

TANI TAKİP VE TEDAVİDE LABORATUVAR

Dr.Ömür KAYIKÇI

HANGİSİ DAHA ÖNEMLİ ???



FİZİK MUAYENE
VE
KLİNİK

LABARATUVAR

Kadehlerin biri gelir, biri gider;
Mezeler çeşit çeşit;
Bir sevdiğim şanoda şarkı söyler;
Biri yanıbaşımda;
İçer içer ötekini kıskanır.
Kıskanma güzelim, kıskanma;
Senin yerin başka,
Onun yeri başka.

ORHAN VELİ KANIK

Hemogram

Complete Blood Count (CBC)

Tam Kan Sayımı

- Kandaki hücrelerin sayısını, büyüklüklerini ve oranlarını saptayan bir testtir.
- Lökosit, eritrosit ve trombositler hakkında bilgi verir.
- Sonuçlar raporlanırken bazı kısaltmalar ve açık terimler kullanılır

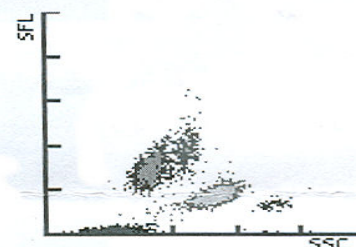
Comments:

Inst.ID:

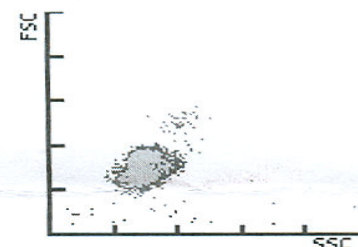
Negative

	Results	Unit	Normal Range
WBC	5.72	[10 ³ /uL]	(4.00-13.50)
NEUT	49.3 -	[%]	(50.0 - 70.0)
LYMPH	37.6	[%]	(20.0 - 45.0)
MONO	10.7 ÷	[%]	(0.00 - 8.00)
EO	1.7	[%]	(0.00 - 4.00)
BASO	0.7	[%]	(0.00 - 2.00)
RBC	4.39	[10 ⁶ /uL]	(3.80 - 5.70)
HGB	10.9 -	[g/dL]	(11.0 - 16.9)
HCT	35.1	[%]	(32.0 - 50.0)
MCV	80.0	[fL]	(70.0 -103.0)
MCH	24.8	[pg]	(23.0 - 32.0)
MCHC	31.1	[g/dL]	(30.0 - 35.0)
RDW-CV	15.1	[%]	(11.5 - 15.5)
RDW-SD	43.2	[fL]	(37.0-54.0)
PLT	302	[10 ³ /uL]	(150 - 450)
MPV	10.3	[fL]	(7.40 - 10.4)
RET		[%]	(0.50 - 2.00)
		[10 ⁶ /uL]	(0.024-0.084)

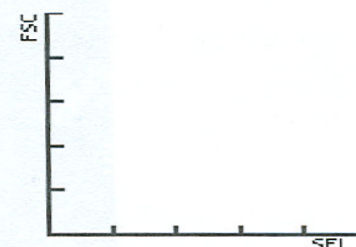
DIFF



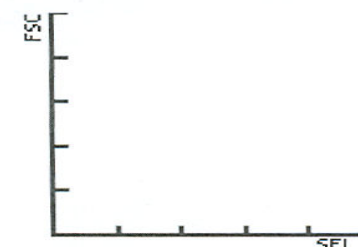
WBC/BASO



FSC



PLT-O



RBC



PLT



WBC IP Message(s)

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

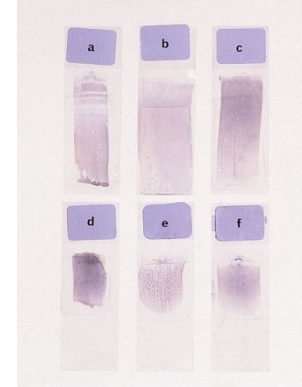
Tam Kan Sayımı İçin Hata Kaynakları

- Aç karnına alınmasına gerek yok.
- Uzun süreli turnike uygulanması (hemokonsantrasyon),
- Kapiller veya venöz kan,
- Antikoagülan kaynaklı hatalar, yanlış tüp
- Yetersiz veya fazla antikoagülan,
- Yetersiz karıştırma,
- Laboratuvara geç ulaştırma veya geç çalışma, 2-6 saatde çalışılmalı +4C de en fazla 24 saat bekler
- Hiperglisemi veya dekstroz giden koldan kan alınması, hiperlipidemi, hiperbilirubinemi, disproteinemi) ve kan alınma şekli sonucu etkiler

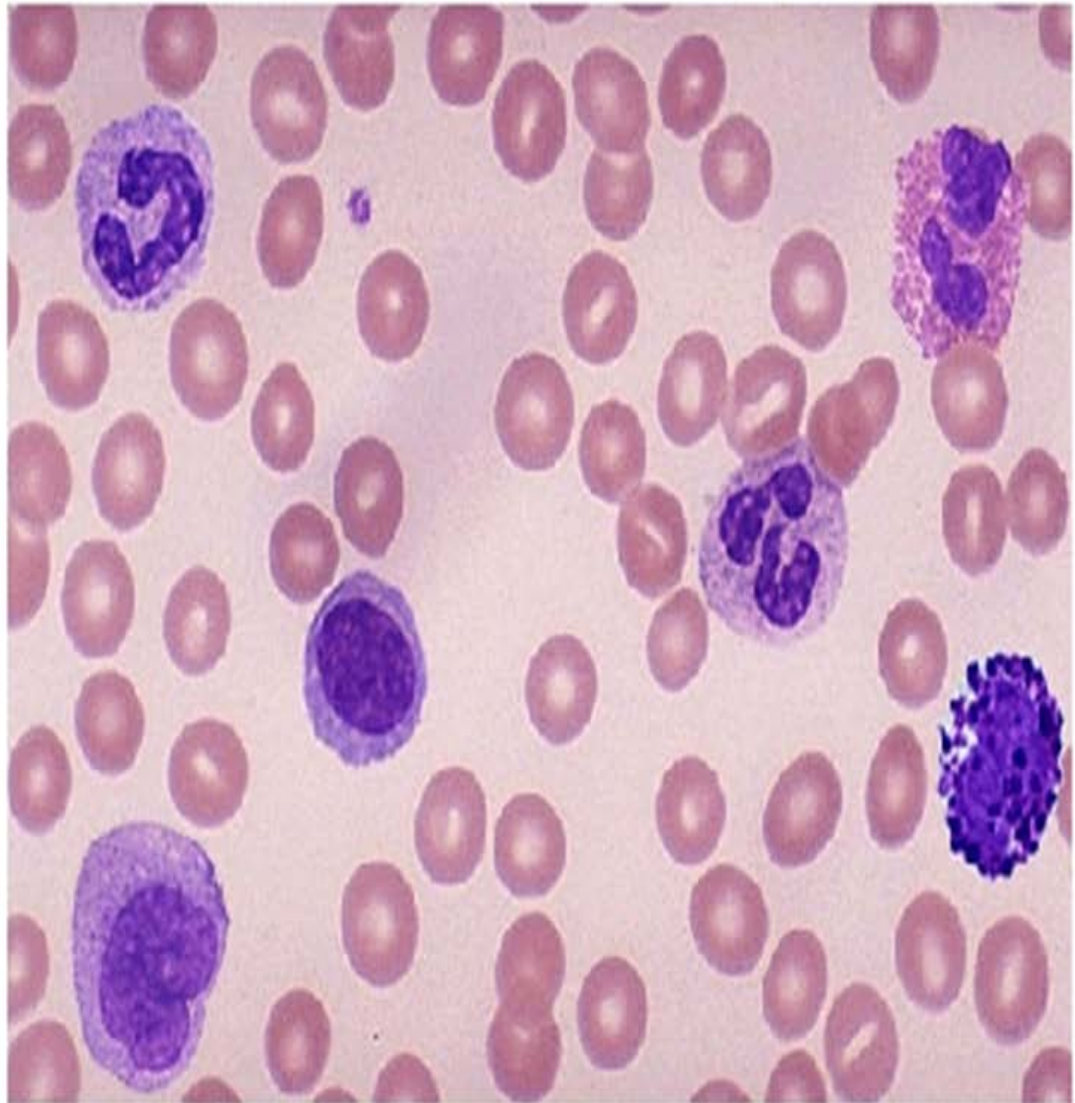


PERİFERİK KAN YAYMASI

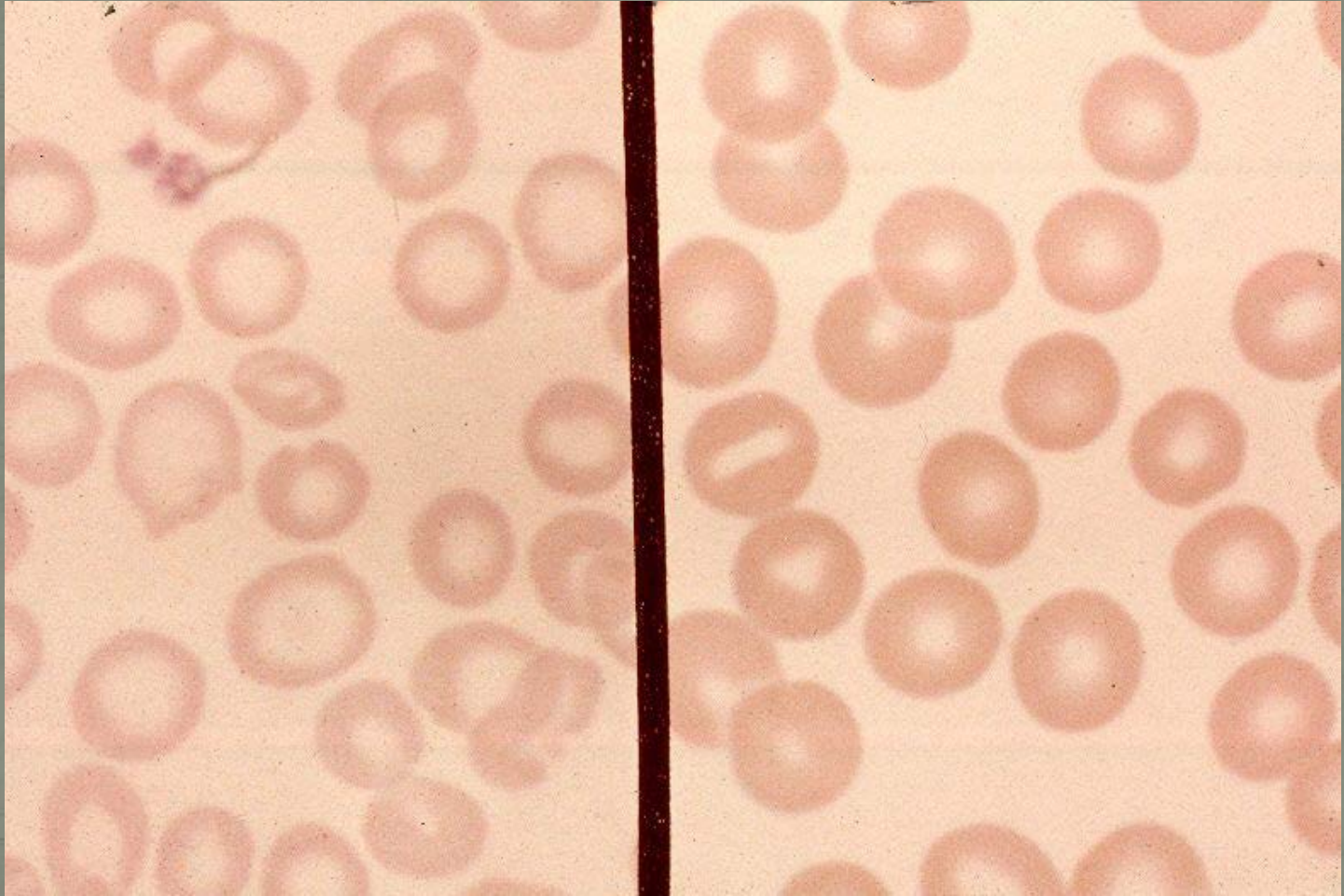
- Temiz bir lam üzerine bir damla kanın yayılması
- Giemsa, MayGrünwald-Giemsa, Wright
- Her 3 kan hücresi ayrı ayrı değerlendirilir
- Çap büyüklük şekil ,inklüzyonların gösterilmesi

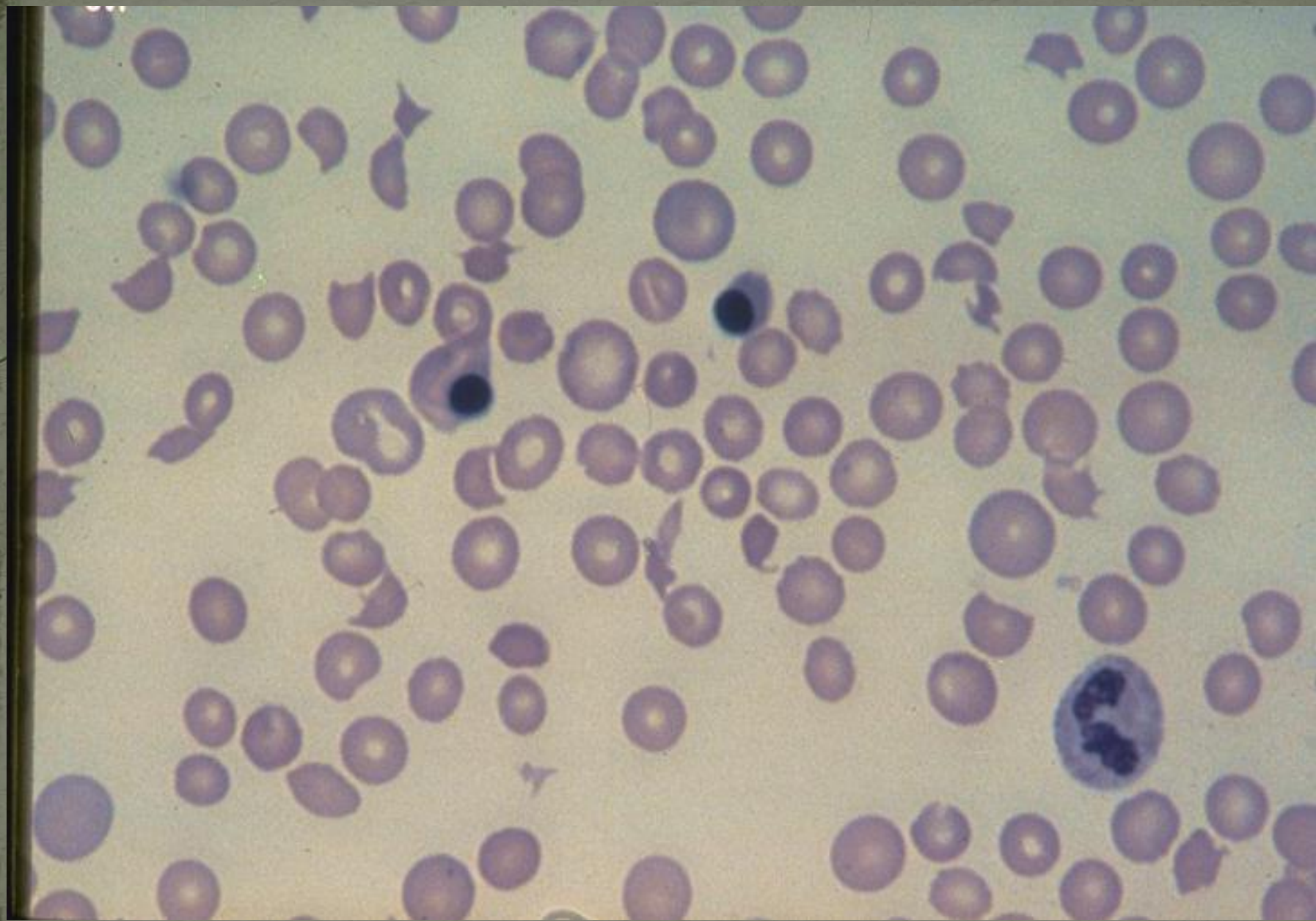


- Neutrophil
- Eosinophil
- Basophil
- Lymphocyte
- Monocyte

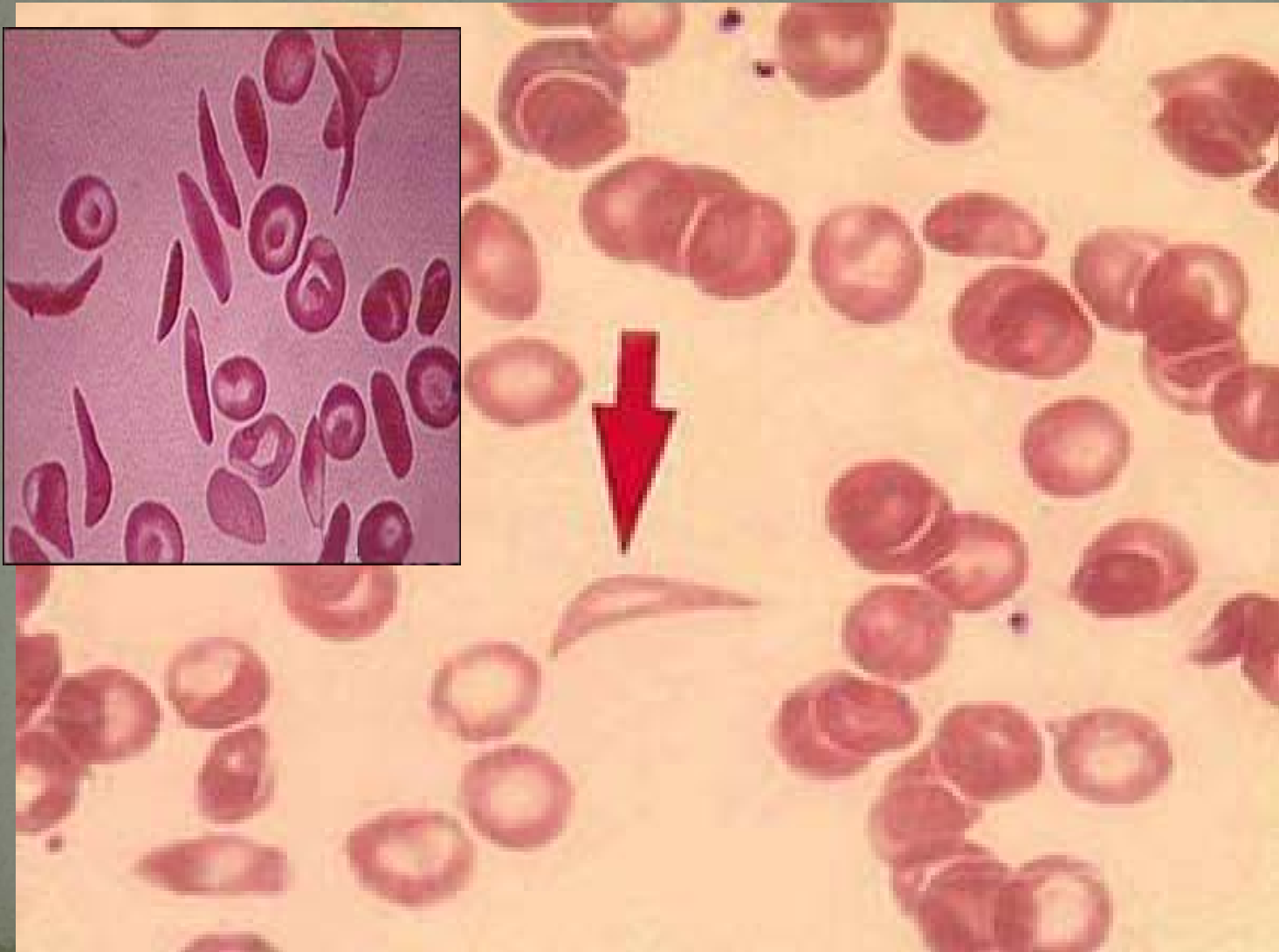


DEA

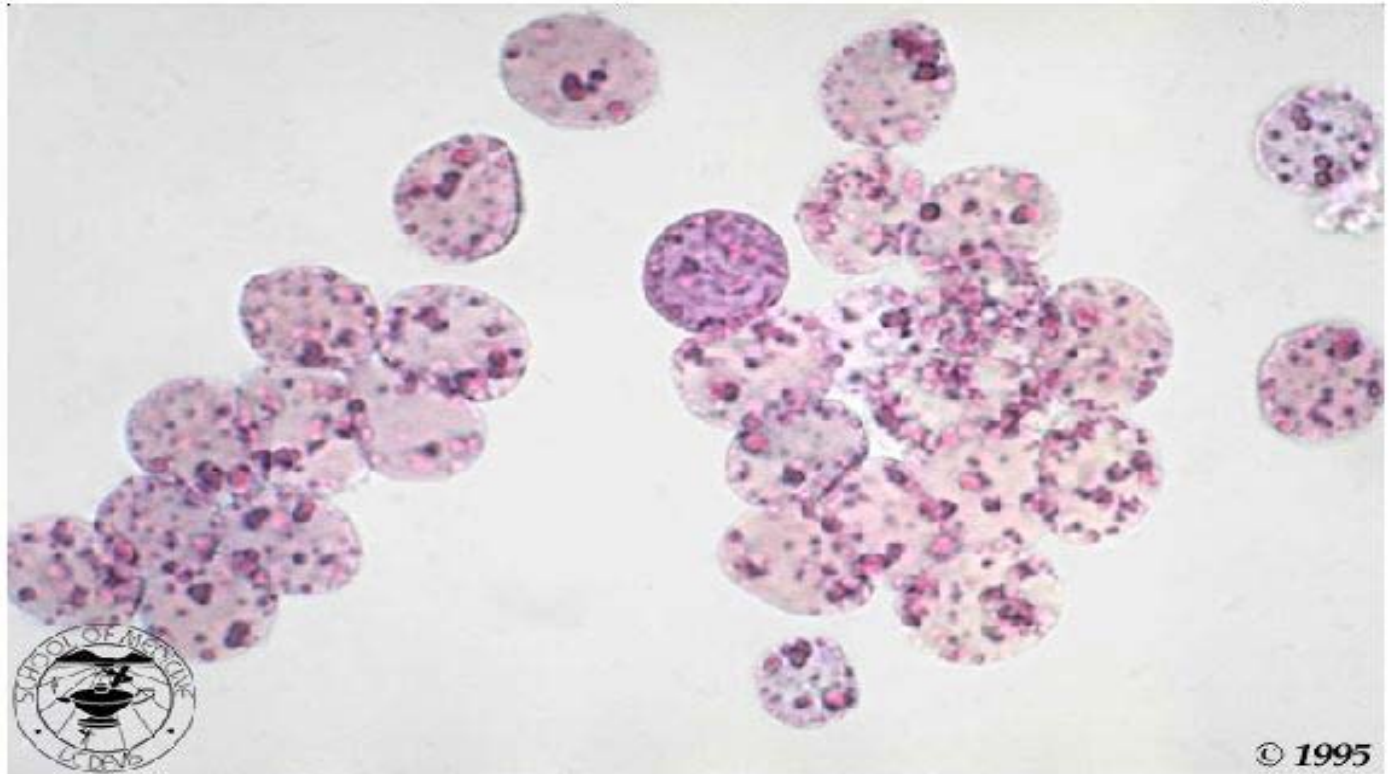




Orak hücreli anemi

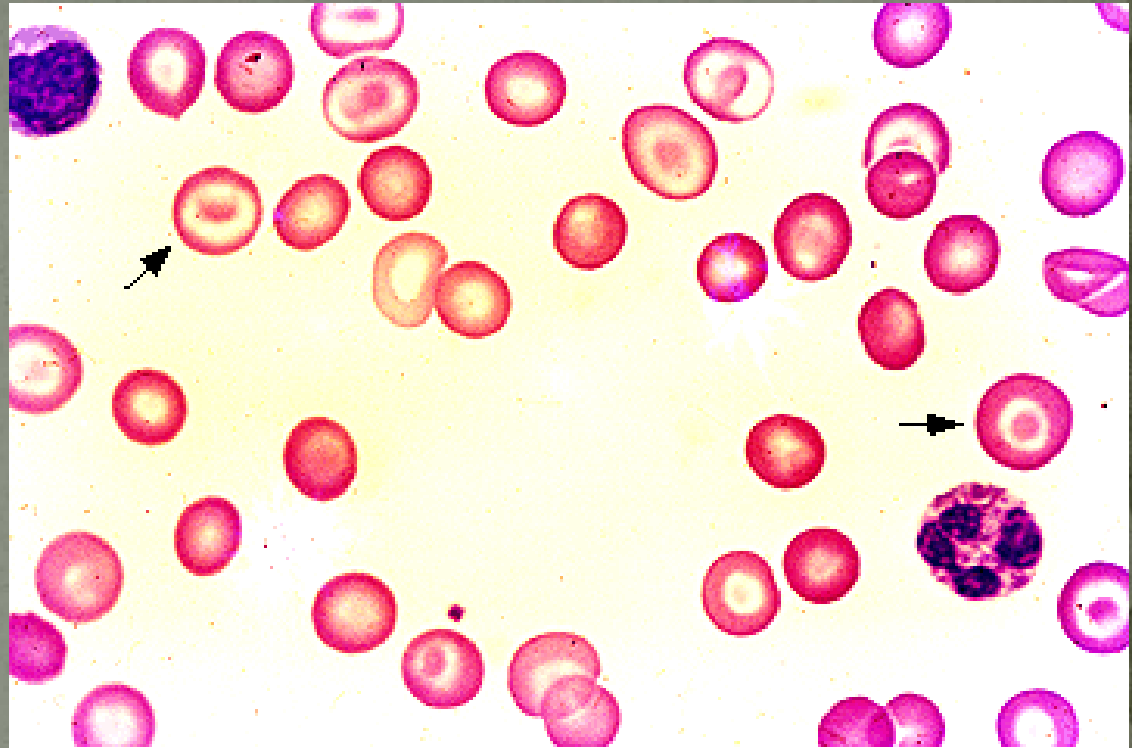


Heinz Bodies (G6PD Deficiency)



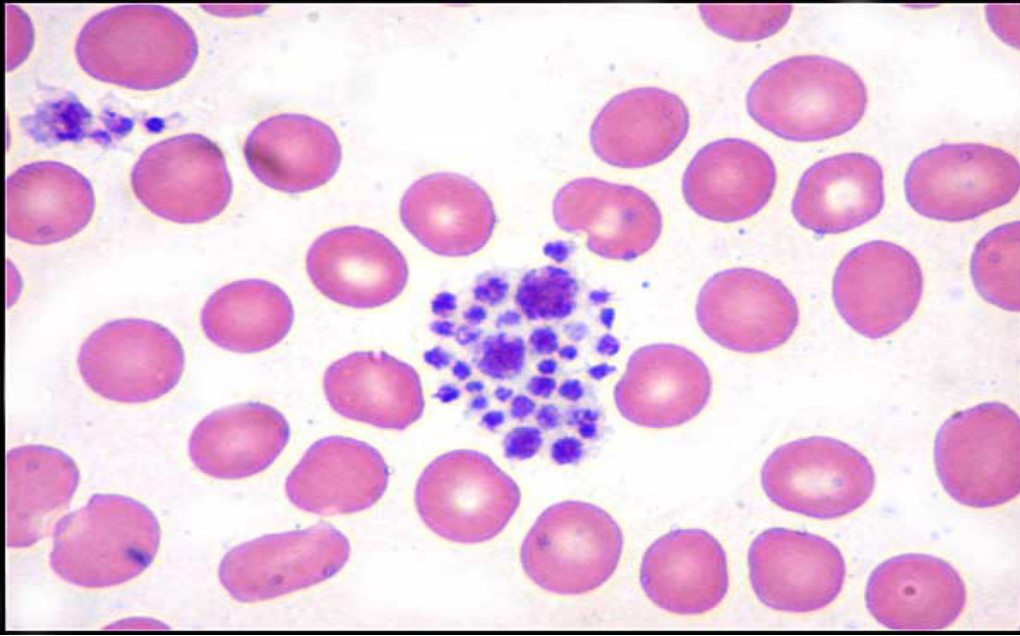
© 1995

- Target cell (hedef hücresi) ise çeşitli hemoglobinopatilerde, karaciğer hastalıklarında ve splenektomi sonrası görülür

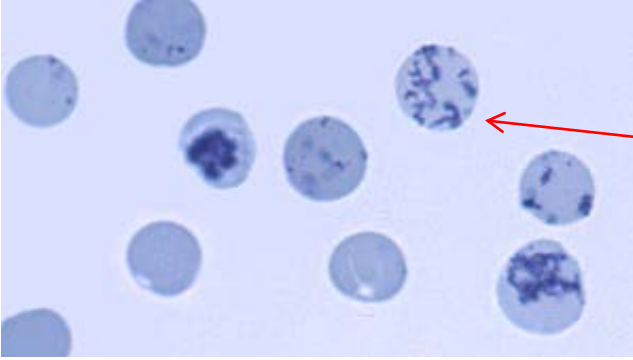
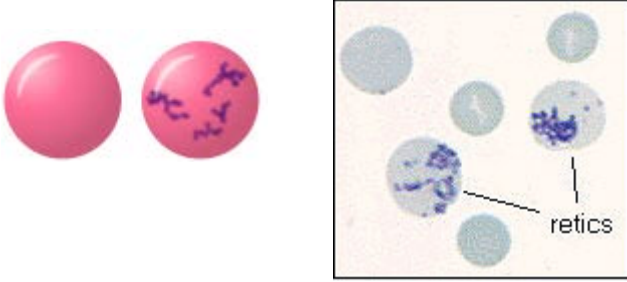


Target cells Peripheral smear shows multiple target cells which have an area of central density surrounded by a halo of pallor (arrows). These cells are characteristic of liver disease and certain hemoglobinopathies (most notably hemoglobin C disease). Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).

İyimser kişi, yaranın üstünde artık
kabuk görür; kötümser kiři ise
kabuğun altında yine yara görür.
William Shakespeare



Retikülosit



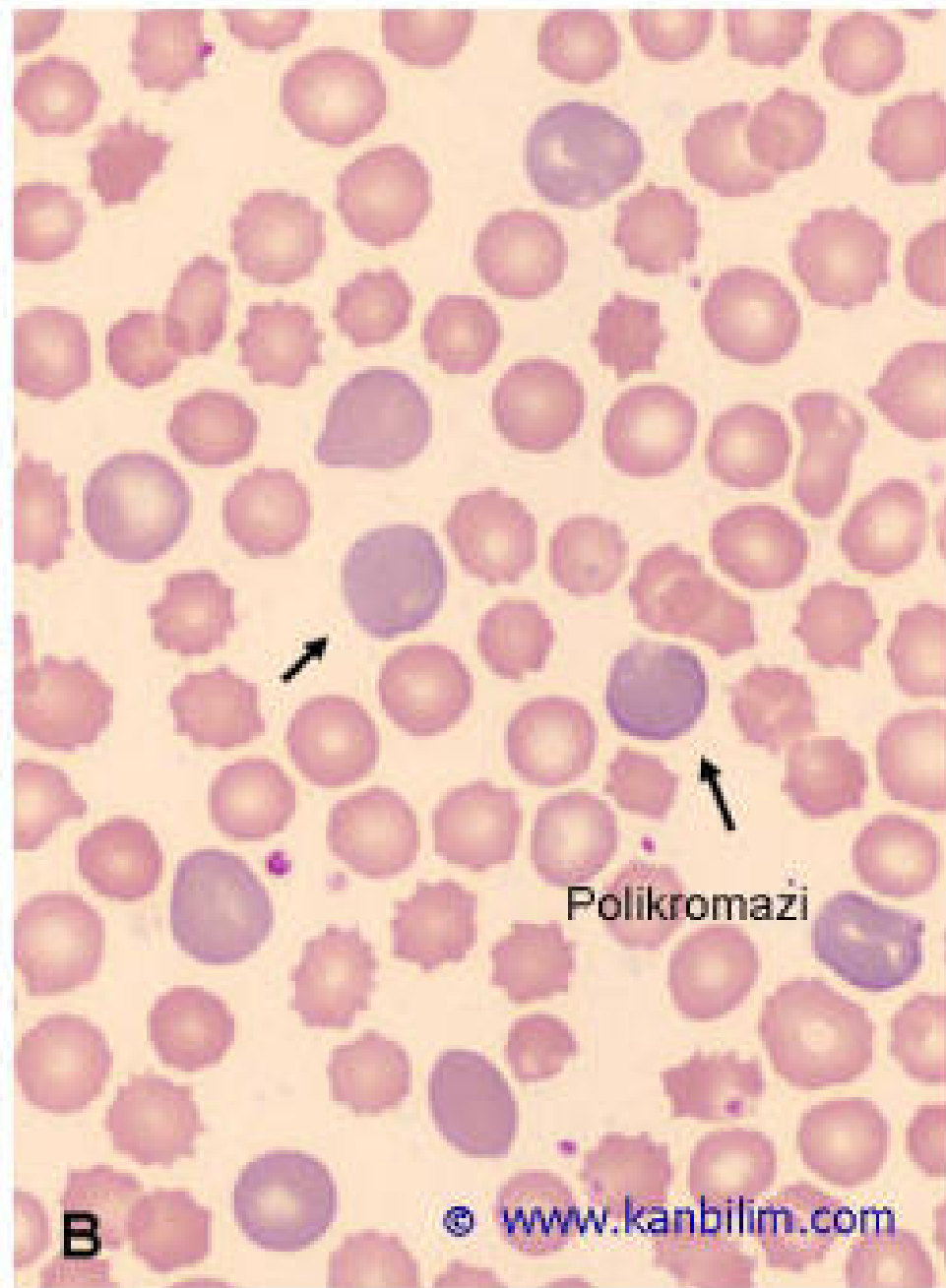
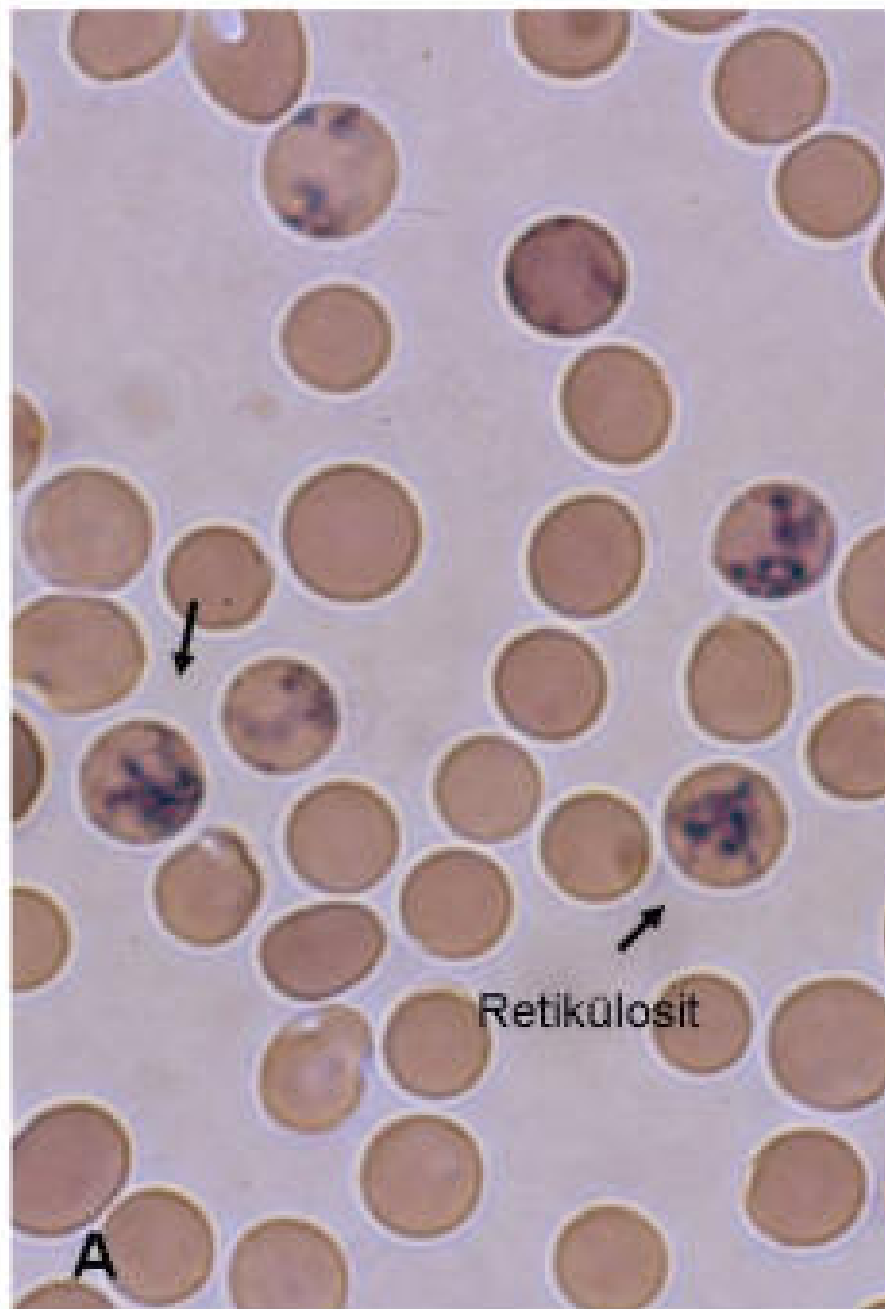
Retikülositler olgunlaşmalarını henüz tamamlamamış eritrositlerdir

Çekirdekleri yoktur. Ancak sitoplazmaları ribozom kökenli RNA artıkları içermeyi sürdürür

Normalde çevre kanında dolaşan eritrositlerin kabaca % 1'i (% 0.5-2.5) retikülosit evresindedir

Bu hücrelerin “retikülosit” olarak adlandırılma nedeni, yeni *metilen mavisi* ya da *parlak krezil mavisi* gibi boyalarla, yayma tespit edilmeden boyandıklarında (*supravital boyama*) içlerinde ince iplikçik ve granüllerden oluşan *ağsı (retiküler)* bir örgünün görülmesidir

Wright-Giemsa ile boyanmış yaymalarda, normal eritrositlerden biraz daha büyük olan retikülositler, eritrositler gibi tam pembe değil, biraz daha mavimsi boyanırlar (*polikromazi*).



RETİKÜLOSİT SAYISI

ARTMAMIŞ

ARTMIŞ

MCV
NORMAL

MCV
DÜŞÜK

MCV
YÜKSEK

AKUT KAN
KAYBI

HEMOLİZ

**Semptom
+
Bulgular**

1-2

**ÖYKÜ
ve FM**

3-4

**ERİTROSİTLERİN
TROMBOSİTLERİN
MORFOLOJİK
ÖZELLİKLERİ (CBC ve PY)**

+

**YAPIM-YIKIM DENGESİNİ
GÖSTEREN PARAMETRE
(RETİKÜLOSİT)**

TANI

PERİFERİK KAN İNCELEMELERİ

Serum Fe Parametreleri

B₁₂, folat

LDH, PT, APTT

SPE ,İPE

İG ler

Hb elektroforezi / oraklaşma

Coombs testleri

Ozmotik fragilite

Asit ham-sukroz hemoliz / akım
sitometri

TANI

KEMİK İLİĞİ İNCELEMELERİ

Aspirasyon / Biopsi / Sitogenetik
incelemeler,PCR ,FİŞH

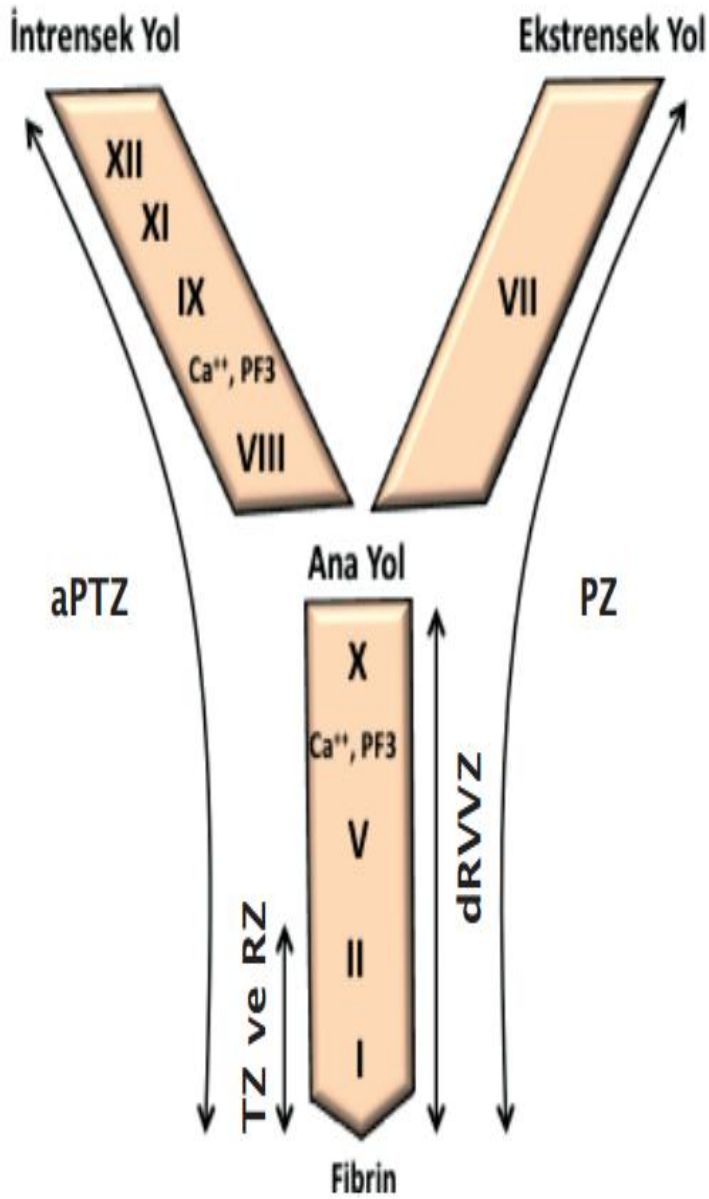
TANI

*Kadınları sevmek bir kadına
haksızlık etmek demektir/Bir
kadını sevmek kadınlara haksızlık
etmek demektir.*

Özdemir Asaf

PIHTILAŞMA TESTLERİ

- ▶ Protrombin Zamanı, Aktivitesi, İNR (9-12,5 sn)
- ▶ Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (23-35sn)
- ▶ Pıhtılaşma faktörlerinin eksikliğini gösterebilmek için tasarlanmış
- ▶ Cerrahi öncesi kanama riskini göstermek için tasarlanmamış
- ▶ Öykü alınması ve cerrahi işlemin kanama riskini değerlendirmek daha önemli



PZ = Protrombin zamanı

TZ = Trombin zamanı

RZ = Reptilaz zamanı

aPTZ = Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı

dRVVZ = Dilüe Russel Viper Venom Zamanı

aPTT yi uzatan nedenler

- ▶ Test tüpüne kanın az alınması, tam karıştırılmaması, laboratuvara geç gönderilmesi
- ▶ Kateterden alınması
- ▶ Heparin, uzun süreli warfarin kullanımı
- ▶ Karaciğer hastalıkları
- ▶ FVIII, FIX eksikliği
- ▶ FXI, FXII, HMWK, prekallikrein eksikliği
- ▶ Ortak yoldaki faktörlerin eksiklikleri
- ▶ Polistemi
- ▶ Lupus antikoagülanı
- ▶ İnhibitör gelişimi

PT yi uzatan nedenler

- ▶ Oral antikoagülan kullanımı
- ▶ Karaciğer hastalıkları
- ▶ Faktör VII eksikliği
- ▶ Ortak yoldaki faktörlerin
 - ▶ (FX, FV, FII, fibrinojen) eksiklikleri
- ▶ Nadir:
 - ▶ Lupus antikoagülanı,
 - ▶ paraproteinemiler

PT ve aPTT yi birlikte uzatan nedenler

- ▶ Ortak yoldaki faktörlerin eksiklikleri
- ▶ Warfarin kullanımı
- ▶ Karaciğer hastalıkları
- ▶ Yaygın damar içi pıhtılaşması (DIC)

FİBRİNOJEN

Fibrinojen düzeyi: 200-400 mg 150' nin altında replasman gerekebilir.

- ▶ Karaciğer hastalığı-Asit
- ▶ DIK (sekonder fibrinolizis)
- ▶ Primer fibrinolizis
- ▶ Siroz, şok, metastatik prostat CA, GUS travma
- ▶ İlaçlar
- ▶ L-asparaginaz, alkol, tiklopidin, vb.
- ▶ Kanser
- ▶ Heparin
- ▶ Disfibrinojemi

D-Dimer yüksekliği

- ▶ DIK (sekonder fibrinolizis)
- ▶ Arteriyel ve venöz tromboz
- ▶ Primer fibrinolizis
- ▶ Pulmoner emboli
- ▶ Post-operatif
- ▶ Travma
- ▶ Kanser
- ▶ Gebelik (son dönemi) postpartum
- ▶ Orak hücreli anemi krizi
- ▶ Hematom
- ▶ Trombolitikler (T-PA tedavisi)

FERRİTİN

- ▶ Demirin depo formunun solubl şeklidir.
- ▶ Serum ferritin düzeyinin 12 ng/ml'den düşük olması demir depolarının boş olduğunu gösterir.
- ▶ Ferritin'in demir eksikliğinde düzeyi azalır, kronik hastalık anemisinde ise artar.
- ▶ Serum ferritin düzeyi 2 haftadan fazla demir tedavisi alınca ya da kan transfüzyonu sonrası bakılırsa yalancı olarak normal ya da yüksek çıkabilir
- ▶ Ferritin bir akut faz reaktanıdır ve inflamasyon, infeksiyon, uzun süreli açlık, KBY, hematolojik malignansi varlığında düzeyi artar ve mevcut olan demir eksikliğini maskeler.

C- REAKTİF PROTEİN (CRP)

Kalsiyum iyonlarının varlığında *S.pneumoniae*'nin C-polisakkaridi ile presipitasyon veren bir akut faz serum proteinidir.

- ▶ CRP sağlıklı bireylerin serumunda çok az miktarda bulunur (<1mg/dl)
- ▶ Gün içerisinde değişiklik göstermez.

CRP

- ▶ Akut enfeksiyonlar, romatolojik hastalıklar, maligniteler ve Mİ gibi doku hasarı olan durumlarda artar.
- ▶ İnflamasyondan 4-6 saat içerisinde artmaya başlar.
- ▶ 24-48 saatte max ulaşır.
- ▶ Doku hasarı devam ettiği süre boyunca yüksek kalır.
- ▶ Yarı ömrü 4-7 saattir.
- ▶ 3-7 gün içinde normale döner.

PROKALSİTONİN (PCT)

Prokalsitonin, kalsitonin hormonunun bir prohormonudur.

- ▶ PCT proteolitik reaksiyonlar ile kalsitonine dönüşür.
- ▶ Endotoksin ve sitokinlerin etkisi altında bu son proteolitik basamak inhibe olur.
- ▶ Normalde ise tüm PCT parçalanır. Kan dolaşımına katılmaz. Sağlıklı bireylerde PCT düzeyi 0.05 ng/ml'nin altındadır.
- ▶ CRP'nin aksine nekroz, inflamasyon ve viral enfeksiyonlarda önemli bir artış görülmez.
- ▶ Bakteriyel enfeksiyonlara özgün olduğu kabul edilir.

B-(1-3)-D GLUKAN TESTİ

- ▶ Yüksek riskli hematolojik hastalarda invazif fungal infeksiyonların tanısı için plazmada beta-glukan testine bakılması önerilir.
- ▶ Beta glukan GM'den daha önce pozitifleşir.
- ▶ Candida enfeksiyonlarında
- ▶ Mukor ve kriptokok da negatif

GALAKTOMANNAN

- ▶ Aspergillus için spesifiktir.
- ▶ Akut enfeksiyon sırasında kan dolaşımına saçılır

IFI için potansiyel erken tanı yöntemi (Cut-off 0.5 Haftada 2 kez)

- ▶ Serumda ve diğer vücut sıvılarında yapılabilir

BAL, BOS, İDRAR

- ▶ Nötropenik hastalarda aspergillozise yönelik takip amaçlı kullanılmaktadır.

GM Yalancı pozitiflik nedenleri

- ▶ GM çeşitli besinlerde bulunabilir tahıllar, pirinç, makarna, konserve ve katkı maddeleri • Mısır gevreği • Ekmek • Makarna • Pirinç • Kek • Hindi • Sosis • Cips • Krem karamel
- ▶ Barsaklardan translokasyon
- ▶ Penicillium ve Paecilomyces türleri ile çapraz rxn
- ▶ Bazı antibiyotikler (Piperasilintazobaktam • Ampisilin-sulbaktam • Amoksisilin-klavulanat kombinasyonlarının eşzamanlı kullanımı)
- ▶ Bifidobacterium türleri (süt ve süt ürünleri)

CMV

- ▶ Sero-epidemiyolojik çalışmalar gelişmiş ülkelerde erişkinlerin %50-70'inin, gelişmekte olan ülkelerde ise %100'ünün CMV'ye karşı antikor oluştuğunu göstermektedir.
- ▶ Latent enfekte şahıslar yaşam boyu virüsü ekstrete etmekte ve immunsupresyon olmadıkça başka bir sorun oluşmamaktadır.
- ▶ Kök hücre nakli yapılan hastalarda reaktivasyon şeklinde hastalığa neden olabilmektedir.
- ▶ Ölçümünde en sık kullanılan yöntem PCR ile DNA

CMV

- ▶ CMV enfeksiyonu:

Herhangi bir semptom olmaksızın virüsün veya viral antijenlerin veya viral nükleik asitlerin kan, vücut sıvıları veya dokulardan izole edilmesi durumudur

- ▶ **CMV hastalığı: CMV enfeksiyonu + SEMPTOM**

CMV

- ▶ En iyi takip PCR ile CMV-DNA düzeyi izlemi
- ▶ CMV-DNA'nın pozitif saptanması reaktivasyon göstergesi
- ▶ Reaktivasyon saptanması ile premedit tedavi başlama önerisi CMV-DNA kopya düzeyine göre karar verilmelidir
- Kaç kopya üzeri? **Standart yok**
 - ❖ CMV-DNA düzeyi dalgalanmalı seyir gösterir, ardışık izlemde **düzye artışıının** saptanması anlamlı
 - ❖ **Transplant merkezi deneyimine göre yapılmalı**

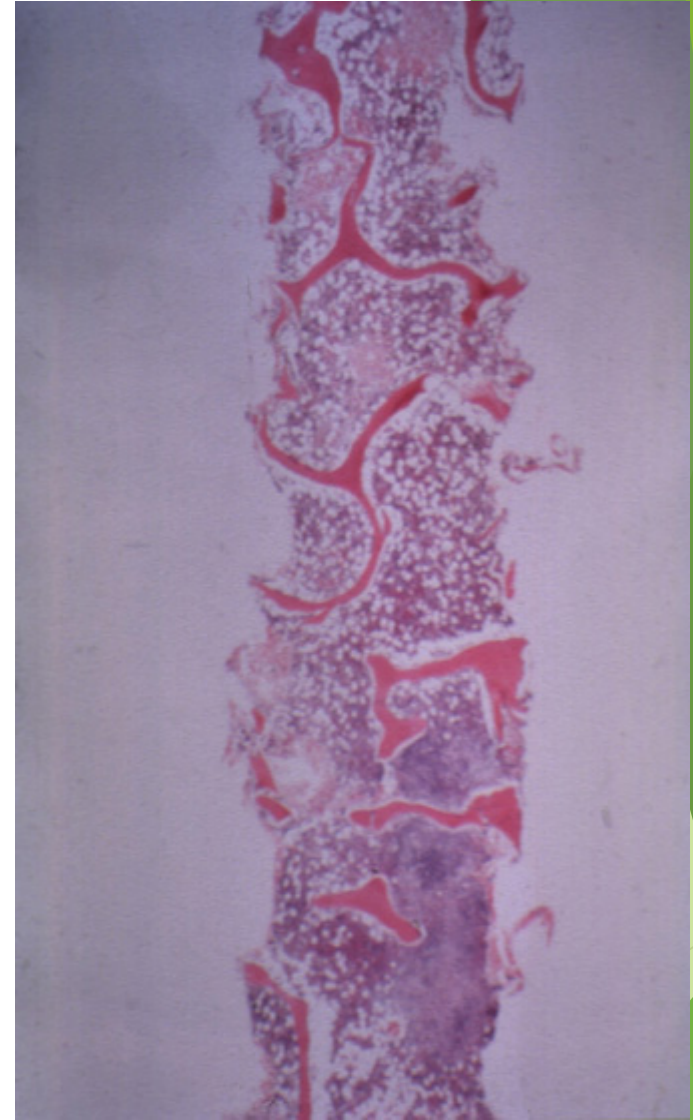
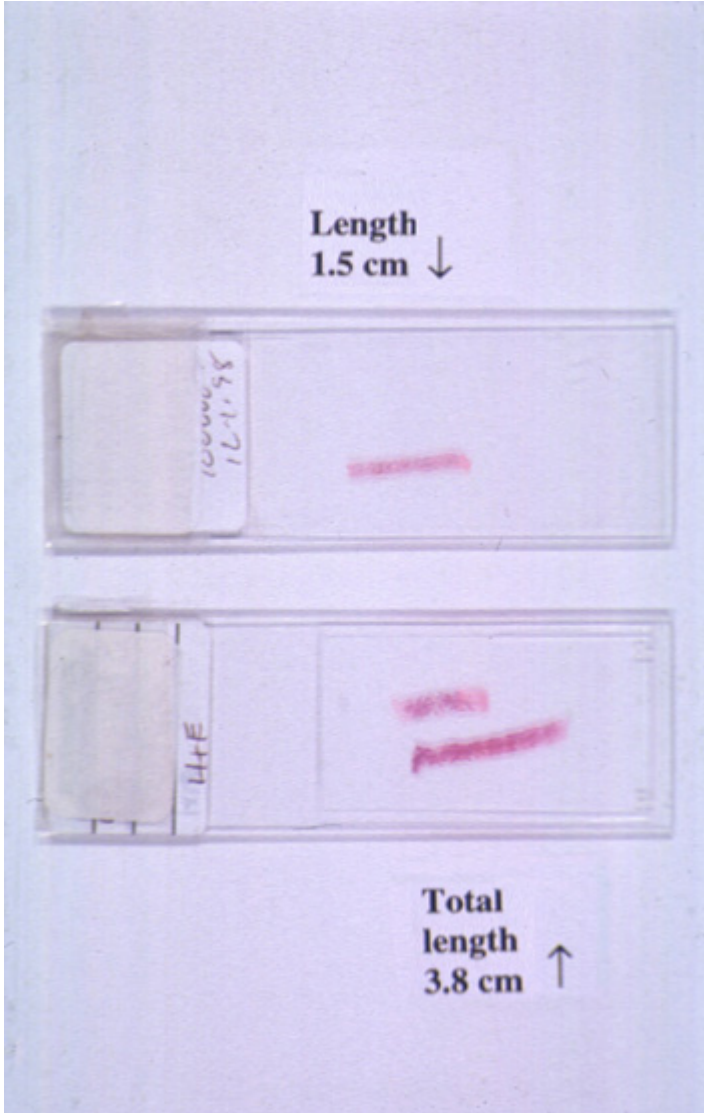
KEMİK İLİĞİ ASPİRASYON VE BİYOPSİSİ



Puncture site
over iliac crest

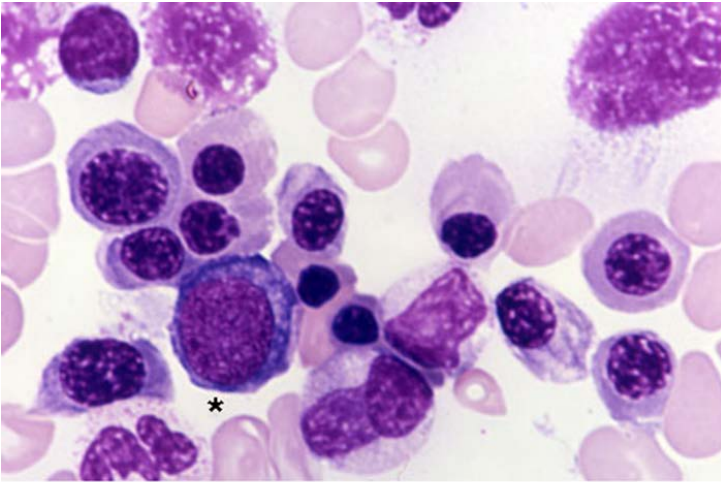


- ▶ **Kemik iliği aspirasyonu** : Erişkinlerde corpus sterni veya Spina İliaca Posterior Superior
- ▶ **Kemik iliği biyopsisi**
- ▶ Hücre miktarı/yağ hücresi miktarı
- ▶ Eritropoietik aktivite ve matürasyon
- ▶ Granülopoietik aktivite ve matürasyon
- ▶ Miyeloid-eritroid oranı 3-5/1
- ▶ İlikte yabancı hücre, inflamasyon, nekroz varlığı
- ▶ İliğin demir içeriği
- ▶ Megakaryositler
- ▶ Lenfositler
- ▶ Plazma hücreleri
- ▶ Monositler

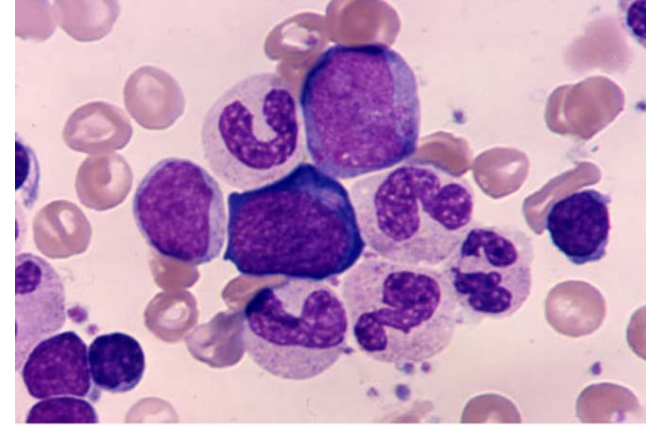


Kemik İliği Biyopsisi

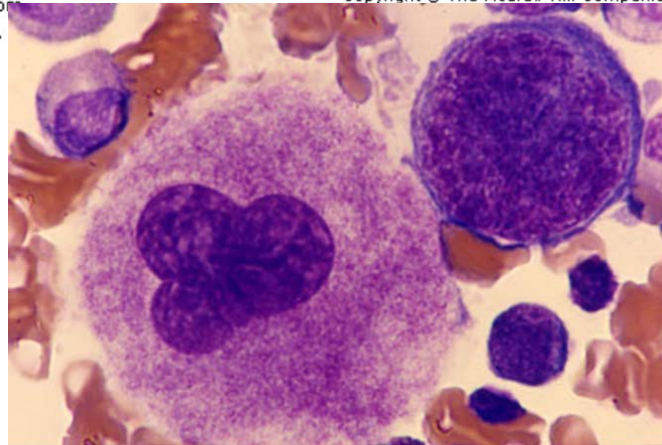
Kemik iliği aspirasyonu tıpkı periferik yayma gibi boyanır ve lökosit formülü sayar gibi çekirdekli hücreler sayılır. Ortalama 200-500 hücre sayılır, yapılan bu hücre ayırımına miyelogram denir



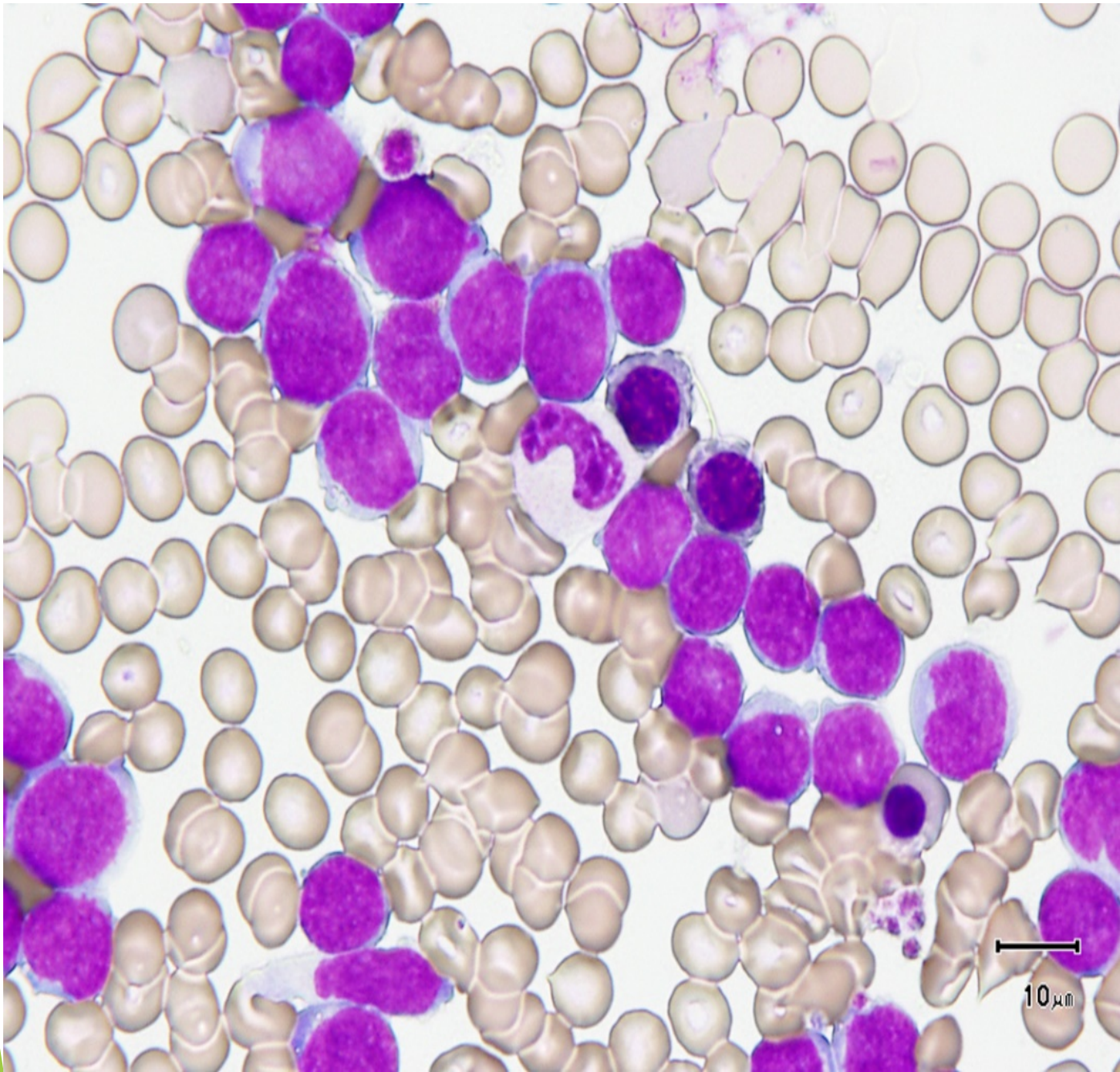
Source: Lichtman MA, Shafer MS, Felgar RE, Wang N:
Lichtman's Atlas of Hematology: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Lichtman MA, Shafer MS, Felgar RE, Wang N:
Lichtman's Atlas of Hematology: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Source: Lichtman MA, Shafer MS, Felgar RE, Wang N:
Lichtman's Atlas of Hematology: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



KEMİK İLİĞİNDEN GÖNDERİLEN TESTLER

- ▶ Flow sitometri
- ▶ Kimerizm analizi
- ▶ Konvansiyonel sitogenetik
- ▶ Fişh
- ▶ PCR testleri

AKIM SİTOMETRİ(FLOWSİTOMETRİ)

- ▶ Bir solüsyon içindeki hücrelerin yüzeylerindeki veya sitoplazmasındaki veya nükleusundaki antijenlerin immünfloresan yöntemi ile tespiti
- ▶ Çalışmadan önce hücreler üzerindeki antijenik yapıları (CD) belirlemek için **floresan boyarla işaretli monoklonal antikorlarla** inkübe edilir. Hücrelerin üzerinde bakılması istenen antijen ekspresyonları, genellikle 1'den fazla antijenin aynı anda bakılabildiği yöntemdir
- ▶ Lösemi ve lenfomaların immünfenotiplemesi,PNH tanısında
- ▶ Hematopoetik Kök Hücre sayımı
- ▶ Hücre yüzeyindeki antijenik yapıları (CD'leri) floresanlı monoklonal antikorlarla saptayarak hücrenin tipini belirleme yöntemi,

KİMERİZM



KİMERİZM

Genetik olarak farklı olan iki hücre serisinin aynı organizmada bulunmasına denir.

Kan transfüzyonları, kök hücre nakilleri, solid organ nakilleri, invitro fertilizasyon gibi tedavi seçeneklerinde edinsel kimerizm ortaya çıkabilir.

- Hemotopoietik KHN'de kimerizm, Allo-KHN den sonra donör kaynaklı lenfohematopoietik hücrelerin alıcıda bulunması şeklinde tanımlanır.
- **Engrafman başarısını görmek**
- **Relapsı öngörmek ve kökenini tanımlamak**
- **Graft reddini değerlendirebilmek için**

- Allo-KHN den sonra görülen kimerizm donör ve/veya alıcıdan köken alan hücrelerin varlığına göre değişik şekillerde gelişebilir;
- Kimerizm dinamik bir olaydır.!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!
- Tam Kimerizm (TK) “Complete Chimerism/Full Chimerism Genel olarak alıcının hematopoietik dokularında donör kaynaklı hücrelerin >%95 bulunması
- Karma Kimerizm(KK) ”Mixed chimerism” %5-95 arasında bulunması olarak ifade edilir.
- Otolog geri dönüşüm Artan KK bazen sadece alıcı tipi hücrelerin oluşması ile sonlanabilir .

Tam Kimerizm (TK) “Complete Chimerism/Full Chimerism Genel olarak alıcının hematopoietik dokularında donör kaynaklı hücrelerin >%95 bulunması

**BENİMLE ÖMÜR GEÇERMİ Kİ DEDİM .SENLE GEÇİRMeye
ÖMÜR YETERMİ? DEDİ. İŞTE BU BANA BİR ÖMÜR YETTİ.**

Özdemir Asaf

Karma Kimerizm(KK) "Mixed chimerism" alıcının
hematopoietik dokularında donör kaynaklı
hücrelerin %5-95 arasında bulunması olarak ifade
edilir.

"Ben sana hep üşüyordum,
Çünkü kııştım.
Nakıştım, bakıştım.
İnkar etmiyorum da bunu,
Seni sevmek gibi büyük işlere kalkıştım.
Ve lütfen inkar etme;
Sana en çok ben yakıştım."

Özdemir ASAF

Otolog geri dönüşüm: Artan Karma Kimerizm bazen sadece alıcı tipi hücrelerin oluşması ile sonlanabilir .

“Ben” kattım sana biraz,
Öyle sevdim seni..
Çünkü sen de bensiz;
O kadar güzel değilsin hani..

.

.

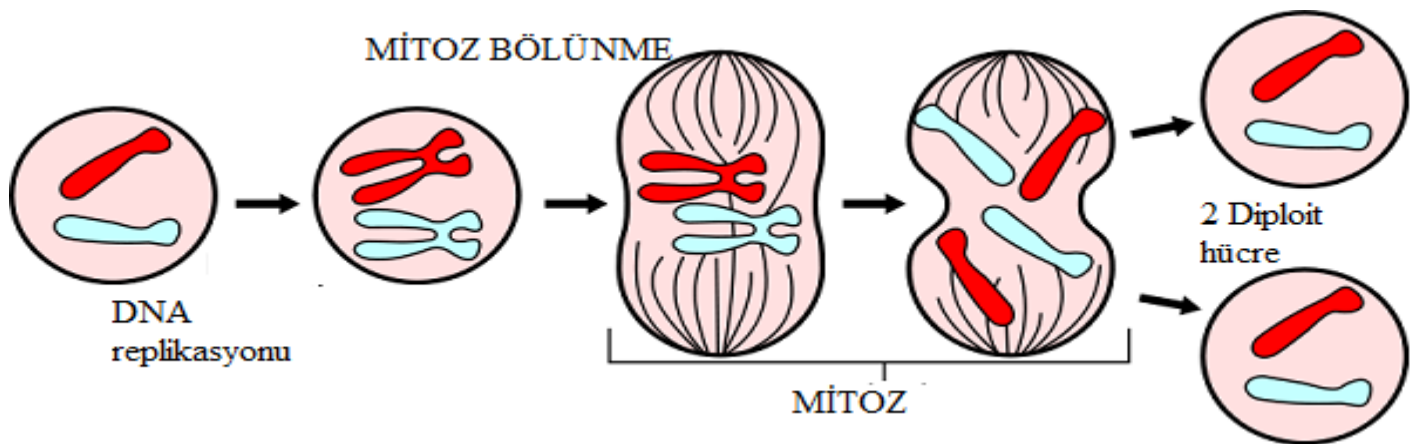
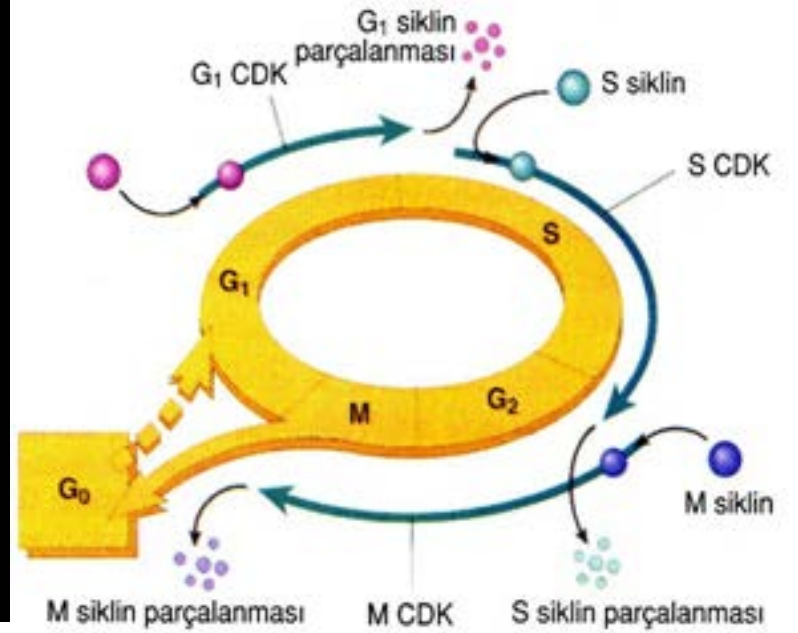
senden beni çıkarınca nasılda
herkessin

Özdemir asaf



“OĞLAN DAYIYA, KIZ HALAYA ÇEKER”

GREGOR MENDEL



Genetik Tanı Yöntemleri

Sitogenetik Tanı Yöntemleri

Klasik sitogenetik (Konvansiyonel)

Özelleşmiş sitogenetik tanı yöntemleri

Sister Chrometid Exchange (SCE)

Mikronukleus

Frajil bölge tayini

FISH

Flow Karyotipleme

Moleküler Tanı Yöntemleri

PCR

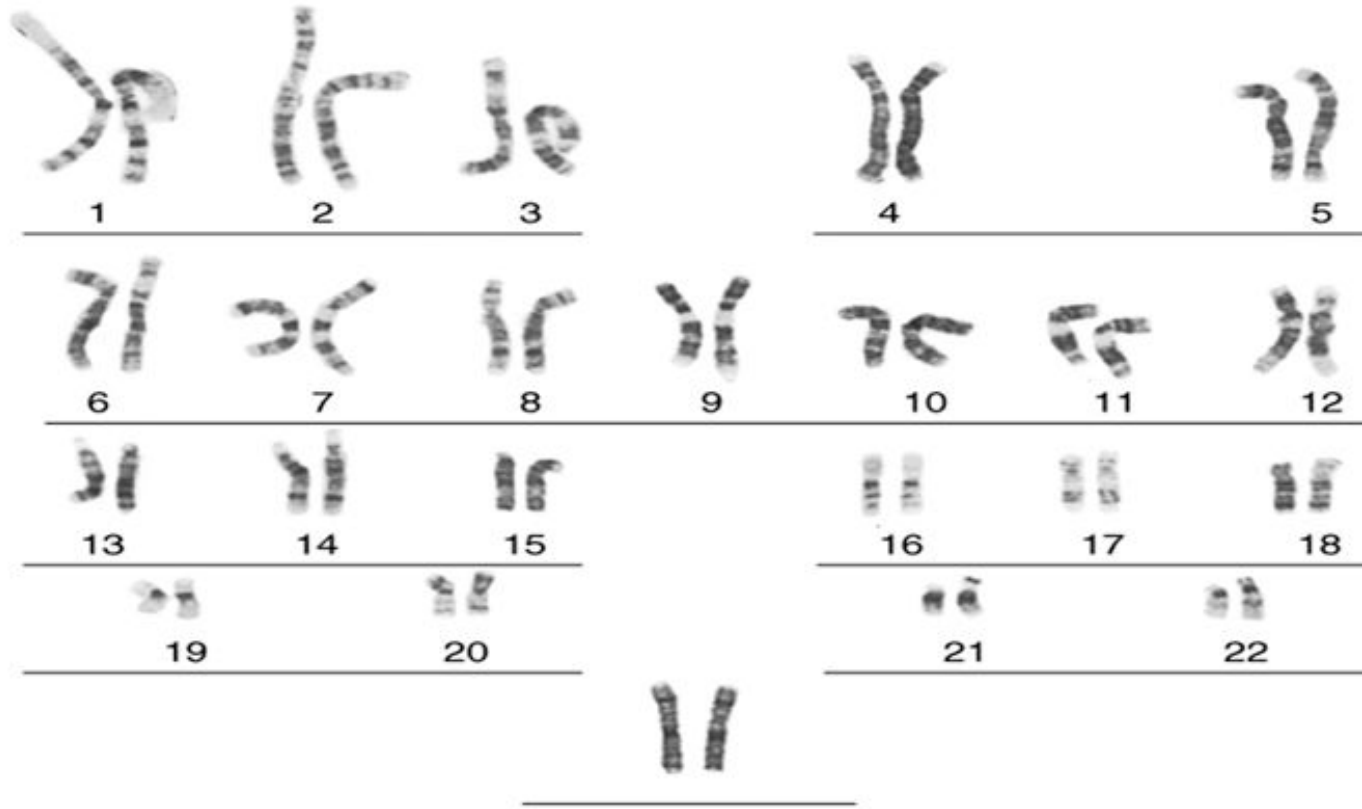
Allel-spesific Oligonucleotid (ASO)

DNA dizi analizi

Mikroarray analiz

Yeni Nesil DNA Dizileme (Next generation Technologies)

Karyotip



Sex chromosomes

Fetal karyotype (normal female)

Homolog kromozom çiftlerinin büyüklüklerine göre düzenlenerek haritalanmasıdır.

Örnek karyotip sonucu:

46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[18]/46,XX[2]

Kadın

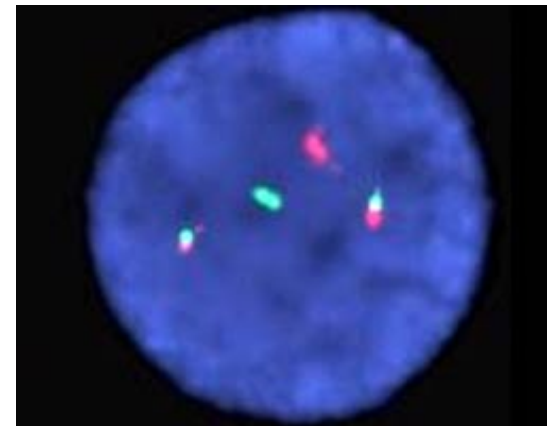
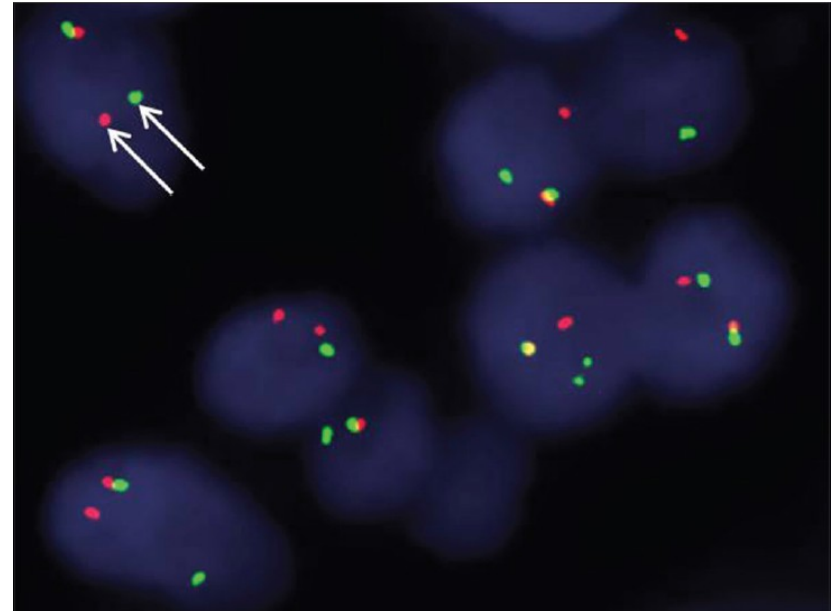
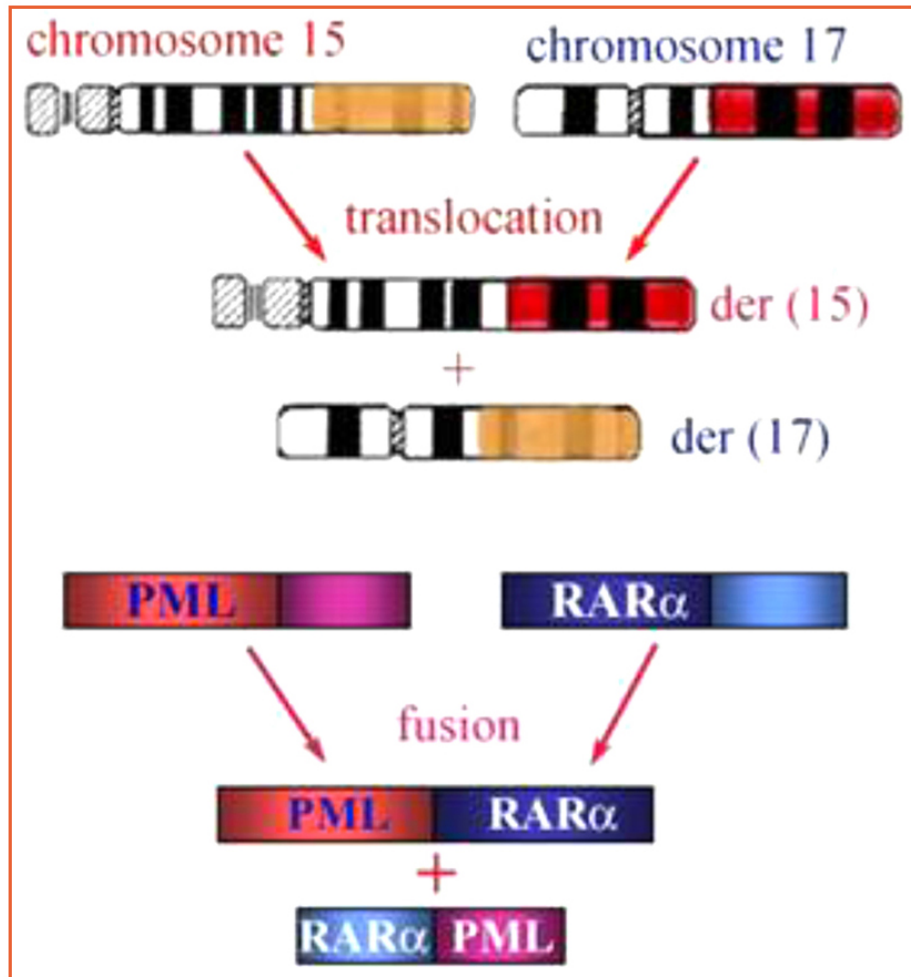
18 metafazda translokasyon var

2 metafaz normal karyotipte.

FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION (FISH)

- ▶ **Hibridizasyon: Benzerini bulma**
- ▶ In situ hibridizasyon: Aranılan kromozom/kromozom bölümünün, buraya bağlanabilen moleküller (Prob) kullanarak saptanan bir yöntem.
- ▶ Problar radyoaktif ya da **floresans** maddelerle işaretlenebilir
- ▶ FISH: Kromozomların belirli bölümlerinin (hedef) ya da tamamının floresan veren problar kullanılarak belirlenmesi
- ▶ **Sitogenetik ve moleküler yöntemleri bir araya getirir.**

t(15;17) PML-RAR α



Polimerize zincir reaksiyonu PCR

- Belirli bir DNA segmentinin invitro ortamda çoğaltılmasıdır
- Hematolojik tanı ve tedavi kararında, izlemde önemlidir
- HLA doku grubunun saptanması
 - Clas-I: A, B, C
 - Clas-II: DR, DP, DQ lokusları
- Kimerizm tayini
- CMV antijenemi
- Bcr- abl

PCR'ın Hematolojide Kullanımı

Gen düzeylerinin saptanması

- BCR/ABL
- AML1/MTG8
- PML/RARalpha
- CBFbeta/MYH11
- TEL/AML1,
- E2A/PBX1
- MLL/AF4
- MLL/AF9
- TCR gen defektleri
- Apoptozis (Bcl, bax...)

Hereditör trombofili

Faktör V,
Protrombin gen mutasyonları

Hemoglobinopati

Hemokromatoz

Enzim düzeyleri (CYP2D6)



Bazen rüzgarın saçımı
dağıtmasına,
yağmurun yüzümü
ıslatmasına, birilerinin
kalbimi kırmasına izin
veririm sonra;
Saçımı TOPLARIM,
Şemsiyemi AÇARIM,
Kalbimi KAPATIRIM
Hepsi bu...

Can Yücel

TEŞEKKÜR EDERİM