



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**NEDENİ AÇIKLANAMAYAN SİTOPENİ SAPTANAN
OLGULARDA PAROKSİSMAL NOKTURNAL
HEMOGLOBİNÜRİ KLONU VARLIĞININ VE
BÜYÜKLÜĞÜNÜN GERİYE YÖNELİK ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Emel DURAN

KAYSERİ – 2016



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**NEDENİ AÇIKLANAMAYAN SİTOPENİ SAPTANAN
OLGULARDA PAROKSİSMAL NOKTURNAL
HEMOGLOBİNÜRİ KLONU VARLIĞININ VE
BÜYÜKLÜĞÜNÜN GERİYE YÖNELİK ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Hazırlayan

Dr. Emel DURAN

Danışman

Prof. Dr. Bülent ESER

KAYSERİ – 2016

TEŞEKKÜR

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda eğitim süresince bilgi, öneri ve emeğini benden esirgemeyen, akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de sınırsız desteği ile her an yanımda olan, doktorluk mesleğinde ufkumu genişleten uzmanlık tezimin hazırlanmasına yaptıkları katkılarından dolayı danışman hocam Prof. Dr. Bülent ESER' e;

Bölüm hocalarımıza, verilerin analiz edilmesinde yardımlarını esirgemeyen Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ferhan Elmalı'ya;

İç Hastalıkları Servis ve Polikliniklerinde uyum içinde çalıştığım tüm asistan ve mesai arkadaşlarıma;

Tanıştığımız ilk günden itibaren birçok fedakarlık gösterip asistanlığım süresince beni destekleyerek her an yanımda olan eşim Metehan'a;

Yaşamımın her anına tanıklık ederek beni cesaretlendiren anneme, ileri görüşlülüğü ile bana eğitim yolunu açan babama, herkesin sahip olacak kadar şanslı olmadığı kardeşlerime;

Beni günler ve gecelerce sabırla bekleyen biricik kızım Elif Nihal'e, yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Dr. Emel DURAN

Eylül 2016, KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
TABLOLAR LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.PANSİTOPENİ VE AYIRICI TANISI.....	3
2.2. PAROKSİSMAL NOKTÜRNAL HEMOGLOBİNÜRİ EPİDEMİYOLOJİSİ VE TANIMI	5
2.3. PNH'NİN PATOFİZYOLOJİSİ.....	5
2.4. PNH KLİNİĞİ.....	9
2.4.1. Klasik Tip PNH	10
2.4.2. Farklı Bir Kemik İliği Hastalığı Zemininde Gelişen PNH	10
2.5. TANI	10
2.5.1. Tanı İçin Gerekli Testler.....	11
2.6. TEDAVİ.....	14
2.7. PROGNOZ.....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. Hasta Seçimi.....	17
3.2.İstatistiksel Değerlendirme.....	18
4. BULGULAR.....	19
5. TARTIŞMA.....	26

6. SONUÇLAR	30
KAYNAKLAR	32
EKLER.....	37
TEZ ONAY SAYFASI.....	38

KISALTMALAR

AA	: Aplastik Anemi
Allo-HKHN	: Allojenik - Hematopoetik Kök Hücre Nakli
CD55	: Decay Accelerating Factor (DAF)
CD59	: Membrane Inhibitor of Reactive Lysis (MIRL)
C3b	: Kompleman Faktör 3b
C5	: Kompleman Faktör 5
C4b	: Kompleman Faktör 4b
cGMP	: Siklik Guanin Monofosfat
DAF	: Decay Accelerating Factor
dl	: desilitre
DVT	: Derin Ven Trombozu
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
FLAER:	Fluorescent Aaerolysin
GPA	: CD235q
GPI-AP	: Glikozilfosfatidilinozitol anchored proteins
Hb	: Hemoglobin
HLA	: Human Lökosit Antijen
HRF	: Homologous Restriction Factor
g	: gram
i.v	: intravenöz
KKH	: Kırmızı Kan Hücresi
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
MDS	: Miyelodisplastik Sendrom
mg	: miligram
µl	: mikrolitre
MIRL	: Membrane Inhibitor of Rreactive Lysis
Ng	: nanogram

NO	: Nitrik Oksit
PBS	: izoflow sıvısı
pg	: pikogram
PNH	: Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri
PTE	: Pulmoner Tromboemboli
TAT	: Trombin-Antrombin kompleksi
U	: ünite
Xp	: X kromozomu kısa kolu



TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Pansitopeni ayırıcı tanısı.....	4
Tablo 2. PNH hastalarında ilk başvuru anında saptanan semptom ve bulgular.....	10
Tablo 3. PNH klon gruplarında sitopeni, bisitopeni ve pansitopeni görülme oranı.....	19
Tablo 4. PNH klon gruplarında trombosit, lökosit, hemogloblin düşüklüğü değerleri....	20
Tablo 5. Hastaların anemi parametreleri.....	20
Tablo 6. PNH klon gruplarında trombositopeni ve anemi birlikteliği.....	21
Tablo 7. PNH klon gruplarında lökopeni ve anemi birlikteliği.....	21
Tablo 8. PNH klon gruplarında trombositopeni ve lökopeni birlikteliği.....	22
Tablo 9. PNH klonu grupları ve AA ilişkisi.....	22
Tablo 10. Hastaların hemoliz parametreleri.....	23
Tablo 11. PNH grupları ve Mutlak Retikülosit Sayısı karşılaştırılması.....	23
Tablo 12. PNH grupları ve retikülosit yüzdesi karşılaştırılması.....	24
Tablo 13. PNH grupları ve İndirekt Bilirubin değeri karşılaştırılması.....	24
Tablo 14. PNH klonu grupları ve Direkt Coombs ilişkisi.....	24
Tablo 15. PNH klonu grupları ve LDH yüksekliği oranları.....	25
Tablo 16. PNH grubu ve Haptoglobulin düşüklüğü ilişkisi.....	25
Tablo 17. HBsAg ve AntiHCV ile sitopeni birliktelikleri.....	25

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. X-Linked PIG-A Geninde Mutasyon: GP1-AP Eksikliği.....	6
Şekil 2. PNH' da eritrosit membran hasarı ve hemoliz.....	7
Şekil 3. PNH' da NO eksikliğine bağlı semptomlar ve bulgular	7
Şekil 4. Akım sitometri şekli.....	12
Şekil 5. FLAER şeması.....	13



NEDENİ AÇIKLANAMAYAN SİTOPENİ SAPTANAN OLGULARDA PAROKSİSMAL NOKTURNAL HEMOGLOBİNÜRİ KLONU VARLIĞININ VE BÜYÜKLÜĞÜNÜN GERİYE YÖNELİK ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: Paroksismal nokturnal hemoglobinüri (PNH) tekrarlayıcı hafif-ağır şiddette intravasküler hemoliz, venöz tromboz atakları ve aplastik anemiye yatkınlık ile karakterize edinsel, klonal bir kök hücre hastalığıdır.

Akım sitometrisi ile analizler çeşitli hücre serilerinde GPI (Glikozilfosfatidilinozitol)'ya bağlı yüzey proteinlerinin en az bir seride eksik bulunduğunu göstermiştir. Aplastik anemili hastalarda bu proteinler önce granulosit ve monositlerde eksik iken daha sonra eritrositlerde de eksilebilmekte ve aplastik anemi-PNH sendromuna neden olabilmektedir.

Tam kan sayımında tek hücre serisinde eksiklik sitopeni, iki seride eksiklik bisitopeni, üç seride eksiklik pansitopeni olarak adlandırılmaktadır. Genel nedenler arasında nütrisyonel eksiklikler en sık olarak karşımıza çıkmakla birlikte nadir bir sebep de paroksismal nokturnal hemoglobinüridir.

Bu çalışmada nütrisyonel eksiklikler ile açıklanamayan sitopeni olgularında paroksismal nokturnal hemoglobinüri klon büyüklüğü ve sıklığının geriye yönelik taranmasını amaçladık.

Materyal ve Metot: Çalışmaya 01.01.2010-01.01.2015 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'na tek sitopeni, bisitopeni, pansitopeni nedeniyle başvuran hastalardan nütrisyonel eksiklikler dışlanan ve sonrasında akım sitometride FLAER (Fluorescent Aaerolysin) yöntemi ile PNH klon varlığı araştırılan 109 erkek (%42,4), 148 kadın (%57,6) olmak üzere toplam 257 hasta alındı. Altmış dokuz hastada sitopeni, 89 hastada bisitopeni, 99 hastada pansitopeni, 11 hastada aplastik anemi, 32 hastada miyelodisplastik sendrom görülmüştür.

Bulgular: Hastaların PNH klon değerleri incelendiğinde 9'unda %10'dan büyük, 12'sinde %1 ve 10 arası, 74'ünde %1'den küçük, 162'sinde negatif olarak bulundu.

PNH klonu pozitif olanların hiç birinde tek sitopeni bulunmazken 3 hastada bisitopeni, 6 hastada pansitopeni görüldü. PNH klonu pozitif hastaların 8'inde anemi ve lökopeni birlikteliği, 1'inde aplastik anemi tespit edildi.

Sonuç: Tam kan sayımında hemoglobin ve lökosit düşüklüğü (sitopeni) saptanan ve etyolojisi nütrisyonel nedenlerle açıklanamayan olgular PNH yönünden tetkik edilmelidirler.

Anahtar Kelimeler: Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri, sitopeni, bisitopeni, pansitopeni, aplastik anemi



**RETROSPECTIVE EVALUATION OF PRESENCE AND EXTENT OF
PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA CLONE IN CASES
WITH UNEXPLAINED CYTOPENIA**

ABSTRACT

Objective: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is an acquired, clonal stem-cell disorder characterized by recurrent, mild-to-moderate intravascular hemolysis, episodes of venous thrombosis and predisposition to aplastic anemia.

Flow cytometry analyses have shown that glycosylphosphatidylinositol (GPI) surface proteins are lacking in at least one cell lineage. In patients with aplastic anemia, these proteins are initially deficient in granulocytes and monocytes and can then become deficient in erythrocytes, resulting in aplastic anemia-PNH syndrome.

In complete blood count, deficiency in one cell lineage is termed as single cytopenia while deficiency in two cell lineages as bicytopenia and deficiency in 3 cell lineages as pancytopenia. Nutritional deficiencies appear as common causes; however, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria is one of the rare causes. In this study, we aimed to retrospectively screen extent and frequency of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in cases with unexplained cytopenia.

Material and method: The study included 257 patients (109 male [42.4%] and 148 female [57.6%]) who presented to Hematology Department of Erciyes University, Medicine School with cytopenia, bicytopenia or pancytopenia and underwent PNH clone analysis with fluorescent aerolysin (FLAER) in flow cytometry between 01.01.2010 and 01.01.2015. There were single cytopenia in 69 patients, bicytopenia in 89 patients, pancytopenia in 99 patients, aplastic anemia in 11 patients and myelodysplastic syndrome in 32 patients.

Findings: When clone values were evaluated, it was found that PNH clone value was >10% in 9 patients whereas 1-10% in 12 patients and <1% in 74 patients. PNH clone was found to be negative in 162 patients. No single cytopenia was found in patients with positive PNH clone while there was bicytopenia in 3 patients and pancytopenia in

6 patients. Among those with positive PNH clone, there was association of anemia and leukopenia in 8 patients and aplastic anemia in one patient.

Conclusion: Patients with low hemoglobin and leukocyte count (cytopenia) that couldn't be explained by nutritional causes should be screened for PNH.

Keywords: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, cytopenia, bicytopenia, pancytopenia, aplastic anemia.



1. GİRİŞ

PNH malign olmayan ancak yaşamı tehdit eden edinsel klonal hematopoetik kök hücre hastalığıdır. Daha çok üçüncü ve dördüncü dekatta karşımıza çıkmakta olup adölesan, çocuk ve ileri yaşta bildirilen vakalar mevcuttur. Ortalama tanı yaşı 42'dir (1). Tahmini prevalans 2-5/1.000.000 olgudur (2).

Hücre yüzeyi duvarında GPI eksikliği sonucu kompleman ilişkili intravasküler hemoliz ve buna bağlı trombosit aktivasyonu ve agregasyonu meydana gelir. Tanının erken dönemde konulması tedavinin yönlendirilmesi açısından oldukça önemlidir. Mortalite ve morbidite oranları olumlu yönde etkilenecek ve hastalığın takibi esnasında çıkabilecek komplikasyonların daha kolay kontrol altına alınması sağlanacaktır.

PNH tanısı konmasında anamnez, fizik muayene, asit hemoliz, sukroz lizis testi gibi geleneksel yöntemler önemli olup günümüzde akım sitometri yöntemi ile çevresel kan örneğinden PNH klonu hesaplanması yapılmaktadır.

Tüm modern tanı ve tedavi yöntemlerine rağmen PNH yaşam kalitesini azaltan, kronik iş göremezliğe neden olan ilerleyici bir hastalıktır. PNH yaşamı tehdit edici olup tanıdan sonraki 5 yıllık mortalite %35'tir (2).

PNH'yı farklı durumlarda ayırıcı tanıda akılda bulundurmak gerekir. Bu farkındalık olmazsa PNH klonu varlığı saptanması ve PNH tanısı konma olasılığı beklenenden düşük olur.

Bu çalışmada nütrisyonel eksikliklerle sebebi açıklanamayan sitopeni, bisitopeni, pansitopeni tespit edilen hastalarda PNH klon sıklığını ve büyüklüğünü geriye yönelik taramayı amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1.PANSİTOPENİ VE AYIRICI TANISI

Periferal kanda üç şekilli elemanın sayısal azlık veya yokluğu ile seyreden bulgu pansitopeni olarak tanımlanmaktadır (3). Tek hücre serisinde azlık sitopeni, iki seride azlık bisitopeni olarak adlandırılmaktadır. Altta yatan hastalığın seyrinde bir dizideki azalma, ilerleyen dönemde üç seriyi de kapsayabilmektedir (3). Pansitopeniler edinsel ve konjenital nedenler olarak iki ana başlık altında toplanabilir (3). Nütrisyonel nedenler edinsel pansitopeninin sık nedenlerindedir. Hücre siklusunda önemli yere sahip folik asit ve B12 vitamini yetersiz alımı, emilim, transport veya metabolizma bozukluğu sonucu megaloblastik anemi ve pansitopeni gelişebilir (3). Pansitopeni ayırıcı tanısı Tablo 1’ de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Tablo 1. Pansitopeni ayırıcı tanısı (3)

Hiposelüler Kemik İliği ile Pansitopeni

- Akkiz aplastik anemi
- Herediter aplastik anemi (Fanconi anemisi ve diğerleri),
- Bazı miyelodisplastik sendromlar
- Nadir alösemik lösemi (akut miyeloblastik lösemi)
- Bazı akut lenfoblastik lösemiler
- Bazı kemik iliği lenfomaları

Selüler Kemik İliği ile Pansitopeni

a. Primer kemik iliği hastalığı

- Miyelodisplastik sendromlar
- Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri
- Miyelofibrozis
- Bazı alösemik lösemiler
- Myelofitizi
- Kemik iliği lenfoması
- Hairy cell lösemi

b. Sistemik hastalıklara sekonder

- Sistemik lupus eritematozus, Sjögren sendromu
- Hipersplenizm
- B12, folat eksikliği (familial defekt)
- Enfeksiyon (bruselloz, tüberküloz ve atipik mikobakteri enfeksiyonları)
- Alkol

Hiposelüler Kemik İliği ± Sitopeni

- Q ateşi
 - Lejyoner hastalığı
 - Mikobakteriler
 - Tüberküloz
 - Anoreksiya nervoza, açlık
 - Hipotiroidizm
-

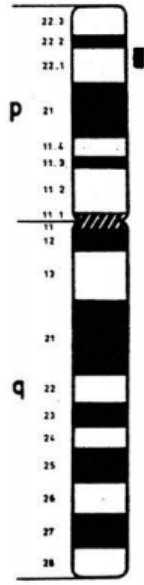
2.2. PAROKSİSMAL NOKTÜRNAL HEMOGLOBİNÜRİ EPİDEMİYOLOJİSİ VE TANIMI

Paroksizmal Noktürnal Hemoglobinüri (PNH) kronik intravasküler hemoliz bulguları, kemik iliği yetersizliği ve trombozla kendini gösteren hematopoetik klonal bir kök hücre hastalığıdır (2).

PNH çok nadir görülen bir hastalık olup prevalansın 5.5/1.000.000 olduğu düşünülmektedir (4). Güney Asya ve Uzak doğu ülkelerinde görülme sıklığının daha yüksek olduğu bilinmektedir (1). 1866 yılında Sir William Gull tarafından ilk vaka anemik bir hastada sabah hematürisi ile Londra’da tanımlanmış olup bir sendrom olarak ilk kez 1882’de Alman doktor Paul Strübing tarafından tanımlanmıştır (5-7). Hemolitik aneminin 1991’de bu formu karakteristik hemoglobinüri ile birlikte raporlanmış olup Strübing-Marchiafava-Micheli sendromu olarak isimlendirilmiştir (8,9).

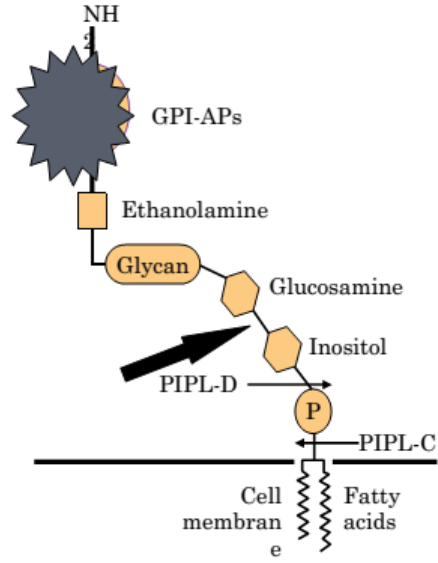
2.3. PNH’NİN PATOFİZYOLOJİSİ

PNH’nin patogenezinde altta yatan problemin glikozilfosfatidilinozitol (GPI) molekülleri ile ilgili, N-asetilglukozaminin fosfatidilinositole dönüşümünde sorun olduğu son yapılan çalışmalarda gösterilmiş ve bu aşama için gerekli olan X kromozomu kısa kolunda yer alan (Xp22.1) PIG-A geninin PNH hastalarında somatik mutasyona uğradığı bildirilmiştir (1,10).



PIG-A geni GPI sentezi için esastır.

PIG-A gen mutasyonları bir veya birden fazla hemopoitik kök hücreyi etkileyen kazanılmış, somatik mutasyonlardır.



AP, anchored protein; GPI, glycosylphosphatidylinositol; PIG-A, phosphatidylinositol glycan class A; PIPL, phosphoinositide-specific phospholipase; PNH, paroxysmal nocturnal haemoglobinuria

Rosse WF. Curr Opin Hematol 2001;8:61-71

Şekil 1. X-Linked PIG-A Geninde Mutasyon: GPI-AP Eksikliği

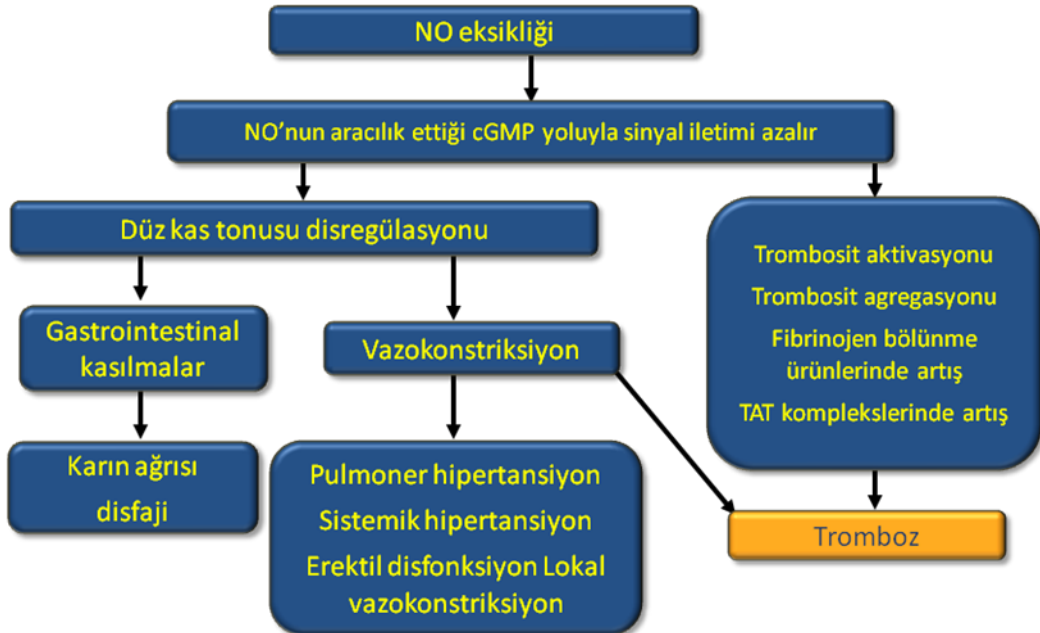
Bu bozukluk sonucu eritrosit, nötrofil ve monosit membranında GPI çapasında (anchor) defekt oluşur. GPI çapası yardımıyla hücre zarına bağlanan CD55 (Decay Accelerating Factor; DAF) ve CD59 (Membrane Inhibitor of Reactive Lysis; MIRL) eksikliği meydana gelir (11). Hastalığın en tipik bulgusu eritrositlerin komplemanın hemolitik etkisine duyarlı hale gelmesidir, bu duyarlılık düşük Ph'da artar ve intravasküler hemoliz oluşur (10).

PIG-A genindeki bu bozukluk sonucu eritrosit, nötrofil ve monosit membranında glikozil fosfatidil inozitol (GPI) çapasında defekt oluşur (12). Normal koşullarda membran stabilitesini sağlayan 'decay accelerating factor' (DAF), homologous restriction factor (HRF) ve 'membrane inhibitor of reactive lysis' (MIRL) proteinleridir (12). PNH'lı hastaların hematopoetik hücre membranlarında 'kompleman düzenleyici yüzey proteinleri' olarak adlandırılan bu proteinler patolojik olarak yer almazlar (13) (14). Kompleman düzenleyici yüzey proteinlerinin temel görevi C3b, C4b ve Membran Atak Kompleksi başta olmak üzere kompleman proteinleri ile ilişkiye girmek ve konvertaz enzimini parçalamaktır. Bu düzenleyici proteinlerin olmadığı PNH hastalarında kompleman sistemi kontrolsüz biçimde kronik olarak aktive olup hücre membran hasarı ve intravasküler hemoliz ortaya çıkmaktadır (14,15).



Şekil 2. PNH' da eritrosit membran hasarı ve hemoliz

Hastalarda intravasküler hemoliz sonrasında açığa çıkan serbest hemoglobin haptoglobuline bağlanır. Dozurulamayan serbest hemoglobinin dolaşımında artması ve renal atılımı sonucunda tübüllerde biriken hem ve demirin yaptığı tübülonekroz hasarı ile kronik böbrek yetmezliği gelişebilir. Haptoglobulinin doyurabileceği miktarın üstünde açığa çıkan hemoglobin dolaşımdaki nitrik oksit (NO) ile bağlanarak artmış NO tüketimine yol açar (16,17). NO'nun organizmadaki en önemli işlevlerinden biri düz kas tonusunu düzenlemek olup NO eksikliği vazokonstriksiyona ve pulmoner hipertansiyona eğilimi artırır. PNH hastalarında görülen karın, baş, sırt ağrıları, erektil disfonksiyon ve özofageal spazmlar sonucu oluşan disfajiden NO eksikliğine bağlı vazokonstriksiyon ve düz kas tonusundaki artış sorumludur (16).



cGMP, siklik guanin monofosfat; NO, nitrik oksit;
PNH, paroksizmal nokturnal hemoglobinüri
; TAT, trombin-antitrombin

Şekil 3. PNH' da NO eksikliğine bağlı semptomlar ve bulgular

Hastalık hemolitik ve hipoplastik tip olmak üzere iki farklı klinik ile karşımıza çıkar (3). Hemolitik tipte kronik intravasküler hemoliz bulguları vardır. Hipoplastik tipte pansitopeni mevcut olup kemik iliği biyopsisinde hipoplastik hatta aplastik tablo ile karşılaşılır. Bazı hastalarda ise iki klinik tablo birlikte bulunabilir (3). Hipoplastik kemik iliği saptanan hastalarda nötropeni ve trombositopeni de anemiye eşlik eder (18).

Aplastik anemi (AA) ve myelodisplastik sendrom (MDS) ile PNH arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Bazı MDS ve AA hastalarında tanı sırasında PNH klonu saptanırken; PNH tanısı alan hastalarda da takiplerde MDS ve AA gelişebilmektedir (19). Özellikle immünsüpresif tedavi gören AA hastalarında %30-%50 oranında PNH klonu tespit edilmeye başlanmıştır (20). Bu hastalarda Avrupa Kan ve Kemik İliği Transplantasyon Grubu'nun (EBMT) retrospektif çalışmasına göre 7 yıl içinde PNH gelişme sıklığı %13 olarak değerlendirilmiştir (20). Bu gözlemler bu üç grup hastalık arasında patogenetik bir bağ olduğunu düşündürmektedir.

Hastalar kliniğe idrar renginde koyulaşma şikâyeti, pansitopeniye bağlı anemi semptomları, sistemik tromboza bağlı (derin ven trombozu, portal ven trombozu, renal ven trombozu gibi) semptomlarla başvurabilirler. Hemoliz, LDH (laktat dehidrogenaz) yüksekliği, sitopeniler ve tromboz varlığı veya öyküsü klinisyeni uyarıcı olmalı, PNH ayırıcı tanıda atlanmamalıdır, çünkü ayırıcı tanıda çok akılda tutulan bir antite değildir.

Asit hemoliz ve sükröz lizis yöntemlerinin günümüzde tanı değeri düşüktür (2). Akım sitometri yöntemi ile periferik kanda eritrosit, granülosit ve lenfosit yüzeylelerinde CD55 ve CD59 eksikliği gösterilebilmektedir (2). PNH'da belirli bir CD55 ve CD59 ekspresyon düzeyi belirlenmemiştir (2). Ancak nötrofillerde %10'un altında klon varlığında hemoliz gözlemlenmemiştir (2). Buna rağmen %1 üstünde klon varlığında hastalar PNH açısından takip edilmelidirler (2). Akım sitometride ölçülen klonun büyüklüğü hastalığın klinik ağırlığıyla ilişkili değildir (21,22).

Son gelişmelere göre GPI çapasına bağlanan FLAER (fluorescent aerolysin) kullanılarak GPI çapasına bağlanan antijenler belirlenebilmektedir (23).

PNH'da tedavi tromboz, transfüzyon bağımlı hemolitik anemi, disfaji, erektil disfonksiyon, karın ağrısı, dispne, böbrek yetmezliği, pulmoner hipertansiyon, portal ven trombozu gibi PNH'ya bağlı organ hasarı varlığında planlanır (2).

2.4. PNH KLİNİĞİ

PNH kronik intravasküler hemolizin yaşamı tehdit ettiği ilerleyici nadir bir hastalıktır. PNH'ya bağlı semptomlar genellikle nonspesifik olup hastalığın oldukça nadir görülmesi nedeniyle tanı 1-10 yıl süreyle gecikebilir (1). Klinikte ortaya çıkan bulgular değişkendir (24).

PNH klasik triadı komplemana aşırı duyarlılık sonucu oluşan intrakorpuskuler hemoliz, büyük venöz damarlarda tromboz ve pansitopenidir (25).

Hemoglobinüri tüm hastalarda görülmemekte ve ilk başvuru sırasında hastaların sadece %26'sında bulunmaktadır (23). Hemoliz sürekli ve gündüz saatlerinde de devam eder (11). Hemolizin akşamları belirgin hale gelip idrar renginin sabahları koyu renk alması nedeniyle hastalığa nokturnal sözcüğü eklenmiştir (25).

İdrar renginde ani koyulaşma, anemi ya da pansitopeniye bağlı belirti ve bulgular sık görülen hekime başvuru nedenleridir (2). Pansitopeni saptanan hastanın retikülositoz ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzim yüksekliği de mevcutsa PNH yönünden mutlaka araştırılmalıdır (10). PNH düşünülen bir hastanın ayırıcı tanısında da Paroksizmal soğuk hemoglobinürisi ve diğer hemolitik anemi yapan sebepler ile arteriyel ve venöz oklüzyon yapan patolojiler göz önünde tutulmalıdır (18)

Nadir bir klinik bulgu ise hastaların %40'ında ortaya çıkan trombotik olaylardır (2). Hem arteriyel hem venöz alanlar etkilenebilir. Derin ven trombozu (DVT) ve pulmoner tromboemboli (PTE) en yaygın olan tablodur (11). PNH'lı hastalarda abdominal ve serebral ven trombozu açısından da her zaman dikkatli olmak gerekir (11). Budd-Chiari sendromu ani ve ölümcül bir tablo ile seyredebilir. Sık görülmemekle birlikte dermal ven trombozu ile deri nekrozları ortaya çıkabilir (18).

PNH hastalarında trombotik olaylardan sonra ikinci sık ölüm nedeni böbrek fonksiyon bozukluğudur. Bu hastaların %64'ünde böbrek yetmezliği geliştiği görülmüş ve yine bu olguların 10 yıllık takibinde %21'inin son dönem böbrek yetmezliğine ilerlediği bildirilmiştir (26).

Tablo 2. PNH hastalarında ilk başvuru anında saptanan semptom ve bulgular (23).

PNH hastalarında ilk başvuru anında saptanan semptom ve bulgular n=80	Yüzde
• <i>Anemi semptomları</i>	%35
• <i>Hemoglobinüri</i>	%26
• <i>Hemorajik semptom ve bulgular</i>	%18
• <i>Aplastik anemi</i>	%13
• <i>Gastrointestinal semptomlar</i>	%10
• <i>Hemolitik anemi ve sarılık</i>	%9
• <i>Demir eksikliği anemisi</i>	%6
• <i>Tromboz veya emboli</i>	%6
• <i>Enfeksiyonlar</i>	%5
• <i>Nörolojik semptom ve bulgular</i>	%4

Açıklanamayan hemoliz, açıklanamayan sitopeni, açıklanamayan tromboz, makrositoz, hemoglobinüri ve kemik iliği yetersizliği bulguları olan bir hasta PNH açısından mutlaka araştırılmalıdır (27).

2.4.1. Klasik Tip PNH

Hastaların klinik belirtilerinde intravasküler hemoliz bulguları (retikülositoz, anormal derecede yüksek serum laktat dehidrogenaz ve indirekt bilirubin, buna karşın serum haptoglobulin anormal düşük konsantrasyonu) vardır (11). Ancak başka tanımlanan kemik iliği anormalliği yoktur.

2.4.2. Farklı Bir Kemik İliği Hastalığı Zemininde Gelişen PNH

Hastaların klinik ve laboratuvar bulgularında hemoliz varlığı saptanırken eş zamanlı olarak tanımlanmış kemik iliği anormalliği (aplastik anemi, miyelodisplastik sendrom ya da miyelofibroz gibi diğer miyelopatiler) bulunur. Kemik iliği anormalliğini saptamak için kemik iliği analizi ve sitogenetik yöntemler kullanılır.

2.5. TANI

PNH nadir görülen hastalıklardan olup tanı konabilmesi için klinisyenin aklında bulundurması gereken ayırıcı tanılardan biridir. PNH tanısı için yüksek risk altındaki hastalar şöyle belirlenebilir:

- ✓ Hemoglobinüri (şistosit, sferosit, orak hücre olmayan)
- ✓ Açıklanamayan sitopeniler

- ✓ Açıklanamayan venöz veya arteryel trombozlar
- ✓ Coombs negatif hemolitik anemi (hemoliz nedeni olabilecek aşikar enfeksiyon yoksa)
- ✓ Aplastik anemi
- ✓ Miyelodisplastik sendrom, refrakter anemi (11).

AA'li olgularda özellikle immunsupresif tedavi görenlerde %3 ile %50 oranında PNH klonu tespit edilmeye başlamıştır (20). Bu nedenle aplastik anemi tanısı sırasında PNH klonu araştırılması önerilmektedir (11). Araştırmalarla PNH klonu tespit edilen AA'lı olgularda immunsupresif tedavi başarısının daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur. İmmunsupresif tedavi gören AA hastalarında takipte PNH klonu artıp klasik PNH klinik bulguları gelişebilmektedir. Bu nedenle 6 ay veya 1 yıl aralarla PNH klon varlığı düzenli olarak taranmalıdır (2).

AA ile PNH arasında çok iyi belirlenen ilişki MDS ile PNH arasında tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (28). Normal sitogenetiğe sahip hipoplastik MDS'li genç hastalarda PNH taranması önerilmektedir (11). PNH klonu saptanan MDS hastalarının hepsi refrakter anemili olduğu için refrakter anemili MDS hastaları PNH açısından taranmalıdır (2).

PNH araştırılması önerilen önemli bir endikasyon ise trombozdur. PNH arteryel ve venöz sistemde tromboza neden olsa da hastalıkta venöz tromboz daha yaygındır. Tek başına arteryel tromboz diğer bulgular eşlik etmiyorsa PNH yönünden araştırma endikasyonu değildir (2). Şu durumlarda trombozu saptanan hastalarda PNH taranmalıdır:

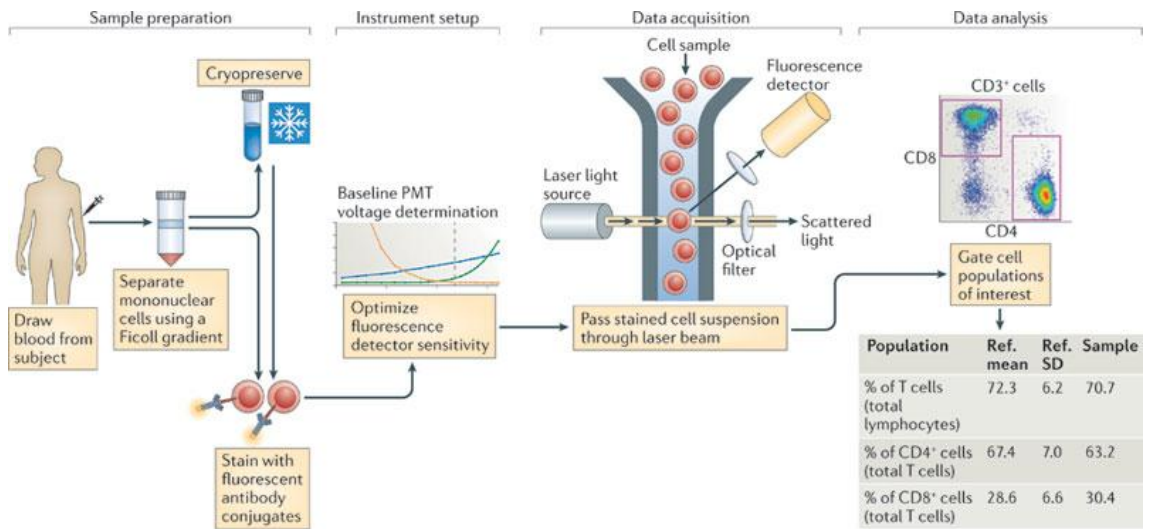
- ✓ Genç yaşta tromboz
- ✓ İntraabdominal ven, serebral ven ve dermal venler gibi alışılmadık vasküler alanlarda tromboz
- ✓ Hemoliz bulguları veya sitopeni saptanan trombozlu hastalar (11).

2.5.1. Tanı İçin Gerekli Testler

PNH tanısı için kullanılan eski tanı yöntemi asit ham testidir. Testte eritrositlerin asidifiye edilmiş serum ile inkübasyonu sonucu alternatif yolla kompleman aktivasyonu ortaya çıkar ve PNH hücreleri lizise uğrar (15). Test manuel yapıldığı için yapan kişinin

tecrübesi, laboratuvar şartları ve uygulama tekniği gibi subjektif koşullardan direkt etkilenmektedir. Bu nedenle spesifik ve duyarlı olmayan bir testtir ve standardı yoktur (24). Asit ham testi kullanımı uluslararası tanı kılavuzları tarafından özgüllük ve duyarlılığının düşük olması nedeniyle artık önerilmemektedir (11).

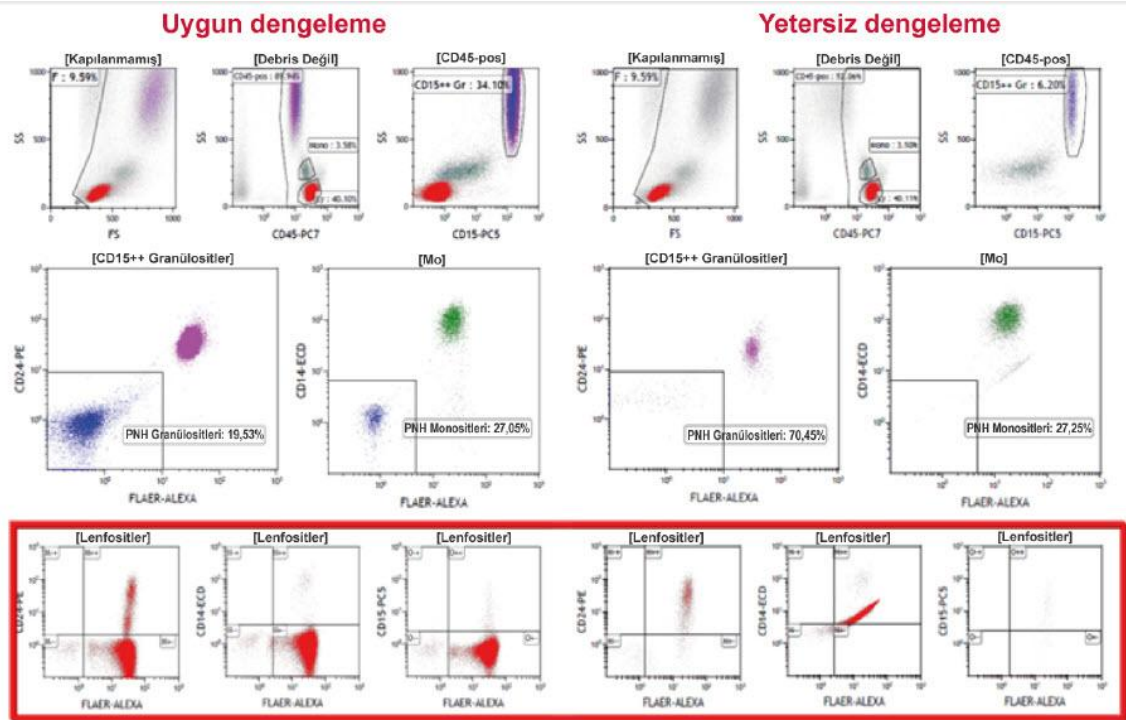
Günümüzde periferel kandan yapılan akım sitometrisi ile eritrosit ve granulositlerde anormal PNH klonu tespit edilmektedir (11). Genç hematopoetik hücrelerde GPI çapa protein ekspresyonu düşük olduğu için kemik iliği örneklerinden inceleme önerilmemektedir (2). Eritrositlerde PNH klonu değerlendirilmesi hemoliz ve kan transfüzyonlarından etkileneceği için granulosit klonunun değerlendirilmesi çok daha değerlidir (11). Granulositlerdeki defekt hemolizden de önce saptanabilmektedir (2). Granulositler ve en az bir hücre serisinde (eritrosit, monosit) CD59 (MIRL) ve CD55 (DAF) ekspresyonu eksikliği akım sitometrik olarak gösterilir (2). Nadir görülse de konjenital eksiklikleri dışlamak için en az iki antikorun birlikte çalışılması önerilmektedir (2). PNH raporlarında hem eritrosit hem granulositlerde saptanan klon büyüklüğü belirtilir. PNH tanısı için belirli bir CD55 ve CD59 ekspresyon eşik düzeyi belirlenmemiştir (11). Ancak granulositlerde %10'un altında PNH klonu varlığında belirgin hemoliz gözlenmemiştir (2). Klon büyüklüğü \geq %1 olan hastaların PNH semptomları açısından takip edilmesi gerekmektedir (2).



Nature Reviews | Immunology

Şekil 4. Akım sitometri şekli (29)

Akım sitometri ölçümü sırasında Floresan aerolizinin (FLAER) GPI çapasına spesifik olarak bağlanması diğer güncel bir tanı yöntemidir (11). GPI çapası için en uygun saptama yönteminin FLAER olduğuna dair kanıtlar artmaktadır (27). PNH tanısı için FLAER'in granulositlere bağlanmasındaki yetersizlik kullanılır. CD59'dan daha hassas belirleme özelliğine sahip olup %0.01 oranındaki PNH klonlarını saptayabilir (11). Defektli ve normal kan elemanları ayırımını çok net yapması ve lizise neden olmaması diğer bir avantajıdır (27). Ancak PNH'nın AA ile birlikte olduğu düşük granulosit sayılı durumlarda değerlendirme zorlaşabilir (30).



Şekil 5. FLAER şeması (31)

PNH hastasının laboratuvar değerlerinde şunlar beklenir:

- ✓ Sitopeni, bisitopeni veya pansitopeni
- ✓ Anemi
- ✓ Retikülosit sayısında artış
- ✓ LDH artışı
- ✓ Haptoglobulin azalması
- ✓ Hemosiderinüri ve hemoglobinüri

- ✓ Lökosit alkalin fosfataz düzeyi düşüklüğü
- ✓ Kemik iliği incelemesinde eritroid hiperplazi

PNH tanısında GPI çapası yardımıyla hücre membranına bağlanıp hücreyi kompleman ilişkili hemolizden koruyan CD55 ve CD59 eksikliğinin gösterilmesi altın standarttır. Spesifik olarak GPI çapasına bağlanan FLAER ise güncel tanı yöntemidir (11). PIG-A gen mutasyonu varlığının gösterilmesi gündelik pratikte kullanılması pek mümkün değildir (24).

2.6. TEDAVİ

PNH tanısı alan hastalarda hastalığa ait bulguların varlığında hastanın tedavi edilmesi önerilmektedir (2).

Transfüzyon bağımlı hemolitik anemi, tromboz, PNH'ya bağlı organ hasarı (pulmoner hipertansiyon ve böbrek yetmezliği gibi), kas spazmına bağlı klinik bulgular (yutma güçlüğü, ileri derecede güçsüzlük gibi) varlığında tedavi planlanır (2).

Folik asit ve demir replasmanı ile eritropoezin uyarılması amaçlanır. Ciddi ve sık hemolitik kriz öyküsü olan hastalara folik asit desteği mutlaka yapılmalıdır. Belirgin hemosiderinürisi olan hastalarda demir eksikliği gelişmesi doğal olup oral demir tedavisi ile demir eksikliği anemisinin derinleşmesi önlenir. Semptomatik anemi tedavisinde transfüzyona sık başvurulur (2). Ancak bu durum transfüzyona bağlı aşırı demir yükleme riskini beraberinde getirir (11). Böbrek yetmezliği olmadıkça eritropoetin tedavisinin PNH tedavisinde yararı yoktur (2).

İnfeksiyonlar kompleman sistemini aktive ederek PNH hastaları için önemli sorun oluştururlar. Kompleman sistemi ile tetiklenen hemoliz hemoglobin değerlerinde ani düşüğe neden olabilir (18). Kortikosteroidler alternatif yoldan kompleman aktivasyonunu inhibe ederek veya eritrosit membranını stabilize ederek hemolizi yavaşlatabilir. Ancak steroid tedavisi ile elde edilen yanıt tatmin edici olmayıp ciddi PNH olgularında dozun belirgin bir biçimde artırılması gerekebilir. Yüksek doz ve uzun süreli kortikosteroid tedavisi kullanımı ciddi yan etkileri nedeniyle önerilmez (32).

Tromboembolizm PNH ilişkili ölümün en yaygın sebebidir. PNH'da tüm ölümlerin %40 ila 67'sinin nedeni trombozdur (33). Son analizlerde tromboemboli atağı geçiren

PNH'lı olgularda ölüm riskinin %8.4 - 15.4 arttığı görüldü (11). PNH hastalarında tromboz geliştiğinde uygulanan antikoagülan tedavi klasik tedaviden farksızdır (24). INR değeri 2-3 arasında olacak şekilde etkin warfarin profilaksisi ile tromboz riski önemli ölçüde azalmaktadır. Ancak trombositopeninin antikoagülasyon için risk oluşturduğu unutulmamalıdır. Bununla birlikte, PNH hastaları yeterli antikoagülan tedaviye rağmen sıklıkla yeni trombotik atak geçirebilmektedir (11).

Son yıllarda PNH'da en güncel tedavi eculizumab tedavisidir. PNH için ilk ve tek onaylı tedavidir. Eculizumab etkisini terminal C5 kompleman blokağı yaparak gösteren humanize monoklonal antikordur (11). PNH'lı hastalarda önemli oranda hemoliz ve trombotik atakları azaltıp LDH düzeyini ilk dozdan itibaren normal seviyelere indirmektedir. Eritrosit transfüzyon ihtiyacı eculizumab sonrası belirgin azalır veya yok olur (18,32,34,35). Yapılan çalışmalarda eculizumab tedavisi sonrası tromboz riskinin 5-10 kat azaldığı gösterilmiştir (32,33). Tromboz öyküsü nedeniyle warfarin kullanımı altında tekrarlayan trombotik atak görülen hasta sayılarında eculizumab sonrası belirgin azalma görülmüştür (33). Trombositopeni PNH'da tromboemboli insidansını artırmakta olup eculizumab tedavisi trombositopenik hastalarda trombosit sayısını artırmaktadır. Eculizumab böbrek fonksiyonlarını anlamlı biçimde iyileştirmekte olup pulmoner hipertansiyona ait semptomları ortadan kaldırabilir (26,36). Eculizumab PNH'da yorgunluk ve yaşam kalitesine de olumlu katkıda bulunur.

Eculizumab kompleman sistemini bloke ederek meningokok enfeksiyonlarına ve kapsüllü bakterilere karşı duyarlılığı artırır (11). Bu nedenle tüm hastalara tedaviye başlamadan 2 hafta önce meningokok aşısı yapılmalıdır (27,34,37). Eculizumab indüksiyon fazında 7 günde bir 600 mg 35 dakika üzerinde intravenöz (i.v) infüzyon şeklinde 4 hafta verilir. Beşinci hafta 900 mg olarak verilir. İdame fazında ise 14±2 gün 900 mg olarak verilmektedir. PNH klonu eradike edilemeyeceği için eculizumab ömür boyu kullanılmalıdır. İlaç kesildiğinde ciddi hemoliz meydana geleceğinden ilaç kesildikten sonra en az 8 hafta hasta takip edilmelidir ve steroide başlamak gerekebilir (11).

Tedaviye cevap şu şekilde değerlendirilir:

- ✓ *Optimal cevap:* Hb>11 g/dl, transfüzyon bağımsız
- ✓ *Majör cevap:* Hb >8 g/dl, transfüzyon bağımsız
- ✓ *Parsiyel cevap:* Transfüzyon ihtiyacında %50 azalma
- ✓ *Minör cevap:* LDH'da düşme olmasına rağmen transfüzyon ihtiyacında değişiklik yok (11).

Günümüzde PNH hastalığının tek küratif tedavisi allojenik kök hücre nakli (Allo-HKHN) olmasına karşın yüksek mortalite riski vardır (30). Tam uyumlu vericiden yapılan allo-HKHN sonrası beş yıllık sağ kalım %58 ila 75 arasında değişmektedir. Allo-HKHN ile sahip olunan deneyimlerde yüksek morbidite ve mortalite oranları nedeniyle allo-HKHN'nin sadece seçilmiş hastalarda uygulanması görüşü hâkimdir. Yaşamı tehdit eden sitopenisi olan veya eculizumab ile kontrol edilemeyen ve engellilik oluşturan hemoliz ve trombozu olan hastalara allo-HKHN uygulamasını öneren görüşler vardır (32). HLA doku grubu uygun vericilerle yapılsa dahi nakile ait ciddi morbidite ve mortalite görülmesi nedeniyle allo-HKHN çok gerekli ve seçilmiş hastalarda başvurulacak bir tedavidir (1,38,39).

2.7. PROGNOZ

PNH'da en sık ölüm nedeni akut gelişen tromboz olup böbrek yetmezliği, kemik iliği yetmezliği, pulmoner hipertansiyon ve enfeksiyonlar da ölüme neden olabilir. Lösemiye dönüşüm nadir görülür. Hastalığın nadir görülmesi nedeniyle epidemiyolojik veriler çok net olmamakla beraber tanıdan sonra 5 yıllık mortalite %35 olup ortalama yaşam süresi yaklaşık 10 yıl olarak kabul edilmektedir. PNH klon büyüklüğü düşük oranlarda olan hastalarda yaşam süresi 22 yıla kadar yükselmektedir (1). AA bileşeni ön planda olan PNH hastaları ile klasik PNH hastalarının prognozları arasında önemli fark gösterilmemiştir (33).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışmaya Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı ve Kemik İliği ve Transplantasyon Merkezi Polikliniği ve Servislerine 2010-2015 yılları arasında sitopeni, bisitopeni ve pansitopeni ile başvuran ve PNH şüphesi nedeniyle araştırılmış 18 yaşından büyük 148 kadın ve 109 erkek hasta olmak üzere 257 hasta dahil edildi. Çalışma başlangıcında Erciyes Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 18.03.2016 gün ve 189 sayılı karar ile onay alınmıştır. Hastaların demografik ve laboratuvar verileri, dosyaları ve epikrizleri retrospektif olarak incelenerek Ek 1'deki form dolduruldu.

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların tam kan sayımı (lökosit, hemoglobin, platelet), direkt coombs testi, demir, demir bağlama kapasitesi, ferritin, folik asit, B12 vitamini, LDH (laktat dehidrogenaz), HBsAg, AntiHCV, AntiHIV düzeyleri ve çevresel kan örneğinden akım sitometri yöntemi ile çalışılmış PNH klon büyüklüğü verileri incelendi. İncelenen PNH klon büyüklükleri Flow sitometri laboratuvarında iki yöntemle çalışıldı. Yöntemlerden ilki olan eritrositlerde PNH klonu araştırılırken, hastadan bir adet EDTA'lı mor tüpe 4 ml kan örneği alındı. Kan örneğinden 5 µl tam kan ile 495 µl PBS(izoflow sıvısı) karıştırılarak numune elde edildi. CD59'dan 1µl, GPA (CD235q) 6µl pipetlenir ve üzerine 5µl numunedan eklendi. Oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyon yapıldı. Bir buçuk µl PBS eklendi ve 1500 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Bir kez daha santrifüj işlemi tekrarlandı ve 500 µl PBS eklenerek 50.000 hücre Beckman Coulter Navios Flow Cytometer isimli 3 lazer 10 renkli cihazda okutuldu.

Okutulma sonucunda histogramlara göre klonların büyüklüğü yüzde olarak elde edildi. İkinci yöntem olarak granülosit ve monositlerden PNH çalışması yapılırken granülosit için FLAER, CD24, CD15, CD45; monosit için FLAER CD14,CD64, CD45'in bulunduğu sistem sıvısı üzerine 100 µl tam kan eklenerek vorteks yapıldı. Yirmi dakika oda sıcaklığında karışım inkübasyona bırakıldı. Karışım üzerine 500 µl lysing (parçalama) solüsyonu eklenerek vorteks yapıldı ve 10 dakika inkübe edildi. 1500 devirde 5 dakika santrifüj edilir. Üzerine isoflow eklenerek tekrar 1500 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Dipte kalan pellet (çökelti) üzerine PBS eklenir ve Beckman Coulter Navios Flow Cytometer 3 lazer 10 renkli cihazda okutuldu. Elde edilen histogramlar klon büyüklüğünü yüzde cinsinden verdi.

PNH klonu pozitif ve şüpheli pozitif olan hastaların retikülosit mutlak değeri ve yüzdesi, haptoglobulin, total bilirubin, direkt bilirubin, indirekt bilirubin, demir, demir bağlama değerleri tarandı. Hastaların epikriz kayıtlarından aplastik anemi ve miyelodisplastik sendrom tanılarına ulaşıldı.

Demir eksikliği, folik asit ve B12 vitamin eksikliğine bağlı anemi ve sitopeni saptanan hastalar ile karaciğer sirozuna bağlı sitopenisi olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Miyelodisplastik sendrom ve aplastik anemi hastaları çalışmaya dahil edildi.

3.2.İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 16.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümlerse ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum - maksimum) olarak özetlendi. Kategorik ölçümlerin PNH klon büyüklüğü sonuçları arasında karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hastaların cinsiyetleri değerlendirildiğinde, 257 hastanın 148'i kadın (%57,6), 109'u erkek (%42,4) olarak bulundu. Çalışmaya alınan hastalar 18 ve 82 yaş aralığında olup ortanca yaş 48'di.

257 hastanın PNH klon büyüklüğü incelendiğinde, hastalar PNH klonuna göre üç gruba ayrıldı. Pozitif olan grup klon değeri %10 ve üstü olan hastalar, şüpheli pozitif olan grup klon değeri % 0-10 arası olan hastalar, negatif olan grup ise klon değeri 0 olan hastalar olarak gruplandırıldı. Çalışmaya almış olduğumuz 257 hastanın 162'si negatif, 86'sı şüpheli pozitif, 9'u ise pozitif olarak bulundu.

Sitopeni ve PNH klon büyüklüğüne göre hastaların dağılımı tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. PNH klon gruplarında sitopeni, bisitopeni ve pansitopeni görülme oranı

PNH	SİTOPENİ			Toplam
	Tek Sitopeni	Bisitopeni	Pansitopeni	
Negatif	50 (%19,45)	55 (%21,40)	57 (%22,17)	162 (%63,03)
Şüpheli	19 (%7,39)	31 (%12,06)	36 (%14,00)	86 (%33,46)
Pozitif	0 (%0)	3 (%1,16)	6 (%2,33)	9 (%3,50)
Toplam	69 (%26,84)	89 (%34,63)	99 (%38,52)	257 (%100)

Tablo 4. PNH klon gruplarında trombosit, lökosit, hemoglobin düşüklüğü değerleri

PNH	Trombosit		Lökosit		Hemoglobin		Toplam
	Normal	Düşük	Normal	Düşük	Normal	Düşük	
Negatif	69	93 (%36,18)	69	93 (%36,18)	37	125 (%48,63)	162 (%63,03)
Şüpheli	34	52 (%20,23)	34	52 (%20,23)	12	74 (%28,79)	86 (%33,46)
Pozitif	3	6 (%2,33)	3	6 (%2,33)	0	9 (%3,50)	9 (%3,50)
Toplam	105	152 (%59,14)	105	152 (%59,14)	49	208 (%80,93)	257 (%100)

9 PNH hastasının hepsinde anemi görülürken trombositopeni (referans aralığı 150000-450000 / mm³) ve lökopeninin (beyaz küre <4800/ mm³) sayısı refer her biri 6 hastada görüldü.

Hastaların anemi parametreleri referans aralıklarına göre incelendi. Hemoglobin (erkeklerde 13-18 g/d/L, kadında 12-16 g/d/L), demir (33-193 mg/dL), demir bağlama kapasitesi (225-480 mg/dL), ferritin (30-400 µg/L), folik asit (4,6-18,7 ng/mL), vitamin B12 (197-771 pg/mL) olarak incelendi. Hb ortanca değeri 10,40±2,24 g/dL, demir ortanca değeri 77±76,66 mg/dL, demir bağlama ortanca değeri 305±76,65 mg/dL, ferritin ortanca değeri 145±1700,27 µg/L, folik asit ortanca değeri 9,76±5,08 ng/mL, vitamin B12 ortanca değeri 380±449,77 B12 pg/mL olarak bulundu.

Tablo 5. Hastaların anemi parametreleri

	N	En düşük	En yüksek	Ortanca	Standart sapma
Hemoglobin g/dL	257	4,3	16,8	10,4	±2,24
Demir mg/dL	106	12	414	77	±76,66
Demir bağlama mg/dL	106	147	548	305	±76,65
Ferritin µg/L	236	2	18430	145	±1700,27
Folik asit ng/mL	232	3,17	24	9,76	±5,08
Vitamin B12 pg/mL	238	30	2000	380,50	±449,77

Çalışmaya alınan hastaların cinsiyete göre hemogloblin değerleri incelendiğinde 109 erkek hastanın 20'sinde normal, 89'unda düşük; 148 kadın hastanın 29'unun normal, 119'unda düşük tespit edildi.

89 hastada bisitopeni olup PNH klonu pozitif hastaların 3'ünde, PNH şüphelilerin 31'inde, PNH negatiflerin 55'inde bisitopeni mevcuttu. Trombositopeni ve lökopeni birlikteliği 122 hastada görülmüş olup 6'sı PNH pozitif grupta 41'i PNH şüpheli grupta bulundu. Trombositopeni ve anemi 122 hastada mevcut olup 7'sinde PNH klonu pozitif. Anemi ve lökopeniye 142 hastada rastlandı,8'inde PNH klonu pozitif olup anemi ve lökopeni birlikteliği PNH klonu pozitifliğine yol göstericiliği açısından diğer bisitopeni tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P=0.029).

Tablo 6. PNH klon gruplarında trombositopeni ve anemi birlikteliği

PNH klonu	Trombositopeni – Anemi birlikteliği		Toplam
	Yok	Var	
Negatif	92 (%35,79)	70 (%27,23)	162 (%63,06)
Şüpheli	41 (%15,95)	45 (%17,50)	86 (%33,46)
Pozitif	2 (%0,77)	7 (%2,72)	9 (%3,50)
Toplam	135 (%52,52)	122 (%47,47)	257 (%100)

Tablo 7. PNH klon gruplarında lökopeni ve anemi birlikteliği

PNH klonu	Lökopeni - Anemi birlikteliği		Toplam
	Yok	Var	
Negatif	81 (%31,51)	81 (%31,51)	162 (%63,06)
Şüpheli	33 (12,84)	53 (%20,62)	86 (%33,46)
Pozitif	1 (%0,38)	8 (%3,11)	9 (%3,50)
Toplam	115 (%44,74)	142 (%55,25)	257 (%100)

Tablo 8. PNH klon gruplarında trombositopeni ve lökopeni birlikteliği

PNH klonu	Trombositopeni- Lökopeni birlikteliği		Toplam
	Yok	Var	
Negatif	87 (%33,85)	75 (%29,18)	162 (%63,03)
Şüpheli	45 (%17,50)	41 (%15,95)	86 (%33,46)
Pozitif	3 (%1,16)	6 (%2,33)	9 (%3,50)
Toplam	135 (%52,52)	122 (%47,47)	257 (%100)

Pansitopeniye 99 hastada rastlandı. Bu hastaların 6'sı PNH pozitif, 36'sı PNH şüpheli, 57'si PNH negatif gruptaydı.

Çalışmaya alınan hastaların 32'sinde MDS pozitif, 215 'inde MDS negatif bulundu, 10 hastanın bilgilerine ulaşılamadı.

Çalışmamızda PNH ile MDS arasındaki ilişki incelendiğinde PNH klonu pozitif hastalarda MDS görülmemiştir, PNH şüpheli pozitif hastaların 10'unda (%11,6), PNH negatif hastaların 22'sinde (%13,6) MDS birlikteliği görülmüştür. PNH ve MDS birlikte görülme oranı PNH tanısına yol göstermesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. P:0,104

Çalışmaya alınan 257 hastanın 11'inde AA tanısı pozitif, 235'inde AA tanısı negatif bulundu, 11 hastanın bilgilerine ulaşılamamıştır. AA ile PNH arasındaki ilişki incelendiğinde PNH klonu pozitif olan 9 hastanın 1'inde AA tanısı olup p değeri 0,022'dir ve PNH ve AA arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır (Tablo 9'da gösterilmiştir).

Tablo 9. PNH klonu grupları ve AA ilişkisi

Aplastik Anemi	PNH klonu			Toplam	P = 0,022
	Negatif	Şüpheli	Pozitif		
Pozitif	4 (%1,55)	6 (%2,33)	1 (%0,38)	11 (%4,28)	
Negatif	155 (%60,31)	72 (%28,01)	8 (%3,11)	235 (%91,43)	
Bilinmiyor	3 (%1,16)	8 (%3,11)	0 (%0)	11 (%4,28)	
Toplam	162 (%63,03)	86 (%33,46)	9 (%3,50)	257 (%100)	

Hastaların hemoliz parametreleri referans aralıklarına göre incelendiğinde, LDH (135-225 U/L) ortanca değeri 229±580,31 U/L ; retikülosit yüzdesi (%0,5-%2) ortanca

değeri % 2,93±10,59; retikülosit mutlak değer (24-84x10⁹/L) ortanca değeri 97,6±75,79 x10⁹/L ; indirekt bilirubin (0-0,6 mg/dL) ortanca değeri 0,723±0,649 mg/dL olarak bulundu.

Tablo 10. Hastaların hemoliz parametreleri

Hemoliz Parametreleri	N	Minimum	Maximum	Ortanca	Standart sapma
LDH U/L	247	98	4856	229	±580,31
Retikülosit %	48	0,31	53,45	2,96	±10,59
Retikülosit x10⁹/L	48	0,25	419	97,6	±75,79
İndirekt bilirubin mg/dL	76	0,06	3,40	0,723	±0,649

Hastaların hemoliz parametrelerinden indirekt bilirubin, retikülosit mutlak değeri ve yüzdesi klon negatiflerde bakılmadı. PNH klonu pozitif hastaların 2'sinde, PNH klonu şüpheli grubun 8'inde retikülosit değeri yüksek; retikülosit yüzdesi klon pozitiflerde 4 hastada, şüpheli pozitiflerde 25 hastada yüksek bulundu. PNH klonu pozitif grubun 4'ünün, PNH şüpheli grubun 29'unun indirekt bilirubini yüksekti.

Tablo 11. PNH grupları ve Mutlak Retikülosit Sayısı karşılaştırılması

PNH grup	Mutlak Retikülosit Değeri 10 ⁹ /L		Toplam
	Normal	Yüksek	
Şüpheli	32 (%66,66)	8 (%16,66)	40 (%83,33)
Pozitif	6 (%12,50)	2 (%4,16)	8 (%16,66)
Toplam	38 (%79,16)	10 (%20,83)	48 (%100)

Tablo 12. PNH grupları ve retikülosit yüzdesi karşılaştırılması

PNH	% Retikülosit		Toplam
	Normal	Yüksek	
Şüpheli	15 (%31,91)	25 (%53,19)	40 (%85,10)
Pozitif	3 (%6,38)	4 (%8,51)	7 (%14,89)
Toplam	18 (%38,29)	29 (%61,70)	47 (%100)

Tablo 13. PNH grupları ve İndirekt Bilirubin değeri karşılaştırılması

PNH	İndirekt Bilirubin mg/dL		Total
	Düşük	Yüksek	
Şüpheli	2 (%5,12)	29 (%74,35)	31 (%79,48)
Pozitif	4 (%10,25)	4 (%10,25)	8 (%20,51)
Toplam	6 (%15,38)	33 (%84,61)	39 (%100)

11 hastada direkt coombs pozitif, 127 hastada negatif olup 118 hastanın verilerine ulaşılamadı. PNH klonu pozitif hastalarda direkt coombs pozitifliğine rastlanmadı.

Tablo 14. PNH klonu grupları ve Direkt Coombs ilişkisi

DİREKT COOMBS	PNH			Total
	Negatif	Şüpheli	Pozitif	
Pozitif	8 (%3,12)	3 (%1,17)	0 (%0)	11 (%4,29)
Negatif	76 (%29,68)	44 (%17,18)	7 (%2,73)	127 (%49,60)
Bilinmiyor	78 (%30,46)	38 (%14,84)	2 (%0,78)	118 (%46,09)
Toplam	162 (%63,28)	85 (%33,20)	9 (%3,51)	256 (%100)

257 hastanın 138'inde LDH yüksek saptandı. PNH klonu pozitif hastaların 7'sinde, PNH şüpheli pozitiflerin 50'sinde LDH yüksek olup LDH yüksekliği PNH'ya yol göstericiliği açısından istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı (P=0.195).

Tablo 15. PNH klonu grupları ve LDH yüksekliği oranları

LDH	PNH			Toplam	
	Negatif	Şüpheli	Pozitif		
Normal	74 (%29,95)	33 (%13,36)	2 (%0,80)	109 (%44,12)	
Yüksek	81 (%32,79)	50 (%20,24)	7 (%2,83)	138 (%55,87)	P=0.195
Toplam	155 (%62,75)	83 (%33,60)	9 (%3,64)	247 (%100)	

PNH klonu pozitif ve şüpheli pozitif hastalarda haptoglobulin değerleri incelendiğinde PNH klonu pozitiflerin 5'inde, PNH klonu şüpheli pozitiflerin 17'sinde haptoglobulin düşük bulundu. Negatif grupta haptoglobulin değerlerine ulaşamadığı için istatistiksel olarak karşılaştırılmadı.

Tablo 16. PNH grubu ve Haptoglobulin düşüklüğü ilişkisi

PNH	HAPTOGLOBULİN		Toplam
	<30	>30	
Şüpheli	17 (%47,22)	14 (%38,88)	31 (%86,11)
Pozitif	5 (%13,88)	0 (%0)	5 (%13,88)
Toplam	22 (%61,11)	14 (%38,88)	36 (%100)

Sitopeni sebeplerinden olan HBsAg pozitifliği 6 hastada, AntiHCV pozitifliği 6 hastada saptandı. PNH klonu pozitif grupta HBsAg veya AntiHCV pozitif hastaya rastlanmadı. HBsAg pozitif 2 hastada sitopeni, 2 hastada bisitopeni, 2 hastada pansitopeni mevcuttu. AntiHCV pozitif 6 hastanın 2'sinde sitopeni, 1'inde bisitopeni, 3'ünde pansitopeni görüldü.

Tablo 17. HBsAg ve AntiHCV ile sitopeni birliktelikleri

SİTOPENİ	HBsAg			Anti-HCV			Toplam
	Pozitif	Negatif	Bilinmiyor	Pozitif	Negatif	Bilinmiyor	
Sitopeni	2 (%0,78)	53	13	2 (%0,78)	52	14	68 (%26,66)
Bisitopeni	2 (%0,78)	76	10	1 (%0,39)	75	12	88 (%34,50)
Pansitopeni	2 (%0,78)	79	18	3 (%1,17)	78	18	99 (%38,82)
Toplam	6 (%2,35)	208	41	6 (%2,35)	205	44	255 (%100)

5. TARTIŞMA

PNH malign olmayan ancak yaşamı tehdit eden edinsel klonal hematopoetik kök hücre hastalığıdır. Daha çok üçüncü ve dördüncü dekatta karşımıza çıkmakta olup adölesan, çocuk ve ileri yaşta bildirilen vakalar mevcuttur. Ortalama tanı yaşı 42'dir (1). Her iki cinsiyette benzer oranlarda görülür (40). Nishimura ve arkadaşlarının Amerika Duke Üniversitesi ve Japonya'da yürüttüğü PNH hastaları ile ilgili çalışmasında 176 Duke ve 209 Japon PNH hastaları karşılaştırılmış ve Duke hastalarında yaş ortalaması 30, erkek hasta oranı % 56,3; Japon ırkta yaş ortalaması 45, erkek hasta oranı %56,5 bulunmuştur (41). Socie ve arkadaşlarının Fransız PNH hastalarla çalışmasında (42) ve Fujioka ve arkadaşlarının Japon PNH hastalarında (43) erkek ve kadın oranı eşit görülmüştür. Tayland'da Krustachue ve arkadaşlarının (44), Çin'de Le X ve arkadaşlarının PNH hastalarını değerlendiren iki ayrı çalışmasında (45) erkek oranı sırasıyla %72,9 ve %84 bulunmuştur. Bu bölgede erkek cinsiyetinde görülen PNH sıklığı kültürel ve çevresel etmenlere bağlı olabilir. Çalışmamızda hastalar 18-82 yaş aralığında olup ortalama yaş 49 olarak görülmüştür. PNH klonu %10 ve üstünde olan hastaların yaş ortalaması 39'dur ve %44,4'ü erkek, %55,5'i kadındır. Yaş ortalaması bulgumuz literatüre yakındır ancak kadın PNH hastası oranı fazla bulunmuştur ve literatürle uyumsuzdur. Bunun nedeni anemi semptomları ile kadınların hastaneye daha sık başvurusu olabilir.

Periferik kanda üç şekilli elemanın sayısal azlık veya yokluğu ile seyreden bulgu pansitopeni olarak tanımlanmaktadır (40). Tek hücre serisinde azlık sitopeni, iki seride azlık bisitopeni olarak adlandırılmaktadır. Açıklanamayan hemoliz, açıklanamayan sitopeni, açıklanamayan tromboz, makrositoz, hemoglobinüri ve kemik iliği yetersizliği

bulguları olan bir hasta PNH açısından mutlaka araştırılmalıdır (27). Moyo ve arkadaşlarının 2004 yılında yayınlanan “PNH’nin modern tanısal yöntemlerle doğal süreci” adında PNH hastaları ile ilgili çalışmasında 49 hastadan birinde herhangi hücre serisinde azlığa rastlanmazken, 5’inde tek sitopeni, 16’sında bisitopeni, 29’unda pansitopeni görülmüştür (46). Çalışmamızda 69 hastada tek sitopeni, 89 hastada bisitopeni, 99 hastada pansitopeni bulunmuştur. PNH klonu pozitif olan hastaların hiçbirinde tek sitopeni olmayıp, 3’ünde bisitopeni, 6’sında pansitopeni mevcuttur. Nishimura ve arkadaşlarının PNH hastaları çalışmasında Duke hastalarının 155’inde anemi, 80’inde lökopeni, 92’sinde trombositopeni; Japon hastaların 197’sinde anemi, 151’inde lökopeni, 133’ünde trombositopeni bulunmuştur. Bizim çalışmamızda PNH klonu %10’un altında 86 hastanın 74’ünde anemi, 63’ünde lökopeni, 45’inde trombositopeni; PNH klonu %10 ve üzeri 9 hastanın tamamında anemi, 8’inde lökopeni, 6’sında trombositopeni saptanmıştır (41). Çalışmamızda lökopeni ve anemi birlikteliği görülen hasta sayısının diğer bisitopeni birlikteliklerine oranla fazla olması PNH klonu pozitif hasta grubunda PNH tanısına yol göstericiliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Anemisi ve lökopenisi olan bir hastada PNH ayırıcı tanıda mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır.

Hemoliz, LDH yüksekliği ve retikülositoz klinisyeni uyarıcı olmalı, PNH ayırıcı tanıda atlanmamalıdır, çünkü ayırıcı tanıda çok akılda tutulan bir antite değildir. Nishimura ve arkadaşlarının PNH hastalarının karşılaştırıldığı çalışmasında Duke hastalarında LDH ortalaması 2337 U/L, mutlak retikülosit sayısı ortalaması $195 \times 10^9/L$; Japon ırkta LDH ortalaması 1572 U/L, mutlak retikülosit sayısı ortalaması $78 \times 10^9/L$ ’dir. Çalışmamızda 138 hastada LDH yüksekliği olup ortalaması 353 U/L’dir. LDH değeri yüksekliği olan hastaların 7’si PNH pozitif grupta yer almaktadır ve bu hastalarda LDH ortalaması 378,6 U/L ’dir. Çalışmamız PNH hastalarında LDH değerlerini yüksek bulup literatür ile uyumludur. PNH klonu pozitif 9 hastamızın 8’inde mutlak retikülosit sayısı değerlerine ulaşılmıştır ve ortalaması $88,54 \times 10^9/L$ ’dir. Mutlak retikülosit sayısı ortalamamız Japon ırk ile benzer şekilde bulunmuştur.

Aplastik Anemili (AA) olgularda özellikle immunsupresif tedavi görenlerde %3 ile %50 arasında değişen oranında PNH klonu tespit edilmektedir (20). Bu nedenle aplastik anemi tanısı sırasında PNH klonu araştırılması önerilmektedir (47). Griscelli-Bennaceur ve ark’nın AA ve PNH arasındaki patojenik bağ hakkında yaptığı çalışmada 37 AA

tanılı hastasının 12'sinde takiplerde PNH gelişmiştir. Parker ve arkadaşlarının 2005 yılında yayınlamış oldukları çalışmada 80 PNH pozitif hastanın 10'unda aplastik anemiye rastlamışlardır (48). Nishimura ve arkadaşlarının 2004 yılından yapmış oldukları çalışmada 153 Duke PNH hastasının %29'unda, Asyalı 125 Japon hastanın %37,8'inde AA pozitif bulunmuş, p değeri 0,07 bulunmuştur. Moyo ve arkadaşlarının PNH'nin modern tanısal yöntemlerle doğal süreci adında 2004 yılında yayınlanan çalışmalarında 49 hastanın 25'inde AA ve PNH birlikte görülmüş, 4 hasta AA tanısı ile takip olurken PNH tanısı almıştır (46).

Bizim çalışmamızda PNH pozitif 9 hastanın 1'inde AA tanısı pozitif, PNH şüpheli pozitif 86 hastanın 6'sında AA tanısı tespit edilmiş olup PNH ve AA hastalıklarının birlikte görülmesi AA tanısı varlığında PNH tanısına yol göstermesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışmamız AA ile PNH birlikteliği açısından literatürle uyumlu bulunmuştur (41).

AA ile PNH arasında çok iyi belirlenen ilişki MDS ile PNH arasında tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (28). Normal sitogenetiğe sahip hipoplastik MDS'li genç hastalarda PNH taranması önerilmektedir (47). Yenerel ve ark'nın yaptığı çalışmada MDS tanısı ile izlenen 20 hastanın çevresel kan örneğinde CD55 ve CD59 bakılmış ve 6'sında PNH klonu pozitif bulunmuştur (47). Meletis ve ark'nın yaptığı bir çalışmada 479 hastada CD55 ve CD59 eksikliğine taranmış, 133 MDS hastasının 22'sinde, 21 AA hastasının 7'sinde CD55 ve CD59 eksikliği gösterilmiştir (49). Ancak bizim çalışmamızda retrospektif olarak incelenen 257 hastanın 32'sinde MDS tanısı pozitif olup PNH pozitif grupta MDS tanısı varlığına rastlanmadı.

Akım sitometri yöntemi ile periferik kanda eritrosit, granülosit ve monosit yüzeylerinde CD55 ve CD59 eksikliği gösterilebilmektedir. PNH'da belirli bir CD55 ve CD59 ekspresyon düzeyi belirlenmemiştir. Ancak nötrofillerde %10'un altında klon varlığında hemoliz gözlemlenmemiştir. Buna rağmen %1'in üstünde klon varlığında hastalar PNH açısından takip edilmelidirler (2). Çalışmamızda 9 hastada %10'un üstünde klon varlığı, 12 hastada %1-%10 arası klon varlığı, 74 hastada %1'in altında klon varlığı görülmüştür. Çalışmada ulaştığımız veriler doğrultusunda açıklanamayan sitopeni ile başvuran olguların düşük de olsa var olan klon varlığı PNH açısından takip edilmesi konusunda uyarıcı niteliğindedir. Akım sitometride ölçülen klonun büyüklüğü hastalığın

linik ağırlığıyla ilişkili değildir (21,22). Çalışmamızda ölçülen en yüksek klon değeri %95, en küçük klon değeri ise %0,002'dir. Çalışmamız retrospektif olduğu için hastaların klinik ağırlıkları değerlendirilememiştir.



6. SONUÇLAR

1. PNH her iki cinsiyette benzer oranlarda görülmekle birlikte çalışmamızda PNH klonu pozitif grupta erkek/kadın oranı 0.8/1 olarak kadın hakimiyeti saptanmıştır.
2. PNH hastalarında yaş ortalaması 39'dur.
3. Tam kan sayımında lökopeni ve anemi birlikteliği saptanması PNH tanısı pozitifliği açısından yol göstericidir.
4. LDH yüksekliği hemoliz açısından yol göstericidir ve çalışmamızda 9 PNH hastasının 7'sinde LDH yüksek bulunmuştur.
5. Hemoliz parametrelerinden mutlak retikülosit değeri yüksekliği Asyalı ırk ile benzer değerlerde bulunmuştur.
6. Dokuz PNH hastasının 1'inde AA tanısı da olup AA ve PNH birlikteliği açısından literatür ile uyumlu sonuç bulunmuştur.
7. PNH hastalarında MDS tanısına rastlanmamıştır.
8. Sitopeni ile başvuran olguların 9'unda %10'un üstünde, 12'sinde %1-%10 arası PNH klon büyüklüğü olup çalışmamızın verilerine göre tek sitopeni PNH açısından anlamlı bulunmamıştır.

9. FLAER yöntemi ile en büyük klon %95, en küçük klon %0,002 olarak ölçülmüştür ve PNH tanısı açısından günümüzde en sık kullanılan en duyarlılığı en yüksek yöntemdir.

Sonuç olarak çalışmamızda tek sitopeni varlığı PNH şüphesi açısından anlamlı bulunmamıştır. Ancak anemi ve lökopeni birlikteliği veya AA tanısı olan hastalar PNH açısından araştırılmalıdır. Nadir görülen ancak klinisyenin PNH'yi ayırıcı tanıda aklında bulundurmasına yol göstericiliği açısından tek sitopeni, bisitopeni, pansitopeni olgularının daha geniş serilerle araştırılması gerektiği değerlendirilmiştir.



KAYNAKLAR

1. Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, Luzzatto L, Dacie JV. Natural History Of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria, The New England Journal Of Medicine Vol. 333 No. 19, 1995.
2. Türk Hematoloji Derneği. Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri Tanı ve Tedavi Kılavuzu, 2011.
3. <http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/pansitopeni.pdf>. [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 12 aralık 2015.]
4. Orphanet Report Series. Rare Diseases collection. November 2010 Number 1.
5. Gull WW. A case of intermittent haematuria. GuysHosp Rep 1866;12:381.
6. Strübing P. Paroxysmale Haemoglobinurie. Dtsch MedWochenschr 1882;8:117.
7. Crosby WH. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; a classic description by Paul Strübing in 1882, and a bibliography of the disease. Blood 1951;6:270–84.
8. Marchiafava E, Nazari A. Nuovo contributo allo studio degli itteri cronici emolitici. Policlinico Med 1911;18:241–54.
9. Micheli F. Un caso di anemia emolitica con emosiderinuria perpetua. Accad Medica 1928;7:148.
10. Yenerel MN. Anemi Fizyopatolojisi, Klinik Gelişim Dergisi 2009 No 3;65-70.
11. <http://thd.org.tr/thdData/Books/679/paroksizmal-nokturnal-hemoglobinuri-de-guncel-durum-vildan-ozkocaman.pdf>. [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 18 aralık 2015.]
12. Rotoli B, Bessler M, Alfinito F, del Vecchio L: Membrane proteins in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. Blood Reviews 7:75 (1993).
13. Ruiz-Delgado GJ, Vazquez-Garza E, Mendez-Ramirez N, Gomez-Almaguer D. Abnormalities in the expression of CD55 and CD59 surface molecules on peripheral blood cells are not specific to paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Hematology. 2009;14(1):33-7.

14. Socie G, Mary JY, de Gramont A. et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors. French Society of Haematology. Lancet 1996;348:573-577.
15. Rosse WF, Dacie JV. Immune lysis of normal human and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) red blood cells. I. The sensitivity of PNH red cells to lysis by complement and specific antibody. J Clin Invest. 1966; 45(5):736-48.
16. Rother et al. The Clinical Sequelae of Intravascular Hemolysis and Extracellular Plasma.
17. Tabbara IA. Hemolytic anemias. Diagnosis and management. Med Clin North Am. 1992.
18. Hillmen P. Paroxysmal Nocturnal haemoglobinuria. In: Hoffbrand AV, Catovsky D, Tuddenham EGD, Green AR, eds. Postgraduate Haematology. 6th ed. Singapore: Wiley-Blackwell; 2011.p.176-185.
19. Joung-Youl J, Toze JA, Marsh JCW, Mathhey F, Gordon-Smith EC: Myelodysplasia following aplastic anemia-paroxysmal nocturnal haemoglobinuria syndrome after treatment with immunosuppression and G-CSF: evidence for the emergence of a separate clone. Br J Haematol. 94: 510 (1996) : s.n.
20. De Palnque MM, Bacigalupo A, Wursch A, Hows JM, Devergie A, Frickhofen N, Brand A, Nissen C: Long-term follow-up of severe aplastic anaemia patients treated with antilymphocyte globulin. Severe Aplastic Anaemia Working Party of the European Cooperative Group for Bone Marrow Transplantation (EBMT). Br J Haematol.73:121 (1989) : s.n.
21. Cappelini, Maria Domenica, et al. Tailoring iron chelation by iron intake and serum ferritin: the prospective EPIC study of deferasirox in 1744 patients with transfusion-dependent anemias. haematologica, 2010, 95.4: 205-505.
22. Urbano-Ispizua A et al. Haematologica 2010;95(Suppl 2):422, abs 1022.
23. Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J, Bessler M, Ware P, Hillmen P, Luzzatto L, Young N, Kinoshita T, Rosse W, Socié G. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Blood 2005 106: 3699-3709.

24. Çetiner M. Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri, Türkiye Klinikleri J Hem Onc-Special Topics 2011;4(1):23-8.
25. Luzzatto L. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Hematology 2000. American Society of Hematology Education Program. 2000; 28-38.
26. Hill A et al. Effect of eculizumab on haemolysis-associated nitric oxide depletion, dyspnoea, and measures of pulmonary hypertension in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. Br J Haematol 2010;149(3):414-25.
27. Borowitz MJ, Craig FE, Digiuseppe JA, Illingworth AJ, Rosse W, Sutherland DR, Wittwer CT, Richards SJ. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. Cytometry B Clin Cytom. 2010;78:211–30.
28. Nakakuma H, Nagakura S, Iwamoto N, Kawaguchi T, Hidaka M, Horikawa K, Kagimoto T, Shido T, Takatsuki K; Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in bone marrow of patients with pancytopenia. Blood 85: 5 (1995).
29. <http://gfinak.github.io/Talks/RFlowToolsFlowCAP/index.html#23>. [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 11 aralık 2015.]
30. Brodsky RA, Mukhina GL, Li S, Nelson KL, Chiurazzi PL, Buckley JT, Borowitz MJ. Improved detection and characterization of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using fluorescent aerolysin. Am J Clin Pathol 2000;114:459–66.
31. <http://turkey.netflowconnect.com/wp-content/uploads/2013/09/Quality-control-on-lymphocytes-Figure-4.53aLARGE.jpg>. [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 11 aralık 2015.]
32. Brodsky RA. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. American Society of Hematology Educational Book. 2009; 28-38.
33. Hillmen P, Muus P, Duhrsen U. Effect of complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood. 2007; 110; 4123-8.
34. Hillmen P, Hall C, Marsh JC, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. N Engl J Med. 2004; 350 (6): 552-9.

35. A, Hillmen P, Richards SJ, et al. Sustained response and long-term safety of eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2005; 106(7): 2559-65.
36. Kelly RJ et al. Long Term Treatment with Eculizumab in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Sustained Efficacy and Improved Survival. *Blood First Edition Paper*, prepublished online April 1, 2011.
37. Hill A, Hillmen P, Richards SJ, et al. Sustained response and long-term safety of eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2005; 106(7): 2559-65.
38. Kocabay G, Karaca Ç, Demir K, Türkmen E, Tiryaki B, Çevikbaş U, Beşışık F, Çakaloğlu Y, Ökten A. Portal ven trombozunun nadir bir sebebi: Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri, *Akademik Gastroloji Dergisi* 2005; 4 (2): 135-138.
39. Rotoli B, Bessler M, Alfinito F, del Vecchio L. Membrane proteins in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Blood Reviews* 7:75, 1993 42.
40. De Latour et al 2008; Ware et al 1991.
41. Nishimura, Jun-Ichi, et al. Clinical course and flow cytometric analysis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the United States and Japan. *Medicine*, 2004, 83.3: 193-207.
42. Socie, Gérard, et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors. *The Lancet*, 1996, 348.9027: 573-577.
43. Fujioka, S., and T. Asai. "Prognostic features of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in Japan." *Nihon Ketsueki Gakkai zasshi: journal of Japan Haematological Society* 52.8 (1989): 1386-1394.
44. Kruatrachue, M.; Wasi, P.; NA-Nakorn, S. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria in Thailand with special reference to an association with aplastic anaemia. *British journal of haematology*, 1978, 39.2: 267-276.
45. LE, X. F., et al. Characteristics of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in China. Clinical analysis of 476 cases. *Chinese medical journal*, 1990, 103.11: 885-889.
46. 2004 Blackwell Publishing Ltd, *British Journal of Haematology*, 126, 133–138.

47. İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası 63:4, 2000.
48. Parker, Charles, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood, 2005, 106.12: 3699-3709.
49. Haematologia, Vol. 31, No. 1, pp. 7-16 (2001).
50. Çetiner M. Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri, Türkiye Klinikleri J Hem Onc-Special Topics 2011;4(1):23-8.
51. Hillmen, Peter, et al. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. New England Journal of Medicine, 1995, 333.19: 1253-1259.



EKLER

Ek 1. Nutrisyonel Nedenlerle Açıklanamayan Sitopeni Olgularında Pnh Klon Büyüklüğü ve Sıklığının Geriye Yönelik Taranması

Hastanın adı soyadı:.....

Dosya Numarası:.....

Yaşı:

Cinsiyeti Erkek: () Kadın: ()

PNH Klon Büyüklüğü:.....%

Wbc sayısı:.....

Nötrofil mutlak değeri:

Hgb düzeyi:.....

Trombosit sayısı :

LDH :

Direkt Coombs: Pozitif: () Negatif: ()

Hbs Ag: Pozitif: () Negatif: ()

Anti HCV: Pozitif: () Negatif: ()

Anti HIV: Pozitif: () Negatif: ()

Ferritin düzeyi:.....

Demir düzeyi:.....

Demir Bağlama düzeyi:

Folik Asit düzeyi:.....

B 12 vitamin düzeyi:.....

Miyelodisplastik Sendrom tanısı: Var: () Yok: ()

Aplastik anemi tanısı: Var: () Yok: ()

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Emel DURAN'a ait "Nedeni Açıklanamayan Sitopeni Saptanan Olgularda Paroksizmal Nokturnal Hemoglobüri Klonu Varlığının ve Büyüklüğünün Geriye Yönelik Araştırılması" adlı çalışma jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 25/11/2016

Başkan Prof. Dr. Bolent Eser

İmza

Üye Doç. Dr. Selma Sıngın

İmza

Üye Doç. Dr. Mustafa Kalkan

İmza