



# Hematolojide Laboratuvar Testleri

Prof. Dr. Fevzi ALTUNTAŞ

Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Hematoloji Bilimdalı Öğretim Üyesi

Dönem-III, Komite-II



# Hematoloji

- Kanın fonksiyonu, kan yapıcı organlar ve kan hastalıkları ile ilgilenir.
- Etiyoloji, tanı, tedavi, прогноз ve kan hastalıklarının önlenmesi çalışmalarını içerir.
- Dahiliye, fizyoloji, patoloji, klinik laboratuvar çalışmaları ve pediatriyi kapsayan bir bilim dalıdır.

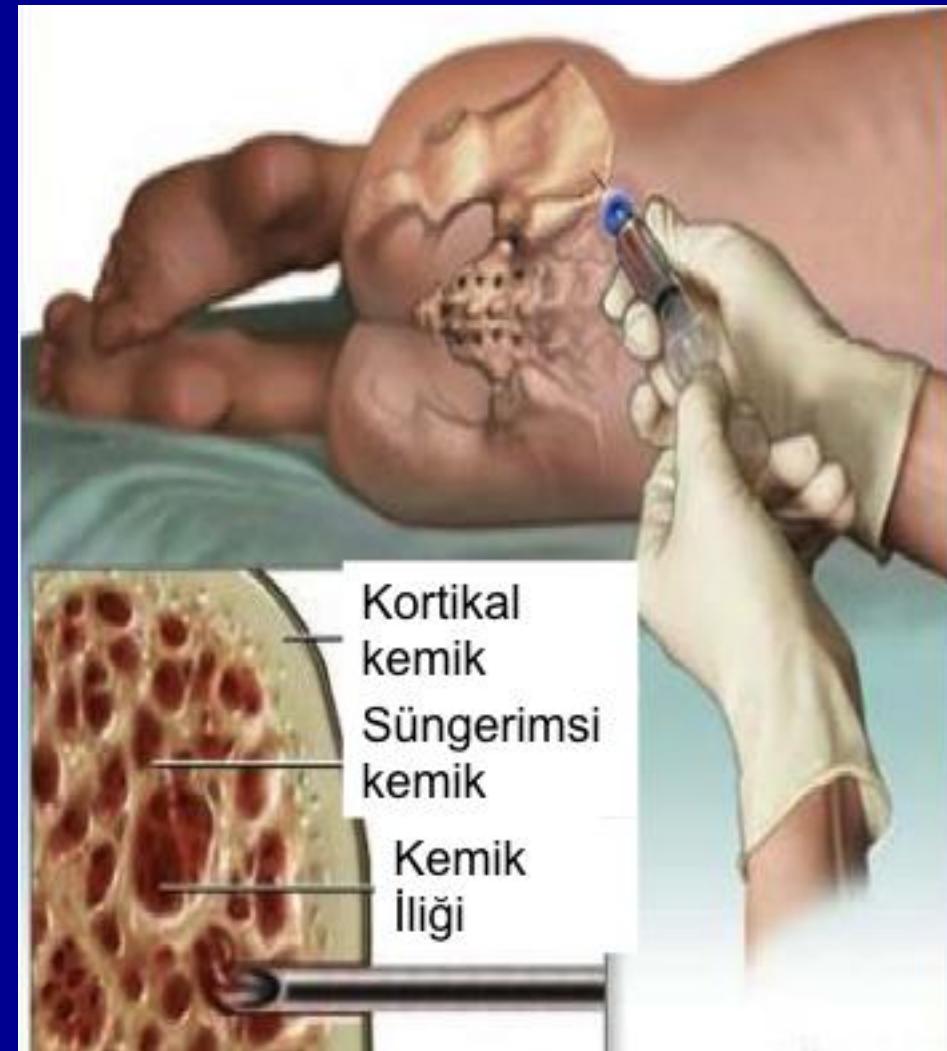
# Laboratuvar Testleri

- Gelecekte olabilecek hastalık riskini ölçer
  - Faktör V Leiden mutasyonu tromboz için risk faktördür.
- Tanı koyma ve dışlamayı sağlar.
  - KML; Ph kromozomu saptanması ile tanı alır.
- Hastalık sürecinin şiddetini değerlendirir.
  - Faktör VIII düzeyi <% 1: ağır Hemofili A
- Prognozu belirler.
  - Beta-2 mikroglobulin multiple myeloma için prognostik bir faktördür.
- Tedavinin seçiminde rehberlik eder.
  - t(15; 17) pozitif AML; ATRA kullanılır.
- Hastalık süreci takip edilir.
  - AML'de minimal kalıntı hastalığı flowsitometri ile izlenir.
- Tedavinin etkinliği izlenir.
  - Heparin aPTT, warfarin ise PT ile takip edilir.

# Kemik İliği Aspirasyonu

# Kemik İliği Aspirasyonu ve Biyopsi

- Kemik iliği fonksiyonlarını belirleyen bir testtir.
- Kemik iliği boşluğundan elde edilen sıvı örnekleri (aspirasyon) veya çekirdekli kemik iliği hücreleri (biyopsi) mikroskop altında incelenir
- Kemik iliği aspirasyonu:
  - Sternum yada iliak kanattan alınır
- Kemik iliği biyopsisi:
  - Posterior iliak kanattan alınır



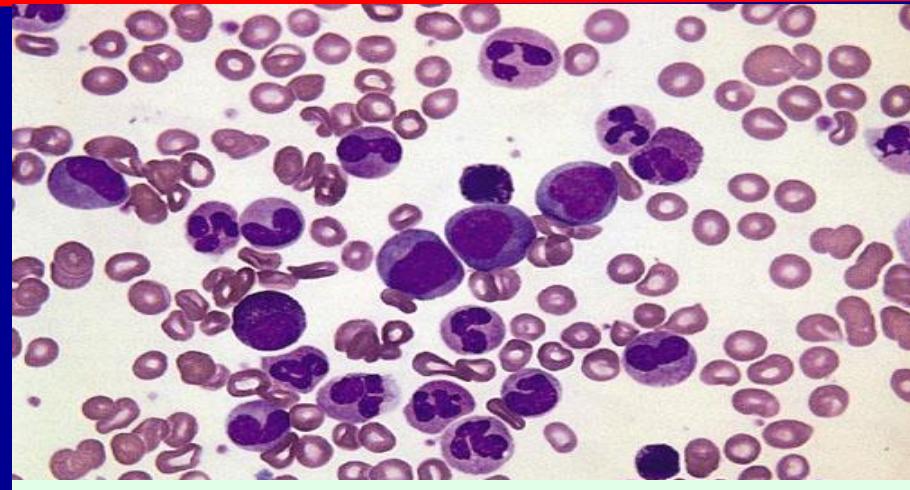


# Malign Lökosit Bozuklukları

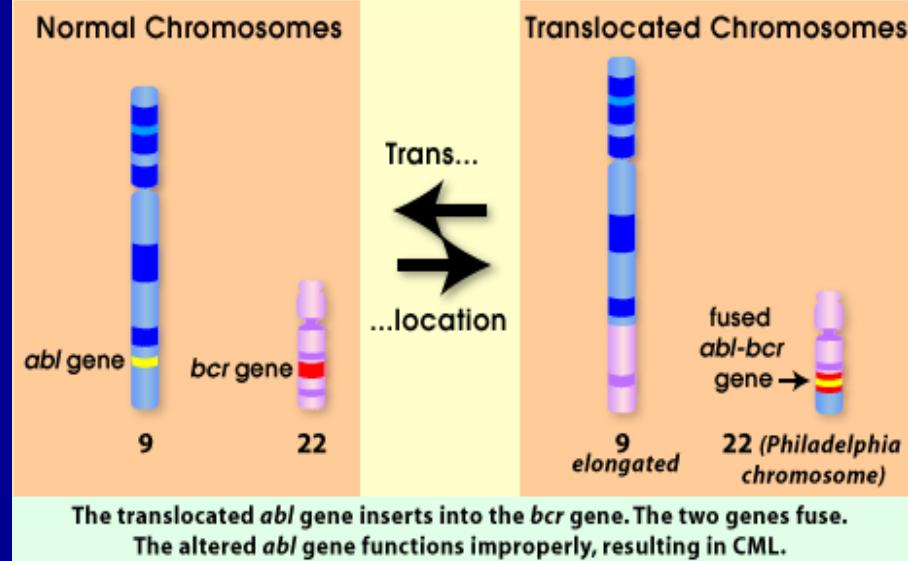
- Lösemiler
  - Akut Lösemiler
    - Akut myeloid lösemi (AML)
    - Akut lenfoblastik lösemi (ALL)
  - Kronik Lösemiler
    - Kronik myelojenik lösemi (KML)
    - Kronik lenfositik lösemi (KLL)
- Lenfomalar
  - Non-Hodgkin lenfoma (NHL)
  - Hodgkin hastalığı
- Plasma hücre hastalıkları
  - Multiple Myeloma
  - Diğer

# Kronik Myeloid Lösemi (KML)

- Lökositoz
- Bazofillerde artış
  - Periferik yayma kemik iliği gibi
- Periferik kandan veya kemik iliği örneğinden BCR-ABL re-aranjmanı ve/veya philadelphia kromozomu t(9,22) gösterilmesi ile tanı konur
  - Konvensiyonal sitogenetik, FISH, PCR ile

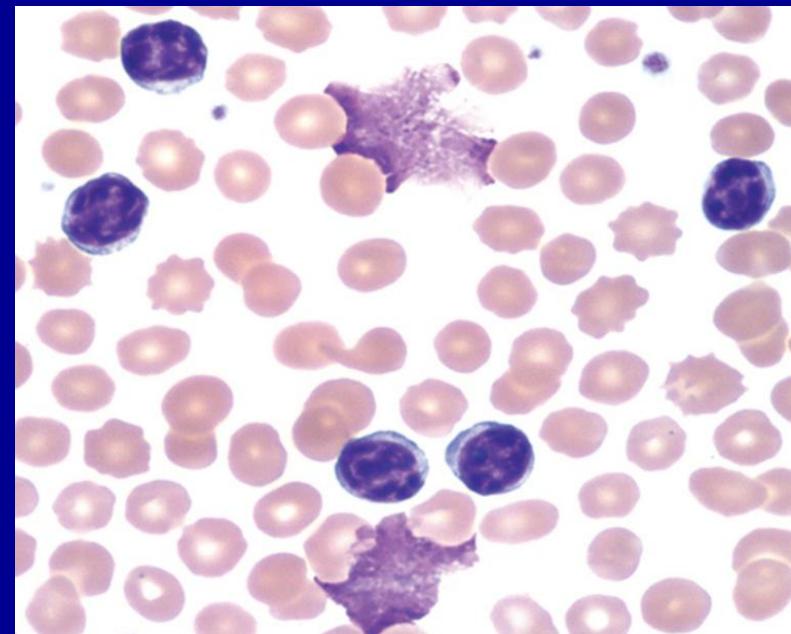


The Philadelphia Chromosome and Chronic Myelogenous Leukemia (CML)



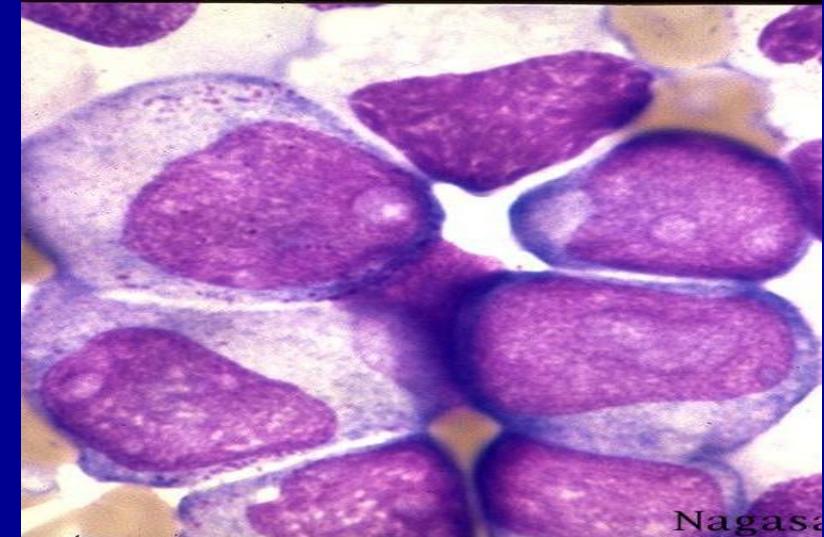
# Kronik Lenfositik Lösemi (KLL)

- B lenfositlerin klonal hastalığı
- Periferik kandaki absolü B lenfosit sayısı  $\geq 5000/\text{microL}$  [ $5 \times 10^9/\text{L}$ ]
- Ki aspirasyonunda lenfositler  $> 30\%$
- Flow sitometride;
  - Olgun B lenfositlerde CD5 ve CD19, CD20 ve CD23 klonal ekspresyonu vardır.



# Akut Lösemi

- Tam Kan sayımı
  - Dolaşımda blast ve birlikte sitopeni vardır.
- Ki aspirasyon ve biyopsisi:
  - Genellikle hipersellüler
  - Blast sayısı >20%
  - AML; Auer rods patognomiktir



# Akut Lösemi

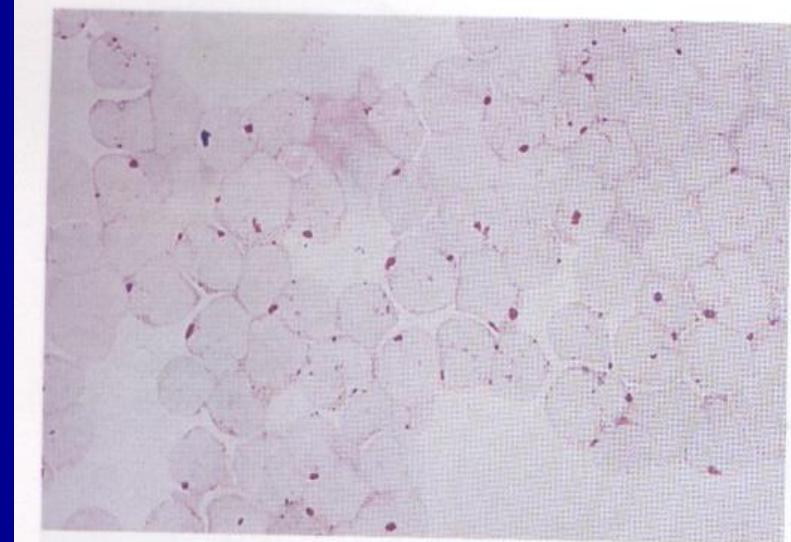
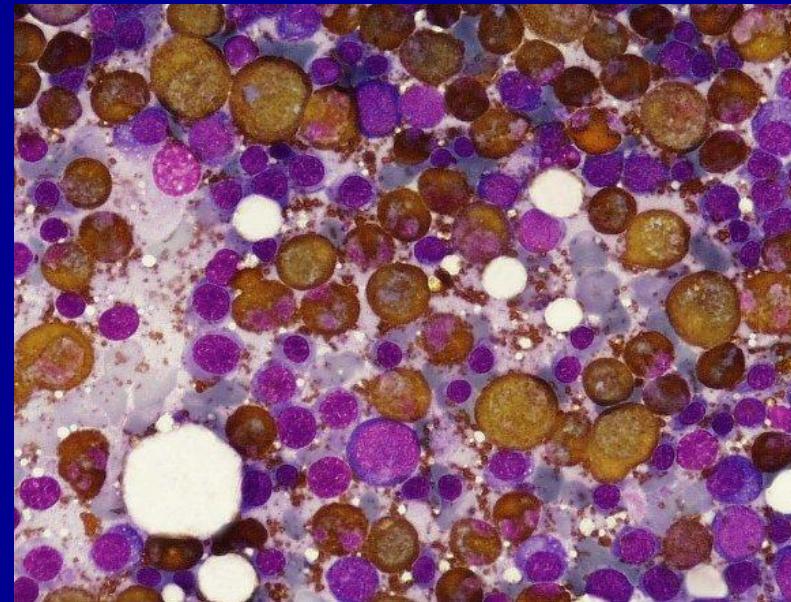
**Sitokimyasal boyamalar:**

a) **Peroksidaz (MPO):**

- Pozitif = AML
- Negatif = ALL

b) **Periodik asit schiff (PAS)**

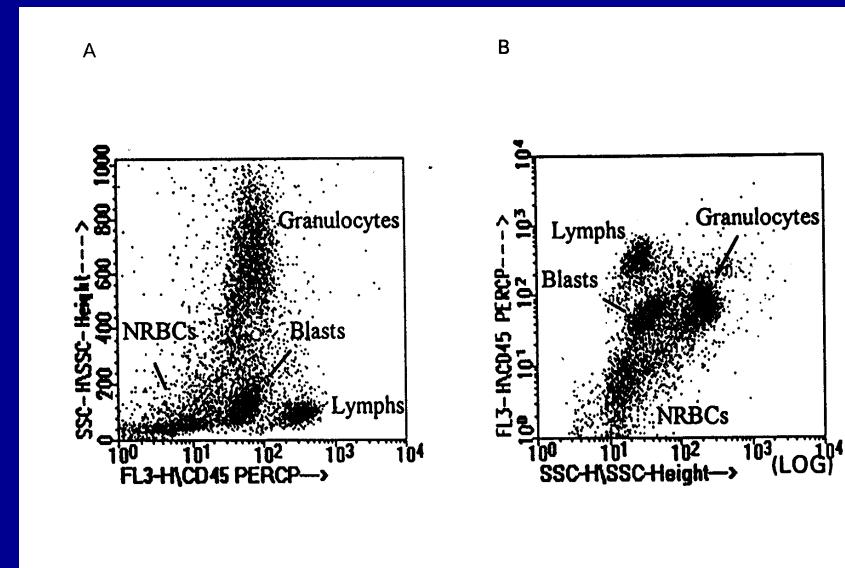
- Pozitif = ALL
- Negatif = AML



# Akut Lösemi

## Immunofenotip:

- Blast hücreleri üzerinde mevcut olan antijenler tanımlanır.
- Löseminin; Lenfoid yada Myeloid olduğu belirlenir.
- T-ALL ve B-ALL ayırt edilir.



AML : CD13, CD33 (+)

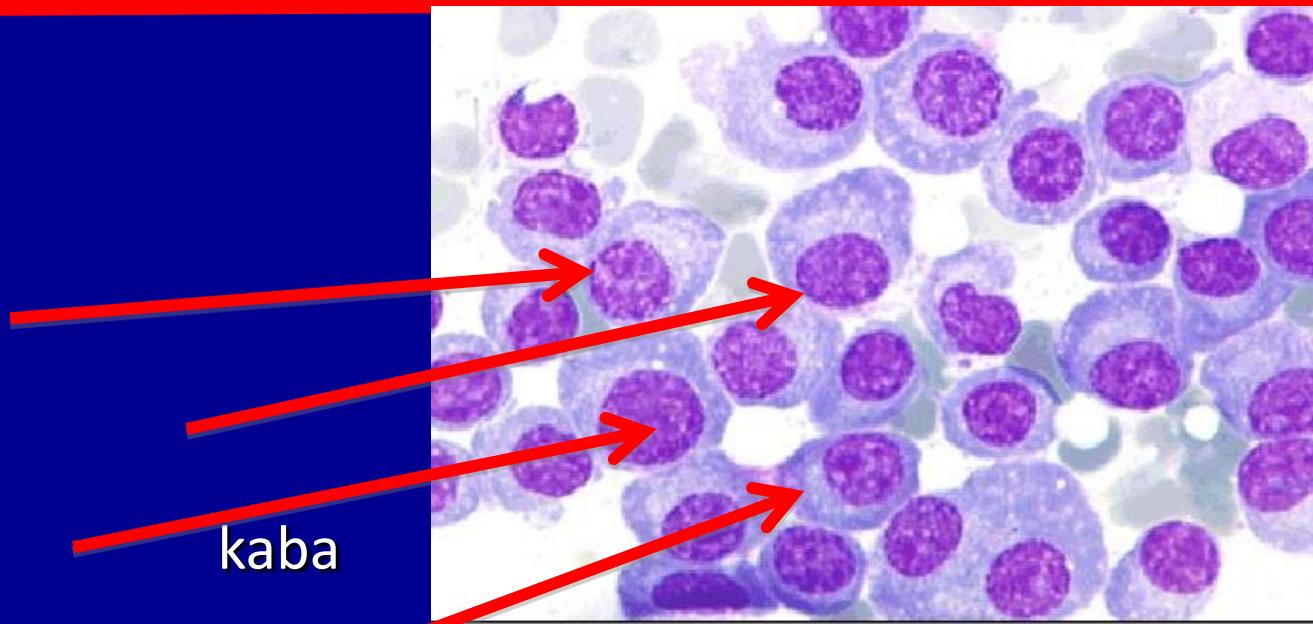
B-ALL: CD10, CD 19, CD22 (+)

T-ALL: CD3, CD7 (+)

# Multiple Myeloma

Plazma hücreleri:

- Yuvarlak veya oval
- Eksantrik çekirdek kromatin,
- Yoğun bazofilik stoplazma, ve
- perinuklear açıklık



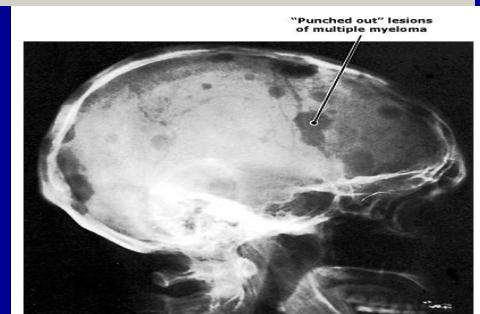
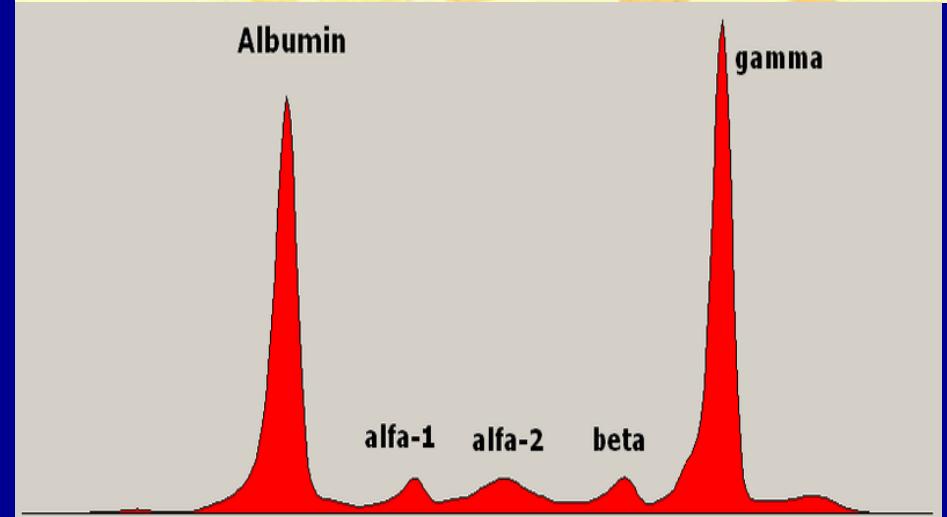
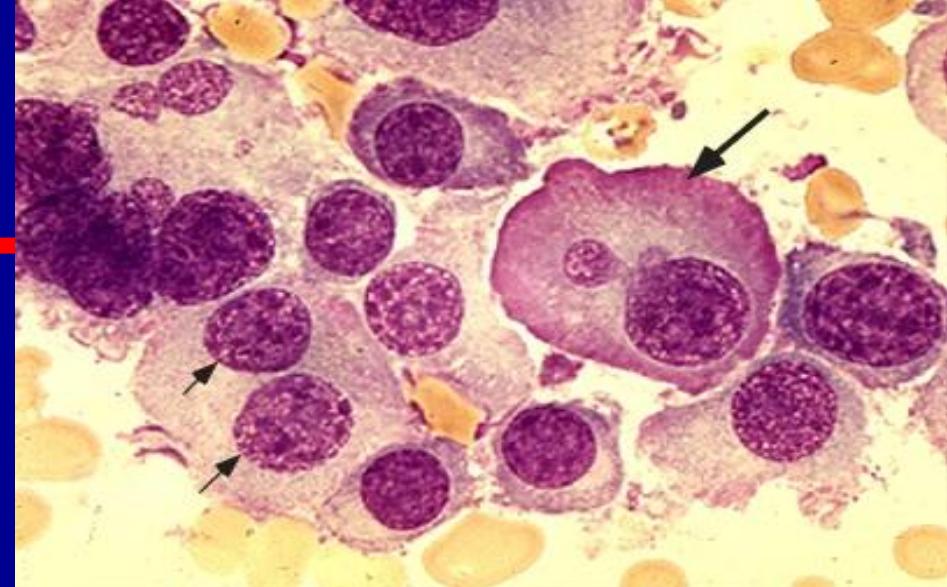
kaba

ve



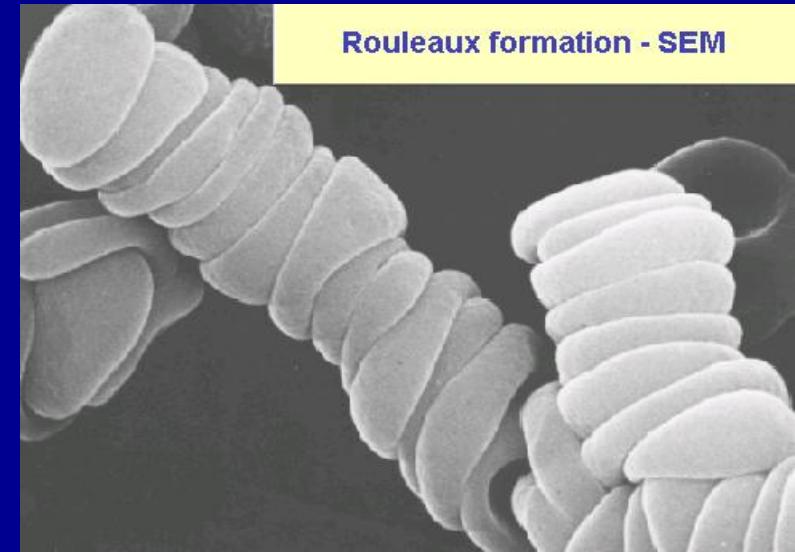
# Myeloma

- Plazma hücreli malignite
  - Plazma hücreleri Ki >%10
  - Anormal *paraprotein*
    - IgG – 60%
    - IgM – 20%
  - End organ hasarı
    - “CRAB” – calcium, renal, anemia, bone
  - İleri yaş hastalığı (median yaş 65 )



# Multiple Myeloma: Laboratuvar Testleri

- ESR > 100mm/saat
- Anemi
- Periferik yaymada rulo formasyonu
- Kİ de plasmasitoz > 10 %
- Hiperproteinemi
  - gamaglobulin artışı
  - albumin azalışı
- Hyperkalsemi
  - Yüksek konsantrasyonlu paraprotein (M protein)
  - Kreatinin artışı
- Proteinüri
  - Bence Jones protein
- X-ray de litik lezyonlar





# Elektroforez Çalışmaları

- Paraproteinemi
  - protein elektroforezi ile saptanır
- İmmunoglobulin tipi
  - immunoelekroforez ile saptanır

Myeloma tipi ve tanısı doğrulanır

- 60% : IgG
- 20% : IgA
- 1% : IgD

# Elektroforez paterni

- Protein elektroforezi paraproteini gösterebilir.
  - genellikle gamma globulin bandında (bir kilise çatısı gibi) tek bir dar pik gösterir.

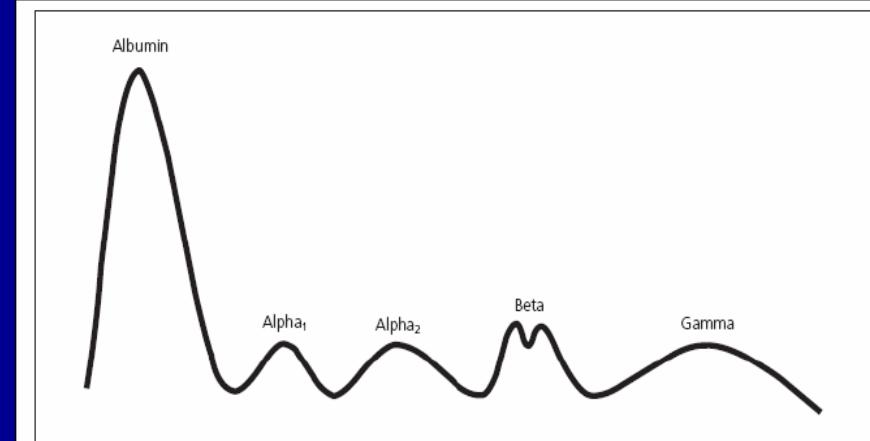
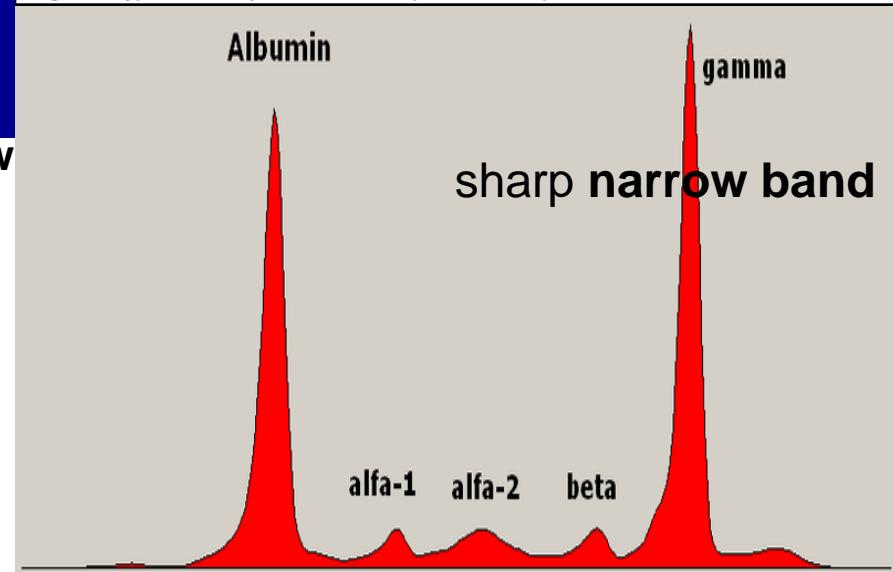
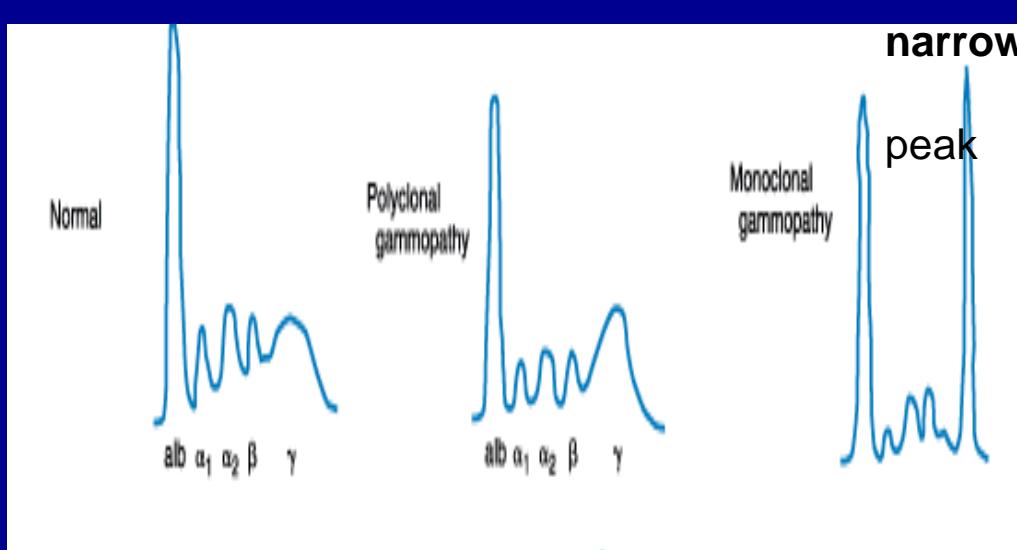


Figure 1. Typical normal pattern for serum protein electrophoresis.

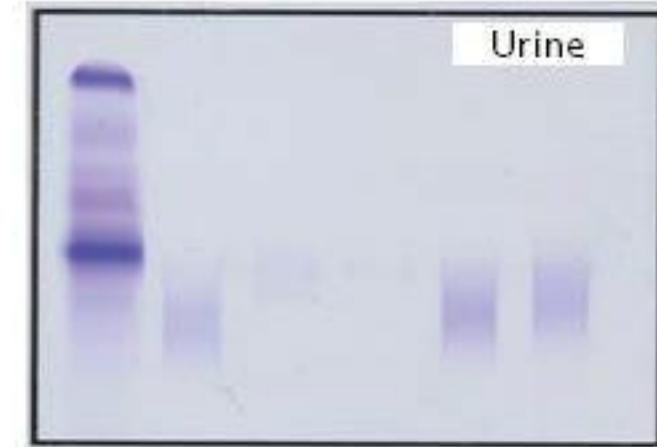
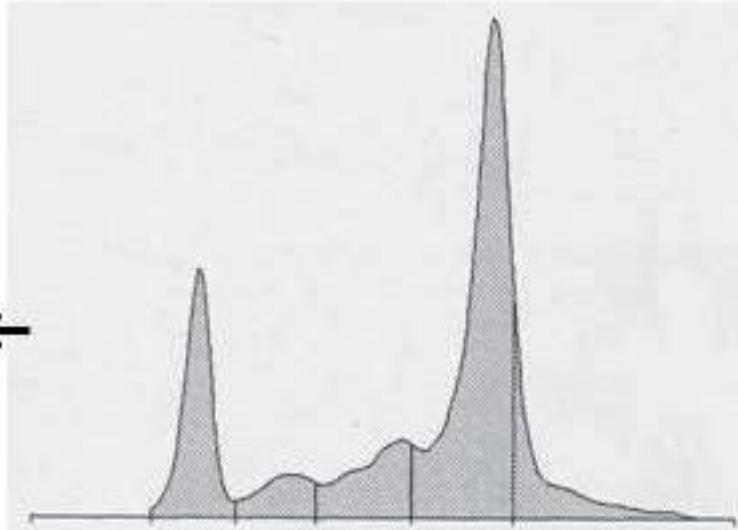


# İdrar elektroforezi

B

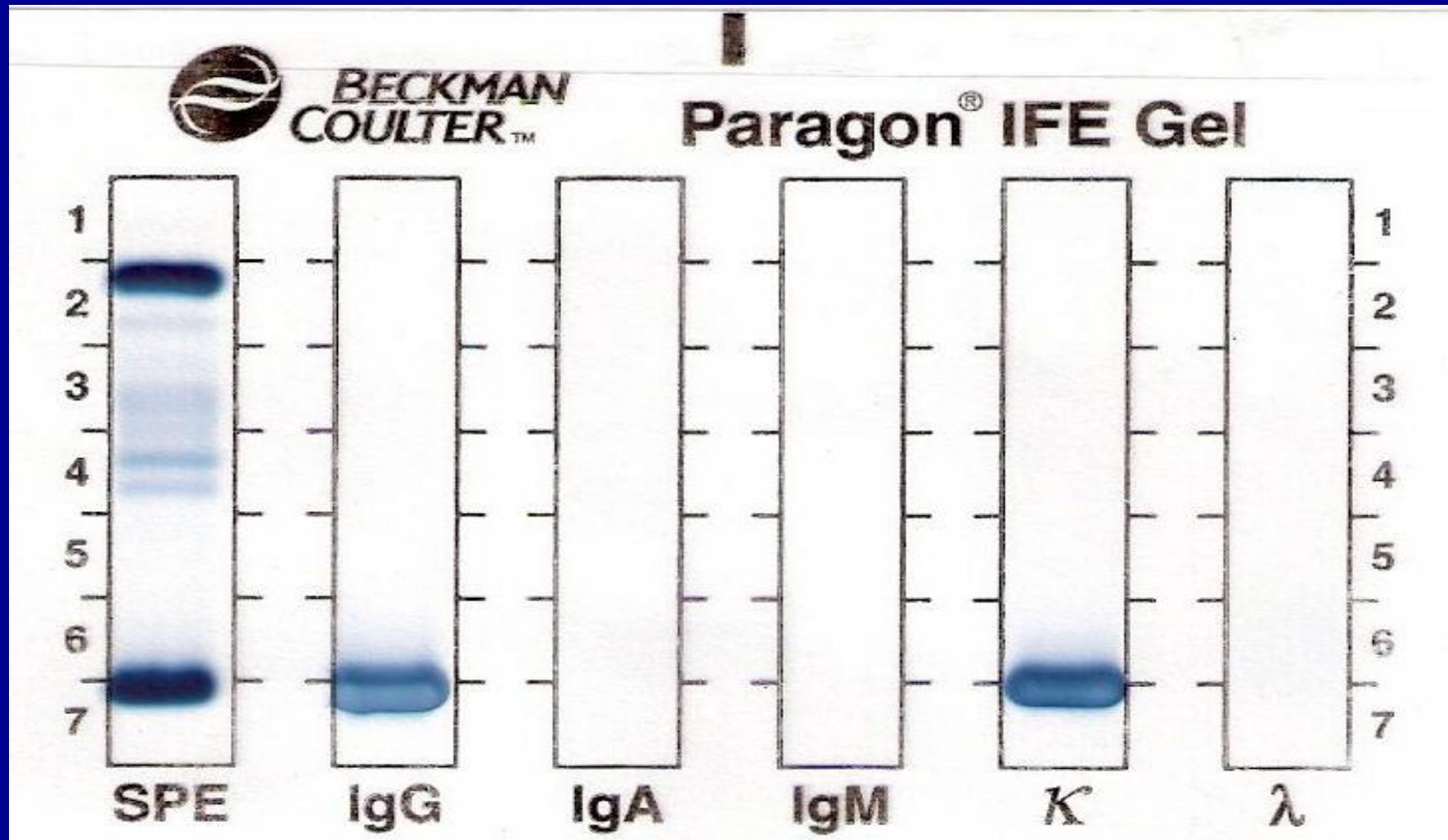
\*

Urine



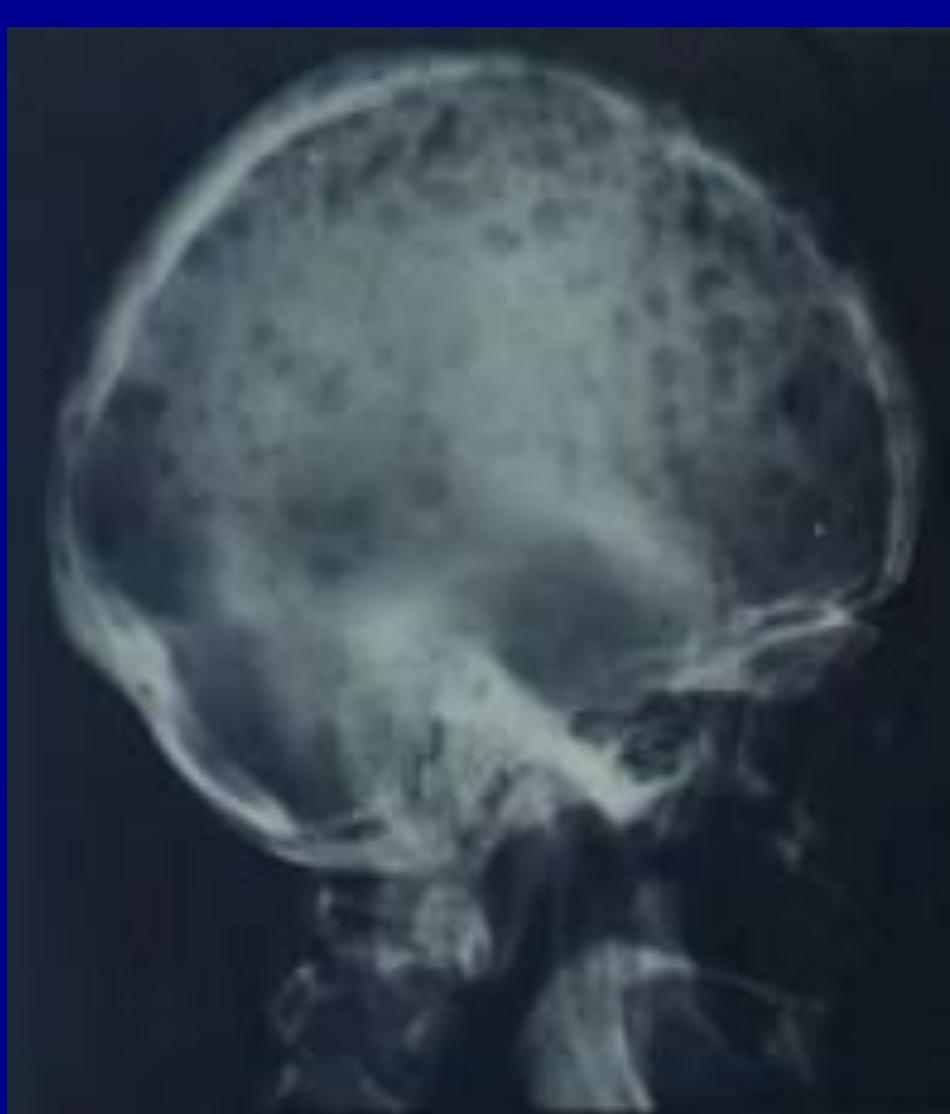
- İdrar tetkiki:
  - Bence - Jones proteinürü
- İdrar immunoelektroforezi :
  - paraprotein tipini saptar

# Immunelektroforez



**Ig G kappa**

# X-ray' de kafatası lezyonları





# Myeloma Tanısı

**Biyopsi ile kanıtlanmış kemik yada ekstrameduller plazmasitom veya kemik iliğinde  $\geq 10\%$  klonal plazma hücresi olması ve aşağıdaki myeloma tanımlayıcı olaylardan bir yada daha fazlasının olması**

- Altta yatan plazma hücre hastalığına bağlı üç organ hasarı: **CRAB**
  - Hiperkalsemi: serum kalsiyum normal üst sınırın  $>1$  mg/dL üzeri veya  $>11$  mg/dL
  - Renal yetmezlik: kreatinin klirensi  $<40$  mL/dk veya serum kreatinin  $>2$  mg/dL
  - Anemi: hemoglobin normal alt sınırın  $>2$  g/dL aşağısında veya hemoglobin  $<10$  g/dL
  - Kemik lezyonları: iskelet radyograflerinde, BT yada PET-BT'de bir yada daha fazla osteolitik lezyon
- **Aşağıdaki kanser biyomarkırlarından herhangi biri veya fazası:**
  - Kemik iliğinde  $\geq 60\%$  klonal plazma hücresi
  - Etkilenmiş: etkilenmemiş serum hafif zincir oranı  $\geq 100$
  - MR'da  $>1$  fokal lezyon

# Koagülasyon Laboratuvar Testleri



**Hemostasis**

**Hemo = kan**

**Stasis = durma**

**= Kan akımını durdurma**



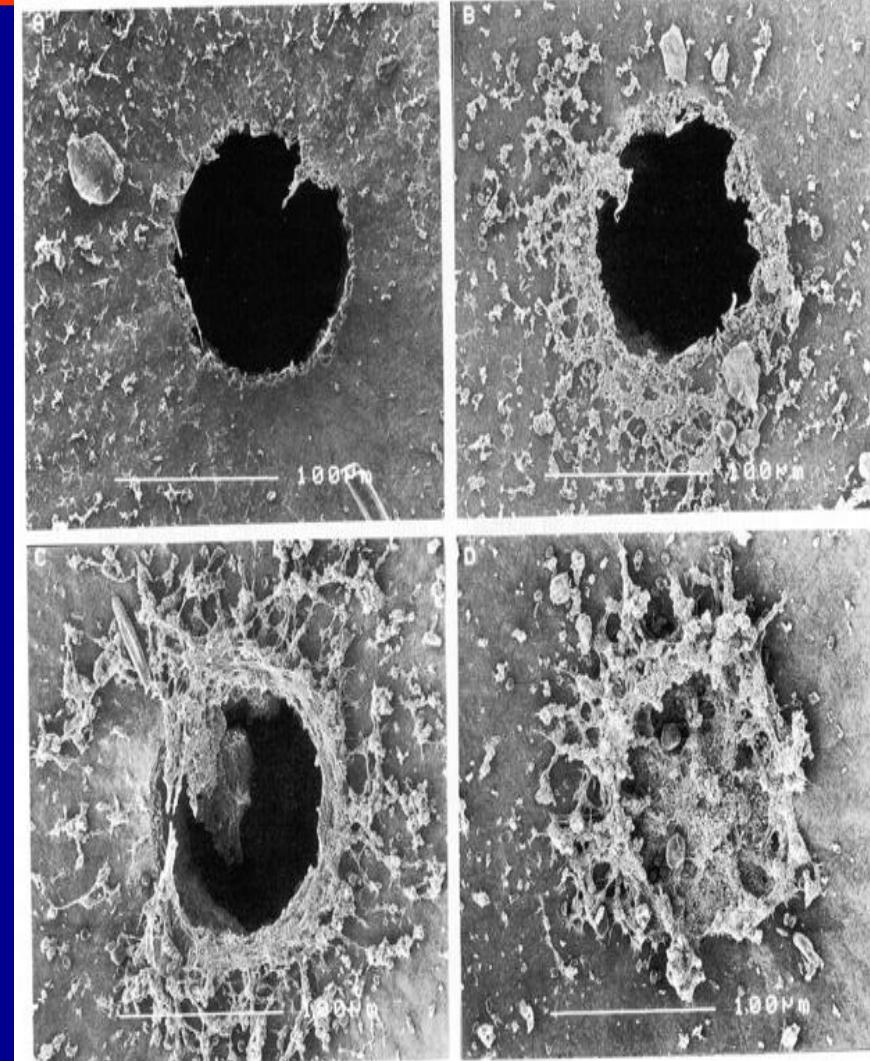
# Primer Hemostaz Bozukluklarında Lab. Testleri

- Amaç
  - Trombosit sayı ve fonksiyonunu değerlendirmek
- Testler
  - PLT sayımı
  - Kanama zamanı
  - PFA-100
  - Platelet agregometri

# Trombosit Fonksiyon Değerlendirilmesi



- Closure time (CT)- Platelet Fonksiyon Analizörü (PFA-100)
  - Kollojen kaplı mebran ve delik
  - ADP ve Epinefrin agonistler
  - Tam kan basınçla akar
  - delik kapanma zamanı ölçülür (closure time)
  - Birçok labaratuvardaki kanama zamanı değişkenliğini bu ortadan kaldırabilir





# Sekonder Hemostaz Bozukluklarında Lab. Testleri

- **Amaç**

- Koagülasyon faktörlerini değerlendirir
- İnhibitörleri algılar

- **Tarama Testleri**

- PT
- APTT
- Fibrinojen
- Trombin Zamanı

- **Ayırıcı testler**

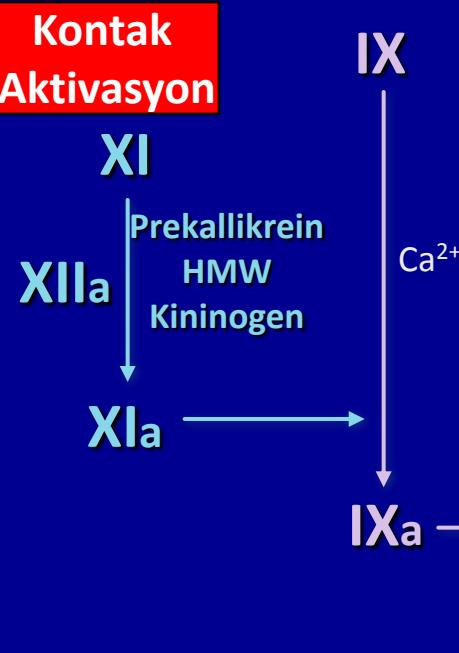
- Eğer bir tarama testinde uzama varsa; karışım testi / faktör düzeyleri daha ileri inceleme için bakılır



# PT ve PTT

- Bu testler kanama bozukluğu hastalarını teşhis etmek için geliştirilmiştir.
- Bu testler kanama olmayan bir hastada kanama riskini göstermek için asla kullanılmaz!!

# aPTT ölçümü



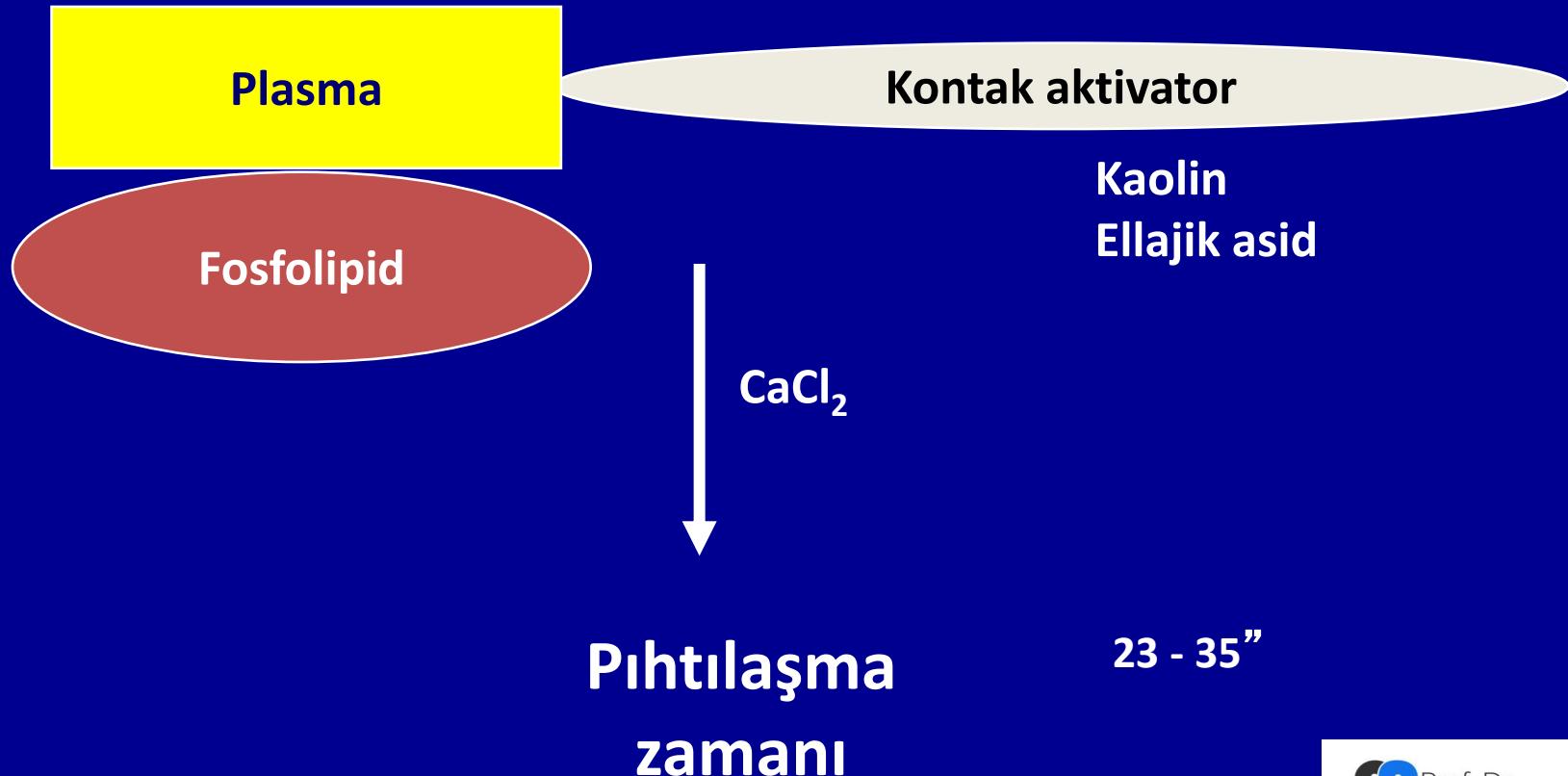
## Intrinsik Yol

“Kontak Aktivasyon”:  
Negatif yüklü fosfolipid yüzeylere temas faktörleri (cam ya da *in vitro* kaolin) içeren FXII aktivasyonu tarafından başlatılır

- Faktör XII, XI, IX, VIII, prekallikrein, HMW kininogen
- **aPTT pıhtılılaşma testi ile ölçülür.**

# Aktive Parsiyel Thromboplastin Zamanı-aPTT

- Sitratlı plazma, Ca<sup>2+</sup>, kontak aktifleştirici ve fosfolipid karışımının dakika cinsinden pıhtılılaşma süresi

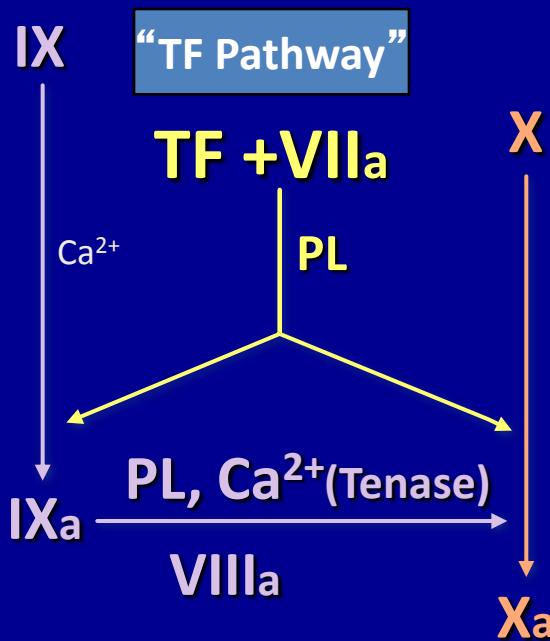




# APTT Uzaması

- Intrinsik ve ortak yolun pihtlaşma faktörlerinin eksikliğini gösteren testlerdir.
- Kanama olan hastalarda
  - Heparin
  - Von Willebrand hastalığı
  - Hemofili A – B (erkek hastada)
  - FXI eksikliği
- Kanama olmayan Hastalarda
  - Lupus antikoagulanı
  - Kontak faktör eksikliği
    - FXII, PK ve HMWK eksikliği

# PT ile Ölçülen Ekstrinsik Yol



## Ekstrinsik Yol

“Doku faktörü”

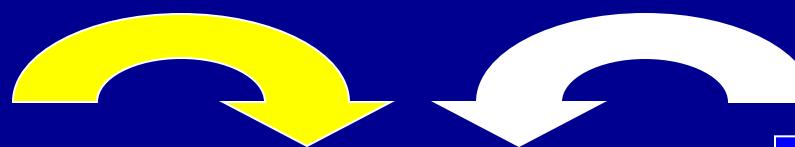
Hasarlı endotelden salınan TF ye maruz kalma durumunda başlar.

- Doku faktörü (TF), FVII
- PT pihtılılaşma testi ile ölçülür

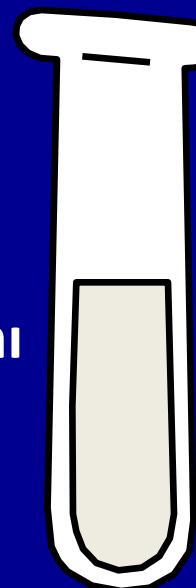
# Protrombin Zamanı

- Ca<sup>2+</sup> varlığında sitratlı plazma ve tromboplastin maddesi karışımının pıhtılaşma zamanıdır.

Pt Plasma



Pıhtılaşma zamanı  
9 - 12.5"



Doku Tromboplastin ve  
Ca++

Kaynaklar  
Beyin: İnsan  
Tavşan  
Keçi  
Plasenta: İnsan

Rekombinant

# Uzamış PT Nedenleri

- Ekstrinsik ve Ortak yolun pıhtılaşma faktörlerinin eksiklikleri Testleri
  - Kumadin kullanımı
  - Karaciğer bozuklukları
  - Vit K eksikliği
    - Hastanede yatan hastalarda en sık neden
  - FVII eksikliği



# Uzamış PT ve APTT

- DIK
- Şiddetli karaciğer yetmezliği
- Antikoagülasyon fazlalığı
  - Heparin veya Kumadin
- FII, V veya X eksikliği
- Hipo veya Disfibrinojenemi



# International Normalized Ratio (INR)

- “INR is the prothrombin time ratio that by calculation, would have been obtained if the original *WHO reference Thromboplastin* had been used to perform the PT”

International Sensitivity Index (**ISI**) is a numerical value representing the responsiveness of any given commercial system relative to the international standard.

$$\text{PTR} = \frac{\text{PT (hasta)}}{\text{PT (kontrol)}}$$

$$2.0 = \frac{24''}{12''}$$

$$\text{INR} = \text{PTR ISI}$$

$$4.0 = 2.0 \ 2.0$$

- INR should NEVER be used to assess hemostasis but ONLY for monitoring oral anticoagulation therapy.



# Akut DIK Lab Bulguları

1. Uzamış PT
2. Uzamış aPTT
3. Azalmış Trombosit Sayısı
4. Azalmış Fibrinojen düzeyi
5. Artmış D-Dimer düzeyi



# Faktör Eksiklikleri

- Faktör Eksikliği
  - Hemofili-A= faktör VIII eksikliği
  - Hemofili-B = faktör IX eksikliği
  - von Willebrand Hastalığı (vWH)= faktör VIII eksikliği
- Dolaşan inhibitörler
  - Faktör inhibitörleri
  - Lupus antikoagülanı
- Karışım testleri
  - Faktör eksikliği yada dolaşımda inhibitor varlığını belirlemek için
    - PT-aPTT düzelirse: Faktör eksikliği
    - Düzelmeye olmaz ise: İnhibitör varlığı

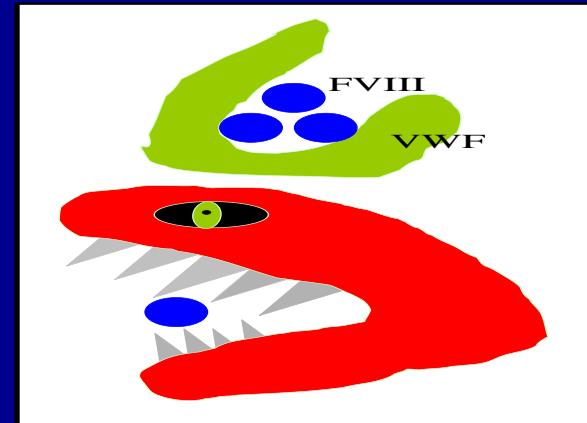
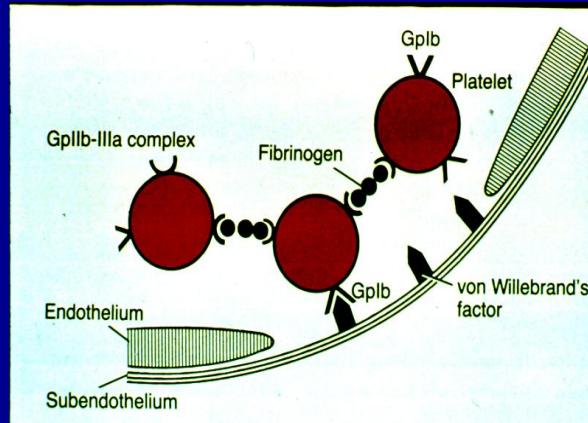
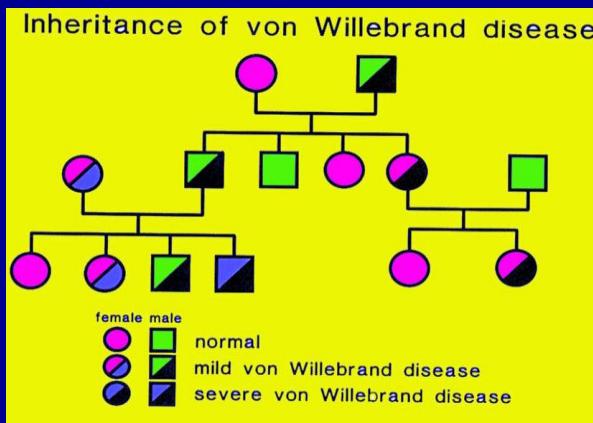


# Hemofili A/ B

Önem	Klinik	Faktör düzeyi (N=50-150%)
hafif	<ul style="list-style-type: none"><li><b>Asemptomatik</b></li><li><b>Şiddetli travma ile kanama</b></li></ul>	6-35%
Orta	<ul style="list-style-type: none"><li><b>Hafif travma ile kanama</b></li><li><b>Spontan kanama</b></li><li><b>Nadiren eklem içi kanamalar</b></li></ul>	1-5%
Şiddetli	<ul style="list-style-type: none"><li><b>Spontan kanama</b></li><li><b>Hafif travma ile şiddetli kanama</b></li></ul>	<1%

# von Willebrand Hastalığı

	Tip 1	Tip 2				Tip 3
		A	B	M	N	
<b>Tarama Testi</b>						
1) PTT	↑ / N	↑	↑ / N	N	↑	↑ ↑ ↑
2) PFA (Epi & ADP)	↑ / N	↑	↑	↑	N	↑↑
<b>Tanı Testi</b>						
1) VWF Ag	↓	N / ↓	N / ↓	N	N	—
2) VWF activity	↓	↓ ↓	↓ ↓	↓	N	↓ ↓
3) FVIII	↓	N / ↓	↓ / N	N	↓ ↓	—
4) CBA	↓	↓	↓	↓	N	—





# Trombofili Laboratuar değerlendirmesi

Risk Faktörü	Laboratuar testi
Antitrombin eksikliği	AT aktivite
Protein C eksikliği	Protein C aktivite (clotting or chromogenic)
Protein S eksikliği	Protein S serbest Antijen (ELISA, LIA)
Faktor V Leiden Mutasyonu	Genetik Test
Protrombin Mutasyonu G20210A	Genetik Test
Hiperhomosisteinemi	EIA, Mass Spec, HPLC
Yüksek Faktör VIII Aktivitesi	Faktor VIII aktivite (clotting or chromogenic)
Lupus Antikoagulan	DRVVT Clotting Assay
Antikardiolipin Antikor, IgG / IgM	aCL IgG/IgM Antijen ELISA

# Kan Bankası Testleri



# Kan grubu

- Dört Major Grup
  - A              B              AB              O
- Kırmızı kan hücre üzerindeki antijen tespiti;
  - RBC ile yapılır
- Plazmada bulunan antikor tespiti;
  - Plazmada antikor taraması ile yapılır



# Kan grubu

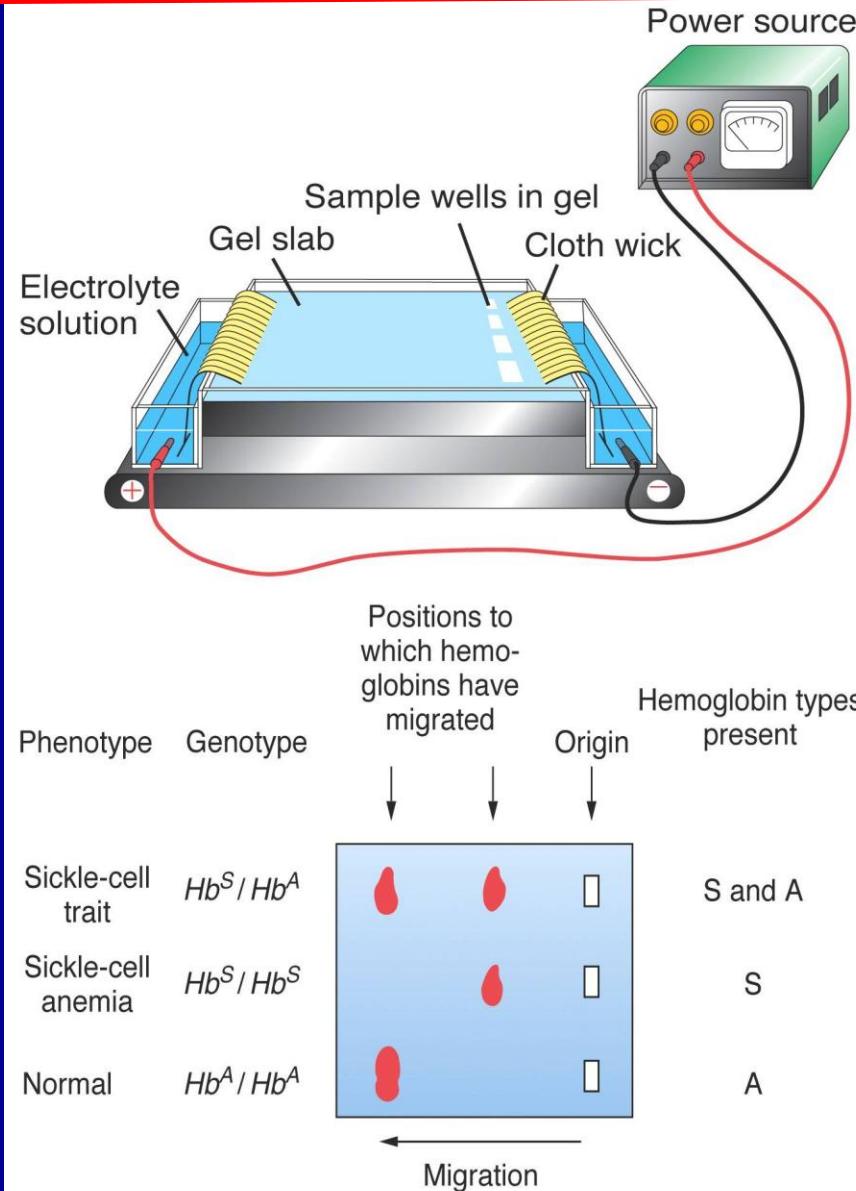
- O Rh negatif
  - Genel verici
  - Antijen taşımaz
- AB Rh pozitif
  - Genel alıcı
  - Plazmada antijen taşımaz



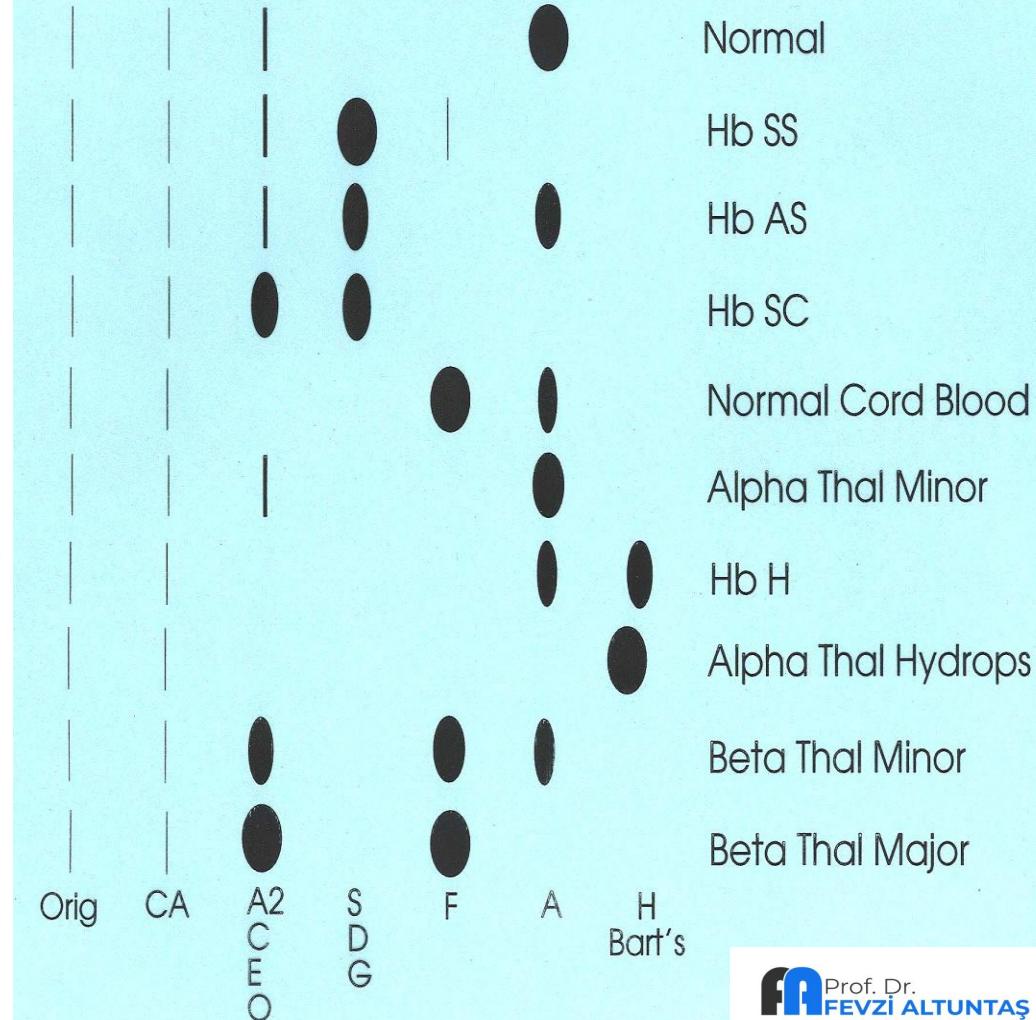
# Transfüzyon öncesi testler

- ABO ve Rh tipi
- Rh faktör (D-antijen) popülasyonun %15 inde yoktur.
  - Bu hastalarda gebelik ve transfüzyonu takiben anti-D antikorları gelişebilir.
- Antikor tarama (indirek Coomb's test)
  - Pozitif ise; spesifik antikoru belirlemek için gerekli testler yapılır.
- Çapraz karşılaştırma (Cross-match)
  - Donör eritrositleri alıcı serumu ile karıştırılarak uyumluluk kontrol edilir
  - Alıcı ile donörün kan uyumluluğunu belirler

# Hemoglobin Elektroforezi



Cellulose Acetate Hb ELP at pH 8.4





# Talasemi

- Kromozom 16 da bir veya daha fazla alfa gen kaybı
  - -a/aa: sessiz taşıyıcı
  - --/aa: İkili delesyon
  - -a/-a: trans double delesyon
  - --/-a: Hb H hastalığı
  - --/--: Hb Barts - hidrops fetalis

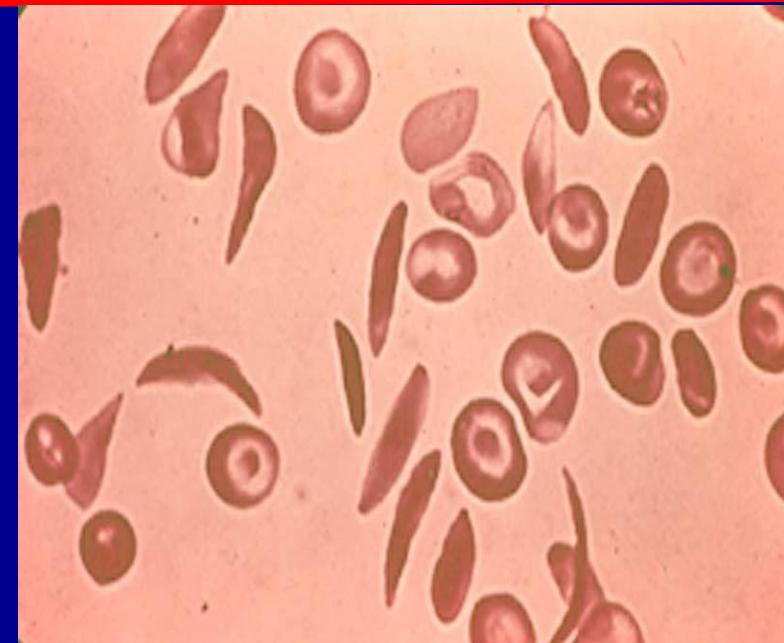


# Talasemi

- Genellikle kontrol bölgesindeki mutasyona işaret etmektedir
  - $\beta^+$  minimal üretim
  - $\beta^0$  üretim yok
  - $\beta^+/\beta^+$  veya  $\beta^0/\beta^0 = \beta$  talasemi major veya Cooley' s anemisi
- Doğumda belirgin değildir (beta zinciri gama zincir üretimin üzerine geçene kadar)
- High Hb A2;  $\beta$  Talasemi minor
- High Hb F;  $\beta$  Talasemi major

# Orak Hücre Hastalığı

- Kalıtsal kronik hemolitik anemi
- Kromozom 11 üzerindeki  $\beta$  globin geninde tek bir nükleotid yer değiştirmesi nedeni ile **oluşur**.
  - Hemoglobin S (en yayını): GTG → GAG glutamik asit ile valinin yer değiştirmesi sonucu oluşur.
- Düşük oksijen şartlarında klasik orak şeklinde kırmızı kan hücreleri gelişir.



[www.drfevzialtuntas.com](http://www.drfevzialtuntas.com)  
[faltuntas@hotmail.com](mailto:faltuntas@hotmail.com)