

## Kayıplara Bağlı Oluşan Anemiler

## Anemi

Anemi,

Eritrosit kitlesinin veya kan Hemogloblin/hematokrit konsantrasyonunun azalması sonucu ortaya çıkan bir bulgu / hastalıktır

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü farklı yaş ve cinsiyete göre anemi eşik değerleri.

Yaş ve cinsiyet	Hb eşik değeri (g/dL)
Çocuk (0,5-5 yaş)	11
Çocuk (5-12 yaş)	11,5
Çocuk (12-15 yaş)	12
Kadın (gebe olmayan ve >15 yaş)	12
Kadın (gebe)	11
Erkek (>15 yaş)	13

## Anemi Belirtileri

- Solukluk
- Halsizlik,
- Üşüme
- Baş dönmesi,
- Çarpıntı
- Saç, tırnak, deri bozuklukları
- Dudak kenarlarında çatlama ; tat alma boz.
- Toprak, sıva, buz vb yeme isteği (Beslenme bozukluğu kaynaklılar)
- .....

## Anemilerin Sınıflanması

### ■ Morfolojik olarak sınıflama

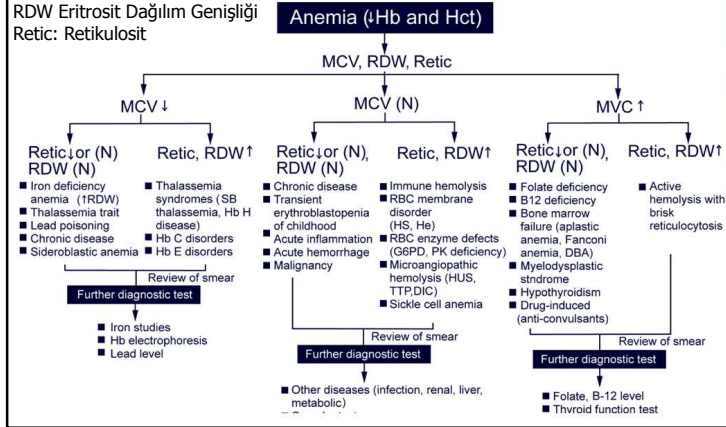
- MCV: <80 fL: **Mikrositer**
- MCV: 80-100 fL: **Normositer**
- MCV: >100 fL: **Makrositer**

### ■ Sebeplerine Göre Sınıflama

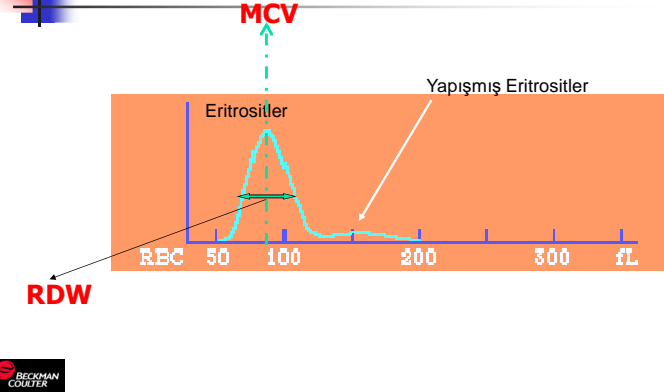
- Eritrosit Üretiminde azalma
  - Beslenme Bozuklukları
  - Kemik İliği Yetmezlikleri
  - Eritrosit Yapımını sağlayan hormon eksiklikleri
  - Etkin olmayan bir eritrosit yapım süreci (gelişim b.)
- Eritrosit yıkımında Artma
  - Damar dışı
  - Damar içi

## Anemiler-Sınıflama

MCV: Ortalama eritrosit Hacmi  
RDW Eritrosit Dağılım Genişliği  
Retic: Retikülosit



## Coulter, RBC Histogramı



Kayıplara Bağlı Oluşan Anemilerin iki temel sebebi :

1. Kanamalara bağlı kayıplar
2. Dolaşımdaki eritrositlerin yıkımının artması ( **Hemolitik Anemi** )

## Hemolitik anemi

Eritrositlerin

- Damar içinde (**intravasküler**) veya
- Dalak- karaciğerdeki (**ekstravasküler**) yıkımlarına bağlı oluşan anemilere hemolitik anemi denir.

## Eritrositlerin kendisinden kaynaklanan Hemolitik Anemiler

- Hemoglobinin yapısal bozuklukları (Orak hücre, HbC hastalığı...)
- Hemoglobin sentezindeki anomaliler (Talasemiler)
- Eritrosit enzim bozuklukları (Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz eksikliği...)
- Eritrosit membran anomalileri (Ör: konjenital sferositoz)

## Eritrosit Dışı Faktörlerden kaynaklanan Hemolitik Anemiler

### İMMUN HEMOLİTİK ANEMİLER

- İzimmün antikorlar (Ör: ABO kan uyumsuzluğuna bağlı görülen reaksiyonlar)
- Otoimmün antikorlar(ör: soğuk aglutininler)

### İMMUN OLMAYAN HEMOLİTİK ANEMİLER

- İlaçlara bağlı gelişen hemoliz(ör:alfa metil dopa,)
- Travmaya bağlı gelişenler(mikroanjyopatik) (ör:yaygın damar içi pıhtılaşma durumu)
- Kompleman ile aşırı etkileşim sonucu yıkımlar (Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri)
- Toksinler(ör:kurşun, bakteriyel toksinler)
- Parazitler(ör:sıtma)
- Hipersplenizm (ör: dalağın büyümesi sonucu aktivitesinde artış)

## İMMUN OLMAYAN HEMOLİTİK ANEMİLER

- Mekanik nedenler (örneğin yapay kalp kapağı, yaygın damar içi pıhtı oluşumu.....)
- Hiper splenizm (Dalağın aşırı Büyümesi ile)
- Akantositoz (kalıtsal, son dönem karaciğer hastalıkları, aşırı açlık...)
- Fosfat düzeylerinde ileri derecede azalma (açlık, alkolizm...)
- Bakır zehirlenmesi, Wilson hastalığı
- Yılan zehiri
- Şiddetli yanıklar
- Bazı enfeksiyonlar(ör:sıtma)
- İlaçlara bağlı gelişen hemoliz (ör:alfa metil dopa,)
- Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri (PNH) nedenleriyle görülebilir.

## Hemolitik Anemilerde Laboratuvar Testleri:

- Retikulosit sayısı
- Laktat dehidrogenaz (LDH)
- Serum haptoglobulin düzeyleri
- Plazma methemalbumin düzeyleri
- İdrar veya plazma serbest hemoglobin düzeyleri
- Direkt coombs' testi
- Serum indirekt (konjuge olmamış) bilirubin düzeyleri
- Eritrosit ömrünün ölçülmesi
- Hemoglobino patilerin tespiti (moleküler yöntemler, elektroforez, HPLC.....)
- Ozmotik frajilite
- Plazma methemoglobin düzeyleri (Fe<sup>+2</sup> yerine Fe<sup>+3</sup> bağlamış Hb)
- Enzim anomalilerin moleküler yöntemlerle tesbiti
- Pertiferik Yayma bulguları ( polikromazi, sferositoz, Heinz cisimcikleri, bazofilik noktalanma, hedef hücreler, MCV; şekil anomalileri.... )
- Tam kan sayım bulguları (eritrosit parametreleri)

## Retikulosit sayımı

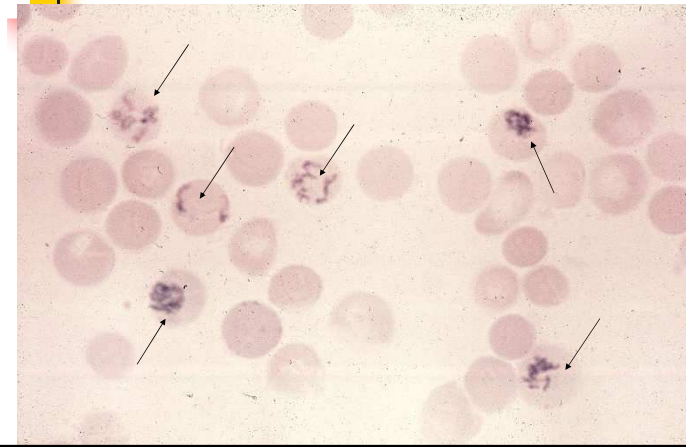
- Retikulosit Sayısı hemen her zaman artmıştır.
- En yüksek değerler akut hemoliz olaylarında.
- Olguların %20-25inde değerler, referans aralığı içinde bulunur.
- Retikulosit oranının **%5 in üzerinde** olması hemolitik anemiye destekler .
- Ani kan kayıplarında (kanamalar) değerler bu kadar yükselebilir.
- Hemolizin tespiti için tarama testi olarak kullanılmaktadır.

## Retikulositler

Retikulositler, sitoplazmik RiboNükleik Asit ( RNA) ve mitokondria, ribosom gibi organel kalıntıları taşıyan immatür eritrositlerdir

Retikulosit terimi, bu hücrelerin metilen mavisi gibi RNA ile çapraz bağlar oluşturan, diğer organelleri çöktüren boyalarla **koyu mavi ağısı görünümde çöküntüler** göstermelerinden kaynaklanır.

## Retikulositler: Yeni metilen mavisi ile boyanma

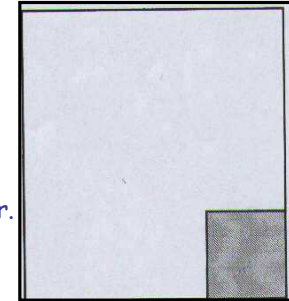


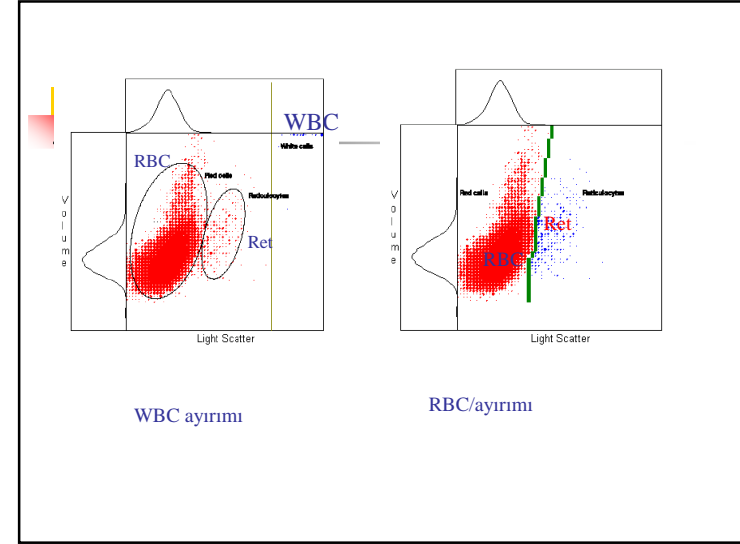
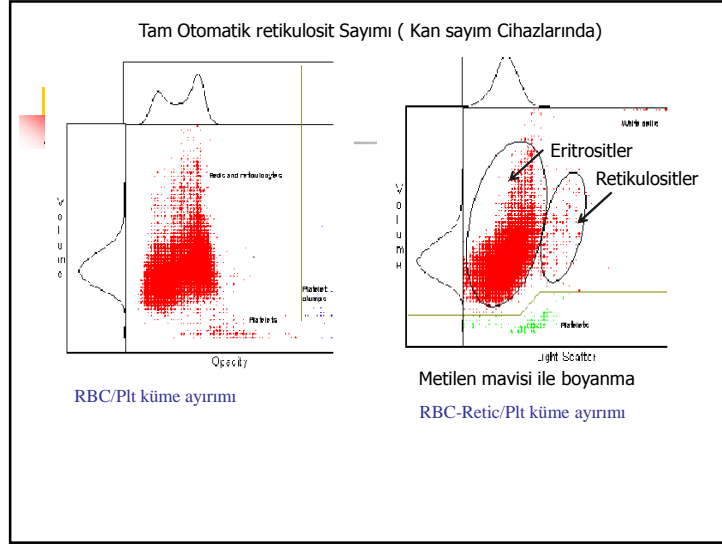
## Manuel Ölçüm

- **MİLLER OKÜLER DİSKİ**
- Küçük kare, büyük karenin 1/9u  
Küçük karede: **eritrositler**  
Büyük karede: **retikülositler** sayılır.

Retikülosit sayısı formülden bulunur.

$$\%Ret = \frac{\text{Büyük karedeki retikülositler}}{\text{x100 Küçük karedeki eritrositler}} * 9$$



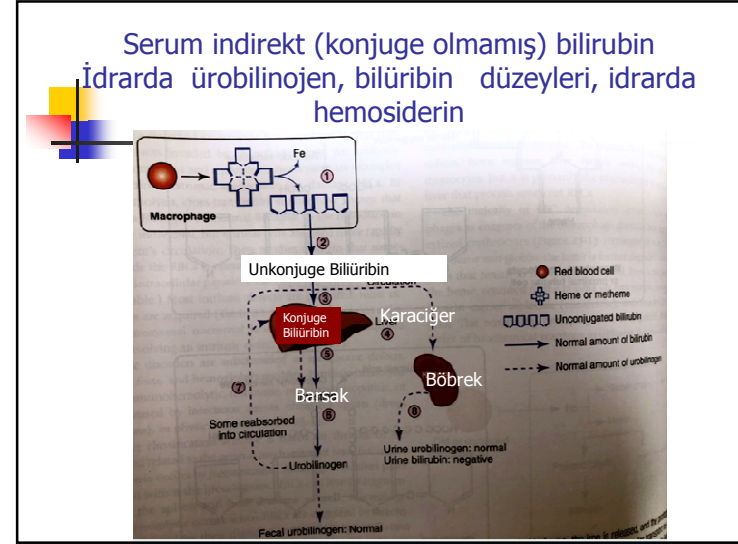
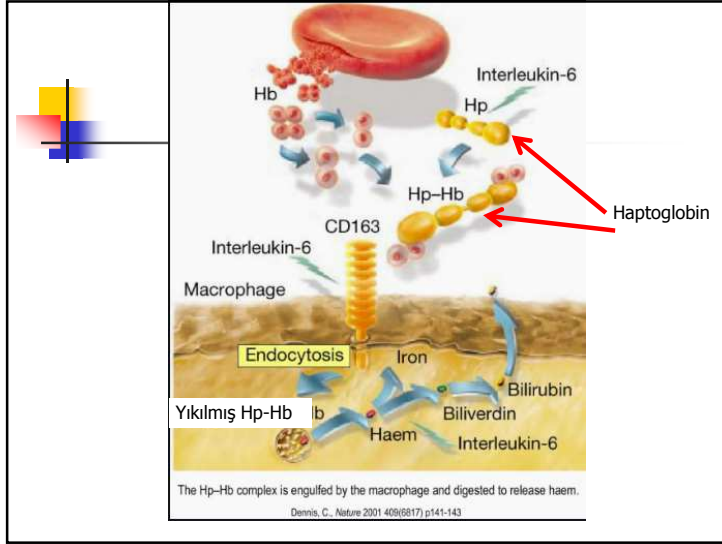


## Laktat dehidrogenaz (LDH)

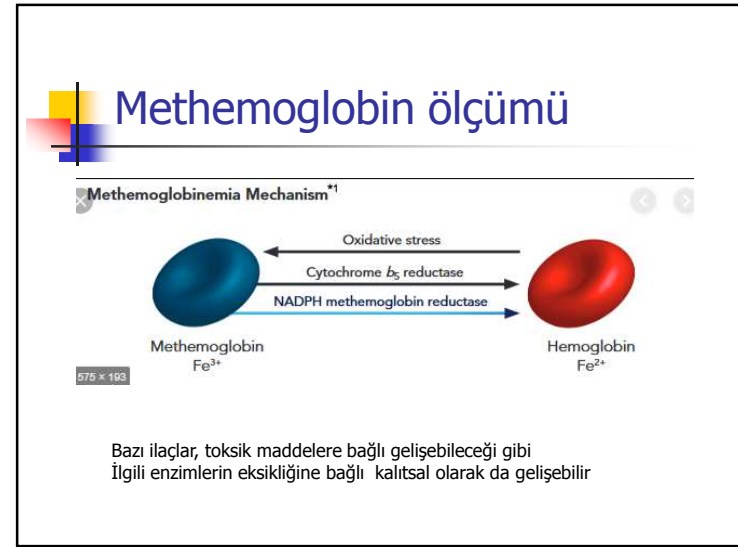
- Serumdaki LDH'nın çeşitli izoenzimleri var
- **LDH-1** izoenzimi eritrositlerden kaynaklanan izotiptir. LDH-1 deki artış serum LDH düzeylerine de yansır.
- Retikulosit sayımı gibi tarama testi olarak kullanılır.
- Kan alma işlemindeki hatalı işlemler sonucu görülen hemoliz olaylarında serum LDH'ı hatalı olarak yüksek ölçülebilir.
- LDH, karaciğer hastalıklarında da arttığı için LDH-1, LDH-2 izoenzimleri ayrı ayrı ölçülerek hemoliz ayırıcı tanısı yapılabilir.

## Serum Haptoglobulin düzeyleri, Plazma Methemalbumin düzeyleri

- Haptoglobulin karaciğerde sentezlenir
- Dolayındaki serbest hemoglobine bağlanarak böbreklerden atılmasını sağlar.
- Hemoliz varsa dolayında serbest hemoglobin artar ve haptoglobine bağlanır. Hemolizden 8 saat kadar sonra hemoglobine bağlanıp atılması nedeniyle haptoglobulin düzeyleri serumda düşmeye başlar.
- Hemolizin hafif düzeylerde olması halinde haptoglobulin düzeyleri referans aralığında tespit edilebilir.
- Bazı demir eksikliği ve megaloblastik anemilerde, karaciğer hastalıklarında haptoglobulin düzeyleri hafifçe düşük bulunabilir.
- Haptoglobulin, akut faz reaksiyonunda artan bir protein olduğundan yangı durumunda artan haptoglobulin değerleri, hemolize bağlı azalmanın maskelenmesine sebep olabilir.
- Haptoglobulinin bağlama kapasitesi aşıldınca, serbest hemoglobin, albumin ile birleşerek; **methemalbumin** adı verilen bir kompleks oluşturur. Methemalbumin spektrofotometrik olarak tespit edilebilir.
- Methemalbumin varlığı şiddetli damar içi hemoliz habercisidir ve olayın devam ettiğini veya yakın zamanda olduğunu gösterir.



- ### Anormal Hemoglobinlerin Ölçülmesi
- Methemoglobin (MetHb)
  - Sulfhemoglobin (SHb)
  - Karboksi hemoglobin (HbCO)
  - ...
  - Spektrofotometre ile değerlendirilebilir



## Enzim Eksikliklerinin Tespit Edilmesi

- Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz
- Pirüvat Kinaz
- Sitokrom b5 redüktaz
- NADPH methemoglobin redüktaz
- .....

## Coombs Testi (Anti Human Globulin,AHG testi)

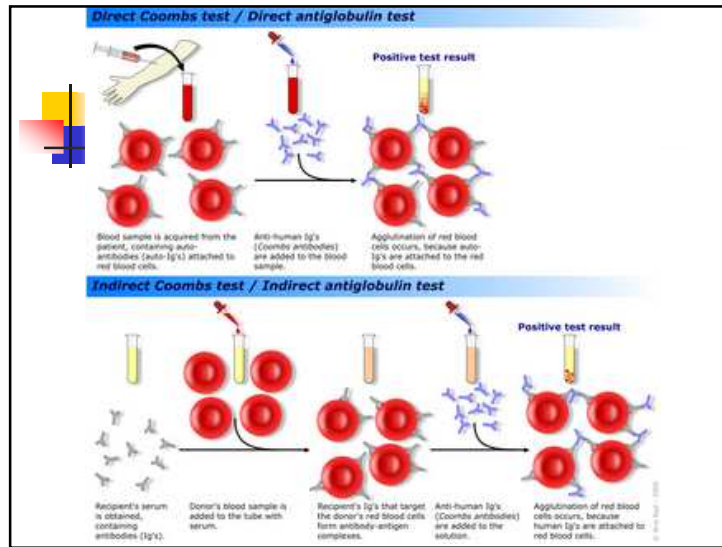
- Eritrositlerin yüzeyinde bulunan izoantikor ve otoantikorların tespit edilmesinde kullanılan bir testtir.
- Direkt Coombs testinin pozitif bulunması durumunda eritrosit yüzeyindeki antikorların özelliklerinin belirlenmesi için özel testler yapılır.

## Anti Human Globulin Testi

- Direkt (DAT) veya indirekt (IAT) yöntemlerle belirlenebilir
- Prensipten:  
Spesifik Anti Human Globulinler ( AHG'ler), yüzeylerinde bulunan immunglobulinler veya kompleman aracılığı ile sensitize olmuş eritrositler arasında bir köprü vazifesi yaparak onların agglutinasyonuna sebep olur
- Direkt testin amacı:  
Eritrositler üzerinde absorbe edilmiş (bağlanmış) antikorlar bulunup bulunmadığını test etmektir.

## İndirekt Antiglobulin Test(IAT) amacı:

- Antikorların taranmasıdır (test edilen serum, bilinen eritrosit reaktifleri üzerine eklenir)
- Antikorların tanımlanması için serum, bir dizi eritrosit reaktifine birlikte uygulanır
- Temelde alıcı ile verici arasındaki uyumun değerlendirilmesi için kullanılan bir testtir
- Zayıf D reaksiyonlarında veya diğer eritrosit antijenlerinde bilinen antiserumun , eritrositlerin üzerine eklenerek eritrositlerin yüzeylerinde serumun özgün olduğu antijeni taşıyıp taşımadıklarını anlamak amacıyla uygulanabilir.

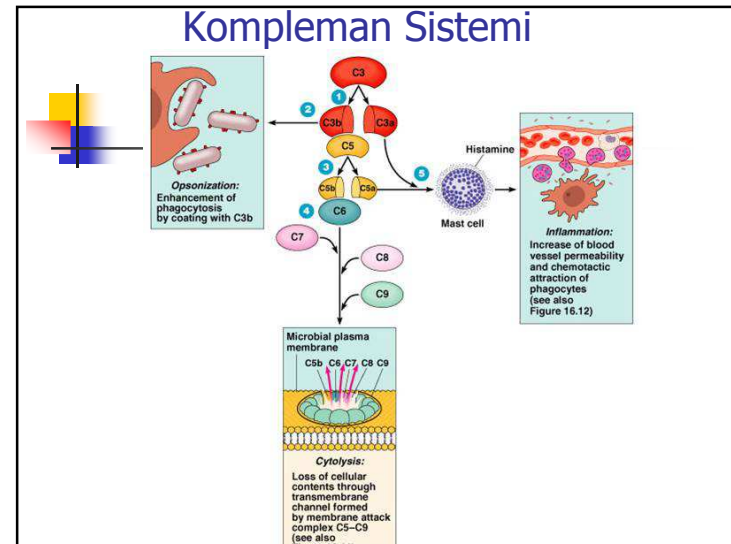
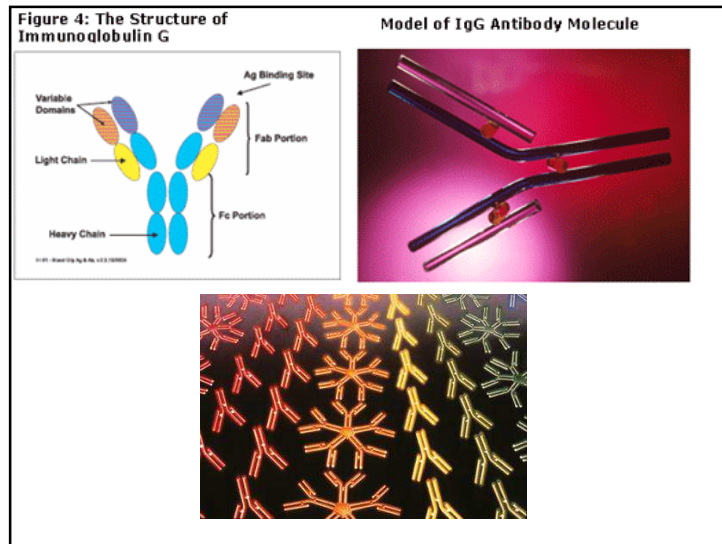


## Kullanılan Reaktifler(AHG)

- Geniş spektrumlu , Poliklonal, IgG yapısında (Ağır zincire özgün)
- Kompleman 3 (C3) yıkım ürünleri olan C3b ve C3d'ye özgün

olanlar birlikte kullanılmalıdır.

Kalitesi üreticilere göre değişebilir.  
Ancak tümünde **Anti IgG** ve **anti C3d** vardır





## Kullanılan Reaktifler(AHG)

- AGT çok duyarlı bir test olsa da negatif test sonucu eritrositlerde antikor bulunmadığının kanıtı olarak kullanılamaz
- Bu testle pozitif sonuç almak için bir eritrositin yüzeyinde en az 300-500 IgG veya C3 bağlanmış olmalıdır (daha düşük sayılarla sonuç negatif bulunur).

## Kalite kontrolü için:

- AGT testini satandardize edebilmek ve gerçekten negatif çıkan sonuçlardan emin olmak için İki tip kontrol hücresi (ERİTROSİT)kullanılır.
  - IgG ile kaplı olanlar
  - C3b ve/veya C3d ile kaplanmış olanlar

Gerçek negatif bir testte ortama eklenen AHG, serbest ve aktif olarak serumda kalır. Buna Göre:

DAT veya İAT testi ile negatif test sonucu alındığında tüplere kontrol hücresi eklenir

➤ **Kontrol hücrelerinin aglutine olması *serbest ve aktif* IgG varlığını (gerçek negatif reaksiyonu) doğrular**

➤ **Kontrol hücrelerinde aglutinasyon olmadıysa test tekrarlanmalıdır. Çünkü elde edilen negatif sonuç yalancı olabilir.**

BU çalışmalarda Eritrositlerin çok iyi yıkanmış olması büyük önem taşıyor

## İşlemlerin Özeti

### DAT

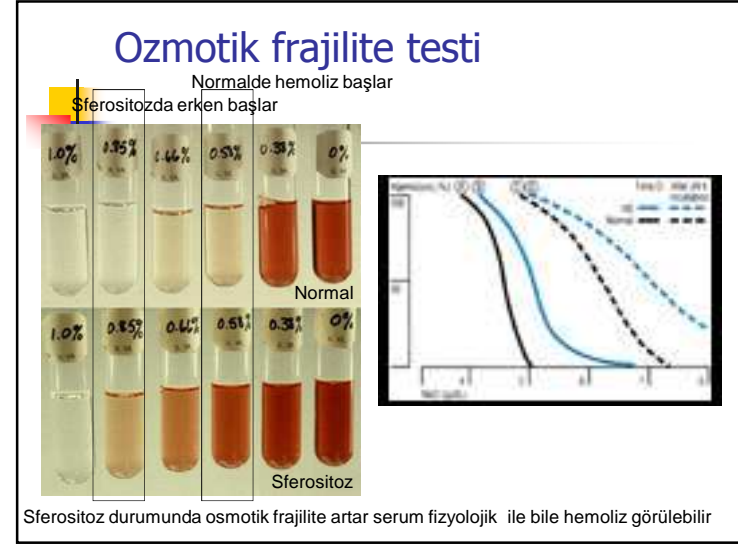
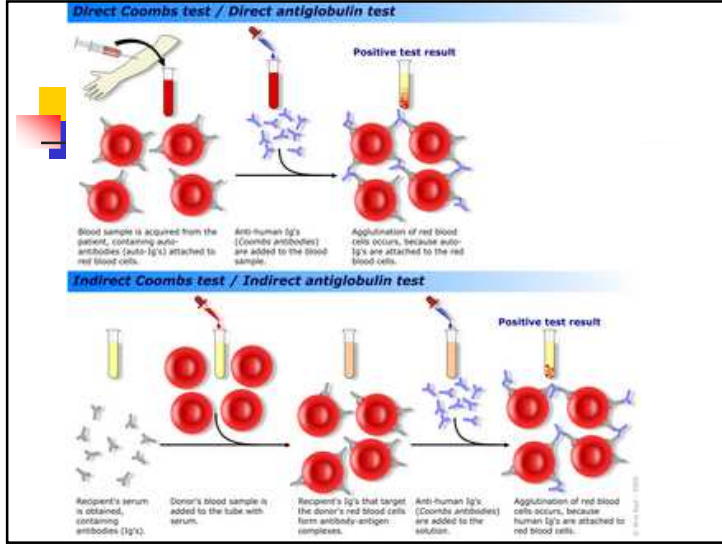
- EDTA lı kan örneğinden
- %3-5 lik eritrosit suspansiyonu hazırlanır
- Bunun 1 damlası 3-4 kez "serum fizyolojik"(saline) ile **yıkanır**
- Üstüne polispesifik AHG eklenir
- Enküb edilip sonuçlar değerlendirilir (Aglutinasyon?)

### IAT

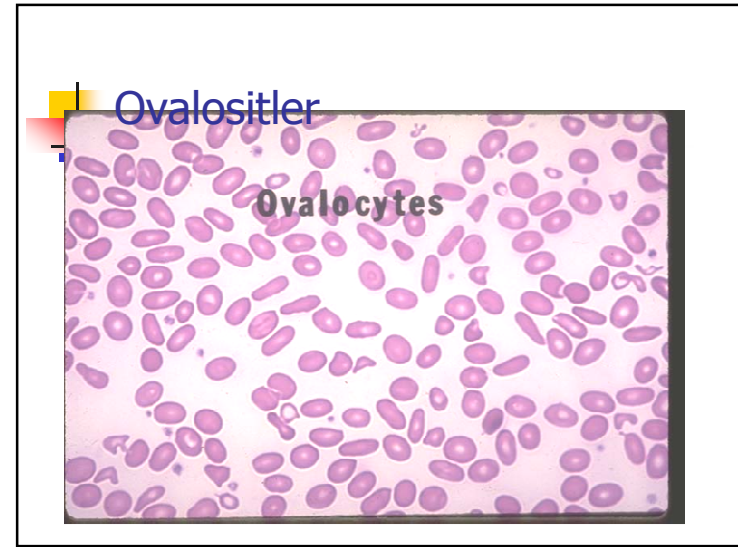
- Alıcı serumu, test hücreleri 37° C de enkübe edilir ve varsa serumdaki antikorların eritrositlere bağlanması sağlanır.
- Eritrositler mutlaka 3-4 kez serum fizyolojik ile yıkanmalıdır.
- İşleme DAT gibi devam edilir (AHG eklenerek enkübe edilir ve sonuçlar değerlendirilir)

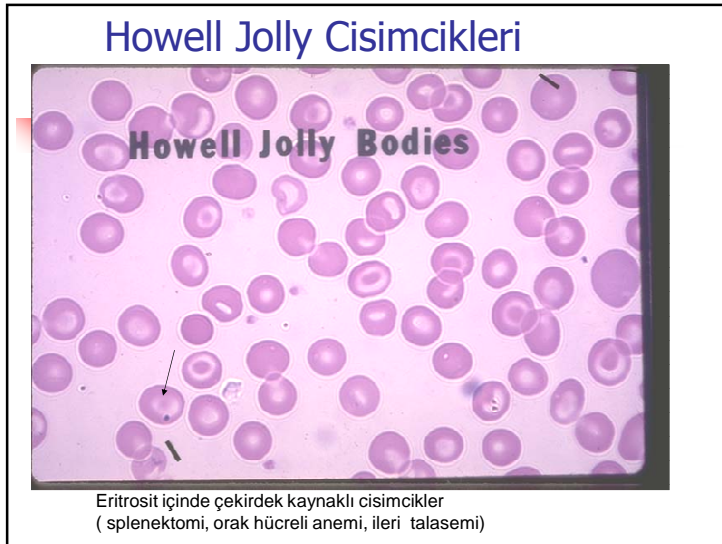
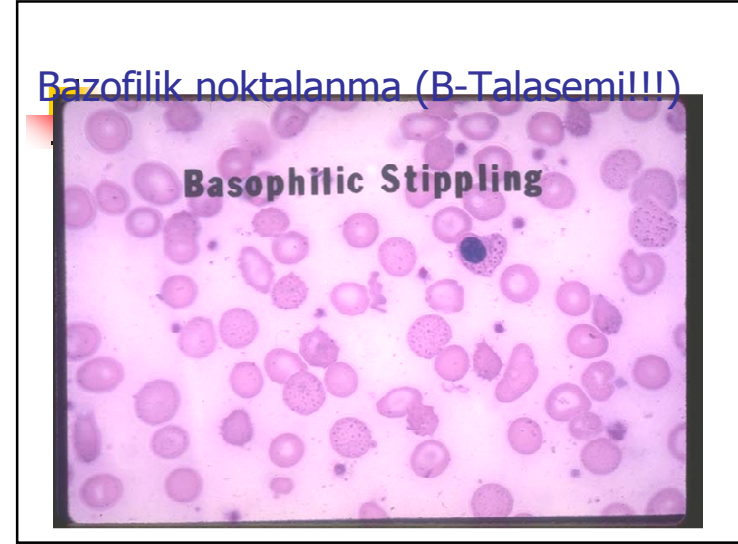
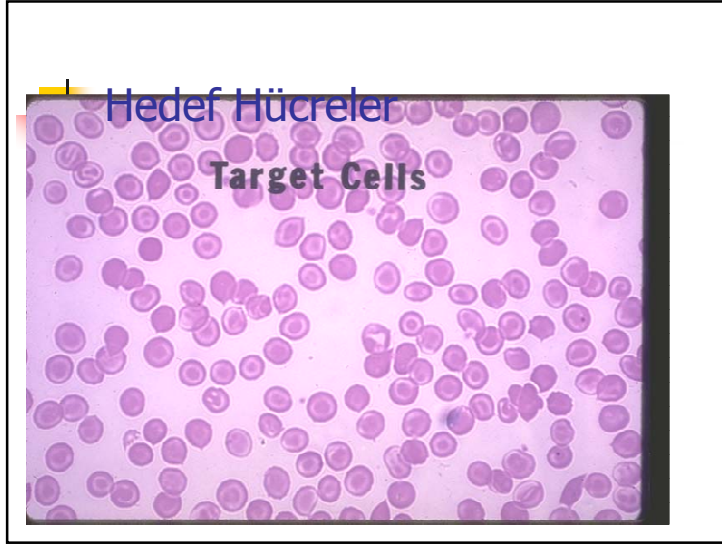
## Değerlendirme

- Skorlamanın kuralları belli olmalı
- Mikroskop ile değerlendirme yapılmalıdır.
- Kalite kontrol hücreleri ile negatif sonuçların doğrulanması gerekir

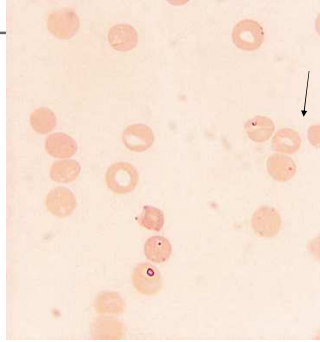


**Periferik Yayma Bulguları**





## "Heinz Body" cisimcikleri



Heinz body: Denature hemoglobini gösterir oksidan strese giren eritrositlerde ve stabil olmayan Hemoglobinlerin varlığında görülebilir (özel boyası ile) membrana sülfhidril gruplar ile asılır.

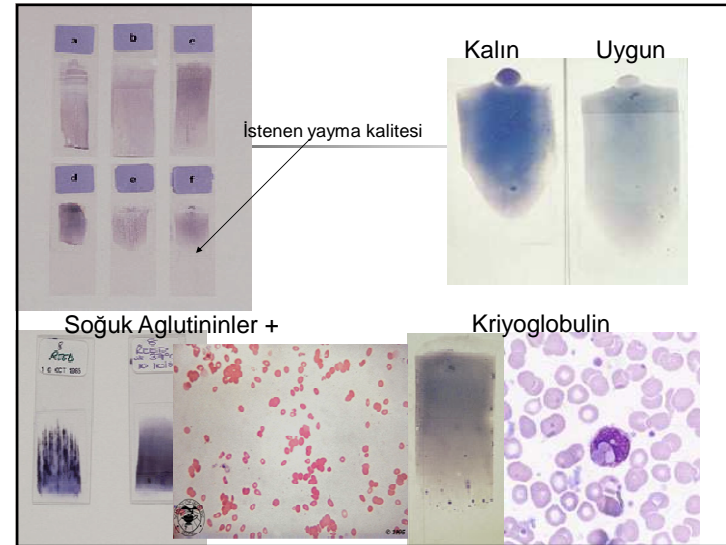
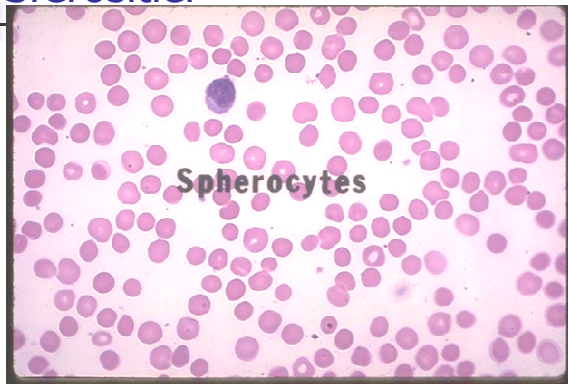
## Orak hücreler

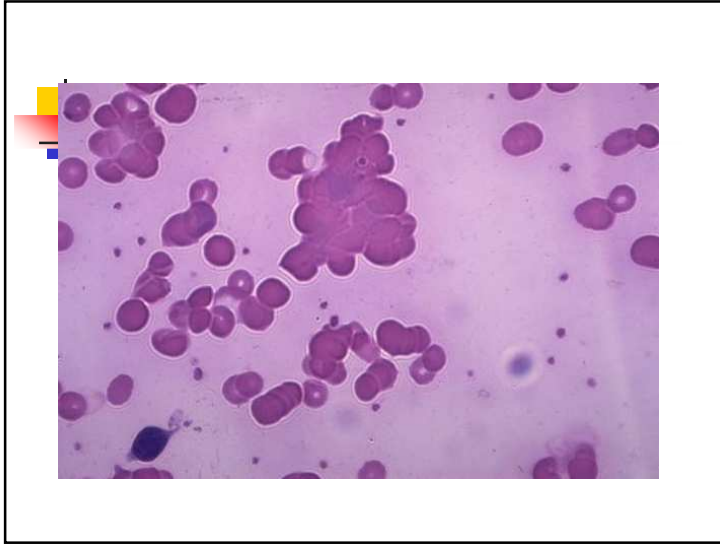
Sickle Cells



## Sferositler

Spherocytes





## Soğuk Agglutininlerin Tanınmasında Laboratuvar Bulguları:

- Eritrosit sayısında azalma
- MCV de artış
- MCHC de artış
- Yaymalarda eritrosit çöküntülerinin görülmesi
- Yaymalarda sferositler görülebilir
- Direkt Coombs testinde eritrositlerde kompleman bağlı olduğunu gösteren bulgular (kan bankalarında detaylı testler ile eritrosit yüzeyindeki antikorların yapısı tesbit edilebilir)

## Edinsel Hemolitik Anemiler

İmmun olan ve olmayan edinsel hemolitik anemiler söz konusudur.


Bu tip hemolitik olaylarda bir istisna dışında (PNH; paroksizmal hemoglobinüri) sebep eritrositler dışından kaynaklanır.

**Tipik laboratuvar bulguları kalıtsal hemolitik anemilerde olduğu gibidir:**

**Retikulosit artışı, Bilirubin, LDH artışı, Haptoglobulin azalması olarak özetlenebilir**

## Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri (PNH) Tanısal Testler

Klasik PNH testleri	Hemoliz testleri
HAM	Tam Kan Sayımı
Hemosiderinüri	Retikulosit Sayımı
Sukroz lizis	LDH
Şeker Su testi	Bilirubin
GPI- Bağları ile hücreye tutunan proteinlerin tespiti CD14, CD16, CD24, CD48, CD52, CD55, CD58, CD59, CD66, CD73, CD87	



<b>İmmun Hemoliz Mekanizmaları</b>	
Damar içi hemoliz	Damar dışında hemoliz (makrofajlarla fagositoz)
IgM veya IgG yapısında komplemanı fiske eden antikorlara bağlı	IgG veya hücre yüzeyindeki komplemana (ör:PNH) bağlı
Kompleman sistemi aktive olur (C1-9,MAC)	Yıkım Özellikle dalak ve karaciğerde olur