

T.C. KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

**LENFOMALI HASTALARDA PAROKSİSMAL NOKTÜRNAL HEMOGLOBİNÜRİ
KLONU VARLIĞI**

Dr. Muhammet ÖZBİLEN

İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı

2014

T.C. KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

**LENFOMALI HASTALARDA PAROKSİSMAL NOKTÜRMAL HEMOGLOBİNÜRİ
KLONU VARLIĞI**

Dr. Muhammet ÖZBİLEN

İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Abdullah HACIHANEFİOĞLU

Ana Bilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Sadettin HÜLAGÜ

Etik Kurul Uygunluk Onayı

Tarih: 18.03.2014

Proje No: 2014/86

2014

ÖNSÖZ

Bu hayatımın ilk saniyesinden buraya, bu ana ve bundan sonraki her saniyesine kadar mürekkeplerin yetmeyeceği kadar kahramanlar var. Tüm onlara,

1998 yılından bu yana, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde okuyorum ve çalışıyorum. O günden bugüne kadar, isimlerini bildiğim ve bilemeyeceğim bütün çalışanlarına,

Danışmanlıktan öte, insanlığı ile numune olan çok kıymetli Hocam Prof. Dr. Abdullah HACIHALNEFİOĞLU'na, Ana Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sadettin HÜLAGÜ'ye, tez çalışmamda emeği geçen Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden Yard. Doç. Dr. Aysin TULUNAY'a, asistanlık eğitimime katkıları olan tüm değerli Hocalarıma, yayın yapmada çok şeyler öğrendiğim ve halen katkıları devam eden Hocam ve Ağabeyim Doç. Dr. Erkan DERVİSOĞLU'na, hekimlik sanatı ve özverisini, yaşayışı ve nasihatları ile öğrendiğim Ağabeyim Doç. Dr. Ugur KORKMAZ'a,

Benimle birlikte çalışmış olan, zor zamanlarımda yardımları ile yetişen başta Dr. Erhan, Dr. Mürsel, Dr. Emrullah, Dr. Adnan, Dr. Burak, Dr. Fatih, Dr. Hayrunnisa, Dr. Fatma'ya ve bütün asistan arkadaşlarıma,

Elbette, katkıları yadsınmaz bir gerçek olan hastanemizin tüm sağlık personeli çalışanlarına,

Tez ile ilgili çalışmalarında destek olan Alexion İlaç Ltd. Sti. ve kıymetli çalışanı Gökhan TOROS Bey'e teşekkür ediyorum.

Ve hekimlik hayatımın ilk tohumunu atan, maddi ve manevi destekleri ile beni evladı gibi yetiştiren, eniştem, Prof. Dr. Ömer ANLAR'a saygularıyla teşekkür ediyorum.

Ve iki dünyanın tatlıları, yoldasları olan ve varlıkları ile huzur bulduğum babam ve annem, kardeşlerim, dayıciğim, teyzelerim, kayınvalidem, kayınpederim, başımı kalplerine dayadığım, varlıkları ile heyecan duyduğum biricik eşim ve oğullarım, sizleri çok seviyorum, sizlerle güçlü oluyorum.

Ve ismiyle isimlendiğim, asla ismine liyakat gösteremeyeceğim, şeref duyduğum, Peygamberim, Efendim Hz. Muhammed'e ve Arkadaşlarına ve Üstadlarıma selam olsun.

Ve tüm varlık ve güzelliklerin tek gerçek Sahibi olan Allahım, Sana, var ettiklerinin adedince hamd ve senalar olsun. Sözlerin özü, önü, sonu, içi, dışı Sana aittir. Seninle başladım; Seninle, rahmet ve şefkatle devam bulmak istiyorum. Senin huzurunda eğiliyorum. Beni doğruluktan, istikamet ve gayretten, ilim ve bilimden ayırma. Bizlere iki dünya saadeti ver, bizleri sevdiğilerinden eyle, beni ve sevdiğlerimi huzuruna al, huzurunla müşerref kıl.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	: Aplastik anemi
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ark.	: Arkadaşları
ASM	: Akım sitometri
ATG	: Antitimosit globülin
BT	: Bilgisayarlı tomografi
CLL/SLL	: Kronik Lenfositler Lösemi/Küçük lenfositik lenfoma
Cm	: Santimetre
CRP	: C reaktif protein
DAF	: Decay-accelerating factor
DLBCL	: Diffüz büyük B-hücreli lenfoma
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EBV	: Epstein-Barr virüs
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
FDA	: ABD İlaç ve Gıda Dairesi
FLAER	: Fluorescent aerolysin
GPI	: Glikozil-fosfatidilinozitol
HCT	: Hematokrit
HCV	: Hepatit C virüsü
HGB	: Hemoglobin
HL	: Hodgkin Lenfoma
HRF	: Homologous restriction factor
HSC	: Hematopoetik kök hücre
HTLV-1	: İnsan T-hücreli lösemi virüsü tip 1
KT	: Kemoterapisi
LDH	: Laktat dehidrogenaz
MALT	: Marjinal zon lenfoma
MDS	: Myelodisplastik sendrom
MIRL	: Membrane inhibitor of reactive lysis
NHL	: Non-Hodgkin Lenfoma
NK	: Natural Killer (Doğal öldürücü)

NO	:	Nitrik oksit
NOS	:	Not otherwise specified (başka türlü sınıflandırılmayan)
PET	:	Pozitron emisyon tomografisi
PIG-A	:	Phosphatidyl-inositol glycan class A
PLT	:	Trombosit
PNH	:	Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri
REAL	:	Yenilenmiş Avrupa-Amerika Lenfoma Sınıflaması
RT	:	Radyoterapi
SSS	:	Santral sinir sistemi
WBC	:	Beyaz küre



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No.
Önsöz.....	i
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	iii
İçindekiler Dizini.....	v
Şekiller Dizini.....	vii
Tablo Dizini.....	viii
Amaç ve Kapsam.....	1
Genel Bilgiler.....	3
2.1. Lenfoma.....	3
2.1.1. Etyoloji.....	6
2.1.2. Epidemiyoloji.....	7
2.1.3. Klinik Özellikleri.....	9
2.1.4. Tanı.....	10
2.1.5. Evreleme.....	10
2.1.6. Tedavi.....	11
2.2. Paroksizmal Noktürnal Hemoglobinüri.....	13
2.2.1. Patogenez.....	13
2.2.2. Epidemiyoloji.....	16
2.2.3. Prognoz.....	16
2.2.4. Klinik.....	16
2.2.5. Tanı.....	18
2.2.6. Tedavi.....	20
Gereç ve Yöntem.....	22
3.1. Hasta Seçimi.....	22
3.2. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı.....	22
3.3. Çalışma Dışı Bırakma Kriterleri.....	23
3.4. Yöntem.....	23
3.5. İstatistik.....	23
Bulgular.....	24
Tartışma.....	30
Sonuçlar ve Öneriler.....	34

Özet.....	35
Abstract.....	36
Kaynaklar.....	37



ŞEKİLLER

	Sayfa
	No.
Şekil 1. Yaş standardize edilmiş 100,000 kişide lenfoma ve multipl myelomdan ölüm oranları, DSÖ 2004.....	9
Şekil 2. Evrelemenin şematik gösterimi	11
Şekil 3. GPI Çıpası ve ona tutunan membran proteinleri	13
Şekil 4. Membran proteinlerinin kompleman aktivasyonundaki rolü	14
Şekil 5. Bir akım sitometri cihazı ve ünitesi	18
Şekil 6. Lenfoma subtiplerinin cinsiyete göre dağılım grafiği	25
Şekil 7. 1.Hastanın FLAER Eritrosit sonuçları.....	26
Şekil 8. 1.Hastanın FLAER Monosit Sonuçları.....	26
Şekil 9. 1.Hastanın FLAER Granülosit Sonuçları.....	27
Şekil 10. 2.Hastanın FLAER Eritrosit Sonuçları.....	27
Şekil 11. 2.Hastanın FLAER Monosit Sonuçları.....	28
Şekil 12. 2.Hastanın FLAER Granülosit Sonuçları.....	28

TABLolar

	Sayfa
	No.
Tablo 1. Lenfomalarda kullanılan bazı sınıflandırma sistemleri.....	3
Tablo 2. DSÖ 2004 Lenfoma Sınıflaması	5
Tablo 3. Türkiye Lenfoma Verileri	8
Tablo 4. Olguların yaş ortalaması	24
Tablo 5. Olguların cinsiyet oranları	24
Tablo 6. Lenfoma subtipleri ve sayıları	25
Tablo 7. PNH'lı hastaların tam kan sayımı ve bazı biyokimyasal değerleri.	29
Tablo 8. PNH pozitif hastalarda klon düzeyleri.....	29

1. AMAÇ VE KAPSAM

Lenfoma, lenfatik sistemdeki T ve B hücrelerinden kaynaklanan bir lenfoproliferatif malign hastalıklar grubudur (1). Lenfoma, gelişmiş ülkelerde hematolojik malignitelerin en sık görülen formudur. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD), lenfomalar tüm kanserlerin %5'ini ve hematolojik malignitelerin %55'ini oluşturmaktadır. (2). Geleneksel olarak iki alt gruba; Hodgkin Lenfoma (HL) ve non-Hodgkin Lenfoma (NHL) olarak ayrılmıştır. HL, birkaç tür lenfoma tipini içermekle beraber NHL, farklı davranış ve tedavi cevapları gösteren 60'tan fazla heterojen bir lenfoproliferatif malign hastalık grubunu içermektedir (3).

Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri (PNH) ise nadir görülen, her üç kan hücresi serisini de etkileyebilen, kazanılmış klonal bir hematopoetik kök hücre (HSC) hastalığıdır. Her iki cinste de eşit sıklıkta görülen PNH, 4. Dekatta pik yapmaktadır (4). ABD'de yapılan bir çalışmaya göre yıllık insidansının 1,3:1000000 ve prevalansın ise 15,9:1000000 olduğu belirtilmiştir (5). 5 yıllık mortalite oranı %35 olarak bildirilmektedir (6).

PNH'daki bozukluk, pig-A olarak adlandırılan ve X kromozomunun kısa kolunda lokalize olan Xp22.1 geninin somatik mutasyonudur. Bu mutasyonun neticesinde proteinlerin hücre zarına bağlanması bozulur ve hücre zarındaki bozukluk nedeniyle kronik, kontrolsüz bir kompleman aktivasyonu ve intravasküler hemoliz süreci başlar. Morbidite ve mortalite sitopeni, tombofili ve sekonder transformasyonlara bağlıdır. Hemolizi durduran hedefe yönelik ajan (eculizumab) tedavisiyle daha iyi bir yaşam standartı ve prognoz elde edilmiştir (7).

PNH'nin, diğer hematolojik hastalıklara eşlik edebileceği bildirilmiştir (8). Birçok PNH'lı hasta grubunda, daha öncesinde aplastik anemi (AA) veya myelodisplastik sendrom (MDS) tanıları bulunmaktadır. Ayrıca diğer hastalıklarla birlikte olabildiği gibi bazı hastalıklara (AA, lösemi gibi) progrese olmakta ya da dönüşebilmektedir (9).

Hematopoetik sistem organlarından olan kemik iliği ve ondan kaynaklanan hastalık gruplarıyla PNH veya PNH-benzeri bozukluğunun birlikteliği, çalışmalarda daha ön planda yer almıştır. Öte yandan hematopoetik sistemin bir diğer organı olan lenfatik sistemin ve onun hastalıklarından olan lenfoma ile PNH birlikteliğine ait birkaç olgu sunumları dışında çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle alışmamızda, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Hematoloji polikliniğine başvuran ve tetkiklerinde lenfoma olduğu anlaşılan hastalarda PNH klonu bakıldı. Amacımız, lenfomalı hastalarda, nadir görülen PNH klonunun varlığı ile sıklığını tespit etmek ve lenfoma ile benzer bulgu ve komplikasyonlara sahip olmaları nedeniyle, gerekirse PNH tedavisiyle, malign bir hastalık olan lenfomayı daha iyi kontrol edebilmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. LENFOMA

Lenfomalar, bağışıklık sistemi hücrelerinden lenfositler (T ve B hücresi) veya doğal öldürücü (NK) hücrelerden köken alan klonal tümoral oluşumlardır. Lenfomalar kaynaklandıkları hücrenin farklılaşma düzeyine göre değişik morfolojik, immünolojik ve klinik özellikler gösterirler.

Lenfoma, ilk defa 1832 yılında Thomas Hodgkin tarafından tanımlanmıştır (10). Lenfoma terimi, farklı biyoloji ve prognozlara sahip heterojen malign bir grubu ifade etmektedir. Heterojenite lenfomaların sınıflanmasına da yansımış ve günümüze kadar pek çok farklı sınıflama sisteminin doğmasına neden olmuştur (Tablo 1).

Rappaport (1956)
Lukes-Collins (1966)
Kiel (1974)
Dünya Sağlık Örgütü Sınıflaması (1976)
Working Formulation for Clinical Usage (1982)
REAL (Yenilenmiş Avrupa-Amerika Lenfoma Sınıflaması) (1994)
Dünya Sağlık Örgütü Sınıflaması (2001)
Dünya Sağlık Örgütü Sınıflaması (2008)

Tablo 1. Lenfomalarda kullanılan bazı sınıflandırma sistemleri

Yeni alt tipler buldukça sınıflandırmalar başlamış ve 1982 yılında ikinci bir kategori olarak non-Hodgkin lenfoma (NHL) 16 alt tipi ile birlikte eklenmiştir. Günümüzde ise en sık kullanılan sınıflama, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 2008 yılında güncellediği ve hematopoetik – lenfoid dokulatu tüm özelliklerini dikkate alarak sınıflandıran sistemdir. Lenfoma, 4-5 ana grup içerisinde 70 ayrı formu tanımlanmıştır (Tablo 2). B hücreli ve T/NK hücreli malign hastalıklar “prekürsör (öncül)” ve “olgun” olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Akut lenfoblastik lösemi,

prekürsör B ve T lenfoma grubuna eklenmiştir. DSÖ sınıflaması, içerdiği birçok alt grup ile oldukça karmaşık bir sınıflama sistemidir; bu haliyle klinikte kullanımı güçtür. Doalysıyla özellikle Hodgkin dışı lenfomalar günlük pratikte klinik özellikleri ve tedavi yaklaşımlarına göre “indolen (yavaş seyirli)” ve “agresif/çok agresif (hızlı seyirli)” olmak üzere iki gruba ayrılarak takip edilmektedir.



DSÖ Matür B, T ve NK Hücre Neoplazm Sınıflaması		
<p>Matür B-Hücre Neoplazmları</p> <ul style="list-style-type: none"> -Kronik Lenfositör Lösemi/Küçük lenfositik lenfoma (CLL/SLL) -B-hücreli prolenfositik lösemi -Splenik marjinal zon lenfoma - Hairy cell lösemi - Splenik lenfoma/lösemi, sınıflandırılmayan <ul style="list-style-type: none"> -Splenik diffüz kırmızı pulp küçük B-hücreli lenfoma -Hairy cell lösemi varyantı - Lenfoplazmositik lenfoma <ul style="list-style-type: none"> -Waldenström makroglobulinemi - Ağır Zincir Hastalıkları <ul style="list-style-type: none"> -α Ağır zincir hastalığı -γ Ağır zincir hastalığı -μ Ağır zincir hastalığı - Plazma hücreli myelom - Kemiğin Soliter plazmositomu - Ekstraosseöz plazmositom - Mukoza ilişkili lenfoid dokuda ektranodal marjinal zon lenfoma (MALT lenfoma) - Nodal marjinal zon lenfoma <ul style="list-style-type: none"> -Pediatrik nodal marjinal zon lenfoma - Foliküler lenfoma <ul style="list-style-type: none"> -Pediatrik foliküler lenfoma - Primer kutanöz folikül merkezi lenfoma - Mantle hücreli lenfoma -Diffüz büyük B-hücreli lenfoma (DLBCL), NOS* <ul style="list-style-type: none"> -T-hücreli/histiyositik zengin büyük B-hücreli lenfoma -Santral Sinir Sisteminin Primer DLBCL -Primer kutanöz DLBCL, bacak tipi -Yaşlılığın EBV-pozitif DLBCL - DLBCL ilişkili kronik inflamasyon - Lenfomatoid granülopatosis - Primer mediastinal (timik) büyük B-hücreli lenfoma - İntravasküler büyük B-hücreli lenfoma - ALK-pozitif büyük B-hücreli lenfoma - Plazmoblastik lenfoma - HHV8-ilişkili multisentrik Castleman hastalığından çıkan büyük B-hücreli lenfoma - Primer effüzyon lenfoma - Burkitt lenfoma - B-hücreli lenfoma, sınıflandırılmayan, DLBCL ile Burkitt Lenfoma arası özellik gösteren - B-hücreli lenfoma, sınıflandırılmayan, DLBCL ile klasik Hodgkin Lenfoma arası özellik gösteren 	<p>Matür T ve NK Hücreleri Neoplazmları</p> <ul style="list-style-type: none"> - T-hücreli prolenfositik lösemi - T-hücreli büyük granüler lenfositik lösemi - NK hücrelerinin kronik lenfoproliferatif hastalığı - Agresif NK-hücreli lösemi - Çocukluk çağının sistemik EBV-pozitif T-hücreli lenfoproliferatif hastalığı - Hydroa vacciniiforme-benzeri lenfoma - Erişkin T-hücreli lösemi/lenfoma - Ektranodal NK/T-hücreli lenfoma, nazal tip - Enteropati-ilişkili T-hücreli lenfoma - Hepatosplenik T-hücreli lenfoma - Subkutanöz pannikülit-benzeri T-hücreli lenfoma - Mikozis fungoides - Sezary sendromu - Primer kutanöz CD30+ T-hücreli lenfoproliferatif hastalıklar <ul style="list-style-type: none"> -Lenfomatoid papülozis -Primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma - Primer kutanöz γδ T-hücreli lenfoma - Primer kutanöz CD8+ agresif epidermotropik sitotoksik T-hücreli lenfoma - Primer kutanöz CD4+ küçük/orta T-hücreli lenfoma - Periferik T-hücreli lenfoma, NOS - Anjiyoimmunoblastik T-hücreli lenfoma - Anaplastik büyük hücreli lenfoma, ALK pozitif - Anaplastik büyük hücreli lenfoma, ALK negatif 	<p>Hodgkin Lenfoma</p> <ul style="list-style-type: none"> - Nodüler lenfosit predominant HL - Klasik HL - Noduler sklerozan klasik HL - Lenfositin-zengin klasik HL - Karışık hücreli klasik HL - Lenfositin fakir klasik HL <p>Histiyositik ve Dendritik Hücreli Neoplazmlar</p> <ul style="list-style-type: none"> - Histiyositik sarkom - Langerhans hücreli histiyositozis - Langerhans hücreli sarkom - Interdigitating dendritik hücreli sarkom - Foliküler dendritik hücreli sarkom - Fibroblastik retiküler hücreli tümör - Intermediate dendritik hücreli tümör - Dissemine juvenil ksantogranüloma <p>Posttransplantasyon Lenfoproliferatif Hastalıklar (PTLDs)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Erken lezyonlar <ul style="list-style-type: none"> - Plazmasitik hiperplazi - İnfeksiyöz mononükleoz-benzeri PTLD - Polimorfik PTLD - Monomorfik PTLD (B- ve T/NK-hücreli tipler) - Klasik Hodgkin Lenfoma tipi PTLD

Tablo 2. DSÖ 2004 Lenfoma Sınıflaması (11)

* NOS: Başka türlü sınıflandırılmayan

2.1.1. Etyoloji

Genel olarak ele alındığında çeşitli enfeksiyonların, immun yetersizlik ve/veya otoimmün hastalık durumlarının, kronik inflamasyon, ailevi zemin, çevresel etkenler ve kromozomal anomalilerin lenfoma gelişmesinde etkili olduğuna dair bulgular mevcuttur (12).

Kromozomal translokasyonlar ve moleküler değişiklikler, birçok lenfoma tipinin patogenezinde önemli rol oynamakta, histolojisi ve immunofenotipiyle korelasyon göstermektedir. t(14;18)(q32;q21) translokasyonu NHL ile ilişkili en sık görülen kromozomal anomalidir (13). Bu translokasyon foliküler lenfomada %85 oranında görülür ve yüksek dereceli NHL'ların %28'inde izlenir (14). Diğer translokasyon ve görülen lenfoma tiplerine örnek verilecek olursa; t(11;14)(q13;q32) translokasyonu mantle hücreli lenfomada, 8q24 translokasyonu Burkitt lenfomada, t(2;5)(p23;q35) translokasyonu anaplastik büyük hücreli lenfomada görülür.

Enfeksiyonlar, NHL'nın patogenezinde yer almaktadır. Bazı virüs enfeksiyonları, kronik antijenik uyarıya ve sitokin disregülasyonuna, bu süreç de kontrol dışı B veya T hücre stimülasyonu, proliferasyonu ve lenfomagenezisine neden olmaktadır (15). Örnek olarak Epstein-Barr virüs (EBV) Burkitt lenfoma, Hodgkin lenfoma ve sinonazal lenfomaya neden olmaktadır. İnsan T-hücreli lösemi virüsü tip 1 (HTLV-1), yetişkin T-hücreli lösemi veya lenfomaya neden olmakta, Hepatit C virüsü (HCV), lenfoplazmositik lenfomaya neden olmaktadır. Bazı bakteri türleri de NHL ile ilişkili bulunmuştur. Helicobacter pylori enfeksiyonu en iyi bilinen örneklerden olup, gastrik MALT-lenfomaya neden olabilmektedir (16).

Çevresel faktörlerden bazı organik kimyasallar, pestisidler (17), solventler, kemoterapi ve radyasyon maruziyeti gibi etkenlerle lenfoma geliştiği bilinmektedir.

Doğumsal immün yetmezliklerde (şiddetli kombine immün yetmezlik hastalığı, Wiskott-Aldrich sendromu gibi) (18), edinsel yetmezliklerde (AIDS gibi) ve indüklenmiş immün yetmezliklerde (immunosüpresif tedaviler gibi), NHL görülebilmektedir. AIDS'te primer santral sinir sistemi (SSS) lenfomaları %6 oranında izlenir. Yine çölyak hastalığında lenfoma yönünden artmış risk bildirilmiştir (19-20).

Otoimmün hastalıklarda (Sjögren sendromu, Hashimoto tiroiditi gibi) olan kronik inflamasyon neticesinde ekstrasnodal lenfomalar görülebilmektedir (21).

2.1.2. Epidemiyoloji

Lenfomalar, Amerikan Kanser Topluluğu'na göre en yüksek prevalansa sahip hematopoetik neoplazmdir ve yaklaşık tüm kanser tanılarının %4'ünü içermektedir (22).

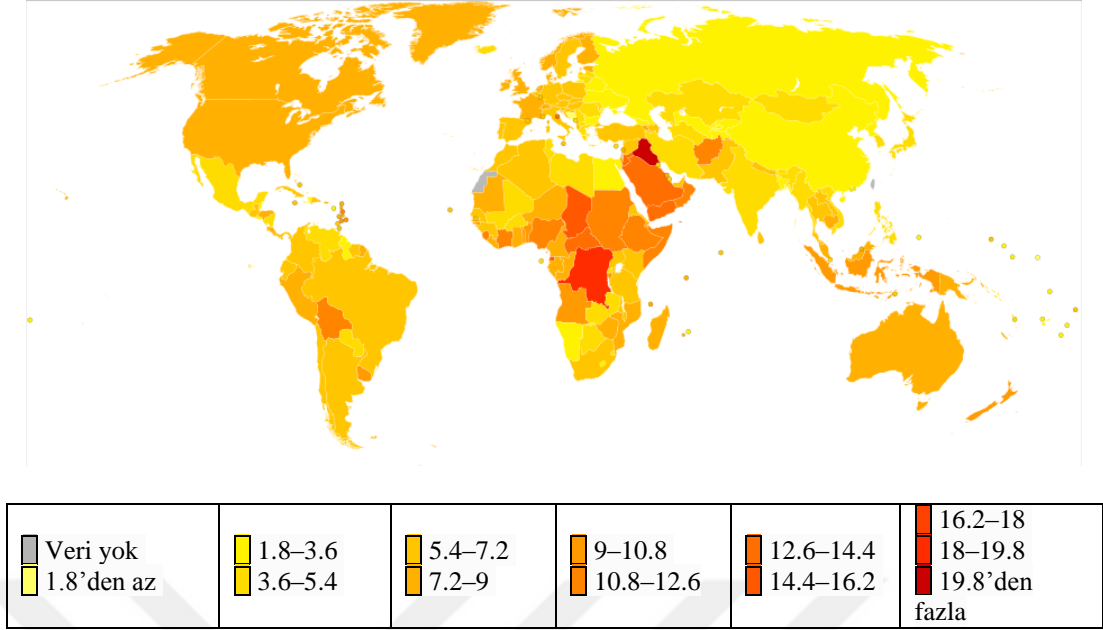
Coğrafi bölgelere ve etyolojik etkenlere göre dağılım farklılıkları göstermesine rağmen kabaca bakıldığında tüm lenfomaların yaklaşık %75'ini NHL, %25'ini HL oluşturmaktadır (23). Türkiye için bu oran yaklaşık %80'e %20 olarak bulunmuştur. Türkiye Sağlık Bakanlığı 2008 verilerine göre NHL erkeklerde 7. Kadınlarda ise 8. en sık görülen kanserdir (24). Dünyada en sık görülen NHL subtipi diffüz büyük B hücreli lenfomadır (25). Türkiye lenfoma verileri tabloda sunulmuştur (Tablo 3) (24).

Lenfoma Subtipi	%
Diffüz büyük B hücreli	30,1
KLL/SLL	10,4
Foliküler	5,6
Mantle Hücreli	3,2
Burkitt	3,1
Plazma hücreli neoplaziler	3,0
MALT Lenfoma	2,9
Anaplastik büyük hücreli	2,9
T lenfoblastik lenfoma	2,3
Mikozis fungoides	1,2
Hodgkin lenfoma	20,9
Kısaltmalar: KLL, kronik lenfosittik lösemi, MALT, mukoza ilişkili lenfoid doku; SLL, küçük lenfositik lenfoma	

Tablo 3. Türkiye Lenfoma Verileri (24)

Lenfomaların %25'ini oluşturan Hodgkin lenfoma, iki tepeli bir dağılım gösterir, 10 yaşından sonra sıklığı giderek artar ve 20'li yaşlarda bir zirve yapar, 45 yaşından sonra ise ikinci bir zirve görülür. Hodgkin lenfoma sosyoekonomik durumu iyi olan bireylerde daha sık izlenmektedir (26).

Hodgkin lenfomada beklenen 5 yıllık genel sağ kalım oranları % 85 civarında iken bu oran NHL'da % 65'tir (Şekil 1). Ancak gerek HL gerekse NHL'da sağ kalım oranlarının hastalığın evresi ve histolojik subtip de dahil olmak üzere birçok prognostik ölçüte göre değişkenlik gösterdiği unutulmamalıdır. Bunlardan bazıları tümör histolojisi, tümör evresi, hasta yaşı, tümör yükü, performans statüsü, serum laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyi, beta2-mikroglobulin düzeyi ve ektranodal hastalık varlığı gibi parametrelerdir.



Şekil 1. Yaş standardize edilmiş 100,000 kişide lenfoma ve multipl myelomdan ölüm oranları, DSÖ 2004.

2.1.3. Klinik Özellikleri

NHL'lı hastaların klinik belirtileri, hastalığın tutulum bölgesine, tümör büyüme hızına ve tutulum gösterdiği organ ya da organların fonksiyon kayıplarına göre değişmektedir.

Ağrısız, yavaş büyüyen ve spontan gerileyebilen lenf nodu, başlangıç evrede sık görülmeyen ve hastalık ilerledikçe ortaya çıkan B semptomları (vücut ateşi $>38^{\circ}\text{C}$, gece terlemesi, 6 ayda $>10\%$ kilo kaybı), kemik iliği tutulumuna bağlı yorgunluk, güçsüzlük görülebilir. İlerlemiş veya yüksek dereceli NHL'larda ektranodal tutulumlara bağlı semptom veya bulgular izlenebilir.

Fizik muayenede özellikle periferik lenf nodlarının muayenesi, karaciğer ve dalak muayeneleri önemli ilk yaklaşımdır. Diğer sistem muayeneleri ile NHL'nin primer odağı tespit edilebilir.

HL'da ise, olguların hemen hepsinde sıklıkla supradiyafragmatik yerleşimli ağrısız ve lastik kıvamında büyümüş lenf bezleri ile ortaya çıkar. Ateş, gece terlemesi,

kilo kaybı, halsizlik, yorgunluk, kaşıntı görülebilir. Olguların yarısından fazlasında mediasten tutulmuştur. Dolayısıyla solunum sistemi belirtileri de izlenebilir. HL'da ektranodal tutulum oldukça nadirdir.

2.1.4. Tanı

Lenfomanın herşeyden önce bir doku tanısı olduğu unutulmamalıdır. Sadece öykü, fizik muayene, laboratuvar veya görüntüleme bulguları ile lenfoma tanısı koymak mümkün değildir. Her hastada tercihan inguinal bölge dışındaki bir tutulum alanından fizik muayene veya görüntüleme ile saptanan en az 1 cm çapında bir lenf bezi uygun koşullarda eksizyonel biyopsi ile çıkarılarak histolojik olarak incelenmelidir. Lenfoma tanısında insizyonel biyopsi veya ince iğne aspirasyon biyopsileri tanıda yetersiz kalmaktadır.

Öykü alınmasını ve fizik muayeneyi takiben tam kan sayımı, böbrek ve karaciğer fonksiyon testleri, albümin, globülin, LDH, ürik asit, beta 2-mikroglobulin, CRP ve eritrosit sedimantasyon hızına bakılmalıdır.

Lenfoma tanısı ve evrelemesi için önemli bir tetkik de kemik iliği biyopsisidir.

Başlangıç evrelemesi için yakın zamanda kadar en çok kullanılan görüntüleme yöntemi bilgisayarlı tomografi (BT) iken, pozitron emisyon tomografisi (PET) ile BT'yi birleştiren PET-BT'nin BT'den daha etkili olduğu bildirilmiştir (27). Bu nedenle birçok merkez tanı esnasındaki evrelemede BT yerine PET-BT'yi tercih eder hale gelmiştir.

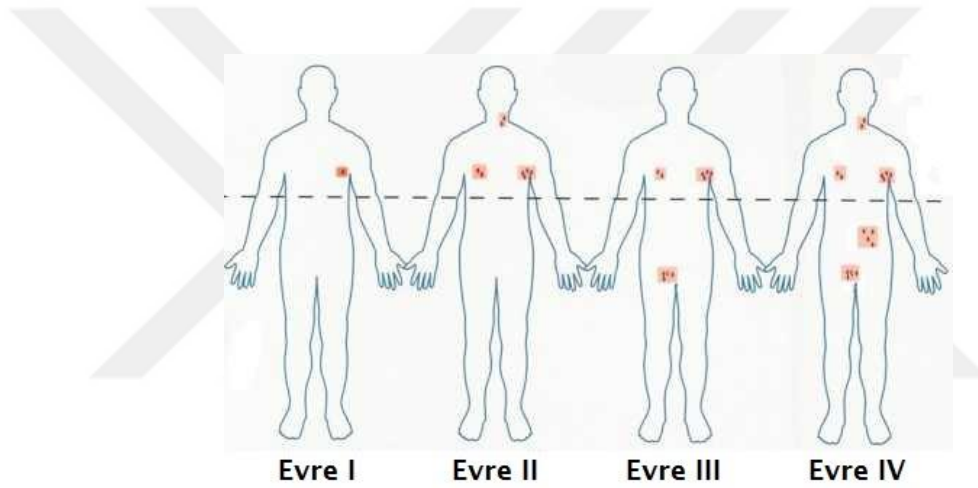
2.1.5. Evreleme

Evreleme, tüm lenfomalar için tedavide ve izlemde büyük öneme sahip bir işlemdir. Lenfoma evrelemesi günümüzde Ann-Arbor evreleme ölçütleri ve Cotswold modifikasyonu ile yapılmaktadır (28-29). Bu evreleme sistemi tutulum yeri ve sayısı ile sistemik belirtilerin olup olmamasına göre hastalığın yaygınlık derecesini erken

evre (evre I-II) ve ileri evre (evre III-IV) şeklinde belirlir. B semptomları olan ileri evrede, büyük lenfoid kütle (bulky hastalık) ile başvuran ve ektranodal tutulum gösteren olgularda sağ kalım oranlarının diğerlerine göre daha düşük olduğu gösterilmiştir.

Ann-Arbor sınıflamasıdır (Şekil 2). Buna göre evreleme şöyle yapılmaktadır:

- Evre I : Tek lenf nodu alanı veya tek ektranodal bölge
- Evre II : Aynı diyafram alanında (alt veya üst) iki veya daha fazla lenf nodu bölgesi
- Evre III : Her iki diyafram alanında lenf nodu bölgeleri
- Evre IV : Ektranodal organların dissemine veya multipl tutulumu



Şekil 2. Evrelemenin şematik gösterimi.

2.1.6. Tedavi

NHL tedavisi, hastalığın tipi ve derecesi gibi birkaç faktöre göre değişebilmektedir. Kemoterapi, en sık yapılan tedavi şeklidir. Genellikle kombine kemoterapi tedavisi verilir. Kemoterapide sitotoksik ajanlar, monoklonal antikorlar, mTOR kinaz inhibitörleri, proteazom inhibitörleri, immunomodulatörler ve kortikosteroidler kullanılmaktadır.

NHL'da cerrahinin yeri sınırlı olmakla birlikte bazı lenfoma tiplerinde (gastrointestinal lenfomalar gibi) kür sağlayabilir. Lokalize hastalıklarda ve

komplifikasyon (perforasyon, kanama gibi) riski taşıyan tümörlerde cerrahi yapılabilmektedir.

Relaps yapan yüksek riskli NHL'larda kemik iliği transplantasyonu yapılmaktadır.

Yine radyoterapi lokalize hastalıklarda tek başına kür şansı verdiği gibi komplifikasyon tedavilerinde ve palyasyon tedavisinde kullanılabilir.

HL tedavisinde ise radyoterapi (RT), indüksiyon kemoterapisi (KT), salvage kemoterapi ve hematopoetik kök hücre nakli bulunmaktadır. Radyoterapide en sık yaklaşım tüm klinik tutulum gösteren alanların tedavisi şeklindedir. Bazen 5 santimetre (cm)'den küçük lokalize nodlar için RT uygulanabilmektedir. HL için değişik başlangıç KT rejimleri bulunmaktadır. Bunlar:

- MOPP (mekloreタミン, vinkristin, prokarbazin, prednizon)
- ABVD (adriamisin (doksorubisin), bleomisin, vinblastin, dakarbazin)
- Stanford V (doksorubisin, vinblastin, mustard, bleomisin, vinkristin, etoposid, prednizon)
- BEACOPP (bleomisin, etoposid, doksorubisin, siklofosfamid, vinkristin, prokarbazin, prednizon)

İndüksiyon KT'nden fayda görülmediği ya da relaps olduğu durumlarda salvage KT verilmektedir:

- ICE (ifosfamid, karboplatin, etoposid)
- DHAP (sisplatin, sitarabin, prednizon)
- ESHAP (etoposid, metilprednizolon, sitarabin, sisplatin)

Hematopoetik kök hücre nakli için önerilen rejim ise BEAM (karmustin (BCNU), etoposid, sitarabin, melfelan)'dır (30-31).

2.2. PAROKSİSİMAL NOKTÜRNAL HEMOGLOBİNÜRİ

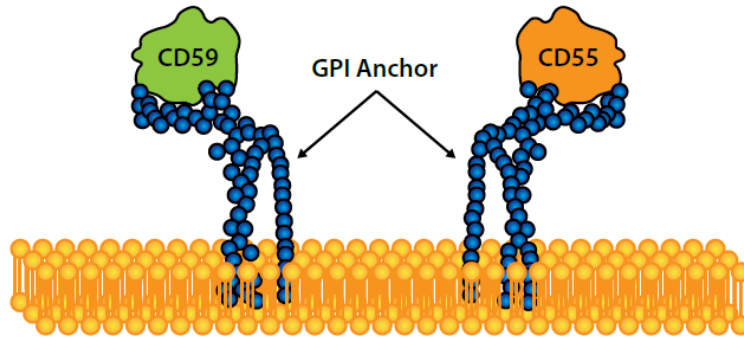
Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri (PNH), kompleman aracılı hemoliz ile sonuçlanan kazanılmış klonal bir hematopoetik kök hücre hastalığıdır (32). Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri, hastalığın klinik bulgularından biri olan sabahları koyu idrar yapma nedeniyle tanımlanmış olan bir terimdir.

Yapılan gözlemlerle hemolizin, gün içinde de olduğu, hatta paroksizmal olmadığı fakat gece boyunca idrarın konsantre olması nedeniyle tipik koyu idrar geliştiği sonradan anlaşılmıştır.

2.2.1. Patogenez

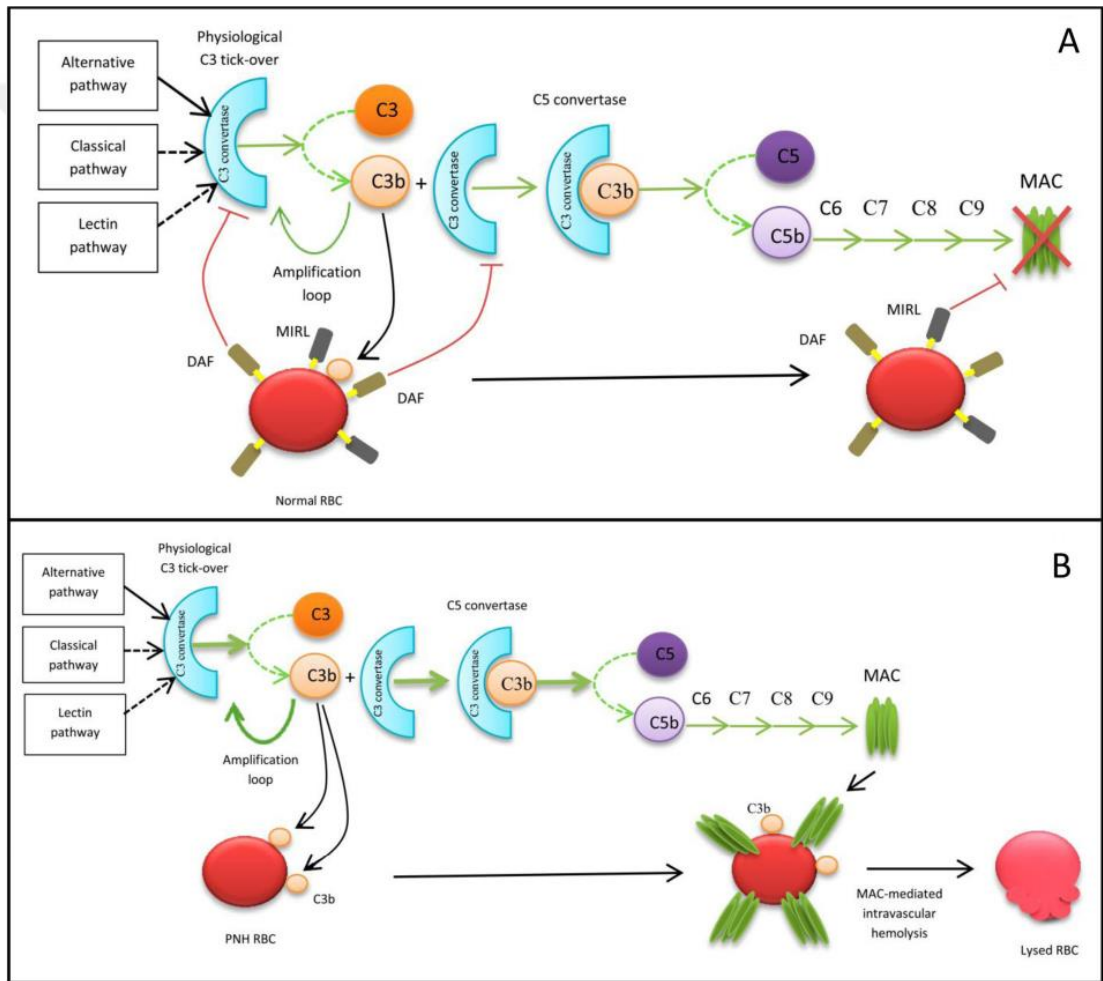
PNH ile ilgili çalışma ve gözlemlerin neticesinde patolojinin yalnızca eritrositlerde olmadığı, diğer kemik iliği serilerini de etkilediği ve hastalığın hematopoetik kök hücre hastalığı olduğu gözlemlenmiştir. (33).

PNH'daki en belirgin biyokimyasal defekt, genetik mutasyon sonucu gelişen ve hücre yüzeyine bazı proteinlerin bağlanmasını sağlayan glikozil-fosfatidilinozitol (GPI) çıpasının sentezindeki yetersizliktir (34) (Şekil 3). Bu bozukluktan sorumlu gen ise X kromozumunda bulunan ve nokta mutasyonların geliştiği phosphatidyl-inositol glycan class A (PIG-A) genidir (35).



Şekil 3. GPI Çıpası ve ona tutunan membran proteinleri.

Hematopoetik hücrelerde eksikliği izlenen temel membran proteinleri, üç ayrı kompleman düzenleyici yüzey proteinleridir ve bunlar; CD55 veya DAF (decay-accelerating factor) (36), C8 bağlayıcı protein veya HRF (homologous restriction factor) ile CD59 veya MIRL (membrane inhibitor of reactive lysis) (37) diye adlandırılan proteinlerdir. Bu proteinler, kandaki komplemanlarla özellikle de C3b ve C4b ile etkileşim gösterirler ve buldukları hücreye karşı kompleman aktivasyonunu durdururlar. Eritrositlerin kompleman aracılı intravasküler yıkımı, bu membran düzenleyici proteinlerinin değişik derecelerde yokluğuna bağlı gelişmektedir (Şekil 4).



Resim 4. Membran proteinlerinin kompleman aktivasyonundaki rolü.

Eritrositlerin yıkımı sonucunda dolaşıma hemoglobin salınımı gerçekleşir. Haptoglobulin, dolaşımdaki hemoglobinleri bağlar. Fakat hemoglobin klirensini aşan,

fazla eritrosit yıkımı nedeniyle dolaşımda halen yüksek miktarda hemoglobin bulunur. Serbest hemoglobin, dolaşımda bulunan nitrik oksiti (NO) geri dönüşümsüz olarak bağlamaktadır ve periferik dolaşımdaki NO düzeylerini düşürmektedir (38). NO, düz kas tonus regülatörüdür ve düşük düzeydeki NO, düz kasların kontraksiyonuna neden olmaktadır. Vazokonstrüksiyon, barsak konstrüksiyonu ve pulmoner hipertansiyon bu mekanizma sonucunda gelişmektedir. Karın ağrısı, şişkinlik, sırt ağrısı, baş ağrısı, özefageal spazm, erektil disfonksiyon ve yorgunluk semptomları, serbest hemoglobinin neden olduğu NO düzeyinin düşüklüğüne bağlıdır.

Progresif kronik böbrek yetmezliği, hemoglobinürinin başlamasından birkaç yıl sonra, heme ve demirin etkileriyle akut tübüler nekroz (pigment nefropatisi), renal ven trombozu nedeniyle azalmış renal perfüzyon ve pigment artıkları nedeniyle de tübüler obstrüksiyonu sonucunda gelişmektedir (39).

PNH hastalarında çoğu venöz olan büyük damarlarda yüksek insidanda (%40) trombotik olaylar izlenmektedir. Trombofilinin patofizyolojisi tam anlaşılamamıştır fakat hemolitik episodlar sırasındaki tromboz insidansının da artışı, trombotik olayların hemolitik sürece bağlı olduğunu düşündürmektedir (40).

PNH'lı tüm hastalarda, periferik kan sayımı normal ve kemik iliği hiperselüler olsa bile kemik iliği yetmezliği görülmektedir. Kemik iliği yetmezliğinin derecesi şiddetli aplastik anemiye oranla değişkenlik göstermektedir ve hematopoetik kök hücre (HSC) sayısının azaldığına dair kanıtlar bulunmaktadır. Bu HSC düşüklüğü muhtemelen kompleman aracılı yıkımla alakalı görünmekle beraber nedenler tam anlaşılamamıştır.

PNH'lı hastaların %10-20'si aplastik anemiye dönüşebilmektedir ve aplastik anemili hastaların da %5'i PNH'ya transforme olabilmektedir (41-42). Bu iki hastalığın arasındaki patolojik ilişki halen bilinmemektedir.

2.2.2. Epidemiyoloji

Her iki cinste de eşit sıklıkta görülen PNH, 4. Dekatta pik yapmaktadır (4). Erkek ve kadın aynı sıklıkta etkilenmektedir ve ailevi bir yatkınlık bulunmamaktadır. Hastalığın insidansı konusunda net bir bilgi bulunmamaktadır. ABD’de yapılan bir çalışmaya göre yıllık insidansının 1,3:1000000 ve prevalansın ise 15,9:1000000 olduğu belirtilmiştir. (5). Yine aplastik anemiye göre 5-10 kat daha az izlendiği bildirilmiştir. Güneydoğu ve Uzak Doğu Asya’da daha sık izlendiği görülmüştür. Aplastik anemi (AA) olgularında daha tanı sırasında düşük de olsa PNH konu tespit edilebilmektedir. İmmünespresif tedavi görenlerde takip sırasında bu PNH klonu artabilmekte ve aşikâr PNH klinik bulguları gelişebilmektedir. Yine yapılan araştırmalar PNH klonu tespit edilen AA olgularında immünespresif tedavi başarısının daha yüksek olduğunu da ortaya koymuştur. Bu nedenle AA olgularında tanı sırasında PNH klonu araştırılması önemlidir.

2.2.3. Prognoz

PNH’da ortalama sağkalım 10,3 yıldır. Morbidite, hemolizin değişik komplikasyonlarına, kemik iliği yetmezliğine ve trombofilinin şiddetine bağlıdır. Birkaç büyük çalışmada ölümün ana nedeni venöz tromboz olduğu belirtilmiştir. 5 yıllık mortalite oranı %35 olarak bildirilmektedir (43). Bununla birlikte spontan uzun dönem remisyon veya lösemik transformasyon da literatürde bildirilmiştir.

2.2.4. Klinik

PNH, klinik bulgulara göre üç sınıfa ayrılmıştır:

1. Klasik PNH
2. Diğer kemik iliğini hastalıklarına eşlik eden/bulunan PNH (örn. PNH/aplastik anemi veya PNH/refrakter anemi-myelodisplastik sendrom(MDS))
3. Subklinik PNH (PNH-sc)

PNH, GPI protein varlığına göre üç tipe ayrılmıştır:

1. PNH Tip I Hücreler, normal
2. PNH Tip II Hücreler, parsiyel yokluk
3. PNH Tip III Hücreler, tam yokluk

PNH'daki hemolitik anemi, kendini en sık olarak hemoglobinüriye bağlı olarak koyu idrar yapma ile gösterir. İdrar sedimentinde hemosiderin sıklıkla tespit edilir. Hepatosplenomegali yokluğunda, artmış retikülosit ve LDH düzeyi ile düşük haptoglobulin, intravasküler hemolizin temel bulgularıdır. Kemik iliği genellikle eritroiddir ve üriner olarak demir kaybının süresine bağlı olarak da demir depoları azalmış veya tükenmiştir.

Fizik muayenede sıklıkla, solukluk, yüksek ateş ve kanamaya ait bulgular olan cilt ekimozları görülebilir. Diğer bulgular şunlar olabilir:

- Budd-Chiari sendromuna bağlı olarak hepatomegali ve assit
- Splenomegali, splenik ven trombozunda
- Barsak seslerinin yokluğu, barsak nekrozunda
- Papilödem, serebral ven trombozunda
- Ağrı ve kızamık cilt nodülleri, dermal ven trombozunda

Semptomlar, epizodik, ani ve anlamlı olarak artan intravasküler hemoliz ile orantılıdır. Bu epizotlar spontan görülebilmekle birlikte enfeksiyonlar, ilaçlar veya travma ile agra ve olabilmektedir.

PNH'nın ayırıcı tanısında şu hastalıklar bulunmaktadır:

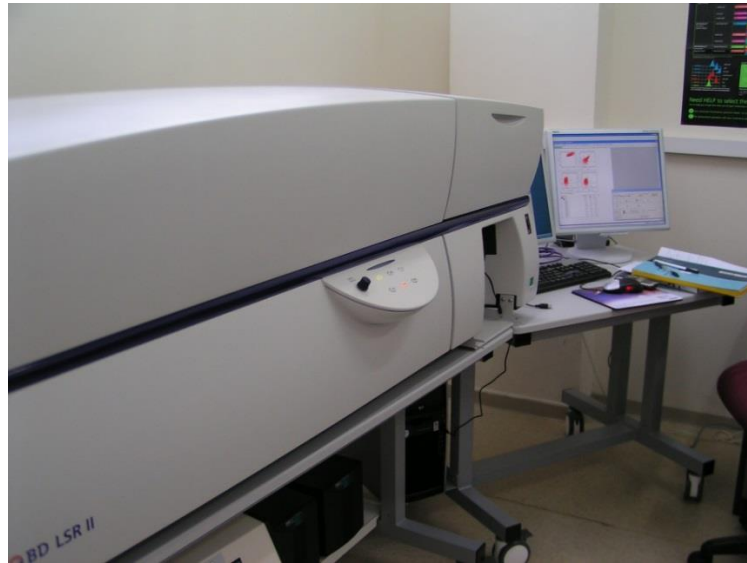
- Paroksizmal soğuk hemoglobinüri
- Hemolitik anemi
- Mezenterik arter iskemisi

- Mezenterik arter trombozu
- Portal ven obstrüksiyonu
- Renal ven trombozu

2.2.5. Tanı

Akım sitometrisinin (ASM, flow sitometri) yaygın kullanımı ile birlikte PNH eritrositlerinde GPI'a bağlı bulunan CD55 ve CD59'in eksikliği gösterilebilmiştir. Bu anomali periferik kanda granülosit ve lenfositlerde de aynı teknikle ortaya konabilmektedir (4).

ASM, hücre veya partiküllerin akmakta olan bir akışkanın içindeyken karakteristiklerinin ölçülmesidir. ASM ile bir süspansiyon halindeki hücre ya da partiküller, lazer ışığı ile aydınlatılmakta olan bir bölmeden geçirilir; hücrelerin ışığın önünden geçerken verdikleri sinyaller toplanarak analiz edilir (Şekil 5). Oluşan sinyallerin kaynağı, hücrenin büyüklük, granülarite gibi fiziksel özellikleri olabildiği gibi; hücreye bağlanan çeşitli fluorokromlar da olabilir. Böylece hücre ya da partikülün immunfenotipi, DNA içeriği, enzim aktiviteleri, hücre membran potansiyeli, canlılığı gibi çeşitli özellikleri hakkında bilgi toplanabilir.



Şekil 5. Bir akım sitometri cihazı ve ünitesi.

ASM'nin çalışma prensibi; her bir hücre veya partikül lazer demetinin içinden geçerken saptırılan lazer ışığı ve hücreler tarafından yayınlanan fluoresen ışığı bir araya getirilip, optik filtreler ve aynalar tarafından farklı dalga boylarına göre ayrılarak, analog sinyallere dönüştürülürler. Bu sinyaller dijitalleştirilerek, histogramlar olarak ekrana aktarılır. Histogram, ölçülen parametrelerin frekans dağılımlarının görsel sunumudur. Her bir hücre lazer ışığının bir kısmını saptırır ve aynı zamanda lazer tarafından uyarıldıklarından yani ekstra enerji yüklenmiş olduğundan, fluoresen ışığı yayarlar.

ASM aynı zamanda hücreler arası serbest kalsiyum, zar potansiyeli, pH veya serbest yağ asitlerindeki hızlı değişiklikleri de izleyebilir.

Fluorescent aerolysin ile yapılan ASM (FLAER), PNH için daha kesin sonuçlar veren bir yaklaşımdır (44). Bu tetkik aynı zamanda tüm hematopoetik hücre serilerinde klonları tek metod ile ölçüm sağlamaktadır. PNH için en spesifik tanı yöntemidir.

FLAER ile granüositlerdeki defekt daha erken (hemolizden de önce) ortaya konabilir. FLAER ile GPI çıpası yardımıyla membrana bağlanan proteinlerdeki kusurun ortaya konulması PNH tanısı için altın standart yöntemdir. Eritrositlerin artmış kompleman hassasiyetini ölçen ve uzun yıllar PNH tanısı için kullanılan asit hemoliz ve sükröz lizis gibi yöntemlerin tanı değeri düşüktür. Bu nedenle günümüzde PNH tanısı için kullanılmalarına gerek yoktur (45).

PNH tanısı için CD55 ve CD59 ekspresyon kusurunda belirli bir eşik değeri tanımlanmamıştır. Ancak nötrofillerde %10 un altında bir PNH klonu durumunda belirgin hemoliz gözlenmez.

Hematopoezin değerlendirilebilmesi için tam kan sayımı ve kemik iliği biyopsisi yapılmalıdır.

PNH komplikasyonları, özellikle venöz trombozları değerlendirmek üzere manyetik rezonans (MR) görüntüleme ve sintigrafi gibi yaklaşımlar bulunmaktadır. Yine tanı ve tedavide klasik anjiyografi yerini korumaktadır.

PNH tanısında PIG-A gen mutasyon analizi sınırlı kullanılmaktadır ve PNH için tanısal değildir.

2.2.6. Tedavi

PNH'da ideal tedavi yöntemi kök hücre naklidir. Fakat, kök hücre naklinde histokompatibl bir donör gerektiğinden, yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahip bir tedavi olduğundan realistik değildir. Bu tarz yaklaşım, sadece aplastik anemi ile seyreden şiddetli PNH vakalarında veya lösemik transformasyon gösterenlerde önerilmektedir.

2007 yılında CD5 kompleman proteinini hedef alan bir anti-kompleman antikoru olan eculizumab ABD İlaç ve Gıda Dairesi (FDA)'den PNH için onay aldı. Bu tedavi formu ile PNH'ya ait hemoliz ilişkili sekellerin azaldığı, semptomlarda dramatik bir şekilde iyileşmenin izlendiği, hayat kalitesinin arttığı ve PNH komplikasyonlarının elimine edildiği gösterildi (36). Bununla birlikte eculizumab, altta yatan patolojiyi düzeltmediği için tedavinin ömür boyu veya spontan remisyon olana kadar kullanımı gerekmektedir.

Uluslararası çok merkezli bir çalışmada toplam 195 hastada eculizumab tedavisi ile tromboembolik komplikasyonların %85 oranında düştüğü gösterilmiştir.

İngiltere'de yapılan bir çalışma ile eculizumab tedavis öncesi 5 yıllık sağkalım %66,8'den %95,5'e yükseldiği gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada, trombotik komplikasyonlar eculizumab öncesinde 5,6/100 hasta-yıl iken, eculizumab ile birlikte bu sıklık 0,8/100 hasta-yıl'a gerilemiştir.

Renal fonksiyonlarda da eculizumab ile anlamlı iyi sonuçlar elde edilmiştir.

PNH seyirinde demir eksikliği de izlendiği için demir replasman tedavisi verilmelidir. Transferrin saturasyonunun %20'nin altında olduğu durumlarda replasmana başlanması önerilmektedir. Eritrosit transfüzyonu gereken durumlarda verilebilir. Yıkanmış eritrosit şart olmamakla birlikte, ışınlanmış eritrosit ürünlerinin verilmesi ileride gerekebilecek kök hücre nakli için akılcı olacaktır.

Glukokortikoidler, kompleman sisteminin baskılanmasında kullanılabilir. %70 hastada hemoglobin düzeylerini düzeltir. Fakat uzun dönemde komplikasyonları nedeniyle kullanımı kısıtlıdır.

Trombotik komplikasyonların tedavisinde heparinin acil kullanımı ve varfarin ile idame verilmesi gibi standart yaklaşımı gerektirir. Eculizumab kullanımı ile venöz tromboz riski önemli oranlarda azalmıştır. Yine eculizumab tedavisinin gebelikte de güvenle kullanılabileceği bir çalışma ile gösterilmiştir (46).

PNH'da kemik iliği hipoplazisi morbidite ve mortalitenin ciddi bir nedenidir. En efektif tedavisi kök hücre nakli olmakla birlikte bu yaklaşım pratik değildir. Antitimosit globülin (ATG) ile aplastik aneminin tedavisinde başarı sağlanabilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 18.03.2014 tarihinde, KOÜ KAEK 2014/86 sayılı numara ile onay alınmıştır.

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışmaya, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı'nda Mart 2014 – Haziran 2014 tarihleri arasında başvurarak yeni lenfoma tanısı konulan 50 hasta alındı. Hastaların yaş ortalaması 55,66 idi. 28'i (% 56) erkek ve 22'si (% 44) kadın idi.

Tüm hastalara lenfoma tanısı konulmuştu. Tüm vakalar yeni tanı idi. Hastalar Costwolds evreleme sistemine göre evrelendirildi. Klinik evreleme için hastaların hikayeleri alındı ve fizik muayeneleri yapıldı. Poliklinik takiplerinde kan sayımı ve biyokimyasal değerleri dikkate alındı. Yine lenfoma tanısı için yapılmış bütün radyolojik tetkikler incelendi.

3.2. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı

Hastalardan ASM için kan örneklemeleri yapıldı. Bunun için iki ayrı EDTA'lı tüpe periferik kandan 3 cc örnekler alındı. EDTA, en yaygın kullanılan antikoagülandır ve kemik iliğinde GPI çıpa farklılaşması farklı evrelerde olduğu için periferik kan örnekleme tercih edildi (47). Kan örnekleri, hastaların kollarının kübital bölgelerindeki yüzeysel venlerinden tek kullanımlık enjektörler ile alındı.

Alınan kan örnekleri, kurye ile aynı gün ulaştırılacak şekilde Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Bölümü laboratuvarına gönderildi ve aynı gün içerisinde örnekler ASM cihazı ile çalışıldı. Spesimen transportu, dondurulmuş

örnekler için 7 güne kadar korunmakta, tercihan, tatmin edici sonuçlar için alınan kan örneği ilk 48 saat içinde çalışılması önerilmektedir (47).

3.3. Çalışma Dışı Bırakma Kriterleri

Pediyatrik yaş grubunda olanlar, yaşı 80'den yukarı olan geriyatrik hastalar, genel durumu ileri derecede bozuk olanlar, takiplerinde lenfoma tanısından uzaklaşıp başka tanı alanlar ile çalışmaya dahil olmak istemeyen hastalar çalışmaya alınmamıştır.

3.4. Yöntem

PNH klonları floresent aerolysin ayıraçlı (FLAER) 4 renkli akım sitometri ile çalışıldı ve FACSDiva Version 6.1.2 veri programı ile analiz edildi.

GPI-AP ekspresyonunun tespit edilmesi için:

- Nötrofiller için, FLAER (Alexa)/CD24 (PE)/CD15 (PerCP)/CD45 (PeCy7) antikoru,
- Monositler için, FLAER (Alexa)/CD14 (PE)/CD64 (PerCP)/CD45 (PeCy7) antikoru,
- Eritrositler için, CD235a (FITC)/CD59 (PE) antikoru kullandı.

PNH klonu %10 ve üzeri değerler, PNH tanısı için pozitif kabul edildi.

3.5. İstatistik

Nümerik veriler ortalama ve standart sapma olarak gösterilmiştir.

4. BULGULAR

Mart 2014 – Haziran 2014 tarihleri arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Hematoloji polikliniğine başvuran 50 adet yeni tanıli lenfoma hastası çalışmaya alındı.

Çalışmaya en genç olgu 24 yaşında, en yaşlı olgu 76 yaşında olup, bu olguların yaş ortalaması 55,66 olarak saptandı (Tablo 4). Olguların 22'si kadın (%44) ve 28'si (%56) erkekti (Tablo 5).

	n	En Düşük Yaş	En Yüksek Yaş	Yaş Ortalaması	Standart Sapma
Yaş	50	24	76	55,66	15,74

Tablo 4. Olguların yaş ortalaması.

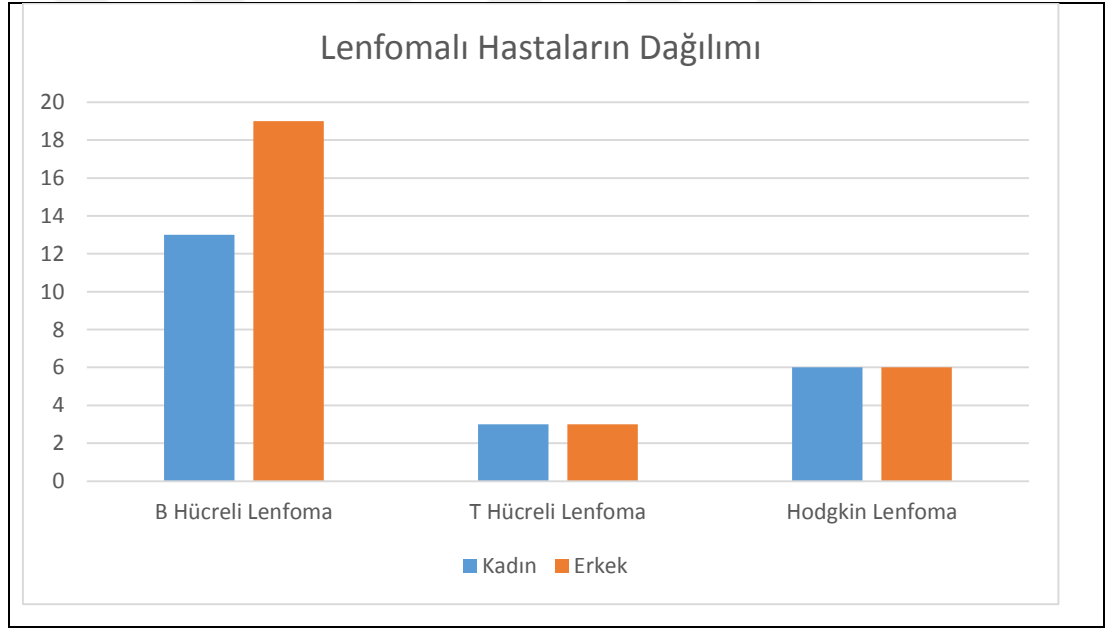
Cinsiyet	n	Oran (%)
Kadın	22	% 44
Erkek	28	% 56
Toplam	50	% 100

Tablo 5. Olguların cinsiyet oranları.

Olguların lenfoma subtipleri, poliklinik kayıtlarıyla belirlendi. DSÖ'ne göre gruplara göre sayıları kaydedildi (Tablo 6). Buna göre B hücreli lenfoma 33 adet (% 64,70), T hücreli lenfoma 6 adet (% 11,76), Hodgkin lenfoma 12 adet (% 23,52), diğerleri 0 adet (% 0) olarak belirlendi.

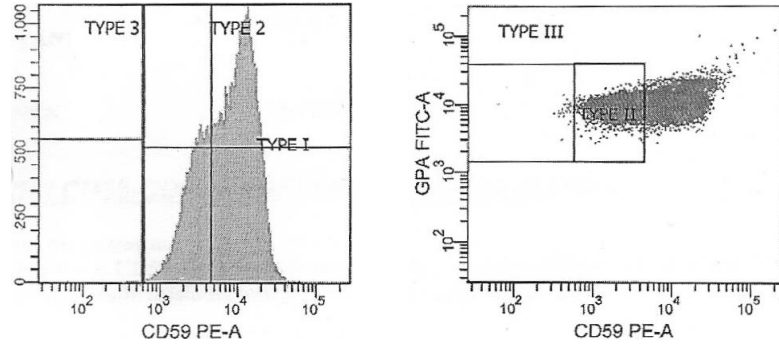
	B Hücreli Lenfoma	T Hücreli Lenfoma	Hodgkin Lenfoma	Histiyositik ve Dendritik Lenfoma	Posttransplantasyon Lenfoproliferatif Hastalıklar
Sayı	32 (13)	6 (3)	12 (6)	0	0
Oran (%)	64	12	24	0	0

Tablo 6. Lenfoma subtipleri ve sayıları.



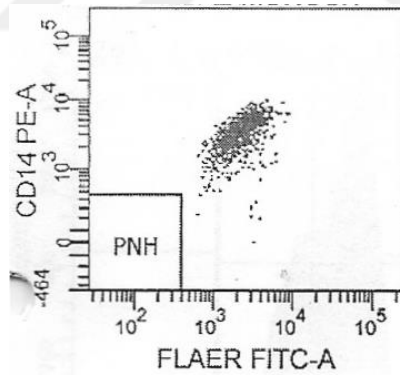
Şekil 6. Lenfoma subtiplerinin cinsiyete göre dağılım grafiği.

Olguların FLAER akım sitometrik analizinde toplam 50 olgudan, biri erkek ve biri kadın olmak üzere 2 tanesinde PNH klonu $>10\%$ (Şekil 7, 8, 9, 10, 11, 12) olarak gözlemlendi (Tablo 8). PNH klonu pozitif olan hastaların oranı 4% olarak görüldü.



Population	#Events	%Parent	%Total
P1	49,828	99.66	99.66
P2	49,754	99.85	99.51
TYPE III	48	0.10	0.10
TYPE 3	48	0.10	0.10
TYPE 2	15,088	30.33	30.18
TYPE I	34,609	69.56	69.22
TYPE II	15,303	30.76	30.61
AGGREGATES	13	0.03	0.03

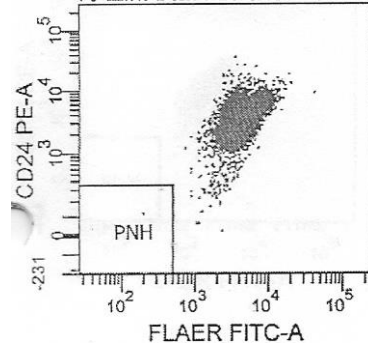
Şekil 7. 1.Hastanın FLAER Eritrosit sonuçları



Tube: MONOSIT

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	50,000	####	100.0
TUM LOKOSITLER	48,938	97.9	97.9
TUM CD45 POZITIF	48,495	99.1	97.0
MONOSIT	1,288	2.7	2.6
PNH	0	0.0	0.0
LENFOSIT	1,465	3.0	2.9

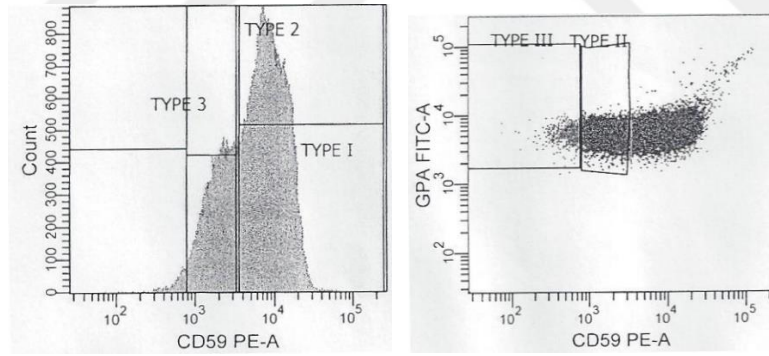
Şekil 8. 1.Hastanın FLAER Monosit sonuçları



Tube: GRANULOSIT

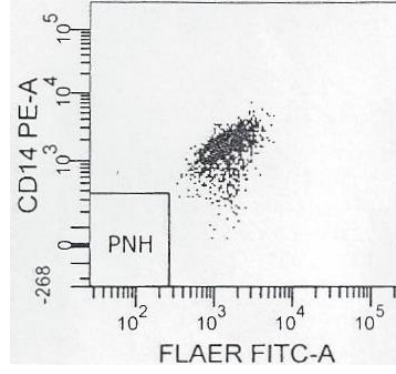
Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	50,000	####	100.0
TUM LOKOSITLER	47,684	95.4	95.4
TUM CD45 POZITIF	47,251	99.1	94.5
GRANULOSITLER	43,804	92.7	87.6
PNH	1	0.0	0.0
LENFOSITLER	1,626	3.4	3.3
Q1	0	0.0	0.0
Q2	17	1.0	0.0
Q3	137	8.4	0.3
Q4	1,472	90.5	2.9

Şekil 9. 1.Hastanın FLAER Granülosit sonuçları



Population	#Events	%Parent	%Total
P1	48,869	97.74	97.74
P2	48,438	99.12	96.88
TYPE III	877	1.81	1.75
TYPE II	13,043	26.93	26.09
TYPE 3	826	1.71	1.65
TYPE 2	13,039	26.92	26.08
TYPE I	33,390	68.93	66.78
AGGREGATES	72	0.14	0.14

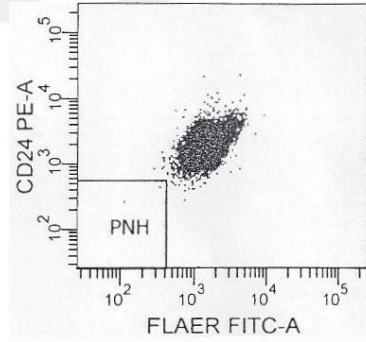
Şekil 10. 2.Hastanın FLAER Eritrosit sonuçları



Tube: MONOSIT

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	50,000	####	100.0
TUM LOKOSITLER	47,778	95.6	95.6
TUM CD45 POZITIF	47,044	98.5	94.1
MONOSIT	1,789	3.8	3.6
PNH	0	0.0	0.0
LENFOSIT	7,402	15.7	14.8

Şekil 11. 2.Hastanın FLAER Monosit sonuçları.



Tube: GRANULOSIT

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	50,000	####	100.0
TUM LOKOSITLER	46,327	92.7	92.7
TUM CD45 POZITIF	45,613	98.5	91.2
GRANULOSITLER	34,863	76.4	69.7
PNH	6	0.0	0.0
LENFOSITLER	6,002	13.2	12.0
Q1	3	0.0	0.0
Q2	1,991	33.2	4.0
Q3	57	0.9	0.1
Q4	3,951	65.8	7.9

Şekil 12. 2.Hastanın FLAER Granülosit sonuçları.

Değerler	1.Hasta	2.Hasta
Beyaz küre (WBC) ($\times 10^3/uL$)	6,3	21,4
Hemoglobin (HGB) (g/dL)	8,97	11,3
Hematokrit (HCT) (%)	26,1	34,6
Trombosit (PLT) ($\times 10^3/uL$)	57,9	709
Kreatinin (mg/dL)	0,78	0,67
Total Bilirubin (mg/dL)	1,8	0,2
Direkt Bilirubin (mg/dL)	1,2	0,1
Laktat Dehidrogenaz (LDH) (U/L)	267	394
Ürik Asit (mg/dL)	3,7	5,8
C-Reaktif Protein (CRP)	7,96	6,99

Tablo 7. PNH'lı hastaların tam kan sayımı ve bazı biyokimyasal değerleri.

PNH Klonu	1.Hasta	2.Hasta
Tip II	% 30,33	% 26,08
Tip III	% 0,1	% 1,75
Toplam	% 30,61	% 28,8

Tablo 8. PNH klonu pozitif hastaların eritrositlerindeki klon düzeyleri.

PNH klonu pozitif olan hastalarda hemolize rastlanmadı. PNH klonu pozitif olan hastaların lenfoma subtipleri erkek hastanın B hücreli küçük hücreli lenfositik lenfoma, kadın hastanın ise primer splenik lenfoma idi.

5. TARTIŞMA

PNH klonu birçok hematolojik klonal hastalıkla birlikte bulunabilmektedir. PNH'lı hastalarda lösemik dönüşüm olmasından farklı olarak, akut lösemilerde PNH benzeri CD55 ve CD59 eksiklikleri bildirilmiştir (48,49). Bundan başka kronik myeloproliferatif hastalıklarda, kronik myeloid lösemi (KML) ve Philadelphia kromozomu negatif kronik myeloproliferatif hastalıklarda da nadir de olsa PNH benzeri hücre defektleri saptanmıştır (50, 51, 52). Myelodisplastik sendromda PNH klonu saptanması daha iyi bilinir ve diğer hematolojik hastalıklara göre daha sıktır (53,54,55). Fakat PNH hastalarında da kemik iliğinde myelodisplastik bulgular gözlemlenebilir. Bu nedenle, her iki hastalık arasındaki ilişki karışık ve tartışmalıdır.

Lenfoproliferatif hastalıklar ile birlikte PNH varlığı oldukça nadir bir durumdur. Literatürde olgu sunumları veya birkaç olgunun toplandığı sunumlar bulunmaktadır (56,57,58). Farklı lenfoproliferatif hastalık tiplerinde farklı oranlarda PNH klonları, tedavi almamış hastalarda saptanabildiği gibi, anti-CD52 antikorunu (CAMPATH-1H) gibi bazı özel tedaviler almış hastalarda da PNH klonu ortaya çıktığı bildirilmiştir (59,60). Fukuda ve ark. non-Hodgkin lenfomalı 10 hastanın ikisinde CD55 'in tam kaybını (tip III klon) göstermişler, ancak kronik lenfositik lösemili (KLL) 6 olgunun hiç birinde CD55 kaybı gösterememişlerdir (61). Seya ve ark. diğer hematolojik malignitelerden ziyade NHL hastalarında CD55 kaybı olabildiğini bildirmişlerdir (62).

Çoğu KLL olan, lenfoproliferatif hastalıklı 195 hastada, PNH klonunun araştırıldığı, literatürde bulunabilen en geniş sistematik çalışmada (63), eritrositlerde CD55 ve CD59 çifte negatiflik oranı % 9,2 saptanmıştır. İzole CD55 ve CD59 negatifliği oranları ise sırası ile % 8,7 ve % 0,9 bulunmuştur. Bu hastalarda, CD59 ekspresyonunun daha iyi korunduğu görülmektedir. Araştırmacılar bu hastaların hiç birinde hemoliz bulgusu olmadığını belirtmişlerdir (63). Klasik PNH da görüldüğü gibi, hemoliz olmamasının nedeni, küçük bir eritrosit popülasyonunda GPI- çapa proteinlerindeki ekspresyonun azalması ve bunun da hemoliz için yeterli olmaması

şeklinde açıklanabilir. Ayrıca, tek başına CD55 eksikliğinin hemoliz için yeterli olmadığı ileri sürülmüştür (64).

Benzer şekilde, çalışmamızda PNH klonu pozitifliği tespit edilen hastalarda hemoliz bulguları yoktu. PNH klonu, eritrositlerde CD59 ekspresyonu değerlendirilerek saptanmış 1. hastada (KD), % 30,33 oranında, kısmi CD 59 kaybı (tip II klon) saptanmıştır. % 0,1 oranında, ağır derecede CD59 kaybı (tip III klon) saptanmıştır. İkinci hastada ise (DÖ) tip II klon oranı % 27, tip III klon oranı ise % 1,8 bulunmuştur. Çalışmamızda CD 55 düzeyine bakılmamıştır.

Tüm lenfomalı hastalarda % 4 oranında PNH-benzeri bozukluk saptadık. Bu, daha önce yapılmış olan üç çalışmada bulunandan biraz daha düşüktür (61,63,65).

Olgularımızda sadece CD59 araştırılmış olması, CD55 düzeyine bakılmaması CD55 düşüklüğünü gösterebilecek bazı olguların gözden kaçmış olabileceğini düşündürmektedir.

Yine, Meletis ve ark'nın yaptığı çalışmada, düşük dereceli B hücreli NHL'larda CD55 ve CD59 eksikliği, diğer NHL tiplerine oranla daha yüksek oranda gözlenmiştir (63). Yaptığımız taramada da her iki hastanın lenfomaları düşük dereceli ancak ileri evredeydi.

Yaptığımız prospektif tarama çalışmasında, PNH klonunu saptamak için nisbeten yeni bir flow-sitometrik yöntem olan FLAER'i kullandık. Daha önceki benzer çalışmalarda geleneksel flow-sitometri ile CD55 ve CD59 ekspresyon düzeyleri, daha eski çalışmalarda ve olgu sunumlarında ise Ham ve asit sükroz lizis testi kullanılmıştı.

Literatürdeki çoğu olgu sunumları ve çalışmalarla uyumlu şekilde PNH klonu nötrofil ve monositlerde saptanamadı. Çalışmamızda, PNH-benzeri bozukluk sadece eritrositleri ilgilendirmekteydi.

İki çalışmada lenfositlerde PNH klonu saptanmıştır; anti-CD52 antikoru (CAMPATH-1H) uygulanan KLL hastalarında T hücrelerinde GPI eksikliği saptanmıştır. Bu anormallik, GPI'e bağlı bir protein olan CD52'ye bağlanan anti-CD52 antikoru, bu hücreleri apoptoza götürerek GPI düzeyi düşük olan T lenfositlerin klonal avantaj kazanmasına ve bunların artışına neden olabilir şeklinde açıklanmıştır (59,60).

Gerçekten de, in vitro kültürlerde CAMPATH-1H uygulanmasından sonra B ve T lenfositlerde CD55 ve CD59 ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (66).

CD55 ve CD59 eksikliği olan PNH veya PNH benzeri eritrositler, ilginç olarak daha çok KLL ve düşük dereceli NHL hastalarında saptanmaktadır. Bir çalışmada, farklı lenfoproliferatif hastalık gruplarında CD55 ve CD59 ekspresyonları azalmış eritrositlerin oranı, % 10'dan az olarak saptanmıştır. PNH hastalığında, bu proteinlerin ekspresyonundaki azalma genellikle daha fazla olmaktadır. Bu nedenle, hematolojik hastalıklarda nadiren saptanabilen PNH klonunun gerçek bir PNH hastalığını göstermediği anlaşılmaktadır (63). Bunun, PNH-benzeri bir durum (PNH-like defect) olarak kliniğe yansımayan bir yan bulgu veya eşlik edebilen bir laboratuvar bulgusu olduğunu söyleyebiliriz. Gerçekten de, Meletis ve ark. yaptığı çalışmada da, PNH klonu bulunan hastalarda PNH klinik bulgularının gözlenmemesi bunu desteklemektedir (63).

Aynı çalışmada, klasik Hodgkin lenfoma hastalarında, diğer alt tiplere göre noduler sklerozan alt tipinde, eritrositlerde CD55 ve CD59 eksikliği saptanmıştır (63). Lenfoproliferatif hastalıklar ve diğer klonal hastalıklarda ki PNH fenotipinin varlığını açıklayacak bazı hipotezler öne sürülmüştür. Lenfoproliferatif hastalıklarda, kök hücrede gelişen somatik mutasyonlar başka somatik mutasyonlara da neden olabilir. Normal kişilerde, PNH klonunun genellikle saptanamayacak kadar düşük miktarda bulunabildiği düşünülmektedir. Lenfoproliferatif hastalığın seyri sırasında, PNH klonu belki de immün bir mekanizma ile sağkalım avantajı kazanarak saptanabilir bir düzeye çıkabilmektedir. PNH hücrelerinin varlığı ve miktarı ile lenfoproliferatif hastalığın evresi arasında bir ilişki saptanamamıştır (63).

Başka bir çalışmada, aralarında 6 kronik myeloid lösemi hastasının da bulunduğu çoğu lenfoproliferatif hastalıklı 38 kişiden sadece 2 NHL hastasında CD55 ekspresyonu düşük bulunmuştur. Bu çalışmada, CD55 ekspresyonuna eritrosit yerine mononükleer hücrelerde bakılmıştır. Bu nedenle, araştırmacılar tarafından lenfoma hücrelerinde CD55 kaybı olabildiği şeklinde açıklanmıştır (65).

Bu bulgu, sadece eritrositlerde CD59 eksikliği saptandığı çalışmamızdaki iki olguya uymamaktadır. Bir olgu sunumunda bildirildiği gibi, lenfomalı hastada beklenmeyen sitopeniler, tromboz veya hemoliz geliştiğinde, birlikte PNH hastalığının veya PNH-benzeri bir bozukluğun bulunabileceği akla gelmelidir (58).

Çalışmamızdaki bir olguda, kemoterapi sonrasında eritrositlerdeki PNH-benzeri klonun kaybolması, bu bozukluğun lenfoma ile ilişkili olarak ortaya çıktığını göstermesi açısından ayrıca ilgi çekicidir. Diğer çalışma ve olgu sunumlarında benzer bir bulgudan söz edilmemiştir.

PNH hastalığının, diğer klonal hastalıklarda bulunan PNH-benzeri bozukluktan ayrılması önemlidir. PNH-benzeri bozuklukta veya başka bir hematolojik hastalıkla birlikte görülen PNH klonu artışında, diğer çalışmalarda ve çalışmamızdaki olgularda gözleendiği gibi, hemoliz olmamaktadır. Bu durum, PNH klonunun bu hastalıklarda oldukça düşük düzeyde bulunmasından dolayı klasik PNH bulgularının ortaya çıkmaması şeklinde yorumlanabilir.

Yapılmış olan çalışmalar ve olgu sunumlarında kullanılan yöntemlerin farklı olması, FLAER ile yapılmış çalışma olmaması bizim sonuçlarımızın diğerleri ile karşılaştırılmasını zorlaştırmaktadır. Flow-sitometri ve moleküler tekniklerin yardımı ile daha ileri ve standardize edilmiş çalışmalar yapılması, hematolojik maligniteler ile PNH arasındaki ilişkinin aydınlatılması ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için gereklidir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Paroksizmal noktürnal hemoglobinürinin bazı hematopoetik bozukluklara eşlik ettiği bildirilmiştir. En sık eşlik ettiği hastalıklar, myelodisplastik sendrom ve aplastik anemi olarak belirtilmiştir. Literatürde PNH ve lenfoma birlikteliğini gösteren birkaç çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda yeni lenfoma tanısı alan hastalarda paroksizmal noktürnal hemoglobinüri klonu varlığını araştırdık.

Sonuç olarak çalışmamızda elli hastadan ikisinde (%4) PNH klonu pozitif tespit ettik. Literatürde, lenfoma hastalarına yönelik yapılan PNH klonu varlığı çalışması tek olmakta ve sonuçlarımız bu çalışmaya nisbeten daha az bir sıklıkta olduğu görülmüştür.

PNH klonu pozitif izlenen hastalarda hemoliz bulguları izlenmedi.

Lenfomalı hastalarla PNH birlikteliği veya PNH-benzeri bozukluk sık görülmesine de göz önünde bulundurulması gereken patolojidir. Hemoliz olmadan görülebileceği ve hematopoetik hastalıklara eşlik edebileceği bilinmelidir. Ayrıca PNH klonunun sonradan ortaya çıkabileceği ve alınan tedaviler sonrasında (kemoterapi gibi) veya spontan kaybolabileceği unutulmamalıdır.

PNH klonu varlığı ve sıklık çalışmalarının, yeni bir teknik olan FLAER ile ve daha yüksek sayılardaki hasta gruplarında yapılması daha doğru sonuçlar verecektir ve lenfoma ile PNH'nin moleküler ve klinik birlikteliğinin daha iyi aydınlatılması sağlanacaktır.

7. ÖZET

Lenfomalar, en yüksek prevalansa sahip hematopoetik neoplazmlardır ve yaklaşık tüm kanser tanılarının %4'ünü içermektedir. Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri (PNH) ise nadir görülen, kompleman aracılı hemoliz ile sonuçlanan kazanılmış klonal bir hematopoetik kök hücre hastalığıdır. Literatürde bazı hematopoetik hastalık gruplarına eşlik eden PNH veya PNH-benzeri bozukluklar ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmada ise, lenfomalı hastalarda FLAER akım sitometri ile PNH klonu varlığına bakıldı.

Çalışma, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalı'na 2014 yılı Mart-Haziran ayları arasında başvuran, yeni tanı almış ve henüz tedavi almamış 50 lenfomalı hastada yapıldı. Hastalardan alınan kan örnekleri Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Bölümü'nde FLAER akım sitometrisi ile PNH klonu miktarlarına bakıldı.

İki hastada PNH klonu sadece eritrositlerde saptandı (% 4). Her iki hastada da hemolize rastlanmadı.

Literatürde hematolojik malignitelere eşlik eden PNH veya PNH-benzeri bozukluklar çok bulunmamaktadır. Yine bu iki hastalık grubunun birlikteliğine dair çalışmalar FLAER akım sitometrisi ile yapılmamıştır. Flow-sitometri ve moleküler tekniklerin yardımı ile daha ileri ve standardize edilmiş çalışmalar yapılması, hematolojik maligniteler ile PNH arasındaki ilişkinin aydınlatılması ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için gereklidir.

8. ABSTRACT

Lymphomas are hematopoietic neoplasms with the highest prevalence and account for approximately 4% of all cancer diagnoses. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) is, however, rarely seen an acquired clonal hematopoietic stem cell disease resulted in complement mediated hemolysis. There are studies associated with PNH or PNH-like impairments accompanying with some hematopoietic disease groups in literature. In this study, however, PNH clone presence via FLAER flow cytometry was analysed.

The study was carried out in 50 patients with lymphoma who were newly diagnosed or not treated yet and applied to Kocaeli Medicine Faculty Internal Diseases Hematology Department between March-June 2014. Blood samples obtained from patients were analysed with FLAER flow cytometry and their PNH clone amounts were controlled at Marmara University Medicine Faculty Immunology Department. PNH clone was determined only in the erythrocytes of two patients (4%). Hemolysis was not encountered in two patients.

There are not many studies on PNH or PNH-like impairments accompanying haematological malignancies in literature. Studies regarding the association of these two diseases were carried out with FLAER flow cytometry. Conducting further and standardized studies with the help of flow- cytometry and molecular technics is necessary in enlightening the relation between haematologic malignancies and PNH and developing new treatment methods.

9. KAYNAKLAR

- 1) Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, et al. A revised European American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994 Sep 1;84(5):1361-1392.
- 2) Horner MJ, Ries LAG, Krapcho M, Neyman N, et al. (eds). "SEER Cancer Statistics Review, 1975–2006". *Surveillance Epidemiology and End Results (SEER)*. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Retrieved 3 November 2009. "Table 1.4: Age-Adjusted SEER Incidence and U.S. Death Rates and 5-Year Relative Survival Rates By Primary Cancer Site, Sex and Time Period"
- 3) Lymphoma Research Foundation. Retrieved 22 December 2012.
- 4) Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, Luzzatto L, Dacie JV. Natural History Of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria, *The New England Journal Of Medicine* 1995, Vol. 333 No. 19.
- 5) Hill A, Platts PJ, Smith A, Richards SJ, Cullen MJ, Hill QA et al. The incidence and prevalence of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and survival of patients in Yorkshire. *ASH Annu Meet Abstr* 2006; 108:985.
- 6) Türk Hematoloji Derneği. *Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri Tanı ve Tedavi Kılavuzu*, 2011.
- 7) Hillmen P, Muus P, Röth A, et al. Long-term safety and efficacy of sustained eculizumab treatment in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 2013; 162:62.
- 8) Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J, Bessler M, Ware R, Hillmen P, Luzzatto L, Young N, Kinoshita T, Rosse W, Socié G; International PNH Interest Group. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2005 Dec 1;106(12):3699-709.
- 9) Socié 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.

- 10) Hellman, Samuel; Mauch, P. M. Ed. (1999). Hodgkin's Disease. Chapter 1: *Lippincott Williams & Wilkins*. p. 5.
- 11) Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*. 2011 May 12;117(19):5019-32
- 12) Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, eds, *Wintrobe's Clinical Hematology*. 12th ed. Philadelphia PA, USA, 2009. P. 2145
- 13) Ismail SI, Sughayer MA, Al-Quadan TF, Qaqish BM, Tarawneh MS. Frequency of t(14;18) in follicular lymphoma patients: geographical or technical variation. *Int J Lab Hematol*. 2009 Oct;31(5):535-43.
- 14) Lin P, Medeiros LJ. High-grade B-cell lymphoma/leukemia associated with t(14;18) and 8q24/MYC rearrangement: a neoplasm of germinal center immunophenotype with poor prognosis. *Haematologica*. 2007 Oct;92(10):1297-301
- 15) Engels EA. Infectious agents as causes of non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007 Mar;16(3):401-4.
- 16) Parsonnet, J, Hansen S, Rodriguez L, et al. Helicobacter pylori infection and gastric lymphoma. *New England Journal of Medicine* 1994; 330(18):1267–1271.
- 17) Chiu BC, Blair A. Pesticides, chromosomal aberrations, and non-Hodgkin's lymphoma. *J Agromedicine*. 2009;14(2):250-5.
- 18) Leechawengwongs E, Shearer WT. Lymphoma complicating primary immunodeficiency syndromes. *Curr Opin Hematol*. 2012 Jul;19(4):305-12.
- 19) Rigolet A, Bossi P, Caumes E, et al. "Caractéristiques épidémiologiques et évolution de l'incidence des lymphomes cérébraux primitifs observés chez 80 patients infectés par le VIH entre 1983 et 1999" [Epidemiological features and incidence trends of primary cerebral lymphomas observed in 80 HIV-infected patients from 1983 to 1999]. *Pathologie-biologie* (in French) 2001 Sep 49 (7): 572–5.

- 20) Tran H, Nourse J, Hall S, Green M, Griffiths L, Gandhi MK. Immunodeficiency-associated lymphomas. *Blood Rev* 2008 Sep;22(5):261-281.
- 21) Váróczy L, Gergely L, Zeher M, Szegedi G, Illés A. Malignant lymphoma-associated autoimmune diseases--a descriptive epidemiological study. *Rheumatol Int.* 2002 Nov;22(6):233-7.
- 22) American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures* 2010.
- 23) <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@nho/documents/document/acspc-024113.pdf> (Cancer Facts).
- 24) T.C. Sağlık Bakanlığı, *Sağlık İstatistikleri Yıllığı* 2010.
- 25) Roman E, Smith AG. Epidemiology of lymphomas. *Histopathol* 2011;58:4-14.
- 26) Alexander, F.E., Ricketts, T.J., McKinney, P.A., and Cartwright, R.A. Community lifestyle characteristics and incidence of Hodgkin's disease in young people. *Int J Cancer.* 1991; 48: 10–14.
- 27) Ansell SM, Armitage JO. Positron emission tomographic scans in lymphoma: convention and controversy. *Mayo Clin Proc* 2012;87:571-580.
- 28) Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, Smithers DW, Tubiana M. Report of the Committee on Hodgkin's Disease Staging Classification. *Cancer Res.* 1971 Nov;31(11):1860–1861.
- 29) Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB et al. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkins disease: Cotswolds meeting. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1630-6.
- 30) Brown JR, Yeckes H, Friedberg JW *et al.* Increasing incidence of late second malignancies after conditioning with cyclophosphamide and total-body irradiation and autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2005 23,2208–2214.
- 31) Darrington DL, Vose JM, Anderson JR *et al.* Incidence and characterization of secondary myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia following high-dose chemoradiotherapy and

- autologous stem-cell transplantation for lymphoid malignancies. *J. Clin. Oncol.* 1994 12,2527–2534.
- 32) Rosse WF. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: the biochemical defects and the clinical syndrome. *Blood Rev.* 1989 Sep;3(3):192-200.
- 33) Rosse WF. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1992;178:163-73.
- 34) Bessler M, Hillmen P. Somatic mutation and clonal selection in the pathogenesis and in the control of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Semin Hematol.* Apr 1998;35(2):149-67.
- 35) Nagarajan S, Brodsky RA, Young NS, Medof ME. Genetic defects underlying paroxysmal nocturnal hemoglobinuria that arises out of aplastic anemia. *Blood.* Dec 15 1995;86(12):4656-61.
- 36) Parker C. Eculizumab for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Lancet.* Feb 28 2009;373(9665):759-67.
- 37) 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.* Feb 2009;14(1):33-7.
- 38) Kahn MJ, Maley JH, Lasker GF, Kadowitz PJ. Updated role of nitric oxide in disorders of erythrocyte function. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2013 Mar 1;13(1):83-7.
- 39) Hussain S, Qureshi A, Kazi J. Renal involvement in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Nephron Clin Pract.* 2013;123(1-2):28-35.
- 40) Steinberg D, Carvalho AC, Chesney CM, Colman RW. Platelet hypersensitivity and intravascular coagulation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Med.* 1975 Dec;59(6):845-50.
- 41) Nagarajan S, Brodsky RA, Young NS, Medof ME. Genetic defects underlying paroxysmal nocturnal hemoglobinuria that arises out of aplastic anemia. *Blood.* Dec 15 1995;86(12):4656-61.
- 42) Young NS. Hematopoietic cell destruction by immune mechanisms in acquired aplastic anemia. *Semin Hematol.* Jan 2000;37(1):3-14.

- 43) Türk Hematoloji Derneği. *Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri Tanı ve Tedavi Kılavuzu*, 2011.
- 44) Brodsky RA, Mukhina GL, Li S, et al. Improved detection and characterization of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using fluorescent aerolysin. *Am J Clin Pathol*. Sep 2000;114(3):459-66.
- 45) Ham TH. Chronic hemolytic anemia with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a study of the mechanism of hemolysis in relation to acid-base equilibrium. *N Engl J Med* 217:915, 1937
- 46) Kelly R, Arnold L, Richards S, et al. The management of pregnancy in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria on long term eculizumab. *Br J Haematol*. May 2010;149(3):446-50.
- 47) 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 Jul;78(4):211-30.
- 48) Guç D, Canpınar H, Kucukaksu C, Kansu E. Expression of complement regulatory proteins CR1, DAF, MCP and CD59 in haematological malignancies. *Eur J Haematol* 2000; 64: 3-9. 103.
- 49) Terpos E, Samarkos M, Meletis C et al. Phenotype of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria in patients with acute leukaemias. *Haema* 2000; 3 (suppl.): 271 (abstract).
- 50) Hansen NE, Killmann S-AA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in myelofibrosis. *Blood* 1970; 36: 428-431.112.
- 51) Kuo C-Y, Van Voolen GA, Morrison AN. Primary and secondary myelofibrosis: its relationship to "PNH-like" defect. *Blood* 1972; 40: 875-880. 113.
- 52) Van Voolen GA, Hellstrom HR, Nelson DA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and the myeloproliferative syndrome. *Ann Intern Med* 1982; 96: 792 (letter).

- 53) Dunn DE, Tanawattanacharoen P, Boccuni P et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure syndromes. *Ann Intern Med* 1999; 131: 401-408.
- 54) Terpos E, Samarkos M, Michali E et al. Detection of PNH red cell populations in aplastic anemia and myelodysplastic syndromes. *Blood* 1998; 92 (suppl. 1): 8 (abstract).
- 55) Meletis J, Terpos E, Samarkos M et al. Detection of CD55 and/or CD59 deficient red cell population in patients with aplastic anemia, myelodysplastic syndromes and myeloproliferative disorders. *Haematologia* 2001; 31: 7-16.
- 56) Omura GA. Coexistence of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 1981; 11: 439-441. 82.
- 57) Christou T, Subramanian S, Fung C. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria preceding malignant lymphoma. *Arch Intern Med* 1987; 147: 377-378. 83.
- 58) Ligorsky RD, Schaffner S, Oliver J et al. Unusual association between non-Hodgkin's malignant lymphoma and a PNH-like defect in the red cell. *Am J Med* 1994; 96: 395-396 (letter).
- 59) Hertenstein B, Wagner B, Bunjes D et al. Emergence of CD52-, phosphatidylinositolglycan-anchor-deficient T lymphocytes after in vivo application of Campath- 1H for refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 1995; 86: 1487-1492. 87.
- 60) Taylor VC, Sims M, Brett S, Field MC. Antibody selection against CD52 produces a paroxysmal nocturnal hemoglobinuria phenotype in human lymphocytes by a novel mechanism. *Biochem J* 1997; 322: 919-925.
- 61) Fukuda H, Seya T, Hara T et al. Deficiency of complement decay-accelerating factor (DAF, CD55) in non-Hodgkin's lymphoma. *Immunol Lett* 1991; 29: 205-209.
- 62) Seya T, Matsumoto M, Hara T et al. Distribution of C3- step regulatory proteins of the complement system, CD35 (CR1), CD46 (CMP) and CD55 (DAF) in hematological malignancies. *Leuk Lymphoma* 1994; 12: 395-400.

- 63) Meletis J, Terpos E, Samarkos M, Meletis C, Apostolidou E, Komninaka V, et al. Detection of CD55 and/or CD59- deficient red cell population in patients with lymphoproliferative syndromes. *Hematol J* 2001;2:33-7.
- 64) Sun X, Funk CD, Deng C et al. Role of decay-accelerating factor in regulating complement activation on the erythrocyte surface as revealed by gene targeting. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 628-633.
- 65) Hiroko F, Tsukasa S, Tomoko H, Deficiency of complement decay-accelerating factor (DAF, CD55) in non-Hodgkin's lymphoma. *Immunology letters*, 29 (1991) 205-210.
- 66) Rowan W, Tite J, Topley P, Brett SJ. Cross-linking of the CAMPATH-1H antigen (CD52) mediates growth inhibition in human B- and T-lymphoma cell lines, a subsequent emergence of CD52-deficient cells. *Immunology* 1998; 95: 427-436.