

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

**PAROKSİSMAL NOKTURNAL HEMOGLOBİNÜRİ
ŞÜPHEİ OLAN HASTALARDA PNH KLONU
SIKLIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

**İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ
Dr. SUNA BÜRKÜK**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MUSA BALI**

ANKARA-2016

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

**PAROKSİSMAL NOKTURNAL HEMOGLOBİNÜRİ
ŞÜPHEİ OLAN HASTALARDA PNH KLONU
SIKLIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

**İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ
Dr. SUNA BÜRKÜK**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MUSA BALI**

ANKARA-2016

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimin oluŐumu ve tamamlanmasında katkıları olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı BaŐkanı Prof. Dr. Musa Bali'ye, ArŐ. Gör. Dr. TuĐçe EmiroĐlu'na, beraber çalıŐtıĐım tüm Gazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve bana her konuda destek veren aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	II
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ.....	IV
KISALTMA LİSTESİ.....	V
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VIII
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Paroksizmal Noktürnal Hemoglobinüri Tanımı Ve Epidemiyolojisi	3
2.1.1. Etiyoloji	3
2.1.2. Patofizyolojisi:	5
2.1.3. Sınıflama	6
2.1.4.Klinik.....	7
2.1.5. Tanı.....	11
2.1.6.Prognoz	17
2.1.7. Paroksizmal Noktürnal Hemoglobinüri ve Tromboz	18
2.1.8. Tedavi.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1.Hasta Seçimi.....	24
3.2.İstatiksel Değerlendirme.....	25
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA	34
6.KAYNAKLAR.....	39
7.ÖZGEÇMİŞ.....	44

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Yaş Dağılımı

Tablo 2: PNH Klonu Varlığı

Tablo 3: Akım Sitometri Testi İstem Nedeni Dağılımı

Tablo 4: Tromboz ve Görülme Yerleri

Tablo 5: Trombofilik risk faktörleri

Tablo 6: Tromboza eğilim oluşturan hastalıkların dağılımı

Tablo 7: Coombs Testi Sonuçları

Tablo 8: Laboratuvar Sonuçları

Tablo 9: Akım Sitometri İstem Nedeni/ PNH Klonu Varlığı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: GPI çapasının yapısı, endoplazmik retikulumdaki sentezlenmesi, plazma membranındaki görünümü

KISALTMA LİSTESİ

PNH	: Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri
DAF	: Decay accelerating factor
MIRL	: Membran inhibitor of reactive lysis
AA	: Aplastik anemi
GPI	: Glikozilfosfatidilinozitol
MDS	: Miyelodisplastik sendrom
FLAER	: Fluorescent aerolysin
LDH	: Laktat dehidrogenaz
NO	: Nitrik Oksit
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
BT	: Bilgisayarlı Tomografi Görüntüleme
USG	: Ultrasonografi
PIG-A	: Phosphatidylinositol glycan class A

ÖZET

Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri (PNH), kronik intravasküler hemoliz bulguları, kemik iliği yetersizliği ve trombozla kendini gösteren klonal hemotopoetik kök hücre hastalığıdır. [1] Hastalık, yaşamı tehdit edici olup tanıdan sonraki 5 yıl içinde mortalite oranı yaklaşık %35' dir. Çalışmamızda hastanemizde Çok nadir görülen ve hayatı tehdit edici bir hastalık olan PNH düşünülerek istenen akım sitometri testi sonuçlarını inceledik.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi hematoloji kliniğinde 2015-2016 yıllarında Aplastik anemi(AA), myelodisplastik sendrom, açıklanamayan sitopeni, tromboz, coombs negatif hemolitik anemi, hemoglobinüri ve sık abortus nedeniyle paroksizmal noktürnal hemoglobinüriden şüphelenilen ve PNH klonu varlığı araştırılan hastaların akım sitometri testi sonuçlarını değerlendirdik.

AA nedeniyle PNH yönünden araştırılanların %20'sinde, MDS olanların %33,3'ünde, açıklanamayan sitopeni nedeniyle istenenlerin %5'inde, tromboz nedeniyle istenenlerin ise %3,4'ünde PNH klonu bulunmuştur. İstem nedeni coombs testi negatif hemolitik anemi, hemoglobinüri ve tekrarlayan abortus olanlarda ise PNH klonu bulunmamıştır.

Çalışmamızın sonucunda literatüre benzer olarak; Aplastik anemi ve myelodisplastik sendrom hastalarında, coombs negatif hemolitik anemilerde, açıklanamayan sitopenilerde, hemolizi bulunan hastalarda ve nedeni belirlenemeyen trombozlu hastalarda PNH klonu taranması gerektiğini düşündük.

Anahtar Kelimeler: Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri, Akım sitometri, Tromboz



ABSTRACT

EVALUATION OF PNH CLONE FREQUENCY IN PATIENTS WITH PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA SUSPICION

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a clonal stem cell disease characterized by chronic intravascular haemolysis symptoms, bone marrow deficiency and thrombosis. [1] This is a life-threatening disease that has a mortality rate of 35% within the next 5 years after diagnosis. In this study, the flow cytometry test results were analysed in our hospital considering the PNH, a very rare and life threatening disease.

The flow cytometry test results of the patients who applied to Gazi University Medical Faculty Haematology Clinic between the years of 2015-2016 with the suspicion of aplastic anaemia (AA), myelodysplastic syndrome, unexplained cytopenia, thrombosis, coombs negative haemolytic anaemia, hemoglobinuria and paroxysmal nocturnal haemoglobinuria because of frequent abortus and whose PNH clone presences are researched were evaluated.

The PNH clone was found in 20% of the patients who were examined for PNH because of AA, in 33.3% of those with MDS, in 5% of those requested for unexplained cytopenia in 3.4% of those requested because of thrombosis. No PNH clone was found in those whose request reasons are haemolytic anaemia with negative coombs test, hemoglobinuria and recurrent abortus.

As a result of the study, it was considered that the PNH clone scanning was necessary in patients with aplastic anaemia and myelodysplastic syndrome, coombs negative haemolytic anaemia, unexplained cytopenia, haemolysis and thrombosis similarly to the literature.

Key Words: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Flow cytometry, Thrombosis



1.GİRİŞ

Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri (PNH), kronik intravasküler hemoliz bulguları, kemik iliği yetersizliği ve trombozla kendini gösteren bir klonal hemotopoetik kök hücre hastalığıdır.[1] Hastalık hematopoetik kök hücrenin edinsel veya somatik bir mutasyonu sonucu oluşur ve hematopoetik sistemin üç hücre dizisini de etkiler.[1] Glikozilfosfatidilinozitol (GPI) çapası yardımıyla hücre zarına bağlanan bazı proteinler PNH'lı mutant hematopoetik kök hücrelerin ürünü olan olgun hücrelerde eksik bulunur.[2]

Hastalık, hemolitik ve hipoplastik tip olarak iki ana klinik tabloda kendini gösterir. Hemolitik tipte kronik intravasküler hemoliz bulguları, hipoplastik tipte ise pansitopeni ön plandadır. Bazen bu iki klinik durum birlikte bulunabilmektedir.[1, 2] PNH tek başına bulunabileceği gibi (klasik PNH), aplastik anemi veya miyelodisplastik sendroma eşlik edebilir. Hastalık yaşamı tehdit edici olup tanıdan sonraki 5 yıl içinde mortalite oranı yaklaşık %35' dir. Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre hastalığın prevalansının 2-5/1.000.000 olduğu düşünülmektedir.[3] PNH 'da eritrosit membran proteinleri CD 55 ve CD 59 az bulunduğundan komplemanın aracılık ettiği intravasküler hemoliz olmaktadır. Hastalık kronik hemolitik anemi ile karakterize olmasına karşın, seyrinde trombotik olaylar da görülebilir. PNH da genellikle venöz tromboz görülmekte olup arteriyal tromboz daha az sıklıkta görülmektedir.[4]

Son yıllarda akım sitometrinin yaygın kullanımı ile PNH eritrositleri, granülositleri ve lenfositlerinde de GPI' a bağlı bulunan CD 55 ve CD 59 'un eksikliği ve bu eksikliğin ne oranda geliştiği (klon boyutu) gösterilmiştir.[5, 6] Akım sitometrik olarak hücrelerde CD 59 ve CD 55 ekspresyonunun olmadığı gösterilmesi tanı için önemlidir. Akım sitometrik değerlendirmede ideal olarak periferik kan kullanılır.[7] Günümüzde spesifik olarak GPI çapasına bağlanan FLAER (fluorescent aerolysin) kullanılarak lökositlere GPI ile bağlı antijenler belirlenebilmektedir.[8] Bu testin esası; akım sitometrik ölçüm sırasında FLAER'in GPI çapasına spesifik olarak bağlanmasına dayanır. FLAER'in granülositlere bağlanmasındaki yetersizlik, PNH tanısı için çoğu zaman yeterli olmaktadır.[9] Hastada intravasküler hemoliz bulgularının olması, açıklanamayan hemoliz ve buna eşlik eden eşlik eden demir eksikliği, abdominal ağrı, özefajial spazm, tromboz veya sitopeni olması, coombs negatif, non- şistositik, non-enfeksiyöz hemolitik anemi saptanması, beklenmedik bölgelerde (hepatik ven, abdominal venler, serebral sinüsler veya dermal venler gibi) tromboz görülmesi veya tromboza eşlik eden hemolitik anemi bulgularının olması, tromboza eşlik eden açıklanamayan sitopenilerin olması, yetersiz kemik iliği saptanması, aplastik veya hipoplastik anemide, displaziyle birlikte refrakter sitopeni olması durumunda ve etiyojisi bulunamayan sitopenilerde PNH için test istememiz gerekmektedir.[9]

Çalışmamızda Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi hematoloji kliniğinde 2015-2016 yıllarında Aplastik anemi(AA), myelodisplastik sendrom, açıklanamayan sitopeni, tromboz, coombs negatif hemolitik anemi, hemoglobinüri

ve sık abortus nedeniyle paroksizmal noktürnal hemoglobinüriden şüphelenilen ve PNH klonu varlığı araştırılan hastaların akım sitometri testi sonuçlarını değerlendirdik. Bu hastalardaki PNH klonu varlığı sıklığını görmeyi amaçladık.

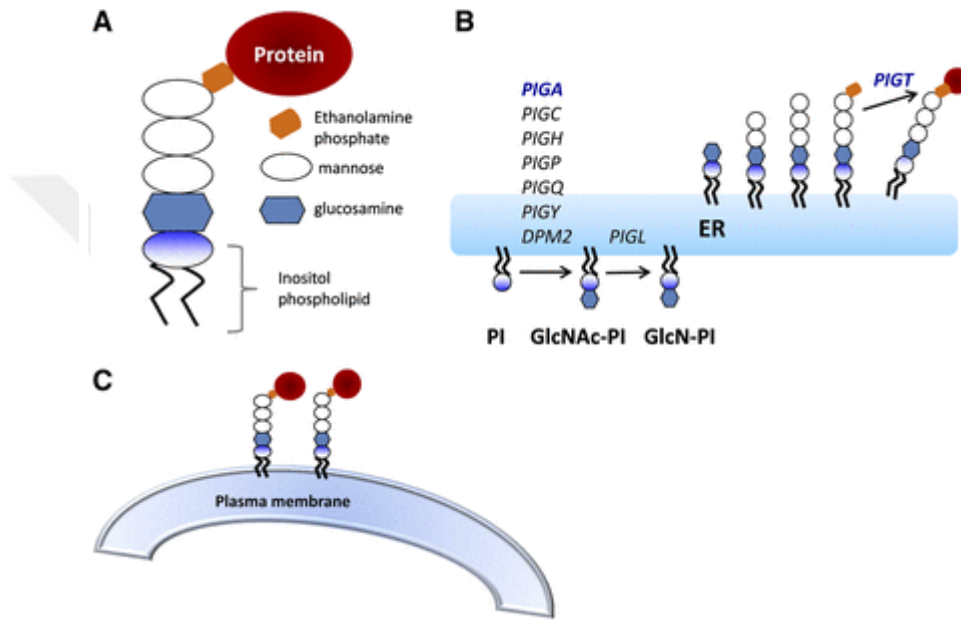
2.GENEL BİLGİLER

2.1.Paroksizmal Noktürnal Hemoglobinüri Tanımı Ve Epidemiyolojisi

2.1.1. Etiyoloji

Paroksizmal Noktürnal Hemoglobinüri (PNH) kronik intravasküler hemoliz ile karakterizedir. İlerleyici, yaşamı tehdit edebilen bir hastalıktır.[1] Klasik olarak kronik intravasküler hemoliz bulguları, kemik iliği yetersizliği ve trombozla kendini gösterir. PNH hematopoetik kök hücrenin klonal bir hastalığıdır. [10] PNH son derece nadir bir hastalıktır. Prevalansın 5,5/1.000.000 olduğu düşünülmektedir. Sıklığının Güney Asya ve Uzak doğu ülkelerinde daha yüksek olduğu bilinmektedir.[1] Her iki cinste eşit sıklıkta görülür ve her yaşta ortaya çıkabilir. Ortalama görülme yaşı 42'dir. Hastalığın 5 yıllık mortalitesi %35, toplam sağ kalım 10 yıl iken yeni tedavi yöntemleri ile mortalite ve morbidite belirgin derecede azalmaktadır.[11] X kromozomuna bağlı fosfatidilinositolglikan sınıf A(PIG-A) geninde gelişen mutasyonlar sonucunda bu gen tarafından

kodlanan gliserolfosfatidilinositol-çapa proteinlerinin(GPI-AP) kan hücreleri üzerindeki eksikliği hastalığın temel patogenezinin sorumludur.[12]



Şekil 1: A; GPI çapasının yapısı, B; endoplazmik retikulumdaki sentezlenmesi, C; plazma membranındaki görünümü

*Blood 2014 124:2804-2811; doi:10.1182/blood-2014-02-522128

1866 yılında ilk vaka anemik bir hastada sabah hematürisi ile Londra'da Sir William Gull tarafından tanımlanmış.[13] 1882 yılında bir sendrom olarak ilk kez Alman Doktor Paul Strübing tarafından tanımlanmış.[14] 1911 yılında hemolitik aneminin bu formu karakteristik hemoglobinüri ile birlikte rapor

edilmiş ve Strübing-Marchiafava-Micheli sendromu olarak isimlendirilmiş.[15] Tromboembolik olayların, hastalık ilişkili mortalitede önemli rol oynadığını vurgulayan Crosby olmuştur.[16]

2.1.2. Patofizyolojisi:

PNH hastalığında hemolizin ortaya çıkmasının nedeni, doğal bağışık yanıtın bir bileşeni olan kompleman sisteminin alternatif yolağındaki patolojidir.[17] Bu sistem kişiyi patogenetik mikroorganizmalardan korur. Normal şartlarda sürekli aktif halde olan kompleman sisteminden, hücreleri korumak için görevli proteinler hücre zarına GPI çapası ile bağlıdır. (Şekil 1) Hücre yüzeyinde bulunan CD55, CD59 bu proteinlerden ilk tanımlanmış olanlarıdır ve bu proteinlerin yokluğu kan hücrelerinin kompleman sistemi karşısında savunmasız kalmasına neden olur. Bunun sonucunda kronik intravasküler hemoliz meydana gelir.[18] Eritroid serinin yanında miyeloid ve megakaryositer seri de etkilenir.[19] CD55 ve CD59 eksikliği olan hücreler komplemanın aktivasyonuna ve sitolitik etkilerine direnç gösteremediklerinden hemolize uğrarlar. Kompleman düzenleyici yüzey proteinleri olarak adlandırılan CD55 ve CD59'un temel görevi C3b, C4b ve Membran Atak Kompleksi (MAC, C5b, C6, C7, C8 ve C9'un çoklu molekülleri) başta olmak üzere kompleman proteinleri ile etkileşerek, konvertaz enzimini parçalamaktır. Bu düzenleyici proteinlerin olmadığı PNH hastalarında kompleman sistemi kontrolsüz şekilde aktive olarak hücre membran hasarı ve intravasküler hemoliz meydana gelir.[20] İnvasküler hemoliz sırasında hücre dışına çıkan indirgenmiş hemoglobinin plazmadaki artışı nitrik oksit (NO)

tüketimine yol açar. İnvasküler alanda NO eksikliği sonucunda, endotel hücre disfonksiyonu, trombosit aktivasyonu ve agregasyonu, lokal vazokonstrüksiyon, düz kas distonileri (pulmoner hipertansiyon, sistemik hipertansiyon ve erektil disfonksiyon gibi vasküler kasılmalar, disfaji ve abdominal ağrı gibi gastrointestinal kasılmalar) ve tromboz gerçekleşebilir.[21] Tromboembolik olaylar PNH'da mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir. PNH'da trombotik olaylar hepatik ven (Budd-Chiari sendromu), mezenterik, serebral ve dermal venler gibi alışılmadık bölgelerde meydana gelir.[10] PNH'da tromboza eğilimdeki artışın etiyojisi tam olarak bilinmemekle birlikte direkt veya indirekt olarak invasküler hemolizin sorumlu olduğu düşünölmektedir.[22] PNH, kronik invasküler hemolitik anemi ve tromboz dışında kemik iliği yetmezliği bulguları ile de ortaya çıkabilir.[10] PNH tek başına görölebileceği gibi aplastik anemi (AA) veya miyelodisplastik sendroma (MDS) da eşlik edebilir.

2.1.3. Sınıflama

PNH başlangıç belirtileri, klinik bulgular ve doğal seyir yönünden 3 alt grupta sınıflandırılmıştır.[10] Bu alt gruplar şu şekilde tanımlanmıştır:

1. *Klasik PNH*: İnvasküler hemoliz bulguları (artmış retikülosit ve laktat dehidrogenaz düzeyleri, hemoglobinüri) ile seyreden, diğer kemik iliği anormalliklerinin eşlik etmediği hastalık durumudur. Kemik iliği incelemesinde normal selölarite, eritroid hiperplazi ve normal morfolojik özellikler göröölür.

2. *Diğer kemik iliği yetmezliklerinin eşlik ettiği PNH*: Bu hastalarda da klinik ve laboratuvar olarak hemoliz bulguları olmakla birlikte altta yatan bir kemik

iliği anormalliği vardır. Bu grupta altta yatan kemik iliği hastalığı; aplastik anemi(AA), myelodisplastik sendrom(MDS) veya daha az oranda myelofibrozistir. Tanıları için hastalıkların tanısal bulgularını içeren kemik iliği biyopsisi ya da sitogenetik ve moleküler anormalliklerin saptanması gerekmektedir.

3. *Subklinik PNH*: Diğer kemik iliği yetmezliklerinin eşlik ettiği, klinik ve laboratuvar olarak hemoliz bulunmayan, küçük boyutta klonal PNH alt grubudur.

2.1.4.Klinik

Paroksizmal Noktürnal Hemoglobinüri (PNH) nadir görülen, kronik intravasküler hemoliz ile karakterize, ilerleyici, yaşamı tehdit eden bir hastalıktır. Paroksizmal olduğu söylenebilir de aslında hemoliz sürekli ve gündüz de devam eder. Akşamları hemolizin belirgin hale gelmesi ve idrar renginin genellikle sabahları koyu renk olması yüzünden adının başına “noktürnal” sözcüğü konulmuştur[23]. Ayrıca “hemoglobinüri” de tüm hastalarda görülmemekte ve ilk başvuru sırasında hastaların sadece %26’sında bulunmaktadır [10]. Bu nedenle, PNH’in isminin kliniği tam olarak yansıtmadığı söylenebilir.

PNH’nın bilinen tiradı aşağıdaki gibidir [24]:

1. Komplemana aşırı duyarlılık sonucu oluşan intrakorpüsküler hemoliz
2. Büyük venöz damarlarda ortaya çıkan trombozlar
3. Pansitopeni

Hastalık hemolitik ve hipoplastik tip olarak iki ana klinik tabloda kendini gösterir.[25] Hemolitik tipte; kronik intravasküler hemoliz bulguları vardır. Hipoplastik tipte; ise pansitopeni vardır. Bu hastaların kemik iliği biyopsisi hipoplastik hatta aplastiktir. Bazen bu iki klinik durum birlikte bulunabilmektedir. Ayrıca aplastik anemi tanısıyla izlenen hastaların bir kısmında yıllar içinde PNH gelişebildiği de bilinmektedir. Hastalar çoğu kez pansitopeni ve özellikle anemiye bağlı belirti ve bulgularla hastaneye başvururlar. İdrar renginde ani koyulaşma diğer bir başvuru sebebidir. Daha az sıklıkta venöz sistemde ortaya çıkan trombozlar da ilk klinik bulgu olabilir.[25] Pansitopeni saptanan bir hastada retikülositoza laktat dehidrogenaz (LDH) enzim yüksekliği de eşlik ediyorsa muhakkak PNH yönünden araştırılmalıdır.[25]

Klasik PNH;

Hastalarının klinik belirtilerine bakıldığında; intravasküler hemoliz (retikülositoz, anormal derecede yüksek serum laktat dehidrogenaz ve indirekt bilirubin, buna karşın serum haptoglobulin anormal düşük) bulguları hakimdir. Başka tanımlanan kemik iliği anormalliği gözlenmez. Eritroid hiperplazi ve normal iliğe yakın normal morfoloji, ancak tesadüfi olmayan karyotipik anormallikler klasik PNH ile uyumludur.[10]

Başka Bir Kemik İliği Hastalığı Zemininde Gelişen PNH;

Bu alt kategorideki hastaların klinik ve laboratuvar bulgularında hemoliz varlığı saptanırken aynı zamanda, tanımlanmış bir kemik iliği anormalliği de bulunur. Kemik iliği analizi ve sitogenetik yöntemler PNH'nın aplastik anemi, miyelodisplastik sendrom (MDS) ya da diğer miyelopati (örneğin, miyelofibroz) ile birlikte olup olmadığını belirlemek için kullanılır. Kemik iliği anormalliğini saptamak için standart kriterler kullanılır (örneğin: aplastik anemi, MDS, ya da miyelofibrozis). Belirli bir kemik iliği anormalliği ile ilişkili kromozom anormallikleri saptanması da tanıya katkıda bulunabilir[10]. PNH' ya bağlı semptomların genellikle non-spesifik olması ve hastalığın oldukça nadir görülmesi nedeniyle tanı 1-10 yıl süreyle gecikebilir. Klinik bulgular değişkenlik gösterir. 80 PNH hastasının değerlendirildiği çalışmada ilk başvuru sırasında görülen semptom ve bulgular:[10]

Anemi semptomları %35

Hemoglobinüri %26

Hemorajik semptom ve bulgular %18

Aplastik anemi %13

Gastrointestinal semptomlar %10

Hemolitik anemi ve sarılık %9

Demir eksikliği anemisi %6

Tromboz veya emboli %6

İnfeksiyonlar %5

Nörolojik semptom ve bulgular %4

PNH hastalarının idrar sedimentinde hemosiderin görülür ve böbreklerde hemosiderin birikimine MRI veya BT görüntülemesinde rastlanabilir. Hastalarda hepatosplenomegali olmaksızın düşük haptoglobulin ve retikülositozis gibi hemoliz bulgularının varlığı uyarıcıdır.[26]

Kemik iliği incelemesinde eritroid hiperplazi ve demir depolarının boşaldığı görülür. Intravasküler hemoliz sonrası idrar yoluyla atılan demir kaybı sonucu demir depoları azalır. Anemi retikülositoz ile birlikte. Kemik iliği hipoplastik olabilir ve çoğu kez morfolojik bulgular aplastik anemiye benzerdir. Hipoplastik kemik iliği saptanan hastalarda nötropeni ve trombositopeni de anemiye eşlik eder.[26]

Hastalık seyri sırasında oluşan ciddi klinik durumlardan biri de hepatik ven trombozudur. Hepatik ven trombozu bazen ağır ve ölümcül seyredebilir. Yavaş seyirli ve sinsi formları karaciğer yetmezliğine gidebilir. PNH'lı hastalarda abdominal ve serebral ven trombozu açısından da her zaman dikkatli olunmalıdır. Dermal ven trombozu ise ağrılı, kırmızı nodüller ile kendini gösterir. Deri nekrozları da nadiren ortaya çıkabilir.[26]

PNH hastalarında böbrek fonksiyon bozukluğu bir diğer ciddi sorundur. Trombotik olaylardan sonra ikinci en sık ölüm nedenidir. Bu hastaların %64'ünde renal yetmezlik gelişir. Hastaların %21'inde ise 10 yıllık takip sonucunda son dönem böbrek yetmezliğinin ortaya çıktığı bildirilmiştir[27].

Bir hastada hemoglobinüri, açıklanamayan hemoliz, makrositoz, açıklanamayan sitopeni, açıklanamayan tromboz veya kemik iliği yetersizliği bulguları varsa mutlaka PNH açısından araştırılmalıdır[9]. PNH düşünülen bir

hastanın ayırıcı tanısında paroksizmal soğuk hemoglobinürisi ve diğer hemolitik anemi yapan nedenler ile arteriyal ve venöz oklüzyon yapan patolojiler düşünülmelidir[28].

2.1.5. Tanı

PNH tanısı intravasküler hemoliz bulguları içeren, çevresel kanda sferositoz bulunmayan, coombs testi negatif bulunan her hastada düşünülmelidir. Ayrıca aplastik anemi tanılı her hastada tanıda PNH klonu aranmalı ve aralıklı olarak (6 ayda bir) izlenmelidir. MDS hastalarında, tartışmalı olmakla birlikte, refrakter sitopenisi olanlarda klon taraması yapılması önerilmektedir[9].

PNH tetkiki endikasyonları: [29]

-Tekrarlayan hemoglobinüri

-Non-sferositik, Coombs negatif, intravasküler hemoliz

-Aplastik anemi

-Myelodisplastik sendrom

-Anormal bölgelerde venöz tromboz (Budd-Chiari sendromu, diğer abdominal bölgeler, serebral venleri, dermal venler)

Hastalık tanısı için bugüne kadar çok farklı tanı yöntemleri kullanılmıştır. Bunlardan ilki olan Ham testi hastaların yıkanmış eritrositlerini aynı kan grubundan asitlenmiş serum ile inkübe etme esasına dayanır. Bu testin geliştirilmesi bazı aşamalarla olmuştur. Hastaların gündüz uyumasını sağlayan Strübing

hemoglobinürinin uyku sonrasında geliştiğini görmüştür. Hemoliz ile uyku arasındaki bu ilişkiden yola çıkan Strübing, hemoglobinürinin uykudayken solunumun ve kan dolaşımının yavaşlaması ile artan arteriyel karbondioksitin kan pH'sını düşürmesi nedeni ile olduğu sonucuna ulaşmıştır. Strübing tarafından ortaya atılan bu düşünce test aşamasında başarıya ulaşmamıştır ve aynı düşünceyi savunan Thomas H. Ham ise hastalara sodyum bikarbonat verilmesi ile hemoliz ve hemoglobinürinin azaldığını, sodyum klorit verilmesi ile de arttığını göstermiştir[12]. Bunun sonucunda yayınladığı iki makale Ham testinin temelini oluşturmuştur ve daha sonrasında Hartmann tarafından şeker-su testi geliştirilmiştir[30] İlk olarak 1990 yılında Van der Schoot ve ark. tarafından önerilen akım sitometri diğer tetkiklerin yerine geçmiştir.[10] Bu yöntem diğerlerine göre daha duyarlı olduğu gibi kantitatif sonuç verdiği için izlemde de kullanımı mümkündür. Akım sitometri yöntemi ile bulunan sonuçlar hastalık bulguları, gelişen komplikasyonlar ile ilgili bilgi sağlar.

PNH hastalığına X kromozomuna bağlı PIG-A geninde gelişen mutasyonların yol açtığı biliniyor ve bu gende 100'den fazla mutasyon çeşidi gösterilmiştir.[31] Hastalıkta anormal kan hücreleri monoklonal olmakla birlikte aynı hastada birden fazla mutasyon görülebilmektedir. Mutasyon analizinin klinik pratikte önemi gösterilememiştir[32]. Bu nedenle mutasyon analizinin günümüzde rutin olarak kullanımı yoktur.

Tanı İçin Gerekli Testler;

PNH tanısı zor bir hastalıktır. PNH'nın tanısında kullanılan eski bir test olan Asit Ham testinde eritrositler, asidifiye edilmiş serum ile inkübe edilir. Böylece alternatif

yolla kompleman aktivasyonu ortaya çıkar ve PNH hücreleri lizise uğrar.[33] Ancak ne yazık ki, bu test özgül ve duyarlı olmayan bir testtir.[7] Test manuel olarak yapılmakta, yapan kişinin tecrübesi, laboratuvar koşulları ve uygulama tekniği gibi sübjektif koşullardan direkt olarak etkilenmektedir. Ancak, günümüzde halen bazı hekim ve klinikler tarafından kullanılmaya devam edilmektedir. Testin uluslararası tanı kılavuzları tarafından sensitivite ve spesifitesinin düşük olması nedeniyle artık kullanımı önerilmemektedir. Günümüzde akım sitometri PNH'lı eritrosit ve granülositlerdeki anormal PNH klonunu teşhis etmekte kullanılmaktadır. Son yıllarda kabul gören temel görüş, granülosit klonunu değerlendirmenin eritrosit klonunu değerlendirmekten çok daha değerli olduğudur. Çünkü eritroid seri hücrelerde mevcut PNH klonunun değerlendirmesi damar içi hemoliz ve eritrosit transfüzyonu gibi faktörler yüzünden yanıltıcı olabilir[9]. Akım sitometrik olarak hücrelerde CD59 (MIRL), CD55 (DAF) ekspresyonunun olmadığı gösterilmesi tanı için önemlidir. Doğru değerlendirme için CD55 ve CD59 yüzey antijenlerinin birlikte çalışılması gerekmektedir. [8, 26] Akım sitometrik değerlendirmede ideal olarak çevresel kan kullanılır.[7] Akım sitometride kullanılan FloreSean Aerolizin (FLAER) de günümüzde kullanılan testlerden biridir.[34] Bu testin esası akım sitometrik ölçüm sırasında FLAER'in GPI çapasına spesifik olarak bağlanmasına dayanır. FLAER'in granülositlere bağlanmasındaki yetersizlik, PNH tanısı için çoğu zaman yeterli olmaktadır. Ancak kliniğin AA ile beraber olduğu ve granülosit sayısının azaldığı durumlarda değerlendirme zor olabilir.[34]

Klinik Sitometri Derneği Kılavuzlarında PNH Açısından Akım Sitometri İle Değerlendirilmesi Önerilen Hasta Grupları:[9]

- Hemoglobinüri

- Aşağıdakilerden birine eşlik eden açıklanamayan hemoliz:

*Demir eksikliği,

* Karın ağrısı veya özefagus spazmı,

*Granülositopeni ve/veya trombositopeni

* Diğer edinsel coombs-negatif, non-şistositik, enfeksiyöz olmayan hemolitik anemi

-Olağandışı özellikleri olan tromboz

-Beklenmeyen bölgelerde tromboz

PNH hastalarında serum LDH ve retikülosit sayısında artış, haptoglobulin düzeyinin azalması, hemoglobinüri ve hemosiderinüri görülebilir. Hastalarda lökosit alkalen fosfataz düzeyi düşüktür. Ancak bu konvansiyonel testler PNH tanısı için spesifik olmakla beraber tanı koydurucu değildir.[8] PIG-A gen mutasyonunun varlığının gösterilmesi pratikte genellikle pek mümkün değildir.[7] Akım sitometrinin yaygın kullanımı ile birlikte PNH'lı eritrositler üzerinde GPI ile membrana bağlı bulunan CD55 ve CD59'un eksikliği gösterilmiştir. PNH klonu periferik kanda granülosit ve lenfositler üzerinde de aynı teknikle gösterilebilmektedir. Akım sitometri ile granülositlerdeki defekt daha erken (hemolizden de önce) görülebilir.[25] GPI çapası yardımıyla hücre membranına bağlanan proteinlerdeki eksikliğin akım sitometri ile ortaya konması PNH tanısı için altın standarttır. Eritrositlerde artmış

kompleman hassasiyetini ölçen ve uzun yıllar PNH tanısında kullanılmış olan asit hemoliz ve sükröz lizis testlerinin günümüzde tanı değeri düşüktür. Bu nedenle günümüzde kullanılmaları önerilmemektedir. Son zamanlarda spesifik olarak GPI çapasına bağlanan FLAER (fluorescent aerolysin) yöntemi kullanılarak lökositlere GPI ile bağlı antijenler belirlenebilmektedir.[25]

Akım Sitometrik İnceleme;

Akım sitometride hücrenin büyüklüğü, hücrenin içyapısı ve hücrede incelenmek istenen antijene ait işaretli monoklonal antikörün floresansı ölçülmektedir.[35] Akım sitometrik inceleme özellikle çevresel kan örneği ile yapılmalıdır. Genç hematopoetik hücrelerde GPI çapa proteinlerinin ekspresyonları düşük olduğundan kemik iliği örneklerinde inceleme önerilmez. Akım sitometrik incelemede en sık kullanılan monoklonal antikörler anti-CD59 ve anti-CD55'tir. Nadir olan konjenital eksiklikleri dışlayabilmek için genellikle en az iki antikörün birlikte kullanılması önerilir. Çeşitli çalışmalarda iki farklı hücre dizisinde bu incelemenin yapılması önerilmekle birlikte inceleme yapılması en önemli hücre dizisi nötrofillerdir. Nötrofiller, monositler ya da eritrositler birlikte değerlendirilebilir.[25] PNH'da CD55 ve CD59 ekspresyon düzeyi için belirli bir eşik değer tanımlanmamıştır. Ancak nötrofillerde %10'un altında bir PNH klonu varlığında belirgin hemoliz gözlenmediği bilinmektedir. Yine de klon büyüklüğü \geq %1 olan hastaların PNH semptomları açısından takip edilmesi gerekmektedir.[25] Akım sitometri ile hücrelerin eksprese ettikleri antijenlere karşı monoklonal antikörler kullanılarak kan ya da kemik iliğinde belli bir hücrenin belirlenmesi ve ayrılması yapılabilir.[36]

İmmünofenotiplemenin tıpta kullanım alanları: [37, 38]

- Lenfoma ve lösemi immünofenotiplemesi (KLL, ALL, AML, KML)
- Hematolojik hastalıkların belirlenmesi (ITP, nötrofil fonksiyon defektleri)
- İmmün yetmezliklerin teşhisi
- Kemoterapi etkinliğinin izlenmesi
- Otoimmün hastalıkların tanısı
- Transplantasyon öncesi ve sonrası hasta durumunun gözlemlenmesi
- Allerjik hastalıklarda

Günümüzde en sık lösemi, lenfoma ve myelom hastalarında kullanılır. Lösemi immünofenotiplemesinde en sık kan ve kemik iliği örnekleri kullanılır. Sağlıklı bir insan ile lösemili bir insanın kan örnekleri arasında belirgin farklılıklar mevcuttur. Lösemi hastalarında kök hücre çalışmalarında özellikle akım sitometrik analizlerle tedaviler yönlendirilebilmektedir.[39]

FLAER Tekniğinin Avantajları;

Akım sitometri tekniği, defektli hücrelerde bulunan GPI'e bağlı proteinleri belirlemede kullanılan yöntemdir. Ancak GPI antijenleri için en uygun saptama yönteminin FLAER olduğuna dair kanıtlar her geçen gün artmaktadır.[9] FLAER çok güçlü bir sensitiviteye sahiptir. %0,01 oranındaki PNH klonlarını bile saptayabilir. Diğer bir avantajı hücre lizisine neden olmaması nedeniyle defektli ve normal kan elemanları ayırımını çok net yapmasıdır.[9] FLAER küçük anormal granülositlerin saptanmasında hassas belirleme özelliğine sahiptir. PNH veya akut lösemi hastalarında, pansitopeni olabileceğini göz önüne alarak sitometri verilerini

çok dikkatli değerlendirmek gerekmektedir. İncelenen materyalde blastların olması hatalı bir şekilde PNH tanısını düşündürebilir. FLAER analizinde, non-PNH hematolojik anormallikler tespit edildiğinde anormal blast varlığı konfirme edilmelidir. FLAER'in, multiparametreliliği akım sitometrisi ile birlikte kombine edilmesi tanı için daha geniş imkanlar sağlamaktadır. Aynı zamanda PNH klonlarının farklı açılardan izlenmesi şüphelenilmeyen miyeloproliferatif hastalıkların saptanmasında yardımcı olabilir.[40]

2.1.6.Prognoz

Nadir görülmesi nedeniyle epidemiyolojik veriler çok net olmamakla birlikte tanıdan sonraki 5 yıllık mortalite %35 , ortalama yaşam süresi yaklaşık 10 yıl olarak kabul edilmektedir[1]. On yıldan uzun süre sağ kalan hastalarda spontan remisyon görülme insidansı %34'dür. PNH klonu küçük olan hastalarda beklenen yaşam süresi 22 yıla kadar varmaktadır.[1] Eculizumab ile yapılan uzun süreli sağkalım çalışması sonucu eculizumab ile tedavi edilen PNH hastalarının 8 yıl sonunda sağkalım oranlarının yaş ve cinsiyeti aynı olan sağlıklı bireyler ile benzer bulunmuştur. Eculizumab tedavisi almayan PNH'lı hastalardan ise 7 yıl sonunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu gösterilmiştir.[11] Klinik seyirleri her ne kadar farklı olsa da AA bileşeni ön planda olan PNH hastaları ile klasik PNH hastalarının prognozları arasında önemli bir fark olduğunu söylemek pek mümkün değildir.[41] PNH'da esas ölüm nedeni akut gelişen trombozdur. Bununla beraber böbrek yetmezliği, pulmoner hipertansiyon, kemik iliği yetmezliği ve enfeksiyonlar da ölüme neden olabilir. Lösemik dönüşüm ise çok nadirdir.[42]

2.1.7. Paroksizmal Noktürnal Hemoglobinüri ve Tromboz

PNH hastalığında tromboembolik olaylar en önemli mortalite nedenidir.[43] Daha çok klasik tipte gelişen bir komplikasyon olmakla birlikte de Latour ve ark. tarafından değerlendirilen hasta serisinde AA/MDS PNH hastalarında da anlamlı oranda ortaya çıktığı görülmüştür.[42] Trombozun altında yatan neden ile ilgili olarak çok sayıda farklı mekanizma sorumlu tutulmuştur. Ancak net olarak açığa çıkarılmış değildir.

Tromboz nedeni olarak ortaya atılan görüşlerden biri bu olayda endotel hücrelerinin rol oynadığını ileri sürmektedir. Eritrositlerin hemolizi sonucu ortaya çıkan serbest hemoglobin ve yıkıma uğrayan monositlerden salınan mikropartiküller (doku faktörü gibi) endotel hücrelerine doğrudan zarar verir.[21] Yapılan çalışmalarda bunu destekleyen veriler saptanmıştır[44]. Endotelin tromboz patogenezindeki rolü ile ilgili bir diğer görüş endotel hücrelerinin de kan hücreleri gibi PIG-A mutasyonu sonucu hasarlı olduğu ve kompleman ilişkili yıkıma karşı savunmasız olduğudur. Endotel öncül hücreleri kemik iliğinden köken alır[45]. PNH hastalarında endotel koloni oluşturan hücrelerde(ECFC) CD55 ve CD59 eksikliği olduğunu gösteren ve MDS hastalarında kanda dolaşan endotel hücrelerinin hematopoetik öncül hücrelerle aynı sitogenetik özellikler taşıdığını gösteren çalışmalar bu görüşü destekler niteliktedir[46]. Ayrıca allojenik kök hücre nakli yapılan hastalarda verici tipi endotel hücrelerini araştırdıkları çalışmalarında Mueller ve ark. endotel hücrelerinin çok az bir kısmının vericiden kaynaklandığını görmüşlerdir[47].

PNH hastalığında tromboz oluşum mekanizması ile ilgili bir diğer görüş ise, pıhtılaşma yolu inhibitörlerinden olan doku faktörü yolağı inhibitörü(TFPI) ve proteinaz 3(PR3) eksikliğinin tromboza neden olmasıdır. Her iki protein de hücre zarına GPI çapası ile bağlı bulunmaktadır[48]. Ayrıca Jankowska ve ark. çalışmalarında GPI eksikliği olan nötrofillerde PR3 olmadığını ve dolaşımdaki PR3 düzeyinin PNH granülosit klon boyutu ile ters orantılı olduğunu saptamışlardır ve PR3 ile trombosit etkinliğinin azaldığı görmüşlerdir[49].

İntravasküler hemoliz sonucu serbest hemoglobinin açığa çıkar. Pro-oksidan etkisi olan serbest hemoglobin doğrudan endotel hücrelerine toksik etkilidir. Ayrıca nitrik oksit(NO) ile bağlanarak dokularda NO azalmasına sebep olur. NO normalde düz kas gevşemesi, trombositlerin inhibisyonu ve anti-inflamatuar etkide rol oynar. Böylelikle NO eksikliğinde tromboza eğilim artar[46]. Trombositlerin kontrolsüz bir şekilde uyarılması tromboz gelişiminde altta yatan bir başka nedendir. Trombosit yüzeyinde normalde bulunan CD55 ve CD59, PNH klonu taşıyan trombositlerde yoktur[50]. PNH hastalarında trombosit yaşam süresinin değişmediğini dolayısıyla trombositlerin kompleman sistemi tarafından yıkılmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur[51]. Bu çalışmalar PNH hastalığında trombositopeni nedeninin kemik iliği yetmezliği olduğunu gösterir. Kompleman sistemi tarafından CD59 aracılığı ile uyarılan trombositlerden protrombinaz salınımı artar. GPI çapa proteininin yokluğunda protrombinaz yetersizliği ve sonuçta tromboza eğilim olabileceği düşünülmüştür[52]. Ayrıca Wiedmar ve ark. trombositlerin membran atak kompleksi(MAC) tarafından uyarıldıklarında

yüzeylelerinde daha fazla faktör 5 bağlanma bölgesi oluştuğunu ve trombin üretimini arttırdıklarını saptamışlardır[53].

Kompleman sisteminin GPI bulundurmayan hücreleri uyarak prokoagulan mikropartiküller salınımına yol açması bir diğer hipotezdir[46]. Yine Wiedmar ve ark. tarafından yapılan çalışmada MAC uyarısı ile PNH klonu taşıyan trombositlerin normal trombositlere göre daha fazla mikropartikül salgıladığı görülmüştür[53]. Sonuç olarak kompleman uyarısı ile salınan mikropartiküllerin trombozu tetikleyebileceği düşünülebilir.

Fibrinoliz ve antikoagülasyonun engellenmesi de tromboza yol açabilir[46]. Ürokinaz plazminojen aktivatör reseptörüne(u-PAR) bağlanarak plazminojeni plazmine çevirir. Böylelikle fibrinolizde görev alır. PNH hastalığında lökositler ve trombositlerde u-PAR eksiktir[54]. Diğer fibrinoliz inhibitörleri olan α 2-antiplazmin, plazmin-antiplazmin(PAP) kompleksleri ve plazminojen aktivatör inhibitör-1(PAI-1) ve fibrinolizi tetikleyen doku tipi plazminojen aktivatörü(tPA) PNH hastalarda normal düzeylerde[55].

PNH hastalığında tromboz beklenmeyen bölgelerde gelişir. Sıklıkla intraabdominal, intrakraniyal bölgede ortaya çıkar. En sık hepatik vende (Budd-Chiari Sendromu) tromboz görülür[56].

Hastalarda mortalite ve morbiditede önem taşıyan bu komplikasyonun sıklığının artan klon boyutu ile ilişkili olduğu bilinmektedir[57]. Bu nedenle büyük klona sahip hastalarda (granülosit klon boyutu>%50) warfarin ile primer profilaksi yapılır. Fakat bu yaklaşım da hastaların tümünde trombozu önlemekte yeterli olamamaktadır[58]. Eculizumab kompleman yolağında görevli olan C5'i

inhibe eden bir monoklonal antikordur. Eculizimabın, PNH hastalarında tromboembolik komplikasyon riskini azalttığı gösterilmiştir[22].

2.1.8. Tedavi

PNH tanısı konulan hastalarda hastalığın morbidite ve mortalitesinden sorumlu klinik bulgulardan herhangi birinin varlığı tedavi endikasyonu olarak kabul edilmelidir. Bu klinik bulgular; tromboz varlığı, transfüzyon bağımlı hemolitik anemi, ileri derecede güçsüzlük ve sık gelişen düz kas spazmı (yutma güçlüğü, karın ağrıları), böbrek yetersizliği ve pulmoner hipertansiyon gibi PNH'ya bağlı organ hasarlarının varlığı olarak sıralanabilir.[59]

Herhangi bir klinik bulgu vermeyen ancak akım sitometrik incelemeyle PNH klonu saptanan AA/PNH veya MDS/PNH olgularının PNH'ya yönelik tedavi endikasyonu yoktur. Bu olgu gruplarında klinik bulgu ortaya çıktığı takdirde, altta yatan kemik iliği yetersizliği tablosuna yönelik tedavi yapılmalıdır. Bir diğer hasta grubu da başlangıçta %10 veya daha az bir PNH klonu olan ama örneğin ağır aplastik anemi nedeniyle immunosüpresif tedavi kullanan hastalardır. Bu hastalarda genellikle takip sırasında PNH klonunun artışıyla birlikte PNH tablosu ortaya çıkabilir. Bu durumdaki semptomatik hastalar klasik PNH olarak tedavi edilmelidir.[59]

PNH'da kortikosteroidlerin ve androjenlerin her hastada olmasa da hemolizi azaltıcı etkisi görülmüştür. Kortikosteroid tedavisi özellikle hemolizin yoğun olduğu dönemlerde hemoglobin düzeylerini artırmada etkilidir.[10, 60] Ancak bu ilaçların uzun dönem kullanıldığında ortaya çıkan yan etkileri nedeniyle

tedavide kullanımları kısıtlıdır. Androjen tedavisinin yararını gösteren çalışmalar vardır[59, 61]. Yan etkileri; karaciğer toksisitesi, prostat hipertrofisi, virilizasyon olup androjen tedavisi süresince karaciğer testlerinin izlemi önerilmektedir.[59]

Eculizumaba hızlı ulaşma olanağının kısıtlı olması nedeniyle kortikosteroidler sıklıkla birinci basamak tedavide kullanılmaktadır. Steroid kullanan hastalarda yanıt alındıktan sonra gün aşırı dozaja geçilerek yan etkiler azaltılmaya çalışılmalıdır.[28]

Klasik PNH'da kortikosteroid dışında immunosupresif tedavinin yeri yoktur. Ancak klasik PNH'lı hastaların izleminde aplastik anemi gelişebilir. İzleminde hemolizi kontrol altına alındığı halde sitopenileri düzelmeyen hastalarda kemik iliğinde hiposellülarite saptanırsa aplastik anemide olduğu gibi immunosupresif tedavi verilebilir.

PNH hastalığı kompleman ilişkili hemoliz sonucunda oluşur. Eculizumab kompleman sisteminin alternatif yolağındaki C5'i inhibe eden bir monoklonal antikordur. Eculizumab tedavisinin hastalığın tedavisinde etkin olduğunu ve tromboz gelişimini engellediğini gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur.[11, 22] Eculizumab, kompleman inhibisyonu yaparak PNH olgularında hemolizi ve dolayısıyla hemolize bağlı komplikasyonları belirgin derecede azalttığı gösterilmiştir.[28, 62] Tedavi için önerilen eculizumab dozları başlangıçta 4 hafta süreyle haftada bir 600 mg, 5.haftadan itibaren iki haftada bir 900 mg şeklindedir. Eculizumab kompleman sistemini engellediği için tedavi altındaki hastalarda kapsüllü mikroorganizmalara karşı bağışık yanıtta yetersizlik olur. Bu hastalarda

özellikle meningokok enfeksiyonu riski yüksektir. Bu nedenle hastalara tedavi öncesi aşı yapılmalıdır.[22]

PNH'da günümüzde kür sağlayabilen tek tedavi yöntemi allojenik kök hücre naklidir(AKHN).[63] AKHN, HLA doku grubu uygun vericilerle yapılsa da nakille ilişkili ciddi morbidite ve mortalitesi vardır. Bu nedenle çok gerekli ve seçilmiş hastalarda yapılması uygundur. [64] İlaç tedavisine yanıt vermeyen veya eculizumab ya da steroid tedavisi almak istemeyen, HLA uygun vericisi olan hastalarda AKHN önerilebilir. [65, 66]

Folik asit desteği ve gereğinde demir tedavisi verilmelidir. Demir tedavisinin yeni PNH klonunu artırarak hemolitik atakları uyardığı düşünülse de bu konu tartışmalıdır. Transfüzyonlara semptomatik anemi durumlarında sık başvurulur. Eritropoetin tedavisi PNH klonunun artışını da uyararak hemolizin artmasına yol açabilir bu nedenle PNH tedavisinde böbrek yetersizliği olmadıkça yeri yoktur.[10]

PNH'lı olguların yaklaşık %30-40'ında tromboz görüldüğü bildirilmiştir. Venöz trombozu olan PNH'lı bir hastanın antikoagulan tedavi alması gereklidir. Ancak bu hastalarda trombositopeni varlığı antikoagulasyon için bir risk oluşturur. Trombosit sayısı $50 \times 10^9/l$ 'nin üzerinde olan hastalarda INR düzeyi 2,0-3,0 arasında tutacak şekilde oral antikoagulan tedavi uygulanmalıdır. PNH hastalarında tromboz eğilimi önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olduğu için primer profilaksi de düşünülebilir. Ancak bu konudaki çalışmalar sınırlıdır. Özellikle granülositlerde %50'nin üzerinde PNH klonu tespit edilen olgularda tromboz riskinin arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle trombosit sayısı $100 \times 10^9/l$ 'nin

üzerinde olan ve antikoagulasyon için bir kontrendikasyonu bulunmayan olgularda %50'nin üzerinde PNH klonu varlığında antikoagulan profilaksi önerilir.[58, 67]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Hasta Seçimi

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi hematoloji kliniğinde 2015-2016 yıllarında 148 hastadan paroksizmal nokturnal hemoglobinüri ön tanısıyla istenen akım sitometri tetkiki sonuçları ve istem yapılma nedenlerini retrospektif olarak değerlendirdik. Hastaların hepsi 18 yaş ve üstüdür. AA, MDS, açıklanamayan sitopeni, tromboz, coombs negatif hemolitik anemi, hemoglobinüri ve sık abortus nedeniyle PNH klonu bakılan hastaların sonuçlarını değerlendirdik. Bu endikasyonlarda PNH klonu görülme sıklığını bulduk. Hastaların dosyaları taranarak hemogram, retikülosit, LDH, böbrek fonksiyon testleri, bilirubin değerleri, haptoglobülin, d-dimer değerleri ve kemik iliği biyopsi sonuçları kaydedilmiştir. Ek tetkik istenmemiş, herhangi ek invazif işlem yapılmamıştır. Araştırmanın herhangi bir bütçesi yoktur. Çalışmaya katılacak hastaların tıbbi kayıtları hasta dosyaları ve hastane elektronik sisteminden retrospektif olarak taranmış ve SPSS programında oluşturulan veri tabanına kaydedilmiştir. Test sonuçları ile isteme endikasyonları karşılaştırılarak analiz edilmiştir.

3.2. İstatiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 19.0 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 akım sitometri sonuçları arasında karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Akım sitometri sonuçları arasında sayısal ölçümlerin karşılaştırılmasında varsayımların sağlanması durumunda Bağımsız gruplarda T testi (Student's T test), sağlanmaması durumunda ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.

4. BULGULAR

Hastaların cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde; %56,5'i kadın, %43,5'i erkektir. PNH klonuna, tüm hastaların %8,7'sinde saptanmıştır. Hastaların yaş ortalaması 42 olup yaş aralığı 18-83 arası dağılım göstermektedir.

Tablo1: Yaş Dağılımı

	N	Minimum	Maximum	Ortalama	Std. Sapma
Yaş	115	18,00	83,00	42,22	14,76

Akım sitometri sonuçları incelenen 115 hastanın 10'unda (%8,7) PNH klonu saptanmıştır. (Tablo.2)

Tablo 2: PNH Klonu Varlığı

		N	%
PNH Klonu	Var	10	8,7
	Yok	105	91,3
	Total	115	100,0

İstem nedenine göre dağılım incelendiğinde 115 hastanın beşinin istem nedeni bilinmemektedir. İstem nedeni bilinen 115 hasta içerisinde en fazla istem nedeni %54 ile tromboz iken bunu %19 ile açıklanamayan sitopeni takip etmektedir. Coombs negatif hemolitik anemi sebebiyle istem oranı %20; PNH takibi nedeniyle %7; aplastik anemi nedeniyle ise istem tüm hastaların %5'idir. MDS nedeniyle %6,1; hemoglobinüri nedeniyle istem ise %0,9'tür. Sık abortus nedeniyle istem oranı ise %2'dir. Sonuçlar tablo.3'de verilmiştir.

Tablo 3: Akım Sitometri Testi İstem Nedeni Dağılımı

		<i>N</i>	%
İstem Nedeni	PNH	7	6,1
	AA	5	4,3
	MDS	7	6,1
	Açıklanamayan sitopeni	19	16,5
	Tromboz	54	41,3
	Coombs negatif HA	20	17,4
	Hemoglobinüri	1	0,9
	Diğer (sık abortus)	2	1,7
	Total	115	100,0

İstem nedeni bilinen 115 hastanın %48,7'sinde tromboz mevcutken, %51,3'ünde tromboz yoktur. Tromboz tipi incelendiğinde; trombozların %37,5'inin venöz, %62,5'inin ise arteriyal olduğu görülmüştür. Tromboz yeri incelendiğinde; %40,4'si karın, %33,3'ü Santral sinir sistemi; %14'ü ise ekstremitelerde görülmüştür. Akciğerde görülme oranı %7 iken diğer organlarda görülen tromboz oranı toplam %5,3'dir(tablo.4).

Tablo 4: Tromboz ve Görülme Yerleri

		N	%
Tromboz	Var	56	48,7
	Yok	59	51,3
	Total	115	100,0
Tromboz tipi	Venöz	21	37,5
	Arteriyal	35	62,5
	Total	56	100,0
Tromboz yeri	Ekstremitte	8	14
	Akciğer	4	7
	Karın	23	40,4
	SSS	19	33,3
	Diğer	3	5,3
	Total	57	100,0

Trombozu olan 56 hastanın tromboz şekli incelendiğinde; %44,3'ünün sebepsiz olduğu görülmüştür. Oral kontraseptif kullananların oranı %3,5 iken, malignite, cerrahi, PNH ve diğer olmak üzere 1'er tane altta yatan neden olabilecek patoloji görülmüş olup oranları %0,9'dır.(Tablo.5)

Tablo 5: Trombofilik risk faktörleri

	N	%	
Trombofilik Risk faktörleri	Sebepsiz	51	89,5
	Malignite	1	1,8
	Cerrahi	1	1,8
	OKS kullanımı	2	3,5
	PNH	1	1,8
	Diğer	1	1,8
	Total	57	100,0

Trombozu olan hastalarda tromboza eğilim yaratabilecek hastalıkların dağılımı incelendiğinde; %'60,3'ünde herhangi bir risk faktörü bulunmamaktadır. Sigara kullanımı %12,1'inde, hipertansiyon %5,2'sinde, diabetes mellitus %8,6'sında, aterosklerotik kalp hastalığı %3,4'ünde eşlik etmektedir. (Tablo.6)

Tablo 6: Tromboza eğilim oluşturan hastalıkların dağılımı

	N	%	
Tromboza eğilim yaratabilecek diğer hastalıklar	Diabetes Mellitus	5	8,6
	Hipertansiyon	3	5,2
	Aterosklerotik kalp hastalığı	2	3,4
	Diğer	2	3,4
	Sigara kullanımı	7	12,1
	Bilinmiyor	4	6,9
	Yok	35	60,3
	Total	58	100

Tüm hastaların %62,6'sında coombs testinin yapılmadığı, %13,9'unda yapılan coombs testi sonucunun negatif, %23,5'inin ise coombs testi sonucunun pozitif olduğu görülmüştür. (Tablo.7)

Tablo 7: Coombs Testi Sonuçları

	N	%	
Coombs testi	Negatif	16	13,9
	Pozitif	27	23,5
	Bakılmadı	72	62,6
	Total	115	100,0

Hastalardan elde edilen sayısal bilgilere ilişkin tanımlayıcı bilgiler ise tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8: Laboratuvar Sonuçları

	N	Minimum	Maximum	Ortalama	Std. Sapma
Hb	143	4,00	101,00	12,11	7,96
Mcv	143	63,60	993,00	96,49	76,50
Bk	143	901,00	18600,00	6367,32	3378,28
Mns	143	10,00	14900,00	4056,50	2821,01
Plt	143	2500,00	725000,00	206925,38	138899,84
Ret sayısı	105	3,65	1230,00	101,70	144,46
Haptoglobulin	68	0,10	444,00	87,60	101,56
LDH	133	123,00	2460,00	290,89	276,15
Total bilürubin	133	0,15	11,00	1,11	1,47
Direkt bilürubin	132	0,06	10,00	0,43	0,95
Kreatinin	140	0,20	10,10	0,90	1,08
Ferritin	130	5,00	8763,00	466,08	1052,19
D-dimer	111	1,00	5400,00	482,14	854,43

İstem nedeni ile PNH klonu arasındaki ilişki incelendiğinde; AA olanların %20'sinde, MDS olanların %33,3'ünde, açıklanamayan sitopeni nedeniyle istenenlerin %5'inde, tromboz nedeniyle istenenlerin ise %3,4'ünde PNH klonu bulunmaktadır. Coombs testi negatif hemolitik anemi, hemoglobinüri ve tekrarlayan abortus olanlarda ise PNH klonu bulunmamıştır. (Tablo.9)



Tablo 9: Akım Sitometri İstem Nedeni/ PNH Klonu Varlığı

			PNH klonu		Total	
			Var	Yok		
İstem Nedeni	PNH	n	4	1	5	
		%	80	20	100	
	AA	n	1	4	5	
		%	20	80	100	
	MDS	n	2	4	6	
		%	33,3	66,7	100	
	Açıklanamayan Sitopeni	n	1	17	18	
		%	5	95	100	
	Tromboz	n	2	57	59	
		%	3,4	96,6	100	
	Coombs negatif HA	n	0	19	19	
		%	0	100	100	
	Hemoglobinüri	n	0	1	1	
		%	0	100	100	
	Diğer (sık abortus)	n	0	2	2	
		%	0	100	100	
	Total		n	10	105	115
			%			

5. TARTIŞMA

Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri(PNH), az rastlanan bir hematopoetik klonal kök hücre hastalığıdır. PNH; tromboz, uç organ hasarı ve yaşam kalitesinin bozulmasına yol açan ilerleyici, yaşamı tehdit eden bir hastalıktır.[22] Hastaların %35'i tanıdan sonraki 5 yıl içinde hayatını kaybeder. Tromboz ve böbrek yetmezliği önde gelen ölüm nedenleridir.[1] PNH tanısı herhangi bir yaşta konabilir, en sık otuzlu yaşlarda görülür.[68] Hastalığın tanı ve izleminde akım sitometri önemlidir.[69] çalışmamızda, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi hematoloji kliniğinde 2015-2016 yıllarında paroksizmal nokturnal hemoglobinüri düşünülen 115 hastanın akım sitometri tetkiki sonuçlarını değerlendirdik. Hastalarımızı, aplastik anemi, MDS, tromboz, açıklanamayan sitopeni, hemoliz, hemoglobinüri ve tekrarlayan abortus nedeniyle PNH klonu istenenler olarak gruplara ayırdık. Bu gruplardaki PNH klonu görülme sıklıklarını bulduk. Akım sitometri sonuçları incelenen toplam 115 hastanın 10'unda (%8,7) PNH klonu saptadık. PNH klonu bulunma sıklığını, MDS'lilerde %33,3, aplastik anemili hastalarda %20, açıklanamayan sitopenilerde %5, trombozda %3,4 oranında tespit ettik. Hemolitik anemi, hemoglobinüri ve sık abortus nedeniyle akım sitometri çalışılan olgularda ise PNH klonu bulamadık.

Tromboz, PNH'da önde gelen ölüm nedenidir. Ölümünün çoğu venöz veya arteriyel tromboza bağlıdır. Açıklanamayan trombozu olan hastalar yüksek PNH riski altındadır. Hemoliz veya açıklanamayan sitopeninin eşlik ettiği trombozlarda PNH taranması gerektiği belirtilmektedir. Marta Morado ve

arkadaşları, İspanya ve Brezilya’da yaptıkları çok merkezli bir çalışmada 3938 hastanın PNH ön tanısıyla bakılan akım sitometri sonuçlarını incelemişlerdir. Hemolitik anemi ve diğer sitopenilerin eşlik ettiği trombozu olan 573 hastanın %13,7 sinde, sitopeni ve aneminin eşlik etmediği trombozu olan 5800 hastanın ise %0,4’ünde, PNH klonu saptamışlardır.[70] Alejandro Lazo-Langner ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada idiopatik venöz trombozu olan 388 hastada akım sitometri ile PNH klonu araştırılmış ve bir hastada PNH klonuna rastlanmıştır.[71] Movalia ve arkadaşlarının Amerika’da yaptıkları çalışmada ise trombozu olan 967 hastanın 14’ünde PNH klonu tespit etmişlerdir.[72] Çalışmamızda tromboz nedeniyle akım sitometri çalışılan hastaların %3,4’ünde PNH klonu olduğunu gördük. Sonucumuz, bu çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. PNH son derece nadir bir hastalıktır. Prevalansın 5,5/1.000.000 olduğu düşünülmektedir. Son derece nadir görülen PNH klonunu, trombozlu hastalarda %3,4 oranında görmemiz, normal popülasyona göre trombozu olan hastaların, daha fazla PNH riski taşıdığını göstermektedir. Bu nedenle trombozlu hastalarda, özellikle nedeni açıklanamıyorsa, PNH hastalığından şüphelenilmeli ve PNH klonu bakılması gerektiğini düşündük.

Aplastik Anemi(AA) hastaları, yüksek PNH riski altındadır. AA hastalarındaki kemik iliği, PNH gelişme riskini arttırabilir. Movalia ve arkadaşlarının Amerika’da yaptıkları çalışmada, 6897 aplastik anemi hastasının %26,3’ünde PNH klonu bulmuşlardır.[72] Marta Morado ve arkadaşları, Brezilya ve İspanya’da yaptıkları çalışmada aplastik anemi nedeniyle PNH klonu bakılan 541 hastanın %45’inde PNH klonu saptamışlardır. Çalışmamızda, aplastik anemi

nedeniyle akım sitometri istenen hastaların %20'sinde PNH klonu saptadık. Bulduğumuz oran bu çalışmalarla benzerlik göstermektedir. AA hastaları PNH açısından yüksek risk altındadır. Çalışmamızda, aplastik anemili hastalarda PNH klonu taranması gerektiği sonucunu çıkardık.

Myelodisplastik sendromu olan hastalar PNH açısından risklidir. Özellikle refrakter anemi-miyelodisplastik sendromu (RA-MDS) olanlar, yüksek PNH riski altındadır. National Comprehensive Cancer Network 2013 Yönergelerine göre, tüm MDS hastalarında, tanı konulduğunda PNH taranmalıdır. Movalia ve arkadaşlarının Amerika'da yaptıkları çalışmada, 6897 MDS hastasının %5,5'inde PNH klonu bulmuşlardır. Marta Morado ve arkadaşlarının İspanya ve Brezilya'da yaptıkları çalışmada 266 hastada MDS nedeniyle PNH klonu bakılmış ve 26 hastada (%9,8) PNH klonu saptanmıştır. Çalışmamızda, MDS nedeniyle akım sitometri çalışılan hastalarda, %33,3 oranında PNH klonu saptadık. Bulduğumuz sonuç, bu çalışmaların sonuçlarına göre daha yüksektir. Hasta sayımızın az olması nedeniyle sonucumuzun daha yüksek olduğunu düşündük. Bulduğumuz oranın yüksek olması bize, MDS hastalarında PNH taranması gerekli olduğunu göstermektedir.

Coombs negatif hemolitik anemisi olan hastalar da PNH bakımından yüksek risk altındadır. Movalia ve arkadaşları Amerika'da yaptıkları çalışmada, hemolitik anemili hastaların %22,7 sinde PNH klonu bulmuşlardır. [72] Marta Morado ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hemolitik anemi nedeniyle 382 hastadan akım sitometri çalışılmış ve %18,6'sında PNH klonu saptanmıştır. Çalışmamızda, Coombs negatif hemolitik anemi sebebiyle akım sitometri çalışılan

20 hastanın hiçbirinde PNH klonuna rastlamadık. Hasta sayımızın az olması ve hemolizle ilgili kayıtlarına ulaşılamayan hastalar olması nedeniyle oranın farklı olduğunu düşündük.

Açıklanamayan sitopenisi olan hastalar da yüksek PNH riski altındadır. Sitopeni, altta yatan kemik iliği fonksiyon bozukluğunu gösterir ve PNH şüphesini artırır. Movalia ve arkadaşları Amerika'da yaptıkları çalışmada, açıklanamayan sitopenisi olan hastaların %5,7'sinde PNH klonu olduğunu saptamışlardır.[72] Çalışmamızda açıklanamayan sitopenili hastalarda PNH klonu sıklığını %5 olarak bulduk. Sonucumuz bu çalışma ile benzerlik göstermektedir. Tüm araştırmalara rağmen açıklanamayan sitopeni varsa, özellikle de sitopeniye hemoliz bulgusu eşlik ediyorsa veya beraberliğinde tromboz, anemi, coombs-negatif hemolitik anemi, kemik iliği yetmezliği, hemoglobinüri de bulunuyorsa akım sitometri ile PNH klonu bakılması gerektiğini düşündük.

PNH'da Hemoglobinüri, intravasküler hemolizin sonucu ortaya çıkar. Movalia ve arkadaşları Amerika'da yaptıkları çalışmada, hemoglobinürisi olan hastaların %18,9'unda PNH klonu saptamışlardır.[73] Çalışmamızda hemoglobinüri nedeniyle PNH taranmış olan bir hasta bulunmaktadır ve PNH klonu saptanmamıştır. PNH hastalarının %26'sında başlangıçta hemoglobinüri yakınması görülmektedir. Hastalarımızın ilk başvuru nedeni hemoglobinüri olmayabilir. Bu nedenle bu oranı düşük bulduğumuzu düşündük.

Çalışmamızın sonucu, literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Aplastik anemi ve myelodisplastik sendrom hastalarında, coombs negatif hemolitik anemilerde, açıklanamayan sitopenilerde, hemolizi bulunan hastalarda

ve nedeni belirlenemeyen trombozlu hastalarda PNH klonu taranmasının gerekli olduğunu gördük. Olgu sayımızın az olması nedeniyle bu konuyla ilgili daha kapsamlı, çok merkezli, çalışmalara ihtiyaç vardır.



6.KAYNAKLAR

1. Hillmen, P., et al., *Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. New England Journal of Medicine, 1995. 333(19): p. 1253-1259.
2. Nakakuma, H., et al., *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in bone marrow of patients with pancytopenia*. Blood, 1995. 85(5): p. 1371-1376.
3. BALÇIK, Ö.Ş. and D. PEHLİVAN, *Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri*. Yeni Tıp Dergisi, 2013. 30(3): p. 142.
4. Lee, J., et al., *High prevalence and mortality associated with thromboembolism in Asian patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH)*. Haematologica, 2010. 95(Suppl 2): p. 205-6.
5. Rosse, W.F., *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria as a molecular disease*. Medicine, 1997. 76(2): p. 63-93.
6. Griscelli-Bennaceur, A., et al., *Aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: search for a pathogenetic link*. Blood, 1995. 85(5): p. 1354-1363.
7. ÇETİNER, M., *Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri*. Türkiye Klinikleri Journal of Hematology Special Topics, 2011. 4(1): p. 23-28.
8. Brodsky, R.A., *How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. Blood, 2009. 113(26): p. 6522-6527.
9. Borowitz, M.J., et al., *Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry*. Cytometry Part B: Clinical Cytometry, 2010. 78(4): p. 211-230.
10. Parker, C., et al., *Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. Blood, 2005. 106(12): p. 3699-3709.
11. Kelly, R.J., et al., *Long-term treatment with eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: sustained efficacy and improved survival*. Blood, 2011. 117(25): p. 6786-6792.
12. Parker, C.J., *Management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the era of complement inhibitory therapy*. ASH Education Program Book, 2011. 2011(1): p. 21-29.
13. Gull, W., *A case of intermittent haematuria, with remarks*. Guys Hosp Rep, 1866. 12(381): p. 92.
14. CROSBY, W.H., *Historical Review: Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria*. Blood, 1951. 6(3): p. 270-284.
15. Marchiafava, E. and A. Nazari, *Nuovo contributo allo studio degli itteri cronici emolitici*. Policlinico (Sezmed), 1911. 18: p. 241-4.
16. CROSBY, W.H., *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. Blood, 1953. 8(9): p. 769-812.
17. Parker, C., *Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and the Glycosylphosphatidylinositol-Linked Proteins*. 2000.
18. Holguin, M., et al., *Isolation and characterization of a membrane protein from normal human erythrocytes that inhibits reactive lysis of the erythrocytes of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. Journal of Clinical Investigation, 1989. 84(1): p. 7.

19. Parker, C.J., *The pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Experimental hematology*, 2007. 35(4): p. 523-533.
20. Jarva, H. and S. Meri, *Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: the disease and a hypothesis for a new treatment*. *Scandinavian journal of immunology*, 1999. 49: p. 119-125.
21. Rother, R.P., et al., *The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease*. *Jama*, 2005. 293(13): p. 1653-1662.
22. Hillmen, P., et al., *Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Blood*, 2007. 110(12): p. 4123-4128.
23. Ahn, Y.S., et al., *Danazol for the treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura*. *New England Journal of Medicine*, 1983. 308(23): p. 1396-1399.
24. Krauss, J.S., *The Laboratory Diagnosis of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)*. Update, 2010: p. 20-24.
25. Özdemirkıran, F., et al., *Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinürili Olguların Değerlendirilmesi: İki Merkezin Deneyimi, S. Solmaz Medeni*. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2014. 28(3): p. 139-143.
26. Bessler, M., et al., *Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) is caused by somatic mutations in the PIG-A gene*. *The EMBO Journal*, 1994. 13(1): p. 110.
27. Micheli, F., *Un caso di anemia emolitica con emosiderinuria perpetua*. *Accad Med (Torino)*, 1928. 7: p. 148.
28. Hillmen, P., et al., *The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *New England Journal of Medicine*, 2006. 355(12): p. 1233-1243.
29. Kaushansky, K., et al., *Acute myelogenous leukemia In: Williams Hematology*, 2010, New York: McGraw-Hill.
30. Hartmann, R.C. and D.E. Jenkins Jr, *The sugar-water test for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *New England Journal of Medicine*, 1966. 275(3): p. 155-157.
31. Rosti, V., *The molecular basis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Haematologica*, 2000. 85(1): p. 82-87.
32. Araten, D.J. and L. Luzzatto, *The mutation rate in PIG-A is normal in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH)*. *Blood*, 2006. 108(2): p. 734-736.
33. Ware, R.E., S.E. Hall, and W.F. Rosse, *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with onset in childhood and adolescence*. *New England Journal of Medicine*, 1991. 325(14): p. 991-996.
34. Brodsky, R.A., et al., *Improved detection and characterization of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using fluorescent aerolysin*. *American Journal of Clinical Pathology*, 2000. 114(3): p. 459-466.
35. Taneli, F., *Flow sitometri tekniği ve klinik laboratuvarlarda kullanımı*. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2007. 5(2): p. 75-82.
36. Stetler-Stevenson, M., et al., *2006 Bethesda International Consensus Conference on Flow Cytometric Immunophenotyping of Hematolymphoid Neoplasia*. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, 2007. 72(S1): p. S3-S3.

37. De Weck, A., et al., *Diagnostic tests based on human basophils: more potentials and perspectives than pitfalls. II. Technical issues.* Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology, 2008. 18(3): p. 143.
38. Ocmant, A., et al., *Flow cytometry for basophil activation markers: the measurement of CD203c up-regulation is as reliable as CD63 expression in the diagnosis of cat allergy.* Journal of immunological methods, 2007. 320(1): p. 40-48.
39. Johnson, K., M. Dooner, and P. Quesenberry, *Fluorescence activated cell sorting: a window on the stem cell.* Current pharmaceutical biotechnology, 2007. 8(3): p. 133-139.
40. Sutherland, D.R., et al., *Diagnosing PNH with FLAER and multiparameter flow cytometry.* Cytometry Part B: Clinical Cytometry, 2007. 72(3): p. 167-177.
41. Hill, A., et al., *Eculizumab prevents intravascular hemolysis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and unmasks low-level extravascular hemolysis occurring through C3 opsonization.* haematologica, 2010. 95(4): p. 567-573.
42. de Latour, R.P., et al., *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories.* Blood, 2008. 112(8): p. 3099-3106.
43. Moyo, V.M., et al., *Natural history of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using modern diagnostic assays.* British journal of haematology, 2004. 126(1): p. 133-138.
44. Helley, D., et al., *Evaluation of hemostasis and endothelial function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria receiving eculizumab.* Haematologica, 2010. 95(4): p. 574-581.
45. Ingram, D.A., N.M. Caplice, and M.C. Yoder, *Unresolved questions, changing definitions, and novel paradigms for defining endothelial progenitor cells.* Blood, 2005. 106(5): p. 1525-1531.
46. van Bijnen, S.T., W.L. van Heerde, and P. Muus, *Mechanisms and clinical implications of thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.* Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2012. 10(1): p. 1-10.
47. Mueller, R.J., et al., *Persistence of recipient-type endothelium after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.* haematologica, 2010: p. haematol. 2010.030288.
48. Zhang, J., et al., *Glycosyl phosphatidylinositol anchorage of tissue factor pathway inhibitor.* Circulation, 2003. 108(5): p. 623-627.
49. Jankowska, A.M., et al., *Loss of expression of neutrophil proteinase-3: a factor contributing to thrombotic risk in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.* haematologica, 2011. 96(7): p. 954-962.
50. Sloand, E.M., et al., *Transfer of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins to deficient cells after erythrocyte transfusion in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.* Blood, 2004. 104(12): p. 3782-3788.
51. Devine, D., R. Siegel, and W. Rosse, *Interactions of the platelets in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with complement. Relationship to defects in the regulation of complement and to platelet survival in vivo.* Journal of Clinical Investigation, 1987. 79(1): p. 131.

52. Sims, P.J. and T. Wiedmer. *Induction of cellular procoagulant activity by the membrane attack complex of complement*. in *Seminars in cell biology*. 1995. Elsevier.
53. Wiedmer, T., et al., *Complement-induced vesiculation and exposure of membrane prothrombinase sites in platelets of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Blood*, 1993. 82(4): p. 1192-1196.
54. Ploug, M., et al., *The receptor for urokinase-type plasminogen activator is deficient on peripheral blood leukocytes in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Blood*, 1992. 79(6): p. 1447-1455.
55. Gralnick, H., et al., *Activated platelets in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria*. *British journal of haematology*, 1995. 91(3): p. 697-702.
56. Ziakas, P., et al., *Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: sites, risks, outcome. An overview*. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2007. 5(3): p. 642-645.
57. Nishimura, J.-I., et al., *Clinical course and flow cytometric analysis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the United States and Japan*. *Medicine*, 2004. 83(3): p. 193-207.
58. Hall, C., S. Richards, and P. Hillmen, *Primary prophylaxis with warfarin prevents thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH)*. *Blood*, 2003. 102(10): p. 3587-3591.
59. Rosse, W.F., *Treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Blood*, 1982. 60(1): p. 20-23.
60. Bourantas, K., *High-dose recombinant human erythropoietin and low-dose corticosteroids for treatment of anemia in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Acta haematologica*, 1994. 91(2): p. 62-65.
61. HARTMANN, R.C., et al., *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: clinical and laboratory studies relating to iron metabolism and therapy with androgen and iron*. *Medicine*, 1966. 45(5): p. 331-363.
62. Socie, G., et al., *Terminal Complement Inhibitor Eculizumab Improves Complement-Mediated Platelet Consumption and Thrombocytopenia in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)*. *Blood*, 2009. 114(22): p. 4030-4030.
63. de Latour, R.P., et al., *Allogeneic stem cell transplantation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Haematologica*, 2012. 97(11): p. 1666-1673.
64. Takahashi, Y., et al., *In vitro and in vivo evidence of PNH cell sensitivity to immune attack after nonmyeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation*. *Blood*, 2004. 103(4): p. 1383-1390.
65. Sašo, R., et al., *Bone marrow transplants for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria*. *British journal of haematology*, 1999. 104(2): p. 392-396.
66. Hegenbart, U., et al., *Hematopoietic cell transplantation from related and unrelated donors after minimal conditioning as a curative treatment modality for severe paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2003. 9(11): p. 689-697.
67. Hillmen, P., et al., *Long-term effect of the complement inhibitor eculizumab on kidney function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *American journal of hematology*, 2010. 85(8): p. 553-559.

68. Socié, G., et al., *Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors*. The Lancet, 1996. 348(9027): p. 573-577.
69. Brodsky, R.A., et al., *Multicenter phase 3 study of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. Blood, 2008. 111(4): p. 1840-1847.
70. Morado, M., et al., *Diagnostic screening of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Prospective multicentric evaluation of the current medical indications*. Cytometry Part B: Clinical Cytometry, 2016.
71. Lazo-Langner, A., et al., *Screening of Patients with Idiopathic Venous Thromboembolism for Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Clones*. Thrombosis research, 2015. 135(6): p. 1107-1109.
72. Movalia, M., et al. *INCIDENCE AND FOLLOW-UP OF PNH CLONES BY DIAGNOSTIC CODE UTILIZING HIGH SENSITIVITY FLOW CYTOMETRY*. in *CYTOMETRY PART B-CLINICAL CYTOMETRY*. 2012. WILEY-BLACKWELL 111 RIVER ST, HOBOKEN 07030-5774, NJ USA.
73. Movalia, M.K., et al., *Incidence of PNH clones by diagnostic code utilizing high sensitivity flow cytometry*. Blood, 2011. 118(21): p. 1033-1033.

7.ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Suna Bürkük

Doğum Yeri ve Tarihi: Anamur/20.02.1987

Eğitimi:

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Eğitimi (2016)

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (2011)

Konya Meram Fen Lisesi (2004)

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar:-

Bilimsel Etkinlikleri:

İmmünespresif Hastada Nadir Fungal Enfeksiyon; Kandida Pnömonisi
(18. Ulusal Hipertansiyon Ve Nefroloji Kongresi poster)