

Soğuk Aglütinin hastalığında Tam Kan Sayımı

Complete Blood Count in Cold Agglutinin Disease

Sibel Kulaksızoğlu, Hamit Yaşar Ellidağ, Esin Eren, Necat Yılmaz

Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, Antalya, Türkiye

Başvuru Tarihi: 23 Mart 2015

Kabul Tarihi: 15 Haziran 2015

ÖZET

Amaç: Soğuk aglütinin hastalığı düşük ısılarda antikorların aktifleşerek eritrositlerin aglütinasyonuna neden olan, nadir görülen bir otoimmün hemolitik hastalıktır. Soğuk aglütinin hastalığı kan grubunun yanlış saptanması, kanın ısıtılmadan verilmesi, ya da ameliyat sırasında intravasküler hemoliz gibi nedenlerden dolayı hastanın doğru tanı ve tedavi alması açısından akılda tutulmalıdır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada orta yaşlı bir erkek hastanın kan alımında yaşanan zorluk ve hemogram tüpünde bariz gözlenen pıhtı üzerine laboratuvara başvurusu ile eş zamanlı K₃-EDTA'lı, Na-Sitratlı ve benmari usülü 37°C'de ısıtılan K₃-EDTA'lı tüplere alınan numunelerde hemogram sonuçları karşılaştırıldı.

Bulgular: Ölçümler sonucunda K₃-EDTA'lı tüpde eritrosit sayısı 0.35 10⁶/mm³, MCH ve MCHC +++++, hemoglobin 11.5 g/dl, trombosit 212 10³/mm³ iken, benmari usülü 37°C'de ısıtılan K₃-EDTA'lı tüpde eritrosit sayısı; 1.3 10⁶/mm³, MCH ve MCHC ise 39.7 pg ve 32.5 g/dl, hemoglobin 11.9 g/dl, trombosit 249 10³/mm³ olarak ölçüldü. Yapılan immünfiksasyon elektroforezde monoklonal Ig M kappa bandı izlendi.

Sonuç: Anormal hemogram sonuçları ve hemogram tüpünde aglütinasyonu bariz olarak gözlenen vakalarda soğuk aglütinin hastalığı düşünülmeli, doğru sonuç alınması sağlanarak hasta mağduriyeti, zaman, iş ve maliyet kayıpları önlenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Soğuk aglütinin hastalığı, kan hücre sayımı, antikorlar.

ABSTRACT

Background: Cold agglutinin disease is a rare autoimmune hemolytic disease causing the agglutination of erythrocytes by the activation of antibodies at low temperatures. Cold agglutinin disease should be kept in mind in terms of getting the right diagnosis and treatment because it may result in incorrect detection of blood groups, or may cause intravascular hemolysis during surgery or, if blood is given not pre-heated.

Material and Methods: In this study, a patient who faced difficulty during blood drawing and had an apparent blood clot in the hemogram tube. Samples were drawn into K₃-EDTA, Na-citrate and K₃-EDTA tubes bathed at 37°C.

Results: Complete blood count was performed and the results were as follows; In K₃-EDTA tube erythrocytes were 0.35 10⁶/mm³, MCH and MCHC were +++++, hemoglobin level was 11.5 g/dl, and

platelets were $212 \times 10^3/\text{mm}^3$. In $\text{K}_3\text{-EDTA}$ tubes bathed at 37°C , erythrocytes were $1.3 \times 10^6/\text{mm}^3$, MCH and MCHC were 39.7 pg ve 32.5 g/dl respectively, hemoglobin level was 11.9 g/dl, platelets were $249 \times 10^3/\text{mm}^3$. The patient's serum showed a monoclonal Ig M Kappa band in the immunofixation electrophoresis.

Conclusions: Cold agglutinin disease should be considered in patients with abnormal blood counts with visible agglutination in the tubes. Misdiagnosis of patients should be prevented.

Key words: Cold agglutinin disease, blood cell count, antibodies.

GİRİŞ

Soğuk aglutinin hastalığı karakteristik olarak eritrosit üzerindeki polisakkarit antijenlere yönelik oluşan genellikle IgM nadiren de IgA veya IgG tipindeki antikoların neden olduğu otoimmün bir hastalıktır (1). Etyolojisinde mikoplazma enfeksiyonu, lenfoma ya da otoimmün bir hastalık suçlansa da genellikle idiyopatikdir. Klinikte tipik anemi bulgularına ilave olarak soğuğa maruziyetle akrosiyanoz, livedo retikularis ve deri ülserleri gibi periferik damar tıkanıklıkları ile soğuk sıvı ve gıdaları yutmada güçlük, ağrı gibi belirtiler görülebilir. Sarılık ve splenomegali klinik tabloya eşlik edebilir. Tanıda yüksek titrede soğuk agglutininlerin varlığının gösterilmesi önemlidir (2,3).

Soğuk aglutinin hastalığında laboratuvar bulgularının ortaya çıkmasını, termal amplitüd yani antikoların aktif olmaya devam ettiği en yüksek sıcaklık belirlemektedir. Genelde bu değer 25°C 'nin altındadır ve bu değer arttıkça hastalığın şiddeti de hemolize bağlı olarak artmaktadır. Bu hastalarda ameliyat gibi girişimler planlanıyorsa kanın ve tüm intravenöz sıvıların ısıtılarak verilmesi en uygun yöntem kabul edilmektedir. Bu hastalarda kan sayımı yapılırken de benmari usülü ile tüpün soğuğa maruz kalmadan ısıtılması, transferi ve bu şekilde ölçümün yapılması uygun bir yöntem olarak kullanılmaktadır (4,5)

Soğuk aglutinin hastalığında soğukta aktifleşen antikoların eritrositlerin zarında dejenerasyon oluşturması ve eritrositlerin otoaglutinasyona uğraması sonucu hemoliz gerçekteşerek eritrosit ve hematokrit sayısı düşerken MCV, MCH ve MCHC normal değerlerin üzerinde ölçülmektedir. Bu hastalarda özellikle kan bankalarında hemolize bağlı olarak kan grubunun yanlış saptanması, kanın ısıtılma-

dan verilmesi, ya da ameliyat sırasında intravasküler hemoliz gibi sıkıntılar yaşanabilmektedir (2,5).

Tedavide hafif semptomlu olgularda soğuğa maruziyetten kaçınma gibi önlemler ve destek tedavileri ön plandadır. Bulgu ve belirtiler şiddetli ise veya cerrahi bir girişim planlanıyorsa ek olarak yapılan plazmaferez işlemleri etkilidir (1,2,3).

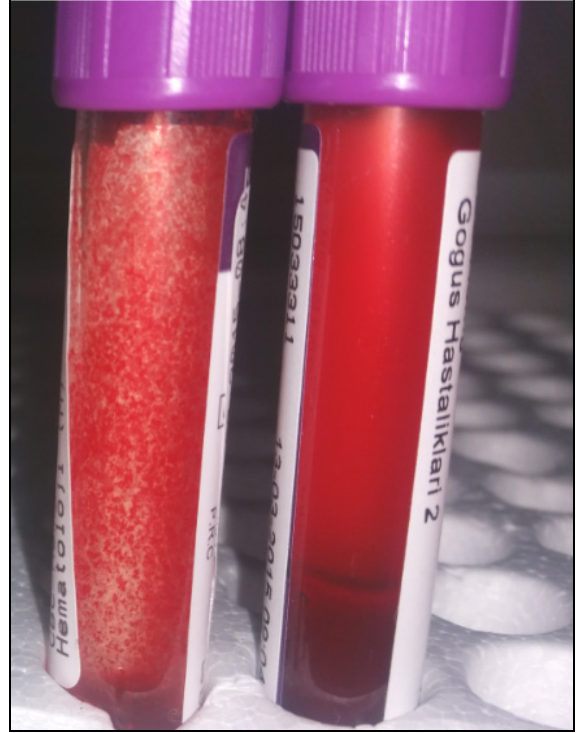
OLGU

65 yaşında erkek hasta geçirdiği bir enfeksiyonun kontrolü amacıyla Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları polikliniğine başvuran ve hemogram tetkiki istenen hastanın $\text{K}_3\text{-EDTA}$ 'lı tüpe alınan kanı merkez laboratuvarı Beckman Coulter LH780 cihazında yapılan ölçüm sonuçlarının anormal çıkması ve hastanın kan alınan tüpü gözlemlendiğinde; aglutinasyonun çok aşıkard olduğu görülmesi üzerine (Şekil 1) numune tekrarlanırsa da yaklaşık bir sonuç alınması üzerine hastadan anamnez alındı.

Hasta aşırı derecede soğuk bir gölete girdikten sonra ayak parmaklarından ve ellerinden başlayan morluklar olduğunu ifade ediyor ve sonrasında şiddetli bir solunum yolu enfeksiyonu geçiren hasta ellerinde ve ayaklarındaki morlukların soğuk havada belirginleştiğini ifade ediyor. Bu olaydan sonra kendisinden kan alınmasının oldukça zor olduğunu ifade eden hasta solunum yolu enfeksiyonunun ara ara nüksettiğini ve doktorunun kanda lökosit değerlerinin aralıklarla bakılması gerektiğini söylediğini ifade ediyor. Bilinen başka bir hastalığı ve sürekli kullandığı ilaç hikayesi olmayan hastanın soğuk aglutinin hastalığı olabileceği düşünülerek hasta cihaz başına davet edildi ve eş zamanlı olarak $\text{K}_3\text{-EDTA}$, Na-Sitrat'lı tüplere ilaveten 37°C 'deki benmari usülü ile ısıtılan $\text{K}_3\text{-EDTA}$ 'lı

tüpe de alınan kan direkt cihazda çalışıldı. K₃-EDTA'lı tüpde periferik yayma yapıldı. İmmünfiksasyon elektroforez çalışıldı.

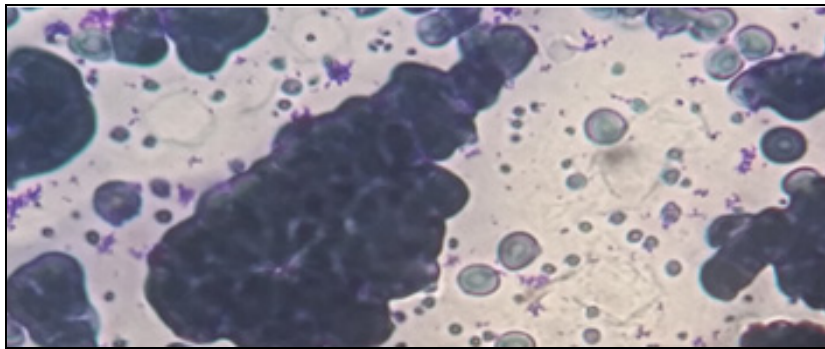
Hastanın eş zamanlı alınan K₃-EDTA'lı ve Na-Sitratlı hemogram tüplerinde gözle görülebilen aglutinasyonu mevcuttu. Ölçümler sonucunda K₃-EDTA'lı ve Na-Sitratlı tüpde eritrosit sayısı 0.35 10⁶/mm³ ve 0.37 10⁶/mm³, hematokrit % 4.2 ve %4.4, lökosit 8.6 ve 9 10³/mm³, hemoglobin 11.5 g/dl, trombosit sayısı 212 10³/mm³ iken, benmari usülü 37°C'de ısıtılan K₃-EDTA'lı tüpde eritrosit sayısı; 1.3 10⁶/mm³ ve hematokrit %16.4, lökosit 6.3 10³/mm³, hemoglobin 11.9 g/dl, trombosit sayısı 249 10³/mm³ olarak ölçüldü. MCH, MCHC değerleri K₃-EDTA'lı ve Na-Sitratlı tüpde ölçülemeyecek kadar yüksek iken (+++++); benmari usülü 37°C'de alınan kanda sırayla 39 pg ve 32 g/dl olarak ölçüldü. Lökosit değerlerinin ise yaklaşık %30 düzeyinde düştüğü gözlemlendi (Tablo 1). Periferik yaymada anizozitoz, eritrositlerde hasar, fragmente eritrositler görüldü (Şekil 2). İmmünfiksasyon elektroforezinde monoklonal Ig M kapa bandı gözlemlendi (Şekil 3).



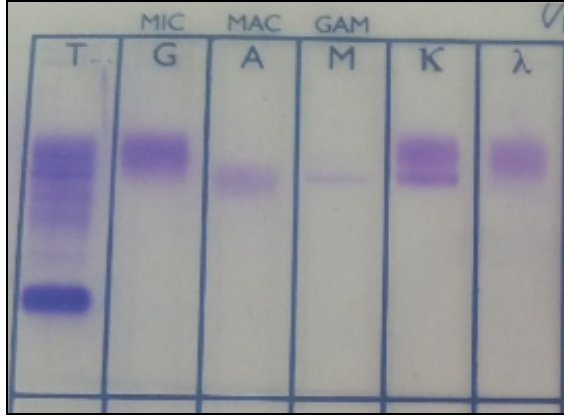
Şekil 1. Normal numune ile karşılaştırıldığında sol tarafta hastanın K₃EDTA'lı test tüpü duvarı boyunca aglutinasyonu görülmektedir.

Tablo1. Hastanın normal şartlarda alınan K₃-EDTA'lı, Na- Sitratlı ve 37°C'de ısıtılıp benmari usülü ile alınan K₃-EDTA'lı tüpün cihaza hemen verilmesi sonucu elde edilen hemogram sonuçları

Parametreler	K ₃ EDTA'lı Tüp	Na-Sitratlı Tüp	Benmari usülü ısıtılmış K ₃ -EDTA'lı Tüp
Eritrosit Sayısı (10 ⁶ /mm ³)	0.35	0.37	1.3
Hemoglobin (g/dl)	11.5	12.1	11.9
Hematokrit (%)	4.2	4.4	16.4
MCV (µm ³)	121.7	126.4	119.7
MCH (pg)	+++++	+++++	39.7
MCHC (g/dl)	+++++	+++++	32.5
Trombosit Sayısı (10 ³ /mm ³)	212	258	249
MPV (µm ³)	5.7	6.2	6.6
WBC (10 ³ /mm ³)	8.6	9.0	6.3



Şekil 2. Olgunun periferik yayma görüntüsü



Şekil 3. Serum immünfiksasyon elektroforez jel görüntüsü

TARTIŞMA

İlk kez 1937 yılında tanımlanan, 1/1000.000 sıklıkta görülen soğuk aglütinin hastalığına neden olan, eritrosit zarındaki "I" antijenine karşı oluşmuş genellikle Ig M yapısındaki antikorlar sağlıklı bireylerde düşük titrelerde bulunabilmektedir. Vücudun daha soğuk seyreden akrall kısımlarında antijen, antikor ve kompleman kaskadı aktifleşerek intravasküler hemoliz oluşmaktadır. Soğuk aglütinin hastalığı paroksizmal soğuk hemoglobinüri gibi soğuk aglütininli hastalıklardan ayırt edilmelidir (2,6). Paroksizmal soğuk hemoglobinüri hastalarında soğukta aktifleşen antikor Ig G yapısında olup, kompleman kaskadı hemolize neden olmaktadır (1). Olgumuzda monoklonal Ig M kappa bandının görülmesi soğuk aglütinin hastalığı tanısını doğrulamaktadır.

Soğuk aglütinin hastalığında klinik ve laboratuvar bulgularının ortaya çıkması açısından hemolitik aneminin derecesini, antikor konsantrasyonu ve termal amplitüd yani antikorların aktif olmaya devam ettiği en yüksek sıcaklık belirlemektedir. Genelde soğuk aglütinin hastalığının termal amplitüdü 25 °C'nin altındadır. Çok nadir olarak 30 °C'nin üzerindedir. Düşük antikor titrasyonu ve düşük termal amplitüdü hastalar asemptomatik olabileceği gibi 30-31 °C termal amplitüde sahip hastalarda bulgular daha şiddetli olabilmektedir (7).

Düşük ısıya maruz kalmaları halinde hemolitik anemi, akrosiyanoz, livedo retikularis, deri nekrozları gibi periferik damar tıkanık-

lıkları bulguları verebilmektedirler. Ayrıca lenfoproliferatif, otoimmün hastalıklara ve infeksiyon hastalıkları ile birlikteliği olabileceğinden ayrıntılı olarak hastalar taranmalıdır. Olgumuzda karın bölgesinde ve özellikle el, ayaklarda livedo retikularis görüntüsü mevcuttur. Anamnezinde hastalığın başlangıcı ile geçirdiği oldukça ağır üst solunum yolu enfeksiyonu soğuk aglütinin hastalığının bir enfeksiyonla tetiklendiğini desteklemektedir (7). Bu hastalarda bir diğer sorun özellikle kan bankalarında kan grubunun yanlış saptanması, kanın ısıtılmadan verilmesi, ya da ameliyat sırasında intravasküler hemoliz gibi sıkıntılar yaşanabilmektedir. 2010 yılında Lodi ve arkadaşlarının vaka sunumunda 48 yaşındaki erkek hasta soğuk aglütinin hastalığı nedeniyle yanlış kan grubu tayini nedeniyle yanlış kan transfüzyonu komplikasyonlarının olduğunu bildirilmiştir (8). Yine 2000'de Şirin ve arkadaşlarının vaka sunumunda soğuk aglütinin hastasına sıcak kalp cerrahisi uygulanması gerektiği bildirilmektedir (5).

Hastanın tekrarlanan numunelerinde K₃-EDTA'lı hemogram tüpünde aglütinasyonların görülmesi üzerine bunun trombositlere bağlı olabileceği düşünülerek Na-Sitratlı tüpde hemogram analizi tekrar edilse de tüpdeki aglütinasyon görülmeye devam etti. Laboratuvarında daha önceki deneyimlerimize göre nadir de olsa bazı hastalarda düşük ısı ve EDTA'nın normalde saklı olan trombosit yüzey antijenlerini açığa çıkarması ile bu antijenlere karşı oluşmuş IgM, IgG ve IgA yapısındaki otoantikorlar trombositlerde kümeleşmeye ve hemogram ölçümlerinde psödotrombositopeniye neden olabilmektedir. Bu gibi durumlarda analiz Na-Sitratlı tüpde de yapılmakta ve doğru analiz gerçekleştirilmektedir (9). Bu olguda örnek Na-Sitratlı tüpe alınsa da tüpde gözlenen aglütinasyon diğerlerinden çok farklı olması ile olgunun soğuk aglütinin hastalığı olabileceği düşüncesi hemogram sonuçlarını değerlendirme neticesinde oluşmuştur.

Otoimmün hemolitik bir hastalık olan soğuk aglütinin hastalığında eritrosit ve hematokrit sayısı hemolize bağlı olarak düşerken MCV, özellikle de MCH ve MCHC normal değerlerin üzerinde ölçülmektedir. Bunun nedeni

soğukta aktifleşen antikorların eritrositlerin zarında dejenerasyon oluşturması ve eritrositlerin otoaglutinasyona uğramasıdır (1,2). Olgumuzda eritrosit sayısı ve bununla ilişkili olarak hematokrit sayısı normal koşullarda yapılan ölçümlerde oldukça düşük bulundu. Otomatize hemogram cihazları, eritrosit zarındaki hasara bağlı olarak büyüyen, 200 fl'den büyük eritrosit kümelerini eritrosit olarak algılayamamaktadır. Bu eritrositleri lökositlerle karıştırabilmektedir (1,2). Olgumuzda lökosit sayısı benmari yöntemiyle alınan tüpdeki numuneye göre yaklaşık %33 daha yüksek saptanmıştı. Yine otomatize cihazlar hematokrit değerini doğrudan ölçümle değil MCV ve eritrosit sayımından faydalanarak hesaplaması sonucun beklenenden daha düşük çıkmasına neden olmaktadır (1,2). K₃-EDTA'lı tüpde eritrosit sayısı $0.35 \cdot 10^6/\text{mm}^3$, hematokrit % 4.2, MCH ve MCHC +++++, hemoglobün 11.5 g/dl iken, benmari usulü 37°C'de ısıtılan K₃-EDTA'lı tüpde eritrosit sayısı; $1.3 \cdot 10^6/\text{mm}^3$, hematokrit %16.4, MCH ve MCHC ise 39.7 pg ve 32.5 g/dl, hemoglobün 11.9 g/dl olarak ölçüldü. Bu veriler olgumuzun bir soğuk aglutinin hastası olduğunu desteklemektedir. 2012'de R. Kalyani ve arkadaşlarının vaka sunumunda 45 yaşındaki erkek soğuk aglutinin hastasında eritrosit sayısı $0.81 \cdot 10^6/\text{mm}^3$, MCV 114 fl, MCHC 69.7 g/dl olarak bildirilmiştir (10). Bu bulgularla uyumlu olarak olgumuzda da K₃-EDTA'lı tüpde eritrosit sayısı $0.35 \cdot 10^6/\text{mm}^3$, MCH ve MCHC ölçülmeyecek kadar yüksek (+++++) bulunmuştur.

Olgumuzda eritrosit sayısı anlamlı derecede düşük ölçülmesine rağmen, eritrosit sayısı ile bağdaşmayacak derecede hemoglobün değerlerindeki yüksekliğin (11.9 g/dl) nedeni olarak, otomatize hemogram cihazlarının hemoglobünü başka bir kanalda eritrositleri lizise uğratarak ölçmesindedir (1). Hemoglobün düzeylerinde oda ısısındaki tüple (11.5 g/dl) 37°C'deki tüp (11.9 g/dl) arasında fark bulunmadı. Yani soğuk aglutinin hastasının hemogram analiz sonucunda hemoglobün düzeyi ölçüm yönteminden dolayı değişmektedir diyebiliriz.

Sonuç olarak, anormal hemogram sonuçları ve hemogram tüpünde aglutinasyonu bariz gözlenen vakalarda soğuk aglutinin hastalığı düşünülerek alınan önlemlerle hasta mağduriyeti, zaman, iş ve maliyet kayıpları önlenmelidir. Özellikle soğuk aglutinin saptama testlerinin yaygınlaştırılması ve rutin hale getirilmesi, hastanın doğru tanı alması ve yanlış tedavilerin önlenmesi açısından önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Neff TA. Autoimmune Haemolytic Anaemias. Wintrobe's Clinical Haematology. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2003;1157-82.
2. Smith LA. Haemolytic Anaemia: Immune Anaemias. Clinical Laboratory Haematology. 1st ed. New Jersey: Pearson Education. 2004;345-68.
3. Berentsen S, Beiske K, Tjonnfjord GE. Primary chronic cold agglutinin disease: An update on the pathogenesis, clinical features and therapy. Haematology. 2007; 12(5): 361-70.
4. Ercan S, Çalışkan M, Koptur E. 70-year old female patient with mismatch between hematocrit and hemoglobin values: the effects of coldagglutinin on complete blood count. Biochem Med (Zagreb). 2014;15:24(3):391-5.
5. Sirin BH, Keskin A, Baltalarlı A. Soğuk aglutininli bir olguda sıcak kalp cerrahisi. Türk Kardiyol Dern Arş. 2000;28:509-511
6. Powers A, Silberstein LE. Autoimmune Haemolytic Anaemia. Hematology: Basic Principles and Practice. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2008; 645-67.
7. Gertz AM. Cold Agglutinin disease. Haematologica. 2005;91(4):439-441.
8. Lodi G, Resca D, Reverberi R. Fatal cold agglutinin-induced haemolytic anaemia: a case report. Journal of Medical Case Reports. 2010, 4:252.
9. Özçelik F, Öztosun M, Gülsün M, Arslan E, Serdar MA. İdiopatik trombositopenik purpura ön tanılı bir olguda EDTA'ya bağlı psödotrombositopeni. Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry-Türk J Biochem] 2012; 37 (3) ; 336-339.
10. Kalyani R, Thej MJ, Thomas AK, Raveesha A. Chronic Cold Agglutinin Disease: A Case Report with Review of Literature. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2012;6(3):480-482.

Yazışma adresi:

Sibel Kulaksızoğlu

Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, Antalya,

E-mail: sblclnrgl@yahoo.co.uk

