

TC
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA
JAK 2 GENİ
VE TROMBOZ İLE İLİŞKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr Serdar KALKAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Temmuz 2011

İZMİR

TC
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA
JAK 2 GENİ
VE TROMBOZ İLE İLİŞKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Serdar KALKAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Fatih Demirhan

TEŞEKKÜR

İç hastalıkları uzmanlık eğitimimde, başta tez danışmanım Prof. Dr. Fatih Demirkan ve anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. İlkey Őimőek olmak üzere bana katkısı bulunan tüm değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Çok büyük desteğini gördüğüm, yardımlarını büyük bir mutluluk ve özveri ile sunan değerli meslektaşlarım Uzm. Dr. Selda Çeneli, Uzm. Dr. Gökmen Sevindik, Dr. Yasin Bakır ve Dr. Deniz Kırtay'a teşekkür ederim.

İç hastalıkları asistanlığı süresince birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum değerli uzman ve asistan doktor arkadaşlarıma ve beni destekleyen aileme teşekkür ediyorum.

Dr. Serdar Kalkan

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
ÖZET.....	ix
SUMMARY.....	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLAR.....	3
2.2.MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLAR VE TROMBOZ İLİŞKİSİ.....	5
2.3. JAK2 V617F MUTASYONU.....	7
2.3.a. PROTEİN KİNAZLAR VE JAK2.....	7
2.3.b. JAK2 V617F MUTASYONU VE SİNYAL İLETİMİNE ETKİLERİ.....	7
2.3.c. JAK2 V617F NEGATİF MPH'LARDA DİĞER MUTASYONLAR.....	10
2.3.d. JAK2 İNHİBİTÖR TEDAVİSİ.....	10
2.4. POLİSİTEMİA VERA.....	11
2.4.1. POLİSİTEMİA VERA EPİDEMİYOLOJİ.....	11
2.4.2. POLİSİTEMİA VERA TANISI.....	12
2.4.3. POLİSİTEMİA VERADA KLİNİK ÖZELLİKLER.....	13
2.4.4. POLİSTEMİYA VERA JAK2 MUTASYONU.....	16
2.4.5. POLİSİTEMİA VERADA PROGNOZ.....	17
2.4.6. POLİSİTEMİA VERA TEDAVİSİ.....	18
2.5. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ.....	21
2.5.1. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ EPİDEMİYOLOJİ.....	21
2.5.2. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ TANISI.....	21
2.5.3. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİNİN KLİNİK ÖZELLİKLERİ.....	23
2.5.4. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ VE JAK2 MUTASYONU.....	23
2.5.5. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ DE PROGNOZ.....	24
2.5.6. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ TEDAVİSİ.....	25
2.6. PRİMER MİYELOFİBİROZİS.....	26
2.6.1. PRİMER MİYELOFİBİROZİS EPİDEMİYOLOJİSİ.....	26
2.6.2. PRİMER MİYELOFİBİROZİS TANISI.....	26
2.6.3. PRİMER MİYELOFİBİROZİSİN KLİNİK ÖZELLİKLERİ.....	28

2.6.4. PRİMER MİYELOFİBİROZİS VE JAK2 MUTASYONU.....	30
2.6.5. PRİMER MİYELOFİBİROZİSDE PROGNOZ.....	30
2.6.6. PRİMER MİYELOFİBİROZİS TEDAVİSİ	31
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
4.BULGULAR.....	36
4.1. HASTALARIN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ	36
4.2. HASTALARDA TROMBOZ DAĞILIMI	37
4.3. MİYELOPROLİFERATİF HASTALIK ALT GRUP ANALİZLERİ	38
4.4. JAK2 MUTASYON VARLIĞINA GÖRE HASTA ÖZELLİKLERİ	40
5.TARTIŞMA.....	44
6.SONUÇLAR	48
7.KAYNAKLAR	49

TABLO LİSTESİ

- Tablo-1: Miyeloproliferatif Hastalıkların Sınıflandırılması
Tablo-2: Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterleri 2001
Tablo-3: PV çalışma grubu(PVSG) 2006
Tablo-4: PV tanı kriterleri 2008
Tablo-5: Esansiyel Trombositemi tanı kriterleri -2001
Tablo-6: Esansiyel Trombositemi tanı kriterleri -2008
Tablo-7: Tromboz risk skoru
Tablo-8: PMF tanı kriterleri: İtalyan Konsensüs Konferans
Tablo-9: PMF DSÖ Tanı Kriterleri 2008
Tablo-10: Demografik Veriler ve Tanı Grupları
Tablo-11: Venöz Arteriyel Tromboz Dağılımı
Tablo-12: Tromboz için Risk Faktörleri
Tablo-13: Tanı Anındaki Laboratuvar Değerlerinin Dağılımı ve Splenomegali Varlığı
Tablo-14: Tanı Alt Gruplarına Göre Hasta Özellikleri
Tablo-15: JAK 2 Mutasyonu Varlığına Göre Hasta Özellikleri
Tablo-16: JAK 2 Mutasyonu Varlığına Göre Venöz Tromboz Dağılımı ve Tanıya Spesifik Alt Grup Analizleri
Tablo-17: JAK 2 Mutasyonu Varlığına Göre Arteriyel Tromboemboli Dağılımı ve Tanıya Spesifik Alt Grup Analizleri
Tablo-18: JAK 2 Mutasyonu Varlığına Göre Venöz Tromboz ve/veya Arteriyel Tromboemboli Dağılımı ve Tanıya Spesifik Alt Grup Analizleri

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil -1: MPH populasyonunun dağılımı
Şekil -2: JAK 2 Mutasyonu Varlığı

KISALTMALAR

ALL	Akut lenfobastik lösemi
AML	Akut Miyeloblastik Lösemi
AT	Arteriyel tromboz
ATDH	Aterotrombotik damar hastalığı
BFU-E	Burst forming unit-eritroid
BK	Lökosit sayısı
CFU-E	Colony forming unit-eritroid
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DVT	Derin ven trombozu
EPO	Eritropoietin
EPOR	Eritropoietin reseptörü
ET	Esansiyel trombositemi
G-CSF	Granülosit stimüle edici faktör
GCSFR	Granülosit koloni stimüle edici reseptör
GM-CSF	Granülosit-makrofaj stimüle edici faktör
HM	Hepatomegali
HT	Hipertansiyon
Htc	Hematokrit
IFN- α	İnterferon-alfa
JAK2	Janus kinaz 2
JH	Janus homoloji
KAH	Koroner Arter Hastalığı
KML	Kronik miyeloid lösemi
KMML	Kronik miyelomonositer lösemi
MAPK	Mitojen-aktive protein kinaz
MCV	Kırmızı hücre hacmi
MDS	Miyelodisplastik Sendrom
MI	Miyokard İnfarktüsü
MPH	Miyeloproliferatif hastalıklar
MPL	Trombopoietin reseptör
PAH	Periferik arter hastalığı
PE	Pulmoner emboli
Ph	Philedelphia
PK	Protein kinaz
PMF	Primer miyelofibrozis
PP	Protein fosfataz
PRV	Polistemia rubra vera
PTK	Protein tirozin kinaz
PV	Polistemia vera

PVSG	Polistemia vera çalışma gurubu
PVT	Portal ven trombozu
RT	Reaktif trombositoz
STAT	Sinyal dönüştürücüler ve transkripsiyon aktivatör proteinleri
SVO	Serebrovasküler Olay
SVT	Splenik Ven Trombozu
TPO	Trombopoietin
VT	Venöz tromboz
VTE	Venöz tromboemboli
VWH	von Willebrand hastalığı

ÖZET

MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA JAK 2 GENİ VE TROMBOZ İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Serdar Kalkan

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı

Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Inciraltı/İZMİR 35340

serdar.kalkan@deu.edu.tr

Amaç: JAK2V617F mutasyonu ile tromboz gelişimi arasındaki ilişki değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: JAK2V617F mutasyonu ile tromboz ilişkisini değerlendirmek için kliniğimizde 1994-2011 yılları arasında tanı almış 106 Philadelphia negatif myeloproliferatif neoplazmı gözden geçirdik. Median yaş 63 (26-90), 59 (%55) erkek ve 47 (%44) kadın vardı. Myeloproliferatif hasta gruplarına göre hasta karakteristikleri tablo 1’de gösterilmiştir. Derin Venöz Tromboz (DVT) 14, Pulmoner Emboli (PE) 1, DVT + PE 2, Portal Ven Trombozu 1, Portal + Splenik Ven Trombozu 2 hastada olmak üzere 20 (%18,9) hastada venöz tromboz olduğu görüldü. Myokard İnfarktüsü (MI) 4, Koroner Arter Hastalığı (KAH) 10, Serebrovasküler Olay (SVO) 5, Periferik Arter Oklüzyonu 1, SVO + MI 6, KAH + SVO 7, KAH + PAO + SVO 1 hastada olmak üzere 34 (%32,1) hastada arteriyel tromboz olduğu görüldü. Polisitemia Vera’lı (PV) hastalardaki JAK durumuna göre tromboz dağılımı herhangi bir istatistiksel anlamlılık gösteremedi. 4 JAK2 (+) ve 2 JAK2 (-) hastada venöz tromboz, 6 JAK2 (+) ve 3 JAK2 (-) hastada arteriyel tromboz, 7 JAK2 (+) ve 4 JAK2 (-) hastada arteriyel ve/veya venöz tromboz olduğu görüldü. (sırasıyla OR:1,44 p=0.694, OR:1,5 p=0,613, OR: 1,283 p=0,736). Esansiyel Tromboz’da ise hem venöz hem de arteriyel tromboz dağılımında istatistiksel anlamlılık gösterildi. 12 jak2(+) ve 1 jak2(-) hastada venöz tromboz, 18 jak2(+) ve 5 jak2(-) hastada arteriyel tromboz, 22 jak2(+) ve 5 jak2(-) hastada ise arteriyel ve/veya venöz tromboz olduğu görüldü (sırasıyla OR:12,46 p=0,005, OR:4,140 p=0,013, OR:6,325 p=0,001).

Sonuç: JAK2V617F mutasyon durumu myeloproliferatif neoplazmlarda trombozu önceden belirlemede yararlı olabilir.

Anahtar sözcükler : JAK2 mutasyonu, tromboz, myeloproliferatif neoplazm.

SUMMARY

JAK2V617F MUTATION and THROMBOSIS IN THE MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

Serdar Kalkan, M.D. serdar.kalkan@deu.edu.tr

Dokuz Eylül University Faculty of Medicine Department of Internal Medicine

Dokuz Eylül University Hospital Department of Internal Medicine İnciraltı / İZMİR

35340

Objective: In this study, we aimed to evaluate the relationship between the development of thrombosis with JAK2V617F mutation.

Patients and Methods: We reviewed 106 Philadelphia negative myeloproliferative neoplasms (MPN) diagnosed between 1994-2011 in our clinic to assess the risk of thrombosis associated with JAK2V617F mutation. Median age was 63 years (range 26-90) with 59 (55%) males and 47 (44%) females. Patient characteristics among myeloproliferative neoplasia groups are demonstrated in table 1. Venous thrombosis occurred in 20 patients (18.9 %): Deep Vein Trombosis (DVT) 14, Pulmonary Embolism (PE) 1, DVT+PE 2, Portal Vein Thrombosis 1, Portal+Splenic vein thrombosis 2. Arterial thrombosis occurred in 34 (32,1 %) patients: Myokardial Infarction (MI) 4, Coronary Arterial Disease (CAD) 10, Cerebrovascular Disease (CVD) 5, Peripheral Arterial Occlusion 1, CVD+MI 6, CAD+CVD 7, CAD+PAO+CVD 1. Thrombosis distribution according to jak status in polycythemia vera (PV) patients failed to demonstrate any statistical significance: venous thrombosis, in 4 jak2(+) and 2 jak2(-), arterial thrombosis in 6 jak2(+) and 3 jak2(-), arterial and/or venous thrombosis in 7 jak2(+) and 4 jak2(-) (OR: 1.44 p=0.694, OR:1,5 p=0.613, OR: 1.283 p=0.736 consecutively). Thrombosis distribution in essential thrombocytosis showed a statistical significance in terms of both venous and arterial thrombosis: venous thrombosis in 12 jak2(+) and 1 jak2(-) , arterial thrombosis in 18 jak2(+) and 5 jak2(-), arterial and/or venous thrombosis in 22 jak2(+) and 5 jak2(-) (OR:12.46 p=0.005, OR:4.140 p=0.013, OR:6.325 p=0.001 consecutively).

Results: JAK2V617F mutant status may be useful for predicting thrombosis in myeloproliferative neoplasms.

Key words: JAK2 mutant, thrombosis, myeloproliferative neoplasms.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Miyeloproliferatif hastalıklar (MPH), hematopoietik kök hücre transformasyonu sonucu ortaya çıkan klonal hastalıklardır. MPH geleneksel olarak ‘klasik’ ve ‘atipik’ olarak sınıflandırılır.

Klasik MPH; Philadelphia (Ph) translokasyonu ve bcr-abl füzyon geni taşıyan kronik miyeloid lösemi (KML) ve Ph negatif olan polisitemia vera (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve Primer miyelofibrozisten (PMF) oluşur. Atipik MPH ise, daha nadir görülen kronik miyelomonositik lösemi, juvenil miyelomonositik lösemi, kronik nötrofilik lösemi, kronik bazofilik lösemi, kronik eozinofilik lösemi, hipereozinofilik sendrom, sistemik mastositoz ve sınıflandırılmamış MPH’lerden oluşur [1, 2].

Miyeloproliferatif hastalıkların temel özellikleri; PV’da artmış eritrosit hacmi, ET’de artmış trombosit sayısı ve PMF’de kemik iliği fibrozisidir. Bu üç hastalık bazı ortak özellikler taşır: kemik iliği hipersellülerdir, tromboz ve hemorajiye eğilim vardır. Lösemik transformasyon riski mevcuttur. PV ve ET’nin yıllık insidansı 1-3/100.000 iken, PMF daha nadir olarak görülür [3].

Polisitemia vera ilk defa, 1892 yılında Vaquez tarafından ‘siyanozun eşlik ettiği sürekli ve artmış hipersellülerite’ olarak tarif edildi. Primer miyelofibroz da aynı yıllarda, esansiyel trombositemi ise 1930’larda ilk defa tanımlandı. 1951 yılında Dameshek KML, PV, ET ve PMF’i laboratuvar ve klinik benzerliklerinden dolayı miyeloproliferatif hastalıklar adı altında sınıflandırdı [4].

PV olgularının %90-95’inde, ET ve PMF olgularının ise yaklaşık %50-60’ında saptanan [5-7] JAK2 mutasyonunun keşfi ile klasik MPH’lerin tanısal kriterlerinde güncelleme yapıldı [8, 9].

Bu çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Hematoloji Bilim Dalı Polikliniğinde 1994 ile 2011 tarihleri arasında takip edilen Ph negatif kronik miyeloproliferatif hastalık (MPH) tanısı olan 106 hasta dahil edilmiştir.

Çalışmanın iki amacı vardır:

1. Ph-negatif MPH'de JAK2 mutasyon varlığı ile tromboz arasında bir ilişki olup olmadığının irdelenmesi çalışmanın birincil amacıdır. Bu amaçla, önce tüm MPH hastaları, daha sonra PV, ET ve PMF alt gruplarındaki hastalar JAK2 varlığına göre ayrı ayrı arteriyel, venöz ve toplam trombotik olayların sıklığı açısından karşılaştırılacaktır.
2. Çalışmanın ikincil amacı, Ph-negatif hastalardaki JAK2 varlığı ve tromboz sıklığına yönelik Türkiye verilerinin oluşumuna katkıda bulunmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLAR

Hematopoetik kök hücre kendini yenileme ve farklılaşma yeteneğine sahiptir. Efektif hematopoez için büyüme faktörleri ve reseptör etkileşimlerinin olağan olduğu bir mikroçevreye gereksinim vardır [10].

Hematolojik kökenli malign hastalıklar hücre yapısal olarak lenfoid ve miyeloid, kemik iliğindeki blast oranına göre akut ve kronik olmak üzere sınıflandırılır. Kronik miyeloid hastalıklar ise, dismiyelopoez sergileme durumlarına göre miyelodisplastik sendromlar (MDS) ve miyeloproliferatif hastalıklar (MPH) olarak tanımlanır [11].

Miyeloproliferatif hastalıklar (MPH), hematopoietik kök hücre transformasyonu sonucu ortaya çıkan klonal hastalıklardır. MPH geleneksel olarak 'klasik' ve 'atipik' olarak sınıflandırılır.

Klasik MPH; Philadelphia (Ph) translokasyonu ve bcr-abl füzyon geni taşıyan kronik miyeloid lösemi (KML) ve Ph negatif olan polisitemia vera (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve primer miyelofibrozisten (PMF) oluşur.

Atipik MPH ise, daha nadir görülen kronik miyelomonositik lösemi, juvenil miyelomonositik lösemi, kronik nötrofilik lösemi, kronik bazofilik lösemi, kronik eozinofilik lösemi, hipereozinofilik sendrom, sistemik mastositoz ve sınıflandırılmamış MPH'lerden oluşur [1, 2](Tablo 1).

2008 DSÖ sınıflama sistemine göre MPH'ler klasik ve atipik MPH'lere sınıflandırılmaktadır [12](Tablo-1).

Tablo-1: Miyeloproliferatif Hastalıkların Sınıflandırılması

Miyeloproliferatif Hastalıkların Sınıflandırılması	
Klasik Miyeloproliferatif Hastalıklar	Atipik Miyeloproliferatif Hastalıklar
<ul style="list-style-type: none">• Ph pozitif MPH Kronik miyeloid lösemi	<ul style="list-style-type: none">• Kronik miyelomonositik lösemi• Juvenil miyelomonositik lösemi• Kronik nötrofilik lösemi• Kronik eozinofilik lösemi• Hipereozinofilik sendrom• Kronik bazofilik lösemi• Sistemik mastositoz• Miyelodisplazi/ miyeloproliferatif hastalık birlikteliği• Sınıflandırılmamış miyeloproliferatif hastalık
<ul style="list-style-type: none">• Ph negatif MPH Polisitemia vera	
Esansiyel trombositemi	
Primer miyelofibrozis	

Miyeloproliferatif hastalıkların temel özellikleri; PV’da artmış eritrosit hacmi, ET’de artmış trombosit sayısı ve PMF’de kemik iliği fibrozisidir. Bu üç hastalık bazı ortak özellikler taşır: kemik iliği hipersellülerdir, tromboz ve hemorajiye eğilim vardır. Lösemik transformasyon riski mevcuttur. PV ve ET’nin yıllık insidansı 1-3/100.000 iken, PMF daha nadir olarak görülür [3].

Polisitemia vera ilk defa, 1892 yılında Vaquez tarafından ‘siyanozun eşlik ettiği sürekli ve artmış hipersellülerite’ olarak tarif edildi. Primer miyelofibroz da aynı yıllarda, esansiyel trombositemi ise 1930’larda ilk defa tanımlandı. 1951 yılında Dameshek KML, PV, ET ve PMF’i laboratuvar ve klinik benzerliklerinden dolayı miyeloproliferatif hastalıklar adı altında sınıflandırdı [4].

PV olgularının %90-95’inde, ET ve PMF olgularının ise yaklaşık %50-60’ında saptanan [5-7] JAK2 mutasyonunun keşfi ile klasik MPH’lerin tanısal kriterlerinde güncelleme yapıldı [8, 9].

MPH’ler içerisinde artmış eritrosit kitlesi PV için spesifik olsa da, KML ve MDS olgularının, ET tanısı düşündürülen izole trombositoz veya PMF ile karışabilecek izole miyelofibroz ile prezente olmaları mümkündür. Sonuç olarak MPH tanısı düşünülen tüm hastalarda t(9;22) varlığını dışlamaya yönelik sitogenetik inceleme (KML) ve dismiyelopoez ayırıcı tanısı için (MDS) kemik iliği morfolojik incelenmesi

yapılmalıdır [6].

2.2.MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLAR VE TROMBOZ İLİŞKİSİ

Tromboz sıklığı, PV ve ET’de sırasıyla, %12-39 ve %11-25 arasında bulunmuştur [13]. Tromboz, MPH’lerde önemli bir prognostik faktördür. MPH’lerde tromboz riskini artırdığı kanıtlanmış en önemli iki risk faktörü yaş (>60) ve geçirilmiş tromboz varlığıdır [14, 15].

Prognostik değeri tartışmalı olan belirleyiciler arasında sigara kullanımı, hipertansiyon, diyabet ve dislipidemi gibi daha çok arteriyel tromboza yol açan klasik kardiyovasküler risk faktörleri sayılabilir [16].

JAK2’nin trombopoietin reseptörü olan MPL’nin hücre yüzeyindeki yerleşimi ve stabilitesini değiştirerek trombosit aktivasyonuna etki edebileceği ileri sürülmüştür [17].

JAK2 mutasyonu neticesinde aktive olan JAK/STAT ileti yolunun bazı apoptoz ve transkripsiyon faktörlerinin ekspresyon düzeylerinde değişikliklere yol açarak koagülasyon mekanizmasını dolaylı olarak etkileyebileceği bildirilmiştir [18].

Robertson ve ark. trombositlerin lökositlere bağlanmasını sağlayarak yüksek trombojenik potansiyele sahip trombosit-lökosit agregatları oluşmasına yol açan solübl p selektinin, JAK2 pozitif MPH’lerde yüksek düzeylerde bulunduğunu göstermişlerdir [19].

Falanga ve arkadaşları da JAK2 pozitif ET hastalarından elde edilen trombositlerde trombosit p selektin (CD62p) ekspresyonunun artmış olduğunu ve benzer şekilde doku faktörü bağlı trombosit miktarının da JAK2 hastalarda daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir [20].

Alvarez-Larran ve arkadaşları JAK2 pozitif hastalarda monosit ve nötrofiller üzerinde CD11b ekspresyonunun artmış olduğunu göstermişlerdir [21].

JAK2 mutasyonunun yukarıda özetlenen mekanizmalar üzerinden protrombotik bir etkiye sahip olabileceğinin ileri sürülmesi idyopatik tromboz ve trombozla giden başka hastalıklarda (MPH’ler dışı) JAK2 varlığının araştırılmasına neden olmuştur.

Bayraktar ve arkadaşları izole splanknik ven trombozu ile başvuran hastalarda JAK2 sıklığının yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ancak JAK2 hastaların daha sonra yapılan incelemede latent MPH olguları oldukları anlaşılmıştır [22].

Fouassier ve arkadaşları trombozla seyreden paroksizmal noktürnal hemoglobinürili 11 hastanın hiçbirinde JAK2 mutasyonu gösteremediklerini bildirmişlerdir [23].

2007'de yayınlanan retrospektif bir başka çalışmada Pardanani ve arkadaşları, herediter trombofili tetkiki için sevk edilen ve MPH tanısı /splanknik ven trombozu olmayan 664 hastada JAK2 mutasyonu sıklığını araştırmışlar ve hastaların ancak <%1'inde pozitif bulmuşlardır. Bu sonuçtan yola çıkarak JAK2 mutasyonunun rutin hiperkoagülabilitate taraması içinde yer almasını gerektirecek yeterli kanıt olmadığını ileri sürmüşlerdir [24].

JAK2 mutasyonu ile trombotik risk arasında bir bağ olup olmadığını araştıran en geniş kapsamlı prospektif klinik çalışma Campell ve arkadaşlarının 2005'te yayınlanmıştır. 776 ET tanılı hastanın takip edildiği bu çalışmada JAK2 mutasyonu pozitif 414 hastada, gerek ET tanısı almadan önceki yıl içinde gerekse tanı aldıktan sonra, geri kalan 362 JAK2 negatif hastaya nazaran anlamlı olarak daha yüksek venöz tromboemboli (VTE) oranlarına rastlanmıştır. Arteriyel tromboz oranlarında ise anlamlı bir fark gösterilememiştir [25].

Bu verileri destekleyen çalışmalar yanında JAK2 mutasyonu ile vasküler olaylar arasında bir ilişki olmadığını gösteren yayınlar da mevcuttur. Wolanskyj ve arkadaşlarının 73'ü JAK2 mutasyonu pozitif, 150 ET tanılı hastayı ortanca 137 ay takiple inceledikleri ve 2005'te yayınlanan retrospektif çalışmalarında toplam (arteriyel ve venöz) tromboz oranları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır [26].

2.3. JAK2 V617F MUTASYONU

2005 yılında PV, PMF ve ET'si olan hastalarda Janus tirozin kinaz 2'yi etkileyen yeni bir mutasyon tanımlandı (JAK2 V617F) [27, 28].

2.3.a. PROTEİN KİNAZLAR VE JAK2

Protein kinazlar (PK) protein fosforilasyonunu katalizleyen enzimler iken, protein fosfatazlar (PP) protein defosforilasyonuna neden olarak, PK aktivitesini regüle ederler. Bu tür fosfotransfer ve hidroliz reaksiyonları sinyal iletiminde anahtar rol oynar [29].

PK'lara örnek olarak Janus kinazlar (JAK1, JAK2, JAK3, tirozin kinaz-2) verilebilir [30, 31]. Janus PK'lar, sitokin reseptörlerinin sinyal iletimini düzenlerler. Sitokin reseptörünün ligand ile buluşması, reseptör ile ilişkili JAK'ın fosforilasyonuna ve reseptör dimerizasyonuna neden olur. Aktive JAK-sitokin reseptör kompleksi substrat moleküllerinin fosforilasyonuna neden olur. Substrat molekülleri arasında sinyal dönüştürücüler ve transkripsiyon aktivatör proteinleri (STAT) bulunmaktadır. Aktive STAT proteinleri nükleusa geçerek spesifik düzenleyici elementlerle etkileşime girer ve hedef gen transkripsiyonuna neden olur [32, 33].

JAK2; eritropoietin, trombopoietin, interlökin-3, granülosit stimüle edici faktör (G-CSF) ve granülosit-makrofaj stimüle edici faktör (GM-CSF) reseptörleri üzerinden, intrasellüler sinyal iletiminde önemli rol oynar [34, 35]. JAK2, endoplazmik retikulumdaki eritropoietin reseptörüne bağlanır. Eritropoietin reseptörüne bağlandığında, JAK2'nin fosforillenmesi ve aktive olması ile reseptörde yapısal değişikliğe neden olur [36]. Aktive JAK2; reseptörün sitoplazmik parçasını fosforilleyerek, intrasellüler sinyal kaskatını başlatır [36].

2.3.b. JAK2 V617F MUTASYONU VE SİNYAL İLETİMİNE ETKİLERİ

JAK2 mutasyonu; JAK2'nin psödokinaz parçasının 617. kodonunda valinin fenilalanin ile yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkar. Bu mutasyon, miyeloproliferatif hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilen ilk genetik gösterge olması nedeni ile önem

kazanır. Sensitif yöntemler ile PV'lı hastaların %90-95'inde, ET'li hastaların %50-60'ında ve PMF'li hastaların %40-50'sinde mutasyon olduğu saptanmıştır [25, 37, 38].

JAK2 mutasyonuna hipereozinofilik sendromda, kronik miyelomonositer lösemi, kronik nötrofilik lösemi, miyelodisplastik sendrom veya akut miyeloid lösemide (AML) nadiren rastlanmıştır. Ancak solid tümörlerde ve lenfomada saptanmamıştır [39, 40]. Özellikle yaşlı AML hastalarında saptanan mutasyonun, önceden tanısı konulmamış miyeloproliferatif hastalık anlamına gelebileceği düşünülmüştür. Yine JAK2 mutasyonu, nedeni açıklanamamış Budd-Chiari sendromu olan hastaların %50'sinde pozitif saptanmıştır. Bu hastaların çoğunda hipersplenizm nedeniyle hemogram bulguları normal bulunabilir. Ayrıca kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisindeki bulgular hipersplenizm ile miyeloproliferatif hastalık ayırımını yapmak için yeterli olmayabilir. Bu hastalarda JAK2 mutasyonu tanı için en önemli belirteçtir [41].

Valin 617, JAK2'nin psödokinaz parçasında bulunur (JH2). Bu kısım JAK2'nin kinaz parçası ile büyük benzerlik gösterir (JH1). Ancak katalitik aktiviteden yoksundur. JAK2 JH2 delesyonu, artmış JAK2 kinaz aktivitesine neden olur. Bu durum, JAK2'nin psödokinaz parçasının otoinhibitör rol oynadığını düşündürür [42]. Valinin fenilalanin ile yer değiştirmesi ile otoinhibisyon ortadan kalkarak, sürekli kinaz aktivitesi oluşur. Biyokimyasal kanıtlar da JAK2 V617F'nin sürekli aktif bir tirozin kinaz olduğunu göstermiştir. Düşük miktarda JAK2 V617F, T hücrelerinde eksprese edildiğinde bile, güçlü şekilde otofosforilasyona neden olarak, sürekli kinaz aktivitesine neden olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak in vitro değerlendirmeler sonucunda JAK2 V617F'nin mutasyon taşımayan tipe (*wild type*) göre çok daha güçlü kinaz aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir [43].

JAK2 V617F'nin, eritropoietin reseptörü (EPOR) taşıyan Ba/F3 hücrelerinde eksprese edilmesi ile hücrelerin eritropoietinden bağımsız olarak büyüdüğü ve eritropoietin hipersensitivitesine sahip olduğu görülmüştür. Bu gözlem; PV'lı hastalarda ve ET'li hastaların çoğunda rastlanan eritropoietinden bağımsız büyüme ve eritropoietin hipersensitivitesi ile benzer bir durumdur [44]. EPOR bir homodimerik tip 1 sitokin reseptörüdür. Megakaryositik ve granülositik proliferasyonu kontrol eden sitokin reseptörleri de (trombopoietin reseptör (MPL), granülosit koloni stimüle edici reseptör (GCSFR)) homodimerik tip 1 sitokin reseptörleridir. EPOR'a benzer olarak JAK2

V617F'nin MPL veya GCSFR ile ko-ekspresyonu sonucunda hematopoietik hücrelerin sitokinden bağımsız olarak büyüdüğü ve JAK-STAT sinyal iletimini aktive ettiği görülmüştür [45].

JAK2 V617F'nin hematopoietik hücrelerde ekspresyonu proliferasyon ve hücre yaşamında önem taşıyan sinyal yollarında aktivasyona neden olur. Bunlar arasında STAT5, STAT3, MAP kinaz yolları bulunmaktadır [44, 45]. STAT5 normalde sitokin reseptör/JAK2 kompleksi tarafından fosforile edilir. Fosforile STAT5 daha sonra nükleusa geçerek, hedef gen transkripsiyonuna neden olur. STAT5'in hedef genleri arasında polisitemia vera eritroid progenitörlerinde eksprese edildiği bilinen, önemli bir antiapoptoik protein olan Bcl-X yer almaktadır [46]. STAT5 tarafından düzenlenen Bcl-X aktivasyonu polisitemia veranın patogeneğinde önem taşıyabilir. Son çalışmalarda hematopoietik progenitörlerde STAT5 veya Bcl-X'in sürekli aktivasyonunun spontan eritroid koloni formasyonuna neden olduğu gösterilmiştir [47]. Yine JAK2 V617F eritroid progenitörlerinde MAP kinaz yolları tarafından düzenlenen etkilerle apoptozisin azaldığı gösterilmiştir. JAK2 V617F eksprese eden hematopoietik hücreler insülin benzeri büyüme faktörü-1'e (IGF-1) karşı hipersensitifler. Bu durum, IGF-1'in miyeloproliferatif hastalıklarda hücrel büyüme ve diferansiyasyonunda rol oynadığını düşündürür [48].

V617F homozigotluğu miyeloproliferatif hastalıklarda anahtar rol oynar. Homozigotluk, 9p kromozomunda nokta mutasyonu sonrası, kırılma noktası JAK2 lokusu ile sentromer arasında dağılan mitotik rekombinasyonlar sonucu ortaya çıkar. PV'da JAK2 homozigot kan hücrelerinin sayısının zamanla arttığı gösterilmiştir. Bu durum, mutant progenitör hücrelerin proliferasyon ve hayatta kalma açısından daha avantajlı olmalarından kaynaklanabilir [49].

JAK2 homozigotluğunun, heterozigotluk durumuna göre hedef gen ekspresyonunda çok daha belirgin değişikliğe neden olduğu bilinmektedir [18]. Bu durum, mutasyonsuz (*wild type*) allelin inhibisyon etkisinin ortadan kalkması ve iki kat fazla V617F tarafından sinyal yollarının etkilenmesinden kaynaklanabilir [50].

2.3.c. JAK2 V617F NEGATİF MPH'LARDA DİĞER MUTASYONLAR

JAK2 V617F mutasyonunun keşfi ile PV, ET ve PMF'nin patogenezinin aydınlatılmasında önemli yol alınmıştır [34]. Ancak JAK2 V617F negatif olan ET ve PMF'lerin etyolojisi aydınlatılamamıştır. JAK2 mutasyonu negatif PV, ET, PMF'li hastalarda EPOR, TPOR ve GCSFR üzerinde yapılan taramalar sonucunda, MPL'nin transmembran-jukstamembran bileşkesinde triptofan-lösin yer değiştirmesi sonucu oluşan bir mutasyon saptanmıştır (MPLW515L) [51]. Bu mutasyon, JAK2 V617F negatif PMF'li hastaların yaklaşık %10'unda ve ET'li hastalarda daha az oranda saptanmıştır. Az sayıda hastada 515. kodonda triptofan-lizin yer değiştirmesi ile oluşan alternatif bir mutasyona rastlanmıştır (MPLW515K) [52]. MPLW515L sinyali ile JAK-STAT aktivasyonunun, ET ve PMF için spesifik olduğunu düşündürür. MPLS505N mutasyonunun ailesel trombositoza yol açtığı gösterilmiştir. JAK2 V617F mutasyonu negatif olan ET ve PMF'li hastalarda JAK2 ekson 12 mutasyonu gösterilmiştir. En önemlisi; hem JAK2, hem MPL negatif olan ET ve PMF'li hastalar bulunmaktadır. JAK-STAT sinyal yolunun diğer genleri üzerinde yapılan taramalar ve yeni araştırmalar, ET ve PMF için yeni hastalık allellerini ortaya çıkarabilir [53].

2.3.d. JAK2 İNHİBİTÖR TEDAVİSİ

Bcr-abl pozitif KML'li hastalarda imatinib tedavisinin başarısı görüldükten ve imatinib refrakter KML'ye yönelik ikinci kuşak Bcr-abl inhibitörlerinin hızla geliştirilmesinden sonra, JAK2 V617F mutasyonunun keşfi ile benzer şekilde PV, ET ve PMF'li hastalarda moleküler tedavi umudu doğmuştur. JAK2 aktivitesine karşı spesifik olarak etki eden JAK kinaz inhibitörleri daha önceden belirlenmiş olsa da; prelinik ve klinik testler sonucunda bu bileşiklerin çoğunun potansiyel etkisinin olmadığı gösterilmiştir [54].

Günümüzde ET ve PV'da semptomatik ve sitoredüktif tedavi ile hastaların büyük bir kısmında tatmin edici sonuçlar elde edilebilmektedir. Ancak ileri derecede splenomegalisi ve sitopenileri olan, hipermetabolik bulguları (kilo kaybı, terleme vb) yaşam kalitesini bozan PMF'li hastalarda tedavi seçenekleri son derece sınırlıdır. Bu hastalarda JAK2 inhibitörleri ile oldukça başarılı sonuçlar bildirilmektedir [55].

2.4. POLİSİTEMİA VERA

2.4.1. POLİSİTEMİA VERA EPİDEMİYOLOJİ

Polistemia vera (PV) başta kırmızı kan hücreleri olmak üzere her üç hematopoietik hücre serisinin aşırı üretimi ile karakterize, kazanılmış miyeloproliferatif bir hastalıktır. Hastalığa neden olan mutasyon sonucu dönüşüme uğramış hematopoetik kök hücre zamanla baskın miyeloid öncül hücre haline gelmektedir [56].

PV, klinik olarak diğer miyeloproliferatif hastalıklardan (MPH), 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 [56].

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 [57], Bcl-x (bir apoptoz inhibitörü) regülasyon bozukluğu [46], eritrosit öncüllerinde (BFU-E, CFU-E) protein tirozin fosfataz ekspresyonu artışı, periferik kan granulositlerinde polistemia rubra vera (PRV)-1 geni aşırı ekspresyonu [58, 59], 9p kromozomunda heterozigote kaybı gibi anormallikler de tanımlanmıştır [56].

Son yıllarda Philedelphia kromozomu negatif [Ph (-)] kronik MPH’lerde JAK2 V617F mutasyonunun tanımlanması PV patogenezi açısından önemli bir keşif oldu [60]. Hastalığın progresyonu ile kemik iliğinde gözlenen fibroblast birikimi ise anormal klonun bir parçası olmayıp, muhtemelen çoğalan megakaryositlerin ürettiği ‘‘platelet derived fibroblast growth faktör (PDGF)’’ etkisine bağlıdır [56].

PV genellikle altıncı dekatta ortaya çıkan sinsi bir hastalıktır [56]. Hastaların yaklaşık olarak %60’ı erkektir [61]. Minnesota’da yapılan bir çalışmada PV insidansı 1,9 olgu/100.000 populasyon /yıl olarak bildirilmiştir [61]. Ortalama yaşam beklentisi tedavi edilmeyen olgularda 6-18 ay, tedavi ile 11-15 yıl olarak saptanmıştır [62].

2.4.2. POLİSİTEMİA VERA TANISI

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 [8, 9, 63] (Tablo-2).

Tablo-2: Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterleri 2001

A kriterleri:
1.Arılmış 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>400x10 ⁹ /L
2.Lökositoz>12x10 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 [8, 9].

PV tanısı için yaygın olarak kullanılan bir sınıflamada PV çalışma grubu(PVSG) tarafından hazırlanmış olmaktadır. 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 [56, 62] (Tablo-3).

Tablo-3: PV çalışma grubu(PVSG) 2006

Majör kriterler:
1.Artmış kırmızı hücre kitlesi(erkeklerde $\geq 36\text{mL/kg}$, kadında $\geq 32\text{mL/kg}$)
2.Arteriyel oksijen saturasyonu ≥ 92
3. Splenomegali
Minör kriterler:
1.Platelet sayısı $>400.000 /\mu\text{L}$
2.Beyaz küre sayısı $>12.000/\mu\text{L}$
3.Lökosit alkalen fosfataz skoru >100
4.Serum vitamin B12 seviyesi $>900 \text{ pg/mL}$ veya serum serbest B12 bağlama kapasitesi $>2200\text{pg/mL}$

Sekonder polistemi nedenlerinin dışlandığı bir hastada polistemi vera tanısı için iki majör ve bir minör kriter veya ilk majör kriterle beraber iki minör kriter varlığı gereklidir [64] (Tablo-4).

Tablo-4: PV tanı kriterleri 2008

Majör Kriterler:
1.Erkeklerde Hb $> 18.5 \text{ g/dl}$, kadınlarda Hb $> 16.5 \text{ g/dl}$ olması veya artmış eritrosit kütesine işaret eden diğer bulguların bulunması (erkeklerde >17 , kadınlarda $>15 \text{ g/dl}$ olan ve demir eksikliğinin yerine konması ile ilişkilendirilemeyen $>2\text{g/dl}$ hemoglobin artışı veya normal değere göre $\%25$ 'in üzerinde artmış eritroid kütle indeksi)
2.JAK2 V617F mutasyonu veya JAK2 exon12 gibi fonksiyonel olarak benzerlik gösteren mutasyonların varlığı
Minör Kriterler:
1.Yaşa göre hiperselüler kemik iliği; her üç dizide de (eritroid, granülositer ve megakaryositer) belirgin proliferasyon
2.Eritropoetin düzeyinin normal referans değerlerinin saptanması
3.İn vitro endojen eritroid koloni oluşumunun gösterilmesi

2.4.3. POLİSİTEMİA VERADA KLİNİK ÖZELLİKLER

Baş ağrısı, halsizlik, kaşıntı, baş dönmesi, kulak çınlaması, terleme PV' de sık karşılaşılan yakınmalardır. Bunun yanında bazı PV hastaların asemptomatik olup,

herhangi bir nedenle tam kan sayımı yapıldığında rastlantısal olarak hematokrit yüksekliği saptanması sonrasında tanı alır [56].

PV'de ortalama üç olgudan birinde gözlenen trombotik olaylar bu hastalar için majör mortalite ve morbidite nedenidir [56]. 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 [65, 66]. Hiperviskoziteye bağlı gelişebilen anjina pectoris ve nörolojik bulguların sorgulanması önemlidir [56]. Tromboz ile çelişkili gibi görünmekle birlikte, kalitatif trombosit bozukluğu ve peptik ülser hastalığının artmış insidansı PV olgularında gastrointestinal hemoraji ile kliniğe yansıyabilmektedir [56].

Bazı hastalar için özellikle sıcak bir banyodan sonra görülen kaşıntı ön plandaki semptom olabilir. Hastaların yaklaşık olarak %49 kadarında kaşıntı yakınması mevcuttur. Bu durumun sebebi olarak bazofil sayısındaki artışa ikincil histamin salınımı öne sürülmektedir [67]. Kaşıntı patogenezinde “kütanöz mast hücre degranulasyonu” (histamin) yanı sıra, fibrinolitik faktörler, ketakolaminler ve prostaglandinlerin de rol oynadığı düşünülse de, henüz kesin olarak kanıtlanmamıştır [67, 68].

El ve ayaklara kızarıklık ve morarmanın eşlik ettiği ağrı ve yanma hissi olarak tanımlanan 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 [56].

PV'de sık karşılaşılan fizik muayene bulguları olarak plethora, splenomegali ve hepatomegali dikkati çeker. Sırasıyla bu üç bulgu, PV çalışma grubunun (PVSG) verilerine göre %70, %67 ve %40 oranlarında izlenmektedir [56]. Serum viskozitesindeki artmış kan basıncıda yükselmelere neden olabilir. Daha az rastlanan bulgular ise deride oluşan ekskoriyasyonlar, eski trombotik olaylara bağlı olan deri üzerinde ki lekelenmeler, optik fundus venlerinde tıkanmalar ve gut artriti olarak bildirilmektedir [56].

Miyelofibrozis, splenomegali ve anemi PV olgularında hastalığın postpolistemik miyeloid metaplazi döneminde olduğunu gösterir. Geçmişte flebotomi gereksinimi olan olguların transfüzyona bağlı hale gelebildiği bu dönem, PV'nin terminal bir

komplifikasyonudur. PV'de akut lösemiye transformasyon riski (lösemik faz) artmıştır. 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 [56].

PV'nin en temel laboratuvar bulgusu artmış hemoglobin ve eritrosit sayısıdır. Geçmişte PVSG tarafından majör 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 [69].

PV'de eritrosit morfolojisi normaldir. Bununla birlikte demir eksikliğini 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 [56].

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 [70, 71].

PV'de nötrofil hastaların çoğunda mevcut olup, lökosit sayısı genellikle 10-20 x10³/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. Bazofili ve eosinofili genellikle mevcuttur [56].

Hastaların yarısında değişken derecede trombositoz bulunur ve bazen 1X10⁶ /μL değerlerini aşabilir. Trombosit morfolojisi normaldir. Kazanılmış von Willebrand hastalığı (VWH) PV ve diğer miyeloproliferatif bozukluklarda gözlenebilen kalitatif bir trombosit bozukluğu olarak bildirilmektedir [56]. Bu hastalarda konjenital 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 [56].

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 [56].

Eritrositozu olan hastanın ilk değerlendirmesinde serum Epo düzeyi ölçümü her ne kadar önemli olsa da PV tanısını doğrulamada serum Epo düzeyini normal veya yüksek bulunması 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 [8, 9, 63].

2.4.4. POLİSTEMİYA VERA JAK2 MUTASYONU

Yapılan araştırmalar JAK2 V617F exon 14 mutasyonunun sağlıklı kişiler ve sekonder polistemisi olan kişilerde bulunmama ile birlikte, PV tanısı olan kişilerde %95-97 oranında saptandığını ortaya koymuştur [72, 73]. 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 yarısında saptanabilmektedir [56].

Dikkat çekici bir başka nokta ise yüksek mutasyon seviyeleri ile yüksek granülosit sayıları arasında saptanan bir ilişkidir [74]. Bu olgu lökositozu olan hastalardaki yüksek tromboz sıklığını açıklamaya yardım edebilir [49].

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 [69]. Homozigot olguların geriye kalan 45 heterozigot olguyla karşılaştırıldığında, bu olgularda kaşıntı yakınmasının daha sık, hemoglobin seviyelerinin daha yüksek, fibrozis gelişim oranının artmış ve periferik

kandaki granüositlerde PRV-1 transkript seviyelerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Bununla birlikte homozigot ve heterozigot hastalar arasındaki hastalık süresi, trombos ve kanama insidansları arasında anlamlı fark bulunmamıştır [69].

Başka bir çalışmada JAK2 V617F mutasyonu periferik kandaki granüositler yerine BFU-E hücrelerinde incelendiğinde, 17 hastanın tamamında mutasyonun homozigot olduğu, ET tanısı olan 15 hastanın ise hiçbirisinde homozigot mutasyonun bulunmadığı görülmüştür [49].

PV tanısı 114 hastanın incelendiği bir çalışmada ise 111 hastada (%97) V617F exon 14 mutasyonu pozitifken geriye kalan üç 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 [5]. Exon 14 V617F mutasyonu pozitif olan hastalarda exon 12 mutasyona rastlanmamıştır [73].

2.4.5. POLİSİTEMİA VERADA PROGNOZ

PV tanısı olan ve tedavi edilmeyen semptomatik hastaların ortalama sağ kalım süresi 6 ile 18 ay arasında kabul edilirken, tedavi ile bu süre 10 yılın üzerine çıkmaktadır [62]. 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 [61]. 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 [56].

Trombotik olaylar temel olarak hiperviskozite ile ilişkilidir [75]. Başta akut koroner sendrom ve inme olmak üzere, derin ven trombozu, pulmoner embolizm, hepatik ven trombozu gibi komplikasyonlar görülebilir [56]. Klinik çalışmalar ileri yaş (> 60 yıl) ve geçirilmiş tromboz öyküsü varlığının kardiyovasküler olay gelişimi için

risk faktörü olabileceğini ortaya koymuştur [62, 75]. 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/ μ L'den büyük olmasını bağımsız risk faktörleri olarak göstermiştir [76]. 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 ($>1,5 \times 10^6/\mu$ L) ve diğer kardiyovasküler risk faktörlerinin var oluşu da prognoza olumsuz etki etmektedir [76].

PV'de hastalığın miyeloid metaplazili miyelobroza veya lösemiye (AML veya MDS) dönüşümü olası bir mortalite nedenidir [75]. 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 [62, 77]. Sekonder miyelofibroz gelişimi için ise ileri yaş (> 60 yıl) ve hastalığın süresi risk oluşturmaktadır [62, 76]. Hastalık süresinin 10 yılı aşması durumunda miyelofibroz gelişimi için relatif risk 15,2 olarak gösterilmektedir [76].

2.4.6. POLİSİTEMİA VERA TEDAVİSİ

PV'de tedavi uygulanırken hastanın semptomlarının ortadan kaldırılması, uzun dönem komplikasyonların (trombotik olaylar, kanama, miyelofibroz, akut lösemi ve diğer maligniteler) önlenmesi amaçlanır [78]. 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 [56]. Bunun yanında radyoaktif fosfor (^{32}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}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 asetil salisilik asit ve dipiridamol eklenmiş, lökomojenik etkiyi azaltmak amacı ile diğer kolda hidroksiüre kullanılmıştır [56].

Benzer bir çalışmada miyelosupresif ilaçlara karşın, flebotomi ile birlikte yüksek doz asetil salisilik asit ve dipridamol kombinasyonu mukayese edilmiş ve özellikle trombosit sayısı 930.000/ μ L ve üzerinde olanlarda ciddi hemorajik komplikasyonlar gelişmiştir [79]. PV’de düşük doz asetil salisilik asitin (40-81 mg/gün) güvenli ve trombozdan koruyucu olduğu görülmüştür [80].

Flebotomi: PVSG tedavi önerilerine göre hematokrit seviyesini erkekler için % 45, kadınlar için ise % 42 seviyelerinin altında tutacak şekilde flebotomi sıklığı ayarlanmalıdır [81]. Miyelosupresif tedavi aralıklı flebotomi ile kombine edilebilir. Flebotomi uygulamaları demir eksikliğini beraberinde getirir ancak demir desteği verilmemelidir [56].

Hidroksiüre: Yapılan çalışmalarda hidroksiüre tedavisi ile trombosit sayısı 600x10³/ μ L ve hematokrit % 50 sınırının altında tutulduğunda ve sadece aralıklı flebotomi uygulanarak izlenen hastalarla mukayese yapıldığında tromboz sıklığında anlamlı azalma görülmüş, bununla birlikte hidroksiüre kullanılan grupta izlenen akut lösemi sıklığındaki artış ise istatistiksel anlama ulaşmamıştır [56, 82]. 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 [56].

Anagrelid: Anagrelid megakaryosit gelişiminin postmitotik safhalarını inhibe eden kinazolin türevi trombositopenik bir ilaçtır. 2 mg/gün (0,5 mg p.o. 6 saatte bir) dozunda ET hastaları ve trombositinin 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 [83].

Uygun sitoredüktif tedavi PV ve ET’de sadece trombotik değil, aynı zamanda hemorajik komplikasyonların da önlenmesine yardımcı olur [56]. Trombosit sayıları

1milyon/ μ L değerinin üzerinde olan hastalar için günde 100 mg'dan fazla asetil salisilik asit kullanımının kanama riskini artırdığı görülmüştür [60]. Bunun başlıca nedeni trombosit sayılarının çok yükseldiğı durumlarda gelişebilen kazanılmış von Willebrand hastalığıdır. Her iki hastalık için de trombosit sayısının 600,000/ μ 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) asetil salisilik asit kullanımı önerilmektedir [80]. 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 bozukluktur. Eritromelaljiyi, düşük doz asetil salisilik asit (50-100 mg/gün) kullanımı ya da miyelosupresif tedavi ile trombosit sayısını 400,000/mikroL seviyesinin altına indirerek ortadan kaldırmak mümkündür [84].

İnterferon-alfa: PV'de İnterferon-alfa (IFN- α) (haftada 3 kez subkutan 3 milyon ünite) kullanımı ile eritrositozun başarılı bir şekilde kontrolü gösterilmiştir[85]. Diğer yandan hidroksiüre, IFN- α ile kıyaslandığında fiyat ve yan etki profili açısından oldukça avantajlıdır. IFN- α ile tedavi edilen hastalarda yan etkiler nedeniyle tedavinin bıralıkması sık rastlanılan bir durumdur [85]. Benzer yan etki profili haftada bir kez uygulanan pegile interferon ile de ortaya çıkmaktadır [82]. IFN- α refrakter kaşıntı yakınması olan hastalar ve yüksek riskli gruptaki doğum yapabilecek kadın hastalar için uygun tedavi seçeneğidir [86].

32P ve diğer alkilleyiciler lökomojenik etkileri nedeniyle tercih edilmeseler de, yaşam beklentisi 10 yıldan daha kısa olan refrakter hastalar için denenebilirler [87].

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 [56].

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 [56].

2.5. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ

2.5.1. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ EPİDEMİYOLOJİ

Esansiyel trombositemi (ET), reaktif trombositoz (RT) ve kronik miyeloid bozuklukların varlığının dışlanması ile doğrulanabilir bir tanıdır [88].

Gerek trombopoietinin (TPO), gerek trombopoietin reseptörünün (c-MPL) ET patogenezi katkısı gösterilebilmiş değildir [52]. Buna karşın ailesel otozomal dominant ET’de TPO veya c-Mpl genlerindeki aktive edici mutasyonlar TPO ilişkili trombositoza neden olmaktadır [8]. ET hastalarında serum TPO seviyeleri beklenmedik şekilde normal veya yüksek izlenmiştir [89].

Kemik iliğindeki stromal üretim artışının bu durumu açıklık getirebilmesi olasıdır [90]. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzim temelli çalışmalar ET’nin tıpkı PV gibi klonal bir hastalık olduğunu göstermiştir [91]. Buna rağmen X kromozomuna bağlı klonalite çalışmalarında yaşlı kadın hastaların yarısında monoklonal hematopoez, yarısında ise poliklonal hematopoez saptanmıştır [88].

Epidemiyolojik çalışmalarda ET’nin yıllık insidansı 100,000 popülasyonda 2,5 yeni vaka olarak saptanmıştır [92]. Ortalama tanı yaşı 60 olup kadın hastaların sayısı erkek olanlardan yaklaşık iki kat daha fazladır [93]. On yıllık sağ kalım süresi % 61-84 olarak belirtilmiştir ki bu da normal veya normale yakın bir yaşam beklentisi demektir [94, 95].

2.5.2. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ TANISI

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 [88]. Bu anlamda, ET’den mutlaka ayırımı yapılması gereken durumlar KML, PV, PMF, MDS ve RT olarak sıralanabilir [6, 88].

Dünya sağlık örgütü esansiyel trombositemi tanısı için Tablo 5’ de belirtilen üç kriterin varlığını yeterli bulmaktayken [96], hastalığın genetik belirtecini yansıtan JAK2 mutasyon varlığının gösterilmesiyle 2008 yılından itibaren tanı kriterleri değişmiş [64] ve günümüzde Tablo 6’da belirtilen yeni tanı kriterleri kullanılmaya başlanmıştır.

Tablo-5: Esansiyel Trombositemi tanı kriterleri- 2001

DSÖ (2001) Kriterleri
1. Trombositoz ($> 600000/\text{mm}^3$)
2. Morfolojik olarak artmış sayıda büyük ve olgun megakaryositlerin varlığı ile karakterize megakaryositer dizi proliferasyonu ile giden kemik iliği
3. KML, PV, PM, MDS veya diğer miyeloid neoplazilerin dışlanmış olması
<i>Esansiyel trombositemi tanısı için her üç kriterin de varlığı gereklidir</i>

(Tablo-5).

Tablo-6: Esansiyel Trombositemi tanı kriterleri- 2008

DSÖ (2008) Kriterleri [64]
1. Trombositoz ($> 450000/\text{mm}^3$)
2. Morfolojik olarak artmış sayıda büyük ve olgun megakaryositlerin varlığı ile karakterize megakaryositer dizi proliferasyonu ile giden, granülopoiez ve eritropoiezde anlamlı artışın eşlik etmediği kemik iliği
3. KML, PV, PMF, MDS veya diğer miyeloid neoplazilere ait DSÖ tanı kriterlerine uymayan hastalık bulguları
4. JAK2 ^{V617F} veya diğer klonal belirteçlerin varlığının gösterilmesi; JAK2 ^{V617F} yokluğunda reaktif trombositozu işaret eden bulguların olmaması
<i>Esansiyel trombositemi tanısı için her dört kriterin de varlığı gereklidir</i>

ET’de klonal sitogenetik anormalliklerin insiansı yaklaşık % 5’dir ve bu anormalliklerin hiçbirisi ET için tanısız özelliğe sahip değildir [59]. Periferik kandaki granulositlerde PRV-1 geni aşırı ekspresyonu PV ve ET’de için bildirilmiş olup, sekonder eritrositozda ise gösterilmemiştir [89]. Serum TPO seviyeleri ise ET ve RT’de genellikle yüksek saptanacağından ayırım açısından kıymet oluşturmaz [89].

2.5.3. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİNİN KLİNİK ÖZELLİKLERİ

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 pareteziler, livedo retikülaris, eritromelalji ve geçici vizuel bozukluklar olarak sayılabilir [6, 95].

ET’de trombosit sayısı artışı ve buna eşlik eden kalitatif trombosit bozuklukları tromboz veya kanama komplikasyonlarına neden olur [97].

ET’de miyeloid metaplazili myelofibroza ve polistemia veraya dönüşebilir[95]. PMF’ye dönüşüm insidansı daha yüksektir [98]. AML’ye dönüşüm de olasıdır. Retrospektif çalışmalarda 3-7 yıllık izlemde % 0,6-5 oranında lösemik dönüşüm rapor edilmiştir [6, 98].

ET’nin en önemli fizik muayene bulgusu hastaların % 25-48’inde saptanan palpabl splenomegalidir [6]. PMF’ye dönüşüm durumunda ise splenomegali kaçınılmazdır. Hepatomegali ve lenfadenopati nadir bulgulardır [95].

2.5.4. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ VE JAK2 MUTASYONU

Yapılan araştırmalar ET tanılı hastaların yaklaşık % 50 kadarında JAK2 V617F mutasyonunun varlığını ortaya koymuştur [8, 97, 99]. 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 [37].

Bu mutasyonun varlığı ile ET’nin klinik seyri ve laboratuvar bulguları arasında çok net bir ilişki gösterilebilmiş değildir [6, 8]. 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 [52]. Bir başka çalışmada mutasyonu gösteren ET hastalarında daha yüksek hemoglobin

seviyeleri ve tromboz insidansı izlenmiştir [100]. Yine benzer bir çalışmada ise mutasyonu gösteren ET olgularında artmış tromboz insidansı ile birlikte yalnızca lökosit sayılarındaki artış dikkati çekmektedir [90].

2.5.5. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ DE PROGNOZ

ET tanısı olan hastaların çoğu hastalık ilişkili komplikasyonlar olmaksızın normal bir yaşam beklentisine sahiptir [94, 101]. AML veya miyelofibroz gelişimi nadir bir durumdur [93]. 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 [52]. 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 [99]. Bunlar içinde ileri yaş ve lökositoz en belirleyici olanlardır. 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 [14]. 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/ μ L’nin altında seyrettiği sürece düşük doz aspirin (81 mg/gün) kullanımı bu riski artırmamaktadır [14, 93, 102].

Lökositozun trombotik komplikasyonlar için bağımsız bir risk faktörü olduğu da vurgulanmaktadır [103]. Bu bilgilerin ışığında ET hastaları tromboz ve hemoraji açısından düşük, orta ve yüksek riskli olmak üzere üç grupta sınıflandırılabilir [102] (Tablo-7).

Tablo-7: Tromboz risk skoru

Düşük Risk	1. Tanı anında 60 yaşın altında olmak 2. Tromboz öyküsünün olmaması 3. Platelet sayısının 1 milyon/ μ L'nin altında olması Hastanın düşük riskli olarak tanımlanması için aşağıdaki özelliklerin tamamına sahip olması gerekmektedir.
Yüksek Risk	1. Tanı anında 60 veya daha büyük yaşta olmak 2. Tromboz öyküsünün bulunması ET hastaları aşağıdaki özelliklerden en az bir tanesine sahip ise, yüksek riskli olarak değerlendirilirler.
Orta risk	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 [6]. En sık vazomotor komplikasyonlar görülür ve bunların çoğu düşük doz asetil salisilik asit (40-81 mg/gün PO) kullanımı ile kontrol altına alınabilir [104]. ET hastalarının % 20 kadarının trombotik olaylar ile prezente olduğunu göstermektedir [104, 105]. Düşük risk grubundaki hastalarda trombotik olaylarla çok nadiren karşılaşılır, bu nedenle potansiyel zararları bulunan ilaçların kullanımı sakıncalı görülmektedir [105].

2.5.6. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ TEDAVİSİ

ET için düşük doz asetil salisilik asit (75-325 mg/gün) kullanımının sitoredüktif tedavi altında olmayan hastalarda trombotik komplikasyonları azalttığı ve vazomotor komplikasyonları (eritromelalji, paresteziler) önlediği gösterilmiştir [6].

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/ μ L aralığında tutabilecek bir doz ile idame edilir [6, 93].

Anagrelid: İnsanlarda trombosit sayısını azaltıcı etkisi de bulunan, trombosit anti-siklik AMP fosfodiesteraz aktivitesi sayesinde trombosit agregasyonunu inhibe eden bir oral imidazokinazolin türevidir [106]. Anagrelid için başlangıç dozu günde 1,5 mg (3 bölünmüş doz halinde) olup, 1-4 mg/gün dozlarda idame yapılır [6, 83].

Başta KML olmak üzere tüm kronik myeloproliferatif hastalıkların kontrolü için etkinliği bulunan IFN- α yüksek fiyatı ve yan etki profili nedeniyle ilk tercih olmaktan uzaktır. Bununla birlikte gebelerde sitoredüktif ilaçların kullanımını sakıncalı olacağından tedavi gerektiren durumlarda interferon tercih edilir [6].

2.6. PRİMER MİYELOFİBROZİS

2.6.1. PRİMER MİYELOFİBROZİS EPİDEMİYOLOJİSİ

Primer miyelofibrozis (eski adı ile agnojenik miyeloid metaplazi) DSÖ tarafından kronik idiyopatik miyelofibrozis olarak isimlendirilmiştir [107]. Primer miyelofibrozis (PMF) miyeloid hücrelerin değişken morfolojik maturasyonu ve klonal proliferasyonu ile karakterize bir myeloproliferatif hastalıklardır (MPH) [7, 108].

PMF MPH'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 [7, 107]. Yaklaşık olarak 40 yaş öncesi tanı alanlar hastaların %5'ini, 50 yaş öncesi tanı alanlar ise %17'sini oluşturur [109].

2.6.2. PRİMER MİYELOFİBROZİS TANISI

PMF tanısında fibrozisin gösterilmesi ve malignitenin dışlanması için kemik iliği biyopsisi yapılmalıdır [7]. Biyopsi ile kemik iliğindeki fibrozis gösterildikten sonra PMF tanısının doğrulanması için kemik iliği fibrozisine yol açabilecek ikincil nedenler dışlanmalıdır. Bu nedenler arasında kronik myeloproliferatif hastalıklar, MDS, akut lösemiler, lenfoid hastalıklar, metastatik kanserler, bağ doku hastalıkları, enfeksiyonlar, D vitamini eksikliği sayılabilir [8].

PMF için tanı kriterleri (İtalyan Konsensüs Konferansı) Tablo-8'de belirtilmiştir [7, 110].

Tablo-8: PMF tanı kriterleri: İtalyan Konsensüs Konferans

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 [8] (Tablo-9). PMF tanısı için üç majör kriterin hepsinin bulunması ve bunun yanına en az iki adet minör kriterin eklenebilmesi öngörülmektedir.

Tablo-9: PMF DSÖ Tanı Kriterleri 2008

Majör kriterler:
1. Kemik iliğinde retikülin ve/veya kollajen lif artışının (fibroz) eşlik ettiği megakaryositer proliferasyon ve atipi veya retiküler fibrozun eşlik etmediği durumlarda megakaryositlerdeki değişikliklerle birlikte artmış hücresellik, granülositer proliferasyon ve sıklıkla azalmış eritropoiez (prefibrotik sellüler evre) bulunmalıdır 2. KML, PV, MDS veya diğer miyeloid neoplazilere ait DSÖ tanı kriterlerine uymayan hastalık bulguları 3. JAK2 V617F veya diğer klonal belirteçlerin varlığının gösterilmesi; JAK2 V617F yokluğunda reaktif (sekonder) kemik iliği fibrozuna işaret eden bulguların (enfeksiyon, otoimmün hastalıklar, kronik inflamatuvar durumlar, saçaklı hücreli lösemi veya diğer lenfoid neoplaziler, metastatik malinite veya toksik [kronik] miyelopatiler) olmaması
Minör kriterler:
1. Lökositblastoz 2. Serum LDH düzeyinde artış 3. Anemi 4. Splenomegali

2.6.3. PRİMER MİYELOFİBROZİSİN KLİNİK ÖZELLİKLERİ

PMF’de en sık rastlanan semptom hastaların % 50-70’inde görülen şiddetli halsizliktir [109, 111]. Olguların % 25-30 kadarı asemptomatiktir. Bazı hastalar ise (%5-20), kilo kaybı, ateş ve gece terlemesi gibi hipermetabolik duruma işaret eden semptomlara sahiptir [7, 111]. Asemptomatik olgular genellikle splenomegali, hepatomegali veya anormal kan sayımı nedeniyle incelenirken tanı almaktadır. PMF’deki karaciğer ve dalak büyümesine ekstramedüller hematopoez yol açar [7]. Splenomegali PMF’nin en önemli klinik bulgusu olarak karşımıza çıkar ve hastaların % 90’dan fazlasında mevcuttur [109]. 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 [7].

PMF’de hemen her organda ekstramedüller hematopoez odakları gelişebilir [7]. 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 [112]. Merkezi sinir sistemi tutulması durumunda intrakraniyal basınç artışı ve sensorimotor kayıplar gelişmesi olasıdır [7]. Cilt tutulumu ise eritamatöz plaklar, nodüller, ülser ve bülleler şeklinde izlenebilen nadir bir tablodur [113].

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 görünümlemler olabilmektedir. Periostit hastayı yatağa bağımlı hale getirebilecek kemik ağrılarına yol açabilir [14]. Ürik asitin aşırı üretimine bağlı gelişen gut akut monoartiküler ya da kronik poliartiküler artrite neden olabilir [7].

Anemi PMF'nin en önemli laboratuvar bulgusu olarak ortaya çıkar. Hastaların yaklaşık yarısında hemoglobin 10g/dl'nin altındadır [109]. 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 [114]. Anemi başlangıcından sonra hastaların birçoğunda tekrarlayan eritrosit transfüzyonlarına gereksinim ortaya çıkar. Periferik kan yaymasında anizositoz, poikilositoz, gözyaşı hücreleri (dakrositler) görülmektedir [7].

PMF'de tanı anında belirgin lökositoz ($>30,000/\mu\text{L}$) ve trombositoz (platelet sayısı $>500,000/\mu\text{L}$) olabileceği gibi lökopeni ve trombositopeni de görülebilir [109].

Lökoeritroblastik kan tablosuna bağlı olarak nötrofilik serinin immatür hücreleri periferik yaymada izlenir. Hastalığın progresyonu ile trombositopeni belirginleşir. Platelet fonksiyon bozuklukluğ olabilir ancak genellikle kanamaya yol açmaz [7].

Tedavi altında olmayan hastalar için PMF'nin diğer Ph negatif kronik MPH'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 $300 \text{ hücre}/\mu\text{L}$ ' den fazla olan hastalarda ortalama sağ kalım ve blast krizine gidiş süresinin kısaltıldığı saptanmıştır [115].

Kemik iliği fibrozu hastalığın 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 [7].

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 [7].

Akut lösemi daha önce alkilleyici 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 [116].

2.6.4. PRİMER MİYELOFİBİROZİS VE JAK2 MUTASYONU

Birçok yayında PMF hastalarının % 40-50'sinde JAK2 gen mutasyonu gösterilmiştir [7, 8, 117]. 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 [7, 8]. 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 [37].

2.6.5. PRİMER MİYELOFİBİROZİSDE 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 [7].

Epidemiyolojik bir çalışmada üç yıllık sağ kalım oranı % 52 olarak saptanmıştır [87]. 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 saptanmıştır. Splenomegali ve kemik iliğindeki fibrozis derecesinin sağ kalımı olumsuz etkilediği görülmemiştir [87, 118].

Bu bulgulara göre; aşağıdaki iki risk faktörüne de sahip olan hastalar lösemik dönüşüm, tromboz ve kanama açılardan yüksek riskli, bir risk faktörü olanlar orta riskli ve risk faktörü bulunmayanlar ise düşük riskli kabul edilirler [118, 119].

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

2.6.6. PRİMER MİYELOFİBİROZİS TEDAVİSİ

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 [7].

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Hastalar:

Hasta Grubu: Bu çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Hematoloji Bilim Dalı Polikliniğinde 1994 ile 2011 tarihleri arasında takip edilen Ph negatif kronik miyeloproliferatif hastalık (MPH) tanısı olan 106 hasta dahil edilmiştir.

Çalışmaya Dahil Edilme Kriteri: Dokuz Eylül Üniversitesi Hematoloji Bilim Dalı Polikliniğe ilk başvurdıkları tarih itibarı ile o tarihlerde geçerli klasik tanı kriterlerine ve güncellenmiş tanı kriterlerine göre MPH tanısı almış tüm hastalar çalışmaya dahil edildi.

Tanı Kriterleri: PV, ET ve PMF tanı kriterleri zaman içinde değişikliğe uğramıştır. Hastalar ilk tanı aldıkları tarihte geçerli olan kriterlere göre değerlendirilmiştir.

Trombotik olayın tanımlanması: Çalışmaya dahil edilen hastalarda MPH tanısı öncesi ve/veya sonrasına ait tüm trombotik olaylar kaydedilmiştir. Bunlardan klinik, laboratuvar ve/veya görüntüleme yöntemleri ile kanıtlananlar trombotik olay olarak kabul edilerek değerlendirmeye alınmıştır. Trombotik olaylar iki başlık altında ele alınmıştır:

-Venöz sistemi ile ilişkili: Venöz tromboembolizm (VTE) ile giden durumlar (derin ven trombozu [DVT], pulmoner emboli [PE], portal ven trombozu, splenik ven trombozu)

-Arteriyel sistemi ile ilişkili: Aterosklerotik ve/veya arteriyel tromboz ile seyreden (aterotrombotik damar hastalığı [ATDH]) klinik durumlar (miyokard enfarktüsü, koroner arter hastalığı, serebrovasküler olay, periferik arter hastalığı).

3.2.Yöntem:

Çalışma Planı:

Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı Polikliniğinde 1994 ile 2011 yılları arasında Ph negatif kronik miyeloproliferatif hastalık (MPH) tanısı ile takip edilen 106 hasta dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen hastalara ait yaş, cinsiyet, JAK2 gen mutasyon analizi, tanı esnasında hemoglobin, hematokrit lökosit değerleri, splenomegali varlığı, tromboz risk skoru, tromboz öyküsü, yandaş hastalıkları (hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabetes mellitus),sigara kullanımı öyküsü hasta takip dosyalarından geriye dönük olarak elde edildi. Tüm hastaların tromboz risk skorları hesaplanmıştır.

JAK-2 V617F MUTASYON ANALİZ YÖNTEMİ

Hasta örneklerinin toplanması:

Hasta kan örnekleri EDTA'lı tüplere alındı. Örnek numuneler buzdolabında +4 C de saklandı. İki hafta içinde DNA izolasyonları gerçekleştirildi. İzole edilen DNA örnekleri PCR analizi yapılana kadar -20 C'de saklandı.

DNA izolasyonu:

Genomik DNA; QiaAmp.DNA kit(Qiagen) kullanılarak izole edildi. İzolasyon protokolü aşağıdaki gibidir:

QIAamp DNA Mini Kit – Doku İzolasyonu

Başlamadan önce;

- Ø Örnekler oda sıcaklığına(15-25 °C) getirilir.
- Ø Su banyosu veya ısı bloğu 56°C dereceye ayarlanır.
- Ø Elüsyon işlemi için Buffer AE oda sıcaklığına getirilir.
- Ø Buffer AW1 ve buffer AW2 protokole göre hazırlanır.
- Ø Buffer AL içinde kristallenme varsa 56°C derecede inkübe edilir.

NOT: Tüm santrifüj basamakları oda sıcaklığında yapılır.

1. 20 µl Protease1,5 ml eppendorf tüp içerisine konur.
2. 200 µl kan eklenir.
3. Örnek üzerine 200µl Buffer AL eklenir. 15 saniye vortekslenir.
4. 56°C'de 10 dakika inkübe edilir.
5. Tüp kapaklarının iç tarafındaki damlaları tüpün içine almak için kısaca santrifüj edilir.

6. 200µl ethanol (96-100%) eklenir.10 saniye vortekslenir. Kısaca santrifüj edilir. Tüplerin içindeki karışım QIAGEN spin kolona aktarılır. Tüplerin kapağı kapandıktan sonra 6000xg (8000 rpm) hızda 1 dakika santrifüj edilir. Spin kolonun yerleştiği tüp atılır. QIAamp spin kolon temiz 2ml'lik collection tüpe yerleştirilir.
7. QIAGEN spin kolon dikkatlice açılır ve tüplerin içine 500µl Buffer AW1 eklenir. Tüplerin kapağı kapandıktan sonra 6000xg (8000 rpm) hızda 1 dakika santrifüj edilir. Spin kolonun yerleştiği tüp atılır. QIAamp spin kolon temiz 2ml'lik collection tüplere yerleştirilir.
8. QIAGEN spin kolon dikkatlice açılır ve kolon üzerine içine 500µl Buffer AW2 eklenir. Tüplerin kapağını kapattıktan sonra 20,000xg (14,000 rpm) hızda 3 dakika santrifüj edilir. Spin kolonun yerleştiği tüp atılır. QIAamp spin kolon temiz 2ml'lik collection tüpe yerleştirilir.
9. 20,000xg (14,000 rpm) hızda 1 dakika santrifüj edilir. Spin kolonun yerleştiği tüp atılır. QIAGEN spin kolon 1.5 ml'lik ependorf tüplere yerleştirilir.
10. QIAGEN spin kolonu dikkatlice açılır ve 200µl Buffer AE kolonun tam ortasına gelecek şekilde aktarılır. Kolonun kapağı kapatılır. 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir ve 6000xg (8000 rpm) hızda 1 dakika kadar santrifüj edilir. Üstteki kolonlar atılır.
11. Ependorf tüplerin içinde DNA örneği toplanır. Elde edilen DNA örnekleri PCR çalışılana kadar – 20 C de buzdolabında saklanır.

Allel spesifik Real-Time PCR:

Real-Time PCR yönteminde, JAK2 MutaScreen Kit & Reference Scale Assay(Ipsogen, Luminy Biotech, Marseille, France) Kit kullanıldı.

Üretici firmanın bildirdiği protokole uygun olarak PCR kurulumu gerçekleştirildi. Tagman hidroliz problemleri kullanılarak allelik diskriminasyon yöntemi ile, genomik DNA'daki Jak2-(WildType) ve Jak2V617F (mutant)alleller saptandı. Yöntemde iki spesifik Tagman probu kullanıldı. Her iki prob, allelere spesifik farklı floresans boya ile işaretlidir. Mutant allel(V617F) FAM ile işaretli prob ile , WildType allel ise VIC işaretli prob ile detekte edildi. İki allele spesifik olan boya ile vermiş

olduğu floresans Şiddeti Real-Time PCR yöntemiyle amplifiye edilerek eş zamanlı lld.

Real-Time PCR işlemi Rotor Gene-Q cihazında gerçekleştirildi. Cihazda uygulanan sıcaklık profili Őu Őekildedir; 95°C’de 10 dakika (enzim aktivasyonu) , 50 tekrarlık döngü 95°C’de 15 saniye, 60°C’de 60 saniye Şeklinde gerçekleŐti, ardından 60 °C’de 20 saniyelik veri toplama ile toplam floresan değerleri kaydedildi.

Bu allellere spesifik iki kanaldan elde edilen sonuçlar, Rotor Gene-Q yazılımı ile allelik diskriminasyon analizi yapılarak değerlendirildi. Pozitif kontrol (V617F), negatif kontrol (wild type), referans standart (%2 V617F), 5 adet değer belli standart (sıra ile %5, %12,5, %31, %50, %78 V617F) ve her bir hasta için mutant ve wildtype allelin sayısal değerleri Microsoft Excell programı kullanılarak hesaplandı. Mutant allelin değerinin wild allelin değerinin bölünmesi ile oranlar saptandı. Hasta örneklerinden elde edilen oranlar ile referans standartın (%2 V617F) oranları karŐılaŐtırıldı. Hasta örneğinin oranı, referans standartın (%2 V617F) oranından daha büyük ise sonuç “Jak2 mutant allelin” varlığını gösterir; mutasyonun sayısal değerleri ise hasta örneğinin oranının hangi standartlarının oranları arasında kaldığına bakılarak değerlendirildi ve yüzdelik olarak mutasyonun değerleri belirlendi. Hasta örneğinin oranı, referans standartın (%2 V617F) oranından kk ise sonuç negatiftir, sadece “wild type” allel saptanmıştır.

3.3. İstatistiksel Analiz:

Çalışmanın istatistiksel değerlendirmesi SPSS 15.0 for Windows software programı yardımıyla yapılmıştır. Retrospektif bir çalışma olması nedeniyle JAK2 mutasyonu varlığı ile tromboz ilişkisi odds oranları ve Ki-kare (Fisher kesin testi) kullanılarak araŐtırılmıŐtır. Odds oranın %95 olarak alınmıştır.

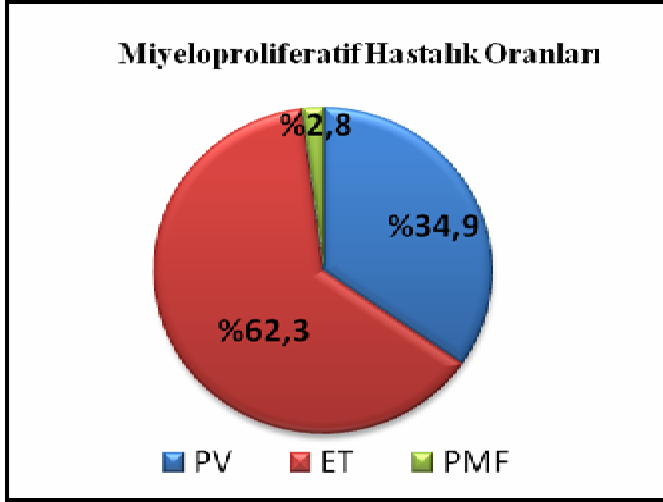
JAK2 (+) ve (-) hasta gruplarının JAK2 mutasyonu dışında tromboz geliŐimine katkıda bulunabilecek diğer olası etkenler açısından benzer olup olmadığı Student t testi ve Mann-Whitney U testi ile saptanmıştır. Student t testi, Mann-Whitey U ve ki-kare testleri için istatistiksel anlamlı fark $p < 0.05$ olarak kabul edilmiŐtır.

4.BULGULAR

4.1. HASTALARIN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ

Çalışmaya yaşları 26 ile 90 arasında değişen (ortanca 63) 37'si (%34,9) PV, 66'sı (%62,3) ET ve 3'ü (%2,8) de PMF tanılı toplam 106 Ph negatif miyeloproliferatif hastalık (MPH) tanısı almış hasta dahil edilmiştir (Şekil-1).

Şekil-1: MPH popülasyonunun dağılımı



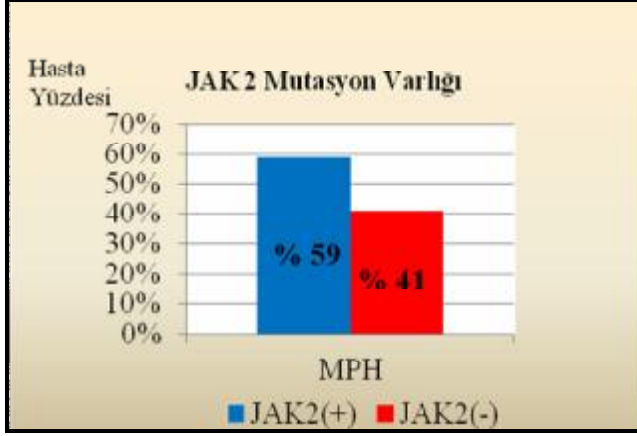
Çalışmaya dahil edilen hastaların 59'u (%55,7) erkek ve 47'si (%44,3) kadındı (Tablo-10).

Tablo-10: Demografik Veriler ve Tanı Grupları

	n=106
Yaş	63 (26 - 90)
Cinsiyet	Kadın % 44,3 (n=47) Erkek % 55,7 (n=59)
Tanı	Polisitemia Vera % 34,9 (n=37) Esansiyel Trombositoz % 62,3 (n=66) Myeloid Fibrozis % 2,8 (n=3)

106 hastanın JAK2 mutasyonu 63 hastada (%59) pozitif, 43 hastada (%41) negatif saptandı (Şekil-2).

Şekil-2: JAK 2 Mutasyon Varlığı



4.2. HASTALARDA TROMBOZ DAĞILIMI

Toplam 106 hastanın 20'sinde (%18) venöz tromboz, 34'ünde (%32) arteriyel tromboz, 14'ünde (%13) venöz ve arteriyel tromboz tespit edilmiştir. Bu hastalıkların dağılımını Tablo-11'de özetlenmiştir.

Tablo-11: Venöz Arteriyel Tromboz Dağılımı

Venöz Tromboz %18,8 (n=20)		Arteriyel Tromboemboli %32,0 (n=34)	
Bölge	Hasta Sayısı	Bölge	Hasta Sayısı
DVT	14	MI	4
PE	1	KAH	10
PVT	1	SVO	5
DVT+PE	2	PAH	1
PVT+SVT	2	SVO + MI	6
		KAH + SVO	7
		KAH + PAH+ SVO	1

Hipertansiyon 44 hastada (%41), diyabetes mellitus 16 hastada (%15), dislipidemi 22 hastada (%20), sigara kullanımı 20 hastada (%18), kronik atriyal fibrilasyon 8 hastada (%7) mevcuttu. Hastaların 27'si (%25) tromboz risk skoru açısından yüksek riskli saptandı (Tablo-12).

Tablo-12: Tromboz için Risk Faktörleri

Risk Faktörü	Risk Faktörüne Sahip Hasta Sayısı
Hipertansiyon	% 41,5 (n=44)
Dislipidemi	% 20,8 (n=22)
Sigara Kullanımı	% 18,9 (n=20)
Diyabetes Mellitus	% 15,1 (n=16)
Kronik Atriyal Fibrilasyon	% 7,5 (n=8)
Tromboz Risk Skoru	Düşük % 36,8 (n=39) Orta % 37,7 (n=40) Yüksek % 25,5 (n=27)

Tanı anındaki hemoglobin değerleri ortalama $14,51 \pm 2,64$ g/dl, hematokrit değerleri $\% 43,60 \pm 8,52$ lökosit değerleri $10250 (880 - 38000) /\text{mm}^3$, trombosit değerleri $702000 (57000 - 2175000) /\text{mm}^3$ saptandı. Splenomegali 32 hastada (%30,2) mevcut iken 74 hastada (%69,8) yoktu (Tablo-13).

Tablo-13: Tanı Anındaki Laboratuvar Değerlerinin Dağılımı ve Splenomegali Varlığı

Hemoglobin (g/dl)	$14,51 \pm 2,64$
Hematokrit (%)	$43,60 \pm 8,52$
Lökosit (/mm³)	10250 (880 – 38000)
Trombosit (/mm³)	702000 (57000 – 2175000)
Splenomegali	% 30,2 (n=32)

4.3. MİYELOPROLİFERATİF HASTALIK ALT GRUP ANALİZLERİ

Hasta özelliklerine alt gruplar temelinde bakıldığında PV'li hastalarda ortalama yaş 68 (26-83), erkek ve kadın sayısı sırasıyla 12 ve 25 idi. JAK2 pozitifliği %59 oranında bulundu. 37 hastanın 9'unda arteriyel, 6'sında venöz trombotik hastalık tespit edildi. Splenomegali %27'sinde mevcuttu. Tromboz risk skoru %24'ünde yüksek, %48'inde orta, %27'sinde düşük saptandı. Çevresel kan değerlerinde hemoglobin $16,81 \pm 2,14$ g/dl, hematokrit $\%50,68 \pm 6,83$, lökosit $11(3,9-26,4)/10^3 \text{mm}^3$ ve trombosit $400(127-893)/10^3 \text{mm}^3$ bulundu. Hipertansiyon %45 hastada, dislipidemi %18 hastada, sigara kullanımı %16 hastada, diyabetes mellitus %16 hastada saptandı (Tablo-14).

ET'li hastalarda ortalama yaş 60 (27-90), erkek/kadın oranı 34/32 idi. JAK2 pozitifliği %57 oranında bulundu. 66 hastanın 23'ünde arteriyel, 13'ünde venöz trombotik hastalık tespit edildi. Splenomegali %28'inde mevcuttu. Tromboz risk skoru %25'inde yüksek, %31'inde orta, %42'sinde düşük saptandı. Çevresel kan değerlerinde

hemoglobin 13,41±1,91 g/dl, hematokrit %40,17±6,64, lökosit 10,1(0,88-38)/10³mm³ ve trombosit 861(162-2175)/10³mm³ bulundu. Hipertansiyon %39 hastada, dislipidemi %22 hastada, sigara kullanımını %19 hastada, diyabetes mellitus %15 hastada saptandı (Tablo-14).

PMF'li hastalarda ortanca yaş 61 (53-63), erkek/kadın oranı 1/2 idi. JAK2 pozitifliği %100 oranında bulundu. 3 hastanın 2'sinde arteriyel, 1'sinde venöz trombotik hastalık tespit edildi. Splenomegali hastaların %100'ünde mevcuttu. Tromboz risk skoru %33'inde yüksek, %33'inde orta, %33'inde düşük saptandı. Çevresel kan değerlerinde hemoglobin 10,30±1,41g/dl, hematokrit %31,77±3,96, lökosit 16,4(15,4-19,5)/10³mm³ ve trombosit 370 (57-2027)/10³mm³ bulundu (Tablo-15)

PV ve ET arasında hemoglobin değerleri, hematokrit değerleri ve splenomegali açısından arasında anlamlı fark saptandı (sırası ile p<0,001, p<0,001, p<0,001) (Tablo-14).

Tablo-14: Tanı Alt Gruplarına Göre Hasta Özellikleri

	PV (n=37)	ET (n=66)	PMF (n=3)	p değeri†
Yaş	68 (26-83)	60 (27-90)	61 (53-63)	0,056
Cinsiyet (K/E)	12/25	34/32	1/2	0,062
JAK 2 Mutasyonu	22/37 (%59,5)	38/66 (%57,6)	3/3 (%100)	0,850
Hipertansiyon	17/37 (%45,9)	26/66 (%39,4)	1/3 (%33,3)	0,520
Dislipidemi	7/37 (%18,9)	15/66 (%22,7)	0/3 (%0)	0,651
Sigara Kullanımı	6/37 (%16,2)	13/66 (%19,7)	0/3 (%0)	0,662
Diyabetes Mellitus	6/37 (%16,2)	10/66 (%15,2)	0/3 (%0)	0,886
Kr. Atrial Fibrilasyon	4/37 (%10,8)	4/66 (%6,1)	0/3 (%0)	0,387
Tromboz Risk Skoru	D: 10 (%27) O: 18 (%48,6) Y: 9 (%24,3)	D: 28 (%42,4) O: 21 (%31,8) Y: 17 (%25,8)	D: 1 (%33,3) O: 1 (%33,3) Y: 1 (%33,3)	0,190
Hemoglobin (g/dl)	16,81±2,14	13,41±1,91	10,30±1,41	<0,001*
Hematokrit (%)	50,68±6,83	40,17±6,64	31,77±3,96	<0,001*
Lökosit (/10³mm³)	11(3,9-26,4)	10,1(0,88-38)	16,4(15,4-19,5)	0,08
Trombosit (/10³mm³)	400(127-893)	861(162-2175)	370(57-2027)	<0,001*
Splenomegali	10/37 (%27)	19/66 (%28,8)	3/3 (%100)	0,849
Venöz Tromboz	6/37 (%16,2)	13/66 (%19,7)	1/3 (%33,3)	0,662
Arteriyel Tromboemboli	9/37 (%24,3)	23/66 (%34,8)	2/3 (%66,7)	0,268
Venöz veya Arteriyel Tromboemboli	11/37 (%29,7)	27/66 (%40,9)	2/3 (%66,7)	0,259

† PV ve ET grupları arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi, *p<0,05

4.4. JAK2 MUTASYON VARLIĞINA GÖRE HASTA ÖZELLİKLERİ

JAK2 mutasyon varlığına göre hasta özelliklerine bakıldığında JAK2 (+) grupta ortalama yaş 67 (27-90) yılıdır. Kadın erkek oranı 26/37 saptandı. Hipertansiyon 29, dislipidemi 15, sigara kullanımı 16, diyabetes mellitus 11, kronik atriyal fibrilasyon 5 hastada saptandı. Tromboz risk skoru 18 hastada düşük, 25 hastada orta ve 20 hastada yüksek saptandı. Çevresel kan değerlerinde hemoglobin 14,39±2,36 g/dl, hematokrit %43,95±8,53, lökosit 11 (3,9-28,6)/10³mm³ ve trombosit 678 (57-2027)/10³mm³ bulundu. Venöz tromboz 17, arteriyel tromboz 26, venöz ve arteriyel tromboemboli oranı ise 31 saptandı. Splenomegali JAK2 (+) olan hastalarda 27/63 saptandı (Tablo-15).

JAK2 (-) grupta ise ortalama yaş 57 (26-83) idi. Çevresel kan değerlerinde hemoglobin 14,67±3,03 g/dl, hematokrit % 43,09±8,58, lökosit 9,8 (0,88-38)/10³mm³ ve trombosit 747 (162-2175)/10³mm³ bulundu (Tablo-15).

Tablo-15: JAK 2 Mutasyonu Varlığına Göre Hasta Özellikleri

	Pozitif (n=63)	Negatif (n=43)	p değeri†
Yaş	67 (27-90)	57 (26-83)	0,029*
Cinsiyet (K/E)	26/37	21/22	0,441
Tanı	PV: 22 ET: 38 MF: 3	PV: 15 ET: 28	0,343
Hipertansiyon	29/63	15/43	0,253
Dislipidemi	15/63	7/43	0,348
Sigara Kullanımı	16/63	4/43	0,038*
Diyabetes Mellitus	11/63	5/43	0,410
Kronik Atriyal Fibrilasyon	5/63	3/43	0,854
Tromboz Risk Skoru (D: Düşük, O: Orta, Y: Yüksek)	D: 18 O: 25 Y: 20	D: 21 O: 15 Y: 7	0,067
Hemoglobin (g/dl)	14,39±2,36	14,67±3,03	0,614
Hematokrit (%)	43,95±8,53	43,09±8,58	0,611
Lökosit (/10³mm³)	11 (3,9-28,6)	9,8 (0,88-38)	0,107
Trombosit (/10³mm³)	678 (57-2027)	747 (162-2175)	0,346
Splenomegali	27/63	5/43	0,001*
Venöz Tromboz	17/63	3/43	0,01*
Arteriyel Tromboemboli	26/63	8/43	0,014*
Venöz veya Arteriyel Tromboemboli	31/63	9/43	0,003*

† PV ve ET grupları arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi

*p<0,05

İki grup arasında yaş açısından, sigara kullanımı açısından, splenomegali, venöz tromboz, arteriyel tromboz, venöz veya arteriyel tromboemboli açısından istatistiksel anlamlı fark saptandı.(sırası ile $p=0,029$, $p=0,038$, $p=0,001$, $p=0,010$, $p=0,014$, $p=0,003$) (Tablo-15).

JAK2 mutasyon varlığının venöz tromboembolik (VTE) olaylar, arteriyel aterotrombotik olaylar (ATDH) ve her iki durumun toplamına (trombotik olaylar) etkisi ayrı ayrı olmak üzere önce çalışmaya dahil edilen tüm Ph negatif MPH'li hastalarda (PV, ET ve PMF alt gruplarında) tetkik edilmiştir. Çalışmanın retrospektif olması nedeniyle olasılık hesapları odds oranları kullanılarak yapılmıştır.

Yalnız venöz tromboembolik olaylar ele alındığında JAK2 (+) MPH hastalarında VTE ile karşılaşma olasılığı JAK2 (-) hastalardan daha fazla saptanmıştır (odds oranı=4,9).

Aynı parametreleri kullanarak alt grup analizi yaptığımızda ET'li hastalarda VTE gelişimi JAK2 mutasyonu pozitif olan hastalarda daha fazla bulunmuş ve JAK2 mutasyonu negatif olanlara kıyasla anlamlı istatistiksel farklılık saptanmıştır ($p=0,005$). PV hastalarda ise JAK2 mutasyonu varlığı ile VTE arasında istatistiksel ilişki saptanmamıştır ($p=0,694$) (Tablo-16).

Tablo-16: JAK 2 Mutasyonu Varlığına Göre Venöz Tromboz Dağılımı ve Tanıya Spesifik Alt Grup Analizleri

Tüm Hastalar (n=106)	JAK 2 Pozitif (n=63)	JAK 2 Negatif (n=43)
Venöz Tromboz Var	17	3
Venöz Tromboz Yok	46	40
OR: 4,928 (1,35-18,05) p=0,010*		
Polisitemia Vera'lı Hastalar (n=37)	JAK 2 Pozitif (n=22)	JAK 2 Negatif (n=15)
Venöz Tromboz Var	4	2
Venöz Tromboz Yok	18	13
OR: 1,444 (0,23-9,11) p=0,694		
Esansiyel Trombositoz'lu Hastalar (n=66)	JAK 2 Pozitif (n=38)	JAK 2 Negatif (n=28)
Venöz Tromboz Var	12	1
Venöz Tromboz Yok	26	27
OR: 12,462 (1,51-102,77) p=0,005*		

Sadece arteriyel tromboembolik olaylar değerlendirildiğinde JAK2 (+) MPH hastalarında arteriyel tromboz ile karşılaşma olasılığı JAK2 (-) hastalardan daha fazla saptanmıştır (*odds oranı*=3,074). Tablo-17’de sunulan alt grup analizinde JAK2 (+) ET’li hastalarda JAK2(-) hastalara göre daha fazla arteriyel tromboz gelişimi saptanmış ve istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilirken ($p=0,013$) PV’lı hastalarda ise JAK2 mutasyon varlığı ile arteriyel tromboz gelişimi açısından istatistiksel anlamlı ilişki saptanamamıştır ($p=0,613$)

Tablo-17: JAK 2 Mutasyonu Varlığına Göre Arteriyel Tromboemboli Dağılımı ve Tanıya Spesifik Alt Grup Analizleri

Tüm Hastalar (n=106)	JAK 2 Pozitif (n=63)	JAK 2 Negatif (n=43)
Arteriyel Tromboemboli Var	26	8
Arteriyel Tromboemboli Yok	37	35
OR: 3,074 (1,23-7,69) p=0,014*		
Polisitemia Vera’lı Hastalar (n=37)	JAK 2 Pozitif (n=22)	JAK 2 Negatif (n=15)
Arteriyel Tromboemboli Var	6	3
Arteriyel Tromboemboli Yok	16	12
OR: 1,500 (0,31-7,25) p=0,613		
Esansiyel Trombositoz’lu Hastalar (n=66)	JAK 2 Pozitif (n=38)	JAK 2 Negatif (n=28)
Arteriyel Tromboemboli Var	18	5
Arteriyel Tromboemboli Yok	20	23
OR: 4,140 (1,30-13,18) p=0,013*		

Tüm damarsal hadiseler hesaba katıldığında JAK2 (+) MPH’ye sahip hastalarda tromboemboli gelişme olasılığı JAK2 (-) hastalardan daha fazla saptanmıştır (*odds oranı*=3,6).

Tüm damarsal olayların ele alındığı alt grup analizinde yine ET’de JAK2 pozitif hastalarda tromboza eğilim lehine olmak üzere anlamlı bir fark tespit edilirken ($p=0,001$), PV’lı hastalarda JAK2 mutasyon varlığı ile tromboza eğilim açısından istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p=0,736$) (Tablo-18).

Tablo-18: JAK 2 Mutasyonu Varlığına Göre Venöz Tromboz ve/veya Arteriyel Tromboemboli Dağılımı ve Tanıya Spesifik Alt Grup Analizleri

Tüm Hastalar (n=106)	JAK 2 Pozitif (n=63)	JAK 2 Negatif (n=43)
VT/AT Var	31	9
VT/AT Yok	32	34
OR: 3,660 (1,51-8,87) p=0,003*		
Polisitemia Vera'lı Hastalar (n=37)	JAK 2 Pozitif (n=22)	JAK 2 Negatif (n=15)
VT/AT Var	7	4
VT/AT Yok	15	11
OR: 1,283 (0,30-5,49) p=0,736		
Esansiyel Trombositoz'lu Hastalar (n=66)	JAK 2 Pozitif (n=38)	JAK 2 Negatif (n=28)
VT/AT Var	22	5
VT/AT Yok	16	23
OR: 6,325 (1,98-20,22) p=0,001*		

5.TARTIŞMA

Miyeloproliferatif hastalıklarda tromboz en önemli morbidite ve mortalite nedenidir [120]. Bu hastalık grubunda tromboz sıklıkla venlerde ve/veya büyük arterlerde bildirilmektedir [78]. 2005 yılında polistemi vera tanılı hastalarda tanımlanan klonal JAK2 mutasyonu miyeloproliferatif hastalıkların tanı ve tedavisine yönelik bilgilerin güncellenmesine ve yeniden gözden geçirilmesine neden olmuştur.

JAK2 mutasyonu polistemi vera olgularının %90-95'inde, esansiyel trombositemi ve primer miyelofibroz olgularının ise yaklaşık %50-60'ında saptanır [5-7]. Mevcut çalışmamızda PV, ET ve PMF'li hastalarda JAK2 mutasyonu sıklığı sırasıyla %59, %57 ve %100 bulunmuştur. Bu oranlar literatür ile tamamen örtüşmemektedir. ET hastalarında JAK2 mutasyon oranı literatür ile uyumlu olup takipte yeterli hasta sayısı olmasından kaynaklıdır. PV'li hastalarda beklenenden daha düşük, PM'li hastalarda beklenenden daha yüksek JAK2 pozitifliği görülmüştür. Bu durum çalışmanın polistemia vera ve primer miyelofibroz olgu sayısının azlığından ve takibimizdeki homojen olmayan hasta popülasyonundan kaynaklanmaktadır.

MPH'li hastalarda artmış JAK2 sıklığı ile birlikte yüksek oranda trombotik damar hastalığına rastlanması, bunun yanında Budd-Chiari sendromu gibi trombozla giden bazı klinik durumlara JAK2 pozitifliğinin MPH bulguları olmaksızın eşlik ettiğinin gösterilmesi JAK2 mutasyonu ile tromboz gelişimi arasında bir bağlantı olduğunu düşündürmüştür [41].

MPH'de tromboz sıklığı %10-30 arasında değişmektedir [78]. Bizim çalışmamızda aterosklerotik damarsal değişiklikler de dahil olmak üzere MPH hastalarının %37'sinde arteriyel ve/veya venöz trombotik patoloji saptanmıştır. Bu oran literatürden daha fazla saptanmış olup verilerine ulaşılabilen hasta grubunun homojen olmamasından kaynaklanabilir.

MPH'de JAK2 mutasyonu ile tromboz arasındaki ilişkiye ilk defa Kralovic ve arkadaşları tarafından 2005'te yayınlanan makalede değinilmiştir. 128 PV, 93 ET ve 23

PMF olmak üzere toplam 244 hastanın incelendiği bu yayında JAK2 pozitiflik oranı %48 olarak bildirilmiştir [18]. Bizim çalışmamızda 106 hastanın 63'ünde JAK2 mutasyonu pozitifliği olup %59 oranında saptanmıştır. Takibimizde olan hasta popülasyonunda JAK2 mutasyonu daha yüksek oranda tespit edilmiştir.

Campbell ve arkadaşları tarafından 2005'te yayınlanan ve sadece ET tanılı hastaların (n=776) incelendiği çalışmada özellikle tanı öncesi dönemde JAK2 pozitif hastalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış VTE sıklığı saptanmış arteriyel tromboz sıklığında değişiklik gösterilememiştir [25].

ET hastalarını değerlendiren Wolanskyj ve arkadaşlarının çalışmasında genel tromboz sıklığı ile JAK2 varlığı arasında bir bağlantı tespit edilmemiştir [26].

60 ET'li hastayı inceleyen Cheung ile 179 ET'li hastayı tetkik eden Finazzi ve arkadaşları JAK2 pozitif grupta bizim çalışmamıza benzer doğrultuda belirgin olarak artmış tromboz sıklığı (%62'ye karşılık %26 ve %46'ya karşılık %4) bildirmişlerdir [77].

Bizim çalışmamızda ise JAK2 pozitif arteriyel tromboz sıklığı %24, venöz tromboz sıklığı %16 bulunmuş olup JAK2 negatif olan hastalardan daha yüksek oranda saptanmıştır. Bu oran istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu hastaların alt grup analizlerinde ise PV hastalarında JAK2 mutasyonu pozitif arteriyel tromboz sıklığı %5, venöz tromboz sıklığı %3 saptanmış olup JAK2 negatif olan hastalar ile anlamlı istatistiksel fark saptanamamıştır. ET hastalarında ise JAK2 mutasyonu pozitif arteriyel tromboz sıklığı %17, venöz tromboz sıklığı %11 saptanmış olup JAK2 negatif olan hastalardan daha yüksek oranda saptanmış olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Sonuç olarak takibimizdeki hasta gruplarının alt grup analizlerinde sadece JAK2 mutasyonu pozitif ET hastaları hem arteriyel hemde venöz tromboz açısından anlamlı istatistiksel verilere ulaşılmıştır. PV tanısı olan hastalarda JAK2 mutasyonu pozitifliği ile tromboz arasında anlamlı istatistiksel bulguya rastlanmamıştır. Yine bunun nedeni olarak takibimizde yeterli sayıda PV hastasının olmamasından kaynaklı olabilir.

Çalışmamızda JAK2 pozitif ve negatif gruplar arasında hemoglobin ve lökosit düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterilmiştir. Buna rağmen JAK2 pozitif gruptaki tromboz sıklığı ile JAK2 negatif gruptaki tromboz sıklığı arasında anlamlı bir fark tespit edilmiştir.

Her iki gruptaki hastaların tanı anındaki bilgilerine dayanarak hesaplanan tromboz risk skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır.

Sonuç olarak tromboz risk skoru, hemoglobin, trombosit ve lökosit değerleri tüm MPH'da JAK2 pozitif ve negatif gruplarda tromboza eğilimi açıklayamamakta olup yaş, sigara kullanımı ve splenomegali açısından anlamlı fark saptanmıştır. Özellikle de ileri yaşın, sigara kullanımının ve splenomegalinin JAK2 mutasyonu pozitif olan hastalarda tromboz eğilim açısından önemli risk faktörleri olduğu düşünülebilir.

Genel olarak bakıldığında JAK2 mutasyonunun MPH'li hastalarda tromboz riskini arttırdığına dair net bir sonuç elde etmek mümkün değildir. Bu durum kısmen hasta popülasyonunun homojen olmamasından, kısmen de tromboza katkıda bulunan faktörlerin çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır. Bir diğer konu da halen JAK2 pozitif hasta grubunda eş zamanlı trombofilik mutasyonların varlığının tromboz sıklığına katkısının bilinmemesidir.

Her ne kadar MPH kliniği içinde JAK2 mutasyonu tromboz ile ilişkilendirilmeye çalışılsa da, MPH dışında gelişmiş arteriyel ve venöz trombozlarda JAK2 pozitifliği gösterilememiştir. Bugün için idiyopatik venöz trombozda veya erken yaşta ve/veya beklenmedik bölgelerde venöz/arteriyel trombozla başvuran hastalarda rutin trombofili taraması içine JAK2 mutasyonunu dahil etmeyi gerekli kılacak düzeyde elde kanıt yoktur.

Bu durumun tek istisnası splanknik ven trombozları olabilir [33, 36]. Çeşitli çalışmalarda da gösterildiği gibi ön planda izole splanknik ven trombozu ile başvuran hastalarda artmış oranlarda (%17-58) JAK2 pozitifliği bildirilmektedir. Bu hastaların hemen tamamının aslında MPH olduğu yapılan ileri çalışmalarla anlaşılmıştır.

2007 yılında Türkiye'den Bayraktar ve arkadaşlarının yayınladığı bir çalışmada kronik izole non-sirotik portal ven trombozu bulunan ve daha önce bu nedenle trombofili tetkikleri yapılmış 25 hasta retrospektif olarak JAK2 mutasyonu varlığı açısından irdelenmiştir [22]. JAK2 pozitifliğinin %24 oranında saptandığı ve tetkikler sonrası JAK2 pozitif ve negatif toplam MPH oranının %44 olduğu bu hasta serisinde 25 hastanın 19'unda ek olarak en az bir trombofilik faktör varlığı gösterilmiştir. JAK2

negatif ancak klinik olarak MPH olan 5 hastanın 3'ünde herhangi bir trombofilik risk faktörüne rastlanmamıştır. Diğer 2 hastada protein C ve antitrombin eksikliği bulunmuştur. JAK2 pozitif 6 hastanın (bir PV hariç diğer beşi latent KMPH) üçünde homozigot metilentetrahidrofolik asit redüktaz (MTHFR) C677T mutasyonu homozigot olarak tespit edilmiştir.

Bizim hasta grubumuzda da 2 hasta splanknik ven trombozu ile başvurup daha sonraki değerlendirmelerde MPH tanısı alan hastalardır. Bu hastalar MPH tanısı aldıktan sonra Hematoloji polikliniğine yönlendirildiklerinden öncesinde diğer trombofilik etkenler açısından taranıp taranmadıklarına dair bilgi dosya kayıtlarından elde edilememiştir. Hasta grubumuzda yer alan bu 2 hastanın JAK2 mutasyonu taşımaktadır. Bu durum söz konusu hastaların bir hematolojik hastalık saptandıktan sonra hematoloji polikliniğine yönlendirilmiş olmaları ile açıklanabilir; splanknik ven trombozlarındaki gerçek JAK2 sıklığını yansıtmamaktadır.

Mevcut bilgiler, splanknik ven trombozu ile başvuran hastalarda trombofili taramasına yönelik panele JAK2 mutasyonunun eklenmesinin uygun olacağı yönündedir.

Fouassier ve arkadaşları trombozla seyreden paroksizmal nokturnal hemoglobinüri ile 11 hastanın hiçbirinde JAK2 mutasyonu saptamadıklarını bildirmişlerdir [23]. Trombozla giden başka hastalıklarda JAK2 mutasyon sıklığında artış tartışmalı olup bu mutasyonla tromboz gelişimi arasında direkt bir ilişki net olarak ortaya konulamamıştır. Bizim çalışmamızda ET hastalarında JAK2 pozitif ve negatif gruplar arasında hem venöz hemde arteriyel tromboz açısından güçlü bir ilişki saptanmıştır.

Her retrospektif çalışmada olduğu gibi bizim çalışmamızda da sonuçları değerlendirirken dikkate alınması gereken bazı noktalar mevcuttur. Öncelikle, yeterince hasta verilerine ulaşamadığı için dahil edilmiş, JAK2 geni bakılmamış, izleminden çıkmış veya ölmüş olmaları nedeniyle JAK2 mutasyon bilgileri ve/veya dosyaları bulunamayan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızla MPH'li hastalarda ve alt grup karşılaştırmalarında JAK2 mutasyonu ile arteriyel ve/veya venöz tromboz ilişkisinin araştırıldığı bu

çalışmada söz konusu mutasyon varlığı ile artmış tromboz sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ET hastalarında venöz ve/veya arteriyel tromboz anlamlı bir fark saptanmıştır. PV hastalarında ise aynı oranda anlamlı istatistiksel fark saptanamamıştır.

Ancak prospektif düzenlenmiş, homojen hasta gruplarıyla ve uzun süreli takip ile yapılacak çok merkezli çalışmalarla ile MPH hastalarında JAK2 geni ve tromboz ilişkisini daha net ortaya koymak mümkün olacaktır.

6.SONUÇLAR

Mevcut çalışmamızda PV, ET hastalarda JAK2 mutasyonu sıklığı sırasıyla %59, %57 bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda aterosklerotik damarsal değişiklikler de dahil olmak üzere MPH hastalarının %37'sinde arteriyel ve/veya venöz trombotik patoloji saptanmıştır.

Sonuç olarak takibimizdeki hasta gruplarının alt grup analizlerinde sadece JAK2 mutasyonu pozitif ET hastaları hem arteriyel hemde venöz tromboz açısından anlamlı istatistiksel verilere ulaşılmıştır. PV tanısı olan hastalarda JAK2 mutasyonu pozitifliği ile tromboz arasında anlamlı istatistiksel bulguya rastlanmamıştır. Yine bunun nedeni olarak takibimizde yeterli sayıda PV hastasının olmamasından kaynaklı olabilir.

Sonuç olarak tromboz risk skoru, hemoglobin, trombosit ve lökosit değerleri tüm MPH'da JAK2 pozitif ve negatif gruplarda tromboza eğilimi açıklayamamakta olup yaş, sigara kullanımı ve splenomegali açısından anlamlı fark saptanmıştır. Özellikle de ileri yaşın, sigara kullanımının ve splenomegalinin JAK2 mutasyonu pozitif olan hastalarda tromboz eğilim açısından önemli risk faktörleri olduğu düşünülebilir.

7.KAYNAKLAR

1. Vardiman, J.W., N.L. Harris, and R.D. Brunning, *The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms*. Blood, 2002. **100**(7): p. 2292-302.
2. Tefferi, A. and G. Gilliland, *Classification of chronic myeloid disorders: from Dameshek towards a semi-molecular system*. Best Pract Res Clin Haematol, 2006. **19**(3): p. 365-85.
3. Pierre R, Imbert M, Thiele J, Vardiman JW, Brunning RD, Flandrin G. *Chronic myeloproliferative diseases*. IARC Press 2001;61-73.
4. Dameshek, W., *Some speculations on the myeloproliferative syndromes*. Blood, 1951. **6**(4): p. 372-5.
5. Pietra, D., et al., *Somatic mutations of JAK2 exon 12 in patients with JAK2 (V617F)-negative myeloproliferative disorders*. Blood, 2008. **111**(3): p. 1686-9.
6. 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. .
7. Lichtman MA, *Idiopathic Myelofibrosis :Myelofibrosos 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.
8. Tefferi, 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**(4): p. 1092-7.
9. Tefferi, A. and A. Pardanani, *Evaluation of "increased" hemoglobin in the JAK2 mutations era: a diagnostic algorithm based on genetic tests*. Mayo Clin Proc, 2007. **82**(5): p. 599-604.
10. McCulloch, E.A., *Stem cell renewal and determination during clonal expansion in normal and leukaemic haemopoiesis*. Cell Prolif, 1993. **26**(5): p. 399-425.
11. Tefferi, A., *Chronic myeloid disorders: Classification and treatment overview*. Semin Hematol, 2001. **38**(1 Suppl 2): p. 1-4.
12. Tefferi, A., J. Thiele, and J.W. Vardiman, *The 2008 World Health Organization classification system for myeloproliferative neoplasms: order out of chaos*. Cancer, 2009. **115**(17): p. 3842-7.
13. Jelinek, J., et al., *JAK2 mutation I849G>T is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Philadelphia chromosome-negative CML, and megakaryocytic leukemia*. Blood, 2005. **106**(10): p. 3370-3.
14. Cortelazzo, S., et al., *Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia*. J Clin Oncol, 1990. **8**(3): p. 556-62.
15. Landolfi, R., et al., *Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera*. Blood, 2007. **109**(6): p. 2446-52.
16. Marchioli, R., et al., *Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera*. J Clin Oncol, 2005. **23**(10): p. 2224-32.
17. Royer, Y., et al., *Janus kinases affect thrombopoietin receptor cell surface localization and stability*. J Biol Chem, 2005. **280**(29): p. 27251-61.
18. Kralovics, R., et al., *Altered gene expression in myeloproliferative disorders correlates with activation of signaling by the V617F mutation of Jak2*. Blood, 2005. **106**(10): p. 3374-6.
19. Robertson, B., et al., *Platelet and coagulation activation markers in myeloproliferative diseases: relationships with JAK2 V617 F status, clonality, and antiphospholipid antibodies*. J Thromb Haemost, 2007. **5**(8): p. 1679-85.

20. Falanga, A., et al., *V617F JAK-2 mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules*. *Exp Hematol*, 2007. **35**(5): p. 702-11.
21. Alvarez-Larran, A., et al., *Increased platelet, leukocyte, and coagulation activation in primary myelofibrosis*. *Ann Hematol*, 2008. **87**(4): p. 269-76.
22. Bayraktar Y, Harmancı Ö, Büyükaşık Y, et al. *JAK2 mutation in patients with portal vein thrombosis*. *Dig Dis Sci* 2008; DOI 10.1007/s10620-008-225- y.
23. Fouassier M, Girodon F, et al. *Absence of JAK2 in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-associated thrombosis*. *Thromb Haemost* 2009; **102**(1): 180-182
24. Pardanani, A., et al., *JAK2V617F prevalence and allele burden in non-splanchnic venous thrombosis in the absence of overt myeloproliferative disorder*. *Leukemia*, 2007. **21**(8): p. 1828-9.
25. Campbell, P.J., et al., *Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study*. *Lancet*, 2005. **366**(9501): p. 1945-53.
26. Wolanskyj, A.P., et al., *JAK2 mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance*. *Br J Haematol*, 2005. **131**(2): p. 208-13.
27. Steensma, D.P., et al., *The JAK2 V617F activating tyrosine kinase mutation is an infrequent event in both "atypical" myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndromes*. *Blood*, 2005. **106**(4): p. 1207-9.
28. Jones, A.V., et al., *Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders*. *Blood*, 2005. **106**(6): p. 2162-8.
29. Sun, H. and N.K. Tonks, *The coordinated action of protein tyrosine phosphatases and kinases in cell signaling*. *Trends Biochem Sci*, 1994. **19**(11): p. 480-5.
30. Rane, S.G. and E.P. Reddy, *Janus kinases: components of multiple signaling pathways*. *Oncogene*, 2000. **19**(49): p. 5662-79.
31. Yamaoka, K., et al., *The Janus kinases (Jaks)*. *Genome Biol*, 2004. **5**(12): p. 253.
32. Benekli, M., et al., *Signal transducer and activator of transcription proteins in leukemias*. *Blood*, 2003. **101**(8): p. 2940-54.
33. Levy, D.E. and J.E. Darnell, Jr., *Stats: transcriptional control and biological impact*. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002. **3**(9): p. 651-62.
34. Sandberg, E.M., et al., *Jak2 tyrosine kinase: a true jak of all trades?* *Cell Biochem Biophys*, 2004. **41**(2): p. 207-32.
35. Kisseleva, T., et al., *Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges*. *Gene*, 2002. **285**(1-2): p. 1-24.
36. Witthuhn, B.A., et al., *JAK2 associates with the erythropoietin receptor and is tyrosine phosphorylated and activated following stimulation with erythropoietin*. *Cell*, 1993. **74**(2): p. 227-36.
37. Levine, R.L., 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**(10): p. 4139-41.
38. Antonioli, E., et al., *Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia*. *Leukemia*, 2005. **19**(10): p. 1847-9.
39. Levine, R.L., et al., *The JAK2V617F activating mutation occurs in chronic myelomonocytic leukemia and acute myeloid leukemia, but not in acute lymphoblastic leukemia or chronic lymphocytic leukemia*. *Blood*, 2005. **106**(10): p. 3377-9.
40. Melzner, I., et al., *Absence of the JAK2 V617F activating mutation in classical Hodgkin lymphoma and primary mediastinal B-cell lymphoma*. *Leukemia*, 2006. **20**(1): p. 157-8.
41. Patel, R.K., et al., *Prevalence of the activating JAK2 tyrosine kinase mutation V617F in the Budd-Chiari syndrome*. *Gastroenterology*, 2006. **130**(7): p. 2031-8.
42. Saharinen, P., K. Takaluoma, and O. Silvennoinen, *Regulation of the Jak2 tyrosine kinase by its pseudokinase domain*. *Mol Cell Biol*, 2000. **20**(10): p. 3387-95.

43. Zhao, R., et al., *Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera*. J Biol Chem, 2005. **280**(24): p. 22788-92.
44. Levine, R.L., et al., *Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis*. Cancer Cell, 2005. **7**(4): p. 387-97.
45. Lu, X., et al., *Expression of a homodimeric type I cytokine receptor is required for JAK2V617F-mediated transformation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(52): p. 18962-7.
46. Silva, M., et al., *Expression of Bcl-x in erythroid precursors from patients with polycythemia vera*. N Engl J Med, 1998. **338**(9): p. 564-71.
47. Garcon, L., et al., *Constitutive activation of STAT5 and Bcl-xL overexpression can induce endogenous erythroid colony formation in human primary cells*. Blood, 2006. **108**(5): p. 1551-4.
48. Staerk, J., et al., *JAK1 and Tyk2 activation by the homologous polycythemia vera JAK2 V617F mutation: cross-talk with IGF1 receptor*. J Biol Chem, 2005. **280**(51): p. 41893-9.
49. Scott, L.M., et al., *Progenitors homozygous for the V617F mutation occur in most patients with polycythemia vera, but not essential thrombocythemia*. Blood, 2006. **108**(7): p. 2435-7.
50. James, C., et al., *A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera*. Nature, 2005. **434**(7037): p. 1144-8.
51. Pikman, Y., et al., *MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia*. PLoS Med, 2006. **3**(7): p. e270.
52. Pardanani, A.D., et al., *MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients*. Blood, 2006. **108**(10): p. 3472-6.
53. Levine, R.L. and G. Wernig, *Role of JAK-STAT signaling in the pathogenesis of myeloproliferative disorders*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2006: p. 233-9, 510.
54. Thompson, J.E., et al., *Photochemical preparation of a pyridone containing tetracycline: a Jak protein kinase inhibitor*. Bioorg Med Chem Lett, 2002. **12**(8): p. 1219-23.
55. Pardanani, A., *JAK2 inhibitor therapy in myeloproliferative disorders: rationale, preclinical studies and ongoing clinical trials*. Leukemia, 2008. **22**(1): p. 23-30.
56. Prchal JT, Beutler E. *Primary and Secondary Polycythemias (Erythrocytosis)*. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligshon U, Kaushansky K, Prchal JT, Eds. *Williams Hematology*, New York: McGraw-Hill, 2006:779-802.
57. Moliterno, A.R., W.D. Hankins, and J.L. Spivak, *Impaired expression of the thrombopoietin receptor by platelets from patients with polycythemia vera*. N Engl J Med, 1998. **338**(9): p. 572-80.
58. Kralovics, R., et al., *Comparison of molecular markers in a cohort of patients with chronic myeloproliferative disorders*. Blood, 2003. **102**(5): p. 1869-71.
59. Teofili, L., et al., *Overexpression of the polycythemia rubra vera-1 gene in essential thrombocythemia*. J Clin Oncol, 2002. **20**(20): p. 4249-54.
60. Ruggeri, M., et al., *Postsurgery outcomes in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: a retrospective survey*. Blood, 2008. **111**(2): p. 666-71.
61. Ania, B.J., et al., *Trends in the incidence of polycythemia vera among Olmsted County, Minnesota residents, 1935-1989*. Am J Hematol, 1994. **47**(2): p. 89-93.
62. Berk, P.D., et al., *Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols*. Semin Hematol, 1986. **23**(2): p. 132-43.
63. Spivak, J.L. and R.T. Silver, *The revised World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocytosis, and primary myelofibrosis: an alternative proposal*. Blood, 2008. **112**(2): p. 231-9.
64. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Eds. Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Haris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, James W. Varidman. WHO, OMS, International Agency for Research on Cancer, 4th ed. Lyon, 2008. .

65. Acharya, J., 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**(5): p. 315-21.
66. Michiels, J.J., et al., *Atypical transient ischemic attacks in thrombocythemia of various myeloproliferative disorders.* Leuk Lymphoma, 1996. **22 Suppl 1**: p. 65-70.
67. Steinman, H.K., 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**(3): p. 329-33.
68. Jackson, N., et al., *Skin mast cells in polycythaemia vera: relationship to the pathogenesis and treatment of pruritus.* Br J Dermatol, 1987. **116**(1): p. 21-9.
69. Sirhan, S., V.F. Fairbanks, and A. Tefferi, *Red cell mass and plasma volume measurements in polycythemia: evaluation of performance and practical utility.* Cancer, 2005. **104**(1): p. 213-5.
70. Michiels, J.J. and E. Juvonen, *Proposal for revised diagnostic criteria of essential thrombocythemia and polycythemia vera by the Thrombocythemia Vera Study Group.* Semin Thromb Hemost, 1997. **23**(4): p. 339-47.
71. Thiele, J.M. and H.M. Kvasnicka, *Diagnosis of polycythemia vera based on bone marrow pathology.* Curr Hematol Rep, 2005. **4**(3): p. 218-23.
72. Tefferi, A. and J.L. Spivak, *Polycythemia vera: scientific advances and current practice.* Semin Hematol, 2005. **42**(4): p. 206-20.
73. Tefferi, A., et al., *The clinical phenotype of wild-type, heterozygous, and homozygous JAK2V617F in polycythemia vera.* Cancer, 2006. **106**(3): p. 631-5.
74. Vannucchi, A.M., et al., *Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia.* Blood, 2007. **110**(3): p. 840-6.
75. *Polycythemia vera: the natural history of 1213 patients followed for 20 years. Gruppo Italiano Studio Policitemia.* Ann Intern Med, 1995. **123**(9): p. 656-64.
76. Gangat, N., et al., *Leucocytosis in polycythaemia vera predicts both inferior survival and leukaemic transformation.* Br J Haematol, 2007. **138**(3): p. 354-8.
77. Finazzi, G., et al., *Acute leukemia in polycythemia vera: an analysis of 1638 patients enrolled in a prospective observational study.* Blood, 2005. **105**(7): p. 2664-70.
78. Elliott, M.A. and A. Tefferi, *Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythemia.* Br J Haematol, 2005. **128**(3): p. 275-90.
79. Tartaglia, A.P., et al., *Adverse effects of antiaggregating platelet therapy in the treatment of polycythemia vera.* Semin Hematol, 1986. **23**(3): p. 172-6.
80. Landolfi, R. and R. Marchioli, *European Collaboration on Low-dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP): a randomized trial.* Semin Thromb Hemost, 1997. **23**(5): p. 473-8.
81. Streiff, M.B., B. Smith, and J.L. Spivak, *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**(4): p. 1144-9.
82. Samuelsson, J., 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**(11): p. 2397-405.
83. *Anagralide Study Group. Anagrelide, a therapy for thrombocytopenic states: experience in 577 patients.* Anagrelide Study Group. Am J Med, 1992. **92**(1): p. 69-76.
84. Tefferi, A. and R. Fonseca, *Selective serotonin reuptake inhibitors are effective in the treatment of polycythemia vera-associated pruritus.* Blood, 2002. **99**(7): p. 2627.
85. Elliott, M.A. and A. Tefferi, *Interferon-alpha therapy in polycythemia vera and essential thrombocythemia.* Semin Thromb Hemost, 1997. **23**(5): p. 463-72.
86. Harrison, C., *Pregnancy and its management in the Philadelphia negative myeloproliferative diseases.* Br J Haematol, 2005. **129**(3): p. 293-306.
87. Balan, K.K. and M. Critchley, *Outcome of 259 patients with primary proliferative polycythaemia (PPP) and idiopathic thrombocythaemia (IT) treated in a regional*

- nuclear medicine department with phosphorus-32--a 15 year review.* Br J Radiol, 1997. **70**(839): p. 1169-73.
88. Harrison, C.N., *Current trends in essential thrombocythaemia.* Br J Haematol, 2002. **117**(4): p. 796-808.
 89. El-Kassar, N., et al., *Clonality analysis of hematopoiesis and thrombopoietin levels in patients with essential thrombocythemia.* Leuk Lymphoma, 1998. **30**(1-2): p. 181-8.
 90. Hirayama, Y., 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**(1): p. 46-52.
 91. 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.
 92. Mesa, R.A., 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**(1): p. 10-5.
 93. Fenaux, P., et al., *Clinical course of essential thrombocythemia in 147 cases.* Cancer, 1990. **66**(3): p. 549-56.
 94. Rozman, C., et al., *Life expectancy of patients with chronic nonleukemic myeloproliferative disorders.* Cancer, 1991. **67**(10): p. 2658-63.
 95. Tefferi, A., et al., *A long-term retrospective study of young women with essential thrombocythemia.* Mayo Clin Proc, 2001. **76**(1): p. 22-8.
 96. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.* Eds. Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, James W. Varidman. WHO, OMS, International Agency for Research on Cancer, 4th ed. Lyon, 2001. 2001.
 97. Schafer, A.I., *Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia.* Blood, 2006. **107**(11): p. 4214-22.
 98. Gangat, N., et al., *Estrogen-based hormone therapy and thrombosis risk in women with essential thrombocythemia.* Cancer, 2006. **106**(11): p. 2406-11.
 99. Gangat, N., et al., *Risk stratification for survival and leukemic transformation in essential thrombocythemia: a single institutional study of 605 patients.* Leukemia, 2007. **21**(2): p. 270-6.
 100. Toyama, K., 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**(1): p. 64-9.
 101. Cerutti, A., et al., *Thrombopoietin levels in patients with primary and reactive thrombocytosis.* Br J Haematol, 1997. **99**(2): p. 281-4.
 102. Tefferi A. *Risk-based management in essential thrombocythemia.* ASH Education Program Book. Hematology 1999; :172. .
 103. Carobbio, A., 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**(6): p. 2310-3.
 104. Michiels, J.J., et al., *Transient neurologic and ocular manifestations in primary thrombocythemia.* Neurology, 1993. **43**(6): p. 1107-10.
 105. Randi, M.L., et al., *Cerebral vascular accidents in young patients with essential thrombocythemia: relation with other known cardiovascular risk factors.* Angiology, 1998. **49**(6): p. 477-81.
 106. Tang, S.S. and M.M. Frojmovic, *Inhibition of platelet function by antithrombotic agents which selectively inhibit low-Km cyclic 3',5'-adenosine monophosphate phosphodiesterase.* J Lab Clin Med, 1980. **95**(2): p. 241-57.
 107. Mesa, R.A., 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**(6): p. 737-40.

108. Tefferi, A., *Myelofibrosis with myeloid metaplasia*. N Engl J Med, 2000. **342**(17): p. 1255-65.
109. Visani, G., et al., *Myelofibrosis with myeloid metaplasia: clinical and haematological parameters predicting survival in a series of 133 patients*. Br J Haematol, 1990. **75**(1): p. 4-9.
110. Barosi, G., et al., *The Italian Consensus Conference on Diagnostic Criteria for Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia*. Br J Haematol, 1999. **104**(4): p. 730-7.
111. Smith, R.E., M.K. Chelmowski, and E.J. Szabo, *Myelofibrosis: a review of clinical and pathologic features and treatment*. Crit Rev Oncol Hematol, 1990. **10**(4): p. 305-14.
112. Bartlett, R.P., et al., *Extramedullary hematopoiesis manifesting as a symptomatic pleural effusion*. Mayo Clin Proc, 1995. **70**(12): p. 1161-4.
113. Loewy, G., A. Mathew, and A. Distenfeld, *Skin manifestation of agnogenic myeloid metaplasia*. Am J Hematol, 1994. **45**(2): p. 167-70.
114. Guglielmelli, P., et al., *Anaemia characterises patients with myelofibrosis harbouring Mpl mutation*. Br J Haematol, 2007. **137**(3): p. 244-7.
115. Barosi, G., et al., *Diagnostic and clinical relevance of the number of circulating CD34(+) cells in myelofibrosis with myeloid metaplasia*. Blood, 2001. **98**(12): p. 3249-55.
116. Mesa, R.A., et al., *Leukemic transformation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a single-institution experience with 91 cases*. Blood, 2005. **105**(3): p. 973-7.
117. Levine, R.L., et al., *Role of JAK2 in the pathogenesis and therapy of myeloproliferative disorders*. Nat Rev Cancer, 2007. **7**(9): p. 673-83.
118. Dupriez, B., et al., *Prognostic factors in agnogenic myeloid metaplasia: a report on 195 cases with a new scoring system*. Blood, 1996. **88**(3): p. 1013-8.
119. Cervantes, F., et al., *Myelofibrosis with myeloid metaplasia in young individuals: disease characteristics, prognostic factors and identification of risk groups*. Br J Haematol, 1998. **102**(3): p. 684-90.
120. Cervantes, F., F. Passamonti, and G. Barosi, *Life expectancy and prognostic factors in the classic BCR/ABL-negative myeloproliferative disorders*. Leukemia, 2008. **22**(5): p. 905-14.