

Multipl Miyelomlu Bir Olguda Engellenemeyen In Vitro Fibrin Oluşumu

Unavoidable In Vitro Fibrin Formation in A Case with Multiple Myeloma

Tuncay Küme Ali Rıza Şişman Burcu Çinkooğlu
Ferhat Demirci Pınar Tuncel

Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir

ÖZET

Amaç: Multipl miyelom (MM) in vivo tromboz veya kanama, in vitro fibrin oluşumuna sebep olur. MM'lu bir olguyu raporlayarak, örneklerde engellenemeyen in vitro fibrin oluşumunu tartışmayı amaçladık.

Olgu: Altmış yaşında nüks MM tanılı olgunun serum örnekleri sürekli olarak yetersiz numune gerekçesiyle laboratuvar tarafından reddedildi. Bazı test sonuçlarının olası hatalı raporlandığı da belirlendi.

Tartışma: MM'da in vitro fibrin oluşumu, kanama diyatezinin sonucu olarak koagülasyon fazındaki anormal fibrin oluşumundan kaynaklanır. Klinik laboratuvarlarda preanalitik basamakta saptanan ve örnek kalitesini bozan in vitro fibrin sorununun mekanizmasının anlaşılabilir şekilde çözümü laboratuvar sonuç kalitesini artırır.

Anahtar Sözcükler: Analitik örnek hazırlama yöntemleri, canlı dışında, fibrin, multipl miyelom, tıbbi hatalar

ABSTRACT

Objective: In vivo thrombosis or bleeding, and in vitro fibrin formation occur in Multiple Myeloma (MM). We aimed to discuss the unavoidable in vitro fibrin formation in samples by reporting a MM case.

Case: A sixty-years-old man with a diagnosis of relaps MM whose specimens were rejected for insufficient sample. Also, some test results which incorrectly reported as possible erroneous were determined.

Discussion: In vitro fibrin formation in MM is sourced from abnormal fibrin formation in coagulation phase as a result of bleeding diathesis. Mechanisms of in vitro fibrin problem that commonly seen in preanalytic phase and disrupted the quality of samples in clinical laboratories, are agreed upon solution to improve the quality of laboratory results.

Key Words: Analytic sample preparation methods, fibrin, in vitro, medical errors, multiple myelom

GİRİŞ

Multipl miyelom (MM), hematolojik kanserlerin %15'ini ve tüm kanserlerin %1'ini oluşturan klonal plazma hücre malignitesidir. Kemik iliğinde artmış plazma hücreleri, monoklonal immünglobulin (Ig) üretimi, osteolitik kemik lezyonları, böbrek hastalığı ve immun yetmezlikle karakterizedir (1). MM'daki hemostatik değişimler; in vivo koşullarda damar içinde tromboza veya kanama diyatezine, in vitro koşullarda örneklerde fibrin oluşumuna sebep olur (2-5). Bu olgu sunumunun amacı, multipl miyelom hastalığına bağlı olarak ortaya çıkan fibrin oluşumu mekanizmasını ve klinik laboratuvarlarda sık karşılaşılan bu sorunu çeşitli boyutlarıyla tartışmaktır.

OLGU

Laboratuvarda bir hastanın serum örneklerinde santrifügasyon sonrası jelleşme oluştuğu ve tekrarlanan santrifügasyonlar sonrası örnek ayrılmadığı; bu nedenle örneklerin, "miktar az", "yetersiz numune", "tekrarı uygundur", "teknik arıza", "serum ayrışmıyor" şeklinde açıklamalar yazılarak yetersiz miktar gerekçesiyle reddedildiği ve test sonuçlarının verilemediği saptandı. Hastanın yatışı 33 günlük sürenin içindeki 14 günlük

zaman aralığında merkez laboratuvarına gönderilen 18 adet örneğin 15 tanesinin örnek yetersizliği sebebiyle kısmi veya tam olarak reddedildiği görüldü. Daha da ötesi bazı test sonuçlarının, bir hafta içindeki bir önceki "delta check" uyarısı olmayan sonucundan %20'den fazla değişimine göre değerlendirildiğinde olası hatalı raporlandığı da belirlendi (Tablo 1).

Dosya İncelemesi

Örneklerinde sorun yaşanan hastanın dosyası incelendiğinde; altmış yaşında erkek hastanın halsizlik, nefes darlığı ve sol bacadaki şişme şikayetleri ile acil servise başvurduğu saptandı. Üç yıl önce MM tanısı ile kemo-terapi uygulandıktan sonra izlenen hasta, pulmoner tromboemboli ön tanısıyla ileri tetkik ve tedavi amacıyla göğüs hastalıkları servisine yatırılmış. Arteriyel kan gazı oksijen saturasyonu düşüklüğü saptanan hastaya nazal oksijen, antibiyotik (levofloksasin 2x500 mg iv.) ve düşük molekül ağırlıklı heparin (enoksa-parin 60 mg/0.6 mL 1x1 sc.) tedavisi başlanmış. Yapılan alt ekstremitte doppleri normal ve akciğer ventilasyon perfüzyon sintigrafisinde düşük riskli saptanınca derin ven trombozu ve emboli lehine bulgu saptanmamış. Hastanın mevcut semptomlarının

Tablo 1. MM olguda in vitro fibrin problemine bağlı etkilenen test sonuçları.

Yatış Günü	...	13	14	...	15	16	17	18	19	20	21	...	22	...	23	24	...	25	...	26	...	33		
Örnek Numarası	...	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	...	29	30	31	32	33	34	35	36	...	43		
Test(Birim)	Test sonucu(% değişim)																							
Kan Üre Azotu(mg/dL)	...		25	24(-4)		26(+8)	Y	31(+16)	29(-7)	29(0)	29(0)		Y	Y	26(-12)	Y	29(+10)	36(+19)	36(0)	...	17			
Kreatinin(mg/dL)	...		2.33	2.29(-2)		2.18(-5)	Y	2.48(+12)	2.39(-4)	2.31(-3)	2.34(+1)		Y	Y	1.68(-39)*	Y	2.19(+23)	2.26(+3)		Y	...	0.91		
Urik asit(mg/dL)	...		9.6	10.3(+7)		9.7(-6)		8.6(-15)	8.9(+3)	8.8(-1)					8.6(-2)			8.5(-4)		Y	...	3.9		
AST(U/L)	...	27	19(-42)*	27(0)	20(-35)*	25(-8)		16(-56)*		34(+26)		Y			24(-42)*						Y	...	41	
ALT(U/L)	...	20	16(-25)*	17(-18)	13(-31)*	15(-13)		11(-36)*		15(0)	14(-7)				13(-8)						19(+32)	...	59	
GGT(U/L)	...	47	33(-42)*	33(-42)*		31(-6)		29(-7)		43(+33)		Y			43(0)							Y	...	68
ALP(U/L)	...	39		34(-15)		34(0)		34(0)		36(+6)		Y			31(-16)							Y	...	50
LDH(U/L)	...			Y	171	Y		Y		Y	Y	Y			114							Y	...	185
T. protein(g/dL)	...	Y	9.2	9.7(+5)		10.1(+4)		9.3(-9)	9.9(+6)	10.3(+4)		Y			9.8(-5)			10.4(+6)			Y	...	7.3	
Albumin (g/dL)	...	1.9	1.7(-12)	1.6(-6)		1.7(+6)		1.6(-6)	1.7(+6)	1.6(-6)		Y	Y		1.6(0)	Y	1.4(-14)	1.6(+13)			Y	...	1.8	
T. Bilirubin(mg/dL)	...	Y	0.28	Y	Y	Y		Y		Y	Y	Y			0.2							Y	...	0.31
D. Bilirubin(mg/dL)	...	5.85	2.62(-46)*	Y	Y	Y		Y		Y	Y	Y			1.02							Y	...	0.64
Kalsiyum(mg/dL)	...		9.4	10.2(+8)		8.6(-19)		8.5(-1)	9.5(+9)	9.5(+2)	9.9(+4)		Y	Y	9.5(-4)	Y	8.2(-16)	8.9(+8)	7.1(-25)*	...	7.2			
İ.Fosfor(mg/dL)	...		5	5.4(+7)		4.8(-13)		5(-4)	4.9(-2)	4.8(-2)	5(+4)		Y	Y	5.4(+7)	5.1(-6)	4.2(-21)*	4.3(-19)	4.9(+12)	...	2			
Sodyum(mmol/L)	...		137	139(+1)		140(+1)		140(0)	138(-1)	139(+1)	131(-6)		Y	Y	140(+1)	139(-1)	130(-7)	137(-1)	129(-6)	...	139			
Potasyum(mmol/L)	...		3.4	3.5(+3)	2.9(-21)*	3.5(-6)		2.6(-27)*	3.4(+3)	3.4(0)	2.8(-21)*		Y	Y	2.8(0)	2.9(+3)	8.3(+65)	4.4(+34)	6.3(+30)	...	2.7			
Klor(mmol/L)	...		106	108(+2)		108(0)		110(+2)	109(-1)	108(-1)	103(-5)		Y	Y	109(+6)	107(-2)	110(+3)	109(-1)	104(-5)	...	107			

Semboller: Tea: Toplam izim verilen hata miktarı; Y: yetersiz miktar; *: Olası hatalı raporlanan sonuçlar(1 hafta içindeki önceki delta check uyarısı olmayan sonucundan %20'den fazla değişim)

anemiye bağlı olduğu düşünülere k kan transfüzyonu uygulanmış ve antibiyotik dışındaki diğer ilaçları kesilmiş. Yapılan immunglobulin incelemelerinde IgA lambda monoklonal gamapatide önceki değerlerine göre 2 kat artma saptanması üzerine nüks MM tanısıyla, tedavi amacıyla erişkin hematoloji servisine devredilmiş. Yeni evreleme için gereken tetkikleri yapılmış ve kemoterapiye başlanmış.

TARTIŞMA

Fibrin, kanamanın durdurulması amacıyla pıhtı oluşumunda fibrinojenden polimerize edilerek sentezlenen fibriller bir proteindir. Yaralanma bölgesindeki kanama, trombositlerin aglutinasyonuna ve koagülasyon zincirinin aktivasyonu ile fibrin oluşumuna sebep olur. Sağlıklı insanda fibrin oluşumu ile yıkımı arasında bir denge mevcuttur. Koagülasyon zincirinin aktivasyonuna bağlı aşırı fibrin oluşumu in vivo koşullarda tromboza sebep olurken; azalmış, oluşmamış veya fonksiyon göstermeyen fibrin oluşumu ise in vivo koşullarda kanamaya ve in vitro koşullarda örneklerde fibrin oluşumuna sebep olur.

Multipl Myeloma'da In Vitro Fibrin Oluşumu Mekanizması

İn vitro fibrin oluşumu MM'da oluşan kanama diyatezi durumunun bir sonucudur. MM'da kanama diyatezi aşağıda sayılan olası çeşitli mekanizmalarla gelişmektedir (Şekil 1) (1-5):

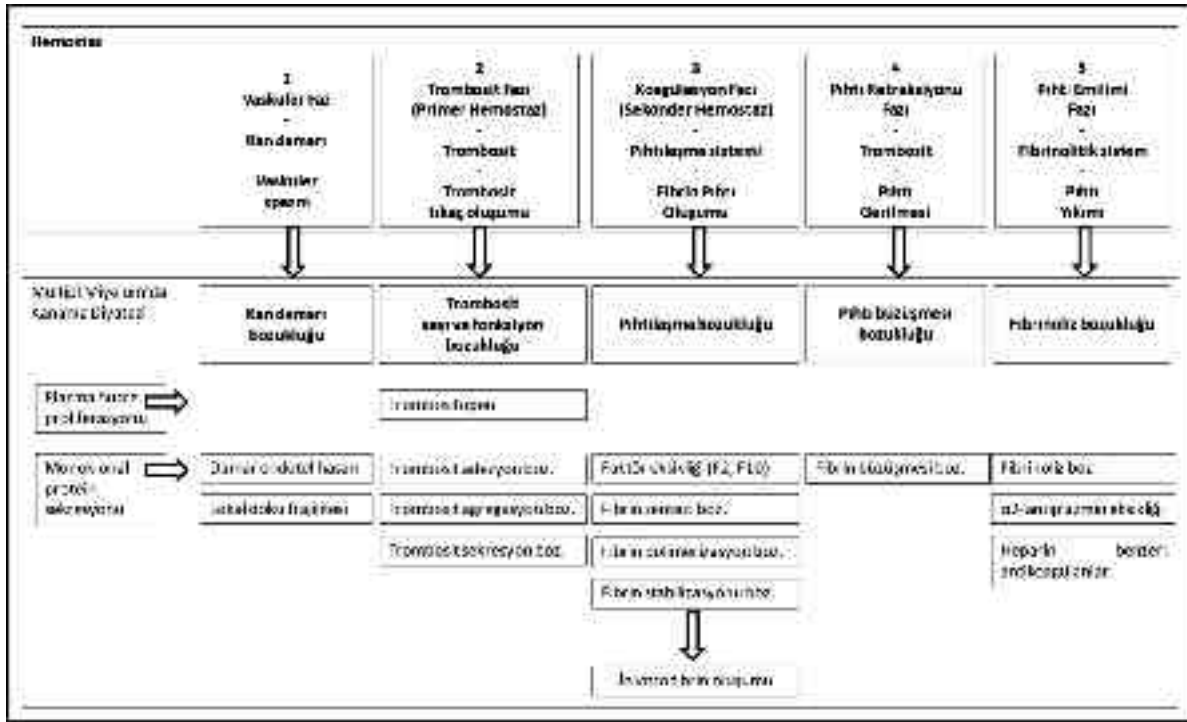
1. Plazma hücrelerinin aşırı proliferasyonuna bağlı kemik iliğinin infiltrasyonu ve çeşitli sinyal moleküllerinin salgılanması trombositopeniye sebep olur.
2. Klonal plazma hücrelerinden salgılanan monoklonal Ig patolojik mekanizmanın temelini oluşturur. Artmış monoklonal Ig, kanda vizkozite artışına ve dokuda amiloidoza sebep olurken hemostazın tüm basamaklarını da olumsuz yönde etkiler:
 - a. Vasküler faz: Monoklonal Ig molekülleri direkt damar endotel hasarına sebep olduğu gibi damar duvarındaki birikime bağlı özellikle küçük damarlarda frajiliteye sebep olur.

- b. Trombosit fazı: Trombosit membranının monoklonal Ig ile kaplanması hemostazın tüm evrelerinde trombosit fonksiyonlarını etkiler.
 - c. Koagülasyon fazı: Artmış monoklonal Ig kandaki pıhtılaşma faktörlerine bağlanıp inhibe ederek eksikliklerine sebep olur (faktör 2, 10 gibi). Ayrıca anormal ince fibrin fibrillerine sebep olarak fibrin pıhtı oluşumunu interfere eder.
 - d. Pıhtı büzüşmesi fazı: Anormal fibrin gecikmiş büzüşmeye uğrar.
 - e. Fibrinoliz fazı: Anormal fibrin gecikmiş olarak fibrinolize uğrar. Artmış monoklonal Ig kandaki 2-antiplazmine bağlanıp inhibe ederek aşırı fibrinolize sebep olabilir. Ayrıca heparin benzeri antikoagülanlar da saptanır.
3. MM'da hastalığın ilerlemesine bağlı böbrek yetmezliği ve enfeksiyon gibi komplikasyonlar, tanı için uygulanan invaziv prosedürler (kemik iliği biyopsisi gibi) ve tedaviye bağlı toksisiteler (trombozda anti-koagülan tedavi gibi) de kanamaya sebep olan çeşitli riskli durumlardır.

MM'da in vitro fibrin oluşumu, koagülasyon fazında artmış monoklonal Ig'lerin sebep olduğu anormal fibrin oluşumuna bağlıdır. Bizim olgumuzdaki sorun da, aşırı yüksek Ig (Ig A 3463 mg/dL (referans aralık: 63-483 mg/dL) lambda 1140 mg/dL (referans aralık: 95-245 mg/dL) bağlı örneklerde engellenemeyen anormal fibrin oluşumundan kaynaklanmıştır. MM'nın tedavisi (plazmaferez ve kemoterapi gibi yöntemlerle), monoklonal Ig seviyelerinin düşürülerek in vitro fibrin oluşumunun düzeltilmesini sağlar. Bizim olgumuzda da 14 günlük zaman aralığından sonra kemoterapinin başlaması ile örneklerde fibrin oluşumu kaybolmuştur.

In Vitro Fibrin Problemi

Klinik laboratuvarlarda kan (serum, plazma veya tam kan), seröz boşluk (plevra, periton, perikard) ve subaraknoid boşluk (beyin omurilik sıvısı) kaynaklı örneklerde fibrin bulun-



Şekil 1. Multipl miyelom'daki in vitro fibrin oluşum mekanizması.

ması örnek kalitesini bozan bir durumdur (6). Analiz edilecek serum örneklerinde yetersiz pıhtılaşma, plazma ve tam kan örneklerinde yetersiz antikoagülasyon, diğer vücut sıvısı örneklerinde enflamasyona bağlı vücut boşluğuna veya sıvısına eksüdasyon fibrin oluşumuna sebep olur. Bu durum "in vitro fibrin oluşumu", "tamamlanmamış fibrin oluşumu", "latent fibrin oluşumu", "gecikmiş fibrin oluşumu", "rezidü fibrin", "fibrin interferansı", "fibrin pıhtısı", "koagulum", "jelleşme fenomeni", "pıhtının jelleşmesi", "fibrin polimerizasyonun engellenmesi" gibi çeşitli şekillerde isimlendirilir.

Örneklerdeki fibrin gözle görülemeyecek ufak ince bir liften, gözle görülebilen büyük bulanık bir kitle büyüklüğüne kadar olabilir. Örneklerde fibrin oluşumu; örnek yetersizliğine, analizörlerin örnek probunda kısmi veya tam tıkanmaya, reaksiyon kuvvetlerinde, yıkama üniteleri veya kanallarında artan fibrin birikimine, reaktiflerde ve ölçüm sistemlerinde interferansa sebep olabilir. Bunların sonucunda örneğin analiz edilememesi, hatalı test sonuçları (özellikle immunasay ana-

lizlerde), cihaz arızası veya sonuç çıkma süresinin uzaması gibi problemler oluşabilir.

Pıhtılaşma bozuklukları (özellikle hematoloji servisinden gelen örneklerde), antikoagülan tedavi (özellikle yoğun bakımlardan gelen örneklerde), multipl miyelom ve diğer plazma hücresi diskrezileri (özellikle onkoloji servisinden gelen örneklerde), otoimmün hastalıklar (dahili ve cerrahi çeşitli servislerden gelen örneklerde) gibi in vivo sebepler; serumlarda yetersiz pıhtılaşma süresi veya santrifügasyon; plazma ve tam kanlarda antikoagülanla yetersiz kanşma ve tüplerin aşırı doldurulması gibi in vitro sebepler örneklerde fibrin oluşumuna sebep olur.

Fibrinli örnek sorununda, in vitro sebepler bazı tedbirlerle önlenabilir iken; in vivo sebepler önlenemez. Serum örneklerinin yeterli süre pıhtılaşması için bekletilmesi (genellikle 30 dk'dan uzun süre) ve yeterli süre veya güçte santrifügasyonu; plazma ve tam kan örneklerinin yeterli karıştırılması ve tüplerin uygun seviyede doldurulması ile in vitro sebeplerden kaynaklanan fibrin önlenir. İn vivo sebepleri önlemek mümkün

olamasa da bu sebeplere yönelik olarak serum yerine plazma örneklerin, düz vücut sıvısı örnekleri yerine antikoagülanlı örneklerin, pıhtı dedektörlü veya filtreli cihazların tercih edilmesi ve cihaz periyodik bakımlarının düzenli yapılması çözüm yolu olabilir. Ayrıca bu probleme yönelik olarak örneklerin uygun tüpe alınması ve çoklu tüpe örnek alımlarında sıralamaya dikkat edilmesi önerilmektedir. Fakat fibrinli örneklerin, bileşimi değişeceği için tekrar santrifügasyonu veya hemolize sebep olacağı için çubukla karıştırılması önerilmemektedir (6). Fibrinli örneklerin test sonuçları, hatalara karşı dikkatle izlenmelidir, bunun için laboratuvar bilgi sistemlerindeki "delta check" uygulaması hatalı raporlamalara karşı önleyici olacaktır.

Sonuç olarak, bu olgu sunumu ile örneklerde karşılaşılabilen in vitro fibrin probleminin önlenmesi için, ortaya çıkma sebeplerine göre çeşitli korunma yöntemlerine dikkat çekilmektedir. Klinik laboratuvarlarda preanalitik basamakta in vitro fibrin probleminin çözülmesi, örnek kalitesini ve bunun sonucu olarak test sonuç kalitesini arttıracaktır.

KAYNAKLAR

1. Raab MS, Podar K, Breikreutz I, Richardson PG, Anderson KC. Multiple myeloma. Lancet 2009; 374 (9686): 324-39.
2. Eby C. Pathogenesis and management of bleeding and thrombosis in plasma cell dyscrasias. Br J Haematol 2009; 145(2): 151-63.
3. Eby CS. Bleeding and thrombosis risks in plasma cell dyscrasias. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2007: 158-64.
4. Soria J, Soria C, Samama M, Fine JM, Bousser J. Analysis of a fibrin formation abnormality in a case of multiple myeloma. Scand J Haematol 1975; 15(3): 207-18.
5. Saif MW, Allegra CJ, Greenberg B. Bleeding diathesis in multiple myeloma. J Hematother Stem Cell Res 2001; 10(5): 657-60.
6. Shahangian S, Snyder SR. Laboratory medicine quality indicators: a review of the literature. Am J Clin Pathol 2009;131(3):418-31.

Yazışma adresi:

Dr. Tuncay Küme
Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir
Tel : 0232 412 44 01
E-posta: Tuncay.kume@deu.edu.tr
