



**T.C**  
**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA JAK2**  
**MUTASYONU VE KLİNİK BULGULAR**

**Dr. Ertuğrul ERKEN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Doç. Dr. Emel GÜRKAN**

**ADANA-2008**



**T.C**  
**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA JAK2**  
**MUTASYONU VE KLİNİK BULGULAR**

**Dr. Ertuğrul ERKEN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Emel GÜRKAN**

**PROJE NO: TF2006LTP27**  
**ADANA-2008**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde, başta tez danışmanım Doç. Dr. Emel Gürkan ve anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Hikmet Akkız olmak üzere bana katkısı bulunan tüm öğretim üyelerine, Laborant Sabahattin Aslan ve tüm çalışma arkadaşlarıma, beni destekleyen aileme teşekkür ederim.

Dr. Ertuğrul Erken

## İÇİNDEKİLER

|                                                  | Sayfa No: |
|--------------------------------------------------|-----------|
| TEŞEKKÜR                                         | I         |
| İÇİNDEKİLER                                      | II        |
| TABLO LİSTESİ                                    | IV        |
| ŞEKİL LİSTESİ                                    | V         |
| KISALTMALAR LİSTESİ                              | VI        |
| ÖZET                                             | VIII      |
| ABSTRACT                                         | IX        |
| 1. GİRİŞ ve AMAÇ                                 | 1         |
| 2. GENEL BİLGİLER                                | 2         |
| 2.1. Miyeloproliferatif Hastalıklara Genel Bakış | 2         |
| 2.1.1. Miyeloproliferatif Hastalıklar            | 2         |
| 2.1.2. JAK2 ve MPL Mutasyonları                  | 6         |
| 2.2. Polistemia Vera                             | 7         |
| 2.2.1. Epidemiyoloji                             | 7         |
| 2.2.2. Tanı                                      | 8         |
| 2.2.3. Klinik Özellikler                         | 9         |
| 2.2.4. JAK2 Mutasyonları                         | 12        |
| 2.2.5. Prognoz                                   | 13        |
| 2.2.6. Tedavi                                    | 14        |
| 2.3. Esansiyel Trombositemi                      | 16        |
| 2.3.1. Epidemiyoloji                             | 16        |
| 2.3.2. Tanı                                      | 17        |
| 2.3.3. Klinik Özellikler                         | 18        |
| 2.3.4. JAK2 Mutasyonları                         | 18        |
| 2.3.5. Prognoz                                   | 19        |
| 2.3.6. Tedavi                                    | 20        |
| 2.4. Primer Miyelofibrozis                       | 20        |

|                                                |    |
|------------------------------------------------|----|
| 2.4.1. Epidemiyoloji                           | 20 |
| 2.4.2. Tanı                                    | 21 |
| 2.4.3. Klinik Özellikler                       | 22 |
| 2.4.4. JAK2 Mutasyonları                       | 24 |
| 2.4.5. Prognoz                                 | 24 |
| 2.4.6. Tedavi                                  | 25 |
| 2.5. Kronik Miyelositer Lösemi                 | 25 |
| 2.5.1. Epidemiyoloji ve Klinik Özellikler      | 25 |
| 2.5.2. Prognoz ve Tedavi                       | 26 |
| 2.6. Mast Hücreli Lösemi                       | 26 |
| 2.7. Janus Kinaz ve Sinyal İletimi             | 27 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM                             | 31 |
| 3.1. JAK2 Geni V617F Mutasyonunun Belirlenmesi | 32 |
| 3.1.1. DNA İzolasyonu                          | 32 |
| 3.1.2. V617F Nokta Mutasyonunun Saptanması     | 33 |
| 3.2. İstatistik Analiz                         | 34 |
| 4. BULGULAR                                    | 35 |
| 5. TARTIŞMA                                    | 44 |
| 6. SONUÇLAR                                    | 50 |
| KAYNAKLAR                                      | 51 |
| ÖZGEÇMİŞ                                       | 61 |

## TABLO LİSTESİ

| <b><u>Tablo No:</u></b>                                                                                  | <b><u>Sayfa No:</u></b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| <b>Tablo 1. JAK2 V617F Mutasyonu İçin Reaksiyon Aşamaları ve Amplifikasyon Sıcaklıkları</b>              | <b>34</b>               |
| <b>Tablo 2. Hastalar ve Kontrollerin Demografik Özellikleri</b>                                          | <b>35</b>               |
| <b>Tablo 3. Gruplara Göre JAK2 V617F Mutasyon Sıklığının Karşılaştırılması</b>                           | <b>36</b>               |
| <b>Tablo 4. Hasta Gruplarının Tanı Anındaki Tam Kan Sayımları</b>                                        | <b>38</b>               |
| <b>Tablo 5. Polisitemia Vera Olgularında Tanı Sırasındaki Klinik ve Laboratuvar Bulgular</b>             | <b>40</b>               |
| <b>Tablo 6. Polisitemia Vera Olgularında JAK2 V617F Mutasyonuna Göre Bulgular</b>                        | <b>41</b>               |
| <b>Tablo 7. Esansiyel Trombositemi Olgularında Tanı Sırasındaki Klinik ve Laboratuvar Bulgular</b>       | <b>42</b>               |
| <b>Tablo 8. Esansiyel Trombositemili Hastalarda JAK2 V617F Mutasyonuna Göre Risk Durumu</b>              | <b>42</b>               |
| <b>Tablo 9. Primer Miyelofibrozis Hastalarının Klinik ve Laboratuvar Bulguları</b>                       | <b>43</b>               |
| <b>Tablo 10. Miyeloproliferatif Hastalıklarda JAK2 V617F Mutasyonunun Sıklığı</b>                        | <b>45</b>               |
| <b>Tablo 11. BCR/ABL Negatif Miyeloproliferatif Bozukluklarda Araştırılmakta Olan JAK2 İnhibitörleri</b> | <b>49</b>               |

## ŞEKİL LİSTESİ

**Şekil No:**

**Sayfa No:**

|                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. Hematolojik Malignansiler                                                                                                     | 3  |
| Şekil 2. Janus; Mitolojik Roma Tanrısı                                                                                                 | 27 |
| Şekil 3. Janus Kinazların Domain Yapısı                                                                                                | 28 |
| Şekil 4. JAK-STAT Yolağında Temel Basamaklar                                                                                           | 29 |
| Şekil 5. Sağlıklı Kontroller, Hasta Grupları ve Hastalıklı Kontrollerin Periferik Kan Lökositlerinde JAK2 V617F Mutasyonu; Bar Grafiği | 37 |

## KISALTMALAR LİSTESİ

|               |                                  |
|---------------|----------------------------------|
| MPB           | : Miyeloproliferatif bozukluklar |
| KML           | : Kronik miyeloid lösemi         |
| PV            | : Polistemia vera                |
| ET            | : Esansiyel trombositemi         |
| PMF           | : Primer miyelofibrozis          |
| JAK2          | : Janus kinaz 2                  |
| AML           | : Akut Miyeloblastik Lösemi      |
| MDS           | : Miyelodisplastik sendrom       |
| KMML          | : Kronik miyelomonositer lösemi  |
| FISH          | : Floresan in situ hibridizasyon |
| PKA           | : Protein Kinaz-A                |
| PCR           | : Polimeraz zincir reaksiyonu    |
| Epo           | : Eritropoietin                  |
| TPO           | : Trombopoietin                  |
| c-MPL         | : Trombopoietin reserptörü       |
| DNA           | : Deoksiribonükleik asit         |
| TGF           | : Transforming growth factor     |
| RT            | : Reaktif trombositoz            |
| BFU-E         | : Burst forming unit-eritroid    |
| CFU-E         | : Colony forming unit-eritroid   |
| PRV           | : Polistemia rubra vera-1        |
| Ph            | : Philedelphia                   |
| DSÖ           | : Dünya Sağlık Örgütü            |
| PVSG          | : Polistemia vera çalışma gurubu |
| VWH           | : von Willebrand hastalığı       |
| 32P           | : Radyoaktif fosfor              |
| IFN- $\alpha$ | : İnterferon-alfa                |
| MCV           | : kırmızı hücre hacmi            |
| PO            | : Per oral                       |

|           |                                                             |
|-----------|-------------------------------------------------------------|
| allo-HKHN | : <b>Allojenik hematopoietik kök hücre nakli</b>            |
| STAT      | : <b>Signal Transducers and Activators of Transcription</b> |
| TYK2      | : <b>Tirozin kinaz 2</b>                                    |
| JH        | : <b>Janus homoloji</b>                                     |
| FERM      | : <b>4.1, ezrin, radixin, moesin</b>                        |
| FAK       | : <b>fokal adezyon kinaz</b>                                |
| SOCS      | : <b>Suppressors of Cytokine Signaling</b>                  |
| PIAS      | : <b>Protein Inhibitors of Activated STATs</b>              |
| EDTA      | : <b>Etilendiamin tetra asetik asit</b>                     |
| rpm       | : <b>Devir/dakika</b>                                       |
| Htc       | : <b>Hematokrit</b>                                         |
| BK        | : <b>Lökosit sayısı</b>                                     |
| HM        | : <b>Hepatomegali</b>                                       |
| HT        | : <b>Hipertansiyon</b>                                      |
| FLT3      | : <b>FMS benzeri tirozin kinaz 3</b>                        |

## ÖZET

### Miyeloproliferatif Hastalıklarda JAK2 Mutasyonu ve Klinik Bulgular

**Amaç:** JAK2 V617F mutasyonunun keşfi ile, BCR/ABL negatif kronik miyeloproliferatif bozukluklarda (MPB) ve patogenezele ilgili bilgiler artmış, tanı algoritmaları gelişmiş ve tedavi için yeni seçenekler ortaya çıkmaya başlamıştır. Yapılan çalışmalarda mutasyon sıklığı PV hastaları için % 90-95, ET hastaları için % 50-70 ve PMF hastaları için % 40-50 oranında saptanmıştır. Güncel çalışmalar, tanı yaşı, tromboz öyküsü ve lökositoz varlığı gibi risk faktörlerinin, kaşıntı ve organomegali gibi bazı semptom ve bulguların mutasyon mevcudiyeti ile ilişkisine değinmektedir. Çalışmamızda miyeloproliferatif bozukluklar nedeniyle izlediğimiz hastalarda JAK2 V617F mutasyon sıklığı ve klinik ve prognostik faktörlerle ilişkisini araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 27 polisitemia vera (PV), 14 esansiyel trombositemi (ET) ve 5 primer miyelofibrozis (PMF) hastası olmak üzere toplam 46 hasta dahil edildi. Ayrıca, 32 sağlıklı kontrol ve 17 kronik miyeloid lösemi (KML) ve 1 de mast hücreli lösemi (MHL) olgusu olmak üzere, toplam 18 hastalıklı kontrol eklendi. Bütün hasta ve kontrollerin periferik kan granülositlerinde JAK2 V617F mutasyon analizi Real Time (RT)-PCR (gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi ile yapıldı.

**Bulgular:** JAK2 V617F mutasyonu PV grubunda % 92,6, ET grubunda % 42,9 ve PMF grubunda % 80 oranında pozitif bulunmuştur. Tüm MPB grupları incelendiğinde, JAK2 mutasyonu varlığı ile, yaş ( $p=0,022$ ) ve trombosit sayısı ( $p=0,042$ ) arasında pozitif bir korelasyon tespit edildi. PV ve ET gruplarındaki hastalar ele alındığında JAK2 mutasyonu ile lökositoz arasında anlamlılık sınırında ilişkiye rastladık ( $p=0,06$ ).

**Sonuç:** JAK2 mutasyonu taraması miyeloproliferatif hastalıkların tanısında standart bir test olarak yerini almış olup anti-neoplastik tedavide potansiyel bir hedef oluşturmaktadır. MPB'lerde JAK2 mutasyonunu inceleyen çalışmamız, bölgemizde bu konuda yapılan ilk çalışmalardan olup, mutasyon sıklığı literatür bilgileri ile uyumlu bulunmuştur.

**Anahtar sözcükler:** JAK2, miyeloproliferatif hastalıklar, klinik, prognoz

## ABSTRACT

### JAK2 Mutation in Myeloproliferative Disorders and Clinical Features

**Background and aims:** The recent discovery of JAK2 V617F point mutation in BCR/ABL negative chronic myeloproliferative disorders (MPD) has led to an increase in the knowledge for pathogenetic mechanisms. New diagnostic algorithms are developed for now and promising treatment alternatives are on the way. According to recent studies the mutation is shared by 90-95% of PV, 50-70% of ET and 40-50% of PMF patients. These studies are focused on clinical and prognostic factors such as age, thrombosis, leucocytosis, pruritus, hepatomegaly, splenomegaly and their relations with this mutation. In this study, we tried to point out the prevalence of JAK2 V617F in our patients with myeloproliferative disorders and its significance for clinical and prognostic factors.

**Material and methods:** 27 polycythemia vera (PV), 14 essential thrombocytosis (ET) and 5 primary myelofibrosis (PMF) patients (total 46) were included in this study. The number of healthy controls were 32. 17 patients with chronic myelogenous leukemia (CML) and one patient with mast cell leukemia (MHL) were chosen as diseased control group (total 18). JAK2 V617F mutation analysis was performed by Real Time-PCR with the DNA samples extracted from peripheral blood.

**Results:** JAK2 V617F positivity was 92.6% in PV, 42.9% in ET and 80% in PMF. When all patients with MPD were taken to consideration, patients that are positive for JAK2 mutation were older ( $p=0.022$ ) and had higher platelet levels ( $p=0.042$ ). JAK2 mutant PV and ET patients also showed higher leucocyte levels which was close to significance ( $p=0.06$ ).

**Conclusion:** JAK2 mutation has taken its place as a standard marker for MPD and has a potential role in anti-neoplastic treatment. Our study about JAK2 mutation in MPD is to be one of the first in our region. Prevalence of this mutation in our study is correlated with the literature findings.

**Keywords:** JAK2, MPD, clinical, prognosis

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kronik miyeloproliferatif bozukluklar (MPB) içinde Kronik miyelositer lösemi (KML), patogenezinde rol oynayan BCR/ABL füzyonu ile diğerlerinden ayrılır. Ailesel olmayan, BCR/ABL negatif kronik miyeloproliferatif hastalıkların [polisitemia vera (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve primer miyelofibrozis (PMF)] patogenezi ise KML kadar net değildir.

Son yıllarda, JAK2 (Janus kinaz 2) exon 14 mutasyonunun keşfi ile, BCR/ABL negatif kronik MPB’lerde patogenezele ilgili bilgiler artmış, tanı algoritmaları gelişmiş ve tedavi için yeni seçenekler ortaya çıkmaya başlamıştır. JAK2 geninde V617→F yer değişimi sonrası ortaya çıkan bu somatik mutasyon MPB’lerde hematopoetik öncül hücrelerde büyüme faktörlerine karşı aşırı bir hassasiyete neden olmaktadır.

Çalışmamızda BCR/ABL negatif kronik miyeloproliferatif bozukluğu olan hastalarımızda JAK2 V617F mutasyonu sıklığını ve klinik prognostik faktörlerle ilişkisini araştırdık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Miyeloproliferatif Hastalıklara Genel Bakış

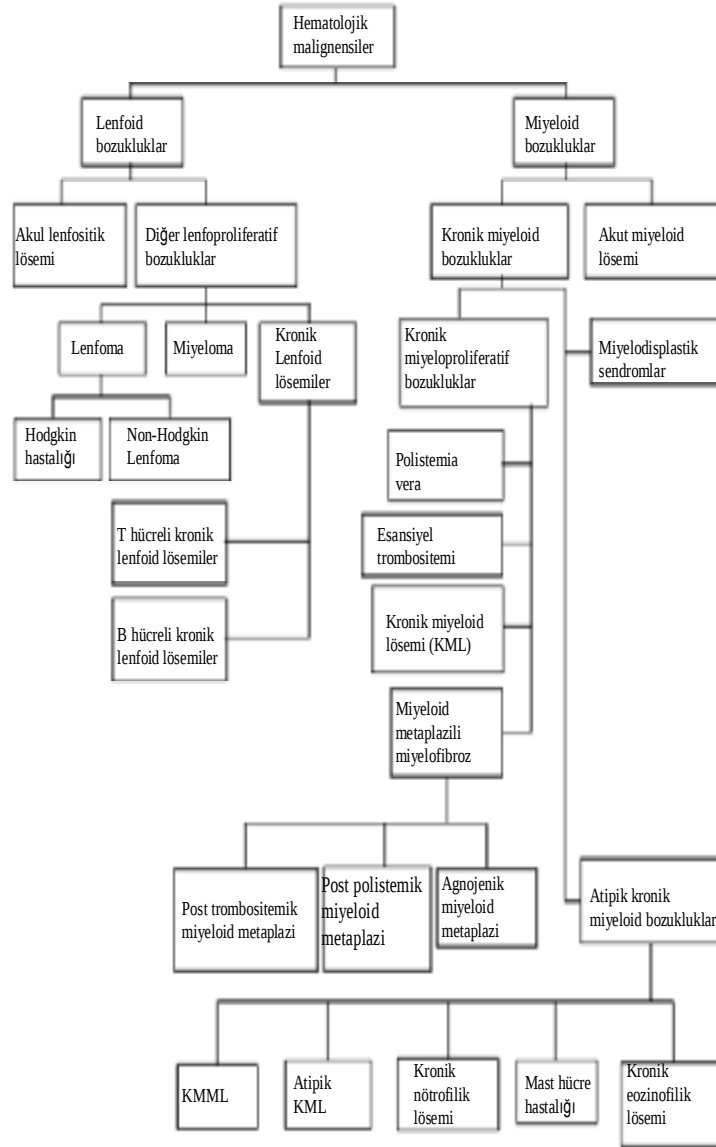
#### 2.1.1. Miyeloproliferatif Hastalıklar

Hematopoetik pluripotent kök hücre kendini yenileme ve farklılaşma yetilerine sahiptir. Efektif hematopoez için büyüme faktörleri ve reseptör etkileşimlerinin sağlıklı olduğu bir mikroçevreye gereksinim vardır.<sup>1</sup>

Hematolojik kökenli malign hastalıklar hücre natürüne göre lenfoid ve miyeloid, kemik iliğindeki blast (immatür prekürsör hücre) oranına göre akut ve kronik olmak üzere sınıflandırılır (Şekil 1). Örneğin kemik iliğinde % 20'den fazla miyeloblast izlenmesi durumunda akut miyeloblastik lösemiden (AML) bahsedilir. Kronik miyeloid hastalıklar ise, dismiyelopoez sergileme durumlarına göre miyelodisplastik sendromlar (MDS) ve miyeloproliferatif bozukluklar (MPB) olarak tanımlanır.<sup>2</sup>

MDS kemik iliğinde displazi ve hiperplazi (nadiren hipoplazi) ile periferik kanda monositozun eşlik edebildiği sitopeniler olarak tanımlanmaktadır.<sup>3</sup> Proliferatif kemik iliğine periferik sitopenilerin eşlik ediyor olması intramedüller myeloid hücre apoptozu ile açıklanabilmektedir.<sup>4</sup> Miyelodisplastik sendromlar altı alt grupta sınıflandırılmıştır.<sup>3</sup>

1. Klasik 5q- sendromu
2. Klonal (refrakter) nonsideroblastik anemi
3. Klonal (refrakter) sideroblastik anemi
4. Klonal bisitopeni veya pansitopeni (belirgin çoklu seri dismorfik sitopeniler)
5. Oligoblastik lösemi (refrakter anemi ve myeloblast fazlalığı)
6. Diğer kategorilerde sınıflanamayan aşikar klonal myeloid hastalık (misal; kronik klonal monositoz)



**Şekil 1.** Hematolojik Malignansiler<sup>5</sup>

Miyeloproliferatif bozukluklar (MPB) MDS'lerin aksine periferik kanda farklılaşmanın son aşamasında miyeloid hücre artışı ile karakterize olup, klasik ve atipik MPB'ler olmak üzere iki grupta tanımlanırlar. Polistemia vera (PV), esansiyel trombositemi (ET), primer miyelfibrozis (PMF) ve kronik miyeloid lösemi (KML) klasik MPB'leri oluşturur. Atipik MPB'ler ise güncel olarak MDS veya MPB olarak tanımlanamamış hastalıkları anlatır. Kronik miyelomonositik lösemi, juvenil miyelomonositik lösemi, sistemik mastositoz, hipereozinofilik sendrom, kronik eozinofilik lösemi, kronik bazofilik lösemi bunlardan bazılarıdır.<sup>6</sup>

X kromozomu inaktivasyonuna bağılı genetik ve enzim temelli çalışmalar gerek MDS, gerekse MPB'lerin multipotent progenitor hücre kökenli klonal neoplaziler olduğunu gösterdi. Bununla birlikte güncel metodlarla yapılan X kromozomuna bağılı DNA analizlerinde bazı sağılıklı yaşı kadınlarda monoklonal hematopoez, bazı ET hastalarında ise poliklonal hematopoez izlenmiştir.<sup>7</sup> Poliklonal ET hastalarında JAK2V617F mutasyonunun saptanması ise X kromozom temelli analizlerin bir kısım hasta için yeterli olmayacağını düşündürmektedir.<sup>8</sup>

Ailesel geçişli PV, ET ve PMF olguları için JAK2 mutasyonu predispozan faktör olarak görünmemektedir.<sup>9</sup> Sporadik olduğu düşünölen 458 olgunun incelendiğı bir araştırmada sırasıyla PV, ET ve PMF gruplarında ailesel ilişki % 8,7, % 6 ve % 8 oranlarında saptanmıştır.<sup>9</sup>

**Klasik miyeloproliferatif bozukluklar:** Bu grup hastalıklar içerisinde yer alan KML 9 ve 22 numaralı kromozomlar arasında karşılıklı parça değişimi t(9;22) ile karakterizedir. Bu değişimin ortaya koyduğu kısalmış 22'nci kromozom (philadelphia kromozomu) olguların % 90-95'inde izlenir.<sup>10</sup> Geride kalan olgularda ise floresan in situ hibridizasyon (FISH) veya ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yardımıyla t(9;22) gösterilebilir<sup>11</sup>. Bu gruptaki diğör hastalıklar olan PV, ET ve PMF ise BCR/ABL negatif miyeloid bozukluklar olarak bilinmektedir.<sup>12,13</sup>

PV olgularının hemen tamamında<sup>14</sup>, ET ve PMF olgularının ise yaklaşık %50'sinde saptanan<sup>13,15</sup> JAK2 mutasyonunun keşfi ile klasik MPB'lerin tanısal kriterlerinde güncelleme yapıldı.<sup>16,17</sup>

JAK2 mutasyonu mevcudiyeti ve azalmış eritropoietin (Epo) seviyelerinin eşlik ettiğı yüksek hematokrit değeri olan olgular PV tanısı alır.<sup>16,17</sup> ET, bir dışlama teşhisi olup, PV, KML, MDS veya PMF olarak tanımlanamayan bir olgudaki otonom, klonal trombositozu temsil etmektedir.<sup>12</sup> PMF ise diğör bir MPB ile ilişkilendirilemeyen kemik iliğı fibrozisi ile karakterizedir.<sup>18</sup>

MPB'ler içerisinde artmış eritrosit kitlesi PV için spesifik olsa da, KML ve MDS olgularının, ET tanısı düşöndüren izole trombositoz veya PMF ile karışabilecek izole miyolefibroz ile prezente olmaları mümkündür. Sonuç olarak MPB tanısı düşünölen tüm hastalarda t(9;22) varlığını dışlamaya yönelik sitogenetik inceleme (KML) ve dismiyelopoez ayırıcı tanısı için (MDS) kemik iliğı morfolojik incelemesi yapılmalıdır.<sup>13</sup>

Klonal değişim ve malign dönüşüm MPB'ler için fatal bir komplikasyondur. AML'ye dönüşüm sıklığı MPB alt grupları arasında farklılık göstermektedir. Etketif tedavi yokluğunda KML hastaları için malign dönüşüm sıklığı %90 ve üzerinde saptanırken, ET için bu oran %5'in altındadır.<sup>7</sup>

Miyelofibrotik evreye dönüşüm MPB'lerin bir başka komplikasyonu olup, PV hastalarında 10 yıllık izlemde yaklaşık %10 risk mevcuttur.<sup>19</sup>

Trombohemorajik komplikasyonlar ise özellikle PV ve ET açısından belirgin risk oluşturan sorunlardır.<sup>20</sup> Hemorajik episodlar genellikle hafif seyirli olup, spontan hemorajiler özellikle yüksek platelet sayıları olan hastada olmaktadır. Çünkü kalitatif platelet bozuklukları tabloya eşlik eder. Trombotik komplikasyonlar arteriyel ve venöz trombozlar olabileceği gibi görme bozukluğu, nörolojik semptomlar ve eritromelalji gibi mikrodolaşım bozuklukları şeklinde de oluşabilir.<sup>20</sup> Eritromelalji mikrovasküler sahada trombus oluşumları ve platelet tüketimi ile ilişkili bir tablodur. Aspirin kullanımı ile semptomatik iyileşme ve kısalmış olan platelet ömründe uzama sağlanır. Aspirinin sağladığı bu düzelmenin kumadin veya heparin ile elde edilememesi prostaglandin sentez ürünlerinin patogeneizde rolü olduğunu düşündürür.<sup>21</sup>

Blastik transformasyon ve tromboz ilişkili ölüm risklerinin MPB alt gruplarında farklılık göstermesi nedeniyle ortalama yaşam beklentisi ET hastalarında normale yakın iken, PMF için beş seneden azdır.<sup>22</sup>

Hemoraji, tromboz, AML'ye dönüşüm gibi major komplikasyonların yanı sıra MPB'ler hastaların yaşam kalitesini kısıtlayan semptomlara yol açmaktadır. 1179 hastayı kapsayan internet temelli semptom sorgulamasının sonuçlarına göre; halsizlik % 81, kaşıntı % 52, gece terlemesi % 49, kemik ağrıları % 44, ateş % 14, kilo kaybı % 13 hastada mevcuttur. Halsizlikten yakınan hastaların üçte birinin günlük aktiviteleri için yardıma ihtiyaç duyduklarını belirtmesi dikkat çekicidir.<sup>23</sup>

MPB'lerde hematopoietik büyüme faktörlerinin klonal prosesin gelişimine katkısı gösterilmemiştir. Bu bağlamda; MPB'ler spontan (büyüme faktörüne gereksinimi olmayan) hematopoietik koloni oluşumu ile karakterizedir.<sup>24</sup>

PV hastalarında Epo seviyeleri belirgin olarak azalmıştır ve moleküler çalışmalar Epo reseptörü ile ilgili mutasyon ortaya koymamıştır. Bununla birlikte PV'de eritroid öncülerinde bcl-x (bir apoptoz inhibitörü) aşırı ekspresyonunun gösterilmesi bu hücrelerin Epo yokluğundaki otonom çoğalmalarına açıklama getirebilmektedir.<sup>25</sup>

ET'de gerek TPO, gerekse TPO resptörü (c-MPL) için klonal prosesin TPO'dan bağımsız olduğunu işaret eden moleküler lezyonlar tanımlanabilmiş değildir.<sup>35</sup> Bununla birlikte ET hastalarında serum TPO konsantrasyonlarının normal ya da normalden yüksek seviyede bulunması feedback mekanizma bozukluğu düşündürmektedir.<sup>36</sup> Bu gözlemle uyumlu olarak ET olgularında platelet ve megakaryositlerde TPO reseptör ekspresyonu azalmıştır.<sup>13</sup> Platelet ve megakaryositlerde TPO reseptör ekspresyonu PV'de de belirgin olarak azalmıştır. Yani bu hastalıkta da platelet çoğalması ET'de olduğu gibi TPO'dan bağımsızdır.<sup>28</sup>

Büyüme faktörleri neoplastik gelişimde etkili olmamakla birlikte, MPB ilişkili miyelofibroza katkıda bulunmaktadır. Fareler üzerinde yapılan bir araştırmada ölümcül dozda irradiasyonu takiben murine TPO cDNA taşıyan retrovirus ile infekte greftler kemik iliğine yerleştirilmiştir.<sup>29</sup> Başlangıçta platelet ve beyaz küre artışları görülmekte ancak bu dönemin ardından miyelofibroza, ekstramedüller hematopoez, anemi ve lösemik dönüşüm gelişmektedir. PMF benzeri bu hastalığın insan miyelofibrozu da işaret edilmiş olan megakaryosit kökenli aşırı miktarda transforming growth factor (TGF)-beta üretimine bağlı olduğu düşünülmektedir.<sup>30</sup>

### **2.1.2. JAK2 ve MPL Mutasyonları**

Dokuzuncu kromozomun kısa kolunda (9p) bulunan sitoplazmik tirozin kinaz Janus kinaz 2 (JAK2) genine yönelik bir çalışma ile MPB'lerde hematopietik progenitör hücrelerin büyüme faktörleri ve diğer sitokinlere olan aşırı duyarlılığını açıklayabilmektedir.<sup>31,32</sup> JAK2 genindeki bir mutasyonun fare modellerinde sürekli tirozin fosforilasyon aktivitesine yol açarak sitokinlere aşırı duyarlılık ve eritrositozu indüklediği gösterilmiştir.<sup>32</sup>

JAK2 mutasyonu mevcut olduğunda miyeloid ve eritroid hücrelerde çok belirgindir. B hücresi, T hücresi ve NK hücresi (lenfoid hücreler) serilerinde mutasyon varlığı ise halen bir tartışma konusudur.<sup>33,34</sup> MPB tanısı olan 115 hastanın dahil edildiği bir çalışmada JAK2 mutasyonu trombositlerde granulositlerden bir miktar daha yüksek saptanmıştır.<sup>35</sup>

Bu mutasyon JAK2 geninin exon 14'ündeki belirgin fenilalanin ile JH2 veya psödokinaz domainin 617. pozisyonunda gizlenmiş olan valinin yer değişimine yol açar (Val617Phe, V617F). Bu değişim ise kinaz domainini negatif regüle ederek Epo reseptör sinyalizasyonunda rol alan JAK-STAT ve diğer yolakların sitokinden bağımsız

aktivasyonuna yol açar.<sup>36</sup> JAK2'deki bu fonksiyon kazanımlı nokta mutasyon PV hastalarının % 90-95'inde, ET hastalarının % 50-70'inde, PMF hastalarının % 40-50'sinde gösterilmiştir.<sup>37,38,16</sup> Mutasyonun Epo'dan bağımsız çoğalan eritroid kolonilerde bulunması büyüme faktörü aşırı duyarlılığı ile ilişkisini ortaya koymaktadır.<sup>39</sup> JAK2 V617F mutasyonunun KML, MDS, kronik miyelomonositik lösemi, sistemik mastositoz, kronik nötrofilik lösemi gibi diğer kronik miyeloid bozukluklarda çok nadir olmakla birlikte, MPB sonrası ortaya çıkan AML hastalarında bulunabilmesi mutasyon ile klasik BCR/ABL negatif MPB'ler arasında spesifik bir bağlantıya işaret eder.<sup>40</sup> Sonuç olarak bu mutasyonun varlığı ve yokluğunun gösterilmesi PV ile sekonder polisitemi, ET ile reaktif trombositoz (RT) ayrımı açısından değerlidir. Disregüle tirozin kinaz aktivitesinin varlığı ise bu grup hastalıklar için tirozin kinaz inhibitörü moleküllerin KML ve diğer malignansilerde olduğu gibi terapötik kullanıma girebileceğini düşündürür.<sup>37</sup>

MPL (trombopoietin reseptörü) aktivasyonuna yol açan mutasyonlar ailesel ET hastalarında gösterilmiştir. Ancak MPB'lerde bu mutasyonların sıklığı düşük bulunmuştur. Kapsamlı bir çalışmanın verilerine göre MPL'de aktive edici somatik mutasyonlar (MPL mutasyonları W515I ve W515K) PMF olgularının % 5'inde, ET olgularının %1'inde saptanırken PV olgularında mutasyona rastlanmamıştır.<sup>41</sup>

MPB'lerin gelişiminde JAK2 ve MPL mutasyonlarının hastalık fenotipini, lösemik dönüşümü ve başlangıçta tutulmuş olan kök hücrelerin oranını belirlemedeki yeterliliği çok açık olmasa da, mevcut çalışmalar bu mutasyonları sorumlu tutmaktadır.<sup>34</sup> Bazı PMF ve ET olgularında her iki mutasyon mevcuttur. JAK2 mutasyonunun homozigot veya heterozigot olması, MPL mutasyonunun bulunup bulunmaması gibi durumlar hastalık fenotipi (trombositoz, lökositoz ve eritrositozun derecesi, dalak büyüklüğü, myelofibroza gidiş) ve tedaviye yanıt (örneğin hidroksiüre) hakkında bilgi verici olabilir.<sup>42,43,44</sup> Kantitatif yöntemler, JAK2 V617F mutasyonu allel yükünü daha iyi saptanması ve tedaviye yanıtın moleküler takibindeki avantajları yönlerinden daha çok tercih edilebilir.<sup>37</sup>

## **2.2. Polistemia Vera**

### **2.2.1. Epidemiyoloji**

Polistemia vera (PV) başta kırmızı kan hücreleri olmak üzere her üç hematopoietik hücre serisinin aşırı üretimi ile karakterize, kazanılmış miyeloproliferatif bir bozukluktur.

Hastalığa neden olan mutasyon sonucu dönüşüme uğramış hematopoietik kök hücre zamanla baskın miyeloid öncül hücre haline gelmektedir.<sup>28</sup>

PV, klinik olarak diğer miyeloproliferatif bozukluklardan (MPB), kırmızı hücre kitlesindeki belirgin artış ile ayrılır. Ancak kırmızı hücre kitlesindeki artış tek başına PV tanısı için yeterli değildir, çünkü bu bulgu kronik hipoksi ile ilişkili olan birçok durum ve nadiren de Epo salgılayan tümörlerin varlığında da gözlenir.<sup>28</sup>

PV olgularının kemik iliği örneklerinden elde edilen kolonilerde normal Epo duyarlılığı olan “burst forming unit-eritroid” (BFU-E) kolonilerinin yanı sıra Epo olmadan çoğalan koloniler de gösterilmiştir. Bununla birlikte PV olgularında trombositlerde TPO reseptör seviyesinde azalma<sup>45</sup>, Bcl-x (bir apoptoz inhibitörü) regülasyon bozukluğu<sup>25</sup>, eritrosit öncülerinde (BFU-E, CFU-E) protein tirozin fosfataz ekspresyonu artışı, periferik kan granulositlerinde polistemia rubra vera (PRV)-1 geni aşırı ekspresyonu<sup>46,47</sup>, 9p kromozomunda heterozigosite kaybı gibi anormallikler de tanımlanmıştır.<sup>28</sup>

Son yıllarda Philedelphia kromozomu negatif [Ph (-)] kronik MPB’lerde JAK2 V617F mutasyonunun tanımlanması PV patogenezi açısından önemli bir keşif oldu<sup>75</sup>. Hastalığın progresyonu ile kemik iliğinde gözlenen fibroblast birikimi ise anormal klonun bir parçası olmayıp, muhtemelen çoğalan megakaryositlerin ürettiği “platelet derived fibroblast growth factor (PDGF)” etkisine bağlıdır.<sup>28</sup>

PV genellikle altıncı dekatta ortaya çıkan sinsi bir hastalıktır.<sup>28</sup> Hastaların yaklaşık olarak %60’ı erkektir.<sup>48</sup> Minnesota’da yapılan bir çalışmada PV insidansı 1,9 olgu/100.000 popülasyon/yıl olarak bildirilmiştir.<sup>48</sup> Ortalama yaşam beklentisi tedavi edilmeyen olgularda 6-18 ay, tedavi ile 11-15 yıl olarak saptanmıştır.<sup>49</sup>

### 2.2.2. Tanı

Revize edilmiş Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterleri günümüzde ilk olarak önerilen tanı sistemidir. Buna göre, A kriterlerinden ilk ikisi mutlaka bulunmak kaydı ile bu ikisine diğer bir A kriteri veya iki adet B kriterinin eklenmesi PV tanısı için yeterlidir.<sup>50,16,17</sup>

A kriterleri :

1. Artmış kırmızı hücre kitlesi: Ortalama değerden % 25 fazla veya erkekte hemoglobin >18,5 g/dL, kadında >16,5g/dL veya yaş, cinsiyet ve yaşanan irtifaya göre hesaplanmış referans aralığının % 99’undan büyük hemoglobin değeri.

2. Sekonder eritrositoz nedenlerinin bulunmaması (hipoksi, yüksek oksijen afiniteli hemoglobin, Epo reseptör anormalliği, uygunsuz Epo üreten tümör varlığı)
3. Splenomegali
4. Philedelphia (Ph) kromozomu ya da BCR-ABL füzyon geni haricinde kemik iliği hücrelerinde klonal genetik anormallik
5. İn vitro endojen eritroid koloni oluşumu

B kriterleri :

1. Trombositoz  $> 400 \times 10^9/L$
2. Lökositoz  $> 12 \times 10^9/L$
3. Eritroid ve megakaryositik proliferasyon gösteren sellüler kemik iliği biyopsisi
4. Düşük serum Epo seviyesi

Epo düzeyi normal ise kemik iliği biyopsisi ve JAK2 V617F mutasyon analizi ile tanıya ulaşılabilir.<sup>16,17</sup>

PV tanısı için yaygın olarak kullanılan bir sınıflama da PV çalışma gurubu (PVSG) tarafından hazırlanmış olmalıdır. Bu sınıflama sistemine göre her üç majör kriterin, ya da ilk iki majör kriter ile birlikte herhangi iki tane minör kriterin bir olguda bulunması PV tanısını doğrulamaktadır.<sup>28,49</sup>

Majör kriterler :

1. Artmış kırmızı hücre kitlesi (erkeklerde  $\geq 36$  mL/kg, kadında  $\geq 32$  mL/kg)
2. Arteriyel oksijen saturasyonu  $\geq \% 92$
3. Splenomegali

Minör kriterler :

1. Platelet sayısı  $> 400,000/\mu L$
2. Beyaz küre sayısı  $> 12,000/\mu L$
3. Lökosit alkalin fosfataz skoru  $> 100$
4. Serum vitamin B12 seviyesi  $> 900$  pg/mL veya serum serbest B12 bağlama kapasitesi  $> 2,200$  pg/mL

### 2.2.3. Klinik Özellikler

Baş ağrısı, halsizlik, kaşıntı, baş dönmesi, kulak çınlaması, terleme PV'de sık karşılaşılan yakınmalardır. Bunun yanında bazı PV hastaları asemptomatik olup, herhangi bir nedenle tam kan sayımı yapıldığında rastlantısal olarak hematokrit yüksekliği saptanması sonrasında tanı alır.<sup>28</sup>

PV’de ortalama üç olgudan birinde gözlenen trombotik olaylar bu hastalar için major mortalite ve morbidite nedenidir<sup>28</sup>. Trombotik olayların bu denli sık olması artmış serum viskozitesi ve trombositoz ile ilgilidir. Daha çok arteriyel olmakla beraber venöz sistemde de görülen trombotik olaylar sıklık sırasına göre; inme, geçici iskemik atak, miyokard enfarktüsü, derin ven trombozu, pulmoner tromboemboli ve Budd-Chiari sendromudur.<sup>51,52</sup> Hiperviskoziteye bağlı gelişebilen anjina pectoris ve nörolojik bulguların sorgulanması önemlidir.<sup>28</sup> Tromboz ile çelişkili gibi görünmekle birlikte, kalitatif trombosit bozukluğu ve peptik ülser hastalığının artmış insidansı PV olgularında gastrointestinal hemoraji ile kliniğe yansıyabilmektedir.<sup>28</sup>

Bazı hastalar için özellikle sıcak bir banyodan sonrası görülen kaşıntı ön plandaki semptom olabilir. Hastaların yaklaşık olarak % 40 kadarında kaşıntı yakınması mevcuttur. Bu durumun sebebi olarak bazofil sayısındaki artışa ikincil histamin salınımı öne sürülmektedir<sup>53</sup>. Kaşıntı patogeneğinde “kutanöz mast hücre degranulasyonu” (histamin) yanı sıra, fibrinolitik faktörler, katekolaminler ve prostaglandinlerin de rol oynadığı düşünülse de, henüz kesin olarak.<sup>53,54</sup>

El ve ayaklarda kızarıklık ve morarmanın eşlik ettiği ağrı ve yanma hissi olarak tanımlan ve vazomotor bir bozukluk olan eritromelalji ET seyrinde daha sık karşılaşılan bir klinik bulgu olmakla birlikte, özellikle trombosit sayısının yüksek seyrettiği PV olgularında da görülebilmektedir.<sup>28</sup>

PV’de sık karşılaşılan fizik muayene bulguları olarak plethora, splenomegali ve hepatomegali dikkati çeker. Sırasıyla bu üç bulgu, PV çalışma gurubunun (PVSG) verilerine göre % 70, % 67 ve % 40 oranlarında izlenmektedir<sup>28</sup>. Serum viskozitesindeki artış kan basıncında yükselmelere neden olabilir. Daha az rastlanan bulgular ise kaşıntı nedeniyle deride oluşan ekskoriyasyonlar, eski trombotik olaylara bağlı olan deri üzerindeki lekelenmeler, optik fundus venlerinde tıkanmalar ve gut artriti olarak bildirilmektedir.<sup>28</sup>

Miyelofibrozis, splenomegali ve anemi PV olgularında hastalığın postpolistemik miyeloid metaplazi döneminde olduğunu gösterir. Geçmişte flebotomi gereksinimi olan olguların transfüzyona bağımlı hale gelebildiği bu dönem, PV’nin terminal bir komplikasyonudur. PV’de akut lösemiye transformasyon riski (lösemik faz) armıştır. Bu risk postpolistemik miyeloid metaplazi fazındaki olgularda çok daha yüksektir. Dönüşüm

sıklıkla AML ve MDS, nadiren de KML şeklinde gerçekleşir. AML'ye transforme olgular tedaviye dirençlidir.<sup>28</sup>

PV'nin en temel laboratuvar bulgusu artmış hemoglobin ve eritrosit sayısıdır. Geçmişte PVSG tarafından major tanı kriterleri içerisinde gösterilen artmış eritrosit kitlesi, pahalı ve standardizasyonu zor bir işlem olması nedeni ile güncel pratikte yerini hemoglobin artışına bırakmıştır. Hemoglobin değeri 16,5 mg/dl'den fazla olan (hematokrit >% 50) kadınlar ve 18,5 mg/dl'den fazla olan (hematokrit >% 56) erkekler için eritrosit kitlesinin arttığı gösterildiği için, klinik pratikte bu değerlerin üzerindeki ölçümler saptandığında eritrosit kitlesi artmış olarak kabul edilmelidir.<sup>55</sup>

PV'de eritrosit morfolojisi normaldir. Bununla birlikte demir eksikliğinin eşlik ettiği olgularda hipokromi, mikrositoz ve poikilositoz izlenir. Demir eksikliği demirin artmış eritrosit kitlesine transferi, gastrointestinal sistemden kronik kan kaybı ve hiperviskozite nedeniyle uygulanan flebotomilere ikincildir. Serum demir ve ferritin seviyeleri azalmış, demir bağlama kapasitesi artmış olarak saptanır. Postpolistemik miyeloid metaplazi fazında ise belirgin anizopoikilositoz ve gözyaşı damlası şeklinde eritrositler gözlenir.<sup>28</sup>

Kemik iliği incelemesi DSÖ kriterlerinde belirtildiği gibi, megakaryositler başta olmak üzere, her üç seri elemanlarının arttığı panhiperplazi gösterir. Değişken derecelerde retikülin artışı bulunabilir. Kemik iliği demir depoları tükenmiştir<sup>56,57</sup>.

PV'de nötrofili hastaların çoğunda mevcut olup, lökosit sayısı genellikle 10-20 x10<sup>3</sup>/µL aralığındadır. WBC morfolojisi sıklıkla normal olmakla birlikte seyrek olarak gözlenen miyelosit ve metamiyelositlere hastalığın ileri safhalarında daha çok rastlanır. Lökosit alkalin fosfataz düzeyi artmıştır.<sup>28</sup> Lökositozun PV ilişkili tromboz için önemli bir faktör olduğunu vurgulanmıştır.<sup>58</sup> Bazofili ve eosinofili genellikle mevcuttur.<sup>28</sup>

Hastaların yarısında değişken derecelerde trombositoz bulunur ve bazen bir milyon/µL değerlerini aşabilir. Trombosit morfolojisi normaldir. Kazanılmış von Willebrand hastalığı (VWH) PV ve diğer miyeloproliferatif bozukluklarda gözlenebilen kalitatif bir trombosit bozukluğu olarak bildirilmektedir.<sup>28</sup> Bu hastalarda kongenital tip2 VWH'dekine benzer şekilde von Willebrand faktör multimerlerinin kaybı söz konusudur. Kazanılmış VWH trombositozun derecesi ile ilişkili olup, trombosit sitoreduksiyonu ile ortadan kalkar. TPO reseptör bozukluğu, trombositlerin epinefrine yanıtının azalması,

platelet membran glikoproteinlerinde anormallikler kalitatif trombosit bozukluğunun diğer bazı nedenleridir.<sup>28</sup>

PV'de hücre döngüsünden ileri gelen hiperürisemi gut hastalığı yatkınlığına neden olabilir. Serum vitamin B12 seviyesi PV'de belirgin olarak yükselebilir. Bunun nedeni kaynağı lökositler olan transkobalamin III (B12 bağlayıcısı) düzeyindeki artıştır.<sup>28</sup>

Eritrositozu olan hastanın ilk değerlendirmesinde serum Eritropoietin (Epo) düzeyi ölçümü her ne kadar önemli olsa da PV tanısını doğrulamada serum Epo düzeyini normal veya düşük bulunması tek başına yeterli değildir. Bununla birlikte serum Epo düzeyinin yüksek saptanması halinde (Epo >5IU/L) eritrositoz PV'ye değil, sekonder bir nedene bağlıdır. Bu bağlamda, serum Epo düzeyi ölçümü primer polistemilerin prototipi olan bu hastalığın dışlanmasında çok kıymetlidir. Güncel tanısal sınıflamalar Epo seviyesi düşüklüğünü minör kriter olarak tanımlar.<sup>50,16,17</sup>

#### **2.2.4. JAK2 Mutasyonları**

Yapılan araştırmalar JAK2 V617F exon 14 mutasyonunun sağlıklı kişiler ve sekonder polistemisi olan kişilerde bulunmamakla birlikte, PV tanısı olan kişilerde % 95-97 oranında saptandığını ortaya koymuştur.<sup>59,60</sup> JAK2 V617F mutasyon analizi sekonder polistemiler ile PV arasında net bir ayırım yapmaya olanak sağlar, ancak bu testin maliyeti ve erişilebilirliği henüz istenilen uygunlukta değildir. Diğer taraftan mutasyon PV'ye spesifik olmayıp ET ve PMF hastalarının yaklaşık olarak yarısında saptanabilmektedir.<sup>28</sup>

Dikkat çekici bir başka nokta ise yüksek mutasyon seviyeleri ile yüksek granulosit sayıları arasında saptanan ilişkidir<sup>61</sup>. Bu bulgu lökositozu olan hastalardaki yüksek tromboz sıklığını açıklamaya yardım edebilir.<sup>42</sup>

PV tanısı olan 63 hastanın exon 14 mutasyonu açısından incelendiği bir çalışmada mutasyona 58 hastada (% 92) rastlanırken, mutant olan bu hastaların 13'ünde (% 22) mutasyonun homozigot olduğu gözlenmiştir.<sup>55</sup> Homozigot olguların geriye kalan 45 heterozigot olguyla mukayesesi yapıldığında, bu olgularda kaşıntı yakınmasının daha sık, hemoglobin seviyelerinin daha yüksek, fibrozis gelişim oranının artmış ve periferik kandaki granulositlerde PRV-1 transkript seviyelerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Bununla birlikte homozigot ve heterozigot hastalar arasında hastalık süresi, tromboz ve kanama insidansları arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Başka bir çalışmada JAK2 V617F mutasyonu periferik kandaki granulositler yerine BFU-E hücrelerinde incelendiğinde, 17 hastanın tamamında mutasyonun homozigot olduğu, ET tanısı olan 15 hastanın ise hiçbirisinde homozigot mutasyonun bulunmadığı görülmüştür.<sup>63</sup>

PV tanısı olan 114 hastanın incelendiği bir çalışmada ise 111 hastada (%97) V617F exon 14 mutasyonu müsbet iken, geriye kalan 3 hastada ise exon 12 mutasyonu izlenmiştir. Bunun sonucunda tüm PV hastalarının kromozom 9p24 bölgesinde lokalize olan JAK2 geninde exon 14 veya 12 olmak üzere mutasyon varlığının olabileceği öne sürülmüştür.<sup>14</sup> Exon 14 V617F mutasyonu pozitif olan hastalarda exon 12 mutasyonuna rastalanmamıştır.<sup>60</sup>

### 2.2.5. Prognoz

PV tanısı olan ve tedavi edilmeyen semptomatik hastaların ortalama sağkalım süresi 6 ile 18 ay arasında kabul edilirken, tedavi ile bu süre 10 yılın üzerine çıkmaktadır.<sup>49</sup> Yaş ve cins açılarından uyumlu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tedavi gören hastalar için toplam mortalite riski 1,6 kat artmakta ve olası nedenler içinde kardiyovasküler ölümler başı çekmektedir.<sup>65,66</sup> PVSG verilerine göre, çeşitli tedavi seçenekleri ile tedavi edilen 400'den fazla PV hastası için ortalama yaşam süresi 9,1 ile 12,6 sene arasında değişmektedir. Bu anlamda PV, tedavi ile yaşam beklentisi normal olmasa dahi, normale yakın olan bir hastalıktır. Ölüm sebepleri arasında tromboz % 29 ile ilk sırada bulunurken, hematolojik malignansiler % 23, hematolojik olmayan malignansiler % 16 hemorajiler % 7 ve miyelofibroz gelişimi % 3 olarak kaydedilmiştir.<sup>28</sup>

Trombotik olaylar temel olarak hiperviskozite ile ilişkilidir.<sup>65</sup> Başta akut koroner sendrom ve inme olmak üzere, derin ven trombozu, pulmoner embolizm, hepatik ven trombozu gibi komplikasyonlar görülebilir.<sup>28</sup> Klinik çalışmalar ileri yaş (> 60 yıl) ve geçirilmiş tromboz öyküsü varlığının kardiyovasküler olay gelişimi için risk faktörü olabileceğini ortaya koymuştur.<sup>65,49</sup> Dört yüz elli dokuz hastalık bir seride arteriyel trombozu olan PV hastaları için tanı anında 60 veya daha büyük yaşta olmak ve lökosit sayısının 15,000/μL'den büyük olmasını bağımsız risk faktörleri olarak göstermiştir.<sup>67</sup> Sonuçlar bu iki bağımsız risk faktörüne sahip olmayanlar için ortalama 23 yıl, bir risk faktörü olan hastalar için ortalama 14 yıl ve her iki risk faktörü de olan hastalar için ortalama 9 yıllık sağ kalım sürelerine işaret etmektedir. Bunun dışında belirgin

trombositoz ( $>1,5 \times 10^6/\mu\text{L}$ ) ve diğer kardiyovasküler risk faktörlerinin var oluşu da prognoza olumsuz etki etmektedir.

PV'de hastalığın miyeloid metaplazili miyelobroza veya lösemiye (AML veya MDS) dönüşümü olası bir mortalite nedenidir<sup>65</sup>. Mevcut iki klinik çalışmanın sonuçları ileri yaşın ( $> 70$  yıl) ve hidroksiüre dışındaki sitoredüktif ilaçlarla tedavi edilmiş olmanın akut lösemi ya da MDS gelişimi için anlamlı risk oluşturduğuna işaret etmektedir<sup>49,68</sup>. Sekonder miyelofibroz gelişimi için ise ileri yaş ( $> 60$  yıl) ve hastalığın süresi risk oluşturmaktadır<sup>49,67</sup>. Hastalık süresinin 10 yılı aşması durumunda miyelofibroz gelişimi için relatif risk 15,2 olarak gösterilmektedir.<sup>67</sup>

### 2.2.6. Tedavi

PV'de tedavi uygulanırken hastanın semptomlarının ortadan kaldırılması, uzun dönem komplikasyonların (trombotik olaylar, kanama, miyelofibroz, akut lösemi ve diğer maligniteler) önlenmesi amaçlanır.<sup>69</sup> Uygulanacak miyelosupresif tedavide ilk hedef, trombotik komplikasyonları önünü almak ve flebotomi ihtiyacının ortadan kaldırmak olmalıdır. Flebotomi hiperviskoziteyi azaltmak amacıyla aralıklı olarak kullanılabilir ancak tek başına flebotominin trombotik komplikasyonlardan yeterince korumadığı görülmüştür.<sup>28</sup> Bunun yanında radyoaktif fosfor ( $^{32}\text{P}$ ) ve busulfan gibi miyelosupresif ilaç kullanımı uzun dönemde lösemik dönüşüm ve miyelofibroz gelişimi riskini artırmaktadır. PVSG verilerine göre flebotomi ile tedavi edilen hastalarda AML gelişimi % 1,5 iken, flebotominin  $^{32}\text{P}$  ile kombine edildiği grupta % 10 ve busulfan kullanılan hastalarda % 13'dür. Hidroksiürenin kullanıma girmesinden sonra, lökomojenik etkileri nedeniyle, başta busulfan olmak üzere diğer miyelosupresiflerin kullanımı önerilmemektedir. Daha sonraki PVSG protokollerinde tromboz riskini azaltmak için flebotomi koluna aspirin ve dipiridamol eklenmiş, lökomojenik etkiyi azaltmak amacı ile diğer kolda hidroksiüre kullanılmıştır.<sup>28</sup>

Benzer bir çalışmada miyelosupresif ilaçlara karşın, flebotomi ile birlikte yüksek doz aspirin ve dipiridamol kombinasyonu mukayese edilmiş ve özellikle trombosit sayısı  $930.000/\mu\text{L}$  ve üzerinde olanlarda ciddi hemorajik komplikasyonlar gelişmiştir.<sup>70</sup> PV'de düşük doz aspirinin (40-81 mg/gün) güvenli ve trombozdan koruyucu olduğu görülmüştür.<sup>71</sup>

**Flebotomi:** PVSG tedavi önerilerine göre hematokrit seviyesini erkekler için % 45, kadınlar için ise % 42 seviyelerinin altında tutacak şekilde flebotomi sıklığı ayarlanmalıdır.<sup>72</sup> Miyelosupresif tedavi aralıklı flebotomi ile kombine edilebilir. Flebotomi uygulamaları demir eksikliğini beraberinde getirir ancak demir desteği verilmemelidir.<sup>28</sup>

**Hidroksiüre:** Yapılan çalışmalarda hidroksiüre tedavisi ile trombosit sayısı  $600 \times 10^3/\mu\text{L}$  ve hematokrit % 50 sınırının altında tutulduğunda ve sadece aralıklı flebotomi uygulanarak izlenen hastalarla mukayesesi yapıldığında tromboz sıklığında anlamlı azalma görülmüş, bununla birlikte hidroksiüre kullanılan grupta izlenen akut lösemi sıklığındaki artış ise istatistiksel anlama ulaşmamıştır.<sup>73,28</sup> Bu çalışmalar için hidroksiüre dozu ilk haftada 30 mg/kg/gün ve idamede 15 mg/kg/gün olarak ayarlanmıştır. Günümüzde PV'nin standart tedavisi olarak trombotik olay açısından yüksek riskli gruptaki tüm hastalara (70 yaş ve üzeri, tromboz öyküsü olması, kardiyovasküler risk faktörlerinin bulunması ve trombosit sayısının 1,5 milyon/mikroL değerinin üzerinde olması) flebotomi uygulamaları ile birlikte 15-20 mg/kg/gün po. dozlarında hidroksiüre verilir.<sup>28</sup>

**Anagrelid:** Anagrelid megakaryosit gelişiminin postmitotik safhalarını inhibe eden kinazolin türevi trombositopenik bir ilaçtır. 2 mg/gün (0.5 mg po., 6 saatte bir) dozunda ET hastaları ve trombositopeninin kontrol edilemediği PV olgularında kullanılabilir. PV'de anagrelid tedavisi diğer tedavi yöntemlerine (flebotomi ve hidroksiüre desteği) yanıt vermeyen olgular için önerilmektedir. Özellikle yaşlı ve bilinen kardiyak hastalık öyküsü bulunanlarda dikkatli olunmalıdır.<sup>74</sup>

Uygun sitoredüktif tedavi PV ve ET'de sadece trombotik değil, aynı zamanda hemorajik komplikasyonların da önlenmesine yardımcı olur<sup>28</sup>. Trombosit sayıları 1 milyon/ $\mu\text{L}$  değerinin üzerinde olan hastalar için günde 100 mg'dan fazla aspirin kullanımının kanama riskini artırdığı görülmüştür<sup>75</sup>. Bunun başlıca nedeni trombosit sayılarının çok yükseldiği durumlarda gelişebilen kazanılmış von Willebrand hastalığıdır. Her iki hastalık için de trombosit sayısının 600,000/ $\mu\text{L}$  seviyesinin altında tutulması uygundur. PV'de majör kanama öyküsü ya da intolerans nedeniyle kontraendike olmadığı sürece tüm hastalara düşük dozda (75-100 mg/gün) aspirin kullanımı önerilmektedir.<sup>71</sup> Bundan daha yüksek olan dozlardan kaçınılmalıdır.

**Eritromelalji:** PV ve ET hastalarında el ve ayaklarda kızarıklık ve morarmanın eşlik ettiği ağrı ve yanma hissi olarak tarif edilen vazodilatör, vazomotor bir bozukluk olan eritromelaljiyi, düşük doz aspirin (50-100 mg/gün) kullanımı ya da miyelosupresif tedavi ile trombosit sayısını 400,000/mikroL seviyesinin altına indirerek ortadan kaldırmak mümkündür.<sup>76</sup>

**İnterferon-alfa:** PV’de İnterferon-alfa (IFN- $\alpha$ ) (haftada 3 kez subkutan 3 milyon ünite) kullanımı ile eritrositozun başarılı bir şekilde kontrolü gösterilmiştir.<sup>77</sup> Diğer yandan hidroksiüre, IFN- $\alpha$  ile kıyaslandığında fiyat ve yan etki profili açısından oldukça avantajlıdır. IFN- $\alpha$  ile tedavi edilen hastalarda yan etkiler nedeniyle tedavinin biralıkması sık rastlanılan bir durumdur.<sup>77</sup> Benzer yan etki profili haftada bir kez uygulanan pegile interferon ile de ortaya çıkmaktadır.<sup>78</sup> IFN- $\alpha$  refrakter kaşıntı yakınması olan hastalar ve yüksek riskli gruptaki doğum yapabilecek kadın hastalar için uygun tedavi seçeneğidir.<sup>79</sup>

32P ve diğer alkilleyiciler lökomojenik etkileri nedeniyle tercih edilmeseler de, yaşam beklentisi 10 yıldan daha kısa olan refrakter hastalar için denenebilirler.<sup>80</sup>

Semptomatik hiperürisemisi veya idrar ile ürik asit atılımı 1100 mg/gün değerinden fazla olan hastalara ürik asit taşları oluşumunu önlemek için 300 mg/gün dozunda allopurinol verilir. Gut öyküsü olan hastalara ise uygun profilaksi olmadan allopurinol başlanması uygun değildir.<sup>28</sup>

Hipertansiyon PV’ye sıklıkla eşlik eder. Flebotomi uygulamaları ile hipertansiyon önlenemez ise, gerekli medikal müdahalelere başvurulur. Miyelosupresif tedavi ve flebotomi uygulamalarına rağmen tromboz gelişmesi durumunda ise hastalara uygun doz yoğunluğunda antikoagülan tedavi başlanır.<sup>28</sup>

## **2.3. Esansiyel Trombositemi**

### **2.3.1. Epidemiyoloji**

Esansiyel trombositemi (ET), reaktif trombositoz (RT) ve kronik miyeloid bozuklukların varlığının dışlanması ile doğrulanabilir bir tanıdır.<sup>12</sup>

Gerek trombopoietinin (TPO), gerek trombopoietin reseptörünün (c-Mpl) ET patogenezinin katkısı gösterilebilmiş değildir.<sup>81</sup> Buna karşın ailesel otozomal dominant ET’de TPO veya c-Mpl genlerindeki aktive edici mutasyonlar TPO ilişkili trombositozu

neden olmaktadır.<sup>13</sup> ET hastalarında serum TPO seviyeleri beklenmedik şekilde normal veya yüksek izlenmiştir.<sup>82</sup> Kemik iliğindeki stromal üretim artışının bu durumu açıklık getirebilmesi olasıdır.<sup>83</sup> Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzim temelli çalışmalar ET'nin tıpkı PV gibi klonal bir hastalık olduğunu göstermiştir.<sup>11</sup> Buna rağmen X kromozomuna bağlı klonalite çalışmalarında yaşlı kadın hastaların yarısında monoklonal hematopoez, yarısında ise poliklonal hematopoez saptanmıştır.<sup>12</sup>

Epidemiyolojik çalışmalarda ET'nin yıllık insidansı 100,000 popülasyonda 2,5 yeni vaka olarak saptamıştır.<sup>84</sup> Ortalama tanı yaşı 60 olup kadın hastaların sayısı erkek olanlardan yaklaşık iki kat daha fazladır.<sup>85</sup> On yıllık sağ kalım süresi % 61-84 olarak belirtilmiştir ki bu da normal veya normale yakın bir yaşam beklentisi demektir.<sup>86,87</sup>

### 2.3.2. Tanı

ET diğer kronik miyeloproliferatif bozukluklardan farklı olacak şekilde bir dışlama teşhisi olarak dikkati çeker. Öyle ki reaktif veya klonal bir nedeni bulunamayan persistan trombositoz varlığında ET'den bahsetmek mümkün olabilmektedir.<sup>12</sup> Bu anlamda, ET'den mutlaka ayırımı yapılması gereken durumlar KML, PV, PMF, MDS ve RT olarak sıralanabilir.<sup>12,13</sup>

ET tanısı için polistemia vera çalışma grubu (PVSG) tarafından oluşturulmuş ve modernize edilmiş tanısal kriterler mevcuttur ve tanı için bütün kriterlerin sağlanması gerekli görülmektedir.<sup>87,88</sup> Dünya sağlık örgütü (DSÖ) tarafından yayınlanan kriterler de benzer özellikler içermektedir.<sup>13,89</sup>

1. Platelet sayısının >450,000/ $\mu$ L olması ve sürekli yüksek seyretmesi
2. Kemik iliği aspirasyon veya biyopsisinde megakaryositik hiperplazi
3. Rutin sitogenetik çalışmada Ph kromozomunun, ya da sitogenetik olarak maskelenmiş KML olguları için BCR/ABL füzyon geni bulunmaması
4. Enfeksiyon, enflamasyon ve diğer reaktif trombositoz nedenlerinin bulunmaması
5. MDS veya PMF için periferik kan, kemik iliği ve karyotipik kanıtların bulunmaması
6. Demir depolarının normal olması (normal serum ferritin değeri ve ortalama kırmızı hücre hacminin (MCV) normal olması)
7. Kırmızı hücre kitlesinin normal olması

ET'de klonal sitogenetik anormalliklerin insiansı yaklaşık % 5'dir ve bu anormalliklerin hiçbirisi ET için tanısal özelliğe sahip değildir<sup>90</sup>. Periferik kandaki granulositlerde PRV-1 geni aşırı ekspresyonu PV ve ET'de için bildirilmiş olup, sekonder

eritrositozda ise gösterilmemiştir.<sup>91</sup> Serum TPO seviyeleri ise ET ve RT’de genellikle yüksek saptanacağından ayırım açısından kıymet oluşturmaz.<sup>82</sup>

### 2.3.3. Klinik Özellikler

ET hastalarının yaklaşık yarısı asemptomatik iken diğer yarısı vazomotor semptomlar veya trombohemorajik komplikasyonlar sergilemektedir. Vazomotor semptomlar; baş ağrısı, baş dönmesi, senkop, atipik göğüs ağrısı, akral paresteziler, livedo retikularis, eritromelalji ve geçici vizuel bozukluklar olarak sayılabilir.<sup>87,13</sup>.

ET’de trombosit sayısı artışı ve buna eşlik eden kalitatif trombosit bozuklukları tromboz veya kanama komplikasyonlarına neden olur.<sup>92</sup>

ET’de miyeloid metaplazili myelofibroza ve polistemia veraya dönüşebilir.<sup>87</sup> PMF’ye dönüşüm insidansı daha yüksektir.<sup>88,93</sup> AML’ye dönüşüm de olasıdır. Retrospektif çalışmalarda 3-7 yıllık izlemde % 0,6-5 oranında lösemik dönüşüm rapor edilmiştir.<sup>88,93,13</sup>. Bu hastaların büyük çoğunluğunda birden fazla ajanla sitoredüktif tedavi uygulanma öyküsü dikkati çekmektedir.<sup>88</sup>

ET’nin en önemli fizik muayene bulgusu hastaların % 25-48’inde saptanan palpabl splenomegalidir.<sup>13</sup>. PMF’ye dönüşüm durumunda ise splenomegali kaçınılmazdır. Hepatomegali ve lenfadenopati nadir bulgulardır.<sup>87</sup>

### 2.3.4. JAK2 Mutasyonları

Yapılan araştırmalar ET tanılı hastaların yaklaşık % 50 kadarında JAK2 V617F mutasyonunun varlığını ortaya koymuştur.<sup>92,94,16</sup> Trombositozu olan bir olguda bu mutasyonun gösterilmesi miyeloproliferatif bozukluk ilişkili trombositoz ile reaktif trombositozun (RT) ayırımı için oldukça değerli bir veri olmakla birlikte ET, PV ve PMF arasındaki bir ayırımı katkıda bulunamaz.<sup>8</sup>

Bu mutasyonun varlığı ile ET’nin klinik seyri ve laboratuvar bulguları arasında çok net bir ilişki gösterilebilmiş değildir.<sup>16,13</sup> Bir klinik çalışmada JAK2 mutasyonu gösteren ET hastalarında beyaz küre, hemoglobin seviyeleri ve PV’ye dönüşüm insidansı daha yüksek oranda saptanırken, platelet sayımları daha düşük saptanmıştır.<sup>81</sup> Bir başka çalışmada mutasyonu gösteren ET hastalarında daha yüksek hemoglobin seviyeleri ve tromboz insidansı izlenmiştir.<sup>35</sup> Yine benzer bir çalışmada ise mutasyonu gösteren ET olgularında artmış tromboz insidansı ile birlikte yalnızca WBC sayımlarındaki artış dikkati çekmektedir.<sup>83</sup>

### 2.3.5. Prognoz

ET tanısı olan hastaların çoğu hastalık ilişkili komplikasyonlar olmaksızın normal bir yaşam beklentisine sahiptir.<sup>86,96</sup> AML veya miyelofibroz gelişimi nadir bir durumdur<sup>85</sup>. Örneğin 435 hastanın dahil edildiği retrospektif bir çalışmada ET’de tromboz gelişimi ve AML veya PMF’ye klonal dönüşüm için 15 yıllık kümülatif risk oranları sırası ile % 17, % 2 ve % 4 olarak bulunmuştur.<sup>81</sup> Sağkalım değerlendirmesinin yapıldığı bir çalışmada ET tanısı olan 605 hasta 7 yıl süre ile takip edilmiştir. Bu süre zarfındaki mortalite oranı % 26 olup, lösemik dönüşüm için risk faktörleri; düşük hemoglobin seviyesi, ileri yaş, lökositoz, sigara kullanımı, diyabetes mellitus ve venöz tromboz öyküsü olarak saptanmıştır.<sup>94</sup> Bunlar içinde ileri yaş ve lökositoz en belirleyici olanlarıdır. Bu çalışmada sitoredüktif tedavi kullanımı ve JAK2 mutasyonu varlığı lösemik dönüşüm riskini etkilememiştir.

ET için trombotik komplikasyonlar hemorajik komplikasyonlardan çok daha önemlidir. Vaka-kontrol tasarımlı bir çalışmada trombotik olaylar ET hastalarında % 6,6/hasta-yıl, kontrol grubunda ise % 1,2/hasta-yıl olarak saptanmıştır.<sup>97</sup> Bu hasta grubunda tromboz için risk faktörleri 60 yaşın üzerinde olmak, tromboz öyküsü ve uzun süreli trombositozdur. Hastalığın tüm klinik seyri sırasında majör kanama gelişimi % 5’in altındadır ve trombosit sayıları 1 milyon/ $\mu$ L’nin altında seyrettiği sürece düşük doz aspirin (81 mg/gün) kullanımı bu riski artırmamaktadır.<sup>85,97,98</sup> Lökositozun trombotik komplikasyonlar için bağımsız bir risk faktörü olduğu da vurgulanmaktadır.<sup>99</sup> Bu bilgilerin ışığında ET hastaları tromboz ve hemoraji açısından düşük, orta ve yüksek riskli olmak üzere üç grupta sınıflandırılabilir.<sup>98</sup>

Hastanın düşük riskli olarak tanımlanması için aşağıdaki özelliklerin tamamına sahip olması gerekmektedir.

1. Tanı anında 60 yaşın altında olmak
2. Tromboz öyküsünün olmaması
3. Platelet sayısının 1 milyon/ $\mu$ L’nin altında olması

ET hastaları aşağıdaki özelliklerden en az bir tanesine sahip ise, yüksek riskli olarak değerlendirilirler.

1. Tanı anında 60 veya daha büyük yaşta olmak
2. Tromboz öyküsünün bulunması

Yüksek ve düşük risk gruplarına dahil olmayan hastalar ise, orta riskli olarak sınıflandırılır.

ET hastalarının büyük çoğunluğu normal bir yaşam beklentisine sahiptir. Bununla birlikte, oluşabilecek bazı komplikasyonlar tedavi endikasyonu oluşturur<sup>13</sup>. En sık vazomotor komplikasyonlar görülür ve bunların çoğu düşük doz aspirin (40-81 mg/gün PO) kullanımı ile kontrol altına alınabilir.<sup>100</sup> ET hastalarının % 20 kadarının trombotik olaylar ile prezente olduğunu göstermektedir.<sup>100,101</sup> Düşük risk grubundaki hastalarda trombotik olaylarla çok nadiren karşılaşılır, bu nedenle potansiyel zararları bulunan ilaçların kullanımı sakıncalı görülmektedir.<sup>101</sup>

### 2.3.6. Tedavi

ET için düşük doz aspirin (75-325 mg/gün) kullanımının sitoredüktif tedavi altında olmayan hastalarda trombotik komplikasyonları azalttığı ve vazomotor komplikasyonları (eritromelalji, paresteziler) önlediği gösterilmiştir.<sup>176,13</sup>

**Hidroksiüre:** ET’de yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. ET için başlangıç dozu 15 mg/kg/gün PO’dur ve bölünmüş dozlar halinde uygulanır. Daha sonra anemi ve nötropeni gibi yan etkilerden kaçınacak şekilde platelet sayısını 100,000-400,000/ $\mu$ L aralığında tutabilecek bir doz ile idame edilir.<sup>85,13</sup>

**Anagrelid:** İnsanlarda trombosit sayısını azaltıcı etkisi de bulunan, trombosit anti-siklik AMP fosfodiesteraz aktivitesi sayesinde trombosit agregasyonunu inhibe eden bir oral imidazokinazolin türevidir.<sup>103</sup> Anagrelid için başlangıç dozu günde 1,5 mg (3 bölünmüş doz halinde) olup, 1-4 mg/gün dozlarda idame yapılır.<sup>74,13</sup>

Başta KML olmak üzere tüm kronik myeloproliferatif hastalıkların kontrolü için etkinliği bulunan IFN- $\alpha$  yüksek fiyatı ve yan etki profili nedeniyle ilk tercih olmaktan uzaktır. Bununla birlikte gebelerde sitoredüktif ilaçların kullanımı sakıncalı olacağından tedavi gerektiren durumlarda interferon tercih edilir.<sup>13</sup>

## 2.4. Primer Miyelofibrozis

### 2.4.1. Epidemiyoloji

Primer miyelofibrozis (eski adı ile agnojenik miyeloid metaplazi) DSÖ tarafından kronik idiyopatik miyelofibrozis olarak isimlendirilmiştir.<sup>104</sup> Primer miyelofibrozis (PMF) miyeloid hücrelerin değişken morfolojik maturasyonu ve klonal proliferasyonu ile karakterize bir myeloproliferatif bozukluktur (MPB).<sup>105,15</sup>

PMF MPB'ler arasında en nadir rastlanılanı olup, Minnesota'da yapılan bir çalışmada sıklığı 100,000'de 1,5 vaka/yıl olarak bildirilmiştir. Genellikle orta yaş üzeri erkeklerde görülen bir hastalıktır.<sup>15</sup> Yaklaşık olarak 40 yaş öncesi tanı alanlar hastaların %5'ini, 50 yaş öncesi tanı alanlar ise %17'sini oluşturur.<sup>106</sup>

#### 2.4.2. Tanı

PMF tanısında fibrozisin gösterilmesi ve malignitenin dışlanması için kemik iliği biyopsisi yapılmalıdır<sup>15</sup>. Biyopsi ile kemik iliğindeki fibrozis gösterildikten sonra PMF tanısının doğrulanması için kemik iliği fibrozisine yol açabilecek ikincil nedenler dışlanmalıdır. Bu nedenler arasında kronik miyeloproliferatif hastalıklar, MDS, akut lösemiler, lenfoid hastalıklar, metastatik kanserler, bağ doku hastalıkları, enfeksiyonlar, D vitamini eksikliği sayılabilir.<sup>18</sup>

PMF tanısal kriterleri (İtalyan Konsensüs Konferans) aşağıda verilmiştir<sup>107,15</sup>.

Majör kriterler:

1. Diffüz kemik iliği fibrozisi
2. Ph kromozomunun veya BCR/ABL füzyon proteininin bulunmaması
3. Splenomegali

Minör Kriterler:

1. Gözyaşı hücrelerinin bulunduğu anizopoikilositoz
2. Dolaşımda immatür miyeloid hücrelerin olması
3. Dolaşımda eritroblastların olması (çekirdekli kırmızı kan hücreleri)
4. Kemik iliğinde megakaryosit kümeleri ve anormal megakaryositlerin bulunması
5. Miyeloid metaplazi varlığı

Tanı için üç majör kriter ile birlikte en az iki minör kriterin veya ilk iki majör kriter ile birlikte en az dört minör kriterin mevcudiyeti gereklidir.

PMF için kesin tanısal kriterlerin belirlenmesi kolay olmasa da DSÖ'nün önerdiği kriterler güncel olandır<sup>16</sup>. PMF tanısı için üç majör kriterin hepsinin bulunması ve bunun yanına en az iki adet minör kriterin eklenebilmesi öngörülmektedir.

Majör kriterler:

1. Megakaryosit proliferasyonu ve atipi varlığı
2. PV, KML, MDS, ET, için DSÖ kriterlerinin karşılanmaması
3. Klonal bir markerın gösterilmemesi (JAK2 veya MPL)

Minör kriterler:

1. Lökoeitroblastozis
2. Palpabl splenomegli
3. Anemi
4. Serum LDH seviyesinde artış.

### 2.4.3. Klinik Özellikler

PMF’de en sık rastlanan semptom hastaların % 50-70’inde görülen şiddetli halsizliktir<sup>106,108</sup>. Olguların % 25-30 kadarı asemptomatiktir. Bazı hastalar ise (%5-20), kilo kaybı, ateş ve gece terlemesi gibi hipermetabolik duruma işaret eden semptomlara sahiptir<sup>108,15</sup>. Asemptomatik olgular genellikle splenomegali, hepatomegali veya anormal kan sayımı nedeniyle incelenirken tanı almaktadır. PMF’deki karaciğer ve dalak büyümesine ekstramedüller hematopoez yol açar.<sup>15</sup>

Splenomegali PMF’nin en önemli klinik bulgusu olarak karşımıza çıkar ve hastaların % 90’dan fazlasında mevcuttur.<sup>106</sup> Dalak bazı olgularda pelvik bölgeye kadar uzanım gösterecek oranda büyüyebilir, dalağın sağ kenarı orta hattı karşıya geçebilir. Splenomegali splanknik akım artışına, ekstramedüller hematopoez ise intrahepatik obstruksiyona neden olarak portal hipertansiyona yol açabilir. Assit, özofageal ve gastrik varisler, gastrointestinal kanama, hepatik ensefalopati ve portal venöz tromboz portal hipertansiyonun komplikasyonları olarak sayılabilir. Hepatomegali ise hastaların % 40-70’inde mevcuttur.<sup>15</sup>

PMF’de hemen her organda ekstramedüller hematopoez odakları gelişebilir.<sup>15</sup> Organ tutulumları, splenomegali, hepatomegali, lenfadenopati, plevral, perikardiyal veya abdominal efüzyonlar veya dizüri ve solunum sıkıntısı gibi semptom ve bulgulara yol açan genitoüriner ve akciğer tutulumları şeklinde olabilmektedir.<sup>109</sup> Merkezi sinir sistemi tutulması durumunda intrakraniyal basınç artışı ve sensorimotor kayıplar gelişmesi olasıdır.<sup>15</sup> Cilt tutulumu ise eritematöz plaklar, nodüller, ülser ve büller şeklinde izlenebilen nadir bir tablodur.<sup>110</sup>

PMF’ye iskelet sistemi değişiklikleri eşlik edebilir. Bu bozukluklar asemptomatik olabileceği gibi, ağrılı kemik ve eklem tutulumları, özellikle de alt ekstremitelerde ağrı, hassasiyet, ısı artışı semptomları bulunabilir. Osteoskleroz radyografilerde difüz veya yama tarzında dansite artışı şeklindedir. Metastatik karsinom ile karışabilen görünümeler olabilmektedir. Periostit hastayı yatağa bağımlı hale getirebilecek kemik ağrılarına yol

açabilir<sup>15</sup>. Ürik asitin aşırı üretimine bağlı gelişen gut akut monoartiküler ya da kronik poliartriküler artrite neden olabilir.<sup>15</sup>

Anemi PMF'nin en önemli laboratuvar bulgusu olarak ortaya çıkar. Hastaların yaklaşık yarısında hemoglobin 10g/dl'nin altındadır.<sup>106</sup> Anemi sebepleri arasında; kemik iliğindeki eritropoietik alanların azalması, inefektif eritropoez, dolaşımdaki eritrositlerin dalaktaki sekestrasyonu, trombositopeniye veya portal hipertansiyona bağlı gelişen kanamalar, otoimmün hemoliz, dilusyonel anemi, trombopoietin mutasyonlarının (MPL) etkisi gibi durumlar sayılabilir.<sup>111</sup> Anemi başlangıcından sonra hastaların birçoğunda tekrarlayan eritrosit transfüzyonlarına gereksinim ortaya çıkar. Periferik kan yaymasında anizositoz, poikilositoz, göz yaşı hücreleri (dakrositler) görülmektedir.<sup>15</sup>

PMF'de tanı anında belirgin lökositoz (>30,000/ $\mu$ L) ve trombositoz (platelet sayısı >500,000/ $\mu$ L) olabileceği gibi, lökopeni ve trombositopeni de görülebilir.<sup>106</sup> Lökoeitroblastik kan tablosuna bağlı olarak nötrofilik serinin immatür hücreleri periferik yaymada izlenir. Miyeloblast sayısı genellikle toplam lökosit sayısının % 5'inden azdır. Hastalığın progresyonu ile trombositopeni belirginleşir. Platelet fonksiyon bozuklukluğu olabilir ancak genellikle kanamaya yol açmaz.<sup>15</sup>

Tedavi altında olmayan hastalar için PMF'nin diğer Ph negatif kronik MPB'lerden ayırımında CD34+ hücre sayımı %98 pozitif prediktif değere ve % 85 negatif prediktif değere sahip olduğu gösterilmiştir. Hastalık şiddeti ile birlikte CD34 sayılarının da arttığı, CD34 sayımı 300 hücre/ $\mu$ L'den fazla olan hastalarda ortalama sağ kalım ve blast krizine gidiş süresinin kısaldığı saptanmıştır.<sup>112</sup>

Kemik iliği fibrozu hastalığının temel özelliği olsa da kemik iliği yaygın fibrotik değişim göstermeyebilir. Kemik iliği değerlendirilmesi direkt aspirasyon, biopsi yöntemi ile olabileceği gibi, manyetik rezonans görüntüleme (MRI) veya sintigrafik inceleme ile de yapılabilir. PMF'de kemik iliğini aspire etmek oldukça güçtür ve işlem genellikle "dry tap" ile sonuçlanır. Aspirasyon yapılabilse dahi vereceği sonuçlar tanısal olmayabilir. En sık karşılaşılan bulgular nötrofilik ve megakaryositik hiperplazi şeklindedir. Megakaryositlerde morfolojik bozukluklar, nötrofillerde hiperlobulasyon görülür.<sup>15</sup>

Kemik iliği biopsisi fibrozisin gösterilmesi için gereklidir. Fibroz atipik megakaryositik hiperplazi ile ilişkilidir. Retikülin lifler gümüş boyamaya, matür kollagen trikrom boyamdan daha çok yanıt verir. Kemik iliği sinuzoidleri genişlemiştir ve intravasküler hematopoiezis mevcuttur. Kemik trabeküler yapısında düzensizlik ve

kalınlaşma (osteosklerozis) meydana gelir. Bazı hastalarda kemik iliği incelemesi fibrozis olmaksızın belirgin hipersellüler yapı gösterir.<sup>15</sup>

Akut lösemi daha önce alkileyici ajanlar veya radyasyon ile tedavi uygulanmamış PMF hastalarının çok az bir kısmında gelişen terminal bir komplikasyondur. Lösemik dönüşümlerin hemen tamamı miyeloid olsa da nadiren lenfoid, eritroid, megakaryositik dönüşümler olabilmektedir. Lösemik blastların fokal odaklar oluşturması da (kloroma veya granulositik sarkom) mümkündür.<sup>113</sup>

#### 2.4.4. JAK2 Mutasyonları

Birçok yayında PMF hastalarının % 40-50'sinde JAK2 gen mutasyonu gösterilmiştir.<sup>37,16,15</sup> PMF'de mutasyon varlığının ve allel yükünün, klinik özellikler, toplam sağ kalım ve lösemik dönüşüm ile ne derecede ilişkili olduğu henüz tam olarak ortaya konamamıştır.<sup>16,15</sup> Mutasyonun varlığı veya yokluğunun gösterilmesi PMF'nin PV veya ET ile olan ayırıcı teşhisine pek katkı yapamasa da tedavi sonrası minimal rezidüel hastalığın saptanmasına faydalı olabilir.<sup>8</sup>

#### 2.4.5. Prognoz

PMF hastalarının çoğu anemi, belirgin splenomegali, erken doyma halsizlik, ateş, gece terlemesi ve kilo kaybı gibi hiperkatabolik semptomlarla başvurur. Klinik seyirde hastaların çoğunda sık eritrosit transfüzyonu gerektiren şiddetli anemi ortaya çıkar. Gerek masif splenomegali, gerekse intrahepatik obstruksiyona bağlı portal hipertansiyon gelişebilir. Bazı hastalarda spinal kolon etrafında, plevral ve peritoneal alanda ekstramedüller hematopoiez gelişimi kord basısı, plörezi ve assite yol açabilir.<sup>15</sup>

Epidemiyolojik bir çalışmada üç yıllık sağ kalım oranı % 52 olarak saptanmıştır.<sup>80</sup> Sağ kalımı azaltan risk faktörleri, ileri yaş (>60 yıl), hepatomegali, kilo kaybı, anemi (hemoglobin < 10 g/dl), lökositoz (>30.000/μL), lökopeni (<4000/μL), dolaşımdaki blastların artışı (>% 2), trombositopeni (< 150.000/μL) ve anormal karyotip olarak saptanırken, splenomegali ve kemik iliğindeki fibrozis derecesinin sağ kalımı olumsuz etkilediği görülmemiştir.<sup>114,80</sup>

Bu bulgulara göre; aşağıdaki iki risk faktörüne de sahip olan hastalar lösemik dönüşüm, tromboz ve kanama açılarından yüksek riskli, bir risk faktörü olanlar orta riskli ve risk faktörü bulunmayanlar ise düşük riskli kabul edilirler.<sup>115,114</sup>

1. Serum hemoglobin değeri <10 g/dl
2. lökositoz (> 30.000/μL) veya lökopeni (< 4000/μL) varlığı

#### 2.4.6. Tedavi

Günümüzde PMF için küratif potansiyeli olan tek tedavi modalitesi allojenik hematopoietik kök hücre naklidir (allo-HKHN). Diğer faydalı tedavi uygulamaları ise androjenler, kemoterapi, hidroksiüre, anegralide, splenektomi, dalağa radyasyon tedavisi uygulaması ve talidomidir.<sup>15</sup>

### 2.5. Kronik Miyelositer Lösemi

#### 2.5.1. Epidemiyoloji ve Klinik Özellikler

Kronik miyelositer lösemi (KML) hematopoietik öncü bir hücrenin neoplastik dönüşümü ile ortaya çıkan klonal miyeloproliferatif bir hastalık olup, başta miyeloid ve monositik olmak üzere, eritroid, megakaryositik, B-lenfositler ve nadiren de T-lenfositler serileri etkilemektedir.<sup>116,117</sup>

KML yaklaşık olarak tüm lösemi vakalarının % 15'ini oluşturmaktadır. Hastalık sıklığı ve mortalitesi yaş ile artış gösterir. 20 yaşın altındaki vakalar tüm hastaların % 10'dan azını oluşturur. Erkek cinsiyette kadınlara oranla 1,5 kat daha fazla izlense de, hastalık seyri her iki cins için farklı değildir. İdentik ikizler için hastalığın konkordansı yoktur.<sup>117,118</sup>

KML'ye özgü olan kromozomal anormallik Ph kromozomu olarak anılmaktadır. 9 ve 22 no'lu kromozomların uzun kolları arasındaki parça değişimi sonucunda t(9;22) (q34;q11) oluşan bu bozukluk tüm olguların % 90-95'inde izlenir.<sup>117</sup> Translokasyon BCR/ABL füzyon genini ortaya çıkarır. % 10 civarındaki Ph-negatif olgunun yarıya yakınında ise BCR/ABL füzyon geni moleküler incelemelerle saptanabilmektedir.<sup>119</sup> Hem Ph kromozomu, hem de BCR/ABL negatif olanlar ise oldukça nadir, atipik ve kötü prognoza sahip vakalardır.<sup>118</sup>

KML kronik, akselere ve blastik olmak üzere 3 klinik faza ayrılır. Olguların büyük çoğunluğu (>% 85) kronik fazda tanı almaktadır.<sup>117</sup> Hastaların yaklaşık % 30'u tanı anında asemptomatik olup, rutin medikal incelemeler sırasında rastlantısal olarak saptanmaktadırlar. Semptomatik hasta grubunda ise yakınmalar spesifik olmayıp, yavaş gelişim göstermektedir. Halsizlik, yorgunluk, iştahsızlık, dalak büyümesine bağlı abdominal rahatsızlık ve erken doyma hissi, metabolizma artışına bağlı gece terlemesi ve kilo kaybı, hiperürisemiye bağlı akut gut artriti, lökosit sayısının aşırı artması ve lökostatiz sonucu tinnitus, stupor ve priapizm, dalak enfarktı ve perisplenite bağlı sol üst kadranda ve sol omuz ağrısı, nötrofillerin dermisteki perivasküler infiltrasyonuna bağlı akut febril

nötrofilik dermatoz (sweet sendromu), hiperhistaminemiye bağı akne ve ürtiker, vazopressine yanıtı diyabetes insibitus karşılaşılabilen semptomlardır. Hastaların % 90'ında görülen splenomegali dışında dikkat çeken fizik muayene bulguları ise palor ve sternal hassasiyettir.<sup>118</sup>

### 2.5.2. Prognoz ve Tedavi

Geçmişte KML'nin ortalama sağ kalım süresi 3-4 yıl arasında değişmekte iken, imatinib ve diğer yeni tirozin kinaz inhibitörlerinin kullanıma girmesinden sonra hastaların çoğunun 4 yıldan fazla süre remisyonunda kaldığı gözlenmiştir. Bu nedenle sağ kalım süresine yönelik araştırmalar devam etmektedir. Ancak KML'nin kesin tedavisi halen allo-HKHN ile mümkündür.<sup>118</sup>

Hiperürisemi ve hiperürikozüri KML'nin tanı ve relaps durumlarında sık rastlanılan bulgulardır. Aşırı hücre yıkımı öngören durumlar varlığında (yüksek lökosit sayısı, belirgin splenomegali) kemoterapi öncesi 300mg/gün allopurinol ve uygun hidrasyon sağlanmalıdır. Allopurinol alerjik deri reaksiyonları ile ilişkili olduğundan, yüksek lökosit sayısı ve dalak büyüklüğü ortadan kalkınca ilaç kesilmelidir. Şiddetli hiperürisemi durumunda ise sodyum bikarbonat ile idrar alkalinizasyonu ve ürik asiti allantoina dönüştüren, rekombinant bir ürikaz olan rasburikaz kullanılabilir.<sup>118</sup>

KML tedavisi, geçmişte allo-HKHN, interferon temelli rejimler ve hidroksiüre, busulfan gibi diğer konvansiyonel kemoterapiler şeklinde iken, bir BCR-ABL tirozin kinaz inhibitörü olan imatinib mesilatın kullanıma girmesi ile tamamen değişim göstermiştir. Günümüzde imatinib, kronik fazdaki tüm KML olgularının başlangıç sitoredüksiyon tedavisidir. Beyaz küre sayılarının çok belirgin olduğu vakalarda imatinib öncesinde veya eş zamanlı olarak hidroksiüre kullanılabilir. Hiperlökositik sendrom belirtileri nedeniyle hızlı sitoredüksiyon gerekli ise hidroksiüre lökoaferez ile kombine edilebilir.<sup>118</sup>

### 2.6. Mast Hücreli Lösemi

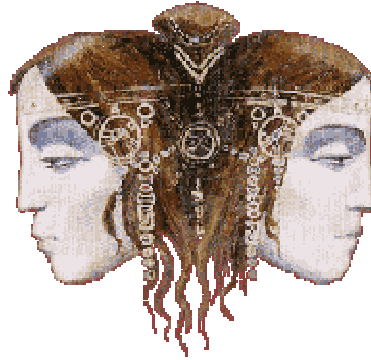
Mast hücreli lösemi (MHL), AML'nin agresif bir alt tipidir. Genellikle de novo bir hastalık olmakla birlikte, KML'den, ya da sistemik mastositozdan dönüşüm ile de ortaya çıkabilir. MHL tanısı için DSÖ kriterlerine göre kemik iliğinde % 20 ve periferik kanda % 10 veya daha fazla neoplastik mast hücresinin bulunması gereklidir.<sup>120</sup> MHL'de sık karşılaşılan semptom ve bulgular; ateş, baş ağrısı, gövde ve yüzde kızarma, hepatomegali, splenomegali, karın ağrısı, kemik ağrıları ve peptik ülserdir. Semptomların

büyük bir kısmı neoplastik mast hücrelerinden aşırı miktarda salınan histamin ile ilişkilidir.<sup>121,122</sup> MHL hücreleri alfa-naftil kloroasetat esteraz ile pozitif, peroksidaz negatif boyanan metakromatik granüller ihtiva eder.<sup>121</sup> Hücreler CD13, CD33, CD68, CD11b, CD25, CD123 gibi tümör belirteçleri için kuvvetli pozitiflik sergiler.<sup>123,122</sup> Serum triptaz aktivitesi belirgin olarak artmıştır. Kemik iliğinde histidin dekarboksilaz aktivitesi ölçümü de oldukça duyarlıdır.<sup>120,121</sup> MHL oldukça agresif seyirli bir hastalıktır. Tedavi edilemeyen olgularda tanı sonrası ortalama sağ kalım süresi 6 ay civarındadır.<sup>120,122</sup> Tedavi seçenekleri arasında kemoterapi, immunoterapi (anti-IgE) ve splenektomi sayılabilir.<sup>121</sup>

## 2.7. Janus Kinaz ve Sinyal İletimi

**Janus Kinaz:** Janus kinaz (JAK) ailesi, JAK-STAT yolağı ile, sitokin aracılıklı sinyallerin dönüşümünü sağlayan bir grup (hücre içi reseptör olmayan) tirozin kinaza verilen isimdir. Bu yolaktaki transkripsiyon faktörleri ise STAT'lar (Signal Transducers and Activators of Transcription) olarak bilinir.<sup>124</sup>

JAK'ların yapısında birbiri ile neredeyse aynı, iki adet fosfat transfer edici bölge (domain) vardır. Bu iki domainden bir tanesi kinaz aktivitesi sergilerken, ikincisi ise bu kinaz aktivitesini negatif yönde regüle eder.<sup>125</sup> Janus kinazlar bu iki domainli yapıları nedeniyle eski Roma'da kapıların ve başlangıçların tanrısı olan iki suratlı Janus'dan esinlenerek isimlendirilmiştir (Şekil 2).<sup>125</sup>

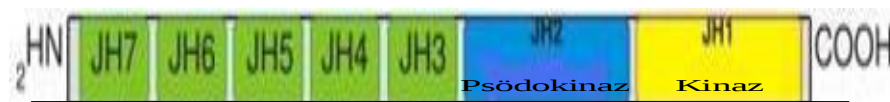


**Şekil 2.** Janus; Mitolojik Roma Tanrısı. Kapılardan giriş ve çıkışları, başlangıç ve bitişleri sembolize eden iki farklı yüzü bulunmaktadır. Yeni senenin başlangıcını simgelemek amacıyla senenin ilk ayı Janus'tan esinlenerek isimlendirilmiştir "January" (eski Roma dilinde *Ianuarius*, Etrüskçe'si *jauna*; kapı anlamına gelmektedir).<sup>126</sup>

JAK ailesi, JAK1, JAK2, JAK3 ve Tirozin kinaz 2 (TYK2) olmak üzere dört üyeden oluşur. JAK1 ve JAK2 tip II interferon (IFN- $\gamma$ ) sinyal yolunda rol alırken, JAK1 ve TYK2 tip I IFN sinyallenmesi ile ilişkilidir<sup>127</sup>. TYK 2 “natural killer” fonksiyonlarına aracılık eder.<sup>128</sup>

Sonuç olarak tip I ve tip II sitokin reseptörleri katalitik kinaz aktivitesi sergilemezler. Bu reseptörler, fosforilasyon ve sinyal ileti yollarının ileri kademelerdeki proteinlerin aktivasyonu için JAK tirozin kinaz ailesine gereksinim duyarlar. Reseptörler hücre yüzeyinde polipeptid çiftleri şeklinde yer alır ve iki adet hücre içi sinyal dönüştürücü bölge ihtiva eder. Bu bölgelerin box1/box2 isimli, membrana yakın, prolinden zengin kesimleri JAK’larla etkileşim içerisinde.<sup>124</sup>

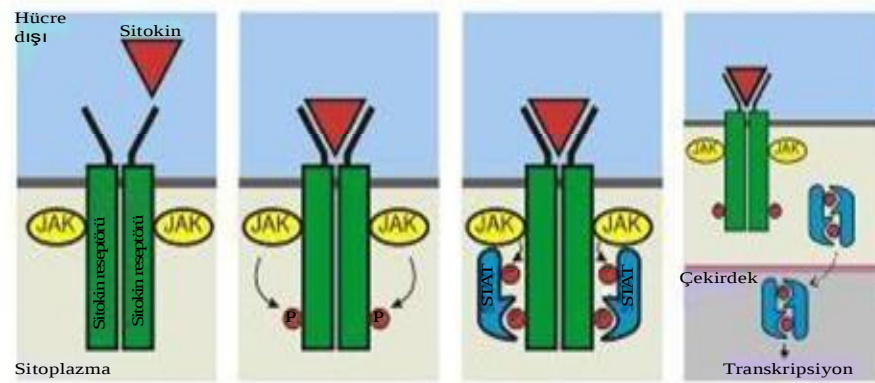
JAK’lar 120-140 kDa arasında değişen büyüklükte olup, Janus homoloji domain 1-7 (JH 1-7) olarak adlandırılan yedi bölge ihtiva ederler (Şekil 3). JH1 JAK’ın enzimatik aktivitesi için önemli olan kinaz domaini olup, JAK aktivasyonu için gerekli tirozinleri (örneğin; JAK1’de Y1038/Y1039, JAK2’de Y1007/Y1008, JAK3’de Y980/Y981 ve TYK2’de Y1054/Y1055) içerir. Dolayısıyla bir tirozin kinazın tipik özelliklerine sahiptir. Bu tirozin çiftlerinin fosforilasyonu JAK proteininde konformasyonel değişikliklere yol açarak substratın bağlanmasını kolaylaştırır. JH2 tirozin kinaza benzer yapıdaki psödokinaz domainidir. JH2, JH1’in aktivitesini düzenlemede görev alan, normal bir kinaz aktivitesi için gerekli olan, fakat enzimatik aktivitesi olmayan kısımdır. V617, JH2’de yer alır. JAK’ların JH3-JH4 domaini Src-homoloji-2 (SH2) domainler ile benzerlik göstermektedir. Amino terminal uç (NH<sub>2</sub>) olan JH4-JH7 ise FERM domain olarak adlandırılır (4.1, ezrin, radixin, moesin). JAK’ların sitokin reseptörleri ve diğer kinazlar ile olan ilişkilerinde rol alır. Bu protein, fokal adezyon kinaz (FAK) ailesine de üyedir.<sup>124</sup>



**Şekil 3.** Janus Kinazların Domain Yapısı. JH: JAK homoloji domain.<sup>124</sup>

**Sinyal İletimi:** JAK-STAT sinyal ileti yolağı, sitokinlere ve büyüme faktörlerine hücresel yanıtın regülasyonunda görev alarak, gen ekspresyonunu modifiye eder. Diğer bir deyişle, aktive STAT proteinleri, ekstrasellüler polipeptidlerde taşınan sinyallerin dönüşümü ve hücre çekirdeğine iletimine olanak tanır. JAK-STAT yolağı hematopoez için özellikle önemlidir. Hücrelerdeki proliferasyon, diferansiyasyon, ve apoptozun düzenlenmesini sağlar.<sup>129</sup>

Her reseptör, kendi ligandı (sitokin) ile bağlandığında, her iki JAK domainini birbirlerini fosforile edecek şekilde yakınlılaştıran bir konformasyonel değişime uğrar. Ligandın reseptöre bağlanması kinaz aktivitesinde artışa neden olur. Bu sayede tirozin rezidivleri fosforile olur ve reseptörde SH2 domain (fosfotirozin bağlanma bölgesi) bulunduran proteinlerle etkileşime girebilecek bölgeler ortaya çıkar. Bu fosfotirozin rezidivlerine bağlanabilen, SH2 domaine sahip olan STAT'lar reseptörde birikir ve bunlar da JAK'lar tarafından tirozin-fosforilasyona uğrar. Farklı STAT'lar üzerine eklendikçe hetero ve homodimerler meydana gelir. Aktive olan dimerler hücre çekirdeğinde birikerek hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder (şekil 4). STAT'ların direkt olarak reseptör tirozin kinazları tarafından tirozin-fosforillenmesi (örneğin epidermal growth faktör reseptörü) ve hatta reseptör dışı tirozin kinazlarla fosforillenmesi (örneğin c-src) de mümkündür.<sup>129</sup>



**Şekil 4.** JAK-STAT Yolağında Temel Basamaklar.<sup>130</sup>

JAK-STAT yolağı birden çok seviyede negatif yönde regüle edilir. Bunlardan bir tanesi olan protein tirozin fosfatazlar, hem sitokin reseptörlerinden, hem de aktive STAT'lardan fosfatları ayırır.<sup>129</sup> Bir başka mekanizma olan SOCS (Suppressors of

Cytokine Signaling) sistemi JAK'ları bağlamak, ya da STAT'lar ile reseptör bağlanma bölgeleri için yarışarak STAT fosforilasyonunu inhibe eder.<sup>131</sup> STAT'ların, PIAS (Protein Inhibitors of Activated STATs) isimli negatif regülatörlerle hücre çekirdeğinde inhibisyonu da mümkündür.<sup>130</sup>

Kısaca, JAK otofosforilasyonu kendi içinde bir konformasyonel değişimi indükler ve daha ileri aşamalardaki transkripsiyon faktörlerini (STAT'lar) fosforile ve aktive eder. Aktive olan STAT'lar reseptörden ayrılır ve hücre çekirdeğine giderek seçilmiş genlerin transkripsiyonunu düzenler.<sup>129</sup> Koloni stimule eden faktörler, prolaktin, büyüme hormonu ve birçok sitokin JAK/STAT sinyal ileti yollarını kullanan moleküllere örnek olarak verilebilir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı Polikliniğinde Ocak 2007 ile Temmuz 2008 tarihleri arasında takip edilen 46 hasta dahil edildi. Hastaların 27'si PV (% 58,7), 14'ü ET (% 30,4) ve 5 tanesi de PMF (% 10,9) tanısına sahipti.

PV hastalarına daha önce flebotomi, hidroksiüre, IFN, aspirin gibi tedaviler uygulanmıştı. ET hastalarının tedavisinde hidroksiüre, aspirin ve anagrelid kullanılmıştı.

Hastalıklı kontrol grubu olarak 17 KML hastası ve 1 mast hücreli lösemi (MHL) olgusu, sağlıklı kontrol grubu olarak ise 32 sağlıklı birey çalışmaya eklendi.

KML hastalarının 12'si kronik fazda, 3'ü akselere fazda, 2'si blastik fazda idi. Bu hastalar IFN, imatinib ve ikinci jenerasyon tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi edilmişti. Tek MHL olgusuna ise daha önce iki kür pürin analogu uygulanmıştı.

Hastaların hastalık süresi, başlangıç yakınmaları, ilave hastalıkları, tanı aldıkları dönemdeki ve tedavinin 6'ıncı ayındaki kan sayımı değerleri kaydedildi.

Tüm hastalarda trombotik ve hemorajik olay öyküsü sorgulandı. Trombotik olaylara katkıda bulunabilecek risk faktörleri (hipertansiyon, diyabetes mellitus, sigara kullanımı, hiperlipidemi) araştırıldı. Kaşıntı ve eritromelalji gibi eşlik eden semptom ve bulgular kaydedildi. Tanı anındaki hepatomegali ve kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi yapılan hastalarda miyelofibrozis varlığı incelendi.

Hastalarda, abdominal ultrasonografik incelemede, karaciğer ve dalak uzun aksının 13 santimetreden fazla saptanması hepatomegali ve splenomegali olarak değerlendirilmiştir.<sup>132</sup> Miyelofibrozis varlığı, kemik iliği biyopsi materyali incelemesinde 100x büyütmede her kemik alanında retikülin liflerinin varlığı ile belirlenmiştir.<sup>107</sup>

PMF hastalarında, tanı aldıkları dönemde kötü prognostik belirteçler olabilecek bulguların (derin anemi, lökopeni, trombositopeni, kilo kaybı) varlığı araştırıldı.

ET ve PMF hastalarında mevcut risk sınıflaması sistemlerine göre<sup>98,115</sup> retrospektif verilere dayanarak değerlendirme yapıldı.

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrollerden alınan periferik kan örneklerinden coulter cihazı ile hücre sayımı yapıldı. Örnekler santrifüj edilerek kullanıma dek -20°C’de saklandı.

Bütün hasta ve kontrollerin periferik kan granülositlerinde JAK2 V617F mutasyon analizi, “LightCycler FastStart DNA Master Hybridization Probe” (Roche Diagnostics kullanıma hazır reaksiyon karışımı, Berlin, Almanya) ile test edilerek, Real Time (RT)-PCR (gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi ile gerçekleştirildi.<sup>133</sup>

### **3.1. JAK2 Geni V617F Nokta Mutasyonunun Belirlenmesi**

#### **3.1.1. DNA İzolasyonu**

DNA izolasyonu Miller ve arkadaşlarının tuzla çöktürme (salting out) yöntemi ile yapıldı.<sup>134</sup> Yapılan işlemler aşağıda belirtilmiştir.

1. Antikoagülanlı (EDTA) tüp ile laboratuara getirilen kan örneği yaklaşık 3000 devir/dakika (rpm) hızında beş dakika santrifüj edildikten sonra plazması uzaklaştırıldı. Geriye kalan kısmı pipetle homojen hale getirildi.
2. 1,5 ml’lik bir eppendorf tüpe 900 µl 1X eritrosit lizis tampon ve üzerine 600 µl plazması uzaklaştırılmış kan örneği ilave edilerek iyice pipetlendi. Tüp aralıklı olarak alt üst edilirken, oda sıcaklığında beş dakika bekletildi. Ardından, örnek 7000 rpm’de beş dakika santrifüj edilip, süpernatant uzaklaştırıldı.
3. Bir sonraki aşamada dipte kalan pellet üzerine 900 µl X lizis buffer eklendi. Pipetlenerek karıştırıldı, 5000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi ve üst sıvısı uzaklaştırıldı.
4. Pellet üzerine 0,5 ml % 10 SDS ve 10 µl proteinaz K koyuldu, köpürtmeden iyice pipetlendi.
5. 65 °C’de 30 dakika süreyle aralıklı olarak alt üst etmek suretiyle inkübe edildikten sonra, buzdolabında beş dakika bekletilip, 200 µl 6M NaCl ilave edilerek iyice çalkalandı.
6. 14.000 rpm’de on dakika santrifüj edildikten sonra, üzerine 300 µl kloroform/izoamil alkol karışımı (24/1 oranında) konularak çalkalandı.
7. 14.000 rpm’de beş dakika santrifüj edilip, üst sıvı döküldü. Steril bir tüpe alınıp, üzerine 1/1 oranında % 100 etil alkol eklenerek tüp alt üst edildi. Bu arada genomik DNA görüldü.
8. 14.000 rpm’de beş dakika santrifüj edildi, üst sıvısı döküldü. Tüpe 1 ml % 70’lik alkol konularak birkaç kez alt üst edildi.

9. 14.000 rpm’de beş dakika santrifüj edildi. Tüp ters çevirildi, alkol döküldü Bu aşamada DNA’nın kaynamamasına dikkat edildi. Bir kurutma kağıdının üzerinde alkolün uzaklaştırılması için on beş dakika bekletildi.

10. DNA üzerine yeterince enjeksiyonluk su koyuldu, çalkalandı ve kısa bir süre santrifüj edilip 75-80 °C’de inkübe edildi.

11. DNA konsantrasyonu ölçüldükten sonra, elde edilen genomik DNA’lar kullanılmaya kadar -20 °C’de muhafaza edildi.

### **3.1.2. V617F Nokta Mutasyonunun Saptanması**

JAK2 geni V617F nokta mutasyonunun Real Time-PCR Tekniği ile saptanması için, LightMix kiti aşağıda tarif edildiği şekilde kullanılmıştır. LightMix, genomik cDNA hedeflerinde insan DNA JAK2 V617F genotipini saptayan bir sistemdir. Yeterli DNA bulunduğunda % 1’i JAK2 V617F mutant olan DNA’yı saptama duyarlılığına sahiptir. LightMix sistemi, “LightCycler FastStart DNA Master Hybridization Probe” (Roche Diagnostics kullanıma hazır reaksiyon karışımı) ile test edilmiştir.<sup>133</sup>

Çalışmamızda, sırası ile JAK2 V617F’nin 165 baz çiftli ve genomik cDNA hedefin 179 baz çiftli fragmanları spesifik primerlerle amplifiye edildi ve LightCycler Red 640 adlı problerle saptandı. Seçilmiş nükleik asitlerin genotipleri (genomik DNA veya cDNA), mutant olan için 61 °C’de ve wildtype (doğal tip) için 57 °C’de saptanan ergime eğrileri ile belirlendi. 116 baz çiftinden oluşan ilave bir ürün, ayrı bir reaksiyon ile örneklerin DNA miktarını ölçmek için kullanıldı (kantifikasyon). Uygulanan program 4 aşamadan oluşmaktadır. Ayrıntılar ve amplifikasyon sıcaklıkları tablo 1’de verilmiştir. Elde edilen veriler (DNA kantifikasyonu ve ergime eğrileri) LightCycler kılavuzu kullanılarak analiz edildi.

Program aşamaları:

1. Örneğin denatürasyonu ve enzim aktivasyonu
2. Hedef DNA’nın PCR amplifikasyonu (siklus)
3. Hedef DNA kaynaklı PCR ürününü belirleyen ergime eğrisi
4. Soğutma

**Tablo 1.** JAK2 V617F Mutasyonu İçin Reaksiyon Aşamaları ve Aplikasyon Sıcaklıkları

| Program |                         | Denatürasyon | Siklus        |       |       | Ergime          |       |         | Soğutma |
|---------|-------------------------|--------------|---------------|-------|-------|-----------------|-------|---------|---------|
|         | Parametre               |              |               |       |       |                 |       |         |         |
|         | Analiz Modu             | Yok          | Kantifikasyon |       |       | Ergime eğrileri |       |         | Yok     |
|         | Döngüler                | 1            | 40            |       |       | 40              |       |         | 1       |
|         | Segment                 | 1            | 1             | 2     | 3     | 1               | 2     | 3       | 1       |
|         | Hedef (°C)              | 95           | 95            | 53    | 72    | 95              | 40    | 85      | 40      |
|         | Duraklama (dk.:sn.)     | 10:00        | 00:10         | 00:10 | 00:20 | 00:20           | 00:20 | 00:00   | 00:30   |
|         | Yükselme Oranı (°C/sn.) | 20           | 20            | 20    | 20    | 20              | 20    | 0.2     | 20      |
|         | Kazanım Modu            | Yok          | Yok           | Tek   | Yok   | Yok             | Yok   | Sürekli | Yok     |

### 3.2. İstatistik Analiz

Veriler SPSS 15.0 (Statistical Package for Social Science) programı ile bilgisayar ortamına aktarıldı. Değişkinlerin normal dağılıma uygunluğu Skapiro Wilks testi ile test edildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin analizinde Mann Whitney U testi, Kruskall Wallis testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki Kare veya Fischer's exact test kullanıldı. Korelasyon analizinde Spearman's korelasyon testi kullanıldı. Verilerin analizinde SPSS 15.0 programı kullanıldı ve  $p < 0,05$  olması anlamlı olarak kabul edildi. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma, (Alt Değer-Üst Değer) ve yüzde olarak sunuldu.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya, BCR/ABL negatif kronik miyeloproliferatif bozukluğu (MPB) olan 46 hasta, 32 sağlıklı kontrol ve 18 hastalıklı kontrol alındı. 46 hastanın 27'si PV, 14'ü ET ve 5 tanesi PMF tanısına sahipti. Tüm hastalar Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tanısal kriterlerine göre MPB tanısı almışlardı.

PV hastalarının 13 tanesi erkek (% 48,1) ve 14'ü kadın (% 51,9), ET hastalarının 8'i erkek (% 57,1) ve 6'sı kadın (% 42,9), PMF hastalarının ise 4'ü erkek (% 80) ve 1 tanesi kadın (% 20) cinsiyette idi.

Sağlıklı kontrol grubu olarak seçilen 32 bireyin 12'si erkek (% 37,5), 20'si kadın (% 62,5) olup; bu grubun yaş ortalaması  $55,7 \pm 7,5$  idi.

Hastalıklı kontrol grubu olarak 17 KML hastası çalışmaya dahil edildi. Bu hastaların 7'si erkek (% 41,1) ve 10'u kadın (% 58,9) idi. Daha sonra 1 MHL (mast hücreli lösemi) olgusu da bu gruba eklendi.

Tüm grupların demografik özellikleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Hastalar ve Kontrollerin Demografik Özellikleri

|                                  | PV              | ET              | PMF             | KML*            | MHL* | Sağlıklı Kontrol |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|------------------|
| N                                | 27              | 14              | 5               | 17              | 1    | 32               |
| Yaş (yıl)<br>(ortalama $\pm$ SS) | 55,4 $\pm$ 10,1 | 54,7 $\pm$ 17,7 | 63,8 $\pm$ 21,1 | 48,3 $\pm$ 13,1 | 48   | 55,7 $\pm$ 7,5   |
| Cinsiyet (E/K)                   | 13/14           | 8/6             | 4/1             | 7/10            | 1/0  | 12/20            |
| Hastalık süresi<br>(ay)          | 57,7 $\pm$ 45,7 | 31,5 $\pm$ 21,4 | 19,2 $\pm$ 20,2 |                 |      |                  |

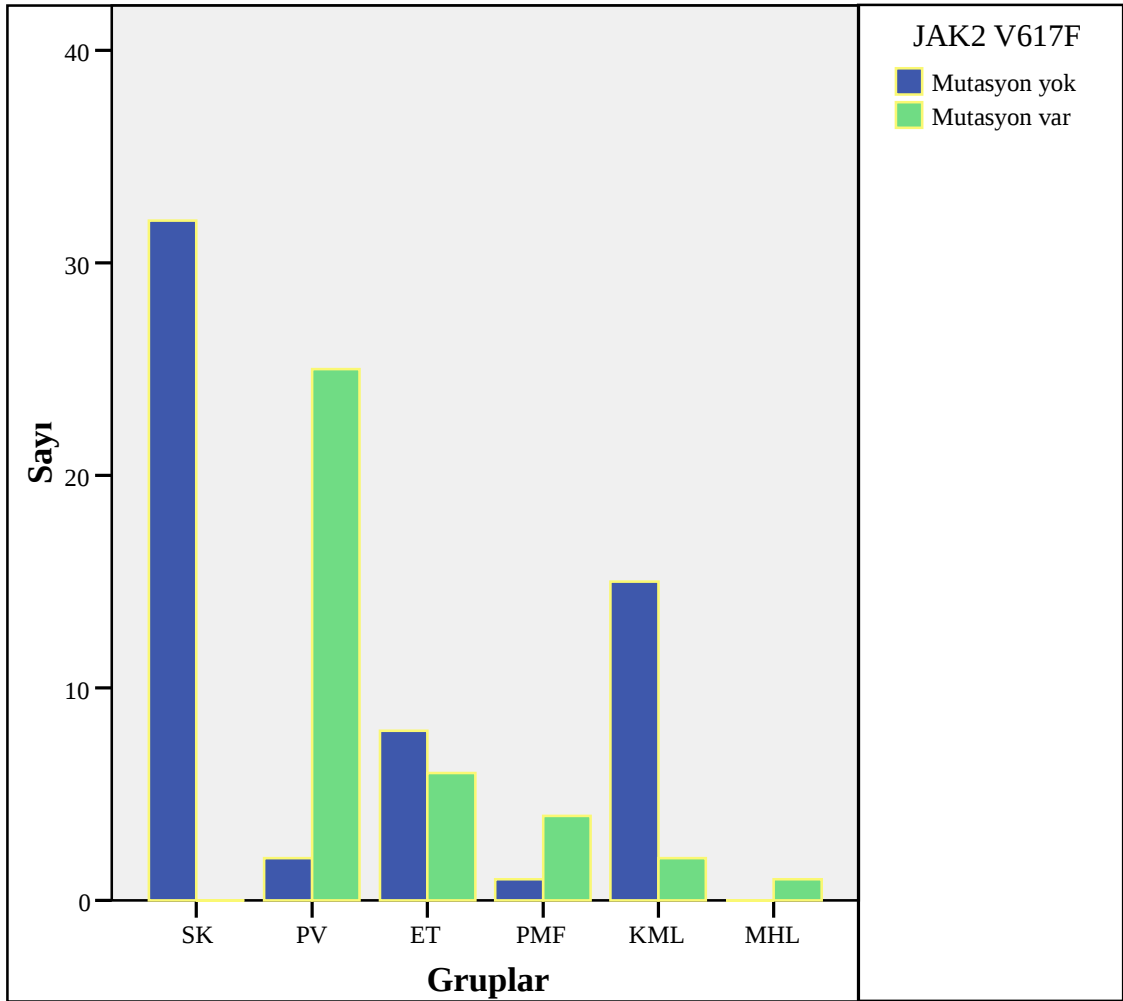
\*Hastalıklı kontrol

JAK2 V617F mutasyonuna PV grubunda % 92,6, ET grubunda % 42,9 ve PMF grubunda % 80 oranında rastlandı. Hastalıklı kontrol olan 17 KML olgusunun sadece ikisinde ve tek MHL olgusunda mutasyon saptanırken, Sağlıklı kontrollerde mutasyon görülmedi. Tüm gruplardaki mutasyon sıklıkları ve karşılaştırmaları Tablo 3’de özetlenmiştir. Şekil 5’de ise tüm gruplarda, mutasyon pozitif ve negatif olan olgular görülebilmektedir.

**Tablo 3.** Gruplara Göre JAK2 V617F Mutasyon Sıklığının Karşılaştırılması

|                  | N  | JAK2 pozitif (%) | <i>P</i> değeri*    |
|------------------|----|------------------|---------------------|
| PV               | 27 | 25 (% 92,6)      | p< 0,001 / p< 0,001 |
| ET               | 14 | 6 (% 42,9)       | p< 0,001 / p=0,006  |
| PMF              | 5  | 4 (% 80)         | p< 0,001 / p=0,009  |
| KML              | 17 | 2 (% 11,8)       |                     |
| MHL              | 1  | 1 (% 100)        |                     |
| Sağlıklı kontrol | 32 | 0 (% 0)          |                     |

\*Sonuçlar sağlıklı kontrol / hastalıklı kontrol (KML) kıyaslamasına göre verilmiştir.



**Şekil 5.** Sağlıklı kontroller (SK), Hasta Grupları (PV, ET, PMF) ve Hastalıklı Kontrollerin (KML, MHL) Periferik Kan Lökositlerinde JAK2 V617F Mutasyonu: Bar Grafiği.

Tüm hastalar (N=46) tanı yaşı ve JAK2 V617F mutasyonu varlığı açısından karşılaştırıldığında, ileri yaş ile mutasyon varlığı arasında anlamlı ilişki gösterildi ( $p=0,022$ ).

Hasta grupları tek tek ele alındığında ise, yaş ile periferik kan lökositlerinde JAK2 V617F mutasyonu varlığı açısından anlamlı fark yoktu (PV, ET ve PMF grupları için sırası ile  $p=0,658$ ;  $0,657$ ;  $0,200$ ).

Hasta gruplarında kadın ve erkek cinsiyet arasında periferik kan lökositlerinde JAK2 V617F mutasyonu varlığı açısından anlamlı fark gözlenmedi (PV, ET ve PMF grupları için sırası ile  $p=0,222$ ;  $0,471$ ;  $0,200$ ).

Tanı anındaki lökosit sayısının  $15 \times 10^3/\mu\text{L}$  değerinden daha yüksek olduğu hastalar JAK2 V617F mutasyonu açısından değerlendirmeye alındığında, mutasyon varlığı ile lökositoz arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (PV, ET ve PMF grupları için sırası ile  $p=0,214$ ;  $0,571$ ;  $0,800$ ).

PV ve ET grupları birlikte, tanı anındaki lökositoz ve mutasyon varlığı açısından incelendiğinde ise anlamlılık sınırında bir ilişki görüldü ( $p=0,06$ ). Hasta gruplarının tanı sırasındaki kan sayımı değerleri tablo 4’de özetlenmiştir.

**Tablo 4.** Hasta Gruplarının Tanı Anındaki Tam Kan Sayımları

|                                           | PV (N=27)                                                         | ET (N=14)                                                          | PMF (N=5)                                                         |
|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Lökosit Sayısı<br>( $\mu\text{L}$ ’de)*   | $15631 \pm 6438$<br>( $7,5 \times 10^3$ - $36 \times 10^3$ )      | $11502 \pm 5017$<br>( $7 \times 10^3$ - $27 \times 10^3$ )         | $10776 \pm 8458$<br>( $2,1 \times 10^3$ - $23,68 \times 10^3$ )   |
| Hematokrit (%)*                           | $55,8 \pm 5,2$ (48-65,5)                                          | $37,5 \pm 5,8$ (24,9-46,1)                                         | $24,4 \pm 13,1$ (8,5-45,1)                                        |
| Trombosit Sayısı<br>( $\mu\text{L}$ ’de)* | $745809 \pm 322663$<br>( $247 \times 10^3$ - $1399 \times 10^3$ ) | $1230142 \pm 256920$<br>( $807 \times 10^3$ - $1591 \times 10^3$ ) | $301560 \pm 201745$<br>( $46,9 \times 10^3$ - $466 \times 10^3$ ) |

\*Ortalama $\pm$ SS, (Alt Değer-Üst Değer) olarak gösterilmiştir.

Hastaların klinik bulguları mutasyon varlığı açısından değerlendirmeye alındı. Tüm hastaların tanı anındaki trombositoz mevcudiyeti ile ( $> 1000 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) JAK2 V617F mutasyonu arasında anlamlı ilişki izlendi ( $p=0,042$ ).

27 PV olgusunun dördünde trombotik olay mevcuttu. Bunlardan birinde miyokard enfarktüsü (Mİ) ve inme, birinde Mİ, birinde inme ve bir diğerinde de derin venöz trombozu öyküsü vardı. JAK2 V617F mutasyonu varlığı ile tromboz öyküsü arasında anlamlı ilişki saptanmadı ( $p=0,17$ ).

PV olgularının 4 tanesinde kanama öyküsü mevcut olup, bunlardan bir tanesi tekrarlayan burun kanamaları (7 episod) ve üç tanesi de duodenal ulkus nedeniyle kanama öyküsüne sahiptir. Duodenal ulkus kanaması öyküsü olan bir hastada predispoze edici ilaç öyküsü (coumadin) vardı.

PV olgularının 18’inde hipertansiyon tanısı mevcut olup, bunların 12 tanesi PV tanısı ile birlikte veya sonrasında hipertansiyon tanısı almış olgulardır. Bu grupta

hipertansiyon varlığı ile JAK2 V617F mutasyonu varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmadı ( $p=0,529$ ).

JAK2 V617F mutasyonu PV hastalarındaki kaşıntı yakınması varlığı ile karşılaştırıldığında da anlamlı ilişki gösterilememiştir ( $p=0,299$ ). Yine aynı grupta miyelofibrozis (postpolistemik miyeloid metaplazi) ve hepatomegali varlığı ile JAK2 V617F mutasyonu arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $p=0,455$ ;  $0,529$ ).

Tanı anında splenomegali varlığı ve JAK2 V617F mutasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde PV grubu için  $p=0,318$  bulunmuştur. PV hastalarının klinik ve laboratuvar özellikleri Tablo 5’de görülmektedir.

**Tablo 5.** Polisitemia Vera Olgularında Tanı Sırasındaki Klinik ve Laboratuvar Bulgular

| Hasta No. | Yaş (yıl) | Cins | Htc. (%) | BK. ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) | Plt. ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) | HM | HT | Tromboz | Kanama | JAK2 |
|-----------|-----------|------|----------|-----------------------------------|------------------------------------|----|----|---------|--------|------|
| 1         | 53        | E    | 50,0     | 13,6                              | 889                                | -  | +  | -       | +      | -    |
| 2         | 29        | K    | 53,9     | 10,3                              | 847                                | -  | -  | -       | -      | +    |
| 3         | 66        | E    | 54,0     |                                   |                                    | +  | +  | -       | -      | +    |
| 4         | 57        | E    | 59,8     | 15,9                              | 595                                | +  | +  | -       | -      | +    |
| 5         | 66        | E    | 57,9     | 7,5                               | 488                                | -  | +  | +       | -      | +    |
| 6         | 49        | K    | 53,0     | 17,4                              | 1234                               | -  | +  | -       | -      | +    |
| 7         | 56        | E    | 54,8     |                                   |                                    | +  | -  | -       | -      | +    |
| 8         | 54        | E    | 60,9     | 12,4                              | 475                                | -  | -  | -       | -      | +    |
| 9         | 76        | K    | 51,1     | 13,1                              | 1399                               | -  | +  | -       | +      | +    |
| 10        | 67        | K    | 52,2     |                                   |                                    | +  | -  | -       | -      | +    |
| 11        | 50        | K    | 49,0     | 17,0                              | 1120                               | -  | +  | -       | -      | +    |
| 12        | 56        | E    | 57,9     | 10,3                              | 247                                | +  | -  | -       | -      | -    |
| 13        | 59        | E    | 65,5     | 9,6                               | 922                                | -  | +  | +       | -      | +    |
| 14        | 60        | E    | 56,9     |                                   |                                    | -  | -  | -       | +      | +    |
| 15        | 60        | K    | 53,0     | 36,0                              | 567                                | -  | +  | +       | -      | +    |
| 16        | 54        | K    | 63,3     | 12,0                              | 417                                | -  | +  | -       | -      | +    |
| 17        | 68        | K    | 51,5     | 12,0                              | 788                                | +  | +  | -       | -      | +    |
| 18        | 40        | E    | 64,3     | 13,7                              | 384                                | -  | -  | -       | -      | +    |
| 19        | 43        | K    | 60,0     | 20,0                              | 1028                               | -  | -  | -       | -      | +    |
| 20        | 65        | E    | 59,2     |                                   |                                    |    | +  | +       | +      | +    |
| 21        | 66        | K    | 48,0     | 20,3                              | 1235                               | -  | +  | -       | -      | +    |
| 22        | 46        | K    | 53,5     | 17,5                              | 368                                | -  | -  | -       | -      | +    |
| 23        | 56        | K    | 56,5     | 24,3                              | 682                                | +  | +  | -       | -      | +    |
| 24        | 46        | E    | 50,4     | 15,8                              | 751                                | -  | -  | -       | -      | +    |
| 25        | 55        | K    | 52,7     | 17,6                              | 736                                | -  | +  | -       | -      | +    |
| 26        | 56        | E    | 55,0     |                                   |                                    | +  | +  | -       | -      | +    |
| 27        | 44        | K    | 56,0     | 9,3                               | 490                                | -  | -  | -       | -      | +    |

Htc: Hematorit, BK: Lökosit sayısı, Plt: Trombosit sayısı, HM: Hepatomegali, HT: Hipertansiyon

PV olguları için klinik ve laboratuvar bulguların mutasyon varlığı ile ilişkisi Tablo 6'da özetlenmiştir.

**Tablo 6.** Polisitemia Vera Olgularında JAK2 V617F Mutasyonuna Göre Bulgular

|                                                   |    | JAK2    |         |          |
|---------------------------------------------------|----|---------|---------|----------|
|                                                   | N  | Pozitif | Negatif | P değeri |
| Hematokrit (%)*                                   | 27 | 55,4    | 53,9    | 0,819    |
| Lökosit sayısı<br>( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )*  | 21 | 15,9    | 11,9    | 0,214    |
| Platelet sayısı<br>( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )* | 21 | 765     | 568     | 0,623    |
| Yaş*                                              | 27 | 55,5    | 54,5    | 0,689    |
| Cins (E/K)                                        | 27 | 11      | 0       | 0,222    |
| Kaşıntı                                           | 27 | 12      | 0       | 0,299    |
| Miyelofibrozis                                    | 12 | 2       | 1       | 0,455    |
| Hepatomegali                                      | 26 | 7       | 2       | 0,529    |
| Splenomegali                                      | 12 | 5       | 2       | 0,318    |
| Hipertansiyon                                     | 27 | 17      | 1       | 0,529    |

\*Ortalama değerler verilmiştir

ET ve PMF gruplarında birer hastada trombotik olay öyküsü (Mİ) vardı. Bu gruplar için de JAK2 V617F mutasyonu varlığı ile tromboz öyküsü arasında ilişki görülmemiştir (ET ve PMF grupları için sırası ile  $p=0,420$ ;  $0,800$ ). ET ve PMF olgularında kanama öyküsü yoktu.

ET grubunda miyelofibrozis (posttrombositemik miyeloid metaplazi), tanı anında hepatomegali varlığı ve tanı anında splenomegali varlığı ile JAK2 V617F mutasyonu arasında anlamlı ilişki bulunmadı ( $p=0,385$ ;  $0,055$ ;  $0,667$ ). ET hastalarının klinik ve laboratuvar özellikleri Tablo 7’de sunulmuştur.

**Tablo 7.** Esansiyel Trombositemi Olgularında Tanı Sırasındaki Klinik ve Laboratuvar Bulgular

| Hasta No. | Yaş (yıl) | Cins | BK. ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) | Plt. ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) | Htc. (%) | Tromboz | Kanama | Risk kategorisi | JAK2 |
|-----------|-----------|------|-----------------------------------|------------------------------------|----------|---------|--------|-----------------|------|
| 1         | 57        | K    | 11,4                              | 1267                               | 46,1     | -       | -      | Orta            | +    |
| 2         | 30        | E    | 11,5                              | 1066                               | 46,0     | -       | -      | Orta            | -    |
| 3         | 76        | E    | 13,4                              | 1563                               | 37,7     | -       | -      | Yüksek          | -    |
| 4         | 25        | K    | 7,0                               | 998                                | 34,8     | -       | -      | Düşük           | -    |
| 5         | 71        | E    | 27,0                              | 1388                               | 35,0     | -       | -      | Yüksek          | -    |
| 6         | 44        | K    | 9,6                               | 1099                               | 38,4     | -       | -      | Orta            | -    |
| 7         | 55        | E    | 7,5                               | 970                                | 40,3     | -       | -      | Düşük           | +    |
| 8         | 51        | K    | 9,7                               | 807                                | 33,0     | -       | -      | Düşük           | +    |
| 9         | 83        | E    | 10,5                              | 1569                               | 24,9     | -       | -      | Yüksek          | +    |
| 10        | 54        | E    | 8,9                               | 1025                               | 45,4     | +       | -      | Yüksek          | +    |
| 11        | 44        | K    | 12,4                              | 1591                               | 40,3     | -       | -      | Orta            | -    |
| 12        | 75        | E    | 9,6                               | 1181                               | 35       | -       | -      | Yüksek          | -    |
| 13        | 64        | E    | 14,9                              | 1520                               | 34,6     | -       | -      | Yüksek          | +    |
| 14        | 37        | K    | 7,5                               | 1178                               | 33,6     | -       | -      | Orta            | -    |

BK: Lökosit sayısı, Plt: Trombosit sayısı, Htc: Hematorit

ET hastalarında tanı yaşı, tromboz öyküsü ve trombosit sayısı baz alınarak yapılan risk sınıflaması bu hastalardaki sağ kalımın önemli bir göstergesidir.<sup>98</sup> ET grubundaki olguların risk sınıflaması ve JAK2 V617F mutasyonu ile ilişkisi Tablo 8’de görülmektedir.

**Tablo 8.** Esansiyel Trombositemili Hastalarda JAK2 V617F Mutasyonuna Göre Risk Durumu

|             | JAK2        |             | P değeri |
|-------------|-------------|-------------|----------|
|             | Pozitif (N) | Negatif (N) |          |
| Düşük risk  | 2/3         | 1/3         | 0,389    |
| Orta risk   | 1/5         | 4/5         | 0,371    |
| Yüksek risk | 3/6         | 3/6         | 0,847    |

ET hastalarımızın hastalık süresinin ortalaması, düşük riskli olgular için 42,3 ay, orta riskli olgular için 41,0 ay ve yüksek riskli olgular için 18,1 ay olarak hesaplanmıştır.

Çalışmaya alınan 5 PMF olgusunun risk skorlaması yapıldı. Hastaların ortalama dalak boyutu 20,3 cm olarak hesaplandı. Tüm hastalarda kilo kaybı vardı. Bir hastada

splenik radyoterapi öyküsü mevcut olup, kaşıntı yakınması olan hastaya rastlanmadı. PMF hastalarının klinik ve laboratuvar özellikleri Tablo 9’da görülmektedir.

**Tablo 9.** Primer Miyelofibrozis Hastalarının Klinik ve Laboratuvar Bulguları

|   | Yaş<br>(yıl) | Cins | SM<br>(cm) | Hct.<br>(%) | BK<br>(x10 <sup>3</sup> /µL) | Plt.<br>(x10 <sup>3</sup> /µL) | Risk<br>Skoru | Transfüzyon<br>İhtiyacı | Hastalık<br>süresi<br>(ay) | JAK2 |
|---|--------------|------|------------|-------------|------------------------------|--------------------------------|---------------|-------------------------|----------------------------|------|
| 1 | 77           | E    | 17,6       | 23,2        | 10,0                         | 466                            | Orta          | +                       | 30                         | +    |
| 2 | 28           | K    | 15,7       | 8,5         | 2,1                          | 120                            | Yüksek        | +                       | 49                         | -    |
| 3 | 72           | E    | 20,0       | 23,6        | 13,4                         | 460                            | Orta          | +                       | 2                          | +    |
| 4 | 80           | E    | 25,6       | 22          | 4,7                          | 47                             | Orta          | +                       | 2                          | +    |
| 5 | 62           | E    | 23,0       | 45,1        | 23,6                         | 415                            | Düşük         | -                       | 13                         | +    |

## 5. TARTIŞMA

PV, ET ve PMF birbirleri ile fenotipik olarak bağlantılı, BCR/ABL negatif kronik miyeloproliferatif bozukluklar (MPB) olarak tarif edilmiştir.<sup>135</sup>

JAK2 yapısal olarak aktif bir tirozin kinazdır ve eritropoietin reseptörü (EpoR), trombopoietin reseptörü (MPL) ya da granülosit koloni stimulan faktör reseptörüyle (GCSFR) birlikte eksprese olduğunda JAK-STAT sinyal ileti sistemini aktive eder.<sup>37</sup>

2005 yılında, kronik miyeloproliferatif bozuklukları olan hastalarda JAK2 V617F mutasyonu tanımladıktan sonra, bu hastalıkların genetik temeline ait bilgilerde büyük oranda artış gözlemlendi.<sup>136</sup> Öyle ki, 2006 yılında JAK2 V617F negatif PV hastalarında JAK2 exon 12 mutasyonu ve ET ve PMF hastalarının % 5'den az bir kısmında rastlanan trombopoietin resptör mutasyonu (MPLW515L) keşfedilmiştir.<sup>16</sup> Fare deneyleri ile, yeni keşfedilen her üç mutasyonun da JAK-STAT sinyallenmesinin aktivasyonunu ve miyeloproliferatif bozukluk fenotiplerinin gelişimini indükledikleri gösterilmiştir.<sup>137</sup> Beklendiği üzere JAK2 mutasyonlarına sekonder polistemi ve trombositozu olan kişilerde rastlanmamaktadır.<sup>17</sup>

JAK2 V617F mutasyonu, JAK2'nin psödokinaz domaini (JH2) içinde kodon 617'de valinle fenilalaninin yer değiştirmesi ile ortaya çıkar. Germline DNA analizi JAK2 V617F'nin hematopoietik progenitörlerdeki somatik bir mutasyon olduğunu (exon 14 1849G→T) ortaya koymuştur.<sup>37,16</sup> Mutasyon JAK-STAT ileti yolağının sürekli aktivasyonuna yol açmaktadır.<sup>135</sup>

Allele özgü PCR, pirosekanslama ve RT-PCR gibi duyarlı yöntemlerin kullanımı ile, JAK2 V617F PV'li hastaların yaklaşık % 90-95'inde, ET'li hastaların % 50-70'inde ve PMF'li hastaların % 40-50'sinde saptanabilmektedir. Tablo 10 JAK2 V617F mutasyonlarının sıklığını inceleyen çalışmalara örnekler sunmaktadır.<sup>37,38,16</sup>

**Tablo 10.** Miyeloproliferatif Hastalıklarda JAK2 V617F Mutasyonunun Sıklığı<sup>37,38</sup>

|                             | JAK2 V617F<br>saptama yöntemi    | PV<br>JAK2 V617F<br>mutasyonları %<br>(homozigotlar) | ET<br>JAK2 V617F<br>mutasyonları %<br>(homozigotlar) | MF<br>JAK2 V617F<br>mutasyonları %<br>(homozigotlar) |
|-----------------------------|----------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| James ve ark.<br>(2005)     | Sekanslama                       | 89 (30)                                              | 43                                                   | 43                                                   |
| Levine ve ark.<br>(2005)    | Sekanslama                       | 74 (25)                                              | 32 (3)                                               | 35 (9)                                               |
| Kralovics ve ark.<br>(2005) | Sekanslama                       | 65 (27)                                              | 23 (3)                                               | 57 (22)                                              |
| Baxter ve ark.<br>(2005)    | Sekanslama/allele<br>özgü PCR    | 97 (26)                                              | 57 (0)                                               | 50 (19)                                              |
| Jones ve ark.<br>(2005)     | ARMS/pirosekansla<br>ma          | 81 (33)                                              | 41 (7)                                               | 43 (29)                                              |
| Levine ve ark.<br>(2006)    | Allele özgü Taqman<br>incelemesi | 99                                                   | 72                                                   | 39                                                   |
| Speletas ve ark.<br>(2007)  | Allele özgü PCR                  | 81                                                   | 69                                                   | 58                                                   |

PV için, JAK2 V617F mutasyonunun (exon 14 kazanılmış somatik mutasyon) beklenen sıklığı ~% 95'dir. JAK2 exon 12 mutasyonu ise JAK2 V617F negatif PV olgularında gösterilmiştir. Buna göre hemen hemen tüm PV olgularında bir JAK2 mutasyonu mevcuttur ve PV için tanısal bir belirteçdir. Mutasyonun ET ve PMF'deki insidansı ise tanı için yeterli olmayıp, histolojik özelliklere yardımcı niteliğe sahiptir.<sup>16</sup>

Çalışmamızda, JAK2 V617F mutasyonu sıklığı PV'li hastalarda % 92,6, ET'li hastalarda % 42,9 oranında saptanmış olup, bulgularımızın literatür verileri ile uyumlu olduğu görülmüştür (Tablo 10). Çalışmaya dahil edilmiş olan 5 PMF olgusunun 4'ünde (% 80) pozitif bulunmuştur. Bu grupta olgu sayısı istatistiksel yorumlama için yeterli değildir. Ancak PMF grubunda da mutasyonun varlığı gösterilebilmiştir. Önceki çalışmalarda ise PMF hastalarında JAK2 V617F mutasyonu sıklığı % 40-50 oranında bildirilmiştir.<sup>37,16</sup>

Kadın ve erkek hastalarımız arasında JAK2 mutasyonu varlığı açısından fark bulunmadı. Literatür de de cinsiyet ile mutasyon arasında bir ilişki yoktur.<sup>60</sup>

Carrobio ve arkadaşları tarafından 2008 yılı başında tamamlanan çalışmada ET hastaları için lökositoz ve risk belirlenmesi değerlendirilmiştir. Çalışma

sonuçları lökositozun tromboz gelişimi açısından risk faktörü oluşturduğu bilgisini destekler niteliktedir<sup>99</sup>. Bu çalışmada JAK2 V617F allel yükü ile lökositoz arasındaki ilişki de incelenmiş ancak anlamlılık gösterilememiştir. PV ve ET olgularımızı JAK2 mutasyonu ve tanı anındaki lökositoz varlığı açısından incelediğimizde anlamlılık sınırında bir ilişki gözlemledik ( $p=0,06$ ).

Aynı grubun bir başka çalışmasında<sup>138</sup> ise yüksek riskli olarak sınıflandırılan ET hastalarında JAK2 V617F mutasyonu sıklığının arttığı görülmüştür. Benzer bir ilişki, bizim yüksek riskli ET olgularımızda izlenmedi ( $p=0,847$ ).

Speletas ve arkadaşları Ağustos 2007’de kronik MPB nedeniyle izlenen toplam 166 hastanın dahil olduğu çalışmada JAK2 V617F mutasyonu ile klinik ve laboratuvar bulgular arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir.<sup>38</sup> Elde ettikleri sonuçlara göre JAK2 V617F mutasyonu pozitif olgularda tanı yaşı anlamlı olarak yükselmiştir ( $p = 0,02$ ). Bizim çalışmamızda da, JAK2 V617F pozitif olan olguların yaş ortalaması negatif olanlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p=0,022$ ).

Aynı çalışmada<sup>38</sup> JAK2 V617F mutasyonu olan MPB olgularında tanı anındaki lökositoz varlığının üç kat, tromboz sıklığının iki kat arttığı gözlenmiştir. Yine de, tanı anında löksitoz varlığı ve tromboz öyküsü ile ise JAK2 V617F mutasyonu arasındaki bu ilişki istatistiksel anlamlılığa erişmemiştir. Yukarıda da değinildiği gibi, çalışmaya aldığımız PV ve ET hastaları birlikte, tanı anındaki lökositoz ve mutasyon varlığı açısından incelendiğinde istatistiksel anlamlılığa yaklaşan bir ilişki bulundu ( $p=0,06$ ). Olgu sayısının artırılabilmesi durumunda anlamlı bir ilişkinin de saptanabileceğini düşünüyoruz.

Vannucchi ve arkadaşları ET hastalarında JAK2 V617F mutasyonu ile trombotik olay gelişimi arasında anlamlı ilişki göstermiş, mutasyonun pozitif olduğu PV olguları için ise aynı ilişkiyi saptamamışlardır.<sup>61</sup> Larsen ve arkadaşlarının<sup>139</sup> sonuçları da aynı paralelliktedir. PV ve ET olgularımız mutasyon ve tromboz varlığı açısından değerlendirildiğinde ilişki bulunmadı ( $p=0,17; 0,42$ ).

Kaşıntı, kronik miyeloproliferatif bozuklukların seyrinde karşılaşılabilen bir yakınmadır.<sup>28,140</sup> Bu yakınma çalışmaya dahil ettiğimiz hastaların 13’ünde mevcut olup, bunların 12’si PV, bir tanesi de ET nedeniyle izlenen hastalardı. PMF nedeniyle izlenen 5 olgumuzun ise böyle bir yakınması yoktu.

Barosi ve arkadaşları tarafından 2007’de yapılan çalışmada 304 PMF hastası incelenmiş ve JAK2 V617F mutasyonu varlığı ile kaşıntı yakınması arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.<sup>140</sup> Bizim çalışmamızdaki PMF olgu sayısı bu yöndeki bir değerlendirmeyi yapacak yeterlilikte değildir.

MPB olgularımızın tanı anındaki trombositoz varlığı ile ( $> 1000 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) JAK2 V617F mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptadık ( $p=0,042$ ). Aynı ilişki Kittur ve arkadaşlarının 176 ET olgusunu değerlendirdiği çalışmada da gösterilmiştir.<sup>141</sup>

Tefferi ve arkadaşları, Şubat 2006 tarihli çalışmalarında, 63 PV olgusunun periferik kan granülositlerinde JAK2 V617F mutasyonu incelemesi yapmış ve 58 olguda (% 92) mutasyon saptamıştır. Mutasyonun homozigot olduğu 13 olgu (% 21) değerlendirildiğinde, heterozigot olgulara göre kaşıntı yakınması ve miyelofibrozis insidansının arttığı gözlemlenmiştir.<sup>60</sup> Öte yandan aynı çalışmada tanı anındaki lökosit ve trombosit sayıları ve tromboz insidansı açılarından homozigot ve heterozigot hastalar arasında anlamlı fark görülmemiştir. Bizim çalışmamızdaki PV olguları kaşıntı yakınması ve miyelofibrozis varlığı yönlerinden değerlendirildiğinde JAK2 V617F mutasyonu pozitifliği ile bir ilişki görülmemiştir ( $p=0,299$ ;  $0,455$ ). Ancak unutulmamalıdır ki, çalışmamızda mutasyon değerlendirmesinde homozigot ve heterozigot olgular arasında ayırım yapılamamıştır. Her ne kadar kaşıntı yakınması ve miyelofibrozis bulunan tüm olgularımızda mutasyon pozitif saptansa da heterozigot olguların ayıklanamaması nedeniyle benzer bir mukayese olanağımız yoktur.

Ohyashiki<sup>142</sup> ve arkadaşları ise JAK2 mutant ET hastalarında miyelofirozis (posttrombositik miyeloid metaplazi) gelişiminde artış saptamıştır. Benzer bir ilişki bizim ET olgularımız için geçerli değildir. Olgu sayısının artması durumunda bu yönde yeni bir değerlendirme yapılabilir.

Zhang ve arkadaşlarının 2008 yılında yayımlanan çalışmada JAK2 V617F mutasyon allel yükü ile tanı anındaki hepatomegali varlığı arasında ilişki araştırılmıştır. PV ve ET gruplarında anlamlı ilişki bulunamazken, PMF olgularında bu yönde bir ilişki ortaya konmuştur<sup>TZhang</sup>. Benzer şekilde, çalışmamızda PV ve ET gruplarında tanı anındaki hepatomegali varlığı ile JAK2 V617F mutasyonu pozitifliği arasında ilişki bulunamamıştır (sırası ile  $p=0,529$ ;  $0,55$ ). PMF tanısı olan 5 olgumuzun 4’ünde tanı anında hepatomegali mevcut olup, bunların 3 tanesinde JAK2 V617F mutasyonu

saptandı. Bunun yanında hepatomegalisi olmayan diğer olguda da mutasyon vardı. Olgu sayısının az olması nedeniyle, bu grup için karşılaştırma yapmadık.

Barosi ve arkadaşlarının yukarıda bahsedilen çalışmasında<sup>140</sup> JAK2 V617F mutasyonunu homozigot sergileyen PMF hastalarında dalak boyutunda anlamlı artış gözlenmiştir. Bir başka çalışmada Vannuchi ve arkadaşları allel yükü (% 75'den fazla JAK2 V617F alleli) olan PV hastalarında dalak boyutunda anlamlı artış saptamıştır.<sup>144</sup> Lieu ve arkadaşları ise, JAK2 V617F mutasyonu ile splenomegali arasında anlamlı ilişki saptamışlardır ( $p=0,019$ ).<sup>145</sup> Bizim olgularımızda mutasyon varlığı ile tanı anındaki splenomegali varlığı arasında ilişki arandığında, PV grubu için  $p=0,318$  ve ET grubu için  $p=0,667$  bulunmuştur.

Çalışmaya hastalıklı kontrol grubu olarak dahil ettiğimiz 17 KML olgusunun ikisinde (% 11,8) JAK2 mutasyonu saptadık. PV, ET ve PMF gruplarındaki mutasyon sıklıkları bu hastalara göre anlamlı fark gösterdi (sırasıyla  $p < 0,001$ ;  $p=0,006$ ,  $p=0,009$ ). Bununla birlikte, literatür bilgilerine göre KML'de bu mutasyonun bulunmayacağı<sup>146</sup>, ya da % 0 ile % 3 arasında<sup>147</sup> izlenebileceğini öngörülmektedir. Bizim saptadığımız oran ise oldukça yüksek olup, JAK2 mutasyonu olan bu iki olgunun BCR/ABL, Ph kromozomu ve JAK2 V617F varlığı açılarından bir kez daha değerlendirilebileceğini düşünüyoruz.

Akut miyeloid lösemilerin nadir ve agresif bir formu olan MHL tanısı ile izlenen bir olguda JAK2 V617F mutasyonuna rastladık. Literatür taramasında JAK2 V617F mutasyonu pozitif MHL olgusu görülmedi. Ancak, sistemik mastositoza mast hücre dışı klonal hematolojik hastalıkların eşlik edebildiği bildirilmiştir.<sup>148</sup> Sotlar ve arkadaşları, PMF'nin eşlik ettiği sistemik mastositozlu 5 olgunun 4'ünde JAK2 V617F mutasyonu saptamışlardır<sup>149</sup>. Bilindiği üzere MHL, nadiren sistemik mastositozun progresif formları zemininde gelişebilmektedir.<sup>120</sup> Bizim olgumuz da sistemik mastositoz zemininde gelişmiş olabilir. JAK2 V617F mutasyonu pozitif olan olgumuzun takibinde eşlik eden PMF varlığı açısından değerlendirilmesinin uygun olacağı kanısındayız.

MPB'lerde ve özellikle de PMF, posttrombositik miyelofiroz ve postpolistemik miyelofibroz olanlarda terapötik plan olarak, gözlem, allojenik hematopoietik kök hücre nakli (allo-HKHN) ve uygun bir klinik çalışmaya kaydolmak gibi seçenekler vardır. Düşük riskli PMF, kontrol altındaki ET ve PV hastalarında gözlem en uygun yöntemdir.<sup>135</sup> Bununla birlikte, bir moleküler hedef mevcut olduğu zaman tirozin kinaz inhibitörleri hastalara çok yararlı olmaktadır. KML tedavisinde imatinibin başarısı ve

imatinibe refrakter KML için de ikinci kuşak BCR/ABL inhibitörlerinin gelişmesi göz önüne alındığında, JAK2 V617F'nin keşfinin PV, ET ve PMF için moleküler hedefli tedavi gelişimine hız vereceği umulabilir.<sup>37</sup>

Yakın zamanda JAK2'ye karşı yeterli potensi olan bileşikler tanımlanmıştır. Tablo 11'de MPB'lerde klinik çalışmaları devam eden JAK2 inhibitörleri görülmektedir.<sup>135</sup>

Tablo 11. BCR/ABL Negatif Miyeloproliferatif Bozukluklarda Araştırılmakta Olan JAK2 İnhibitörleri<sup>135</sup>.

| Hastalık      | İlaç      | İlaç Tipi            | Klinik Faz |
|---------------|-----------|----------------------|------------|
| PMF/ETMF/PVMF | TG 101209 | JAK2 inhibitörü      | 2          |
| PMF/ETMF/PVMF | Go6976    | FLT3-JAK2 inhibitörü | 1          |
| PMF/ETMF/PVMF | Erlotinib | JAK2 inhibitörü      | 2          |
| PMF/ETMF/PVMF | CEP-701   | FLT3-JAK2 inhibitörü | 2          |

ETMF: Posttrombositemik miyelofibrozis, PVMF: Postpolistematik miyelofibrozis, FLT3: fms like tirozin kinaz 3

PMF'de allo-HKHN tek küratif çözümdür. Klinik çalışmalarda mutant allele karşı spesifik tedavinin (JAK2 inhibisyonu) PMF'de gözlenen fibrozis, ekstramedüller hematopoez ve sitopenileri düzeltebileceği umulmaktadır. Fakat JAK2'nin hematopoiez ve özellikle de eritropoiezdeki fonksiyonu düşünüldüğünde, JAK2 inhibisyonu doza bağlı sitopenilere, özellikle de derin anemiye neden olabilir. Ayrıca, prolaktin ve büyüme hormonu aracılı sinyal iletiminde JAK2'nin rolü göz önüne alındığında, JAK2 inhibitörleriyle tedavi edilen hastalarda endokrin yan etkilerin ortaya çıkması mümkündür.<sup>37</sup>

Allele özgü PCR, pirosekanslama ve kantitatif gerçek zamanlı PCR gibi allele özgü incelemeler kantitatif JAK2 V617F mutasyonal yükü tam olarak ölçebilir. Kantitatif incelemeler JAK2 inhibitörü çalışmalarında tedaviye yanıtın izlenmesinde kullanılmalıdır.<sup>37</sup>

MPB'lerde JAK2 inhibitörleriyle advers etkiler olmaksızın tedavi hedeflerine ulaşılacağına belirlenmesi gereklidir. Eğer yararlıysalar, hastalıkların kısa ve uzun vadede kontrolünün başarılması hem hekimler hem de hastaları büyük ölçüde memnun edecektir.

## 6. SONUÇLAR

1. JAK2 V617F mutasyonuna PV grubunda % 92,6, ET grubunda % 42,9 ve PMF grubunda % 80 oranında rastlandı.

2. MPB'lerde tanı yaşının yüksek olması gelişebilecek komplikasyonlar açısından risk oluşturduğu bilinmektedir. JAK2 V617F mutasyonu pozitif olan hastaların yaş ortalaması ile, mutasyon negatif olanların yaş ortalaması arasında anlamlı fark gözledik ( $p=0,022$ ).

3. Lökositoz, PV ve ET'de trombotik komplikasyonların gelişimi açısından risk oluşturur. PV ve ET hastalarını, JAK2 mutasyonu ve tanı anındaki lökositoz varlığı ( $> 15 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) açısından incelendiğimizde anlamlılık sınırında bir ilişkiye rastladık ( $p=0,06$ ).

4. Hastalarda tanı anındaki trombositoz mevcudiyeti ile ( $> 1000 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) JAK2 V617F mutasyonu arasında anlamlı ilişki izlendi ( $p=0,042$ ).

5. JAK2 V617F mutasyonu PV için güncel tanısal algoritmalarda yerini almıştır. ET ve PMF için ise ayırıcı tanı ve tedaviye yanıtın takibinde faydalıdır. Mutasyonun patogenezdaki rolü ve klinik yansımalarına yönelik çalışmalarda büyük yol alınmıştır. Bununla birlikte JAK2 inhibitörleri ile moleküler tedavi uygulamaları henüz deneme aşamasında ancak umut vaat edicidir.

## KAYNAKLAR

1. **McCulloch EA.** Stem cell renewal and determination during clonal expansion in normal and leukaemic haemopoiesis. *Cell Prolif* **1993**; 26:399-425.
2. **Tefferi A.** Chronic myeloid disorders: Classification and treatment overview. *Semin Hematol* **2001**; 38:1-4.
3. **Kouides PA, Bennett JM.** Morphology and classification of the myelodysplastic syndromes and their pathologic variants. *Semin Hematol* **1996**; 33:95-110.
4. **Raza A, Alvi S, Broady-Robinson L et al.** Cell cycle kinetic studies in 68 patients with myelodysplastic syndromes following intravenous iodo- and/or bromodeoxyuridine. *Exp Hematol* **1997**; 25:530-535.
5. Uptodate; Last literature review version 16.1. Overview of myeloproliferative disorders. Erişim: [www.utdol.com/online/content/image.do;jsessionid=1280D9CD9E6694EB912AE0AD28533ABF.1004?imageKey=hema\\_pix/organiza.htm&title=Organization+heme+malignancies](http://www.utdol.com/online/content/image.do;jsessionid=1280D9CD9E6694EB912AE0AD28533ABF.1004?imageKey=hema_pix/organiza.htm&title=Organization+heme+malignancies); Erişim tarihi: 14.10.2008.
6. **Dickstein JI, Vardiman JW.** Hematopathologic findings in the myeloproliferative disorders. *Semin Oncol* **1995**; 22:355-373.
7. **Champion KM, Gilbert JG, Asimakopoulos FA et al.** Clonal haemopoiesis in normal elderly women: Implications for the myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* **1997**; 97:920-926.
8. **Levine RL, Belisle C, Wadleigh M et al.** X-inactivation-based clonality analysis and quantitative JAK2V617F assessment reveal a strong association between clonality and JAK2V617F in PV but not ET/MMM, and identifies a subset of JAK2V617F-negative ET and MMM patients with clonal hematopoiesis. *Blood* **2006**; 107: 4139-4141.
9. **Rumi E, Passamonti F, Della Porta MG et al.** Familial chronic myeloproliferative disorders: clinical phenotype and evidence of disease anticipation. *J Clin Oncol* **2007**; 25:5630-5635.
10. **Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M.** Chronic myelogenous leukemia: *update on biology and treatment. Oncology (Williston Park).* **1999**;13:169-180.
11. **Lichtman MA, Liesveld JL.** Chronic myelogenous leukemia and related disorders. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligshon U, Kaushansky K, Prchal JT, Eds. *Williams Hematology*, New York: McGraw-Hill; **2006**:1237-1294.
12. **Harrison CN.** Current trends in essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* **2002**; 117:796-808.
13. **Schafer AI.** Essential Thrombocythemia and Thrombocytosis. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligshon U, Kaushansky K, Prchal JT, Eds. *Williams Hematology*, New York: McGraw-Hill, **2006**: 1785-1794.
14. **Pietra D, Li S, Brisci A, et al.** Somatic mutations of JAK2 exon 12 in patients with JAK2 (V617F)-negative myeloproliferative disorders. *Blood* **2008**; 111:1686-1689.

15. **Lichtman MA**, Idiopathic Myelofibrosis (Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia). In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligshon U, Kaushansky K, Prchal JT, Eds. *Williams Hematology*, New York: McGraw-Hill, **2006**; 1295-1313.
16. **Tefferi A, Thiele J, Orazi A et al.** Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood* **2007**; 110:1092-1097.
17. **Tefferi A, Pardanani A.** Evaluation of "increased" hemoglobin in the JAK2 mutations era: A diagnostic algorithm based on genetic tests. *Mayo Clin Proc* **2007**; 82:599-604.
19. **Najean Y, Rain JD.** The very long-term evolution of polycythemia vera — an analysis of 318 patients initially treated by phlebotomy or P-32 between 1969 and 1981. *Semin Hematol* **1997**; 34:6-16.
20. **Landolfi R, Marchioli R, Patrono C.** Mechanisms of bleeding and thrombosis in myeloproliferative disorders. *Thromb Haemost* **1997**; 78:617-621.
21. **van Genderen PJ, Lucas IS, van Strik R et al.** Erythromelalgia in essential thrombocythemia is characterized by platelet activation and endothelial cell damage but not by thrombin generation. *Thromb Haemost* **1996**; 76:333-338.
22. **Rozman C, Giralt M, Feliu E et al.** Life expectancy of patients with chronic nonleukemic myeloproliferative disorders. *Cancer* **1991**; 67:2658-2663.
23. **Mesa RA, Niblack J, Wadleigh M et al.** The burden of fatigue and quality of life in myeloproliferative disorders (MPDs): an international internet-based survey of 1179 MPD patients. *Cancer* **2007**; 109:68-76.
24. **Siitonen T, Zheng A, Savolainen ER, Koistinen P.** Spontaneous granulocyte-macrophage colony growth by peripheral blood mononuclear cells in myeloproliferative disorders. *Leuk Res* **1996**; 20:187-195.
25. **Silva M, Richard C, Benito A et al.** Expression of Bcl-x in erythroid precursors from patients with polycythemia vera. *N Engl J Med* **1998**; 338:564-571.
26. **Kiladjian JJ, Elkassar N, Hetet G et al.** Study of the thrombopoietin receptor in essential thrombocythemia. *Leukemia* **1997**; 11:1821-1826.
27. **Pitcher L, Taylor K, Nichol J et al.** Thrombopoietin measurement in thrombocytosis: Dysregulation and lack of feedback inhibition in essential thrombocythemia. *Br J Haematol* **1997**; 99:929-932.
28. **Prchal JT, Beutler E.** Primary and Secondary Polycythémias (Erythrocytosis). In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligshon U, Kaushansky K, Prchal JT, Eds. *Williams Hematology*, New York: McGraw-Hill, **2006**:779-802.
29. **Villeval JL, Cohensolal K, Tulliez M et al.** High thrombopoietin production by hematopoietic cells induces a fatal myeloproliferative syndrome in mice. *Blood* **1997**; 90:4369-4383.
30. **Martyre MC.** TGF-beta and megakaryocytes in the pathogenesis of myelofibrosis in myeloproliferative disorders. *Leuk Lymphoma* **1995**; 20:39-44.
31. **Dai CH, Krantz SB, Dessypris EN et al.** Polycythemia vera. II. Hypersensitivity of bone marrow erythroid, granulocyte-macrophage, and megakaryocyte progenitor cells to interleukin-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* **1992**; 80:891-899.

32. James C, Ugo V, Le Couedic JP et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* **2005**; 434:1144-1148.
33. Ishii T, Bruno E, Hoffman R, Xu M. Involvement of various hematopoietic cell lineages by the JAK2V617F mutation in polycythemia vera. *Blood* **2006**; 108:3128-3134.
34. Pardanani A, Lasho TL, Finke C et al. Extending JAK2V617F and MPLW515 Mutation Analysis to Single Hematopoietic Colonies and B- and T-lymphocytes. *Stem Cells* **2007**; 25:2358-2362.
35. Toyama K, Karasawa M, Yamane A et al. JAK2-V617F mutation analysis of granulocytes and platelets from patients with chronic myeloproliferative disorders: advantage of studying platelets. *Br J Haematol* **2007**; 139:64-69.
36. Campbell PJ, Green AR. The myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* **2006**; 355: 2452-2466.
37. Levine RL, Pardanani A, Tefferi A, Gilliland DG. Role of JAK2 in the pathogenesis and therapy of myeloproliferative disorders. *Nat Rev Cancer* **2007**; 7:673-83.
38. Speletas M, Katodritou E, Daiou C, Mandala E, Papadakis E, Kioumi A, Ritis K, Korantzis I. Correlations of JAK2-V617F mutation with clinical and laboratory findings in patients with myeloproliferative disorders. *Leuk Res.* **2007**; 31:1053-62.
39. Tefferi A, Gilliland DG. The JAK2V617F tyrosine kinase mutation in myeloproliferative disorders: status report and immediate implications for disease classification and diagnosis. *Mayo Clin Proc* **2005**; 80:947-958.
40. Steensma DP, Dewald GW, Lasho TL et al. The JAK2 V617F activating tyrosine kinase mutation is an infrequent event in both "atypical" myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndromes. *Blood* **2005**; 106:1207-1209.
41. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* **2006**; 108:3472-3476.
42. Scott LM, Scott MA, Campbell PJ, Green AR. Progenitors homozygous for the V617F mutation occur in most patients with polycythemia vera, but not essential thrombocythemia. *Blood* **2006**; 108: 2435-2437.
43. Lasho TL, Pardanani A, McClure RF et al. Concurrent MPL515 and JAK2V617F mutations in myelofibrosis: chronology of clonal emergence and changes in mutant allele burden over time. *Br J Haematol* **2006**; 135:683-687.
44. Sirhan S, Lasho TL, Hanson CA et al. The presence of JAK2V617F in primary myelofibrosis or its allele burden in polycythemia vera predicts chemosensitivity to hydroxyurea. *Am J Hematol* **2008**; 83:363-365.
45. Moliterno, AR, Hankins, WD, Spivak, JL. Impaired expression of the thrombopoietin receptor by platelets from patients with polycythemia vera. *N Engl J Med* **1998**; 338:572-580.
46. Kralovics R, Buser AS, Teo SS et al. Comparison of molecular markers in a cohort of patients with chronic myeloproliferative disorders. *Blood* **2003**; 102:1869-1871.
47. Teofili L, Martini M, Luongo M et al. Overexpression of the polycythemia rubra vera-1 gene in essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* **2002**; 20:4249-4254.
48. Ania BJ, Suman VJ, Sobell JL et al. Trends in the incidence of polycythemia vera among Olmsted county, Minnesota residents, 1935-1989. *Am J Hematol* **1994**; 47:89-93.

49. Berk PD, Goldberg JD, Donovan PB et al. Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols. *Semin Hematol* **1986**; 23:132-143.
50. Spivak JL, Silver RT. The revised World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythosis, and primary myelofibrosis: an alternative proposal. *Blood* **2008**; 112: 231-239.
51. Acharya J, Westwood AJ, Sawyer BM, et al. Identification of latent myeloproliferative disease in patients with Budd-Chiari syndrome using X-chromosome inactivation patterns and in vitro erythroid colony formation. *Eur J Haematol* **1995**; 55:315-321.
52. Michiels JJ, van Genderen PJ, Jansen PH, Koudstaal PJ. Atypical transient ischemic attacks in thrombocythemia of various myeloproliferative disorders. *Leuk Lymphoma* **1996**; 1 65-70.
53. Steinman HK, Kobza-Black A, Lotti TM, et al. Polycythaemia rubra vera and water-induced pruritus: Blood histamine levels and cutaneous fibrinolytic activity before and after water challenge. *Br J Dermatol* **1987**; 116:329-333.
54. Jackson N, Burt D, Crocker J, Boughton B. Skin mast cells in polycythaemia vera: Relationship to the pathogenesis and treatment of pruritus. *Br J Dermatol* **1987**; 116:21-29.
55. Sirhan S, Fairbanks VF, Tefferi A. Red cell mass and plasma volume measurements in polycythemia: evaluation of performance and practical utility. *Cancer* **2005**; 104:213-215.
56. Michiels JJ, Juvonen E. Proposal for revised diagnostic criteria of essential thrombocythemia and polycythemia vera by the thrombocythemia vera study group. *Semin Thromb Hemost* **1997**; 23: 339-347.
57. Thiele JM, Kvasnicka HM. Diagnosis of polycythemia vera based on bone marrow pathology. *Curr Hematol Rep* **2005**; 4:218-223.
58. Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, De Stefano V, Finazzi G, Marfisi R, Tognoni G, Marchioli R. European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP): Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood* **2007**;109:2446-2452.
59. Tefferi A, Spivak JL. Polycythemia vera: scientific advances and current practice. *Semin Hematol* **2005**; 42:206-220.
60. Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM et al. The clinical phenotype of wild-type, heterozygous, and homozygous JAK2V617F in polycythemia vera. *Cancer* **2006**; 106:631-635.
61. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P et al. Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood* **2007**; 110:840-846.
62. Dupont S, Masse A, James C et al. The JAK2 617V>F mutation triggers erythropoietin hypersensitivity and terminal erythroid amplification in primary cells from patients with polycythemia vera. *Blood* **2007**; 110:1013-1021.
63. Scott LM, Tong W, Levine RL et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* **2007**; 356:459-468.
64. Scott LM, Beer PA, Bench AJ, et al. Prevalance of JAK2 V617F and exon 12 mutations in polycythaemia vera. *Br J Haematol* **2007**; 139:511-512.
65. Gruppo Italiano Studio Policitemia. Polycythemia vera: the natural history of 1213 patients followed for 20 years. *Ann Intern Med* **1995**; 123:656-664.

66. Passamonti F, Rumi E, Pungolino E et al. Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Med* **2004**; 117:755-761.
67. Gangat N, Strand J, Li CY, et al. Leucocytosis in polycythemia vera predicts both inferior survival and leukaemic transformation. *Br J Haematol*, **2007**; 138:354-358.
68. Finazzi G, Caruso V, Marchioli R, et al. Acute leukemia in polycythemia vera: an analysis of 1638 patients enrolled in a prospective observational study. *Blood* **2005**; 105:2664-2670.
69. Elliot MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *BrJ Haematol* **2005**; 128:275-290.
70. Tartaglia AP, Goldberg JD, Berk PD, et al. Adverse effects of antiaggregating platelet therapy in the treatment of polycythemia vera. *Semin Hematol* **1986**; 23:172-176.
71. Landolfi R, Marchioli R. European Collaboration on Low-dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP): A randomized trial. *Semin Thromb Hemost* **1997**; 23:473-478.
72. Streiff MB, Smith B, Spivak JL. The diagnosis and management of polycythemia vera in the era since the Polycythemia Vera Study Group: a survey of American Society of Hematology members'practice patterns. *Blood* **2002**; 99:1144-1149.
73. Fruchtmann SM, Mack K, Kaplan ME, et al. From efficacy to safety - A Polycythemia Vera Study Group report on hydroxyurea in patients with polycythemia vera. *Semin Hematol* **1997**; 34:17-23.
74. Anagrelide Study Group. Anagrelide, a therapy for thrombocythemic states: experience in 577 patients. *Am J Med* **1992**; 92:69-76.
75. Ruggeri M, Rodeghiero F, Tosi A, et al. Postsurgery outcomes in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: a retrospective survey. *Blood* **2008**; 111:666-671.
76. Tefferi A, Fonseca R. Selective serotonin reuptake inhibitors are effective in the treatment of polycythemia vera-associated pruritus. *Blood* **2002**; 99:2627.
77. Elliott MA, Tefferi A. Interferon-alpha therapy in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost* **1997**; 23:463-472.
78. Samuelsson J, Hasselbalch H, Bruserud O, et al. A phase II trial of pegylated interferon alpha-2b therapy for polycythemia vera and essential thrombocythemia: feasibility, clinical and biologic effects, and impact on quality of life. *Cancer* **2006**; 106:2397-2405.
79. Harrison C. Pregnancy and its management in the Philadelphia negative myeloproliferative diseases. *Br J Haematol* **2005**; 129:293-306.
80. Balan KK, Critchley M. Outcome of 259 patients with primary proliferative polycythemia (Ppp) and idiopathic thrombocythemia (It) treated in a regional nuclear medicine department with phosphorus-32--a 15 year review. *Br J Radiol* **1997**; 70:1169-1173.
81. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* **2006**; 108:3472-3476.
82. El-Kassar N, Hetet G, Briere J, Grandchamp B. Clonality analysis of hematopoiesis and thrombopoietin levels in patients with essential thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* **1998**; 30:181-188.
83. Hirayama Y, Sakamaki S, Matsunaga T, et al. Concentrations of thrombopoietin in bone marrow in normal subjects and in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura, aplastic anemia, and

essential thrombocythemia correlate with its mRNA expression of bone marrow stromal cells. *Blood* **1998**; 92:46-52.

84. Mesa RA, Silverstein MN, Jacobsen, SJ et al. Population-based incidence and survival figures in essential thrombocythemia and agnogenic myeloid metaplasia: an Olmsted County Study, 1976-1995. *Am J Hematol* **1999**; 61:10-15.
85. Fenaux P, Simon M, Caulier MT et al. Clinical course of essential thrombocythemia in 147 cases. *Cancer* **1990**; 66:549-556.
86. Rozman C, Giralto M, Feliu E, et al. Life expectancy of patients with chronic nonleukemic myeloproliferative disorders. *Cancer* **1991**; 67:2658-2663.
87. Tefferi A, Fonseca R, Pereira DL, Hoagland HC. A long-term retrospective study of young women with essential thrombocythemia. *Mayo Clin Proc* **2001**; 76:22-28.
71. Iland H, Laszlo J, Murphy S. Essential thrombocythemia. In: Wasserman LR, Berk PD, Berlin NI, Eds. *Polycythemia Vera and the Myeloproliferative Disorders*, Philadelphia: Saunders, **1995**:292.
53. Emilia G, Sacchi S, Temperani P et al. Progression of essential thrombocythemia to blastic crisis via idiopathic myelofibrosis. *Leuk Lymphoma* **1993**; 9:423-426.
74. Harrison CN. Essential thrombocythaemia: challenges and evidence-based management. *Br J Haematol* **2005**; 130:153-165.
90. Teofili L, Martini M, Luongo M, et al. Overexpression of the polycythemia rubra vera-1 gene in essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* **2002**; 20:4249-4254.
91. Tefferi A, Lasho TL, Wolanskyj AP, Mesa RA. Neutrophil PRV-1 expression across the chronic myeloproliferative disorders and in secondary or spurious polycythemia. *Blood* **2004**; 103:3547-3548.
92. Schafer AI. Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood* **2006**; 107:4214-4222.
93. Gangat N, Wolanskyj AP, Schwager SM et al. Estrogen-based hormone therapy and thrombosis risk in women with essential thrombocythemia. *Cancer* **2006**; 106:2406-2411.
94. Gangat N, Wolanskyj AP, McClure RF et al. Risk stratification for survival and leukemic transformation in essential thrombocythemia: a single institutional study of 605 patients. *Leukemia* **2007**; 21:270-276.
95. Cerutti A, Custodi P, Duranti M et al. Thrombopoietin levels in patients with primary and reactive thrombocytosis. *Br J Haematol* **1997**; 99:281-284.
96. Passamonti F, Rumi E, Pungolino E et al. Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Med* **2004**; 117:755-761.
97. Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G, D'Emilio A, Rodeghiero F, Barbui T. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol.* **1990**; 8:556-62.
98. Tefferi A. Risk-based management in essential thrombocythemia. ASH Education Program Book. *Hematology* **1999**; :172.
99. Carobbio A, Finazzi G, Guerini V et al. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood* **2007**; 109:2310-2313.

100. Michiels JJ, Koudstaal PJ, Mulder AH et al. Transient neurologic and ocular manifestations in primary thrombocythemia. *Neurology* 1993; 43:1107-1110.
101. Randi ML, Fabris F, Cella G et al. Cerebral vascular accidents in young patients with essential thrombocythemia: relation with other known cardiovascular risk factors. *Angiology* 1998; 49:477-481.
102. Frohli P, Graf C, Rhyner K. [Prevention of vascular complications in polycythemia vera and primary thrombocythemia treated with low doses of acetylsalicylic acid]. *Schweiz Med Wochenschr* 1983; 113:1622-1627.
103. Tang SS, Frojmovic MM. Inhibition of platelet function by antithrombotic agents which selectively inhibit low-Km cyclic 3',5'-adenosine monophosphate phosphodiesterase. *J Lab Clin Med* 1980; 95: 241-257.
104. Mesa RA, Verstovsek S, Cervantes F et al. Primary myelofibrosis (PMF), post polycythemia vera myelofibrosis (post-PV MF), post essential thrombocythemia myelofibrosis (post-ET MF), blast phase PMF (PMF-BP): Consensus on terminology by the international working group for myelofibrosis research and treatment (IWG-MRT). *Leuk Res* 2007; 31:737-740.
105. Tefferi A. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. *N Engl J Med* 2000; 342:1255-1265.
106. Visani G, Finelli C, Castelli U et al. Myelofibrosis with myeloid metaplasia: Clinical and hematological parameters predicting survival in a series of 133 patients. *Br J Haematol* 1990; 75:4-9.
107. Barosi G, Ambrosetti A, Finelli C, Grossi A, Leoni P, Liberato NL, Petti MC, Pogliani E, Ricetti M, Rupoli S, Visani G, Tura S. The Italian Consensus Conference on Diagnostic Criteria for Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia: *Br J Haematol* 1999; 104:730-737.
108. Smith RE, Chelmoski MK, Szabo EJ. Myelofibrosis: A review of clinical and pathologic features and treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 1990; 10:305-314.
109. Bartlett RP, Greipp PR, Tefferi A et al. Extramedullary hematopoiesis manifesting as a symptomatic pleural effusion. *Mayo Clin Proc* 1995; 70:1161-1164.
110. Loewy G, Mathew A, Distenfeld A. Skin manifestation of agnogenic myeloid metaplasia. *Am J Hematol* 1994; 45:167-170.
111. Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bergamaschi G et al. Anaemia characterises patients with myelofibrosis harbouring Mpl(W515L/K) mutation. *Br J Haematol* 2007; 137:244-247.
112. Barosi G, Viarengo G, Pecci A, Rosti V. Diagnostic and clinical relevance of the number of circulating CD34(+) cells in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 2001; 98:3249-3255.
113. Mesa RA, Li CY, Ketterling RP et al. Leukemic transformation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a single-institution experience with 91 cases. *Blood* 2005; 105:973-977.
114. Dupriez B, Morel P, Demory JL et al. Prognostic factors in agnogenic myeloid metaplasia: A report on 195 cases with a new scoring system. *Blood* 1996; 88:1013-1018.
115. Cervantes F, Barosi G, Demory JL, Reilly J, Guarnone R, Dupriez B, Pereira A, Montserrat E. Myelofibrosis with myeloid metaplasia in young individuals: disease characteristics, prognostic factors and identification of risk groups. *Br J Haematol.* 1998;102:684-690.
116. Cortes JE, Talpaz M, Kantarjian H. Chronic myelogenous leukemia: a review. *Am J Med.* 1996 May;100:555-570.

117. **Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M.** Chronic myelogenous leukemia: *update on biology and treatment. Oncology (Williston Park).* **1999**;13:169-180.
118. **Lichtman MA, Liesveld JL.** Chronic myelogenous leukemia and related disorders. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligshon U, Kaushansky K, Prchal JT, Eds. *Williams Hematology*, New York: McGraw-Hill; **2006**:1237-1294.
119. **Cortes JE, Talpaz M, Beran M, O'Brien SM, Rios MB, Stass S, Kantarjian HM.** Philadelphia chromosome-negative chronic myelogenous leukemia with rearrangement of the breakpoint cluster region. Long-term follow-up results. *Cancer.* **1995**; 75:464-470.
120. **Lichtman MA, Segel GB.** "Uncommon phenotypes of acute myelogenous leukemia: basophilic, mast cell, eosinophilic, and myeloid dendritic cell subtypes: a review.". *Blood Cells Mol Dis* **2005**; 35:370-783.
121. **Galli SJ, Metcalfe DD, Arber DA, Dvorak AM.** Basophils and mast cells and their disorders. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligshon U, Kaushansky K, Prchal JT, Eds. *Williams Hematology*, New York: McGraw-Hill; **2006**:879-905.
122. **Liesveld JL, Lichtman MA.** Acute myelogenous leukemia. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligshon U, Kaushansky K, Prchal JT, Eds. *Williams Hematology*, New York: McGraw-Hill; **2006**: 1183-1236.
123. **Valent P.** 1995 Mack-Forster Award Lecture. Review. Mast cell differentiation antigens: expression in normal and malignant cells and use for diagnostic purposes, *Eur. J. Clin. Invest.* **1995**; 25:715-720.
124. **Kisseleva et al.** Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene* **2002**; 285:1-24.
125. **Wilks AF.** Two putative protein-tyrosine kinases identified by application of the polymerase chain reaction. *PNAS* **1989**; 86:1603-16077.
126. Janus Roman God of Beginnings; Erişim: [www.novareinna.com/festive/janus.html](http://www.novareinna.com/festive/janus.html); Erişim tarihi: 14.10.2008.
127. **Rodig SJ, Meraz MA, White JM, Lampe PA, Riley JK, Arthur CD, King KL, Sheehan KC, Yin L, Pennica D, Johnson EM, Schreiber RD ().** "Disruption of the Jak1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the Jaks in cytokine-induced biologic responses". *Cell* **1998**; 93:373-383.
128. **Stoiber D, Kovacic B, Schuster C, Schellack C, Karaghiosoff M, Kreibich R, Weisz E, Artwohl M, Kleine OC, Muller M, Baumgartner-Parzer S, Ghysdael J, Freissmuth M, Sexl V.** TYK2 is a key regulator of the surveillance of B lymphoid tumors. *J. Clin. Invest.* **2004**; 114:1650-1658.
129. **Hebenstreit D, Horejs-Hoeck J and Duschl A.** JAK/STAT-dependent gene regulation by cytokines. *Drug News Perspect* **2005**; 18:243-249.
131. **Shuai K.** Regulation of cytokine signaling pathways by PIAS proteins" *Cell Research* **2006**; 16:196-202.
130. **D. L. Krebs and D. J. Hilton.** SOCS proteins: negative regulators of cytokine signaling. *Stem Cells.* **2001**; 19:378-387.
132. **Dick R, Watkinson A.** The liver and spleen. In: Sutton D, Ed. *Textbook of Radiology and Imaging*, London: Churchill Livingstone **2003**; 737-786.

133. Olsen RJ, Tang Z, Farkas DH, Bernard DW, MD, Zu Y, Chang CC. Detection of the *JAK2*<sup>V617F</sup> Mutation in Myeloproliferative Disorders by Melting Curve Analysis Using the LightCycler System. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*: **2006**; 130:997-1003.
134. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, **1988**; 16:1215.
135. Mesa RA. Navigating the evolving paradigms in the diagnosis and treatment of myeloproliferative disorders. *Hematology* **2007**; 355-362.
136. Hsu HC. Pathogenetic role of *JAK2* V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *J Chin Med Assoc*. **2007**; 70:89-93.
137. Tefferi A. *JAK2* mutations and clinical practice in myeloproliferative neoplasms. *Cancer J*. **2007**;13: 366-367.
138. Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, Guglielmelli P, Vannucchi AM, Delaini F, Guerini V, Ruggeri M, Rodeghiero F, Rambaldi A, Barbui T. Thrombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia. *Blood* **2008**; 112:3135-3137.
139. Larsen TS, Pallisgaard N, Møller MB, Hasselbalch HC. High prevalence of arterial thrombosis in *JAK2* mutated essential thrombocythaemia: independence of the V617F allele burden. *Hematology* **2008**; 13:71-76.
140. 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**; 4030-4036.
141. Kittur J, Knudson RA, Lasho TL, Finke CM, Gangat N, Wolanskyj AP, Li CY, Wu W, Ketterling RP, Pardanani A, Tefferi A. Clinical correlates of *JAK2*V617F allele burden in essential thrombocythemia. *Cancer* **2007**; 109:2279-2284.
142. Ohyashiki K, Kodama A, Ohyashiki JH. Recurrent der(9;18) in essential thrombocythemia with *JAK2* V617F is highly linked to myelofibrosis development. *Cancer Genet Cytogenet* **2008**; 186:6-11.
143. Zhang Y, Li L, Nie L, Yu Y, Yang YH, Zhang ZQ, Yang L, Xu SC, Xiao ZJ. Clinical study on relationship between *JAK2* V617F mutation and chronic myeloproliferative disorders *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. **2008**; 29:105-109.
144. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Longo G, Pancrazzi A, Ponziani V, Bogani C, Ferrini PR, Rambaldi A, Guerini V, Bosi A, Barbui T; MPD Research Consortium. Prospective identification of high-risk polycythemia vera patients based on *JAK2*(V617F) allele burden. *Leukemia*. **2007**; 21:1952-15599.
145. Lieu CH, Wu HS, Hon YC, Tsai WH, Yang CF, Wang CC, Lin YC, Shih CH, Hsu HC. Prevalence of the *JAK2*-V617F mutation in Taiwanese patients with chronic myeloproliferative disorders. *Intern Med J*. **2008**; 38:422-426.
146. Tefferi A. Classification, diagnosis and management of myeloproliferative disorders in the *JAK2*V617F era. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* **2006**; 240-245.
147. Büsche G, Hussein K, Bock O, Kreipe H. Insights into *JAK2*-V617F mutation in CML. *Lancet Oncol* **2007**; 8:658-660.
148. Jordan JH, Jäger E, Sperr WR, Schwarzingen I, Födinger M, Fritsche-Polanz R, Ohler L, Geissler K, Valent P. Numbers of colony-forming progenitors in patients with systemic mastocytosis: potential diagnostic implications and comparison with myeloproliferative disorders. *Eur J Clin Invest*. **2003**; 33:611-618.

- 149. Sotlar K, Bache A, Stellmacher F, Bültmann B, Valent P, Horny HP.** Systemic mastocytosis associated with chronic idiopathic myelofibrosis: a distinct subtype of systemic mastocytosis associated with a [corrected] clonal hematological non-mast [corrected] cell lineage disorder carrying the activating point mutations KITD816V and JAK2V617F. *J Mol Diagn.* **2008**; 10:58-66.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı-Soyadı** : Ertuğrul ERKEN

**Doğum Tarihi ve Yeri** : 04 / 10 / 1978- Adana

**Medeni Durumu** : Bekar

**Adres** : Akkuyu Köyü Profesörler sitesi No: 39 Yüreğir  
ADANA

**Telefon** : 0-322-3992102

**E.mail** : [ertugrulerken@hotmail.com](mailto:ertugrulerken@hotmail.com)

**Mezun Olduğu Tıp Fakültesi** : İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

**Görev Yerleri** : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi

**Yabancı Diller** : İngilizce

