

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

**İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Hematoloji Bilim Dalı**

**JAK2 V617F MUTASYONUNUN MİYELOPROLİFERATİF HASTALIK
GRUBUNDAKİ SIKLIĞI, TANISAL DEĞERİ ve PROGNOZ ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Dr. Gül İLHAN**

Ankara, 2009

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Hematoloji Bilim Dalı

**JAK2 V617F MUTASYONUNUN MİYELOPROLİFERATİF HASTALIK
GRUBUNDAKİ SIKLIĞI, TANISAL DEĞERİ ve PROGNOZ ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Dr. Gül İLHAN

Tez Danışmanı Dr. Sema KARAKUŞ

Ankara, 2009

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleőmesinde bana destek olan ve yol gösteren tez danıőmanım, değerli hocam Doç. Dr. Sema KARAKUŞ'a teşekkür ederim.

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Baőkanı Prof. Dr. Feride İffet ŐAHİN'e, Dr. Özge zer'e, verilerin toplanmasında yardımcı olan Dr. Neslihan ANDIÇ, Dr. Mahmut YERAL ve Dr. Mutlu KASAR'a teşekkür ederim.

ÖZET

İlhan G. JAK2 V617F Mutasyonunun Miyeloproliferatif Hastalık Grubundaki Sıklığı, Tanısal Değeri ve Prognoz Üzerine Etkisinin Araştırılması, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Yan Dal Uzmanlık Tezi, Ankara, 2009.

Janus kinaz 2 (JAK2) geni eritropoetin, trombopoetin ve granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktörün sinyallerini iletmeye yarayan reseptörlerin sentezinde rol alır. Ayrıca diğer sitoplazmik proteinlerin de sinyal iletiminde rol alan bu reseptörler için tirozin kinaz görevi yapar. JAK2 geni 9. kromozom üzerinde olup mutasyonu BCR-ABL negatif miyeloproliferatif hastalıklarda (MPH) ilk olarak 2005'te tarif edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda polisitemia vera (PV) hastalarının ortalama % 97'sinde, esansiyel trombositoz (ET) hastalarının % 57'sinde, idiopatik miyelofibrozis (IMF) hastaların % 50 sinde bu mutasyon saptanmıştır. Bazı çalışmalarda JAK2 mutasyonuna sahip olan kişilerde diğerlerine göre daha yüksek hemoglobin (Hb), lökosit düzeyleri ve daha fazla artmış kemik iliği sellüleritesi olduğu bulunmuş ve nötrofil aktivasyonu, nötrofil-trombosit komplekslerinin artışının MPH'da trombozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca PV hastalarında JAK2 homozigot mutant olan hastalarda daha yüksek Hb, nötrofil değerleri olup bu hastaların kaşıntıya, kemik iliğinde fibroze daha fazla eğilimli oldukları rapor edilmiştir. Son yapılan çalışmalardan birinde ise mutasyonun şiddetinin artışı ile tromboz riskinin artışı kadar lökositozda ve splenomegali sıklığında da artış olduğu bulunmuştur. Biz bu çalışmada hastanemizdeki PV, ET ve IMF tanısı almış hasta popülasyonunda JAK2 V617F mutasyon sıklığını, hastalıklara göre dağılımını ve klinikle olan ilişkisini araştırmayı planladık. Çalışmaya PV, ET ve IMF tanısı ile takip edilen ve yeni tanı alan 65 hasta alındı. Hastaların 28'inde (% 43,1) PV, 29'unda (% 44,6) ET, ve 8'inde (% 12,3) IMF vardı. Hastaların 41'i (% 63) kadın, 24'ü (% 37) erkek olup ortalama yaşları 64.02±12.42 idi. Mutasyonun sıklığı ET tanılı hastalarda % 62.1, PV tanılı hastalarda % 89,3, IMF tanılı hastalarda % 25 bulundu. Yirmi sekiz PV hastasından JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar cinsiyet, tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından incelendi. JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında bu özellikler yönünden fark bulunamadı. PV hastaları tanı sırasındaki hemoglobin düzeyi, hematokrit yüzdesi, lökosit sayısı, laktat dehidrogenaz (LDH), eritropoetin (EPO), ürik asit ve ferritin düzeyi açısından incelendiğinde JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında anlamlı

fark bulunamadı. PV hastalarında JAK2 mutasyonu olanlarda olmayanlara göre arteriyel ve venöz tromboz sıklığı benzerdi. Bu hastalardan JAK2 mutasyonu homozigot ve heterozigot olanlar cinsiyet, tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamadı. Yirmi sekiz ET hastasından JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar cinsiyet, tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından incelendi. JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Bu hastalar tanı sırasındaki hemogloblin düzeyi, hematokrit yüzdesi, lökosit sayısı, LDH, EPO, ürik asit ve ferritin düzeyi açısından incelendiğinde JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında anlamlı fark bulunamadı. ET hastalarında JAK2 mutasyonu olanlarda olmayanlara göre arteriyel ve venöz tromboz sıklığı benzerdi. Bu hastalar JAK2 mutasyonu homozigot ve heterozigot olanlar tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Sekiz IMF hastasından JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar cinsiyet, tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından incelendi. JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında bu açılardan fark bulunamadı. Hastalar tanı sırasındaki hemogloblin düzeyi, hematokrit yüzdesi, lökosit sayısı, LDH, eritropoetin, ürik asit ve ferritin düzeyi açısından incelendiğinde JAK2 mutasyonu olan hastaların hematokrit ve lökosit düzeyleri olmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu, diğer parametreler açısından anlamlı fark bulunamadı. Bu çalışmada bulunan JAK2 mutasyonunun MPH'daki sıklığı literatürle benzer olup tanısal değeri bir kez daha doğrulanmıştır. JAK2 mutasyonunun MPH'ın laboratuvar ve klinik özellikleri ile korelasyonu ve prognostik değeri ile ilgili daha kapsamlı, prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: JAK2 mutasyonu, Polisitemia vera (PV), Esansiyel trombositoz (ET), İdiopatik miyelofibrozis (IMF).

ABSTRACT

İlhan G. Frequency, diagnostic and prognostic value of JAK2 V617F mutation in myeloproliferative diseases, Baskent University Hospital, Baskent University Medical Faculty, Thesis in Hematology, Ankara 2009.

Janus kinase 2 (JAK2) gene plays a role in synthesis of erythropoetin, thrombopoetin and granulocyte-macrophage colony stimulating factor receptors. In addition, it works as a tyrosine kinase molecule to these receptors which accomplish signal conduction for other cytoplasmic proteins. JAK2 gene is on 9th chromosome and firstly described in 2005 for BCR-ABL negative myeloproliferative diseases (MPD). This mutation was determined 97% of patients with polycythemia vera (PV), 57% of patients with essential thrombocytemia (ET), 50% of patients with idiopathic myelofibrosis (IMF). Some studies showed that patients with JAK2 mutation had higher hemoglobin (Hb), leukocyte counts and more cellular bone marrow. In these studies, increase in neutrophil-platelet complexes was found related with thrombosis in MPH. In addition, PV patients with homozygous JAK2 mutation were reported to have high Hb, neutrophil counts and more pruritus. In a recent study, there was found that frequency of splenomegaly and leukocytosis increase when mutation severity increases. We planned to investigate frequency and relation with clinical findings of JAK2 V617F mutation in patients with PV, ET and IMF. We included 65 patients with PV, ET and IMF. There were 28 (43,1 %) patients with PV, 29 (44 %) patients with ET, 8 (12,3 %) patients with IMF. Forty one (63 %) patients were female and 24 (37 %) patients were male. Mean age of patients was 64.02 ± 12.42 . Frequency of mutation was 62 % in PV patients, 89,3 % in ET patients and 25 % of IMF patients. We compared JAK2 mutated PV patients with unmutated PV patients in points of gender, thrombosis, constitutional symptoms, pruritus, hemorrhage, splenomegaly, bone marrow fibrosis and cytoreductive treatment requirement. We found no difference among these patients. We compared JAK2 mutated PV patients with unmutated PV patients in points of Hb, hematocrit, leukocyte count, lactate dehydrogenase (LDH), erythropoetin (EPO) and ferritin level. We found no difference among these patients. We compared JAK2 mutated PV patients with unmutated PV patients in points of frequency of arterial and venous thrombosis and found no difference. We compared homozygous JAK2 mutated PV patients with heterozygous mutated PV patients in points of gender, thrombosis, constitutional symptoms, pruritus, hemorrhage, splenomegaly, bone marrow

fibrosis and cytoreductive treatment requirement. We found no difference among these patients. We compared JAK2 mutated ET patients with unmutated ET patients in points of gender, thrombosis, constitutional symptoms, pruritus, hemorrhage, splenomegaly, bone marrow fibrosis and cytoreductive treatment requirement. We found no difference among these patients. We investigated these patients in points of Hb, hematocrit, leukocyte count, lactate dehydrogenase (LDH), erythropoietin (EPO) and ferritin level and found no difference. In these patients, frequency of arterial and venous thrombosis were similar. We compared homozygous JAK2 mutated ET patients with heterozygous mutated ET patients in points of gender, thrombosis, constitutional symptoms, pruritus, hemorrhage, splenomegaly, bone marrow fibrosis and cytoreductive treatment requirement. We found no difference among these patients. We compared JAK2 mutated IMF patients with unmutated IMF patients in points of gender, thrombosis, constitutional symptoms, pruritus, hemorrhage, splenomegaly, bone marrow fibrosis and cytoreductive treatment requirement. We found no difference among these patients. When these patients were compared in points of Hb, hematocrit, leukocyte count, lactate dehydrogenase (LDH), erythropoietin (EPO) and ferritin level we found hematocrit percent and Hb were higher in JAK2 mutated patients than unmutated patients and the other parameters were not different. In this study we found frequency of JAK2 mutation in MPH similar with literature and this study confirmed diagnostic value of mutation. Comprehensive prospective studies are necessary for determining the correlation of mutation with clinical findings and its prognostic value.

Key words: JAK2 mutation, Polycythemia vera (PV), Essential thrombocythemia (ET), Idiopathic myelofibrosis (IMF).

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|----|
| TEŞEKKÜR..... | 3 |
| ÖZET..... | 4 |
| ABSTRACT..... | 6 |
| İÇİNDEKİLER..... | 8 |
| SİMGELER VE KISALTMALAR..... | 10 |
| ŞEKİLLER..... | 11 |
| TABLolar..... | 12 |
| GİRİŞ VE AMAÇ..... | 14 |
| GENEL BİLGİLER..... | 15 |
| 2.1. Miyeloproliferatif Hastalıklar | 15 |
| 2.1.1. Tanım ve Sınıflandırma..... | 15 |
| 2.1.2. Polisitemia vera..... | 15 |
| 2.1.3. Esansiyel Trombositemi..... | 22 |
| 2.1.4. İdiopatik Miyelofibrozis (Agnojenik Miyeloid Metaplazi)..... | 30 |
| 2.1.5. Kronik miyeloid lösemi..... | 40 |
| 2.2. JAK2 mutasyonu ve Miyeloproliferatif hastalıklarla ilişkisi..... | 41 |

| | |
|---|----|
| HASTALAR VE YÖNTEM..... | 46 |
| BULGULAR..... | 49 |
| 4.1. Hasta sayısı..... | 49 |
| 4.2. Demografik Özellikler..... | 49 |
| 4.2.1. Yaş..... | 49 |
| 4.2.2. Cinsiyet..... | 49 |
| 4.2.3. Hastaların tanılara göre dağılımı..... | 49 |
| 4.2.4. JAK2 mutasyonunun tanılara göre dağılımı..... | 50 |
| 4.3. PV hastalarında JAK2 mutasyonunun klinik ve laboratuvar bulgularla ilişkisi..... | 50 |
| 4.4.ET hastalarında JAK2 mutasyonu ve klinik ve laboratuvar bulgularla ilişkisi..... | 54 |
| 4.5.IMF hastalarında JAK2 mutasyonu ve klinik ve laboratuvar bulgularla ilişkisi..... | 59 |
| TARTIŞMA..... | 61 |
| SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 65 |
| KAYNAKLAR..... | 67 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-----------------|---------------------------------|
| AML: | Akut miyeloid lösemi |
| EPO: | Eritropoetin |
| ET: | Esansiyel trombositoz |
| Hb: | Hemoglobin |
| JAK2: | Janus kinaz 2 |
| IFN- α : | İnterferon alfa |
| IMF: | İdiopatik miyelofibrozis |
| LAP: | Lökosit alkalen fosfataz |
| LDH: | Laktat dehidrogenaz |
| MPH: | Miyeloproliferatif hastalık |
| PV: | Polisitemia vera |
| PUVA: | Psörolen ve ultraviyole A ışını |
| PVSG: | Polisitemia Vera Çalışma Grubu |
| WHO: | Dünya Sağlık Örgütü |

ŞEKİLLER

| | |
|---|----|
| Şekil 2.2.1. JAK2 sinyal yolu | 42 |
| Şekil 4.1.1. Hastaların yaş dağılımı..... | 49 |

TABLÖLAR

| | |
|---|----|
| Tablo 2.1.2.1. Sekonder Polisitemi Nedenleri..... | 16 |
| Tablo 2.1.2.2. Polisitemia Vera için 2008 WHO tanı kriterleri | 17 |
| Tablo 2.1.2.3. Polisitemia vera'da tromboz ve kanama için risk faktörleri..... | 19 |
| Tablo 2.1.3.1. Esansiyel Trombositozda Klinik Bulgular..... | 23 |
| Tablo 2.1.3.2. Esansiyel 2008 WHO Tanı Kriterleri..... | 24 |
| Tablo 2.1.3.3. Esansiyel trombositozda trombotik ve hemorajik risk sınıflaması..... | 26 |
| Tablo 2.1.3.4. Esansiyel Trombositemi tedavisi..... | 27 |
| Tablo 2.1.4.1. İdiopatik miyelofibroziste klinik özellikler..... | 31 |
| Tablo 2.1.4.2. İdiopatik miyelofibrozis tanısında 2008 WHO kriterleri..... | 32 |
| Tablo 2.1.4.3. İdiopatik miyelofibroziste ayırıcı tanı..... | 34 |
| Tablo 2.1.4.4. İdiopatik Miyelofibrozis İçin Duprizev Prognostik Skorlama Sistemi..... | 37 |
| Tablo 2.1.4.5. İdiopatik miyelofibrozis için Mayo Klinik Prognostik Skorlama Sistemi..... | 37 |
| Tablo 3.1. DNA örneklerinin eklendiği karışımın içeriği..... | 47 |
| Tablo 3.2. JAK2 V617F Mutasyonu İçin Reaksiyon Aşamaları ve Amplifikasyon Sıcaklıkları..... | 48 |
| Tablo 4.2.3.1. Tanılara göre hasta dağılımı..... | 50 |
| Tablo 4.2.4.1. JAK2 mutasyonunun tanılara göre dağılımı..... | 50 |
| Tablo 4.3.1. PV hastalarında JAK2 mutasyonunun klinik bulgularla ilişkisi..... | 51 |
| Tablo 4.3.2. PV hastalarında JAK2 mutasyonunun laboratuvar bulgularla ilişkisi..... | 52 |
| Tablo 4.3.3. PV hastalarında JAK2 mutasyonunun arteriyel ve venöz trombozlarla ilişkisi..... | 53 |
| Tablo 4.3.4. PV hastalarında JAK2 mutasyonunu heterozigot ve homozigotluğunun klinik bulgularla ilişkisi..... | 54 |
| Tablo 4.4.1. ET hastalarında JAK2 mutasyonunun klinik bulgularla ilişkisi..... | 55 |
| Tablo 4.4.2. ET hastalarında JAK2 mutasyonunun laboratuvar bulgularla ilişkisi..... | 56 |

| | |
|--|----|
| Tablo 4.4.3. ET hastalarında JAK2 mutasyonunun arteriyel ve venöz trombozlarla ilişkisi..... | 57 |
| Tablo 4.4.4. ET hastalarında JAK2 mutasyonunu heterozigot ve homozigotluğunun klinik bulgularla ilişkisi | 58 |
| Tablo 4.5.1. IMF hastalarında JAK2 mutasyonunun klinik bulgularla ilişkisi..... | 59 |
| Tablo 4.5.2. IMF hastalarında JAK2 mutasyonunun laboratuvar bulgularla ilişkisi..... | 60 |

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Miyeloproliferatif hastalık (MPH) başlığı altında incelenen polisitemia vera (PV), esansiyel trombositoz (ET) ve idiopatik miyelofibrozin (IMF) altta yatan moleküler mekanizması halen araştırılmaktadır. 2005 yılında 9. kromozomun kısa kolunda yer alan Janus kinaz 2 (JAK2) geninin VF617F bölgesinde mutasyonun bulunması bu hastalıkların altta yatan biyolojik temelini aydınlanmasında oldukça yararlı olmuştur (1). Bu çalışmanın amacı miyeloproliferatif hastalıkların tanısında kullanılmaya başlanan JAK2 V617F mutasyon pozitifliğinin bu tanıyla takip edilen hastalarımızdaki dağılımını saptamak, literatürle karşılaştırmak, böylece bu mutasyonun sıklığı ile ilgili ülkemizdeki kısıtlı veriye katkıda bulunmak ve JAK2 mutasyonunun prognoz ve hastalık kliniğiyle ilişkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Miyeloproliferatif Hastalıklar

2.1.1. Tanım ve Sınıflandırma

MPH hematopoetik progenitör hücrelerin sitokinlere bağımsız yanıtı veya hipersensitivitesi ile meydana gelen, kan elemanlarının kontrolsüz artışı ile karakterize heterojen ve klonal bir grup hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre artık bu hastalıklar miyeloproliferatif neoplazmlar olarak adlandırılmaktadır. Bunlar bcr-abl pozitif kronik miyeloid lösemi (KML), PV, ET, IMF, kronik eozinofilik lösemi, mastositoz, kronik nötrofilik lösemi ve sınıflanamayan miyeloproliferatif hastalıklardır (2).

2.1.2. Polisitemia vera

Kırmızı küre kitlesinde artış, genellikle lökositoz ve trombositoz, splenomegali ile karakterize kronik, klonal ve progressif bir miyeloproliferatif hastalıktır. Kemik iliğinde eritroid, miyeloid ve megakaryositik seride proliferasyon olur. PV diğer hematolojik malignitelerden farklıdır. Çünkü eğer kırmızı kürelerin ve trombositlerin çoğalması kontrol altına alınabilirse uzun bir yaşam süresi söz konusu olabilmektedir.

Klinik özellikler

Tanı sırasında hastaların % 80'i asemptomatiktir. Kalanının yarısında baş ağrısı, özellikle ılık banyo sonrası kaşıntı ve halsizlik vardır. Hastaların 1/3'ünde dispne, baş dönmesi, görme bozuklukları, kilo kaybı, epigastrik ağrı, terleme ve ellerde ve ayaklarda eritromelalji adı verilen ağrılı pareteziler vardır. Bu semptomlar artmış hücre yıkımı, artmış histamin salınımı ve mikrovasküler/vazomotor uyarıma bağlıdır. Hastaların yaklaşık % 15'i tanı anından önceki 2 yıl içinde, tanı anında arteriyel, daha az olasılıkla venöz tromboz geçirmiş durumdadır. PV'li hastaların 1/5'i geçici iskemik atak, serebrovasküler olay, miyokard enfarktüsü, derin ven trombozu veya hepatik ven trombozu gibi büyük damar trombozlarının komplikasyonları ile başvururlar. Dural sinüs, mezenterik ven gibi beklenmeyen bölgelerde altta yatan bir neden olmaksızın gelişen trombozlarda PV'yi akılda tutmak gereklidir. Epistaksis tanı anında hastaların % 15-20'sinde, gastrointestinal kanama ise % 5'inde görülmektedir. Bu hastalarda aspirin kullanımı üst gastrointestinal kanamaları arttırabilmektedir.

Tanı anındaki klinik bulgular, hastaların % 50-80'inde splenomegali, % 60'ı ve daha azında yüzde veya konjonktivalarda plethore, % 50 ve azında hipertansiyon, % 50 ve azında hepatomegali ve daha az sıklıkla cilt ülserleri ve gut benzeri lezyonlardır. Pulmoner hipertansiyon PV, ET, veya IMF'de görülebilmektedir. Pulmoner hipertansiyon geliştiğinde ortalama yaşam süresi sadece 18 aydır (3).

Ayrırcı tanı

Ayrırcı tanıda sekonder eritrositoz nedenleri bulunmaktadır (4).

Tablo 2.1.2.1. Sekonder Polisitemi Nedenleri:

| Neonatal | Konjenital | Kazanılmış | | | | |
|--|---|---|----------------------------|-------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| | | <i>Arteriyel hipoksemi</i> | <i>Renal lezyonlar</i> | <i>Çeşitli tümörler</i> | <i>İlaçlar ve kimyasallar</i> | <i>Hepatik lezyonlar</i> |
| Normal intrauterin çevre (Hb F) | Trizomi 13,18 veya 21 | Yüksek rakım | Renal tümörler | Parotid tümörleri | Androjenler | Hepatomalar |
| İkizden ikize transfüzyon sendromu veya maternal-fetal kanamalar | Mutant yüksek oksijen afiniteli hemoglobin | Siyanotik konjenital kalp hastalığı | Renal kistler | Serebellar hemanjiomlar | Epoetin alfa ve darbopoetin alfa | Siroz |
| Diyabetik anneden doğan infantlar | Konjenital düşük 2,3-bisfosfogliserat | Kronik akciğer hastalığı | Diffüz parankimal hastalık | Lenfomalar | Yeni eritropoetik ajanlar | Hepatitler |
| Adrenal hiperplazi | Otonom yüksek eritropoetin üretimi | Uyku apnesi ve hipoventilasyon sendromları | Hidronefroz | Uterin myomlar | Nikel | Hepatomalar |
| Tirotoksikozis | Ozozomal dominant polisitemi (Eritropoetin reseptör mutasyonları dahil) | Bozulmuş oksijen dağılımına yol açan diğer nedenler | Wilms tümörü | Kutanöz leiomyomatozis | Kobalt | |
| | Diğer konjenital polisitemi durumları | Karbonmonoksit zehirlenmesi | Renal arter stenozu | Bronşial karsinomlar | | |
| | | | Renal transplantasyon | Over tümörleri | | |
| | | | | Adrenal tümörler | | |
| | | | | Menenjiomlar | | |
| | | | | Feokromasitoma | | |

Tanı kriterleri

Sekonder polisitemi nedenleri ve ailede eritrositoz öyküsü olmadan düşük serum eritropoetin düzeyi olması büyük olasılıkla PV'yi düşündürür. WHO'nun PV tanısı için 2008'de oluşturduğu kriterler tablo Tablo 2.1.2.2.'de gösterilmektedir.

Tablo 2.1.2.2. Polisitemia Vera için 2008 WHO tanı kriterleri

Major kriterler

1. Hemoglobün düzeyinin erkeklerde >18.5 g/dl, kadınlarda >16.5 g/dl olması veya eritrosit kitlesinin artmış olduğunun gösterilmesi
2. JAK2 V617F veya JAK2 Ekson 12 gibi fonksiyonel bir mutasyonun varlığı

Minör kriterler

1. Kemik iliğinde eritroid, granülositik veya megakaryositik seride baskınlıkla panmiyelozis
2. Serum eritropoetin düzeyinde düşüklük
3. İn vitro endojen eritroid koloni formasyonu

Tanı için 2 major kriter ve 1 minör kriter veya 1. major kriterle beraber 2 minör kriter gereklidir.

Laboratuvar bulguları

Düşük serum eritropoetin düzeyi PV'de sıktır ancak hastaya özellikle terapötik flebotomiden sonra eritropoetin düzeyi bakılırsa normal bulunabilir. Eritrosit kitlesi tarafından yeterli renal kanlanma sağlandığı için hipoksemiye bağlı sekonder eritrositozda normal eritropoetin düzeyi görülebilir. Artmış eritropoetin düzeyi ise kuvvetli bir şekilde hipoksemiye veya diğer nedenlerle oluşmuş sekonder eritrositozu telkin eder ancak PV'de nadiren görülür. Fakat PV ile ilişkili Budd Chiari sendromunda hepatik nekroz ile birlikte yüksek eritropoetin düzeyi geçici olarak görülebilir. PV'de anormal in vitro trombosit agregasyonu olguların % 80'inde izlenir. PV'li hastaların en az yarısında görülen diğer laboratuvar anormallikleri ise artmış lökosit alkalen

fosfataz (LAP) skoru, artmış LDH ve hiperürisemidir. PV’de sık görülen kemik iliği bulguları eritroid ve megakaryositik hiperplazi, hiperlobe çekirdekli geniş, anormal megakaryosit kümeleridir. İlerlemiş retikülin fibrozis (evre 3 veya 4) tanısı anında hastaların % 5’inden azında varken, 10-15 yıl sonra % 20’sinde, 20 yıl sonra ise % 50’sinden fazlasında izlenmektedir. Tanı anında PV’li hastaların kabaca % 15’inde trizomi 8, trizomi 9, 13q delesyonu ve 20q delesyonu gibi anormallikler görülür. Monozomi 7 ve 5q delesyonu ve AML ve MDS’de görülen diğer anormallikler PV’de sık değildir. Hastalığın geç döneminde (10 yıldan sonra) klonal karyotip sıklığı % 80’i bulmaktadır. Spesifik anormalliklerle AML’ye ilerleme veya yüksek dereceli kemik iliği fibrozisi gelişimi arasında net bir ilişki yoktur.

Prognoz

PV kök hücre nakli dışında kür edilemeyen kronik bir hastalıktır. Önceden yapılmış gözlemsel çalışmalarda tedavisiz eritrositoz ve trombositoza bağlı semptomlarla başvuran hastalarda sıklıkla meydana gelen tromboembolik olaylar nedeniyle ortalama yaşam süresi 18 ay olarak bulunmuştur. Tanı konulduktan sonra *sitoredüktif* tedavi ile veya *sitoredüktif* tedavi olmadan aspirinle birlikte flebotomi uygulanan ve tanı sırasında ortalama yaşı 65 olanlarda beklenen yaşam süresi normal beklenen yaşam süresi kadardır. Ancak tanı sırasında 40 yaşın altında olanlarda beklenen yaşam süresi 10 yılı geçse bile aktif tedavi verilse dahi benzer yaştaki sağlıklı bireylere göre daha kısadır.

Polisitemia vera splenomegali, ilik hiperplazisi, eritrositoz ve trombositozla karakterize “proliferatif faz”dan ilerleyici kemik iliği fibrozisi, bozulmuş hematopoezle karakterize “*spent fazı*”na ve daha sonra da “post polisitemik miyeloid metaplazi” (PPMM) adı verilen son döneme ilerleyebilir. PPMM ilik dışı hematopoeze bağlı ilerleyici hepatosplenomegali, ileri derecede kemik iliği fibrozisi, lökoeritroblastik kan tablosu ve pansitopeni ile karakterizedir. Postpolisitemik fazda median yaşam süresi 3 yıldan azdır. PPMM’si olan hastaların en az % 25-50’sinde AML’ye dönüşüm görülür.

Tromboz ve kanama PV’de morbidite ve ölümün en önemli nedenleridir. Gözlemsel çalışmalar hastaların % 40-50’sinde tromboz, % 15’inde kanama olduğunu ve hastaların % 20-40’ının tromboz ve % 10’unun kanama nedeniyle öldüğünü göstermiştir (5).

Tablo 2.1.2.3. Polisitemia vera'da tromboz ve kanama için risk faktörleri

Tromboz

60 yaşın üstünde olma

Öyküde arteriyel veya tromboz olması

Sıklıkla filebotomi yapılması

Postoperatif kontrol edilemeyen hematokrit veya trombosit sayısı

(Hereditör veya edinsel trombofili durumlarının eklenmiş etkisi)

Hemoraji

Antiagregan tedavi (özellikle yaşlılarda)

Geç dönem PPPM'de meydana gelen trombositopeni

Akut Lösemi

Önceden alınan klorambusil, busulan veya ³²P ile tedavileri

Son dönem PPPM'ye dönüşüm

Muhtemel hidroksiüre veya pipobroman kullanımı

Tedavi

Filebotomi

PV tedavisinde amaç filebotomi ile hematokrit değerini normal fizyolojik düzeye yakın tutabilmektir. Genellikle hedeflenen hematokrit değeri kadınlarda % 42'nin, erkeklerde % 45'in ve geç gebelik döneminde % 37'nin altıdır. Hastaların risk durumuna ve özel durumlarına göre ek olarak *sitoredüktif* veya antitrombotik tedaviler eklenir. Genç erişkinlerde tanı sırasında haftada bir veya iki kez yapılan filebotomilerle başvuruadaki semptomların hızlıca giderilmesi için gerekli olabilir. Daha sonra ise filebotomi sıklığının 3-6 ayda bir olması güvenlidir. PV Çalışma Grubu'nun (PVSG) sonuçlarına göre özellikle yaşlı ve tromboz öyküsü olanlarda başlangıçta yapılan hızlı filebotominin tromboz riskini arttırdığı rapor edilmiştir. Bunun nedeni net açıklanamamış olsa da direkt olarak trombosit sayısı ile ilgili değildir. Bu konudaki bir hipoteze göre hızlı filebotomi nedeniyle meydana gelen trombopoetik uyarı ile yüksek oranda oluşan trombositler nedeniyle tromboza yatkınlık artmaktadır. Bu klinik gözlemler ışığında 60 yaşın

üzerindeki ve özellikle tromboz öyküsü ve diğer risk faktörleri olan genç hastalarda başlangıçta miyelosupresif tedavi önerilmektedir.

Filebotomi sonrasında meydana gelebilen demir eksikliği ve buna bağlı gelişen reaktif trombosit artışının trombohemorajik olaylardaki rolü net bilinmemektedir.

Tromboz profilaksisi ve semptomatik tedavi

Standart filebotomi ve destek tedavisi alanlarda düşük doz aspirin (100mg/gün) tromboz ve kardiyovasküler ölümleri azaltmaktadır (6).

Ayrıca düşük doz aspirin trombosit sayısından bağımsız olarak eritromelalji ve diğer vazomotor semptomları azaltmaktadır. PVSG'nin sonuçlarına göre daha yüksek doz (500-900 mg) aspirin ek bir yarar sağlamamakta; tersine özellikle dipiridamol ile birlikte kullanıldığında kanama komplikasyonlarına yol açabilmektedir. Özellikle yüksek doz aspirin alan yaşlı hastalarda kanama riski yüksektir.

PV hastaları tromboza yatkınlığı arttırabilen ve vasküler komplikasyonlara yol açan sigara, oral kontraseptifler ve hormon yerine koyma tedavisinden kaçınılmalıdır. Opere edilecek olan PV hastalarının hematokrit ve trombosit sayısı operasyon öncesi normal olmalı ve bu hastalara ameliyat sonrası dönemde güçlü antitrombotik profilaksi verilmelidir.

Kaşıntı, filebotomi veya antiagregan tedaviye yanıt vermeyen rahatsız edici bir belirti olup antihistaminikler, psoralen ve ultraviyole A ışınları (PUVA), kolestiramin veya selektif serotonin geri alım inhibitörleri semptomatik tedavide kullanılabilir. Dirençli olgularda *sitoredüktif* tedavi veya interferon alfa kullanılabilir. Ağrılı splenomegali ve tolere edilemeyen artmış metabolik semptomlar hidrokisiüre veya interferon alfa ile tedavi edilebilir. *Sitoredüktif* tedaviyi tolere edemeyen veya cevap vermeyen seçilmiş hastalarda palyatif amaçlı splenektomi veya dalağa radyoterapi uygulanabilir.

Akut tromboz tedavisi

PV hastalarında meydana gelen akut trombozlar diğer hastalar gibi sistemik antikoagülasyon ile tedavi edilir. Trombotik olaylarda ilerleme ve tekrarlama riskinin azaltılması için hematokrit ve trombosit sayılarının en aza indirilmesi önemlidir. Hematokriti hızlı bir şekilde normale getirebildiği için filebotomi değerlidir. Trombositleri yüksek olan hastalara akut tromboz sırasında yapılan tromboferez tedavisinin yararı ve işlem sonrası hedef trombosit sayısı bilinmemektedir.

Akut olay tam bir antikoagülasyon sonrası stabilize edildikten sonra arteriyel trombozlarda varfarin tedavisinin yanına antiagregan tedavinin eklenmesi, kanama açısından getirdiği riskin kabul edilebildiği seçilmiş olgularda yararlıdır.

Sitoredüktif tedavi

Kullanılacak *sitoredüktif* ajanın seçimi hastanın yaşına, ağırlı splenomegalisinin tedavi ihtiyacına veya artmış metabolik ve konstitüsyonel semptomlarına ve beraberinde trombositozu olup olmamasına bağlıdır.

Bir riboökleotid redüktaz inhibitörü olan hidroksiüre tromboz riskini azaltır, trombosit sayısını ve dalak boyutlarını ve sıklıkla artmış metabolik semptomları iyileştirir. Hidroksiüre *sitoredüktif* tedavi ihtiyacı olan hastalarda ilk seçimdir. Hidroksiürenin mutajenik ve lökomojenik etkisi hala tartışma konusu olmasına rağmen kronik hidroksiüre tedavisi alan hastalarda toplam AML/MDS riski düşük olarak gözükmektedir. Yine de bu konu ile ilgili bir kesinlik olmaması nedeniyle hidroksiüre genç erişkinlerde tercih edilmemekte veya hasta ile potansiyel riskler ve yararlar tartışılarak başlanmaktadır. Hidroksiürenin diğer yan etkileri sitopeniler ve daha nadiren mukokutanöz ülserlerdir.

İnterferon alfa (IFN- α) 3000-5000 IU cilt altı olarak haftada 3 gün uygulanan dozlarda (yaşlılarda doz azaltımı ile) çoğu PV hastasında kan sayımlarını, splenomegaliyi ve konstitüsyonel semptomları kontrol etmede yararlıdır. IFN- α teratojenik olabilecek hidroksiürenin tersine gebelikte de güvenle kullanılabilen bir ilaçtır. Doz ayarı yapılarak verilen IFN- α tedavisi ileri dönem hastalıkta ilerleyici splenomegali ve kontrolü zor olan periferik lökoeritroblastik kan tablosunun tedavisinde yararlıdır. Tedaviye uyumun iyi olmayışı, yüksek maliyeti, anoreksi, depresyon ve halsizlik gibi yan etkileri ilacın kullanımını kısıtlasa da pratikte gebelik isteyen kadınlarda veya diğer ilaçları tolere edemeyen veya diğer ilaçlarla yanıt alınamayan hastalarda kullanılmaktadır (7).

Anagrelid bir prostaglandin sentez inhibitörü olup hafif anemi yapıcı etkisi olsa da seçici olarak trombosit üretimini inhibe eder. PV'nin artmış metabolik semptomlarına etkili değildir. Anagrelid'in PV'de trombotik insidans üzerine etkisi henüz net olarak bilinmemekte olup ikincil ilaç olarak düşünülmelidir. Terapötik dozlarda anagrelid hidroksiüreden daha pahalıdır. Anagrelid fertilitiyi etkilememesine rağmen teratojenik potansiyeli belirsiz olduğundan gebelikte kullanılmamalıdır. Anagrelid vazodilatör olduğundan yaşlılarda ve kalp hastalığı olanlarda

dikkatli kullanılmalıdır. Sık görülen yan etkileri olan baş ağrısı, çarpıntı ve diyare ilacın düşük dozda başlanması ve doz titrasyonu yapılmasıyla engellenebilir. Ayrıca birçok hasta zamanla yan etkilere tolerans geliştirmektedir.

Pipobroman bir doğal piperazin amidi olup kimyasal olarak alkilleyici ajanlarla ilişkilidir. 1996'dan beri piyasada bulunmamasına rağmen hastalık belirtilerini hidroksiüre kadar iyileştiren bir ilaçtır. Yapılan en az 10 yıllık izleme dayalı Avrupa çalışmalarında pipobroman ile düşük oranda AML (% 5), trombojenik komplikasyon (% 15) ve PPMM'ye dönüşüm (% 9) görülmüştür (8).

Daha az izlem süresine sahip ECLAP çalışmasında ise pipobroman ile istatistiksel olarak anlamlı artmış AML/MDS riski bildirilmiştir.

Konvansiyonel alkilleyici ilaçlar PV'de genellikle kullanılmamaktadır. Klorambusil ve busulfan AML/MDS riskini arttırmaktadır. Beklenen yaşam süresi kısa olan, *sitoredüktif* tedavilere dirençli, özellikle yaşlı hastalarda 2 hafta aralıklı olarak verilen busulfan tedavisi faydalı olabilmektedir. Klorambusile benzer bir şekilde ³²P özellikle alkilleyici ajanlarla veya hidroksiüre ile kombine edildiğinde hematolojik veya non hematolojik malignitelerde artışa neden olmuştur (9).

Bununla birlikte kısa süreli verildiğinde iyi tolere edilebilir ve tek verildiğinde aylarca cevap sağlanabilir bir tedavidir. ³²P 'nin düşük dozlarda konvansiyonel dozu ile aynı etkiyi yapabildiği ve malignite riskinin de azaldığı rapor edilmiştir. Bundan dolayı düşük doz ³²P 70 yaşın üzerinde olan ve kan değerleri hidroksiüre ile kontrol altına alınamayan hastalarda yararlı olabilmektedir. *Sitoredüktif* tedavilerin hiçbiri mevcut kemik iliği fibrozisini veya ilerlemesini değiştirememektedir.

Hematopoetik kök hücre transplantasyonu

Günümüzde miyeloablatif transplantasyonun getirdiği yüksek morbidite ve mortalite riski ve PV'nin olumlu prognozu nedeniyle kök hücre nakli, kötü prognoza sahip genç hastalarda düşünülmektedir (10).

2.1.3. Esansiyel Trombositemi

Trombositlerde artış ile karakterize olan ET en sık görülen miyeloproliferatif hastalık olup

Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık insidans 100 000'de 2.5 olgudur. Median görülme yaşı 60'dır ancak günümüzde genç erişkinlerde de rastlanmaktadır. Kadınlarda özellikle 3. ve 4. dekatlarda erkeklerden 1.5-2 kat daha sık görülmektedir. Mortalite ve morbidite genellikle tromboembolik, metabolik, vazomotor ve daha az sıklıkla hemorajik komplikasyonlar nedeniyle olmaktadır.

Klinik özellikler

Hastaların en az yarısı tanı sırasında asemptomatik olup hastalığın seyrinde vazomotor, trombotik veya hemorajik olaylar çoğunda görülmektedir. PV'den farklı olarak ET'de artmış metabolik ve konstitüsyonel semptomlar daha az görülür. Tanı sırasında hastaların % 25'inde palpabil splenomegali vardır. Dalağı palpe edilemeyen hastaların % 33-52'sinde ultrasonografi ile dalağın volümü ve uzunluğunun arttığı görülebilir. Trombosit-endotel ilişkisi ve küçük arteriollerde meydana gelen inflamasyon sonucu gelişen vazomotor semptomlar santral sinir sistemi ve ekstremitelerde ortaya çıkar (Tablo 2.1.3.1). ET'de arteriyel sistemde (serebral, koroner ve periferik arterler gibi) meydana gelen trombozlar venöz sistemde meydana gelenlerin yaklaşık 3 katıdır. Hastaların yaklaşık % 10-25'inin tanı anında tromboembolik olay geçirme öyküsü vardır. Hemoraji ise tanı anında hastaların sadece % 6'sında olup daha sıklıkla gastrointestinal sistem ve oral mukoza kanamalarıdır. Kanama yaşlı ve trombosit sayısı 1.500.000/ μ L'den fazla olan hastalarda daha sık görülmektedir. Bu hastalarda kanama edinsel von Willebrand hastalığı (vWH) veya aspirin kullanımına bağlı olmaktadır.

ET 40 yaşın altındaki hastaların % 70'inde laboratuvar testlerinde tesadüfen rastlanarak saptanmaktadır. Genç hastaların % 4-10 kadarında tanı öncesi trombotik veya kanama komplikasyonu vardır. ET'si olan genç gebe kadınlarda ilk 3 ayda düşükler ve tekrarlayan fetal kayıplar rapor edilmiştir.

Tablo 2.1.3.1. Esansiyel Trombositozda Klinik Bulgular

Vazomotor

Vasküler tarzda baş ağrısı, görme bozuklukları, baş dönmesi, ayak tabanlarında yanma tarzında dizestezi (eritromelalji), akrosiyanoz, parestezi, kutanöz ülserler, kognitif ve psikiyatrik bozukluklar, inmeler

Trombotik

Arteriyel: serebral (geçici iskemik atak, serebrovasküler olay), koroner, oftalmik, distal ekstremiteelerde

Venöz: derin ekstremite, pelvik, mezenterik, hepatik, portal

Kanama

Gastrointestinal, mukozal, ürogenital kanamalar, derin hematoma ve hemartrozlar

Obstetrik

İlk 3 ayda spontan abortus

Ayırıcı tanı ve laboratuvar

ET tanısı devamlı trombositoz yapan ($>600,000/\mu\text{L}$) özellikle KML, MDS (özellikle 5q delesyonu sendromu, kromozom 3 anomalileri, RARS-T) gibi miyeloproliferatif hastalıkların ve reaktif trombositoz nedenlerinin ekartasyonu ile konur. WHO'ya göre oluşturulmuş tanı kriterleri tablo 2.1.3.2'de gösterilmiştir. Trombositlerin akut faz reaktanı olması nedeniyle demir eksikliği, infeksiyon, inflamasyon, cerrahi, travma, doku hasarı veya enfarktı, malignite veya postsplenektomi durumlarında reaktif trombositoz olabilir. Direk trombopoetik uyarıcı olan IL11'e ek olarak IL1- β ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin artışı reaktif trombositoz ile ilişkilidir. C-reaktif protein artışı IL-6 artışını gösteren belirteç olup inflamatuvar olayı telkin etmektedir (11).

Tablo 2.1.3.2. Esansiyel Trombositoz 2008 WHO Tanı Kriterleri

1. Devam eden trombosit yüksekliği ($\geq 450/10^9/\text{L}$)
2. Büyük ve matür megakaryositlerin proliferasyonu (eritroid ve granülositik seride az miktarda proliferasyon olması veya olmaması)
3. WHO'ya göre KML, PV, IMF, MDS veya diğer miyeloid neoplazmların tanı kriterlerine uymaması
4. JAK2 mutasyonu veya diğer klonal belirtecin olması veya reaktif trombositoz bulgusunun olmaması

Tanı için 4 kriterin de olması gereklidir.

Laboratuvar

Lökosit alkalin fosfataz skoru KML'nin aksine ET'de PV'ye benzer olarak yüksektir. Hastaların yarısında orta derecede lökositoz olabilir. Periferik yaymada sıklıkla geniş veya dev trombositler görülür. Çekirdekli eritroid seri hücreleri veya immatür miyeloid hücreler hastaların % 25'inde görülebilir. Periferde dolaşan immatür hücrelerin olması, göz yaşı hücreleri, hafif splenomegali ve kemik iliğinde görülebilir retikülin fibrozisi ET'den çok IMF'nin prefibrotik veya erken fibrotik fazını telkin eder ve beklenen yaşam süresi kısa olup sıklıkla belirgin miyelofibroze ilerler.

Prognoz

ET miyeloproliferatif hastalıklar arasında en benign olanı olsa da uzun dönem riskleri bulunmaktadır. Üç yüz yirmi iki ET hastasında yapılan gözlemsel bir çalışmada hastaların ortalama izlem süresi 13.6 yıl olup yaşam beklentisi tanı sonrasında ilk dekatta aynı yaştaki insanlarla benzerdir ancak tüm yaşam beklentisi belirgin olarak daha kötüdür. Altmış yaş ve üzeri olmak, lökositoz, devam eden sigara içiciliği ve diyabet kötü yaşam beklentisi için bağımsız prediktif faktörlerdir. Yine de major trombotik ve kanama komplikasyonlarının olmaması durumunda pek çok hastada yaşam beklentisi normal veya normale yakındır. İzole trombositozu olan ET hastalarının kabaca % 5'inde daha sonra PV'de olduğu gibi eritrositoz ve artmış eritrosit kitlesi bulunabilmektedir. Hastaların % 2-6'sında ise kemik iliği fibrozisine ve miyeloid metaplaziye ilerleme söz konusu olabilmektedir. Daha önce de belirtildiği gibi bu hastalarda IMF'nin erken fibrotik fazı akla gelmelidir. Uzun dönem izlemin yapıldığı tek merkezli bir çalışmaya göre miyeloid lösemiye veya herhangi bir miyeloid hastalığa dönüşüm ilk 10 yılda düşüktür (sırasıyla % 1.4 ve % 9.1). Ancak 2. dekatta bu oranlar artıp % 8.1 ve % 28.3, 3. dekatta ise % 24 ve % 58.5 olmaktadır. Diğer birkaç çalışmaya göre tanıdan sonraki birinci dekatta ET'nin normal seyrinde AML'ye dönüşümü düşüktür (<% 2).

Trombohemorajik risk

ET hastalarındaki epidemiyolojik verilere göre tanıdan sonraki ilk dekatta hastaların % 10-50'sinde trombotik epizot görülmekte, % 4'ünde ise hemorajik komplikasyon oluşmaktadır. İleri yaş bu komplikasyonlar için major risk faktörüdür. Kırk yaşından küçük hastalarda her iki komplikasyon da sık izlenmemektedir. Bir prospektif gözlemsel çalışmaya göre trombosit sayısı

1,500,000/ μ L'den az olan, önceden trombohemorajik olay hikayesi olmayan 60 yaş altı hastalarda görülen tromboz ve hemorajide aynı yaştaki sağlıklı insanlara göre artış saptanmamıştır. Yaş ve trombosit sayısının 1,500,000/ μ L'den fazla olması ET'de kanama riski için önemli belirteçlerdir; ancak hastanın diğer eşlik eden hastalık durumları da akılda tutulmalıdır (Tablo2.1.3.3.). Kontrolsüz trombositozu olan bazı ET hastalarında kazanılmış vWH nedeniyle klinik kanamalar olmaktadır.

ET'de trombotik komplikasyon riski yaş, önceki tromboz öyküsü ve mevcut olan ek kardiyovasküler risk faktörlerine bağlıdır.

Tablo 2.1.3.3. Esansiyel trombositozda trombotik ve hemorajik risk sınıflaması

Düşük risk (aşağıdakilerin hepsi)

Yaşın 60'tan küçük olması

Tromboemboli öyküsü olmaması

Trombosit sayısının $<1,500,000/\mu$ L olması (kanama öyküsü veya edinsel vWH olmaması)

Kardiyovasküler risk faktörünün olmaması (sigara, hiperkolesterolemi gibi)

Orta risk

Düşük veya yüksek risk olmaması

Yüksek risk (Aşağıdakilerden biri veya ikisi)

Yaşın 60'tan büyük olması

Tromboemboli öyküsü olması

ET hastalarında sigara, diyabetes mellitus, ve hiperkolesterolemi serebral ve kardiyak olaylara yatkınlık yaratan faktörlerdir. Ayrıca oral kontraseptif kullanımı, östrojen yerine koyma tedavisi, kazanılmış veya konjenital protrombotik durumların da ET hastalarında trombotik olaylara katkıda buldukları düşünülmektedir. Son yayınlara göre antifosfolipid antikorları, hiperhomosisteinemi, protein C eksikliği veya protrombin G20210A mutasyonu da trombozu arttırmaktadır (12,13).

Tedavi

ET'de tedavi yaklaşımı hastanın tromboz ve kanama risklerine, vazomotor semptomların

varlığına ve mevcut trombosit düşürücü ajanların risk ve yararlarına bağlı olarak olmaktadır (Tablo 2.1.3.4). Sıklıkla kullanılan trombosit düşürücü ajanlar hidroksiüre, anagrelid ve IFN- α 'dır. Pipobroman özellikle Avrupa'da sık kullanılmaktadır. Alkilleyici ajanlar PV'de kanıtlanan lökomojenik yan etkileri nedeniyle hemen hemen hiç kullanılmamaktadır.

Tablo 2.1.3.4. Esansiyel Trombositemi tedavisi

Düşük risk grubu

Trombosit düşürücü tedaviye gerek yoktur.

Düşük doz aspirin (75-300 mg/gün) (kanama semptomu yoksa)

Orta riskli grup

Trombosit düşürücü tedavi (Trombosit sayısı $>1,500,000$ ise, kazanılmış vWH veya kanama semptomu varsa)

Düşük doz aspirin (75-300 mg/gün) (kanama semptomu yoksa)

Yüksek riskli grup

Trombosit düşürücü tedavi

Düşük doz aspirin (kanama semptomu yoksa)

Akut trombotik veya hemorajik olay

Tromboz Heparinle stabilizasyon veya trombolitik ajan verilir

Aspirin eklenebilir.

Varfarin

Hemoraji Antitrombosit ajana ara verilir

Persistan kanama varsa trombosit transfüzyonu yapılır.

Edinsel vWHD, DDAVP, krayopresipitat veya faktör VII konsantrasi ile tedavi edilir

Tromboz veya hemoraji Trombosit düşürücü ajanla tedavi

Major bir olayda trombosit sayısı $<600,00/\mu\text{L}$ olması için acil tromboferez yapılmalıdır

Vazomotor semptomlar

Düşük doz aspirin

Trombosit düşürücü tedavi (aspirine rağmen devam eden semptomları olanlarda)

Sitoredüktif tedavi

Yüksek riskli ET hastalarında tedavi ile ilgili 2 önemli randomize çalışma yapılmıştır. İlki 1995'te yayınlanan bir İtalyan çalışması olup, randomize seçilen 114 yüksek riskli ET hastasında 60 yaşın üzeri veya önceden tromboemboli öyküsü olan veya her ikisi mevcut hastalarda hidroksiüre tedavisi ile tromboembolik olayların azaldığı görülmüştür. Bu çalışmanın yakın zamandaki verilerinde (median tedavi 73 ay) hidroksiüre ile yarar devam etmektedir. Destek tedavi alan grubun % 45'inde tromboz olurken, hidroksiüre grubunda % 9 oranında görülmüştür. Ayrıca destek tedavi alanların % 1.7'sinde, hidroksiüre grubunun % 3.9'unda sekonder miyeloid maligniteler (AML, MDS) görülmüş olup fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Klinik olarak önemli 2. randomize çalışma ise 2005'te yayınlanmış olup İngiltere'de yapılmıştır (UK MRC-PT1 çalışması). Çalışmaya katılan 809 hastanın tümü düşük doz aspirin almışlar ve hidroksiüre veya anagrelid almalarına göre hedef trombosit $<400,000/\mu\text{L}$ alınarak randomize edilmişlerdir. Primer sonlanma noktası tromboz veya hemoraji olup 39 aylık median izlem sonrasında anagrelid grubunda hidroksiüre grubuna göre belirgin bir şekilde daha fazla yan etki primer sonlanma noktasına ulaşılmıştır. Anagrelid ve aspirin tedavisi ile arteriyel trombozların, ciddi hemorajilerin ve kemik iliği fibrozisi gelişiminin arttığı ancak hidroksiüre ve aspirine göre venöz tromboembolilerin azaldığı rapor edilmiştir. Anagrelid kolundaki hastalar tedaviyi toksisite veya tedavi başarısızlığı nedeniyle daha fazla oranda bırakmışlardır. Anagrelid'in getirdiği hemorajik risk ilacın muhtemel antitrombosit etkisine bağlanmıştır.

Randomize olmayan bir çalışmaya göre 50 yaş altı, arteriyel veya venöz trombozu olan veya trombosit sayısı $\geq 1,500,000/\mu\text{L}$ olan ET'li hastalar uzun dönem (median izlem 8 yıl) hidroksiüre tedavisinden stabil trombosit sayısı ile ve tekrarlayan veya primer trombozun önlenmesi yönünden fayda görmüşlerdir. MDS veya AML hiçbir hastada görülmemiştir (14).

Pipobroman veya IFN- α kullanımının antitrombotik etkilerini araştıran kontrollü çalışma

yoktur. Randomize olmayan çalışmalarda pipobroman iyi tolere edilmiş ve yüksek riskli ET hastalarında tromboembolik komplikasyonları azaltmak bakımından hidroksiüre ile eşdeğer bulunmuştur.

Gebelik

Çok sayıda yayınlanan olgu raporlarına göre gebelik planlayan semptomatik veya yüksek riskli (trombotik öykü gibi) genç kadınlarda IFN- α güvenli ve etkin bulunmuştur. Tedavi almayan asemptomatik ET'li gebelerde gebelik genellikle başarılı olmasına rağmen ilk trimestır düşüklerinde artan risk ne trombosit düşürücü ajanlardan ne de profilaktik tromboferezden etkilenmemektedir. Ayrıca ilk gebeliğin gidişi daha sonraki için öngörücü bir değer taşımamaktadır. Daha önce fetal kaybı olan ET'li kadınlarda aspirin sıklıkla önerilmektedir bununla birlikte bu yaklaşımın yararı kesin olarak kanıtlanmamıştır.

Tromboz ve hemorajinin önlenmesi ve tedavisi

ET'de akut kanama veya trombotik komplikasyonların tedavisi Tablo 2.1.3.4'te gösterilmiştir. Edinsel vWH nedeniyle meydana gelen kanamalar gerekirse trombosit aferezi ile trombosit sayısı düzeltilerek tedavi edilebilir. Büyük arteriyel damarlarda meydana gelen trombotik olaylar heparin veya trombolitik ajanlarla tedavi edilebilir. Venöz trombozlarda standart heparin veya varfarin verilmelidir. Tekrarlayan trombotik olay geçirenlerde veya ilk trombotik atağın *sitoredüktif* tedavi altında trombosit sayısı normal iken meydana geldiği hastalarda ömür boyu varfarin tedavisi verilmelidir. Arteriyel veya venöz tromboz tedavi esnasında antikoagülasyon alan hastalar kanama açısından yakından izlenmelidirler. Akut arteriyel veya venöz trombozlarda trombosit sayısı çok yüksekse her iki durumda da acil trombosit aferezi yapılmalıdır. Daha sonra trombosit düşürücü tedavi ile trombosit sayısı güvenli olduğu 400,000/ μ L'nin altına düşürülmeli ve bu düzeyde tutulmalıdır.

Aspirin arteriyel tromboemboli geçiren ve bu tedaviyi almayan hastalara verilmelidir. PV'de olduğu gibi ET'de de aspirinin yüksek dozları ile (>325 mg/gün) kanama görülmektedir. Bundan dolayı daha düşük doz aspirin (75-300 mg/gün) önerilmektedir. PV'de olduğu gibi ET'de de klopidogrel veya antitrombosit ajanların rolü tam olarak bilinmemektedir. Venöz trombotik komplikasyon nedeniyle 6-9 aylık yapılan antikoagülasyon sonrası hastalara aspirinle birlikte veya tek başına antitrombosit tedavi verilebilir. PV'dekine benzer olarak ET'li hastalarda da

elektif cerrahi öncesi perioperatif tromboz veya kanamayı azaltmak için trombosit sayısı birkaç hafta boyunca normal sınırlarda olmalıdır.

Kök Hücre Nakli

Genellikle ET’de prognoz iyi olmasına rağmen bazı hastalarda miyeloid metaplazi ile birlikte artmış fibrozis veya AML gelişebilmektedir. Miyelofibrozinin geliştiği, akraba veya akraba dışı vericisi olan yüksek riskli seçilmiş genç ET hastalarında allojenik kök hücre nakli yararlı olmaktadır. Bu konudaki yayınlar küçük olgu serileri şeklindedir. PV’de olduğu gibi yüksek riskli ET’de de nonmiyeloblastif veya otolog kök hücre naklinin rolü tanımlanmamıştır.

2.1.4. İdiopatik Miyelofibrozis (Agnojenik Miyeloid Metaplazi)

IMF veya agnojenik miyeloid metaplazi miyeloproliferatif hastalıklar içinde en az görüleni ve en kötü prognozlu olanıdır. Yıllık insidans her yıl 100,0000 hastada 0.2-1.5 olgu şeklindedir. Genellikle 50 yaş üzeri erkeklerde sık görülmektedir. IMF'nin doğal seyri kötü prognostik faktörlerin olup olmamasına göre değişmekle beraber genellikle median yaşam süresi 3-3.5 yıldır. Düşük riskli hastalar aktif bir tedavi uygulanmadan 10 yıldan fazla yaşayabilmektedir. IMF'nin median tanı yaşı yaklaşık 65 olup hastaların % 70'ine 60 yaş sonrası, yaklaşık % 10'una ise 45 yaşından önce tanı konur. IMF sporadik olarak radyasyon ve benzene maruziyetle ilişkilendirilmişse de genel bir etiyolojik faktör bulunamamıştır.

Klinik özellikler

Tanı anında hastaların 2/3'ü asemptomatik olup meydana gelen konstitüsyonel semptomlar sitokin aracılı artmış metabolik duruma bağlıdır. Ateş, gece terlemesi ve kilo kaybı en sık görülen konstitüsyonel semptomlardır. Ciddi halsizlik IMF'de en sık görülen semptomdur. Hiperürisemi artmış miyeloid hücre döngüsüne bağlı sıklıkla meydana gelen bir durum olup gut veya renal hastalığa yol açabilir. Hastalık seyrinde meydana gelebilen diğer klinik durumlar tablo 2.1.4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1.4.1. İdiopatik miyelofibroziste klinik özellikler

| Mekanizma | Semptomlar |
|--|--|
| Sitokinlerle ilişkili hiperkatabolik durum | Halsizlik, kilo kaybı, gece terlemesi, kaşıntı |
| Splenomegali | Ağrı, erken doyma, diyare |
| Anemi | Dispne, çarpıntı |
| Portal hipertansiyon/asit | Abdominal basınç artışı, periferik ödem |
| Splenik enfarkt | Akut sol üst kadranda ağrı, ateş, bulantı, subkapsüler ağrı |
| Hipertrofik osteoartropati, periostit | Kemik ve kas ağrıları |
| Ektopik miyeloid metaplazi | Tümör kitle etkisi (Akciğer, gastrointestinal, genitoüriner, santral sinir sistemi, vertebral kolon) |
| Hiperürisemi | Monoartiküler artrit, nefrolitiazis |
| Trombositopeni/trombosit disfonksiyonu | Kanama |

Splenomegali tanısı anında hastaların % 85-100'ünde mevcut olup, % 10 olguda pelvise uzanacak kadar büyümüştür.

Hastaların yaklaşık % 35'inde masif splenomegaliye doğru gidiş olmaktadır.

Splenomegalinin nedenleri ekstramedüller hematopoez ve daha az olarak da portal hipertansiyondur. Ekstramedüller hematopoez hastaların % 66'sında hepatomegaliye, % 10'unda ise lenfadenopatiye neden olmaktadır. Nadiren nonsplenik ekstramedüller hematopoez vertebral kolon (kord kompresyonu yapabilen paraspinal veya spinal lezyonlar), akciğer, plevra, retroperiton, göz, böbrek, mesane, mezenter ve cilt gibi bölgelerde olabilir. Akciğerlerde meydana gelen ekstramedüller hematopoez pulmoner hipertansiyonla ilişkili olup, tekniyum 99m sülfür kolloid ile yapılan sintigrafi ile saptanabilir.

Asit ile beraber portal hipertansiyon ve varisler IMF'li hastaların % 7'sinde görülebilir. Bu komplikasyon ekstramedüller hematopoezle ilgili olduğu gibi portal dolaşımı etkileyen trombotik vaskülopati ile trombosit disfonksiyonuna bağlı olarak da gelişebilmektedir. Portal hipertansiyon ve massif splenomegali splenik enfarkta yatkınlık yaratır. IMF'li bir hastada bulantı ve ateşin eşlik ettiği veya etmediği akut veya subakut başlayan sol üst kadran karın ağrısı mevcutsa splenik enfarkt akla gelmelidir. Splenik enfarktın prognostik değeri açık değildir.

Anemi IMF'nin en sık görülen hematolojik bulgusudur. Multifaktöriyel olan aneminin nedenleri arasında bozulmuş eritropoez, hematopoetik yetmezlik, hemoliz, hemoraji (genellikle gastrointestinal) ve hipersplenizm gelmektedir. IMF'li hastalar arasında anemi semptomları sık görülmektedir. Yaklaşık hastaların % 50-70'i tanı anında anemi ile başvurmakta, % 25'inin ise hemogloblin düzeyi <8 g/dl bulunmaktadır.

İlerleyici trombositopeni genellikle hematopoetik yetmezlik veya hipersplenizm sonucunda görülmekte olup kanama riskini arttırmaktadır. Düşük dereceli yaygın damar içi koagülopati bazı hastalarda meydana gelmekte ve trombotik ve hemorajik olay riskini arttırmaktadır. Sekonder demir birikimi ise bağırsaktan uygunsuz demir alımı ve eritrosit transfüzyonu bağımlılığı sonrasında gelişebilmektedir. IMF seyrinde hemolitik anemi, vaskülit ve pyoderma gangrenozum gibi otoimmün komplikasyonlar görülebilir.

Ayırıcı tanı

PV ve ET'den farklı olarak IMF'de kabul edilen form diagnostik tanı kriteri yoktur. WHO tarafından klinikopatolojik özelliklere göre oluşturulmuş tanı kriterleri tablo 2.1.4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1.4.2. İdiopatik miyelofibrozis tanısında 2008 WHO kriterleri

Major kriterler

1. Atipi ile birlikte megakaryosit proliferasyonu (Genellikle retikülin ve/veya kollajen fibrozisle birlikte olur. Belirgin retikülin fibrozis yokluğunda megakaryositlerdeki değişiklikler granülositik proliferasyon ve sıklıkla azalmış eritropoezle karakterize ilik sellüleritesinde artma ile birlikte dir.)
2. PV, KML, MDS veya diğer myeloid neoplazmlar için WHO kriterlerinin karşılanmaması
3. JAK 2 veya diğer bir klonal belirtecin gösterilmesi. Klonal belirteç yokluğunda kemik iliği fibrozisine yol açabilecek altta yatan inflamatuvar veya neoplastik hastalıkların olmaması.

Minör kriterler

1. Lökoeitroblastoz
2. Artmış serum LDH düzeyi
3. Anemi
4. Palpabil splenomegali

Çoğu hastada IMF tanısı kemik iliğinde artmış retikülin veya kollajen fibrozisi, lökoeitroblastik kan tablosu ve bunları açıklayabilecek sekonder nedenlerin, PV ve ET ile uyumlu bulguların olmaması ile konur. IMF'den şüphe edilen hastalarda KML'nin, BCR-ABL füzyon geninin moleküler çalışmalarla ekarte edilmesi gereklidir.

Megakaryositik farklılaşma gösteren akut miyeloid lösemi (FAB sınıflamasına göre AML M7) veya diğer primer miyeloid hastalıklar IMF ile karışabilmektedir. Çoğu olguda akut megakaryoblastik lösemi hızlı hastalık başlangıcı, pansitopeni, hafif splenomegali ve kemik iliğinde megakaryositik fenotipli (CD61 pozitif) miyeloblastların olmasıyla ayrılır. AML M7 ile karışan akut miyelofibrosis formları kemik iliğinde % 20 ve üzeri blast olmaması ile ayrılır.

Miyelofibrozisli MDS olguları da IMF ile karışabilmektedir. Ancak genellikle belirgin splenomegalinin olmaması ve lökoeitroblastik kan tablosunun görülmemesi ile ayrılabilir. Miyelofibrozisli MDS'de üç seride displazi olmakta ancak osteoskleroz olmamaktadır. Kromozom 5 ve 7'de görülebilen klonal anormallikler hem IMF'de hem de MDS'de görülebilmektedir. Kemik iliği fibrozisi ve miyeloid metaplazinin meydana geldiği geç dönem PV, ET ve KML'de morfoloji ve kliniğin IMF'den ayrımı oldukça zordur.

Kemik iliğinde fibrozise neden olan diğer malign veya olmayan nedenler tablo 2.1.4.3'de belirtilmiştir. Bunlara ek olarak sistemik lupus eritamatozis, Sjögren sendromu ve diğer kronik otoimmün hastalıklarda kemik iliğinde artmış retikülin fibrozisi ve megakaryositik hiperplazi görülebilmekte ve bu tablo IMF'ye benzemektedir. Sistemik lupus eritamatozusa veya diğer spesifik sendromlara bağlı olmayan primer otoimmün miyelofibroziste genellikle splenomegali veya belirgin lökoeitroblastik kan tablosu olmamakta, pozitif antinükleer antikor ve direk globulin testleri ile birlikte konstitüsyonel semptomlar ve anemi olmaktadır. Bu hastalıkta klinik, hematolojik ve fibrotik anormallikler genellikle kortikosteroidlere cevap vermektedir.

Tablo 2.1.4.3. İdiopatik miyelofibroziste ayırıcı tanı

Akut miyelofibrozis

Fibrozisle birlikte miyelodisplazi

Geç dönem PV, ET veya KML

Miyelofibrozise neden olan sekonder malign nedenler

Saçlı hücreli lösemi

Hodgkin Lenfoma

Non Hodgkin Lenfoma

Plazma hücre hastalıkları

Akut lenfoblastik lösemi

Metastatik karsinom

Multiple miyelom

Kronik miyelomonositik lösemi

Sistemik mastositoz

Eozinofilik lösemi

Sekonder miyelofibrozise neden olan malign olmayan nedenler

Granülomatöz infeksiyonlar (tüberküloz, histoplazmoz)

Paget hastalığı

Otoimmün hastalıklar (sistemik lupus, Sjögren Sendromu, psöriatik artrit, primer otoimmün miyelofibrozis)

Laboratuvar bulguları

Sıklıkla görülen anemiye ek olarak IMF'de lökositöz hastaların % 50'sinde, lökopeni % 7'sinde, trombositöz % 28'inde, trombositopeni % 37'sinde görülmektedir. Bu hastalıkta immatür hücrelerin periferik çıkması karakteristiktir. Eritroid öncül hücrelerin kemik iliğinden periferik kana çıkışı bu hastalıkta tipik bir bulgudur. Eritroid öncüller periferde % 20'ye kadar, blastik

hücreler ise % 30'a kadar görülebilir. Çoğu hastada periferik yaymada tipik immatür miyeloid hücrelerin, çekirdekli eritroid hücrelerinin, göz yaşı hücrelerinin ve büyük trombositlerin oluşturduğu tipik lökoeritroblastik kan tablosu görülür. Bu bulgular IMF için sensitif olmasına rağmen yüksek oranda spesifik değildir. Kemik iliği fibrozisinin sekonder nedenleri de benzer periferik kan bulgularına neden olabilmektedir.

Lökosit alkalin fosfataz skoru IMF'li hastalarda genellikle artmasına rağmen 1/4 hastada normal veya düşük olabilir. Hızlı ilik döngüsü nedeniyle LDH, bilirubin ve ürik asit düzeyleri genellikle yüksektir. Haptoglobulin genellikle düşük bulunur ve düşük dereceli idiopatik hemolizin diğer klinik ve laboratuvar belirteçleri pozitif olabilir.

Erken prefibrotik IMF safhasına “sellüleri” veya “proliferatif” evre adı verilmekte olup bu dönemde diğer periferik kan anormallikleri az olmasına rağmen trombositoz olabilmektedir. Bu durum tanısal güçlüğü neden olabilmektedir. IMF hastalarının yaklaşık % 20-30'sinde hastalık başlangıcının prefibrotik evre ile olduğu düşünülmektedir. Splenomegali olabilmekte, kemik iliğinde hipersellüerite, miyeloid matürasyonda sola kayma, megakaryosit sayısı, kümeleşmesinde artma ve nükleer displazi görülebilmektedir. IMF'nin fibrotik evresinde ise daha belirgin klinik ve periferik kan değişiklikleri ve megakaryositik atipi ile birlikte retikülin veya kollajen fibrozisi tipiktir.

Fibrozis ile birlikte tanısal kemik iliği aspirasyonu genellikle yapılamamakta ve buna “dry tap” adı verilmektedir. Progressif meduller fibrozis gümüş boyaması ile görülen ekstrasellüler retikülin liflerinde birikme ve trikrom boyama ile görülen kollajen liflerinde birikme ile karakterizedir. İleri evrelerde hematopoetik alan tamamıyla fibroblastlar ve ekstrasellüler matriks ile kaplanmakta ve bazı hastalarda osteoskleroz oluşabilmektedir.

Klinik gidiş ve prognoz

Yapılan çalışmalara göre IMF'de klinik ve laboratuvar özellikler diğer MPH'lara göre saldırgan gidişi ve kısa yaşam süresini göstermektedir. Genellikle morbidite ve mortalite hematopoetik yetmezlik, tromboz, hipersplenizm, ileri yaş ve AML'ye dönüşüm ile ilgilidir. Hastaların % 30'unun ölüm nedeni AML'dir. Lösemik transformasyon splenektomiden sonra sık görülmekte ancak splenektomize hastaların kötü klinik özellikleri (periferde blast artışı, belirgin trombositopeni gibi) olması nedeniyle de bu dönüşüm sıklığı artabileceğinden splenektominin lösemiye dönüşüm üzerindeki bağımsız etkisi net değildir. AML'ye dönüşüm riski ciddi anemisi

ve periferde çok sayıda immatür miyeloid hücrenin olması ile artmaktadır.

Hemoglobin'in 10 g/dl altında olması IMF için kötü prognostik faktördür. Yaş da önemli bir faktör olup, 55 yaşın altında beklenen median yaşam 8-10 yıl iken daha yaşlı hastalarda 3-5 yıla inmektedir. Anormal karyotip, konstitüsyonel semptomlar, artmış beyaz küre sayısı, immatür öncül hücrelerde artış, ve periferde blastların artışının birçok çalışmada kötü prognostik faktörler olduğu bulunmuştur. Bir çalışmada trizomi 8'in ve 12p delesyonunun kötü prognozla ilgili olduğu rapor edilmiştir. 1996'da geliştirilen Dupriez prognostik skorum sistemi tablo 2.1.4.4.'te gösterilmiştir.

Tablo 2.1.4.4. İdiopatik Miyelofibrozis İçin Dupriez Prognostik Skorum Sistemi

| Kötü Prognostik Faktörlerin* Sayısı | Risk Gurubu | Beklenen yaşam süresi (ay) |
|-------------------------------------|-------------|----------------------------|
| 0 | Düşük | 93 |
| 1 | Orta | 26 |
| 2 | Yüksek | 13 |

*: 1.hemoglobin <10 g/dl olması 2.lökosit sayısının <4 x10⁹/µL veya >30x10⁹/µL olmasıdır.

Mayo klinik tarafından 2006'da geliştirilen skorlama sistemi ise tablo 2.1.4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 2.1.4.5. İdiopatik miyelofibrozis için Mayo Klinik Prognostik Skorlama Sistemi

| Kötü Prognostik Faktörlerin** Sayısı | Risk Gurubu | Beklenen yaşam süresi (ay) |
|--------------------------------------|-------------|----------------------------|
| 0 veya 1 | Düşük | 173 |
| 1 | Orta | 61 |
| 2 ve üstü | Yüksek | 26 |

** : 1. Hb < 10 g/dl, 2. BK > 30.000 ya da < 4000/mm³, 3. Dolaşımda blastların varlığı 4. konstitüsyonel semptomlar, 5. 13q del ve 20q del dışındaki sitogenetik anomalilerin olmasıdır.

Tedavi

IMF tedavisi genellikle palyatif ve destek tedavidir. Bu tedaviler hastalığın ilerlemesini ve kemik iliği fibrozisini değiştirmemekte ve yaşam süresini uzatmamaktadır. Yaşa bakılmaksızın asemptomatik, kötü prognostik faktörleri olmayan, splenomegalisi olmayan veya hafif olan, lökositoz veya trombositozu olmayan veya hafif olan hastalar tedavisiz izlenebilir. Konstitüsyonel veya artmış metabolik semptomların başlaması, dalak büyüklüğünün artması, lökosit veya trombosit sayımında ilerleyici artış olması durumunda hidroksiüre tedavisi seçilebilir. Diğer durumlarda olduğu gibi IMF tedavisinde verilen hidroksiürenin lökomojenik potansiyeli bilinmemektedir. Proliferatif hastalık komplikasyonlarını azaltmak için busulfan, 6-merkaptopürin, ve 2-klorodeoksiadenozin (kladribin) kullanılmıştır.

İnterferon- α hastaların % 50'sinde proliferatif fazdaki kan sayımlarını ve splenomegaliyi kontrol edebilmektedir. Bu ilaç genç, gebelik düşünen semptomatik IMF hastalarında uygun bir seçimdir. Bu ilaç özellikle yaşlı hastalarda maliyeti, uyum zorluğu ve yan etkileri nedeniyle zor tolere edilebilirdir. Anagrelid splenektomi sonrası veya tromboembolik olay komplikasyon

sonrası trombosit sayısını kontrol altına alabilmek için yararlı olabilir.

Hastaların yaklaşık % 50'si yüksek doz rekombinant eritropoetin tedavisine yanıt vermektedir. eritropoetin düzeyi <120 IU/L olup henüz transfüzyon bağımlı olmayanlarda en iyi cevap alınmaktadır. Hastaların az bir kısmında androjenlere (oksimetalon, nandrolon ve testosteron enantat dahil) cevap görülmektedir. IMF ile ilişkili hemolitik anemisi olan bazı hastalarda kortikosteroidlere, danazol veya siklofosfamide cevap alınabilmektedir.

Oral prednison ile birlikte veya tek başına düşük doz talidomid (50 mg/gün) alan hastaların yarısında anemi, trombositopeni ve daha az sıklıkla splenomegali düzelebilmektedir. Standart doz (200-800 mg/gün) talidomid hematolojik yanıtı sağlayabilmekte ancak tolere edilmesi daha güç ve daha toksik olmaktadır. Bazı hastalarda talidomid tedavisi sırasında lökositoz ve trombositoz meydana gelebilmektedir. Talidomid IMF'de kısa süreli takipte kemik iliği fibrozisi ve anjiogenezi etkilememektedir. IMF'li hastalarda yapılan 2 çalışmada lenalidomid ile hematolojik ve dalak yanıtı izlenmiştir. Lenalidomid ile tedavi edilen bazı hastalarda LDH hızlı bir şekilde düşmüş ancak hemoglobin düzeyi birkaç ay sonra veya ilaç kesildikten sonra düzelmiştir.

Birkaç yıl yaşayan ve transfüzyona bağımlı olan hastalarda dokularda kronik demir birikimine bağlı komplikasyonlar gelişebilmektedir. Bu nedenle beklenen yaşam süresi uzun olan, ferritin>1000 µg/L olan, transfüzyon bağımlı hastalarda desferroksamin (parenteral) veya deferasiroks (oral) tedavi ile şelasyon tedavisi düşünülmelidir.

Splenektomi

IMF'de massif splenomegali portal hipertansiyona yol açıp ağrı, anemi ve trombositopeni nedeniyle morbiditeye yol açabilir. Sitotoksik ajanlarla kontrol edilemeyen portal hipertansiyon, refrakter anemi ve semptomların palyasyonu için splenektomi endikedir. Kötü prognostik faktörleri olmayan hastalarda bile splenektomiye bağlı mortalite % 10 ve median yaşam süresi 1-2 yıl bulunmuştur. Splenektomi sonrasında dissemine intravasküler koagülasyon tablosu, beraberinde trombohemorajik komplikasyon riski ile görülebilmektedir. Tecrübeli merkezlerde laparoskopik splenektomi yapılabilmektedir. Hastaların % 30'unda splenektomi sonrası hematokrit belirgin olarak yükselmektedir. Ancak ciddi trombositopeni (<20,000 µg/L) genellikle düzelmemektedir.

Rebound trombositoz (>600,000 µg/L gibi) ve massif hepatomegali splenektomi yapılan

IMF hastalarında potansiyel komplikasyonlardır. Artmış trombosit sayısı hayatı tehdit eden trombotik ve trombohemorajik komplikasyonlara yol açabilmektedir. Operasyon öncesi trombosit sayısı $>50,000-100,000 \mu\text{g/L}$ olan hastalarda trombositoz riski artmış olup bunların % 18-50'sinde trombosit sayısı operasyon sonrasında $>600,000 \mu\text{g/L}$ olmaktadır. Operasyon sonrasında trombotik veya hemorajik komplikasyonları azaltmak için hidroksiüre veya anagrelid başlanmalı veya hasta almakta ise ve trombosit sayısı normalin üzerine çıkmışsa dozları arttırılmalıdır. Splenektomi sonrasında hastaların % 16-24'ünde artmış ekstramedüller hematopoez nedeniyle masif hepatomegali görülebilmektedir. Bu tablonun konvansiyonel tedavilerle kontrol edilmesi zor olup genellikle kladribin tedavisine ihtiyaç duyulmaktadır.

IMF'si olup splenektomi endikasyonu konulan ancak ameliyat için kontrendikasyonu olan hastalarda düşük doz (1-5 Gy, 5-10 seans) splenik irradasyon verilebilir. Bu tedavinin yararı birkaç ay sürmektedir. Bu tedavi % 25 oranında bazal kan değerleri ile veya radyasyon dozu ile öngörüleemeyen ciddi uzamış sitopenilere yol açabilmektedir. Yine de splenik irradasyon hastaların % 90'ından fazlasında ağrı palyasyonunu sağlayabilmekte ve gerekli olduğunda tekrarlanabilmektedir. Lokal irradasyon spinal, retroperitoneal miyeloid tümörlere, ekstramedüller hematopoeze bağlı oluşmuş pulmoner hipertansiyona veya effüzyonla seyreden diffüz plevral veya peritoneal hastalığa ağrı palyasyonu için uygulanabilir. Radyofosfor tedavisi de yaralı olabilen ancak genellikle yaşlı hastalara uygulanan hematopoetik yetersizliği arttırma riski olabilen bir ajandır.

Yeni ajanlar

Bir TNF alfa reseptör blokörü olan Etanersept'in 20 hastadan % 20'sinde kan tablosunu düzelttiği, % 60'ında ise konstitüsyonel semptomları azalttığı gösterilmiştir. Bu tedavi dalak boyutunu ve kemik iliği fibrozisini azaltmamış, bir hastada sitopeniler artmıştır. Etanersept talidomid ve prednison ile güvenle kombine edilebilir. İmatinib mesilat IMF'de kullanılmamalıdır. Yapılan birkaç çalışmada yararı olmadığı spontan dalak rüptürü ve kardiyak tamponat gibi önemli toksisitelerinin olduğu gösterilmiştir.

Kök Hücre Nakli

Kötü prognostik faktörlere sahip IMF'li genç hastalar için tek küratif tedavi allojeneik kök hücre naklidir. Yapılan çok merkezli bir çalışmada 55 yaş altı hastalarda akrabadan yapılan kemik iliği veya periferden toplanan kök hücrelerin nakli sonrasında 5 yıllık yaşam % 47,

histolojik ve hematolojik remisyon % 40 olarak bulunmuştur (15). Son verilere göre HLA uyumlu donörü olan kötü prognostik faktörlere sahip 55 yaş altı çocuk ve erişkin hastalarda miyeloablative allojenik transplantasyon yapılmalıdır. IMF tedavisinde alternatif bir yaklaşım ise allojeneik nonmyeloablative ve otolog kök hücre transplantasyonudur. Bazı hastalarda azaltılmış yoğunluktaki rejimler iyi tolere edilmiş ve satabil donör kimerizmi sağlanabilmiş, kan değerlerinde belirgin düzelme ve ilik fibrozisinde belirgin azalma sağlanabilmiştir. Ancak bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

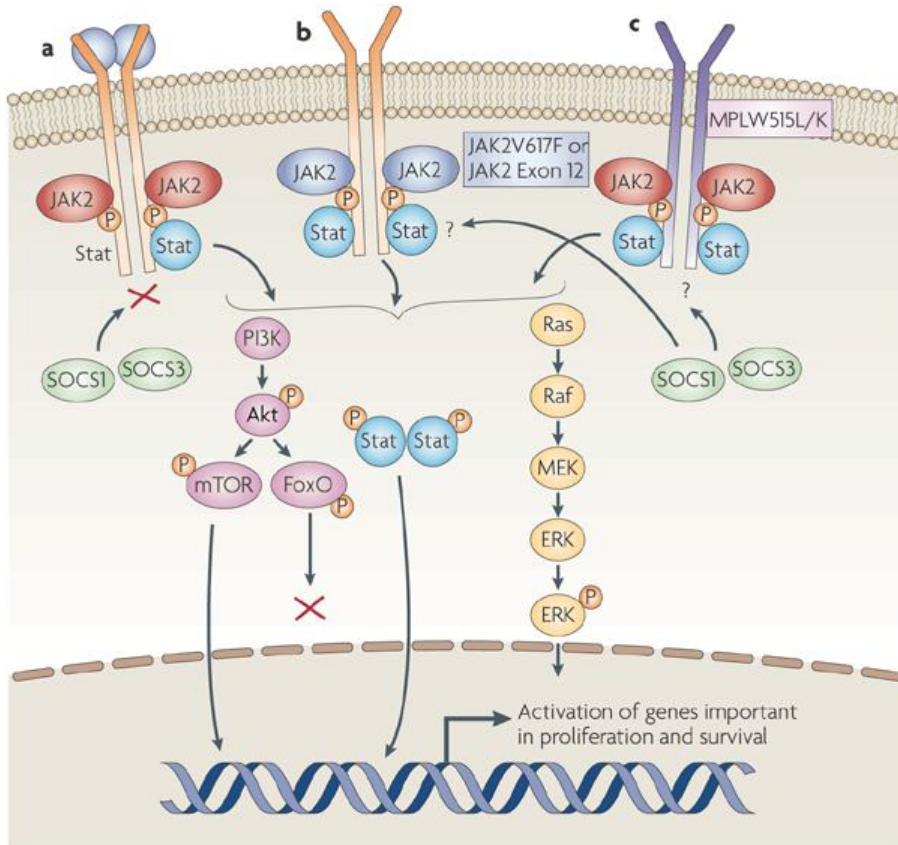
Otolog kök hücre nakli kötü prognostik faktörleri olan az sayıda IMF hastasına yapılmış ve kısa izlem süresi içinde işlem güvenli ve uygulanabilir bulunmuş ve tüm hastalarda stabil engraftman sağlanabilmiştir. Bazı hastalarda klinik düzelme görülmüştür ancak bu deneysel tedavinin endikasyonları ve yararı henüz net olarak ortaya konulamamıştır.

2.1.5. Kronik miyeloid Lösemi

KML primer olarak matür miyeloid hücrelerde artışa neden olan bununla birlikte eritroid seride ve trombositlerde de artışa yol açabilen klonal bir hematopoetik kök hücre hastalığıdır. Çocukluk ve genç erişkinlik çağında da ortaya çıkabilen bu hastalığın median görülme yaşı 50'dir. Hastalığın ortaya çıkış döneminde çoğu hasta asemptomatik olup halsizlik, iştahsızlık ve kilo kaybı görülebilir. Artmış lökosit veya trombosit sayısı hastalığın laboratuvar bulguları olup splenomegali en sık görülen fizik muayene bulgusudur. Hastalığın kronik, akselere ve blastik faz adı verilen 3 dönemi vardır. Tirozin kinaz inhibitörleri hastalığın tedavisinde çığır açmış olup daha önceden 5-6 yılda blastik faz ve ölümlerle sonuçlanan hastalık seyrini oldukça değiştirmişlerdir. Hastalığın tanısı philedelphia kromozomu adı verilen 22. kromozomdaki BCR ve 9. kromozomdaki ABL genlerinin translokasyonunun gösterilmesi ile konur. BCR-ABL füzyon geni tirozin kinaz aktivitesi gösteren sitoplazmik bir proteindir. BCR-ABL ekspresyonu hastalığın tüm fazlarında saptanabilmesine karşın blastik faz Philadelphia kromozomu dublikasyonu, trisomi 8 gibi ek genetik anomalilerin eklenmesi ile karakterizedir. Klinik çalışmalar göstermiştir ki imatinib mesilat her fazda hematolojik ve sitogenetik remisyon sağlayabilmektedir. BCR-ABL'de meydana gelen nokta mutasyonları ilaca dirence yol açabilmektedir (16).

2.2. JAK2 mutasyonu ve Miyeloproliferatif hastalıklarla ilişkisi

JAK2, reseptör olmayan tirozin kinaz ailesinden bir molekül olup hematopoetik progenitör hücrelerin yaşam döngüsünde çok önemli bir rol oynar. Hem eritropoetin, trombopoetin ve granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktörün sinyallerini iletmeye yarayan reseptörlerin sentezinde rol alır, hem de diğer sitoplazmik proteinlerin de sinyallerini iletmeye yarayan bu reseptörler için tirozin kinaz görevi yapar. Valin ve fenil alaninin 617. aminoasit bölgesinde yer değiştirmesi şeklinde meydana gelen bir edinsel nokta mutasyonu sonucunda JAK2 otoregülatör düzenleyicinin etkisinden kurtulur ve fizyolojik sinyal olmadan aktive olur. JAK2 geni 9. kromozom üzerinde olup mutasyonu BCR-ABL negatif MPH'larda ilk olarak 2005'te tarif edilen bir nokta mutasyonudur (17-21). Şekil 2.2.1.'de JAK2 sinyal yolu gösterilmiştir.



Nature Reviews | Cancer

Şekil 2.2.1. JAK2 sinyal yolu

a Sitokin ligandları normalde reseptörlerine bağlanır. Bu durumda JAK2 fosforilasyonu olur, STAT (Sinyal çevirici ve

transkripsiyon aktivatör) proteinleri aktive olur, STAT transkripsiyon faktörleri, mitojen aktive protein kinaz sinyal proteinleri (MAPK) ve fosfotidilinositol 3-kinaz aktivasyon yolu devreye girer.

b JAK2 V617F ve JAK2 Ekson 12 mutant kinazlar sitokin reseptörlerine bağlanır ve ligand olmadan fosforile olurlar sonuçta sinyal yolları aktive olur.

c Tersine MPLW515L/K mutant trombopoetin reseptörleri trombopoetin olmadan vahşi tip JAK2'yi fosforile edebilirler ve sonuç olarak JAK2 sinyal yolları aktive olur. JAK2 sinyal sisteminin negatif regülasyonu normalde sitokin supressör sinyal (SOCS) proteinleri ile olur, (özellikle SOCS1 ve SOCS3); son verilere göre JAK2 617F alleli SOCS3'ün negatif etkisinden kaçabilmektedir.

Yapılan çalışmalar sonucunda PV'li hastaların ortalama % 97'sinde, ET'li hastaların % 57'sinde, IMF'li hastaların %50 sinde bu mutasyon saptanmıştır (18). Ayrıca atipik miyeloproliferatif hastalıklarda, miyelodisplastik sendromda ve eritrolösemide de bu tespit edilmiştir. Bu nedenle günümüzde bu mutasyon kronik miyeloid lösemide tanıda kullanılmakta olan BCR-ABL translokasyonu gibi spesifik bir belirteç değildir. Ancak yine de miyeloproliferatif hastalıklarda, özellikle PV'de tanısal algoritma içerisinde yer almaya başlamıştır.

JAK2 negatif PV ve idiopatik eritrositozlu hastalarda JAK2 geninin ekson 12 bölgesinde 4 farklı mutasyon saptanmıştır. ET'de ise saptanmamıştır. Ekson 12'ye sahip hastalarda genellikle eritroid seri artışı diğer serilere göre daha baskın, eritropoetin düzeyi daha düşük ve kemik iliğinde izole eritroid seri artışı olduğu görülmektedir. Bir çalışmada PV ve idiopatik eritrositozlu JAK2 mutasyonu negatif 20 hastanın 4'ünde ekson 12 mutasyonu tespit edilmiş ve bu hastalarda yaş, cinsiyet, lökosit sayısı arasında bir fark bulunmamış, hemogloblin düzeyinde artış, trombosit düzeyinde ise düşüş saptanmıştır. Bu hastalarda tromboz gelişimi veya miyelofibrotik transformasyon açısından ise JAK2 mutasyonu olan hastalara göre farklılık saptanmamıştır (20). Miyeloproliferatif hastalıklarda tanımlanan diğer bir mutasyon ise MPL mutasyonudur (MPLW515L). MPL trombopoetinin jukstamembran bölgesinde, IMF ve nadiren de ET'de tanımlanan bir mutasyon olup PV'de tanımlanmamıştır. (22). IMF hastalarında % 5 sıklıkta saptanan bu mutasyonun pozitif olduğu IMF hastaları JAK2 V617F mutasyonu olan ve olmayan IMF hastalarına göre tanı sırasında daha düşük Hb düzeyi ve daha fazla transfüzyon ihtiyacı olduğu rapor edilmiştir. ET hastalarında % 1 gibi çok az sıklıkta izlenen bu mutasyonun klinik önemi net olarak belli değildir (23).

JAK2 mutasyonuna sahip olan kişilerde diğerlerine göre daha yüksek hemogloblin, lökosit düzeyleri ve daha fazla artmış kemik iliği sellüleritesi olduğu rapor edilmiştir. (23). Bazı

çalışmalarda JAK2 mutasyonu pozitif ET hastalarında artmış tromboz riski olduğu (19, 25, 26, 27) bazılarında da olmadığı (28, 29, 30) gösterilmiştir Kronik MPH'da önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olan trombozun nötrofil aktivasyonu, nötrofil trombosit kompleksleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (26, 32, 33, 34, 35). JAK2 mutasyonunun trombosit-nötrofil agregatlarının oluşumu için uygun protrombotik bir durum oluşturduğu rapor edilmiştir (26). Bu durumun da trombozu engellemede hidroksiürenin anagrelide göre neden daha fazla etkili olduğunu açıklayabileceğini belirten çalışmalar mevcuttur (31, 35).

ET hastalarında yapılan yeni bir çalışmada JAK2 mutasyonu varlığının arteriyel trombozlarla değil venöz trombozlarla ilişkili olduğu bulunmuştur (31). Başka bir çalışmada ise 397 PV hastasında tromboz riskinin mutasyon profili ile (vahşi tip, heterozigot, homozigot) ilişkili olmadığı bildirilmiştir. Primignani ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ekstrahepatik portal ven trombozu olan 73 hastanın % 35'inde, Budd Chiari Sendromu olan 20 hastanın % 40'ında JAK2 V617F saptanmıştır (36). Patel ve arkadaşları İdiopatik Budd Chiari Sendromlu hastaların % 58'inde bu mutasyonu bulmuşlardır (37). Normal veya düşük kan değerleri olan splanknik ven trombozlu hastaların % 38-42.8'inde yine JAK2 V617F mutasyonu gösterilmiştir (38). Portal ven trombozu olan hastaların % 18-37'sinde JAK2 V617F bulunmuştur (38). Yapılan diğer bir çalışmada ise nedeni açıklanamayan portal veya hepatik ven trombozlu 19 hastanın 14'ünde (% 74) JAK2 mutasyonu saptanmış ve bu hastalarda latent miyeloproliferatif hastalıkların tanısında JAK2 mutasyonunun değerli olacağı belirtilmiştir (39). Ancak yine de arteriyel ve venöz trombozlarla JAK2 mutasyon arasındaki ilişkiyi doğrulayacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca ET hastalarında mutasyon şiddeti ile tromboz riski ve diğer hastalık komplikasyonları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi de önemlidir.

Bir çalışmada ET'li hastalardan JAK2 mutasyonu taşıyanlarda PV'ye benzer olarak Hb, nötrofil sayılarında, kemik iliği eritropoez ve granülopoezinde daha fazla artış, daha fazla venöz tromboz, daha düşük serum eritropoetin düzeyi, daha düşük ferritin ve daha fazla polisitemik transformasyon olduğu gösterilmiştir (31).

Ayrıca JAK2 mutasyonu taşıyan ET hastalarında trombosit sayısının daha düşük olduğunu ve daha düşük dozlarda hidroksiüre tedavisi ile trombosit sayısının kontrol edilebildiği bildirilmiştir. Campbell ve arkadaşlarının hipotezine göre JAK2 pozitif ET, PV ile birçoğ fenotipik benzerlik göstermekte olup bu hastalıklar ayrı olarak değer birbirinin devamı olarak değerlendirilmelidir (20).

Diğer bir çalışmada PV hastalarında JAK2 homozigot mutant olan hastalarda daha yüksek Hb, nötrofil değerleri olup, kaşıntıya, kemik iliğinde fibrozise daha fazla eğilimli oldukları rapor edilmiştir. Ancak mutasyonu olmayanlar, heterozigot olanlar ve homozigot olanlar arasında tromboz ve kanama sıklığı, sitogenetik anomaliler, miyelofibrozise ve akut lösemiye dönüşüm sıklığı benzer bulunmuştur (40). Son yapılan çalışmalardan birinde ise mutasyonun şiddetinin artışı ile tromboz riskinin artışı kadar lökositozda ve splenomegali sıklığında artış olduğu bulunmuştur (41).

PV hastalarında jeneralize kaşıntının JAK2 mutasyonu homozigot olanlarda heterozigotlara veya mutasyon negatif olanlara göre daha sık olduğu gösterilmiştir (40, 41).

JAK2 mutasyonu ile sekonder neoplazi riski ilişkisini inceleyen çalışmalara da ihtiyaç vardır. Bununla ilgili retrospektif çalışmalarda elde edilmiş az veri bulunmaktadır. Kraloyics ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada JAK2 mutasyonu pozitif MPH'si olan 244 hastada akut lösemiye dönüşüm açısından bir ilişki saptanmamıştır (18). Jelinek ve arkadaşları IMF ve PV hastalarında gelişen sekonder AML'de JAK2 mutasyonu insidansının düşük olduğunu göstermişlerdir (42). Tefferi ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif bir çalışmada 63 PV hastasında JAK2 mutasyonunun klinik etkileri incelenmiş ve mutasyon pozitif ve negatif hastalar arasında klinik fenotip olarak fark bulunamamış ancak mutasyonu homozigot ve heterozigot olanların arasında bazı farklar görülmüştür. Homozigot mutasyonu olanlarda daha yüksek Hb değerleri ve daha fazla oranda fibrozis transformasyonu izlenmiştir (40).

IMF'de ise JAK2 mutasyonunun varlığının yüksek lökosit sayısı, kötü prognoz ve agresif hastalık açısından ilişkili gibi gözükmektedir (43).

Yine de BCR-ABL negatif MPH'da JAK2 mutasyonu araştırılması tanısal ve prognostik olarak yararlı gözükmektedir. Bu mutasyonun kullanımının klinik değeri ve yararı yapılacak prospektif çalışmalarla daha net bilinecektir.

Biz bu çalışmada hastanemizde PV, ET ve IMF tanısı almış hasta popülasyonunda JAK 2 mutasyon sıklığını, hastalıklara göre dağılımını ve klinik ve laboratuvar bulgularla olan ilişkisini araştırmayı planladık.

3. HASTALAR VE YÖNTEM

MPH tanısı ile takip edilen veya tanı konulma aşamasında olan 28 PV, 29 ET ve 8 IMF hastasından bilgilendirilmiş onam formu alındıktan sonra EDTA'lı periferik kan örneklerinden High Pure DNA Isolation Kit (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Almanya) kullanılarak "spin colon" yöntemi ile genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildi. İşlem sırasında aşağıdaki basamaklar uygulandı.

DNA Eldesi

1. Antikoagülanlı (EDTA) periferik kan örneğinden her hasta için 500 µl alınarak 1.5 ml'lik tüp içerisinde 200 µl "Binding Buffer" ve 30 µl "Proteinase K" ile pipetaj yapılarak karıştırıldı.
2. Ependorf tüp su banyosunda 70 °C' de 10 dk inkübe edildi.
3. İnkübasyon süresi sonunda ependorf tüp içerisine 100 µl "isopropanol" eklenerek vortekslendi ve tüpün içindeki örnek spin kolona pipetlendi. 1 dk 8000*g santrifüj edildi. Alttaki toplama tüpü atıldı ve yeni tüp kondu.
4. Tüpe 500 µl "Inhibition Removal Buffer" eklenerek 1 dk 8000*g santrifüj edildi. Alttaki toplama tüpü atıldı ve yeni tüp kondu.
5. 500 µl "Wash Buffer" kondu ve 1 dk 8000*g santrifüj edildi. Alttaki toplama tüpü atıldı ve yeni tüp kondu.
6. Tekrar 500 µl "Wash Buffer" konarak 1 dk 8000*g de santrifüj edildi. Alttaki toplama tüpü atıldı ve yeni tüp kondu.
7. Spin kolonun içindeki süzülen kısım yeni ependorfun içine alındı.
8. 70 °C' deki "Elution Buffer" çıkarılarak 200 µl spin kolona eklendi. Tüp 8000*g de 1 dakika santrifüj edildi.
9. Spin kolon atılarak ependorf içerisindeki genomik DNA örneği konsantrasyonu ölçülerek -20 °C' de kullanılana kadar saklandı.

V617F Nokta Mutasyonunun Saptanması

JAK2 geni V617F nokta mutasyonunun saptanması için "LightCycler FastStart DNA Master Hybridization Probe" (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Almanya) kit içeriği ve reaksiyona özgü dilüe edilmiş primer-prob set ile Tablo 3.1.'de belirtilen miktarlarda kullanılarak

hazırlanan PCR karışıma DNA örnekleri eklendi.

Tablo 3.1. DNA örneklerinin eklendiği karışımın içeriği

| Malzeme | Tek reaksiyon için gerekli hacim, μ l |
|---|---|
| PCR grade distile su | 6.6 |
| Mg solüsyonu | 2.4 |
| Reagent miks (parametreye özgü Primer probe seti) | 4.0 |
| Faststart enzim (1 nolu tüp) | 2.0 |
| Genomik DNA | 5 |
| Toplam hacim | 20 |

Kit içeriğinde bulunan kontrol DNA (homozigot mutant, heterozigot ve yaban tip), negatif kontrol ve genomik DNA örneklerinin herbiri için ayrı ayrı hazırlanan PZR karışımı kapillerlere aktarılarak Light Cycler 2.0 (Roche, İsviçre) cihazında gerçek zamanlı PZR gerçekleştirildi. Gerçek zamanlı PZR için uygulanan program;

- Örneğin denatürasyonu ve enzim aktivasyonu
- Hedef DNA'nın PCR amplifikasyonu (siklus)
- Hedef DNA kaynaklı PCR ürününü belirleyen "melting curve"
- Soğutma olmak üzere 4 basamaktan oluşmaktadır. Ayrıntılar ve amplifikasyon sıcaklıkları Tablo 3.2'de verilmiştir.

Analizler LightCycler2.0 analiz programı kullanılarak yapıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda Tm dereceleri mutant dizi için 53 °C ve "wildtype" (doğal tip) dizi için 62 °C olarak belirlenerek oluşturulan "Melting Curve" lere göre genotip belirlendi. Buna göre sadece 62 °C'de pik olduğunda "wildtype", sadece 53 °C' de pik olduğunda homozigot mutant ve her iki Tm' de pik olduğunda da heterozigot olarak kabul edildi.

Tablo 3.2. JAK2 V617F Mutasyonu İçin Reaksiyon Aşamaları ve Amplifikasyon Sıcaklıkları

| Parametre | Denaturasyon | DNA amplifikasyonu | | | “Melting” | | | Soğutma |
|----------------------------|--------------|--------------------|----------|----------|-----------------|----------|----------|----------|
| Analiz modu | - | Kantifikasyon | | | “Melting Curve” | | | - |
| Döngü sayısı | 1 | 45 | | | 1 | | | 1 |
| Segment | 1 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 |
| Hedef (°C) | 95 | 95 | 53 | 72 | 95 | 40 | 85 | 40 |
| Süre[sa:dk:s n] | 00:10:00 | 00:00:10 | 00:00:10 | 00:00:20 | 00:00:20 | 00:00:30 | 00:00:00 | 00:00:30 |
| Yükselme hızı (°C/s) | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 0.5 | 20 |
| Kazanım modu | - | - | Tek | - | - | - | Sürekli | - |

Hastaların demografik ve hastalıkla ilgili verilerinden rakamsal olanlar ortalama±standart sapma, kategorik olanlar yüzde oran şeklinde ifade edildi. JAK2 mutasyonu ile Hb, hematokrit, trombosit ve lökosit sayısı, ferritin, LDH ve eritropoetin düzeyi, cinsiyet, splenomegali, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi, tromboz, kanama, sitoredüktif tedavi ihtiyacı ilişkisi tek değişkenli (univariate) analizle belirlenmeye çalışıldı. Tek değişkenli analizler Ki-kare testi ile yapıldı. İstatistiksel değerlendirmeler “SPSS 10 for Windows” (Statistical Package for the Social Sciences 10) (SPSS Inc. Chicago, A.B.D) programı ile yapıldı.

4. BULGULAR

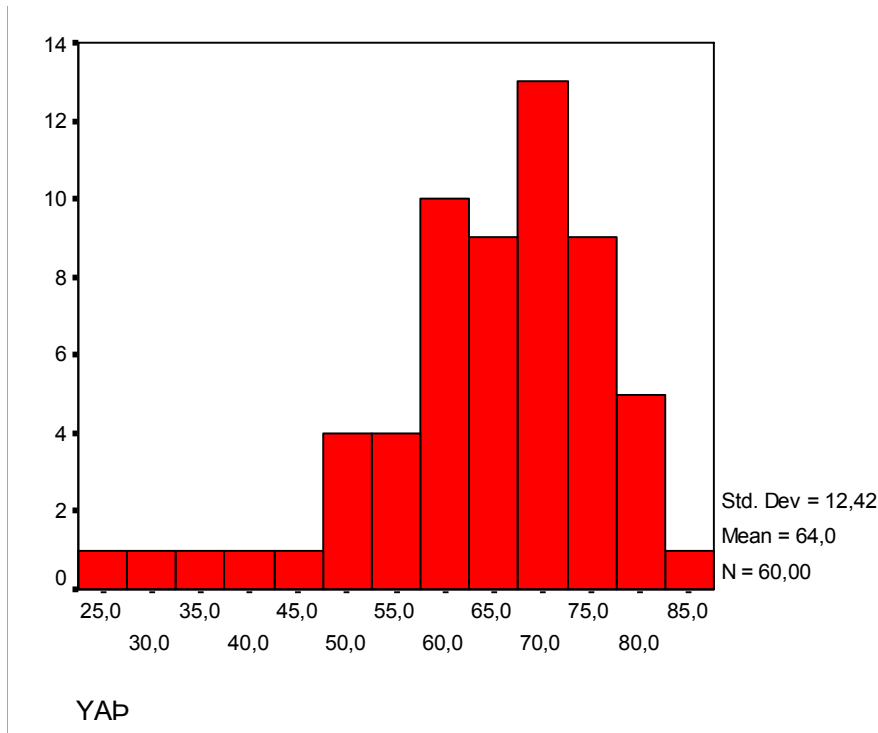
4.1. Hasta sayısı:

Bölümümüzce takip edilen kesin tanıli toplam 65 PV, ET ve IMF hastası çalışmaya alındı.

4.2. Demografik Özellikler

4.2.1. Yaş

Çalışmadaki hastaların yaş ortalaması 64.02 ± 12.42 idi (Şekil 4.4.1.1).



Şekil 4.1.1. Hastaların yaş dağılımı

4.2.2. Cinsiyet

Toplam 65 hastanın 41'i (% 63) kadın, 24'ü (% 37) erkekti.

4.2.3. Hastaların tanılarına göre dağılımı

Hastaların 28'inde (%43,1) PV, 29'unda ET (%44,6), 8'inde ise (%12,3) IMF tanısı vardı.

Tablo 4.2.3.1. Tanılara göre hasta dağılımı

| Tanı | Hasta Sayısı | Yüzde |
|---------------|--------------|------------|
| PV | 28 | 43.1 |
| ET | 29 | 44.6 |
| IMF | 8 | 12,3 |
| Toplam | 65 | 100 |

4.2.4. JAK2 mutasyonunun tanılara göre dağılımı

PV hastalarının 25'inde (% 89,3) JAK2 mutasyonu pozitif, 3'ünde (% 10,7) negatif, ET hastalarının 18'inde (% 62,1) pozitif, 11'inde (% 37,9) negatif, IMF hastalarının 2'sinde (% 25) pozitif, 6'sında (% 75) ise negatifi (Tablo 4.3.3.1).

Tablo 4.2.4.1. JAK2 mutasyonunun tanılara göre dağılımı

| | JAK2 MUTASYONU | | |
|------------|------------------|-----------------|------------|
| | VAR (sayı /%) | YOK (sayı/%) | TOPLAM |
| PV | 25 (% 89,3) | 3 (% 10,7) | 28 (% 100) |
| ET | 18 (% 62,1) | 11 (% 37,9) | 29 (% 100) |
| IMF | 2 (% 25) | 6 (% 75) | 8 (% 100) |

4.3. PV hastalarında JAK2 mutasyonunun klinik ve laboratuvar bulgularla ilişkisi

Yirmi sekiz PV hastasından JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar cinsiyet, tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar (halsizlik, ateş, gece terlemesi, kilo kaybından herhangi birinin varlığı), kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından incelendi. JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında bu açılardan fark bulunamadı (Tablo 4.3.1).

Tablo 4.3.1 PV hastalarında JAK2 mutasyonunun klinik bulgularla ilişkisi

| | Jak2 Mutasyonu | | | | |
|---|----------------|--------------|--------------|----------|-------|
| | N | Var (sayı/%) | Yok (sayı/%) | χ^2 | p |
| Cinsiyet | | | | | |
| Kadın | 17 (% 100) | 15 (% 88,2) | 2 (% 11,8) | 0,50 | 0,880 |
| Erkek | 11 (% 100) | 10 (% 90,9) | 1 (% 9,1) | | |
| Tromboz | | | | | |
| *Var | 13 (% 100) | 12 (% 92,3) | 1 (% 7,7) | 0,232 | 0,630 |
| Yok | 15 (% 100) | 13 (% 86,7) | 2 (% 13,3) | | |
| Konstitüsyonel Semptomlar | | | | | |
| Var | 15 (% 100) | 13 (% 86,7) | 2 (% 13,3) | 0,232 | 0,630 |
| Yok | 13 (% 100) | 12 (% 92,3) | 1 (% 7,7) | | |
| Kaşıntı | | | | | |
| Var | 3 (% 100) | 3 (% 100) | | 0,283 | 0,595 |
| Yok | 25 (% 100) | 22 (% 88) | 3 (% 12) | | |
| Hemoraji | | | | | |
| #Var | 2 (% 100) | 2 (% 100) | | 0,258 | 0,611 |
| Yok | 26 (% 100) | 23 (% 88,5) | 3 (% 11,5) | | |
| Splenomegali | | | | | |
| Var | 11 (% 100) | 10 (% 90,9) | 1 (% 9,1) | 0,050 | 0,823 |
| Yok | 17 (% 100) | 15 (% 88,2) | 2 (% 11,8) | | |
| Kemik iliği fibrozisi | | | | | |
| Var | 3 (% 100) | 3 (% 100) | | 0,527 | 0,468 |
| Yok | 13 (% 100) | 11 (% 84,6) | 2 (% 15,4) | | |
| Kemik iliği sellüleritesi | | | | | |
| Hipersellüler | 16 (% 100) | 14 (% 87,5) | 2 (% 12,5) | 0,281 | 0,596 |
| Normosellüler | 2 (% 100) | 2 (% 100) | | | |
| Sitoredüktif tedavi ihtiyacı | | | | | |
| ¥Var | 22 (% 100) | 20 (% 90,9) | 2 (% 9,1) | 0,201 | 0,654 |
| Yok | 6 (% 100) | 5 (% 83,3) | 1 (% 16,7) | | |

*7 hastada iskemik serebrovasküler olay, 1 hastada transient iskemik atak, 2 hastada superior mezenterik ven trombozu, 1 hastada akut myokard enfarktüsü, 1 hastada koroner stent trombozu, 1 hastada periferik arter stenozu

#1 hastada gastrointestinal kanama, 1 hastada subaraknoid kanama

¥19 hastada sadece hidroksiüre, 2 hastada hidroksiüre ve anagrelid, 1 hastada hidroksiüre ve interferon

Hastalar tanı sırasındaki Hb düzeyi, hematokrit yüzdesi, lökosit sayısı, LDH düzeyi, EPO düzeyi, ürik asit düzeyi ve ferritin düzeyi açısından incelendiğinde JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında anlamlı fark bulunamadı (Tablo 4.3.2).

Tablo 4.3.2. PV hastalarında JAK2 mutasyonunun laboratuvar bulgularla ilişkisi

| | JAK2 Mutasyonu | | |
|------------------------------------|-------------------|-------------------|-------|
| | Var (ortalama) | Yok (ortalama) | P |
| Hemoglobin (g/dl) | 16,34 | 17,76 | 0,280 |
| Hematokrit (%) | 49,12 | 52,73 | 0,364 |
| Lökosit (/mm³) | 11627,6 | 13100 | 0,205 |
| Trombosit (/mm³) | 562640,78 | 352333,33 | 0,057 |
| LDH (IU/L) | 305,15 | 247 | 0,528 |
| Eritropoetin (U/L) | 3,93 | 4,82 | 0,586 |
| Ürik asit (mg/dl) | 5,72 | 5,40 | 0,786 |
| Ferritin (ng/ml) | 43,19 | 109,50 | 0,218 |

PV hastalarından 11'i arteriyel, 2'si ise venöz tromboz geçirmişti. JAK2 mutasyonu olanlarda arteriyel tromboz venöz tromboz sıklığı açısından fark bulunamadı. (Tablo 4.3.3)

Tablo 4.3.3. PV hastalarında JAK2 mutasyonunun arteriyel ve venöz trombozlarla ilişkisi

| | JAK2 Mutasyonu | | | p |
|--------------------------|-----------------|-----------------|------------|-------|
| | Var (sayı/%) | Yok (sayı/%) | Toplam | |
| Arteriyel tromboz | 11 (% 100) | | 11 (% 100) | 0,098 |
| Venöz tromboz | 1 (% 50) | 1 (% 50) | 2 (% 100) | |

Hastalardan JAK2 mutasyonu homozigot olan ve heterozigot olanlar cinsiyet, tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından karşılaştırıldığında JAK2 homozigot ve heterozigot olanlar arasında anlamlı fark bulunamadı (Tablo 4.3.4).

Tablo 4.3.4. PV hastalarında JAK2 mutasyonunu heterozigot ve homozigotluğunun klinik bulgularla ilişkisi

| | JAK2 Mutasyonu | | | | P |
|-------------------------------------|----------------|--------------------|----------------------|----------|-------|
| | n | Homozigot (sayı/%) | Heterozigot (sayı/%) | χ^2 | |
| Tromboz | | | | | |
| Var | 12 (% 100) | 1 (% 9,3) | 11 (% 91,7) | 1,128 | 0,288 |
| Yok | 13 (% 100) | | 13 (% 100) | | |
| Konstitüsyonel Semptomlar | | | | | |
| Var | 12 (%100) | 1 (% 7,7) | 11 (% 92,3) | 0,962 | 0,327 |
| Yok | 11(%100) | | 11(%100) | | |
| Kaşıntı | | | | | |
| Var | 3 (% 100) | 21 (% 95,5) | 3 (% 100) | 0,142 | 0,706 |
| Yok | 22 (% 100) | | 1 (% 4,5) | | |
| Hemoraji | | | | | |
| Var | 2 (% 100) | 1 (% 4,3) | 2 (% 100) | 0,091 | 0,763 |
| Yok | 23 (% 100) | | 22 (% 95,7) | | |
| Splenomegali | | | | | |
| Var | 10 (% 100) | 1 (% 10) | 9 (% 90) | 1,562 | 0,211 |
| Yok | 15(%100) | | 15(%100) | | |
| Kemik iliği fibrozisi | | | | | |
| Var | 3 (% 100) | 1 (% 9,1) | 3 (% 100) | 0,294 | 0,588 |
| Yok | 11 (% 100) | | 10 (% 90,9) | | |
| Kemik iliği sellüleritesi | | | | | |
| Hipersellüler | 14 (% 100) | 1 (% 9,1) | 13 (% 92,9) | 0,152 | 0,696 |
| Normosellüler | 2 (% 100) | 2 (% 100) | | | |
| Sitoredüktif tedavi ihtiyacı | | | | | |
| Var | 20 (% 100) | 1 (% 5) | 19 (% 95) | 0,260 | 0,610 |
| Yok | 5 (% 100) | | 5 (% 100) | | |

4.4. ET hastalarında JAK2 mutasyonu ve klinik ve laboratuvar bulgularla ilişkisi

Yirmi sekiz ET hastasından JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar cinsiyet, tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği

sellüeritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından incelendi. JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında bu açılardan fark bulunamadı (Tablo 4.4.1).

Tablo 4.4.1. ET hastalarında JAK2 mutasyonunun klinik bulgularla ilişkisi

| | JAK2 mutasyonu | | | | χ^2 | p |
|--------------------------------------|----------------|-----------------|-----------------|-------|----------|---|
| | n | Var (sayı/%) | Yok (sayı/%) | | | |
| Cinsiyet | | | | | | |
| Kadın | 20 (% 100) | 13 (% 65) | 7 (% 35) | 0,235 | 0,628 | |
| Erkek | 9 (% 100) | 5 (% 55,6) | 4 (% 44,4) | | | |
| Tromboz | | | | | | |
| *Var | 9 (% 100) | 5 (% 55,6) | 4 (% 44,4) | 0,235 | 0,628 | |
| Yok | 20 (%100) | 13 (% 65) | 7 (% 35) | | | |
| Konstitüsyonel Semptomlar | | | | | | |
| Var | 12 (% 100) | 9 (% 75) | 3 (% 25) | 1,454 | 0,228 | |
| Yok | 17 (% 100) | 9 (% 58,9) | 8 (% 47,1) | | | |
| Kaşınıtı | | | | | | |
| Var | 1 (% 100) | 18 (% 64,3) | 1 (% 100) | 1,695 | 0,193 | |
| Yok | 28 (% 100) | | 10 (% 35,7) | | | |
| Hemoraji | | | | | | |
| Var | 2 (% 100) | 1 (% 50) | 1 (% 50) | 0,133 | 0,715 | |
| Yok | 27 (% 100) | 17 (% 63) | 10 (% 37) | | | |
| Splenomegali | | | | | | |
| Var | 10 (% 100) | 6 (% 60) | 4 (% 40) | 0,028 | 0,868 | |
| Yok | 19 (% 100) | 12 (% 63,2) | 7 (% 36,8) | | | |
| Kemik iliği fibrozisi | | | | | | |
| Var | 7 (% 100) | 3 (% 42,9) | 4 (% 57,1) | 0,382 | 0,537 | |
| Yok | 13(% 100) | 8(% 61,5) | 5(% 38,5) | | | |
| Kemik iliği sellüeritesi | | | | | | |
| Hipersellüler | 19 (% 100) | 10 (% 52,6) | 9 (% 47,4) | 0,005 | 0,943 | |
| Normosellüler | 2 (% 100) | 1 (% 50) | 1 (% 50) | | | |
| Sitoredüktif tedavi ihtiyacı | | | | | | |
| Var | 24 (% 100) | 14 (% 58,3) | 10 (% 41,7) | 0,825 | 0,364 | |
| Yok | 5 (% 100) | 4 (% 80) | 1 (% 20) | | | |

*Yedi hastada iskemik serebrovasküler olay, 1 hastada periferik arter stenozu, 1 hastada splenik ven trombozu

Hastalar yaş, tanı sırasındaki Hb düzeyi, hematokrit yüzdesi, lökosit sayısı, LDH düzeyi, EPO düzeyi, ürik asit düzeyi ve ferritin düzeyi açısından incelendiğinde JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında anlamlı fark bulunamadı (Tablo 4.4.2).

Tablo 4.4.2. ET hastalarında JAK2 mutasyonunun laboratuvar bulgularla ilişkisi

| | JAK2 Mutasyonu | | |
|------------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------|
| | Var (ortalama) | Yok (ortalama) | P |
| Yaş | 65,67 | 63,09 | 0,634 |
| Hemoglobin (g/dl) | 12,87 | 13,08 | 0,744 |
| Hematokrit (%) | 38,47 | 39,17 | 0,705 |
| Lökosit (/mm³) | 13003,89 | 9033,64 | 0,85 |
| Trombosit (/mm³) | 870666,67 | 880090,91 | 0,945 |
| LDH (IU/L) | 301,35 | 281,73 | 0,660 |
| Eritropoetin (U/L) | 7,14 | 8,00 | 0,820 |
| Ürik asit (mg/dl) | 5,53 | 4,91 | 0,473 |
| Ferritin (ng/ml) | 75,30 | 73,60 | 0,963 |

Hastaların 8'i arteriyel tromboz, 1'i venöz tromboz geçirmişti. JAK2 mutasyonu olanlar ve olmayanlar arasında arteriyel ve venöz tromboz yönünden bir fark bulunamadı (Tablo 4.4.3).

Tablo 4.4.3. ET hastalarında JAK2 mutasyonunun arteriyel ve venöz trombozlarla ilişkisi

| | JAK2 Mutasyonu | | | p |
|--------------------------|-----------------|-----------------|-----------|-------|
| | Var (sayı/%) | Yok (sayı/%) | Toplam | |
| Arteriyel tromboz | 4 (% 50) | 4 (% 50) | 8 (% 100) | 0,343 |
| Venöz tromboz | 1 (%100) | | 1 (%100) | |

Hastalardan JAK2 mutasyonu homozigot olan ve heterozigot olanlar tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından karşılaştırıldığında JAK2 homozigot ve heterozigot olanlar arasında anlamlı fark bulunamadı (Tablo 4.4.4).

Tablo 4.4.4. ET hastalarında JAK2 mutasyonunu heterozigot ve homozigotluğunun klinik bulgularla ilişkisi

| | JAK2 Mutasyonu | | | | |
|---|----------------|-----------------------|-------------------------|----------|-------|
| | n | Homozigot (sayı/%) | Heterozigot (sayı/%) | χ^2 | P |
| Cinsiyet | | | | | |
| Kadın | 13 (% 100) | | 13 (% 100) | 2,753 | 0,097 |
| Erkek | 5 (% 100) | 1 (% 20) | 4 (% 80) | | |
| Tromboz | | | | | |
| Var | 5 (% 100) | | 5 (% 100) | 0,407 | 0,523 |
| Yok | 13 (% 100) | 1 (% 7,7) | 12 (% 92,3) | | |
| Konstitüsyonel Semptomlar | | | | | |
| Var | 9 (% 100) | 1 (% 11,1) | 8 (% 88,9) | 1,059 | 0,303 |
| Yok | 9 (% 100) | | 9 (% 100) | | |
| Kaşıntı | | | | | |
| Var | | | | | |
| Yok | 18 (% 100) | 1 (% 5,6) | 17 (% 94,4) | | |
| Hemoraji | | | | | |
| Var | 1 (% 100) | 1 (% 100) | | 0,062 | 0,803 |
| Yok | 17 (% 100) | 1 (% 5,9) | 16 (% 94,1) | | |
| Splenomegali | | | | | |
| Var | 6 (% 100) | 1 (% 16,7) | 5 (% 83,3) | 2,118 | 0,146 |
| Yok | 12 (% 100) | | 12 (% 100) | | |
| Kemik iliği fibrozisi | | | | | |
| Var | 3 (% 100) | 1 (% 33,3) | 2 (% 66,7) | 2,933 | 0,087 |
| Yok | 8 (% 100) | | 8 (% 100) | | |
| Kemik iliği sellüeritesi | | | | | |
| Hipersellüler | 10 (% 100) | 1 (% 10) | 9 (% 90) | 0,110 | 0,740 |
| Normosellüler | 1 (% 100) | | 1 (% 100) | | |
| Sitoredüktif tedavi ihtiyacı | | | | | |
| Var | 14 (% 100) | | 14 (% 100) | 3,706 | 0,054 |
| Yok | 4 (%100) | 1 (% 25) | 3 (% 75) | | |

4.5. IMF hastalarında JAK2 mutasyonu ve klinik ve laboratuvar bulgularla ilişkisi

Sekiz IMF hastasından JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar cinsiyet, tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından incelendi. JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında bu açılardan fark bulunamadı (Tablo 4.5.1).

Tablo 4.5.1. IMF hastalarında JAK2 mutasyonunun klinik bulgularla ilişkisi

| | JAK2 Mutasyonu | | | | |
|-------------------------------------|----------------|--------------|--------------|----------|-------|
| | n | Var (sayı/%) | Yok (sayı/%) | χ^2 | P |
| Cinsiyet | | | | | |
| Kadın | 3 (% 100) | | 3 (% 100) | 1,600 | 0,206 |
| Erkek | 5 (% 100) | 2 (% 40) | 3 (% 60) | | |
| Tromboz | | | | | |
| *Var | 1 (% 100) | | 1 (% 100) | 0,381 | 0,537 |
| Yok | 7 (% 100) | 2 (% 28,6) | 5 (% 71,4) | | |
| Konstitüsyonel Semptomlar | | | | | |
| Var | 7 (% 100) | | 5 (% 71,4) | 0,381 | 0,537 |
| Yok | 1 (% 100) | 2 (% 28,6) | 1 (% 100) | | |
| Kaşıntı | | | | | |
| Var | | | | | |
| Yok | 8 (% 100) | 2 (% 25) | 6 (% 75) | | |
| Hemoraji | | | | | |
| Var | 7 (% 100) | | 5 (% 71,4) | 0,381 | 0,537 |
| Yok | 1 (% 100) | 2 (% 28,6) | 1 (% 100) | | |
| Splenomegali | | | | | |
| Var | 7 (% 100) | | 5 (% 71,4) | 0,381 | 0,537 |
| Yok | 1 (% 100) | 2 (% 28,6) | 1 (% 100) | | |
| Kemik iliği sellüleritesi | | | | | |
| Hipersellüler | 8 (% 100) | | 6 (% 75) | 0,889 | 0,346 |
| Normosellüler | 2 (% 100) | 2 (% 25) | 2 (% 100) | | |
| Sitoredüktif tedavi ihtiyacı | | | | | |
| Var | 5 (% 100) | 1 (% 20) | 4 (% 78) | 0,178 | 0,673 |
| Yok | 3 (% 100) | 1 (% 33,3) | 2 (% 66,7) | | |

*Portal ven trombozu

Hastalar tanı sırasındaki hemoglobin düzeyi, hematokrit yüzdesi, lökosit sayısı, LDH düzeyi, eritropoetin düzeyi, ürik asit düzeyi ve ferritin düzeyi açısından incelendiğinde JAK2 mutasyonu olan hastaların hematokrit düzeyleri olmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu, diğer parametreler açısından anlamlı fark bulunamadı (Tablo 4.5.2).

Tablo 4.5.2. IMF hastalarında JAK2 mutasyonunun laboratuvar bulgularla ilişkisi

| | JAK2 Mutasyonu | | |
|------------------------------------|-------------------|-------------------|-------|
| | Var (ortalama) | Yok (ortalama) | p |
| Hemoglobin (g/dl) | 12,5 | 8,85 | 0,157 |
| Hematokrit(%) | 38,7 | 25,65 | 0,031 |
| Lökosit (/mm³) | 30550 | 8275 | 0,019 |
| Trombosit (/mm³) | 440000 | 407966 | 0,911 |
| LDH (IU/ml) | 321 | 377 | 0,702 |
| Ürik asit(mg/dl) | 6,1 | 7,1 | 0,768 |

5. TARTIŞMA

Bu çalışma ile Başkent Üniversitesi Erişkin Hastanesi'nde PV, ET ve IMF tanısı ile izlenen veya yeni tanı alan hastalarda JAK2 mutasyonunun sıklığı, klinik ve laboratuvar bulguları ile ilişkisinin araştırılması amaçlandı. Bu çalışma retrospektif bir analizdir. Hasta sayısının literatüre göre az olması çalışma için olumsuz bir faktördür.

Miyeloproliferatif hastalıkların görülme sıklığı yaşla beraber artmakta olup median yaşı 60'dır (14). Bizim çalışmamızda da benzer olarak yaş ortalaması 64.02 ± 12.42 idi. Çalışmaya katılan hastaların yaş aralığı 19-87 idi.

JAK2 mutasyonu PV'li hastaların ortalama % 97'sinde, ET'li hastaların % 57'sinde, IMF'li hastaların % 50'sinde saptanmıştır (18). Çalışmamızda ise PV hastalarının % 89,3'ünde, ET hastalarının % 62,1'inde, IMF hastalarının % 25'inde pozitif bulunmuştur. Bu oranlar benzer niteliktedir.

PV hastalarında JAK2 mutasyonu olanlarda arteriyel tromboz venöz tromboz sıklığı açısından fark bulunmadı. JAK2 mutasyonu ve PV hastalarında tromboz ilişkisini inceleyen çalışmalarda arteriyel ve venöz trombozlar yönünden yeterli veri yoktur (27, 32, 44).

JAK2 V617F mutasyonu homozigotluğu PV hastalarında ET hastalarına göre daha sık izlenmektedir. PV hastalarında mutasyonun homozigotluk oranı yaklaşık % 30 olup bu durum mutasyonun daha çok polisitemik fenotiple ilgili olduğunu düşündürmektedir (45). PV hastalarında JAK2 mutasyonu homozigot olan ve heterozigot olanlar arasında hemoglobin düzeyi, lökosit sayısı, trombosit sayısı, kaşıntı, miyelofibroze ve akut lösemiye dönüşüm, kanama, tromboz sıklığını karşılaştıran 63 hastalık bir çalışmada homozigot mutasyonu olanlarda tanı sırasında daha yüksek Hb düzeyi, daha sık kaşıntı ve daha fazla miyelofibroze dönüşüm izlenmiştir. Tromboz ve kanama sıklığı, miyelofibroze ve akut lösemiye dönüşüm açısından JAK2 homozigot ve heterozigot olanlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (39). Çalışmamızda ise PV hastalarında JAK2 mutasyonu homozigotluğu oranı % 9.1 olup beklenenden azdı. Bu hastalar mutasyon heterozigot olanlar ile tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından karşılaştırıldığında ise anlamlı fark bulunmadı.

Yüz elli ET hastasında yapılan bir çalışmada mutasyonu olan hastalarda tanı sırasında daha yüksek median yaş, daha yüksek lökosit sayısı ve trombosit sayısı ve PV'ye daha sıklıkla

dönüşüm olduğu rapor edilmiştir. Hastalar arasında trombosit sayısı, splenomegali, sitogenetik anomaliler, vazomotor semptomlar, tromboz ve hemoraji sıklığı, sitoredüktif tedavi ihtiyacı ve median yaşam süresi açısından belirgin bir farklılık bulunamamıştır (46). Sekiz yüz altı ET hastasının alındığı prospektif bir çalışmada ise mutasyonu pozitif olan hastalarda daha yüksek Hb, lökosit, kemik iliğinde artmış eritropoez ve granülopoez, daha fazla venöz tromboz ve daha fazla polisitemik transformasyon, daha düşük eritropoetin ve ferritin düzeyi olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada mutasyonu olan hastaların olmayanlara göre hidroksiüre tedavisinden anagrelide göre daha çok fayda gördükleri rapor edilmiştir (20). Bizim çalışmamızda ise ET hastalarında JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından fark bulunmadı. Ayrıca yine bu hastalarda tanı sırasındaki Hb düzeyi, hematokrit yüzdesi, lökosit sayısı, LDH düzeyi, EPO düzeyi, ürik asit düzeyi ve ferritin düzeyi açısından incelendiğinde JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında anlamlı fark bulunamadı.

ET hastalarında yapılan bir çalışmada JAK2 mutasyonu varlığının arteriyel trombozlarla değil venöz trombozlarla ilişkili olduğu bulunmuştur (31). Çalışmamızda ise ET hastalarında JAK2 mutasyonu olanlar ve olmayanlar arasında arteriyel ve venöz tromboz yönünden bir fark bulunmadı.

JAK2 mutasyonunun homozigotluğu ve heterozigotluğunu karşılaştıran en geniş çalışma olan GIMEMA MPD grubunun çalışmasında 639 ET hastasının % 40.2'sinde mutasyon negatif, % 57.6'sında heterozigot ve % 2.2'sinde homozigot bulunmuş olup homozigot mutasyonu olanlarda artmış eritropoez ve granülopoez olduğu ancak diğerlerine göre trombosit sayısının daha düşük olduğu bildirilmiştir. Ayrıca homozigot mutasyonu olan hastalarda dalak büyüklüğünün daha fazla olduğu ve daha fazla sitoredüktif tedavi ihtiyacı olduğu bulunmuştur. Ayrıca homozigot mutasyonu olan hastalarda diğerlerine göre daha fazla trombotik olay görüldüğü bildirilmiştir. Bu hastalarda tanı sırasında daha fazla arteriyel tromboz olup izlemde arteriyel ve venöz trombozun eşitlendiği belirtilmiştir. Bu çalışmada 323 PV hastasının % 67.8'ine mutasyon heterozigot, % 32.2'sinde homozigot bulunmuş olup homozigot mutasyonu olan hastalarda artmış eritropoez ve granülopoez bulguları, diğer hastalara göre artmış dalak büyüklüğü, daha fazla sitoredüktif tedavi ihtiyacı, daha düşük trombosit düzeyi ve daha fazla kaşıntı semptomu olduğu bulunmuştur. Bu hastalarda heterozigot mutasyonu olanlara göre tromboz sıklığı

yönünden fark bulunmamıştır (41). Çalışmamızda ise PV ve ET hastalarında JAK2 mutasyonu homozigot olan ve heterozigot olanlar tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından karşılaştırıldığında JAK2 homozigot ve heterozigot olanlar arasında anlamlı fark bulunmadı.

Yüz elli iki IMF hastasını kapsayan bir çalışmada JAK2 mutasyonu olan ve olmayan hastalar karşılaştırıldığında yaş, cinsiyet, Hb düzeyi, LDH düzeyi, trombosit sayısı ve dalak boyutu açısından bir fark bulunamamış ancak mutasyon pozitif hastalarda anlamlı olarak daha yüksek lökosit ve nötrofil sayısı olduğu saptanmıştır. Ayrıca mutasyonu olanlarda kan transfüzyonu sıklığının daha az olduğu ancak yaşam süresinin daha kısa olduğu rapor edilmiştir (47). Diğer bir taraftan ise Tefferi ve arkadaşlarının yaptığı 117 IMF hastasını alan bir çalışmada V617F mutasyonunun yaşam süresi ve lösemik transformasyona dönüşüm üzerine etkisi olmadığı ancak mutasyonun tromboz öyküsü ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (48). Barosi ve arkadaşlarının yaptığı 304 IMF hastasını içeren bir çalışmada ise JAK2 mutasyonu pozitifliği bu hastalar içinde % 63.5 olup bu hastalarda daha yüksek Hb, lökosit ve trombosit sayısı ve ayrıca klinik bulgulardan daha fazla kaşıntı olduğu belirtilmiştir (49). Çalışmamızda ise buna benzer olarak sekiz IMF hastasında JAK2 mutasyonu olan hastaların hematokrit yüzdesi ve lökosit sayısı olmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Tanı sırasındaki hemoglobin düzeyi, lökosit sayısı, LDH , eritropoetin, ürik asit ve ferritin düzeyi açısından mutasyonu olan ve olmayanlar arasında fark bulunmadı. Ayrıca çalışmamızda IMF hastalarında JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından karşılaştırıldığında bu açılardan fark bulunamadı. Altı IMF hastasında yapılan ve IMF hastalarında JAK2 mutasyonu ve tromboz ilişkisini araştıran yakın tarihli bir çalışmada ise JAK2 mutasyonu varlığının bu hastalarda tromboz ile ilişkisinin net olmadığı rapor edilmiştir (42).

JAK2 ekson 12 mutasyonu PV hastalarında % 3-4 oranında rapor edilmiştir. JAK2V617F mutasyonu olmayan eritrositozlu 409 hastanın mutasyonu olan 719 PV hastasıyla karşılaştırıldığı kapsamlı bir çalışmada daha önceki çalışmalara benzer olarak ekson 12 mutasyonu olanların sıklığı % 3.7 bulunmuş, bu hastaların V617F mutasyonu olanlara göre daha genç yaşta ve kadın olma sıklığının arttığı görülmüştür. Ayrıca bu hastalarda daha yüksek hematokrit düzeyi, daha az eritropoetin düzeyi olduğu, trombosit ve lökosit sayısının daha düşük olduğu bulunmuştur (21).

Çalışmamıza alınan PV hastalarının % 10,7'sinde V617F mutasyonu saptanmamış olup bu hastaların ekson 12 mutasyonu yönünden incelenmeleri mümkün olmadı. Bu çalışmamızın kısıtlılıklarından biri oldu.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızdaki hastaların yaş ortalaması ileri olup ve çoğunluğunu kadınlar oluşturmaktadır.
2. JAK2 mutasyonu en sık PV hastalarında, daha sonra ET ve IMF hastalarında pozitif bulunmuştur. JAK2 mutasyonunun MPH'daki sıklığı literatürle benzer olup mutasyonun tanısal değeri bir kez daha doğrulanmıştır.
3. PV hastalarının JAK2 mutasyonu pozitif ve negatif olanları arasında cinsiyet, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından farklılık saptanmamıştır.
4. PV hastalarının JAK2 mutasyonu pozitif ve negatif olanları arasında yaş, Hb düzeyi, hematokrit yüzdesi, lökosit sayısı, LDH, EPO, ürik asit ve ferritin düzeyi açısından farklılık saptanmamıştır.
5. PV hastalarında JAK2 mutasyonu olanlarda arteriyel ve tromboz venöz tromboz sıklığı açısından fark bulunmamıştır.
6. PV hastalarında JAK2 mutasyonu homozigot olan ve heterozigot olanlar cinsiyet, tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından karşılaştırıldığında JAK2 homozigot ve heterozigot olanlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.
7. ET hastalarında JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında cinsiyet, tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından fark bulunmamıştır.
8. ET hastalarında tanı sırasındaki yaş, Hb düzeyi, hematokrit yüzdesi, lökosit sayısı, LDH, EPO, ürik asit ve ferritin düzeyi açısından incelendiğinde JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.
9. ET hastalarında JAK2 mutasyonu olanlar ve olmayanlar arasında arteriyel ve venöz tromboz yönünden bir fark bulunmamıştır.
10. ET hastalarında JAK2 mutasyonu homozigot olan ve heterozigot olanlar cinsiyet, tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği fibrozisi, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından karşılaştırıldığında JAK2 homozigot ve heterozigot olanlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

11. IMF hastalarında JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar tromboz varlığı, konstitüsyonel semptomlar, kaşıntı, hemoraji, splenomegali, kemik iliği sellüleritesi ve sitoredüktif tedavi ihtiyacı açısından karşılaştırıldığında JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar arasında bu açılardan fark bulunmamıştır.
12. IMF hastalarında tanı sırasındaki yaş, hemoglobin düzeyi, hematokrit yüzdesi, lökosit sayısı, LDH, eritropoetin, ürik asit ve ferritin düzeyi açısından incelendiğinde JAK2 mutasyonu olan hastaların hematokrit yüzdesi ve lökosit sayısı olmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş, diğer parametreler açısından anlamlı fark bulunmamıştır.
13. Çalışmaya alınan hasta sayısındaki azlık, ekson 12 mutasyonunun çalışılmaması çalışmamızın kısıtlılıkları arasındadır.
14. Bu çalışmada bcr-abl negatif MPH tanısı alan hastaların JAK2 V617F mutasyonu varlığı yönünden klinik ve laboratuvar bulguları incelenmiştir. JAK2 V617F mutasyonunun MPH'ın laboratuvar ve klinik özellikleri ile korelasyonu ve prognostik değeri ile ilgili daha kapsamlı, prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Percy M.J, McMulin M.F. The V627F JAK2 mutation and myeloproliferative disorders. *Hematol Oncol.* 2005;23: 91-93.
2. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood.* 2009;114(5):937-951.
3. Dingli, Utz JP, Krowka MJ et al. Unexplained pulmonary hypertension in chronic myeloproliferative disorders. *Chest.* 2001;120:801-808.
4. Pearson TC, Messinezy M. Idiopathic erythrocytosis, diagnosis and clinical management. *Pathol biol.*2001;49:170-177.
5. Wehmeier A, Daum I, Jamin H et al. Incidence and clinical risk factors for bleeding and thrombotic complications in myeloproliferative disorders. A retrospective analysis of 260 patients. *Ann Hematol.* 1991;63:101-106.
6. Barbui T, Finazzi G. Risk factors and prevention of vascular complications in polycythemia vera. *Semin Thromb Hemost.* 1997;23:455-461.
7. Silver RT. Interferon- α : effects of long term treatment of polycythemia vera. *Semin Hematol.* 1997;34:40-50.
8. Passamonti F, Lazzarino M. Treatment of polycythemia vera and essential polycythemia: the role of pipobroman. *Leuk Lymphoma.* 2003;44:1483-1488.

9. Najena Y, Rain J. Treatment of polycythemia vera: use of ³²P alone or in combination with maintenance therapy using hydroxyurea in 461 patients greater than 65 years age. The French Polycythemia Study Group. *Blood*. 1997;89:2319-2327.
10. Platzbecker U, Gooley T, Anasetti C et al. Curative therapy for advanced essential thrombocythemia or polycythemia vera by hematopoietic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma*. 2002;43:1409-1414.
11. Araneda M, Krishnan V, Hall K et al. Reactive and clonal thrombocytosis: proinflammatory and hematopoietic cytokines and acute phase proteins. *South Med J*. 2001;94:417-420.
12. Musallam KM, Aoun E, Mahfouz R et al. JAK2V617F and Prothrombin G20210A Gene Mutations in a Patient With Budd-Chiari Syndrome and Essential Thrombocythemia. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2009 Feb 16.
13. Amitrano L, Guardascione MA, Ames PR et al. Thrombophilic genotypes, natural anticoagulants, and plasma homocysteine in myeloproliferative disorders: relationship with splanchnic vein thrombosis and arterial disease. *Am J Hematol*. 2003 Feb;72(2):75-81.
14. Finazzi G, Ruggeri M, Rodeghiero F. Efficacy and safety of long-term use of hydroxyurea in young patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis *Blood*. 2003;101(9):3749.
15. Van Besien K, Deeg HJ. Hematopoietic stem cell transplantation for myelofibrosis. *Semin Oncol*. 2005 Aug;32(4):414-421.
16. Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ et al. *Hematology: Basic Principles and Practice*, 5th Edition.
17. Sandberg EM, Wallace TA, Godeny MD et al. JAK2 tyrosine kinase: a true JAK of all trades? *Cell Biochem Biophys*. 2004;41:207-232.

18. Campbell PJ, Green AR. The myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2006;335:2452–2466.
19. Kralovics T, Passamonti F, Buser AS et al. A gain-of function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2005;351: 1779–1790.
20. Campbell PJ, Scott LM, Buck G et al. Definition of subtypes of essential thrombocythemia and relation to polycythemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005;366:1945-1953.
21. Schnittger S, Bacher U, Haferlach C et al. Detection of JAK2 exon 12 mutations in 15 patients with JAK2V617F negative polycythemia vera. *Haematologica*. 2009 Mar;94(3):414-418.
22. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood* 2008;112:141-149.
23. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 2006;108(10):3472-3476.
24. Falanga A, Marchetti M, Evangelista V et al. Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood* 2000; 96:4261–4266.
25. Ohyashiki K, Aota Y, Akahane D et al. JAK2(V617F) mutational status as determined by semiquantitative sequence-specific primer-single molecule fluorescence detection assay is linked to clinical features in chronic myeloproliferative disorders. *Leukemia*. 2007 May;21(5):1097-1099.
26. Cheung B, Radia D, Pantedelis P et al. The presence of the JAK2 V617F mutation is associated with a higher haemoglobin and increased risk of thrombosis in essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 2005;132:244-250.

27. Finazzi G, Rambaldi A, Guerini V et al. Risk of thrombosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera according to JAK2 V617F mutation status. *Haematologica*. 2007;92:135–136.
28. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM et al. JAK2 mutation in essential thrombocythemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol*. 2005 Oct;131(2):208-13.
29. Tefferi A. Essential thrombocythemia: scientific advances and current practice. *Curr Opin Hematol*. 2006;13:93–98.
30. Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A et al. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia*. 2005 Oct;19(10):1847-1849.
31. Jensen MK, De Nully Brown P et al. Increased circulating thrombocyte leukocyte aggregates in myeloproliferative disorders is correlated to previous thrombosis, thrombocyte activation and thrombocyte count. *Eur J Haematol* 2001; 66:143–151.
32. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A et al. Leukocyte–thrombocyte interaction in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol* 2005; 33:523–530.
33. Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larran A, Reverter JC et al. Increased thrombocyte and leukocyte activation as contributing mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status. *Haematologica* 2006; 91:169–175.
34. Maugeri N, Giordano G, Petrilli MP et al. Inhibition of tissue factor expression by hydroxyurea in polymorphonuclear leukocytes from patients with myeloproliferative disorders: a new effect for an old drug? *J Thromb Haemost* 2006 4:2593–2598.

35. Primignani M, Barosi G, Bergamaschi G et al. Role of the JAK2 mutation in the diagnosis of chronic myeloproliferative disorders in splanchnic vein thrombosis. *Hepatology* 2006; 44(6):1528.
36. De Stefano V, Fiorini A, Rossi E et al. High prevalence of the JAK2 V617F mutation in patients with extrahepatic portal vein thrombosis. *Hepatology* 2007; 45(3):831.
37. Boissinot M, Lippert E, Girodon F et al. Latent myeloproliferative disorder revealed by the JAK2-V617F mutation and endogenous megakaryocytic colonies in patients with splanchnic vein thrombosis. *Blood* 2006; 108(9):3223.
38. Goulding B, Uttenthal I, Foroni V et al. The JAK2 V617F tyrosine kinase mutation identifies clinically latent myeloproliferative disorders in patients presenting with hepatic or portal vein thrombosis. *Hem.* 2008, 30, 415–419.
39. Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM, et al. The clinical phenotype of wild-type, heterozygous, and homozygous JAK2V617F in polycythemia vera. *Cancer* 2006; 106(3):631.
40. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P et al. Clinical profile of homozygous JAK2V617F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood* 2007; 110:840-846.
41. Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V et al. JAK2 mutation 1849g>t is rare in acute leukemias but can be found in cmml, Philadelphia chromosome-negative cml, and megakaryocytic leukemia. *Blood* 2005;106:3370–3373.
42. Spivak, J. L. The chronic myeloproliferative disorders: clonality and clinical heterogeneity. *Semin. Hematol.* 2004;41: 1–5.
43. Vannucchi AM. Insights into the pathogenesis and management of thrombosis in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Intern Emerg Med.* 2009. Sep 30.

44. Scott LM, Scott MA, Campbell PJ et al. Progenitors homozygous for the V617F mutation occur in most patients with polycythemia vera, but not essential thrombocythemia. *Blood*. 2006 ;108(7):2435-2437.
45. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM et al. JAK2 mutation in essential thrombocythemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol*. 2005 Oct;131(2):208-213.
46. Falanga A, Marchetti M, Evangelista V, et al. Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood* 2000; 96:4261–4266.
47. Campbell PJ, Griesshammer M, Döhner K et al. V617F mutation in JAK2 is associated with poorer survival in idiopathic myelofibrosis. *Blood*. 2006;107(5):2098-2100.
48. Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM et al. The JAK2 (V617F) tyrosine kinase mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: lineage specificity and clinical correlates. *Br J Haematol* 2005; 131: 320-328.
49. Barosi G, Bergamaschi G, Marchetti M et al. JAK2 V617F mutational status predicts progression to large splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis. *Blood* 2007; 110: 4030-4036.