

Eritropoietin: Yapısı, yapım yeri, metabolizması, etki mekanizması ve ölçüm metotları

Ebubekir Ceylan

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

Özet: Eritropoietin (Epo), glikoprotein yapısında bir hormon olup, eritroid seri ön hücrelerin çoğalmasını ve olgunlaşmasını sağlar. Başlıca üretim yeri böbreklerdir. Epo, Epo aktivitesini tespit eden bioassaylerle veya Epo antijenini belirleyen immunoassaylerle ölçülebilmektedir. Epo seviyesini belirlemek için serum, plazma ve idrar kullanılmaktadır. Bu derlemede, böbrek hastalıkları ve anemide tanı kriteri olarak kullanılan eritropoietinin yapısı, yapım yeri, etki yeri ve mekanizması ile ölçüm metotları hakkındaki bilgiler aktarılmaya çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Eritropoietin, Eritropoietinin mekanizması ve ölçüm metotları.

Erythropoietin: Structure, production site, metabolism, mechanism of effect and measurement

Abstract: Erythropoietin (Epo) is a glycoprotein hormone which functions as a growth factor for stimulating the proliferation and differentiation of erythroid precursor cells. The hormone is produced primarily by the kidney. Epo can be measured with bioassay, which determine the hormone's activity, or with immunoassay, which detect the Epo antigen. To determine the level of Epo, serum, plasma and urine can be used. In this review, it has been given some information about the structure of Epo, production site, effect and mechanism and, assay methods of it which is used a diagnostic tool in kidney diseases and anemias.

Key Wors: Erythropoietin, Mechanism and clinical use of erythropoietin.

1. Giriş

Eritropoietin primer olarak böbreklerden salgılanan ve glikoprotein yapısında bir hormondur (1). Hormon şiddetli böbrek hastalıkları ve anemilerin tanısında önemli bir tanı kriteri olarak kullanılmaya başlanmıştır (2-6). Özellikle son yıllarda tedavide de kullanılmaya başlayan Epo'nun önemi gittikçe artmaktadır (7). Bu derlemede, böbrek hastalıkları ve anemide tanı kriteri olarak kullanılan eritropoietinin yapısı, yapım yeri, etki yeri ve mekanizması ile ölçüm metotları hakkındaki bilgiler aktarılmaya çalışılmıştır.

2. Eritropoietin'in Yapısı

Eritropoietin (Epo), temel olarak böbreklerden salgılanan, glikoprotein yapısında bir hormondur (1). Epo'nun elde edilmesinin zorluğu nedeniyle, yapısı ile ilgili çalışmaların çoğu rekombinant yolla elde edilen hormonla yapılmıştır (8). Molekül ağırlığı, tespit metoduna göre 30.400 - 34.000 dalton arasında olup, %30 - %49 oranında karbonhidrat ihtiva etmektedir. Bu

karbonhidratın %11'ini sialik asit, %11'ini heksoz ve %8'ini N-asetilglukozamin'in oluşturduğu bildirilmektedir (9-11).

Eritropoietin'in in vivo aktivitesi için sialik asit birimlerinin varlığı gereklidir. Sialik asit, Epo'daki galaktoz birimlerinin hepatik hücrelerin galaktoz reseptörlerine bağlanmasına yardım eder (12). Sialik asidi koparılmış rekombinant human eritropoietin (rHuEpo) karaciğerde hızlı bir şekilde metabolize edilir (13). Sialik asiti olmayan Epo'nun in vivo aktivitesi yoktur. Hormonal peptidin in vivo aktivitesi için glikozilasyonu gereklidir. Memeli hücreleri tarafından sentezlenen Epo glikozil eklenmiş yapıdadır (10-12).

Eritropoietin molekülünün helikal yapısının, iki uzun ve bir kısa sarmal bağlantıyla birbirine paralel olmayan 4- α -heliksten oluşan bir globüler protein olduğu kabul edilmektedir (14). İnsan Epo'su, 7-161 ve 29-33 arasında disülfid bağlarıyla bağlı olan 4 sisteine sahiptir (14). Sülfidril gruplarının yaygın alkilasyonu, Epo'nun biyolojik aktivitesinin geri dönüşümsüz

kaybına neden olur (14). Disülfid köprüsünün Epo'nun fonksiyonu için gerekli olduğu bildirilmiştir (15).

Eritropoietinin etkisi, ünitelerle ifade edilir. Bir ünite, aç bırakılarak 5 µmol kobalt⁺² verilen ratlarda üretilen Epo miktarı (serum Epo'sundaki artış) olarak tanımlanmıştır (15, 16).

3. Yapım Yeri

Eritroid seri ön hücrelerin proliferasyonunu uyaran, yaşamlarını sürdürmelerini sağlayan Epo'nun, başlıca renal peritubuler intersitisyel hücrelerde, hepatositlerde, kupfer hücrelerinde ve kemik iliğinde üretildiği bildirilmektedir (8, 17-22). Makrofajların da Epo ürettikleri ortaya konulmuştur (23).

Artmış serum Epo seviyesinden sorumlu tutulan en önemli organın böbrekler olduğu Jacobson ve ark. (24) tarafından bildirilmiştir. Bilateral nefrektomi yapılan ratlarda, anemi gelişmesine ya da kobalt uygulamasına cevap olarak Epo üretiminin gerçekleşmediği bildirilmektedir (24).

Hepatektominin anefrik ratların rezidüel Epo üretimini bozması nedeniyle, karaciğerin ekstrarenal Epo üretiminin primer bölgesi olduğu bildirilmektedir (8, 25). Epo mRNA'sı, insan ve fare fetal karaciğerinde gebeliğin orta döneminde yeterli düzeyde bulunduğu halde, son dönemde tespit edilememiştir (17, 24). Yetişkin karaciğerinin total Epo üretimine katkısı %10-15'tir (8, 16, 17, 25). Epo üretimi fetal dönemde karaciğerde gerçekleşirken, doğumdan hemen sonra böbrekler tarafından yapılmaktadır (7, 25, 26).

Beru ve ark. (27) ile Schuster ve ark. (23) yaptıkları çalışmada, Epo mRNA'sını anemik karaciğerde sınırlı düzeyde bulurken; dalak, beyin, kas ve akciğerlerde tespit edememişlerdir.

Eritropoietin hipoksiye cevap olarak sentezlenir ve hormonun birikimi olmaması nedeniyle gerekli miktarı plazmada ve sadece biyolojik olarak aktif formda bulunur. Dolaşımdaki Epo seviyesinin artmasının, bu hormonun üretimi üzerine herhangi negatif bir etkisi yoktur (28).

Androjenler (testosteron), tiroid hormonları (triiodotironin, tiroksin), katekolaminler, IGF-I, IL-3, vasokonstriktif ajanlar (noradrenalin, 5-hidroksitriptamin, anjiyotensin ve bombesin), büyüme hormonu, laktojenik hormonlar, prostaglandinler (PGA, PG-I₂, PGE, PGE₁, PGE₂, PGE₂' nin uzun aktiviteli analogları olan 16,16-dimetil PGE₂ ve 15-metil PGE₂), albuterol, terbutaline, β-2 adrenerejik agonistler ve renal arterlerin daraltılması, Epo üretimini artırır (29-32).

Yaş, cinsiyet, menstrual siklus ve sigara dolaşımdaki Epo seviyesini etkilememektedir ve plazma seviyesi, hipoksi ya da kanama olmadıkça sabittir. Plazma Epo'nun küçük, fakat klinik olarak önemli olmayan sirkadian değişiminin olduğu; en düşük seviyesinin sabah, en yüksek seviyesinin akşam

tespit edildiği bildirilmektedir (3, 33). Proteinden yoksun diyetle beslenen hayvanlarda, Epo'nun miktarı azalır. Civa klorür gibi proksimal tubul hücrelerinde yıkıma neden olan maddeler, Epo üretiminin azalmasına neden olur (30).

Kobalt, nikel ve manganez hipoksi oluşturarak Epo üretimini uyarırken, aynı zamanda Ca²⁺ kanal inhibitörü özelliğiyle de intrasellüler Ca²⁺ konsantrasyonunda azalmaya neden olmaktadır. Düşük kalsiyum varlığında, in vitro renal karsinoma hücreleri tarafından Epo üretimi artırılır. Aynı şekilde kalsiyum girişini bloke eden verapamil ve diltiazem de Epo üretimini artırmaktadır (3, 23, 26).

Dalakta da Epo aktivitesinin tespit edildiği bildirilmiştir. Ancak bunun kaynağının da, makrofajlar olduğu sanılmaktadır. Splenektominin ya da dalakta ortaya çıkan hipoksinin, Epo salınımı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (34, 35).

Tükrük bezlerinin de Epo ürettiği ileri sürülmektedir. Nefrektomize hipoksik rat ve farelerden submandibular bezin uzaklaştırılmasından sonra, plazma Epo seviyesinde bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir (36).

Eritropoietinin metabolizma ve eliminasyonu, esas olarak karaciğer ve böbreklerde yapılır. Epo metabolizmasında esas fonksiyonu karaciğer üstlenmesine rağmen, nefrektomi yapılan, anefrik ya da ureterleri bağlanan köpeklerde Epo'nun yarı ömrünün uzaması, böbreğin Epo metabolizmasında görev aldığı düşünmektedir (3, 24, 37).

4. Etki mekanizması ve yeri

Hematopoez, hematopoitik kök hücrelerden olgun kan hücrelerinin oluşumuna kadar geçen bir süreci tanımlar (3). İlk hematopoitik seri ön hücreler, çok yönlü (multipotent) farklılaşma kapasitesine sahiptir. Olgunlaşma ilerledikçe farklılaşma, tek bir yönde özelleşerek periferik kanda görülen olgun hücreleri meydana getirir (3). Epo, primer olarak eritroid seri ön hücrelerin çoğalması (proliferasyon) ve olgunlaşmasını (maturasyon) uyarmak için kemik iliği üzerine etki eder. En az iki büyüme faktörü (IL-3, GM-CSF) tarafından uyarılan çok yönlü (pluripotent) hematopoitik kök hücreler, Epo'ya cevap veren spesifik eritroid seri ön hücrelere dönüşürler (37).

Eritropoietin, son zamanlarda tanımlanan büyüme faktörü reseptörleri ailesinin bir üyesi olan spesifik Epo reseptörüne bağlanır (38). Reseptörlere bağlanmayı takiben Epo, endositoz yoluyla hızlı bir şekilde hücre içine alınır (39, 40). Bunun ardından hücre içi kalsiyum konsantrasyonu, cAMP, cGMP, tirozin spesifik protein kinaz, fosfotidilinositol ve protein-kinaz C düzeylerinde artış görülmesi, Epo'nun bu yolla etkili olduğunu düşündürmektedir (8, 39).

Spesifik Epo reseptörleri, sadece insanlarda, sıçan eritroid hücrelerinde, eritrolökemik hücrelerde, eritroid elementlerinden zengin fetal karaciğer dokusunda, fare ve rat plasentasında ve megakaryositlerde tespit edilmiştir (8, 37, 41). Epo'yu bağlayan düşük ve yüksek affiniteli iki tip Epo reseptörü tespit edilmiştir (39). Eritroid hücrelerdeki Epo reseptörlerinin sayısı az (yaklaşık her hücrede 1000 molekül) ve değişkendir. Epo reseptörleri, insan BFU-E'inde otoradyografik olarak tespit edilebilir ve eritroid seri hücrelerin BFU-E'ler, CFU-E'ye doğru olgunlaşma sürecinde bu reseptörlerin sayısında da artış gözlenir. CFU-E ile proeritroblast arasındaki bir dönemdeki eritroid hücre, yoğun Epo reseptörlerine sahip olup; proeritroblastın olgunlaşma sürecinde reseptör sayısında azalma gözlenir ve ortokromatik eritroblast evresinde reseptörler ortadan kalkar (39, 42).

Karaciğer, beyin, akciğer ve iskelet kasları gibi non-hematopoietik dokuların ve monositler ve lenfositler gibi non-eritroid hematopoietik hücrelerin Epo reseptörleri yoktur (40). Bununla birlikte, fare ve rat plasentalarında, maternal plazmadan fetal plazmaya Epo'nun taşınmasından sorumlu tutulan düşük affiniteli Epo reseptörleri vardır. İnsan BFU-E'inde Epo reseptörlerinin ortaya çıkmasıyla Epo'ya bağımlılık başlar. CFU-E safhasında reseptör sayısı maksimum düzeye ulaştıktan sonra, hormona olan bağımlılığın azalmasına paralel olarak insan ve sıçan CFU-E'sinde Epo reseptörleri de azalır. Bazofilik eritroblast ve daha sonraki eritroid seri hücreler olgunlaşma için Epo'ya ihtiyaç duymazlar (40).

Eritropoietinin eritroid hücreler üzerine en önemli etkilerinden biri de, bu hücrelerin yaşama kabiliyetlerini devam ettirme yeteneğidir. Epo bu etkiyi, CFU-E 'de meydana gelen DNA bölünmesini geciktirerek gerçekleştirir. Epo yokluğunda ise, DNA'nın hızlı yıkımına bağlı olarak hücreler fizyolojik ölüme (apoptozis) yönelirler. Epo'nun varlığında apoptozis engellenerek, eritroid hücrelerin farklılaşması (diferensiasyon) ve eritrositlere dönüşmesi sağlanır. Epo, eritroid hücreler yanında megakaryositler ve bunların seri ön hücreleri olan CFU-MK üzerine de etki ederek farklılaşmayı uyarır ve bu durum trombosit sayısının artışıyla sonuçlanır. Kronik böbrek yetersizliği görülen hastalar üzerinde yapılan araştırmada, Epo'nun dolaşımdaki trombosit kitlesinin düzenlenmesinde de önemli bir rol oynadığını göstermiştir (8, 37, 41).

Hormonun hücre içine girişinden sonra total RNA sentezinde, glikoz ve Fe alımında, α - ve β - globin gen transkripsiyonunda artış, hemoglobin sentezini artırır (41). Bütün bu değişiklikler, eritroid seri hücrelerin olgunlaşmasına bağlı olarak retikülosit ve olgun eritrosit sayısındaki artışla sonuçlanmaktadır (42). Epo kalsiyumun hücreye girmesini uyarır. Bu etki hızlıdır ve kültürü yapılmış eritroid hücrelerde Epo ilavesinden sonra bir dakika içinde meydana gelir (41). Düşük kalsiyumlu ortamda doğrusal olan $^{45}\text{Ca}^{+2}$ alımının Epo

ile açıkça arttığı, ancak Epo'nun $^{45}\text{Ca}^{+2}$ 'nin hücre dışına çıkışını da stimüle ettiği saptanmıştır. Ayrıca bir çalışmada insan kemik iliği mononükleer hücrelerine Epo ilavesinin, doza bağımlı olarak hücre içi serbest Ca^{+2} seviyesini yükselttiği görülmüştür (8, 39). cAMP varlığında Epo uygulanan eritroid hücrelerde, kalsiyum pompası aktive edilerek hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun düştüğü saptanmıştır. Ancak, bu hücrelerdeki protein kinaz C'yi aktive eden forbol esterleri, cAMP ya da cGMP'nin hücre içi düzeyleri üzerine Epo'nun herhangi bir etkisinin olmadığı ileri sürülmektedir (8).

5. Eritroid Seri Ön Hücreler

Eritroid seri ön hücreleri (progenitörler) morfolojik olarak tespit edilemez, fakat in vitro eritroblast kolonilerini oluşturabildikleri için fonksiyonel olarak tespit edilebilir. İn vitro olarak yarı katı kültür ortamında hematopoietik seri ön hücrelerin klonlanabilmesi için geliştirilen doku kültür teknikleri ile insan ve sıçan kemik iliğinde CFU-E ve BFU-E olarak adlandırılan iki eritroid seri ön hücre tespit edilip tanımlanabilmiştir. Epo'nun etkisiyle seri ön hücreler yarı katı kültür ortamında gelişerek, hemoglobin içeren eritroblastlara dönüşürler (40, 43).

Hematopoietik seri ön hücrelerde olduğu gibi eritroid seri ön hücreler arasında da, yaş ve gelişim dönemlerine bağlı olarak fiziksel ve morfolojik farklılıklar tespit edilmektedir. Bu fiziksel ve morfolojik özelliklerdeki farklılıklara dayanılarak, eritroid seri ön hücreler arasında en az beş sınıf tespit edilmektedir. Bunlar (43):

- 1-Makroskobik BFU-E,
- 2-Erken (mikroskobik) BFU-E,
- 3-Geç BFU-E,
- 4-Erken CFU-E,
- 5-Geç CFU-E.

Bu hücreler arasında yer alan son iki hücre, proeritroblastlarla ilişki içerisindedir. Makroskobik BFU-E, in vitro olarak tespit edilebilen eritroid seri ön hücreye ait ilk hücreler olup, proliferasyon yeteneği oldukça fazla ancak, kendini yenileme kapasitesi sınırlı olan çok yönlü bir hücredir. Bu hücreler, çok yönlü hematopoietik kök hücrelerle (CFU-S) ve eritroid farklılaşma ile yakından ilgilidir. Son dört hücre grubu ise eritroid serinin farklılaşmasıyla ilişkili olup, doğrudan doğruya Epo'dan etkilenir (43).

Burst Forming Unit Eritroid (BFU-E)

CFU-E'nin bir ön hücresi olduğu bildirilen BFU-E, yavaş bölünen, olgunlaşmamış bir eritroid seri ön hücredir. Bu hücre insanda 15 günde, farede sekiz günde eritroblast kümelerini meydana getirir (42).

BFU-E, erken ve geç formlara ayrılmaktadır. Kemik iliği ve dolaşımda bulunan BFU-E, periferik kanda %0.02-0.05 konsantrasyonunda tespit edilebilir.

Eritrosit aktivitesinin yetersiz olduğu durumlarda BFU-E'nin proliferasyonu artar (42).

Colony forming unit eritroid (CFU-E)

CFU-E, eritroid seride proeritroblastlardan önce gelen bir hücre grubudur. Bu hücrelerin düşük düzeydeki Epo varlığında hızla çoğalarak, 8-64 hemoglobin molekülü içeren eritroblast kolonisi meydana getirdiği bildirilmiştir (42). CFU-E, Epo'ya en duyarlı olan hücredir; yüzeyinde çok miktarda Epo reseptörü taşır ve yaşamını sürdürebilmesi için mutlak olarak Epo'ya ihtiyaç duyar (7, 8, 40, 43).

6. Eritropoietin'in Ölçüm Metotları

Eritropoietin düzeyinin belirlenmesinde serum, plazma, idrar ve tümörlü doku kullanılmaktadır. Dayanıklı bir protein olan Epo, plazma ya da serum örneklerinde immun reaktivitesini kaybetmeden iki hafta süreyle oda ısısında saklanabilir (44).

Hormon, böbreklerde ve karaciğerde depolanmaktadır. Dolaşımdaki Epo'nun konsantrasyonu üretim oranını etkilemezken, plazma klirensi çok yavaştır (insanlarda 4-12 saat) ve plazma Epo seviyesinden bağımsızdır (13). Sağlam hayvanlarda Epo klirensi, hızlı ve yavaş olmak üzere iki fazlı bir şekilde olmaktadır (13). Epo 0.5 ml/dk oranında böbreklerden yavaş bir şekilde atılmaktadır (45).

Eritropoietinin yarı ömrü; insanlarda 6-7, köpeklerde 9, tavşanlarda 8, ratlarda 1,5-2,5, farelerde 2-3, rHuEpo'nun yarı ömrü ise 7.2 saattir (4, 46).

Eritropoietinin bilinen herhangi bir proteinle benzerliği yoktur ve bu yüzden immünolojik çapraz reaksiyon vermez. Serum, plazma ve idrarda Epo'nun ölçümü, hem sağlık hem de hastalık durumlarında faydalı bilgiler sağlamaktadır (3). Endojen Epo (dolaşıma böbreklerden karışan)'nın sadece 6-9 saatlik bir plazma yarı ömrü olduğu için, Epo üretimindeki değişiklikler, kan konsantrasyonundaki değişiklikleri yansıtmaktadır. Bu yüzden serum Epo konsantrasyonunun tespiti, polisitemi ve anemilerin sebep ve kontrolü hakkında önemli bilgi sağlamaktadır (4-6).

Eritropoietinin serum, idrar ve diğer vücut sıvılarındaki varlığı biyoassay (in vivo ve in vitro) ya da radioassay ile tesbit edilebilir. Epo'nun saflaştırılmasından (purifikasyon) önce plazma ve idrarda ölçümü, sadece in vivo ya da in vitro biyoassayler ile yapılabiliyordu (6, 47, 48).

7. Eritropoietin Ölçümleri

Plazmada Epo'nun konsantrasyonu üç genel teknikle ölçülebilir;

- 1- In Vivo Bioassay (47)
- 2- In Vitro Bioassay (48, 49)
3. İmmunokimyasal Metot

- a- Hemagglütinasyon İhibisyon Metodu (6, 33)
- b- Radioimmunoassay (9, 47)

1- *In vivo bioassay*: Epo düzeyini tesbit etmek için kullanılan ilk yöntemdir (7). Bu yöntemle yüksek seviyelerdeki Epo'nun ölçümü yapılabilir (29, 49). Ancak bu metot toksik maddelerden, androjenlerden, prostaglandinlerden, siklik nükleotidlerden etkilenmektedir (29). Metot çok uzun zamana, fazla sayıda hayvana ihtiyaç duyar ve pahalı bir yöntemdir. Buna ek olarak bu in vivo metot, normal serumda Epo konsantrasyonunu ölçmek için yeterince duyarlı değildir ve normal bireylerin plazmalarındaki Epo'yu tesbit edemez (29, 47).

2- *In vitro bioassay*: Bu yöntem, serum örneklerinin hematopoietik hücre kültürleri üzerine eritropoietik etkisinin araştırılması amacıyla kullanılır (50). In vitro teknikteki ana problem, insan serumlarındaki inhibitörlerin varlığıdır. In vitro biyoassayler duyarlı ve güvenli olmadığından dolayı geniş klinik uygulama alanı bulmamıştır (29).

Japonya'da yapılan bir çalışmada araştırmacılar, serum Epo seviyesini in vitro metot olan Mouse Spleen Cell Metodu ile tespit etmişlerdir (51). Sağlıklı 34 Mongreal köpeğinin kullanıldığı bu çalışmada, ayrıca 3-19 yaşları arasında 3 at, 4-8 yaşlı 4 Holstein inek, 1-5 yaşlı 7 evcil kedi ve 1-3 yaşlı 3 Saanen keçisinin Epo konsantrasyonlarının da ölçüldüğü bildirilmektedir. Yetişkin 25 köpekte serum Epo konsantrasyonları 38.5-135.0 mU/ml (ortalama 88.2±30.7 mU/ml) arasında değişmektedir. Bununla birlikte, yaşları 8-13 arasında değişen 4 yaşlı köpekte ortalama serum Epo seviyesi 56.5±11.6 mU/ml, yaşları 1 ile 7 arasında değişen 21 köpekteki ortalama serum Epo seviyesi 94.9±28.7 mU/ml; 9 yavrudaki değerlerin (1-2 aylık), ortalama serum Epo seviyesi 182.7±56.2 mU/ml olarak bildirilmiştir. Diğer hayvanlardaki serum Epo seviyeleri: Atlarda: 55.2±8.9 mU/ml, ineklerde: 41.7±10.3 mU/ml, kedilerde: 39.4±5.4 mU/ml olarak tespit edilmiştir (51).

3- İmmunokimyasal Metot

a- Hemagglütinasyon İhibisyon Metodu: Bu metot Epo antiserumunun Epo'ya bağlanma ve çökme yeteneğini ölçerek Epo'nun aktivitesini tespit eder (33, 52).

b- Radioimmunoassay (RIA): Miyake ve ark (9). tarafından insan Epo'su başarılı bir şekilde saflaştırılması ve takiben de Epo geninin klonlanması ile duyarlı ve spesifik RIA metodu geliştirilmiştir. Bu metotta, radyoaktif olarak işaretlenmiş saf Epo'ya karşı geliştirilmiş antikorlar kullanılmaktadır. RIA'nın en düşük duyarlılık limiti 2-4 mU/ml'dir (6, 47).

Epo ölçümü için kullanılan RIA, antijen ve standart olarak saf insan idrar Epo'su kullanılarak geliştirilmiştir (9).

RIA'nın hızlı, tam, duyarlı, spesifik ve oldukça ucuz olma gibi avantajları vardır. Biyoassaylerle tesbit edilemeyen normal serumlardaki Epo seviyeleri 5-30 mU/mL arasında değişir (31, 53). RIA, köpek serumunda 4 mU/ml'den 500 mU/ml'ye kadar Epo konsantrasyonlarını tespit edebilmektedir (7).

İn Vitro Mouse Assayde tespit edilebilen en düşük Epo seviyesi 50 mU'dir (49). Bu değer RIA' da ise 2-3 mU'dir. RIA ile 2-3 mU Epo, 0.1-0.3 ml hacmindeki plazmadan tespit edilebilir (47, 54).

Normal kadın ve erkeklerde RIA ile tespit edilen serum Epo seviyesi 17-19 mU/ml'dir. Oysa anemik hastalarda 28 ± 6 mU/ml, üremik hastalarda ise 20 mU/ml olarak bildirilmiştir (47).

Polikistik böbrek yetersizliği olan 12 hastada serum Epo seviyeleri ortalama 22.6 ± 2.4 mU/ml olarak belirlenmiştir (55). Diğer böbrek yetersizliği olan 24 hastada serum Epo değerleri ortalama 12.4 ± 0.7 mU/ml'dir. Normal kontrollarda serum Epo seviyesi ortalama 18.5 ± 0.7 mU/ml olarak bulunmuştur (55).

Ceylan (2), toplam 18 sağlıklı köpek üzerinde yapmış olduğu çalışmada serum Epo değerlerini ortalama 82.54 ± 3.65 mU/ml olarak tespit etmiştir.

Ağaoğlu ve ark (56) rakımı sıfır olan ve 2300 m rakımda yaşayan sağlıklı 20 köpeğin serum Epo değerlerini ortalama sırasıyla 60.27 ± 1.9 ve 80.05 ± 1.6 mU/ml olarak tespit etmişlerdir. 20 adet sağlıklı Van Kedisinin kullanıldığı bir çalışmada serum Epo değerleri ortalama 71.82 ± 6.80 mU/ml olarak belirlenmiştir (57).

Gün geçtikçe toplumun ekonomik seviyesindeki artışa paralel olarak ülkemizdeki küçük hayvan potansiyali sürekli olarak artmaktadır. Hayvan sayısındaki bu artışla birlikte karşılaşılan hastalık türü fazlalaşmakta, teşhis ve tedavi metotları da hızlı bir gelişme göstermektedir. Diğer tanı yöntemleriyle birlikte Epo'nunda tanı yöntemi olarak kullanılması giderek önem kazanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Woodman DD: Erythropoietin, Comparative Haematology International 2: 1-7, (1992).
2. Ceylan E: Köpeklerde deneysel nefrotoksikozisde eritropoietin seviyesi ve bazı hematolojik parametreler üzerine araştırmalar. Yüzüncü Yıl Üniv., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, (1998).
3. Spivak JL, Watson AJ: Hematopoiesis and the Kidney The Kidney: Physiology and Pathophysiology. Second Ed. Raven Press, Ltd., New York, Chapter 42: 1553-1593, (1992).
4. Fu JS, Lerora JLL, Rice JC, Fisher JW: Pharmacokinetics of erythropoietin in intact and anephric dogs. J. Lab. Clin Med. 111: 669-676, (1983).
5. Erslev AJ: Erythropoietin, The New England Journal of Medicine, 324(19): 1339-1344, (1991).
6. Caro J, Erslev AJ: Erythropoietin assays and their use in the study of anemias. Contrib. Nephrol. 66: 54, (1988).
7. Giger U: Erythropoietin and its Clinical Use, Comp. Continuing Education Article 14(1): 25-34, (1992).
8. Krantz SB: Erythropoietin, Blood, 77(3): 419-434, (1991).
9. Miyake T, Kung CKH, Goldwasser E: Purification of human erythropoietin. J. Biol. Chem. 252: 5558-5564, (1977).
10. Dordal MS, Wang F.F, Goldwasser E: The role of carbohydrate in erythropoietin action. Endocrinology. 116: 2293, (1985).
11. Browne JK, Cohen AM, Egrie JC, Lai PH, Lin FK, Strickland T, Watson E, Stebbing N: Erythropoietin, Gene cloning protein structure, and biological properties. Cold Spring Harbor Symp Quant Biol. 51:693-702, (1986).
12. Goldwasser E, Kung CHK, Eliason J: On the mechanism of erythropoietin-induced differentiation. XIII. The role of sialic acid in erythropoietin action. J Biol. Chem 249: 4202, (1974).
13. Spivak JL, Hogans BB: The in vivo metabolism of recombinant human erythropoietin in the rat. Blood. 73: 90-99, (1989).
14. Wang FF, Kung CKH, Goldwasser E: Some chemical properties of human erythropoietin. Endocrinology 1116: 2286, (1985).
15. Cotes PM, Bangham DR: The international reference preparation of erythropoietin. Bull WHO 35: 751, (1966).
16. Annable L, Cotes PM, Mussett MV: The second international reference preparation of erythropoietin, human, urinary, for bioassay. Bull. Org. Mond. Sante 47: 99-112, (1972).
17. Fried W, Barone-Varelas J, Morley C: Factors that regulate extrarenal erythropoietin production. Blood Cells 10:287, (1984).
18. Naughton BA, Birnback DL, Liu P et al.: Erythropoietin production and kupffer cell alterations following nephrectomy, hypoxia, or combined nephrectomy and hypoxia. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 160: 170-174, (1979).
19. Koury MJ, Bondurant MC: Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells. Science 248: 273, (1990).
20. Rodgers GM, Fisher JW, George WJ: The role of adenosine 3-5-monophosphate in the control of erythropoietin production. Am. J. Med. 58: 31-38, (1975).
21. Lacombe C, Da Silva JL, Bruneval P, Fournier JG, Wendling F, Casadevall N, Camilleri JP, Bariety J, Varet B, Tambourin P: Peritubular cells are the site of erythropoietin synthesis in the murine hypoxic kidney J Clin. Invest. 81: 620-623, (1988).
22. Eckardt KU, Kurtz A, Bauer C: Regulation of erythropoietin formation is related to proximal tubular function. Am J Physiol. 256: F942, (1989).
23. Schuster SJ, Wilson JH, Erslev AJ, Caro J: Physiologic Regulation and Tissue Localization of Renal Erythropoietin Messenger RNA, Blood, 70(1): 316-318, (1987).
24. Jacobson LO, Goldwasser E, Fried W, Plzak L: Role of the kidney in erythropoiesis. Nature 179: 633, (1957).
25. Zanjani ED, Poster J, Burlington H: Liver as a primary site of erythropoietin formation in the fetus. J Lab Clin Med. 89: 640, (1977).
26. Caro J, Erslev AJ, Silver R, Miller O, Birgegard G: Erythropoietin Production in Response to Anemia or Hypoxia in the Newborn Rat, Blood, 60(4): 984-988, (1982).
27. Beru N, McDonald J, Lacombe C, Goldwasser E: Expression of the erythropoietin gene. Mol Cell Biol 6: 2571, (1986).
28. Spivak JL: Recombinant human erythropoietin and the anemia of cancer. Blood 84(4): 997-1004, (1994).
29. Golde DW, Hocking WG, Koeffler HP, Adamson JW: Polycythemia: Mechanisms and Management. Ann. Inter. Med., 95: 71-87, (1981).