

Periferik yaymanın yorumlanması ve tanıdaki önemi

Prof. Dr. Orhan Ekrem Müftüoğlu

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı ve Hematoloji Bilim Dalı, Diyarbakır

Periferik yaymanın incelenmesi, hastalıkların teşhisinde çok önemli bir role sahiptir. Periferik yaymanın incelenmesi ile bazı spesifik enfeksiyonların tanısı süratli bir şekilde konulabilir. Bazı durumlarda anemilerde kesin tanı periferik yaymanın incelenmesi ile konulabilir. Çoğu zaman anemilerin ayırıcı tanısında ve ilave tetkiklerin yapılmasında, periferik yaymanın incelenmesi gerekir.

Trombositopeninin ayırıcı tanısında, lösemi ve lenfomaların tanınmasında periferik yayma vazgeçilmez bir tanı metodudur. Ancak modern kan sayım cihazlarının kullanılmasıyla, periferik yayma incelenmesi ihtiyacı azalmış, bazı klinik hallerinde, tüm kan sayımlarının %10 ila %15 ine inmiştir. Bununla beraber, periferik yaymanın incelenmesi ile, klinikçi veya laboratuvar elemanının düşünmediği tesadüfi bazı bulgularla da karşılaşmak mümkündür.

Tesadüfen rastlanabilen ve hasta için çok önemli olan bu bulguları şöyle sıralayabiliriz.

- FUNGAL ENFEKSİYONLAR (Kandidiazis, Histoplasmosis)
- BAKTERİYEL ENFEKSİYONLAR (Tekrarlayan ateş, Ehrlichiosis, Meningokokal veya Pnömonokokal enfeksiyonlar)
- Malarya ve diğer parazit enfeksiyonlar (Malarya, Babesiosis, Leşmanyasis, Afrika tripanasomiasisi, Şagas hastalığı, Filaryasis)
- HIV için tipik olan displastik hücrelerin görülmesi.
- Mikoplazma enfeksiyonlarında Enfeksiyöz mononükleoz veya lenfoproliferatif hastalıklara bağlı olarak gelişen soğuk aglütininlere bağlı kırmızı küre yığınlarının görülmesi (Aglütinasyon)
- Blast, lenfoma hücreleri veya plazma hücrelerinin görülmesi.
- Hepatit C veya plazma hücresi diskrazilerine bağlı olarak kırıyoglobulineminin görülmesi.
- Kırmızı küre fragmantasyonu
- Hiposplenizm bulgularının saptanması

Periferik yayma incelenmesinin ne denli önemli olduğu, son yıllarda önemli kan mecmualarında periferik yayma görüntülerinin yayınlanması ile bir kere daha teyit edilmiştir. Görüntü tanıma teknolojilerinin geliştirilmesi ile periferik yaymanın otomatik olarak okunması belki mümkün olabilecek. Telehematoloji ile görüntülerin uzaktan yorumlanması ve ikinci bir görüş alınması mümkün olmuştur.

Hatadan kaçınmak için modern karışık hematolojik incelemeler, periferik yayma bulguları ile beraber yorumlanmalıdır. Bununla beraber periferik yayma incelenmesi emek yoğun bir işlemdir. Hekim endikasyon gördüğü hallerde periferik yayma istemeli ve laboratuvar elemanında, kan sayımındaki anomaliliklere göre, periferik yayma yapılmalıdır. Her laboratuvar, hangi anomaliler tespit ettiğinde periferik yayma yapacağını tespit etmelidir. Bu politikada uluslararası hematoloji laboratuvarı derneği kriterlerine göre yapılmalıdır. Periferik yayma, iyi eğitilmiş laboratuvar elemanı,

kalifiye klinik hematolojist veya hematopatolojist tarafından okunmalıdır.

Periferik yayma incelenmesinin klinik endikasyonlarını şöyle sıralayabiliriz;

- Anemiden şüphelenildiği durumlarda
- Tanı konulamayan sarılık durumlarında
- Sick cell anemiden şüphe edilen vakalarda
- Enfeksiyöz mononükleoz ve diğer viral hastalıklar, inflamatuvar veya malign hastalıklardan şüphelenildiğinde
- Tanısı periferik yayma ile konulabilen bakteriyel veya parazitik enfeksiyonlar düşünüldüğünde
- Trombositopeni veya lökopeni düşünüldüğünde
- Lenfoma veya diğer lenfoproliferatif hastalıklardan şüphe edildiğinde
- Karsinomatozisten şüphe edildiğinde
- Miyeloproliferatif hastalıklardan şüphe edildiğinde
- Bilhassa çocuklarda akut böbrek yetmezliği vakalarında
- Göz dibi incelemesinde kanama, eksüda, optik atrofi ve hiperviskozite belirtileri görüldüğünde
- Dissemine intravasküler koagülasyondan şüphe edildiğinde

Anemilerde periferik yaymanın incelenmesi

Modern otomatik kan sayım cihazları aneminin tabiatı hakkında önemli bilgiler verirler. Bunlar arasında ortalama kırmızı küre hacmi, ortalama eritrosit hemoglobini ve ortalama eritrosit hemoglobini konsantrasyonu sayılabilir. Ayrıca bu aletlerle;

- Kırmızı küre dağılım genişliği (Anizositozu gösterir)
- Hemoglobini dağılım genişliğini (Anizokromiyi gösterir) göstermek mümkündür.

Kan sayım aletleri ayrıca çeşitli histogram ve grafikler çizirler. Bu grafiklerle hiperkromik hücre sayısını, mikrosferosit sayısını, normokromik makrositleri ve hipokromik makrositleri görmek mümkün, ancak hücre şeklini ve inklüzyonlarını görmek periferik yayma ile mümkündür.

Periferik yaymanın hazırlanması

Periferik yayma lam veya lamel metodu ile yapılır. Anti-koagülanlı kanla periferik yayma yapılabilir. Ancak parmak ucundan alınan kanla daha kaliteli bir yayma yapma imkanı vardır.

Periferik yaymalar otomatik tekniklerle yapılabilir. Santrifüj metoduyla, serebrospinal sıvı gibi az miktarda hücre ihtiva eden sıvılarla yapılır. Mekanik yayıcılar ise elle yapılan metodun taklididir. Kalitesi elle yapılanlara göre daha düşüktür.

Yaymalar Wright veya May Grünwald-Giemza boya ile boyanır. Her iki boyada Romanowsky işleminin modifikasyonudur. Metil Azure bazik bir boyadır hücrenin nükleik asit ve protein gibi asidik komponentleriyle birleşir. Morumsu mavi bir renk meydana getirir. Eozin hücrelerin bazik komponentleriyle birleşir. Kırmızımsı bir renk meydana getirir.

Preparat önce orta büyütme ile (10 ila 20 X objektif büyütme) incelenir. Preparatın tüm sahaları incelenmelidir. Boyanmanın ve hücre dağılımının yeterli olup olmadığına bakılır. Beyaz küre sayısı tahmin edilir. Tüm saha taranarak, anormal hücre popülasyonlarının kenarlarda toplanıp toplanmadığına bakılır. Formül için (50 ila 63 X objektif büyütme) immersion lensi kullanmak yeterlidir. Ancak sitoplazmik granüller ve inklüzyon cisimcikleri için 100 lük immersion lensi kullanmak gerekir.

Her hücre tipi nicelik ve nitelik yönünden araştırılmalıdır. Kırmızı hücreler, preparatın hücrelerin birbirine yakın ancak üst üste gelmediği sahalarda incelenmelidir. Kırmızı hücrelerin normal dağıldığı sahalarda, para dizisi gibi yan yana gelmesine rouleaux formasyonu denir. Paraproteinemilerde görülür. Normalde kırmızı hücreler birbirini iterler, paraproteinlerle kaplandıklarında bu özellikleri ortadan kalkar ve yan yana dizilirler.

Kırmızı küre çapı 7,2 ila 7,9 µm arasında değişir. Büyüklükleri kırmızı küre çekirdeğinin büyüklüğünden biraz küçüktür. Kırmızı küre çapı 9 µm den büyükse buna makrositoz, 6 µm den küçükse buna mikrositoz denir. Genç eritrositler büyük olup mavimsi boyanırlar. Bu duruma polikromatofili denir. Bazen bazofilik noktalanma gösterir. (RNA ve ribozom kalıntılarına bağlı) Kırmızı hücrelerin 6 µm den daha küçük olmasına mikrosit denir.

Hücrelerin şekillerinin birbirinden farklı olmasına poikilositoz, hemoglobinizasyonun iyi olmaması sonucu santral solukluğun artmasına hipokromi denir. Target hücrelerinde ortada koyu bir saha, etrafında açıklık ve nihayet kenarında koyu bir bölge bulunur. Sferosit ve makrositlerde, ortadaki soluk bölge yoktur. Anormal hemoglobinler kristalde meydana getirebilir. Kırmızı kürelerde çeşitli inklüzyon cisimcikleri görülür.

Howell jolly cisimcikleri nükleer kalıntılara işaret eder. Pappenheimer cisimcikleri mitokondrial kalıntılara veya siderosomları gösterir. Eritrositlerde Malaria parazitleri de görülebilir.

Daha sonra trombositler sayı ve şekil yönünden incelenir. Trombositler küçük sitoplazmik fragmanlar olup, kırmızı morumsu granüller ihtiva ederler. Her 10 ila 20 eritrosite bir trombosit sayılmalıdır. Her immersion alanında 5 ila 15 trombosit görülmelidir. Parmak ucundan kan alındığında veya antikoagülsüz kan kullanıldığında trombositler yığınlar teşkil eder ve ona göre yorumlamak gerekir.

Daha sonra lökosit morfolojisi ve dağılımı incelenir. Orta büyüklükteki mercekle bakılarak lökosit sayısı hakkında bir fikir elde edilir. Artefakt meydana gelmemesi için preparat hemen yapılmalıdır. Normalde periferik yaymada nötrofil, eozinofil, bazofil, lenfosit ve monositler görülür. Metamyelosit, myelosit, promyelosit ve blastların görülmesi anormaldir.

En az yüz hücre sayılmalıdır. Hücrelerin yüzdesi yanında morfolojik özellikleri dikkatle gözden geçirilmelidir. Enfeksiyon hastalıklarında ve büyüme faktörleri ile tedavi edilenlerde toksik granülasyon görülür. Bazı myelodisplastik sendromlarda ise hipogranülasyon görülür. Bazı depo hastalıkları ve lizozomal hastalıklarda ise çeşitli sitoplazmik inklüzyon cisimcikleri görülür.

Periferik yaymada görülen patolojik kırmızı hücreler

ACANTHOCYTE (Spur hücreler) Abetalipoproteinemi, parankimal karaciğer hastalıkları ve post splenektomi durumlarında görülür. Membran lipidlerinin değişmesi sonucu oluşur.

Hücrenin kenarında irregüler dağılmış, değişik uzunlukta projeksiyonlar bulunur.

SCHISTOCYTE (Helmet hücresi) Mikroanjiopatik hemolitik anemi, prostetik kalp kapakçıklarında ve ağır yanıklarda görülür. Küçük damarlar içinde biriken fibril iplikçiklerine bağlı veya prostetik kalp kapakçıklarına bağlı travmadan meydana gelir.

ORAK Hücre (Drepanocyte) orak hücreli anemide meydana gelir. Sick cell trait'te olmaz. Hb S in agregasyonu sonucu oluşur. Orak şeklindedir. Bipolar çıkıntıları vardır.

GÖZYAŞI hücreleri (Dacryocyte) Myelofibrozis ve Miyelofizik anemilerde görülür.

TARGET hücreleri, hücre membranının bolluğu sonucu oluşur. Hedef tahtasına benzer. Karaciğer hastalıklarında, splenektomiden sonra, talasemilerde ve hemoglobinopatilerde görülür.

BAZOFİLİK NOKTALANMA kaba veya ince bazofilik noktalanma şeklinde olur. Ribozomların presipitasyonu sonucu oluşur. Kaba bazofilik noktalanma kurşun zehirlenmesinde ve talasemilerde olur. İnce noktalanma ise değişik anemilerde görülebilir.

Cabot halkaları splenektomiden sonra, hemolitik anemilerde ve megaloblastik anemilerde görülür. Sirküler iplikçiğe benzeyen halkalardır. Nükleer artıklar sonucu oluşur.

HOWELL JOLLY cisimcikleri. Splenektomiden sonra, hemolitik anemilerde ve megaloblastik anemilerde görülür. DNA ihtiva eden nükleer artıklar sonucu oluşur. Küçük bazofilik, koyu inklüzyon cisimcikleridir. Genellikle tektir.

PAPPENHEIMER cisimcikleri. Splenektomiden ve sideroblastik anemilerde de görülür. Demir ihtiva eden siderosom veya mitokondrial artıklardan meydana gelir. Küçük, dense, bazofilik granüllerdir.

BİTE Hücreleri (Degmacyte) ilaçlara bağlı oksidatif hemoliz ve G6PD eksikliği sonucu oluşur. Heinz cisimciklerinin dalak tarafından alınması sonucu meydana gelir. Yarım daire şeklinde bir parçanın eritrositlerden ayrılması şeklinde görülür.

BURR Hücreleri (Echinocyte) genellikle artefaktır. Üremide, kanayan peptik ülserde ve gastrik karsinomada görülür. Membran lipidlerinin değişmesi sonucu oluşabilir. Kırmızı kürelerin kenarlarında kısa, muntazam dağılmış çıkıntılar vardır. Santral solukluk muhafaza edilmiştir.

OVALOCYTE Hücreler (Eliptocyte) herediter eliptositozda görülür. Hücre iskelet proteinleri, anomalisi sonucu ortaya çıkar. Hücreler elips şeklindedir.

HİPOKROMİK kırmızı küreler. Demir eksikliği anemisi, talasemi ve sideroblastik anemilerde görülür. Hemoglobin sentezinin azalması sonucu görülür. Santral solukluk artmıştır.

LEPTOCYTE. Yassı hipokromik hücrelerdir. Obstrüktif karaciğer hastalıkları ve talasemilerde görülür.

MAKROSİT. 8,5 µm den daha büyük olup, iyi hemoglobine olmuştur. Anormal maturasyon sonucu oluşabildiği gibi, genç bir eritrositte olabilir. Eritropoezin arttığı durumlarda yuvarlak makrositler oluşur. Buna mukabil megaloblastik anemilerde oval makrositler görülür. Karaciğer hastalıklarında yuvarlak makrositler görülür.

MİKROSİTLER. 7 µm den küçük hücrelerdir. Hipokromiktir.

POLİKROMAZİ. Kırmızı hücrelerin kemik iliğinde erken salınımı durumunda ve retikülositozda meydana gelir. Ribozomal materyelden dolayı gri veya mavi boyanırlar. Makrositik karakterdedir.

ROULEAUX formasyonu. Kırmızı küreler para dizisi gibi yan yana sıralanmışlardır. Paraproteinemilerde görülür.

SFEROSİT. Çapları ekseriya küçüktür. Santral solukluk kaybolmuştur. Membran / volüm oranı azalmıştır. Herediter sferositozda ve immün hemolitik anemilerde meydana gelir.

STOMATOCYTE. Herediter stomatositozda ve immün hemolitik anemilerde meydana gelir. Anormal katyon permeabilitesi ile beraber membranda defekt vardır. Ağız veya fincan şeklinde deformiteye neden olur.

Anemilerin ayırıcı tanısında periferik yayma

Mikrositik anemiler

Kırmızı küre endeksleri ile beraber serum ferritin düzeyi ve bazen inflamasyon işaretlerinin klinik belirtilerle beraber yorumu tanıyı koydurur. Periferik yaymada dimorfizmle beraber, pappenheimer cisimciklerinin bulunması sideroblastik anemiyi düşündürmelidir. Bazofilik stipling olması talasemileri ve kurşun zehirlenmesini akla getirir.

Makrositer anemiler

B₁₂ ve Folik asit eksikliğinde, makrositoz yanında makroovalositler vardır. Nötrofillerde hipersegmentasyon mevcuttur. Anemi ağır olduğu takdirde poikilositoz ve kırmızı küre fragmanları mevcuttur.

B₁₂ ve Folik asit eksikliğinde tanının çabuk konulması yönünden periferik yayma bulguları önem taşır. Esas tanı serum B₁₂ ve kırmızı küre folat tayini ile konur. Ancak bazı durumlarda serum B₁₂ vitamini düzeyi ve kırmızı küre folat düzeyi normal olduğu halde megaloblastik anemi olabilir.

Karaciğer hastalıklarında ve fazla alkol alınımında makrositoz olabilir. Ancak bu durumda makroovalositler yoktur. Aynı şekilde nötrofillerde hipersegmentasyonda bulunmaz. Konjenital diseritropoetik anemilerde, makrositozla birlikte belirgin poikilositoz vardır. Miyelodisplastik sendromlarda makrositozla beraber aşağıdaki bulguların bulunması karakteristiktir.

- Hipogranüler ve hipolobular lökositler
- Büyük ve hipogranüler trombositler
- Eritrositlerde pappenheimer cisimciklerinin olması
- Hipokrom mikrositer hücrelerle beraber dimorfik aneminin olması
- Blast hücrelerinin olması

Hemoliz veya kan kaybına bağlı makrositozda, polikromazi belirgindir.

Hemolitik anemi ve hemoglobinopatilerde periferik yayma

Herediter eliptositoz, Herediter pyropoikilosiste ve güneydoğu asya ovalositozunda periferik kan bulguları karakteristiktir.

SFEROSİTOZ. Herediter sferositozda, otoimmün hemolitik anemilerde ve alloimmün hemolitik anemilerde görülebilir. Klinik bulgular ve Coomb's testiyle doğru tanı konulabilir. Mikrosferositoz, herediter sferositozda az sayıda bulunmakta ve mikroanjiopatik hemolitik anemilerde görülür. Mikroanjiopatik

patik hemolitik anemilerin bir çok nedeni vardır. Ancak trombotik trombositopenik purpura ve hemolitik üremik sendrom, acil tedaviyi gerektirir. Plasmaferezle tedavi edilir. Tedaviye başlamak için periferik yaymanın incelenmesi gerekir.

Eritrosit fragmanlarının olması durumunda otomatik kan sayıcıları, bu fragmanları trombosit olarak sayabilir. Oksidan hasara bağlı akut hemolitik anemilerde, periferik yaymada karakteristik bulgular görülür. Bu hücreleri şu şekilde sıralayabiliriz;

- Keratocyte veya 'bite' hücreleri
- Blister hücreleri
- İrregüler kontrakte hücreler (sferositlerle karıştırılabilir, santral solukluk yoktur. Ancak kenarları irregülerdir)

Oksidan hasar, ilaç veya şimik maddelere bağlı olabildiği gibi Wilson hastalığında da ortaya çıkabilir. Oksidan hasar, stimulus çok şiddetli olduğunda normal hücrelerde de görülebilir. Ancak daha ziyade Glukoz 6 posfat Dehidrogenaz (G6PD) eksikliğinde ve Glutasyon sentezi defektlerinde ortaya çıkmaktadır.

G6PD eksikliği dünyada milyonlarca kişide bulunmaktadır. G6PD düzeyinin hemen tayin edilmediği durumlarda periferik yayma önem kazanır. Ayrıca akut hemolizden sonra zencilerde G6PD düzeyi normal olabilir. Aynı durum Akdeniz tipi defekt gösteren homozigot kadınlar içinde söz konusudur.

Soğuk aglütinin hastalığında kırmızı kürelerde aglütinasyon görülür. Paroksizmal soğuk hemoglobinürisinde ise eritrofagositoz görülür.

Orak hücre hastalığında, anemi ile beraber periferik yaymada orak hücreleri bulunur. Hemoglobin s/c hastalığında hemoglobin normal olabilir. Bu nedenle sickle cell traitle karıştırılabilir. Çift heterozigot vakalarda periferik yaymada target hücreleri yanında irregüler kontrakte hücreler ve sandal şeklinde hücreler bulunur. Hemoglobin s/c poikilositlerin görülmesi karakteristiktir.

Hemoglobin c hastalığından ayırmak için acil durumlar da solubilité testi yapmak gerekir. Unstable hemoglobinopatilerde makrositoz yanında irregüler kontrakte eritrositler görülür.

Trombosit hastalıklarında periferik yayma

Yalancı trombositopeni

- Kanda küçük pıhtıların olması
- Trombosit yığınlarının olması
- Trombosit satellitizmi
- Anormal büyük trombositlerin olması
- Fibrin iplikçiklerinin olması, trombositopeninin yalancı olduğunu gösterir.

Yalancı trombositoz

- Kanda kırmızı hücre fragmanları ve fungusların olması durumunda yalancı trombositoz olabilir.

Trombositopenilerin ayırıcı tanısında yardımcı olur.

- Mikroanjiopatik hemolitik anemiler
 - Lösemiler lenfomalar
 - May Hegglin anomalisi
 - Diğer durumlar

Trombositozların ayırıcı tanısı

Myeloproliferatif hastalıklar (Büyük trombositler, Bazofiller)

Fungus septisemileri

Ani beklenmedik trombositoz hallerinde

Lösemi, lenfoma ve kemik iliği yetmezliğinde periferik yayma

Lösemi, lenfoma ve kemik iliği yetmezliğinde periferik yayma yapılmalıdır. İki halde periferik yayma büyük öneme sahiptir. Bunlar Burkitt lenfoması ve promyelositik lösemidir. Bu durumlarda tedaviye hemen başlanmalıdır.

İzah edilemeyen lökositoz, lenfositoz, monositoz durumlarında periferik yayma yapılmalıdır. Otomatik kan sayım cihazlarında blast olabileceğini kaydedildiği vakalarda da periferik yayma yapılmalıdır. Atipik veya varyant lenfositlerin tespiti de periferik yayma yapılması endikasyonudur.

Kan değerlerinin düşük olduğu vakalarda da periferik yayma yapılmalıdır. Aplastik anemi, kemik iliğinin yabancı hücrelerle infiltrate edildiği durumlar ve Hairy cell lösemide lökopeni bulunabilir. Lösemi ve lenfomalarda periferik yayma, tanıyı koydurur veya tanı alanını sınırlar. Hangi ilave tetkiklerin yapılması gerektiğini gösterir. İmmünofenotip ve diğer sofistike

tetkiklerin yorumlanması, ancak periferik yayma bulgularının yorumlanması ile olur.

Otomatik kan sayıcılarından muhtemel olmayan sonuçların periferik yayma ile değerlendirilmesi

Otomatik kan sayıcıları aşağıdaki durumlarda yanlış netice verebilir.

- Kanın kazara donması veya ısınması
- Hiperlipideminin bulunması
- Soğuk aglütinlerin bulunması
- Cryoglobulinemia
- Dolaşımda bakteri ve fungusların olması
- Nötrofil veya trombositlerin kümeleşmesi
- Trombosit satellitizminin oluşması

Kaynaklar

1. Wintrobe's Clinical Hemmatology II. th Ed. 2004
2. B. J. Bain. Diagnosis from the Blood Smear The New England Journal of Medicine