğunu belirlemiş ve bu izoformların Hep25 5 örnekte (11,9-337 ng/mL), Hep24 4 örnekte (5,0-28 ng/mL), Hep23 3 örnekte (0,7-3,7 ng/mL), Hep22 5 örnekte (1,0-11 ng/mL), Hep20 5 örnekte (4,5-27 ng/mL) ve Hep19 1 örnekte (0,7 ng/mL) olarak rapor etmiştir. Addo ve diğerleri (2016), insanlarda 40 serum örneğindeki üç hepsidin izoformunun konsantrasyonlarını Hep-20 (ortalama 2,636 ng/mL), -22 (ortalama 0,973 ng/mL) ve -25 (ortalama 12,401 ng/mL) bulmuştur. Köpeklerde ise serum hepsidin konsantrasyonunun durumu Canine Parvoviral Enteritis (Salem ve diğerleri, 2018; Şahinduran ve diğerleri, 2016), *Anaplasma phagocytophium* enfeksiyonu (Deniz ve Şahinduran, 2020), akut ve kronik renal yetmezlik, sistit, portosistemik şant, piyometra ve farklı yangısal hastalıklarda (Vizi, 2023) değerlendirilmiş ve bu hastalıklarda serum hepsidin konsantrasyonundaki artışlar yangı

kaynaklı akut faz reaksiyona dayandırılmıştır. Sağlıklı köpeklerde yaş, cinsiyet ve beslemenin serum hepsidin konsantrasyonuna etkileri ve bu hormonun referans değerleri 86 köpekte değerlendirilmiş ve belirtilen değişkenlerin anlamlı etkilerinin olmadığı ve ortalama serum hepsidin-25 $\alpha$  konsantrasyonu 16,6 $\pm$ 7,7 ng/mL, referans aralığı da 5,3–36,4 ng/mL olarak rapor edilmiştir. Köpeklerde serum hepsidinin hastalıklardaki durumu ve demir parametreleri ile ilişkisi de yeni bir çalışmada (Vizi ve diğerleri, 2023) detaylı olarak değerlendirilmiştir. Söz konusu çalışmada 25 sağlıklı köpekte serum total (hepsidin-25 $\alpha$  + hepsidin-25 $\beta$ ) hepsidin konsantrasyonu ortalaması 79,8 ng/mL, referans aralığı 29,9–129,7 ng/mL, farklı hastalıklı 47 köpekte serum total hepsidin konsantrasyonu 124,5  $\pm$  6,1 ng/mL olarak ölçülmüş ve sağlıklı gruba göre hasta grubunda anlamlı ( $p<0,001$ ) yüksek bulunmuştur. Aynı çalışma demir dengesini sağlayan temel aracı olmasına rağmen beklenenin aksine hepsidinin her iki izoformunu ve demir profil parametreleri (serum demir konsantrasyonu, total demir bağlama kapasitesi, MCH, MCH, MCHC) arasında anlamlı korelasyonlar bulunmamıştır. Önceki bir çalışmada ise demir profil parametrelerinden sadece ferritin ile hepsidin arasında zayıf bir korelasyon rapor edilmiştir (Bohn, 2013). Bu çalışma anemi tip ve şiddeti temelinde planlanmıştır. Vizi ve diğerleri (2023), çalışmalarında anemi varlığı, tipi ve şiddetini belirtmeksizin 47 hasta köpeği tanı temelli incelemişler, hematolojik ve serum biyokimyasal değişkenleri hastalıkların tanısı için kullanmışlardır. Bu çalışma ile Vizi ve diğerleri (2023) çalışması arasındaki uyumsuzluğun, çalışmaların dizaynı kaynaklı olabileceğini düşündürdü.

Bu çalışmanın sonuçlarını bazı faktörler sınırlandırmaktadır. Birinci olarak proje bütçesinin yetersizliği nedeniyle hasta grubundaki köpeklerde yangı ve şiddetini gösteren, köpeklerde en önemli iki pozitif akut faz protein olan C-reaktif protein (CRP) ve haptoglobulin ölçümü yapılamamıştır. İkinci olarak aynı nedenle demir metabolizması profiline ilgili parametrelerin (serum demir konsantrasyonu, total demir bağlama kapasitesi, transferrin doyumu, serum ferritin konsantrasyonu, ölçümleri gerçekleştirilememiştir. Son olarak da şiddetli ve çok şiddetli anemi gruplarında istatistiksel değerlendirme için yeterli sayıda hasta sağlanamamıştır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Rejeneratif ve nonrejeneratif anemili köpeklerde serum hepsidin konsantrasyonunun durumunu belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, absolut retikülosit sayısı ile hepsidin konsantrasyonu da değerlendirilmiş olup;

1. Sağlıklı köpeklere göre rejeneratif ve nonrejeneratif anemili köpeklerin serum hepsidin konsantrasyonunun anlamlı bir farklılık göstermediği,
2. Serum hepsidin konsantrasyonunun rejeneratif anemili ve nonrejeneratif anemili köpekler arasındaki farkın istatistiksel anlamlı olmadığı,
3. Şiddetli anemili köpeklerin serum hepsidin konsantrasyonunun hafif anemili köpeklerden sayısal olarak yüksek olduğu,
4. Rejeneratif anemili köpeklerde absolut retikülosit sayısı ile serum hepsidin konsantrasyonu arasında pozitif zayıf korelasyon dışındaki korelasyonların göz ardı edilebilecek düzeyde olduğu belirlendi.

İleride anemili köpeklerde yapılacak çalışmalarda serum hepsidin konsantrasyonunun akut faz proteinler CRP ve haptoglobulin ile proinflamatuvar sitokinler dikkate alınarak değerlendirilmesinin yararlı olacağı kanısına varıldı.

## KAYNAKLAR

- Adamama-Moraitou, K.K., Saridomichelakis, M.N., Polizopoulou, Z., Kritsepi, M., Tsompanakou, A., Koutinas, A.F. (2005). Short-term exogenous glucocorticosteroidal effect on iron and copper status in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *Canadian Journal of Veterinary Research*, 69; 287–292.
- Addo, L., Ikuta, K., Tanaka, H., Toki, Y., Hatayama, M., Yamamoto, M., ... Kohgo, Y. (2016). The three isoforms of hepcidin in human serum and their processing determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-tandem MS). *International Journal of Hematology*, 103; 34-43. doi: 10.1007/s12185-015-1885-y
- Anderson, G.J. ve Frazer, D.M. (2005). Hepatic iron metabolism. *In seminars in liver disease* (25(4). baskı, ss. 420-432). New York: Thieme Medical Publishers doi: 10.1055/s-2005-923314
- Andrews, N.C. (1999). Disorders of iron metabolism. *The New England Journal of Medicine*, 341(26);1986–1995. doi:10.1056/NEJM199912233412607
- Andrews, N.C. (2008). Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 112(2); 219-230. doi: 10.1182/blood-2007-12-077388
- Andrews, G.A. ve Smith, J.E. (2000). Iron metabolism. B. F. Feldman, J. G. Zinkl, N. C. Jain, (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (5. Baskı, ss. 129–139). Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Archer, T. ve Mackin, A. (2013). Diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia. *Today's Veterinary Practice*, 7(8); 32-36.
- Aytuğ, N. (2019). *Köpek ve kedilerin iç hastalıkları* (3. baskı). Malatya: Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti.
- Balch, A. ve Mackin, A. (2007). Canine immune-mediated hemolytic anemia: pathophysiology, clinical signs, and diagnosis. *Compend*, 29(4); 217-225.
- Başol, G., Barutçuoğlu, B., Bozdemir, A.E. (2007). Demir homeostazının yeni düzenleyicisi hepsidin. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 5(3); 117-125.

- Bohn, A.A. (2013). Diagnosis of disorders of iron metabolism in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 43(6); 1319-1330. doi: 10.1016/j.cvsm.2013.07.002
- Bottari, N.B., Crivellenti, L.Z., Borin-Crivellenti, S., Oliveira, J.R., Coelho, S.B., Contin, C.M., ... Da Silva, A.S. (2016). Iron metabolism and oxidative profile of dogs naturally infected by *Ehrlichia canis*: Acute and subclinical disease. *Microbial Pathogenesis*, 92; 26-29. doi: 10.1016/j.micpath.2015.11.030
- Bullen, J.J. (1981). The significance of iron in infection. *Reviews of infectious diseases*, 3(6); 1127-1138. doi: 10.1093/clinids/3.6.1127
- Burgess, K., Moore, A., Rand, W., Cotter, S. M. (2000). Treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs with cyclophosphamide. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(4); 456-462. doi: 10.1111/j.1939-1676.2000.tb02256.x
- Camaschella, C. ve Nai, A. (2016). Ineffective erythropoiesis and regulation of iron status in iron loading anaemias. *British Journal of Haematology*, 172(4); 512–523. doi: 10.1111/bjh.13820
- Canfield, P.J., Watson, A.D.J., Ratcliff, R.C.C. (1987). Dyserythropoiesis, sideroblasts/siderocytes and hemoglobin crystallization in a dog. *Veterinary Clinical Pathology*, 16(1); 21-28. doi: 10.1111/j.1939-165X.1987.tb00457.x
- Cartwright, G.E. (1966). The anemia of chronic disorders. *Seminars in Hematology*, 3; 351-375.
- Castagna, A., Campostrini, N., Zaninotto, F., Girelli, D. (2010). Heparin assay in serum by SELDI-TOF-MS and other approaches. *Journal of Proteomics*, 73(3); 527-536. doi: 10.1016/j.jprot.2009.08.003
- Cowgill, E.S., Neel, J. A., Grindem, C.B. (2003). Clinical application of reticulocyte counts in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 33(6); 1223-1244. doi: 10.1016/S0195-5616(03)00099-8
- D'angelo, G. (2013). Role of hepcidin in the pathophysiology and diagnosis of anemia. *Blood Research*, 48(1); 10-15. doi: 10.5045/br.2013.48.1.10
- Dacie J.V. ve Lewis S.M. (1991). Blood-cell morphology in health and disease. Shirley John Vivian Dacie (Eds.), *Practical haematology* (7. baskı, ss. 87-113.). USA

- Dallalio, G., Law, E., Means Jr, R.T. (2006). Heparin inhibits in vitro erythroid colony formation at reduced erythropoietin concentrations. *Blood*, 107(7); 2702-2704. doi: 10.1182/blood-2005-07-2854
- Day, J.M. (2010). Immune-Mediated Anemias in the Dog. Douglas J. Weiss, K. Jane Wardrop (Eds.), *Veterinary hematology* (6. baskı, ss. 216-224). Blackwell Publishing Ltd.
- Deniz, M. ve Şahinduran, Ş. (2020). The Relationship Between Some Anemia Parameters and Heparin Level in Anaplasma phagocytophilum Seropositive Dogs. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(3); 90-97.
- Dheer, R. (1997). *A Study of Anaemia in Dogs* (Doktora Tezi), University of Glasgow, United Kingdom.
- Donovan, A., Roy, C.N., Andrews, N.C. (2006). The ins and outs of iron homeostasis. *Physiology*, 21(2); 115-123. doi: 10.1152/physiol.00052.2005
- Drobatz, K.J., Hopper, K., Rozanski, E.A., Silverstein, D.C. (Eds.). (2018). *Textbook of small animal emergency medicine*. USA: John Wiley & Sons.
- Edison, E.S., Bajel, A., Chandy, M. (2008). Iron homeostasis: new players, newer insights. *European Journal of Haematology*, 81(6); 411-424. doi:10.1111/j.1600-0609.2008.01143.x
- Eren, H., Çiftçi M.K., Ortatlı, M., Hatipoğlu, F., Özdemir, Ö. (2017). Hematopoietik Sistem. H. Eren ve M. K. Çiftçi (Eds.), *Veteriner sistemik patoloji 2.Cilt* (2. baskı, ss. 105-107). Konya: Selçuk Üniversitesi Basımevi.
- Erslev, A.J. (1990). Erythrocyte disorders: Clinical manifestations and classification of erythrocyte disorders. Williams W.J., Beutler E, Erslev A.J., Lichtman M.A. (Eds.), *Hematology* (4. baskı, ss. 423-429). New York: McGraw Hill Publishing Company.
- Evim, M.S., Baytan, B., Güneş, A.M. (2012). Demir ve Demir Metabolizması. *Journal of Current Pediatrics/Guncel Pediatri*, 10(2).
- Feldman, B.F., Kaneko, J.J., Farver, T.B. (1981). Anemia of inflammatory disease in the dog: ferrokinetics of adjuvant-induced anemia. *American Journal of Veterinary Research*, 42(4); 583-585.

- Fleming, R.E. ve Sly, W.S. (2001). Heparin: a putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(15); 8160-8162. doi: 10.1073/pnas.161296298
- Fleming, R.E. ve Sly, W.S. (2002). Mechanisms of iron accumulation in hereditary hemochromatosis. *Annual Review of Physiology*, 64(1); 663-680. doi: 10.1146/annurev.physiol.64.081501.155838
- Franchini, M., Montagnana, M., Lippi, G. (2010). Heparin and iron metabolism: from laboratory to clinical implications. *Clinica Chimica Acta*, 411(21-22);1565-1569. doi: 10.1016/j.cca.2010.07.003
- Frowde, P.E., Gow, A.G., Burton, C.A., Powell, R., Lipscomb, V. J., House, A.K., ... Tivers, M. S. (2014). Hepatic hepcidin gene expression in dogs with a congenital portosystemic shunt. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(4); 1203-1205. doi: 10.1111/jvim.12387
- Fry, M.M. (2010). Anemia of inflammatory, neoplastic, renal, and endocrine diseases. Douglas J. Weiss, K. Jane Wardrop (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (6. baskı, ss. 246-250). John Wiley & Sons.
- Fry, M.M. ve Kirk, C.A. (2006). Reticulocyte indices in a canine model of nutritional iron deficiency. *Veterinary Clinical Pathology*, 35(2); 172-181. doi:10.1111/j.1939-165X.2006.tb00110.x
- Fry, M.M., Kirk, C.A., Liggett, J. L., Daniel, G.B., Baek, S.J., Gouffon, J.S., ... Rekapalli, B. (2009). Changes in hepatic gene expression in dogs with experimentally induced nutritional iron deficiency. *Veterinary Clinical Pathology*, 38(1); 13-19. doi: 10.1111/j.1939-165X.2008.00081.x
- Fry, M.M., Liggett, J.L., Baek, S.J. (2004). Molecular cloning and expression of canine hepcidin. *Veterinary Clinical Pathology*, 33(4); 223-227. doi:10.1111/j.1939-165X.2004.tb00377.x
- Furugouri, K. (1972). Plasma iron and total iron-binding capacity in piglets in anemia and iron administration. *Journal of Animal Science*, 34(3); 421-426. doi:10.2527/jas1972.343421x
- Ganz, T. (2003). Heparin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*, 102(3); 783-788. doi:10.1182/blood-2003-03-0672



- Ganz, T. (2011). Heparidin and iron regulation, 10 years later. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 117(17); 4425-4433. doi:10.1182/blood-2011-01-258467
- Ganz, T. ve Nemeth, E. (2009). Iron sequestration and anemia of inflammation. *In seminars in hematology* (46(4). baskı, ss. 387-393). WB Saunders. doi: 10.1053/j.seminhematol.2009.06.001
- Ganz, T., Olbina, G., Girelli, D., Nemeth, E., Westerman, M. (2008). Immunoassay for human serum heparidin. *Blood The Journal of the American Society of Hematology*, 112(10); 4292-4297. doi: 10.1182/blood-2008-02-139915
- Ganz, T. ve Nemeth, E. (2011). Heparidin and disorders of iron metabolism. *Annual Review of Medicine*, 62; 347– 360. doi: 10.1146/annurev-med-050109-142444
- Ganz, T. ve Nemeth, E. (2012). Heparidin and iron homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1823(9); 1434-1443. doi: 10.1016/j.bbamcr.2012.01.014
- Grimes, C.N., Giori, L., Fry, M.M. (2012). Role of heparidin in iron metabolism and potential clinical applications. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 42(1); 85-96. doi: 10.1016/j.cvsm.2011.10.002
- Gyarmati, B., Szabó, E., Szalay, B., Czuczy, N., Toldi, G., Cseh, Á., ... Takáts, Z. (2011). Serum maternal heparidin levels 3 days after delivery are higher compared to those measured at parturition. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 37(11); 1620-1624. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01586.x
- Handley, S., Couchman, L., Sharp, P., Macdougall, I., Moniz, C. (2017). Measurement of heparidin isoforms in human serum by liquid chromatography with high resolution mass spectrometry. *Bioanalysis*, 9(6); 541-553. doi: 10.4155/bio-2016-0286
- Harvey, J.W. (1997). The erythrocyte: physiology, metabolism and biochemical disorders. J. Jerry Kaneko John W. Harvey, Michael L. Bruss (Eds.) *Clinical Biochemistry of domestic animals* (5. Baskı, ss. 157). New York: Academic Press.
- Harvey, J.W. (2008). Iron metabolism and its disorders. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6; 259-285.
- Harvey, W.J. (2010). Erythrocyte biochemistry. Douglas J. Weiss, K. Jane Wardrop (Eds.). *Schalm's veterinary hematology* (6. Baskı, ss. 131-135). Blackwell Publishing.

- Harvey, J.W., Levin, D.E., Chen, C.L. (1987). Potential effects of glucocorticoids on serum iron concentration in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 16(2); 46-50. doi: 10.1111/j.1939-165X.1987.tb00461.x
- Harvey, J.W. ve Smith, J.E. (1994). Haematology and clinical chemistry of English springer spaniel dogs with phosphofructokinase deficiency. *Comparative Haematology International*, 4; 70-75.
- Hastka, J., Lasserre, J.J., Schwarzbeck, A., Hehlmann, R. (1994). Central role of zinc protoporphyrin in staging iron deficiency. *Clinical Chemistry*, 40(5); 768-773. doi: 10.1093/clinchem/40.5.768
- Hentze, M. W., Muckenthaler, M. U., Galy, B., Camaschella, C. (2010). Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell*, 142(1); 24-38. doi: 10.1016/j.cell.2010.06.028
- Hodges, J. ve 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. doi: 10.2460/javma.238.11.1452
- Holland, C.T., Canfield, P. J., Watson, A.D. J., Allan, G.S. (1991). Dyserythropoiesis, polymyopathy, and cardiac disease in three related English springer spaniels. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 5(3); 151-159. doi: 10.1111/j.1939-1676.1991.tb00942.x
- Hokamp, J. ve Piccione, J. (2022). Hematology of Anseriformes. *Schalm's veterinary hematology*, 1140-1147. doi: 10.1002/9781119500537.ch125
- Hunter, H.N., Fulton, D.B., Ganz, T., Vogel, H.J. (2002). The Solution Structure of Human Hpcidin, a Peptide Hormone with Antimicrobial Activity That Is Involved in Iron Uptake and Hereditary Hemochromatosis\* 210. *Journal of Biological Chemistry*, 277(40); 37597-37603. doi: 10.1074/jbc.M205305200
- Ingram, M. ve Coopersmith, A. (1969). Reticulated platelets following acute blood loss. *British Journal of Haematology*, 17(3); 225-229. doi: 10.1111/j.1365-2141.1969.tb01366.x
- Jain, N.C. (1993). Evaluation of anemias and polycythemias. *Essentials of veterinary haematology* (ss. 159-168). Philadelphia: Lea and Febiger.

- Jordan, J.B., Poppe, L., Haniu, M., Arvedson, T., Syed, R., Li, V., Sasi, B.J. (2009). Heparin revisited, disulfide connectivity, dynamics, and structure. *Journal of Biological Chemistry*, 284(36); 24155–24167. doi: 10.1074/jbc.M109.017764
- Kemna, E., Pickkers, P., Nemeth, E., van der Hoeven, H., Swinkels, D. (2005). Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood*, 106(5); 1864-1866. doi: 10.1182/blood-2005-03-1159
- King, L.G., Giger U., Diserens D., Nagode L. (1992). Anaemia of chronic renal failure in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 6; 246-270. doi: 10.1111/j.1939-1676.1992.tb00350.x
- Kolb, E. (1963). The metabolism of iron in farm animals under normal and pathologic conditions. *Advances in Veterinary Science*, 8; 49-114.
- Krause, A., Neitz, S., Mägert, H. J., Schulz, A., Forssmann, W. G., Schulz-Knappe, P., ... Adermann, K. (2000). LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Letters*, 480(2-3); 147-150. doi: 10.1016/S0014-5793(00)01920-7
- Kroot, J. J., Hendriks, J. C., Laarakkers, C. M., Klaver, S. M., Kemna, E. H., Tjalsma, H., ... Swinkels, D. W. (2009). (Pre) analytical imprecision, between-subject variability, and daily variations in serum and urine hepcidin: implications for clinical studies. *Analytical Biochemistry*, 389(2); 124-129. doi: 10.1016/j.ab.2009.03.039
- Kulaksız, H., Theilig, F., Bachmann, S., Gehrke, S. G., Rost, D., Janetzko, A., ... Stremmel, W. (2005). The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. *Journal of Endocrinology*, 184(2); 361-370. doi: 10.1677/joe.1.05729
- Kundrapu, S., ve Noguez, J. (2018). Laboratory assessment of anemia. *Advances in Clinical Chemistry*, 83; 197-225. doi: 10.1016/bs.acc.2017.10.006
- Lange, R. D., Jones, J. B., Chambers, C., Quirin, Y., Sparks, J. C. (1976). Erythropoiesis and erythrocytic survival in dogs with cyclic hematopoiesis. *American Journal of Veterinary Research*, 37(3); 331-334.
- Latimer, K. S. ve Duncan, J. R. (2011). Erythrocytes. Kenneth S. Latimer (Eds.), *Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology*. (5. baskı, ss.3-44). United Kingdom; John Wiley& Sons

- Latimer, S. L., Mahaffey, E. A., Prasse, K. W. (2003). *Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine clinical pathology* (4. baskı). United Kingdom; A Blackwell Publishing Company.
- Lee, P., Peng, H., Gelbart, T., Wang, L., Beutler, E. (2005). Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(6); 1906-1910. doi: 10.1073/pnas.0409808102
- Lieu, P. T., Heiskala, M., Peterson, P. A., Yang, Y. (2001). The roles of iron in health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 22(1-2); 1-87. doi: 10.1016/S0098-2997(00)00006-6
- Madewell, B.R. ve Feldman, B.F. (1980). Characterisation of anemias associated with neoplasia in small animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 176; 419-425.
- Malyszko, J. (2009). Hepcidin assays: ironing out some details. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 4(6);1015-1016. doi: 10.2215/CJN.02690409
- McCown, J. L. ve Specht, A. J. (2011). Iron homeostasis and disorders in dogs and cats: a review. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 47(3); 151-160. doi: 10.5326/JAAHA-MS-5553
- Mills, J. (2012). Anaemia. Barbara Kohn, Michael J. Day (Eds.), *BSAVA Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine* (2. Baskı, ss. 31-44). İngiltere, BSAVA
- Moe, M. K., Hardang, I. M., Hagve, T. A. (2013). Novel circulating isoforms of hepcidin. *Clinical Chemistry*, 59(9); 1412-1414. doi: 10.1373/clinchem.2013.208371
- Mukaka, M.M. (2012). A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*, 24(3); 69-71.
- Naigamwalla, D. Z., Webb, J. A., Giger, U. (2012). Iron deficiency anemia. *The Canadian Veterinary Journal*, 53(3); 250.
- Nemeth, E. ve Ganz, T. (2006). Regulation of iron metabolism by hepcidin. *Annual Review of Nutrition*, 26; 323–342. doi: 10.1146/annurev.nutr.26.061505.111303
- Nemeth, E. ve Ganz, T. (2009). The Role of Hepcidin in Iron Metabolism. *Acta Haematologica*, 122(2-3); 78–86. doi: 10.1159/000243791

- Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, Ganz T, Kaplan J. (2004). Heparin regulates iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, 306(5704); 2090-2093. doi: 10.1126/science.1104742
- Nemeth, E., Valore, E. V., Territo, M., Schiller, G., Lichtenstein, A., Ganz, T. (2003). Heparin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 101(7); 2461-2463. doi: 10.1182/blood-2002-10-3235
- Neumann, S. (2003). Serum iron level as an indicator for inflammation in dogs and cats. *Comparative Clinical Pathology*, 12; 90-94. doi: 10.1007/s00580-003-0481-3
- Newlands, C. E., Houston, D. M., Vasconcelos, D. Y. (1994). Hyperferritinemia associated with malignant histiocytosis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 205(6); 849-851.
- Nicolas, G., Bennoun, M., Devaux, I., Beaumont, C., Grandchamp, B., Kahn, A., ... Vaulont, S. (2001). Lack of heparin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(15); 8780-8785. doi: 10.1073/pnas.151179498
- Nicolas, G., Chauvet, C., Viatte, L., Danan, J. L., Bigard, X., Devaux, I., ... Vaulont, S. (2002). The gene encoding the iron regulatory peptide heparin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *The Journal of Clinical Investigation*, 110(7); 1037-1044. doi: 10.1172/JCI15686
- Olver, C.S. (2010). Erythropoiesis. Weiss D.J., Wordrop, K.J. (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (6. Baskı, ss.36-42). Wiley-Blackwell.
- Ottenjann, M., Weingart, C., Arndt, G., Kohn, B. (2006). Characterization of the anemia of inflammatory disease in cats with abscesses, pyothorax, or fat necrosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(5); 1143-1150. doi: 10.1111/j.1939-1676.2006.tb00713.x
- Pagani, A., Nai, A., Silvestri, L., Camaschella, C. (2019). Heparin and anemia: a tight relationship. *Frontiers in Physiology*, 10; 1294. doi: 10.3389/fphys.2019.01294
- Pak, M., Lopez, M. A., Gabayan, V., Ganz, T., Rivera, S. (2006). Suppression of heparin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood*, 108(12); 3730-3735. doi: 10.1182/blood-2006-06-028787

- Paltrinieri, S., Preatoni, M., Rossi, S. (2010). Microcytosis does not predict serum iron concentrations in anaemic dogs. *The Veterinary Journal*, 185(3); 341-343. doi: 10.1016/j.tvjl.2009.06.015
- Park, C. H., Valore, E. V., Waring, A. J., Ganz, T. (2001). Hecpidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *Journal of Biological Chemistry*, 276 (11); 7806–7810. doi: 10.1074/jbc.M008922200
- Peyssonaux, C., Zinkernagel, A. S., Datta, V., Lauth, X., Johnson, R. S., Nizet, V. (2006). TLR4 dependent hecpidin expression by myeloid cells in response to bacterial pathogens. *Blood*, 107(9); 3727-3732. doi: 10.1182/blood-2005-06-2259
- Pigeon, C., Ilyin, G., Courselaud, B., Leroyer, P., Turlin, B., Brissot, P., ... Loréal, O. (2001). A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hecpidin, is overexpressed during iron overload. *Journal of Biological Chemistry*, 276(11); 7811-7819. doi: 10.1074/jbc.M008923200
- Ramos, E., Kautz, L., Rodrigues, R., Hansen, M., Gabayan, V., Ginzburg, Y., ... Ganz, T. (2011). Evidence for distinct pathways of hecpidin regulation by acute and chronic iron loading in mice, *Hepatology*, 53(4); 1333–1341. doi: 10.1002/hep.24178
- Rivera, S., Liu, L., Nemeth, E., Gabayan, V., Sorensen, O. E., Ganz, T. (2005). Hecpidin excess induces the sequestration of iron and exacerbates tumor-associated anemia. *Blood*, 105(4); 1797-1802. doi: 10.1182/blood-2004-08-3375
- Rivera, S., Nemeth, E., Gabayan, V., Lopez, M. A., Farshidi, D., Ganz, T. (2005). Synthetic hecpidin causes rapid dose-dependent hypoferremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood*, 106(6); 2196-2199. doi: 10.1182/blood-2005-04-1766
- Rizzi, T.E., Meinkoth, J.H., Clinkenbeard, K.D. (2000). Normal hematology of the dog. B. F. Feldman, J. G. Zinkl, N. C. Jain, (Eds.), *Schalm's veterinary hematology*, (5. Baskı, ss. 801). Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott, Williams and Wilkins.
- Rossi, E. (2005). Hecpidin the iron regulatory hormone. *Clinical Biochemist Reviews*, 26(3); 47-49.
- Salem, N. Y., Yehia, S. G., Farag, H. S., Soliman, S. M. (2018). Evaluation of hecpidin level and clinico-pathological modifications in canine parvovirus enteritis. *International Journal of Veterinary Science*, 7(2); 93-96.

- Santosh, H.N., Nagaraj, T., Sasidaran, A. (2015). Anemia of chronic disease: A comprehensive review. *Journal Medicine Radiology, Pathology & Surgery*, 1; 13-6. doi: 10.15713/ins.jmrps.4
- Sasu, B. J., Li, H., Rose, M. J., Arvedson, T. L., Doellgast, G., Molineux, G. (2010). Serum hepcidin but not prohepcidin may be an effective marker for anemia of inflammation (AI). *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 45(3); 238-245. doi: 10.1016/j.bcmd.2010.07.013
- Singh, B., Arora, S., Agrawal, P., Gupta S. K. (2011). Hepcidin: a novel peptide hormone regulating iron metabolism. *Clinica Chimica Acta*, 412(11-12); 823-830. doi: 10.1016/j.cca.2011.02.014
- Smith, J. E. (1992). Iron metabolism in dogs and cats. *The Compendium on Continuing Education for The Practicing Veterinarian*, 14; 39-43.
- Smith, J. E. (1997). Iron metabolism and its disorders. Jerry Kaneko John W. Harvey, Michael L. Bruss (Eds.), *Clinical biochemistry of domestic animals* (5. Basım, ss. 223-238). New York: Academic Press.
- Sodikoff, C. H. (2001). *Laboratory profiles of small animal diseases: a guide to laboratory diagnosis* (3. Baskı). Mosby Inc.
- Soubasis, N., Rallis, T. S., Vlemmas, J., Adamama-Moraitou, K.K., Roubies, N., Prassinou, N. N., ... Brellou, G. (2006). Serum and liver iron concentration in dogs with experimentally induced hepatopathy. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 21(3); 599-604. doi: 10.1111/j.1440-1746.2005.04066.x
- Sprague, W.S., Hackett, T.B., Johnson, J.S., Swardson-Olver, C.J. (2003). Hemochromatosis secondary to repeated blood transfusions in a dog. *Veterinary Pathology*, 40(3); 334-337. doi: 10.1354/vp.40-3-334
- Steinberg, J.D. ve Olver, C.S. (2005). Hematologic and biochemical abnormalities indicating iron deficiency are associated with decreased reticulocyte hemoglobin content (CHr) and reticulocyte volume (rMCV) in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 34; 23-27. doi: 10.1111/j.1939-165X.2005.tb00004.x
- Stewart, W. B., Vassar, P. S., Stone, R. S. (1953). Iron absorption in dogs during anemia due to acetylphenylhydrazine. *The Journal of Clinical Investigation*, 32(12); 1225-1228.

- Stokol, T. ve Blue, J. T. (1999). Pure red cell aplasia in cats: 9 cases (1989-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 214(1); 75-79. doi: 10.2460/javma.1999.214.01.75
- Stokol, T., Blue, J. T., French, T. W. (2000). Idiopathic pure red cell aplasia and nonregenerative immune-mediated anemia in dogs: 43 cases (1988–1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216(9); 1429-1436. doi: 10.2460/javma.2000.216.1429
- Subha Palaneeswari, M., Ganesh, M., Karthikeyan, T., Devi, A. M., Mythili, S. V. (2013). Hecpidin–Minireview. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(8); 1767. doi: 10.7860/JCDR/2013/6420.3273
- Şahinduran, S., Albay, M. K., Karakurum, M. C., Ozmen, O., Kale, M. (2016). Investigation of Some Cytokines, Acute Phase Proteins and Hecpidin Levels Before and After Treatment in Dogs with Parvoviral Gastroenteritis. *Pakistan Veterinary Journal*, 36(4).
- Theurl, I., Aigner, E., Theurl, M., Nairz, M., Seifert, M., Schroll, A., ... Weiss, G. (2009). Regulation of iron homeostasis in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia: diagnostic and therapeutic implications. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 113(21); 5277-5286. doi: 10.1182/blood-2008-12-195651
- Thrall, M.A. (2012). Classification of and diagnostic approach to anemia. Glade Weiser, Mary Anna Thrall, Robin W. Allison, Terry W. Campbell (Eds.). *Veterinary hematology and clinical chemistry* (2. Baskı, ss. 75-113). ABD: Wiley-Blackwell.
- Toprak, D. ve Aslan Karaoğlu, S. (2016). Kronik hastalık anemisi. *Türkiye Klinikleri Dergisi*, 7(3),56-63.
- Tvedten, H. (2010). Laboratory and Clinical Diagnosis of Anemia. Weiss DJ, Wardrop KJ. (Ed), *Schalm's veterinary hematology* (6. Baskı, ss.152-161). ABD: Blackwell
- Tvedten, H. (2022). Classification and laboratory evaluation of anemia. *Schalm's veterinary hematology*, 198-208.
- Vizi, Z., Hotchkiss, D., Lányi, K., Sterczer, Á. (2023). Quantitative demonstration of the existence of two isoforms of canine hepcidin in the serum & urine of dogs. *Research in Veterinary Science*, 162; 104949. doi: 10.1016/j.rvsc.2023.104949
- Vizi, Z., Lányi, K., Bagi, M., Laczay, P., Balogh, N., Sterczer, Á. (2020). Serum hepcidin measurements in healthy dogs using liquid chromatography/tandem mass



- spectrometry. *Veterinary Clinical Pathology*, 49(2); 292-298. doi: 10.1111/vcp.12872
- Voigt, G. L. ve Swist, S. L. (2011). *Hematology techniques and concepts for veterinary technicians*. John Wiley & Sons.
- Waner, T. ve Harrus, S. (2000). Anemia of inflammatory disease. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C., Schalm, O.W. (Eds.). *Schalm's veterinary hematology* (5. Baskı, ss. 205-209). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Wang, C., Fang, Z., Zhu, Z., Liu, J., Chen, H. (2017). Reciprocal regulation between hepcidin and erythropoiesis and its therapeutic application in erythroid disorders. *Experimental Hematology*, 52; 24-31. doi: 10.1016/j.exphem.2017.05.002
- Weeks, B. R., Smith, J. E., Phillips, R. M. (1988). Enzyme-linked immunosorbent assay for canine serum ferritin, using monoclonal anti-canine ferritin immunoglobulin G. *American Journal of Veterinary Research*, 49(7); 1193-1195.
- Weeks, B. R., Smith, J. E., Northrop, J. K. (1989). Relationship of serum ferritin and iron concentrations and serum total iron-binding capacity to nonheme iron stores in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 50(2); 198-200.
- Weeks, B. R., Smith, J. E., Stadler, C. K. (1990). Effect of dietary iron content on hematologic and other measures of iron adequacy in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196(5); 749-753. doi: 10.2460/javma.1990.196.05.749
- Weinstein, D. A., Roy, C. N., Fleming, M. D., Loda, M. F., Wolfsdorf, J. I., Andrews, N. C. (2002). Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 100(10); 3776-3781. doi: 10.1182/blood-2002-04-1260
- Weiser, G., ve O'Grady, M. (1983). Erythrocyte volume distribution analysis and hematologic changes in dogs with iron deficiency anemia. *Veterinary Pathology*, 20(2); 230-241. doi: 10.1177/030098588302000211
- Weiser, M. G., ve Kociba, G. J. (1983). Sequential changes in erythrocyte volume distribution and microcytosis associated with iron deficiency in kittens. *Veterinary Pathology*, 20(1); 1-12. doi: 10.1177/030098588302000101
- Weiss, D.J. (2000). Aplastic anemia. B. F. Feldman, J. G. Zinkl, N. C. Jain, (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (5. Baskı, ss. 212-215). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins

- Weiss, D. J. ve Lulich, J. (1999). Myelodysplastic syndrome with sideroblastic differentiation in a dog. *Veterinary Clinical Pathology*, 28(2); 59-63. doi: 10.1111/j.1939-165X.1999.tb01046.x
- Weiss, D. J. ve Wardrop, K. J. (Eds.). (2011). *Schalm's veterinary hematology*. John Wiley & Sons.
- Zachary, J.F. (2021). *Pathologic basis Of veterinary disease* (7. Baskı). ABD: Elsevier.
- Zarychanski, R. ve Houston, D.S. (2008). Anemia of chronic disease: A harmful disorder or an adaptive, beneficial response? *Canadian Medical Association Journal*, 179(4); 333-7. doi: 10.1503/cmaj.071131
- Zhang, A. S. ve Enns, C. A. (2009). Molecular mechanisms of normal iron homeostasis. *ASH Education Program Book*, 2009(1); 207-214. doi: 10.1182/asheducation-2009.1.207

# EKLER

## Ek 1. ADÜ- HADYEK Raporu



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



Aydın, 29/09/2021

**Oturum** : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2021 Yılı IX. Oturum  
**Sayı** : 64583101/2021/128  
**Proje Başlığı** : Rejeneratif ve Nonrejeneratif Anemili Köpeklerde Serum Hepsidin Konsantrasyonunun Değerlendirilmesi.  
**Proje Yürütücüsü** : Hüseyin VOYVODA  
**Proje Ekibi** : Buse GENÇSOY

**Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:**

İnsan embriyosu ve fıtusu kullanılması  
İnsan embriyosu ve fıtusu 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. Murat SARIERLER  
Başkan

  
Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN  
Başkan Yardımcısı

  
Prof. Dr. Turhan DOST  
Üye

  
Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ  
Üye

  
Doç. Dr. Serkan BAKIRCI  
Üye

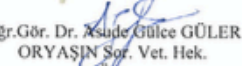
  
Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAARSLAN  
Üye

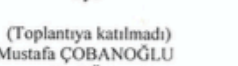
  
Dr. Öğr. Üyesi A. Önder ÜSTÜNDAĞ  
Üye

  
Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ  
Üye

  
Vet. Hek. Dr. Serdar AKTAŞ  
Sor. Vet. Hek.  
Üye

  
Hidayet YAMAN  
Serbest Vet. Hek. Üye

  
Öğr. Gör. Dr. Asude Gülce GÜLER  
ORYAŞIN Sor. Vet. Hek.  
Üye

  
(Toplantıya katılmadı)  
Mustafa ÇOBANOĞLU  
Sivil Üye

  
Şenay TERİNBAS  
HAYTAP Üye.

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

## Ek 2. Bilgi Onam Formu

### Özel Muayene Formu

Veteriner Hekim: Buse KOCAMAN

Yüksek Lisans Tezi: **Rejeneratif ve Nonrejeneratif Anemili Köpeklerde Serum Hepsidin Konsantrasyonunun Değerlendirilmesi**

### BİLGİ ONAM FORMU

...../...../20..

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA'nın yürütücülüğü yaptığı "**Rejeneratif ve Nonrejeneratif Anemili Köpeklerde Serum Hepsidin Konsantrasyonunun Değerlendirilmesi**" 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 köpeğimin bulunmasını kabul ediyorum.

**Hasta Sahibinin Adı Soyadı**

**Adres**

**İmza**

### Ek 3. Hasta Gözlem Formu

#### HASTA GÖZLEM FORMU

<b>Protokol No</b>	
<b>Tarih</b>	.../.../ 20..
<b>Tür</b>	<input type="checkbox"/> Köpek
<b>İrk</b>	<input type="checkbox"/> Melez ... <input type="checkbox"/> Saf .....
<b>Yaş</b>	..... Yıl ..... Ay .....Gün
<b>Cinsiyet</b>	<input type="checkbox"/> Dişi <input type="checkbox"/> Erkek <input type="checkbox"/> Kısır <input type="checkbox"/> Kastre <input type="checkbox"/> Gebe
<b>Ağırlık</b>	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Zayıf <input type="checkbox"/> Şişman <input type="checkbox"/> Obez
<b>Sağlık Durumu</b>	<input type="checkbox"/> Sağlıklı <input type="checkbox"/> Hasta:
<b>Signalement</b>	
<b>Beden Sıcaklığı (°C)</b>	
<b>Kalp Frekansı</b>	
<b>Solunum Sayısı</b>	
<b>Temel Şikayet</b>	
<b>Olası/ Kesin Teşhis</b>	

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“Rejeneratif ve Nonrejeneratif Anemili Köpeklerde Serum Hepsidin Konsantrasyonunun Değerlendirilmesi” 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.

Buse KOCAMAN

... / ... / ...

## **ÖZ GEÇMİŞ**