

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TURGUT ÖZAL TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ESANSİYEL TROMBOSİTOZDA
KANAMA VE TROMBOZ İLE ORTALAMA TROMBOSİT
HACMİ VE JAK2V617F GEN MUTASYONU ARASINDAKİ
İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hacı SAĞIR

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Emin KAYA

MALATYA-2011

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TEŞEKKÜR.....	ii
TABLO VE GRAFİK LİSTESİ.....	iii
KISALTMALAR.....	iv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
3. YÖNTEM VE GEREÇLER.....	16
4. BULGULAR.....	18
5.TARTIŞMA.....	24
6. SONUÇ.....	28
7. ÖZET.....	29
8. ABSTRACT.....	31
9. KAYNAKLAR.....	33

TEŞEKKÜR

İç hastalıkları uzmanlık eğitimim sürecinde bilgi ve deneyimleriyle yetişmeme katkıdabulunan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Hülya TAŐKAPAN'a ve diğer tüm hocalarıma en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Enim KAYA'ya Hematoloji Servis çalışanlarına teşekkür ederim. Tanımaktan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen tüm çalışma arkadaşlarıma ve hastane çalışanlarına teşekkür ederim.

Eğitimim ve tez çalışmam sırasında beni her zaman destekleyen aileme ayrıca teşekkür ederim.

TABLO VE GRAFİKLER LİSTESİ

Tablo 1: PV tanı kriterleri.....	4
Tablo 2: PM tanı kriterleri.....	5
Tablo 3: Esansiyel trombositemide trombozda risk klasifikasyonu.....	8
Tablo 4: Esansiyel trombositemide trombozda risk gruplarına göre tedavi öneriler	9
Tablo 5: ET hastaların tanı anındaki genel özellikleri.....	18
Tablo 6: ET hastalarının trombotik atak dağılımları.....	20
Tablo 7: ET hastalarının kanama dağılımları.....	20
Tablo 8: ET hastalarında JAK2 mutasyon durumu.....	21
Tablo 9: JAK2 pozitif/negatif durumuna göre grupların karşılaştırılması.....	21
Grafik 1: ET olgularının cinsiyet ve yaş aralığına göre dağılımı.....	19
Grafik 2: ET Hastalarının Geliş Bulguları.....	19
Grafik 3: JAK2 durumuna göre kanama/tromboz dağılımı.....	22

KISALTMALAR

AKT : Protein kinaz B
AMI : Akut Miyokard Enfarktüsü
AML : Akut Miyeloid Lösemi
DM : Diyabetes Mellitüs
DVT : Derin Ven Trombozu
EPO : Eritropoietin
EPOR : Eritropoietin resptörü
ET : Esansiyel Trombositemi
GCSF : Granülosit Stimüle Edici Faktör Reseptörü
IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
ISVO: İskemik Serebrovasküler Olay
JAK : Janus Jinaz
HES : Hiper Eosinofilik Sendrom
HT : Hipertansiyon
KML : Kronik Myeloid Lösemi
KMPN: Kronik Miyeloproliferatif Neoplazm
MAPK: Mitojen-Sktive Protein Kinaz
MPV : Mean Platelet Volüm
MDS : Miyelodisplastik Sendrom
MPL : Trombopoietin reseptör
PAH : Periferik Arter Hastalığı
PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PMF : Primer Miyelofibroz
Ph : Philadelphia Kromozomu
PK : Protein Kinaz
PV : Polisitemia Vera
PVT : Portal Ven Trombozu
STAT : Sinyal Dönüştürücüler ve Transkripsiyon Aktivatör Proteinleri
TÖTM: Turgut Özal Tıp Merkezi
WHO : Dünya Sağlık Örgütü

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik Miyeloproliferatif Neoplazm (KMPN) başlığı altında toplanan Polistemi Vera (PV), Esansiyel Trombositemi (ET), Primer Miyelofibroz (PMF) ve Kronik Miyeloid Lösemi (KML) herhangi bir farklılaşma veya olgunlaşma kusuru göstermeksizin proliferasyonla giden miyeloid kök hücre hastalıklarıdır.

Bulardan; KML kendine özgü bir klonal genetik bozukluk olan Philadelphia (Ph) kromozomu [t(9;22)] varlığı ile diğer üç hastalıktan ayrılır. PV, ET ve PMF’de Ph kromozomu bulunmaz ve bu nedenle Ph negatif KMPN olarak adlandırılırlar. 2005 yılında, Ph negatif KMPN’ larda Janus kinaz 2 (JAK2)_{V617F} adı verilen yeni bir mutasyon tanımlanmıştır. Hücre içi sinyal iletiminde rol oynayan JAK2 enzimini kodlayan gende gösterilen bu klonal mutasyon PV hastalarının %90–95’inde, ET ve PMF hastalarının %50–60’ında saptanmaktadır; KML de ise JAK2_{V617F} pozitifliği son derece nadirdir. JAK2_{V617F} mutasyonunun Ph negatif KMPN’ larda hastalık patogenezine katkısı net bilinmemektedir.

KML’ de prognozu akut lösemiye dönüşüm belirlemektedir. Ph negatif KMPN’ lerde ise akut lösemiye dönüşüm nadir görüldüğünden prognozu etkileyen en önemli etken olarak venöz ve arteryel trombozlar öne çıkmaktadır. Özellikle, PV ve ET’de %30’lara varan oranlarda tromboz sıklığı bildirilmiştir (1).

Yapılan çalışmalarda JAK2_{V617F} mutasyonu tespit edilenlerde fibroz, hemoraji, tromboz ve lösemik transformasyon daha sık görüldüğü bildirilmiştir (2).

Ph negatif KMPN’da görülen ve prognostik öneme sahip olan, artmış tromboz sıklığı ile JAK2_{V617F} mutasyonu varlığı arasında bir ilişki olup olmadığı, mutasyonun tanımlandığı 2005 yılından bu yana araştırılmaktadır. Ancak, literatürde mevcut olan çalışmalarda elde edilen sonuçlar birbiri ile çelişmektedir. Bu çelişkinin başlıca nedeni

Çalışmaların hasta özellikleri ve yöntemler açısından homojen olmamalarıdır. Dolayısıyla bu konuda yapılacak iyi vurgulanmış çalışmalara gereksinim vardır.

Bu alışmada İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi (TTM) İ Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalında 2000-2011 yılları arasında takip edilen 102 Esansiyel Trombositoz olgusu retrospektif olarak değerlendirilmiştir. JAK2_{V617F} mutasyonu hastaların periferik kanından izole edilen genomik DNA, real-time PCR tekniği kullanılarak TTM Tıbbı Genetik Laboratuvarında taranmıştır. Hastalarda klinik veya radyolojik olarak gösterilmiş tromboz ve kanama varlığı araştırılmıştır. Sonuçta ET olgularında kanama ve tromboz ile Ortalama Trombosit Hacmi (MPV) ve JAK2 V617F gen mutasyon sıklığı arasındaki ilişkisi incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

KRONİK MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZMLAR

Kronik Miyeloproliferatif Neoplazmlar ilk olarak 1951 yılında Willam Dameshek tarafından tanımlanmış ve günümüze kadar bu birçok veri elde edilmiş olmasına rağmen halen aydınlatılmayı bekleyen bölümleri bulunmaktadır (3). KMPN' lar miyeloid serinin (granülositik, eritroid veya megakoryositik) kemik iliğinde aşırı çoğalması ile karakterize kronik klonal kök hücre hastalığıdır (4).

KMPN'lar bir ya da birden fazla myeloid hücre dizisinin proliferasyonu, nispeten normal bir olgunlaşmanın varlığı, hepatosplenomegalinin görülmesi, çeşitli oranlarda akut lösemiye dönüşüm ve kemik iliğinde fibrozis özelliklerini taşıyan bir grup hastalıktır (5).

2008 WHÖ sınıflandırmasına göre bu neoplazmlar içinde polisitemia vera, esansiyel trombositoz, idiyopatik myelofibrozis ve kronik myeloid lösemi ile daha nadir görülen kronik nötrofilik lösemi, hipereozinofilik sendrom/kronik eozinofilik lösemi ve sistemik mastozitozis yer alır (6).

KMPN 'lar arasında en sık görülen kronik myeloid lösemi olup, 9. kromozomda yer alan ABL (Abelson Leukemia Virus) geni ve 22. kromozomda yer alan BCR (Break-point Cluster Region) geninin t(9;22) bir araya gelerek yeni bir füzyon geni (BCR/ABL geni) oluşturması ile diğer KMPN'lardan farklılık göstermektedir (7). Ph kromozomu olarak adlandırılan bu translokasyon kronik myeloid lösemi tanısı alan hastaların %90-95'inde tespit edilmektedir (8).

İlk defa 2005 yılında, Ph negatif KMPN'larda bulunan Janus kinaz 2 (JAK2)V617F adı verilen gen mutasyonu ise PV hastalarının %90-95'inde, ET ve PM

hastaların %50-60'ında saptanmaktadır. KML hastalarında ise JAK2V617F pozitifliği son derece nadirdir.

KMPN'ların temel özellikleri; PV'de 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 ve lösemik transformasyon riski mevcuttur. PV ve ET' nin yıllık insidansı 1-3/100.000 iken, PMF daha nadir olarak görülür. (9).

PV ilk defa, 1892 yılında Vaquez tarafından 'siyanozun eşlik ettiği sürekli ve artmış hipersellülerite' olarak tarif edildi. PMF' de aynı yıllarda, ET ise 1930'larda ilk defa tanımlandı. 1951 yılında Dameshek KML, PV, ET ve PMF'i laboratuvar ve klinik benzerliklerinden dolayı Kronik miyeloproliferatif hastalıklar adı altında sınıflandırdı (10).

Tablo 1: PV tanı kriterleri (2008 WHO)

Majör	1-Hb'in erkeklerde 18,5gr/dl nin, kadınlarda 16,5 gr/dl nin üstünde olması.
	2- JAK2 ^{V617F} mutasyonu saptanması
Minör	1-Kemik iliği biyopsisinde her üç seride artış,
	2-Serum eritropoetin düzeyinin normalin altında olması
	3-Endojen eritroid koloni oluşumu
2 majör + 1 minör veya ilk majör kriter ile beraber 2 minör kriter varlığı PV tanısı için yeterlidir	

Tablo 2: PMF tanı kriterleri (WHO 2008)

Major	1. Genellikle retikülin ve/veya kollajen fibrozisle beraber megakaryositik proliferasyon ve atipi varlığı ya da belirgin retikülin fibrozis yokluğunda, megakaryositik değişikliklere, granülositik proliferasyon ve sıklıkla azalmış eritropoez ile karakterize, artmış kemik iliği sellüleritesi eşlik etmelidir.
	2. PV, BCR-ABL1(+) KML, MDS ya da diğer myeloid neoplaziler için WHO kriterlerinin karşılanmaması.
	3. JAK2 ^{V617F} veya diğer klonal belirteçlerin (örn MPLW515K/L) gösterilmesi ya da klonal belirteç yokluğunda, kemik iliği fibrozisi veya diğer değişikliklerin enfeksiyon, otoimmün bozukluk, diğer enflamatuvar durumlar, saçlı hücreli lösemi ve diğer lenfoid neoplaziler, metastazlı tümör veya toksik (kronik) myelopatilere sekonder olduğunu gösteren bulgu olmaması.
Minor	1. Lökoeitroblastozis
	2. Serum laktat dehidrogenaz düzeyinde artış
	3. Anemi
	4. Splenomegali
Tanı için 3 major ve 2 minör kriter gereklidir.	

Üç temel miyeloproliferatif bozukluğun ana bulguları, PV’de artmış alyuvar kitlesi, ET’de yüksek trombosit sayısı ve PMF’de kemik iliği fibrozisidir (11). Bu üç hastalık, artmış kemik iliği sellüleritesi, tromboz ve kanamaya eğilim ve uzun dönemde lösemik transformasyon riskini içeren birçok ortak özellik taşımaktadırlar (12).

ESANSİYEL TROMBOSİTOZ

Epidemiyoloji:

ET’ nin tahmin edilen yıllık insidansı yaklaşık 100.000’de 1,5-2,4’ tür. Daha çok yaşlı hastalarda görülür. Tanı esnasında ortalama yaş yaklaşık 50-60’tır. Ancak gençlerde de (20-50 yaş arası) önemli sayılabilecek bir insidansı vardır. Kadınlarda,

özellikle de genç grupta yer alan kadınlarda daha sık gözlenir (13). ET'li hastalarda on yıllık sağ kalım süresi %64–80 olarak belirtilmiştir ki aynı yaştaki genel populasyondan önemli oranda farklı değildir (14).

ET'da trombositlerin yaşam süresi normaldir. Trombositozda megakaryositlerin trombosit üretimini arttırması sebep olur. Trombosit üretimindeki bu artış sitokinlere artan sensitiviteye, platelet inhibitör faktörlere azalan duyarlılığa ya da otonom aktivasyona bağlı olarak gelişmektedir (15).

Hastaların %25-33'ü tanı anında asemptomatiktir. Semptomatik olanlarda vasomotor semptomlar, nörolojik semptomlar (baş ağrısı, baş dönmesi, disartri, senkop, nöbet vs.) eritromelalji (el ve ayaklarda kızarıklık ve morarmanın eşlik ettiği ağrı ve yanma hissi), kanama ya da tromboza bağlı semptomlar görülmektedir. Hemoraji ve tromboz mekanizması çok iyi tanımlanmamıştır (16).

Trombosit agregasyonunda azalmaya da trombositlerin fazla agregasyonu ve çeşitli kimyasalların intraselüler konsantrasyonundaki değişiklikleri içine alan birkaç defekt tanımlanmıştır (7).

Trombositozun derecesi, artmış tromboz veya kanama insidansı ile ilişkili gözükmektedir(18). Artmış trombosit sayısına bağlı trombojenik komplikasyonlar yanında disfonksiyon nedeniyle kanama eğilimide artmaktadır (19). Tromboembolik komplikasyon oranı 7,5/100 hasta yılı, kanama komplikasyon oranı 11,8/100 hasta yılıdır ve en sık cilt mukozal memranlar ve gastrointestinal sistemde olmaktadır. Tromboz; kanama komplikasyonuna göre daha fatal seyretmektedir (20).

Fizik muayene:

Esansiyel trombositozda fizik muayenede genellikle bir özellik yoktur. Parmak uçlarında renk değişikliği veya gangren nadiren görülebilir (21). Fizik muayenede daha çok kanama ve tromboza ait belirti ve bulgulara rastlanır. ET'lu hastaların en sık fizik muayene bulgusu %20 hastada hepatomegali ile %40–50' ye varan hastada palpabl splenomegalidir (22).

Laboratuvar:

ET tanısı için trombosit sayısı $>450.000/mm^3$ olması gerekir; ancak hastaların çoğunda trombositler $>1.000.000/mm^3$ 'dir. Hemoglobin genellikle normaldir, ancak hafif bir anemi görülebilir.

Hafif lökositöz tabloya eşlik eder. Lökosit formülünde hafif sola kayma, eozinofili ve bazofilili sıklıkla gözlenir. Dev ve garip görünümlü trombositler ve çekirdekli megakaryosit fragmanları dikkati çeker. Yaymada çok sayıda çekirdekli eritrositlerin ve gözyaşı hücrelerinin varlığı veya immatür granülosit öncüllerinin görülmesi primer trombositemi varlığından uzaklaştıran bulgulardandır. Biyokimyasal analizde LDH ve ürik asit yüksek bulunur. Vakaların % 25'inde serum vitamin B12 düzeyi yüksektir (21,23). Neredeyse hastaların hepsinde serum ferritin seviyeleri normaldir (24). Hastaların % 23'ünde pseudohiperkalemi ve artmış fosfor konsantrasyonları olmasına rağmen genellikle serum potasyum ve fosfor seviyeleri normaldir (25). ET'li hastaların 1.5 milyon/mikroL üzerindeki trombosit sayılarında kazanılmış von Willebrand sendromunun klinik bulgularına yol açar, kanama zamanı uzar, faktör VIII koagülan aktivitesi normaldir (26). İleri derecede trombositozu olan hastalarda pseudohipoksemi gözlenebilir (27).

Kemik İliği:

Kemik iliği hiperselüledir. Belirgin megakaryosit artışı dikkat çekicidir. Aspiratlarda artmış ploidiye sahip dev megakaryositler kümeleşmiş olarak görülür. Sıklıkla eritroid ve granülositer dizi hiperplazisi tabloya eşlik eder (21). Hafif fibrozis görülebilir. Fibrozisin belirgin olması ET aleyhine olan bir bulgudur. Demir skoru yüksektir (23). Multilobule büyümüş megakaryositler ve sinüsler boyunca uzanan küçük gruplar halinde kümeler oluşturma eğiliminde olan megakaryositler ET'nin temel bulgusudur (101).

Tanı:

Tanıda, tam kan sayımında uzun süreli trombositoz saptanması önemlidir. Kemik iliği aspirasyon ve biyopsisinde megakaryositlerde artış saptanır. Tanı için KML, PV gibi KMPN'in ve diğer trombozitoz nedenlerinin olmadığına gösterilmesi gerekir. Bu amaçla kan tahlilleri, radyolojik tetkikler, genetik tahliller ve patolojik incelemeler yapılmaktadır (28).

Esansiyel Trombositemi Tanı Kriterleri

WHO (2008) Kriterleri (29)

1. Trombositoz ($\geq 450000/\text{mm}^3$)

2. Morfolojik olarak artmış sayıda büyük ve olgun megakaryositlerin varlığı ile karakterize megakaryositer dizi proliferasyonu ile giden, granülopoiez ve eritropoezde anlamlı artışın eşlik etmediği kemik iliği.

3. KML, PV, PMF, MDS veya diğer miyeloid neoplazilere ait WHO tanı kriterlerine uymayan hastalık bulguları.

4. JAK2^{V617F} veya diğer klonal belirteçlerin varlığının gösterilmesi; JAK2^{V617F} yokluğunda reaktif trombositozu işaret eden bulguların olmaması.

Esansiyel trombositemi tanısı için her dört kriterin de varlığı gereklidir.

WHO (2001) Kriterleri (30)

1. Trombositoz ($\geq 600000/\text{mm}^3$).

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.

Esansiyel trombositemi tanısı için her üç kriterin de varlığı gereklidir.

Tedavi:

ET olgularında tedavi hastaların risk durumuna göre yapılır.

Tablo 3: Esansiyel Trombositemide Trombozda Risk Klasifikasyonu (31)

Düşük Risk	Yaş <60
	Tromboz hikayesi yok
	Kardiyovasküler risk faktörü yok (sigara, HT, DM, hiperlipidemi)
	Trombosit sayısı < 1.500.000
Orta Risk	Düşük ve yüksek risk grubuna girmeyenler
Yüksek Risk	Yaş > 60 veya
	Tromboz hikayesi var

Düşük riskli denilmesi için her 3 durumunda aynı anda olması, yüksek riskli olabilmesi için adı geçen risk faktörlerinden en az bir tanesinin veya her ikisinin olması şarttır (31).

Tablo 4: Esansiyel Trombositemide Trombozda Risk Gruplarına Göre Tedavi Önerileri (32)

Risk Grubu	Yaş<60	Yaş>60	Gebelerde
Düşük	düşük doz aspirin	uygulanabilir değil	düşük doz aspirin
Orta	düşük doz aspirin	uygulanabilir değil	düşük doz aspirin
Yüksek	hidroksiüre ve düşük doz aspirin	hidroksiüre ve düşük doz aspirin	İnterferon Alfa ve düşük doz aspirin

Aspirin: Düşük doz aspirin, 100 mg/gün rekürren trombotik komplikasyonlar, özellikle digital veya serebrovasküler iskemi geçiren hastalarda efektif adjuvan tedavi şeklidir. Ancak kanama riski düşünülerek antiagregan ilaçlar dikkatli kullanılmalıdır (33).

Hidroksiüre: Nonalkilleyici myelosupresif bir ajan olarak hidroksiüre, ET'nin başlangıç tedavisinde oldukça efektiftir. Trombosit sayısını kontrol etmek için gerekli olan doz genellikle 10-30 mg/kg'dır. Kullanılmaya başladıktan 2-6 hafta sonra trombosit seviyelerini düşürür. En önemli yan etkisi ilaca bağlı lökopenidir. İlaç kesildikten sonra düzelir. İdame dozu kan sayımına göre her hasta için bireyselleştirilmelidir (21). Gebelerde bu ilacın kullanımı güvenli kabul edilmekle birlikte tartışmalıdır (34). Gebelerde hidroksiürenin kullanımı ile ilgili bilgiler hayvan çalışmalarının yanı sıra az sayıdaki vaka sunumu ve retrospektif çalışmaya dayanmaktadır. Hayvan çalışmalarında hidroksiürenin teratojenik olduğu gösterilmiştir (24).

Anegralid: Seçici olarak trombositleri baskılar ve günümüzde birinci basamak tedavi için alternatif bir ajandır. Trombosit sayısını kemik iliği megakaryosit olgunlaşmasını inhibe ederek azaltır (21). Başlangıç dozu günde 2-4 kez ağız yoluyla alınan 0,5 mg anegralid şeklinde önerilmektedir. Doz 0,5 mg/hafta arttırılarak trombositemi kontrol edilir. Anegralid genellikle iyi tolere edilebilen, yan etkileri hafif ve kısa süreli olan bir ilaçtır. En sık karşılaşılan yan etkisi vazodilatasyona bağlı baş ağrısı, taşikardi, diğer aritmiler, angina, sıvı tutulumu ve baş dönmesidir. Nadir de olsa miyokard enfarktüsü ve konjestif kalp yetmezliği geliştiğine dair yayınlar vardır. Rastlanabilecek diğer komplikasyonlar arasında diyare, bulantı, kusma, karın ağrısı ve cilt döküntüleri sayılabilir (36).

Anagrelide ile yapılan çalışmalarda hidroksiüre ile kıyaslandığında anagrelide kullanan grupta artmış kanama, arteriyel tromboz ve fibrozis riski olduğu belirtilmiştir (37).

Tromboferez: Tromboferez trombosit sayısını hızla indirir. Ciddi trombositozu ve buna bağlı akut komplikasyonları olanlarda önerilmektedir. Etkisi geçicidir, trombosit sayısında sıklıkla rebound artışı yol açar. Diğer tedavilerle mutlaka kombine edilmelidir (21).

İnterferon: İnterferon Alfa anormal megakaryosit klon proliferasyonu baskılar ve megakaryosit sayı ve ploidisinde azalma sağlar (21). Bireysel tolerans ve yanıtı göre doz düzenlenmesi önerilmekle birlikte, günlük 3.000.000 ünite subkutan başlangıç dozu uygundur. Takibinde haftada üç kez düşük doz, subkutan interferon kullanılarak trombosit sayısı baskılanabilir (38). Megakaryosit kitlesinde azalma olmasına rağmen, klonal hematopoez devam eder ve alfa interferon küratif değildir (39).

JAK2 V617F MUTASYONU

Janus kinaz 2, normal ve neoplastik hücrelerde eritropoietin ve trombopoietin gibi önemli growth faktörlerin sinyal iletimlerinde görevli olan bir sitoplazmik tirozin kinazdır. JAK2 geninin 14. eksonu, 1849. nükleotidindeki G-T değişimi, JAK2 proteininin 617. aminoasid pozisyonunda valinin fenilalaninle yer değiştirmesine (V617F) neden olur (40). Bu değişiklik JAK kinazın negatif regülasyonundan sorumlu pseudokinaz bölgesine rastgelmektedir. Bu mutasyonu sonucu hücre büyüme ve farklılaşmasının anahtar komponentlerinden olan “Janus kinaz -sinyal iletili ve transkripsiyon aktivatörleri” JAKSTAT yolu kontrolsüz şekilde aktive olmaktadır (41).

STAT' lar sitoplazmada özgül hücre yüzey resptörlerine bağlanan sitokin ve büyüme faktörleri gibi çeşitli hücre dışı uyarılar ile aktive olan inaktif sitoplazmik kopyalama faktörleri olarak bilinmektedir. STAT'lar hücre büyümesi, farklılaşması, programlanmış hücre ölümü, fetal gelişim, transformasyon, inflamasyon ve immün cevap gibi değişik biyolojik olaylara aracılık eder (42). STAT protein aktivasyonunun bir kısmı ligand aracılı reseptör uyarımı sonucunda JAK ' lar aracılığı ile gerçekleşir (43).

BCR/ABL negatif KMPN' larda 2005 yılında JAK2V617F mutasyonunun tespit edilmesi, tanı ve tedavide farklı yaklaşımları gündeme getirmiştir. PV hastalarında %90–95, esansiyel trombositoz ve idiopatik myelofibrozide %50 oranlarında JAK2 mutasyonunun varlığı tespit edilmiştir (44). Bu mutasyonun tespiti ile 2008 WHO sınıflamasında JAK2V617F mutasyonu varlığı tanı kriterleri arasında yer almıştır (45).

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. (46,47). Özellikle yaşlı AML hastalarında saptanan mutasyonun, önceden tanısı konulmamış miyeloprolifertif hastalık anlamına gelebileceği düşünülmüştür. Yine JAK2 mutasyonu, nedeni açıklanamamış Budd-Chiari sendromu olan hastaların %50'sinde pozitif saptanmıştır. (48).

Biyokimyasal çalışmalar; JAK2 V617F mutasyonunun, JAK-STAT, PI3K, AKT (protein kinaz B) yollarının ve mitojen aktive protein kinazın (MAPK) sitokinden bağımsız olarak aktivasyonuna neden olduğunu göstermiştir. Tüm bu yollar, eritropoietin-reseptör etkileşiminde rol oynar (49,50). 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 (51).

JH1 bölgesi, fonksiyonel kinaz aktivitesine sahipken JH2 bölgesi daha çok düzenleyici bir rol üstlenmektedir (52). JH1 bölgesine komşu, katalitik olarak inaktif özellikte ve kinaz benzeri bölge olarak tanımlanan JH2 bölgesi aktif bir görev üstlenmemekle birlikte, JAK kinazın bazal aktivitesinin düzenlenmesinde önem taşımaktadır (53). Birbirine benzeyen iki yapının fonksiyonel olarak farklı özelliklerinin olması nedeni ile mitolojide iki yönlü Roma dönemi tanrılarında Janus'tan esinlenilerek bu moleküle Janus Kinaz ismi verilmiştir (54).

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, 293T 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 (55).

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 (56)

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 hematopoetik hücrelerin sitokinden bağımsız olarak büyüdüğü ve JAK-STAT sinyal iletimini aktive ettiği görülmüştür (57).

Diğer kinazlarla ilişkili hematolojik kanserlerden farklı olarak V617F proteininin etkili olabilmesi için EPOR, MPL veya GCSFR gibi tip 1 sitokin reseptörüne ihtiyaç duyduğu düşünülmektedir. Böyle bir mekanizma, miyeloproliferatif hastalıklarda eritroid, megakaryosit ve granülositik serilerin tutulumunu açıklayabilir. JAK2 V617F'nin hematopoetik hücrelerde ekspresyonu proliferasyon ve hücre yaşamında önem taşıyan sinyal yollarında aktivasyona neden olur. Bunlar arasında STAT5, STAT3, MAP kinaz yolları ve PI3K/Akt yolları bulunmaktadır. (56,57) 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 (58). STAT5 tarafından düzenlenen Bcl-X aktivasyonu polisitemia veranın patogeneğinde önem taşıyabilir. Son çalışmalarda hematopoetik progenitörlerde STAT5 veya Bcl-X'in sürekli aktivasyonunun spontan eritroid koloni formasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (59). Yine JAK2 V617F eritroid progenitörlerinde PI3K/Akt, 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 (60).

JAK2, büyüme hormonu, prolaktin, eritropoetin, trombopoetin gibi hormon benzeri sitokinler ve IL-3 algacı ile sinyal üreten sitokin ailesi (IL-3, IL-5 ve granüosit makrofaj koloni uyarıcı faktör) için öneme sahiptir. Jak2 aynı zamanda gp130 reseptörlerini kullanan sitokinler ve bazı interferonlar için de önemli işleve sahiptir (61). Janus kinazlar aynı zamanda ABL gibi onkogenler ile normal hücrelerin malign dönüşümünde de görev almaktadırlar. Pre-B hücrelerinden olgun B hücrelerine dönüşümünü engelleyerek onkogen olarak etki eden V-abl' nin etkinliğini gösterebilmesi için STAT5 ve STAT6 ya ihtiyacı olduğu gösterilmiştir. STAT' ların aktivasyonu için de Jak1, Jak2 ve Jak3' ün aktif olması gerektiğinden JAK' lar malign süreçte etkin görünmektedirler (62).

Hematolojik hastalığın patogenezinde JAK2'nin katkısı üç farklı mekanizma ile açıklanabilir.

- (1) JAK/STAT malign hücrelerde büyüme, proliferasyon, diferansiyasyon ve uzun süreli yaşamaya neden olan c-Myc, cyclin D, Mcl-1 ve Bcl-XL genlerinin transkripsiyonunda artışa neden olabilir.
- (2) Malign hematolojik hücrelerde; JAK sinyaline negatif regülatör etkisi olan faktörler, örneğin *silencer of cytokine signaling* ve *phosphatases* normale göre oldukça yüksek seviyelerdedir.
- (3) Çeşitli hematolojik kanserlerde JAK sinyal iletimini kullanan sitokin ve büyüme faktörleri yüksek düzeyde bulunmuştur (63).

JAK2 VE ESANSİYEL TOMBOSİTOZ

ET hastaların %50-60'ında JAK2^{V617F} pozitif saptanmaktadır (64).

JAK2 V617F mutasyonunun ET patogenezindeki mekanizmaları araştırılmaktadır. JAK2 mutasyonu olmayan klonal hücrelerde, DNA hasarı olduğu zaman Bcl-XL proteininde deaminasyonla sonlanan bir modifikasyon meydana gelmektedir. Bunun sonucunda hasarlı hücrenin apoptozisle ölümü meydana gelmektedir. Mutant JAK2 olduğunda klonal hücrelerde DNA hasarı artmakta bununla birlikte normal Bcl-XL proteininde deaminasyon cevabı inhibe edilmektedir. Sonuçta apoptozis

mekanizmasının çalışmamasıyla klonal hücrede proliferasyon meydana gelmektedir (65).

V617F pozitif trombositemi, PV'ya benzemektedir. V617F pozitif ET, negatif ET'ye zıt olarak daha yüksek hemoglobin ve lökosit değerlerine, daha sellüler kemik iliği bulgularına, artmış venöz tromboz riskine ve PV transformasyonuna sahiptir (66). Bu bulgular, V617F pozitif ET'nin eritrositoz, düşük demir depoları, düşük eritropoieti düzeyi, cinsiyet ve V617F homozigotluğu ile birlikte, bir tür PV formu olduğunu düşündürür. Daha izole trombositozu olan V617F negatif hastalarda, splenomegali, sitogenetik anomaliler, megakaryosit displazisi, lösemi ve miyelofibroze eğilim ve klonal hematopoiezis daha sık görülür. (67,68). V617F negatif elli hastanın takibinde altı yıl boyunca hastaların V617F negatif kaldığı görülmüştür.

Bu durum, V617F negatifliğinin V617F pozitif trombositeminin erken dönemi olmadığını düşündürür (69).

JAK2 mutasyonu olan ET hastalarının PV'ye benzer fenotipe sahip olduğu ve mutasyonu olmayan hastalara kıyasla venöz tromboz insidanslarının daha yüksek olduğu görülmüştür(70). Birçok bağlamda JAK2 V617F mutasyonu hemoglobin ve WBC artışıyla ilişkilendirilmiştir. Bu da daha doğrudan trombotik riskin artışıyla ilişkilendirilebilir (71). Bu duruma ek olarak mutasyonun trombosit yüzey P-selektini ve nötrofil yüzey aktivasyon markerlarının ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (72). Tromboz riski ele alındığında; 806 ET'li hasta üzerinden yapılan büyük bir çalışma sonucunda; JAK2 V617F mutasyon varlığının arteriyelden ziyade venöz tromboz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (73).

776 ET tanılı hastanın takip edildiği bir çalışmada JAK2_{V617F} mutasyonu pozitif 414 hastada, gerek ET tanısı almadan önceki yıl içinde gerekse tanı aldıktan sonra, geri kalan 362 JAK2_{V617F} negatif hastaya nazaran anlamlı olarak daha yüksek venöz tromboemboli (VTE) oranlarına rastlanmıştır. Arteriyel tromboz oranlarında ise anlamlı bir fark gösterilememiştir (74). Bu verileri destekleyen çalışmalar yanında JAK2_{V617F} mutasyonu ile vasküler olaylar arasında bir ilişki olmadığını gösteren yayınlar da mevcuttur. Wolanskyj ve arkadaşlarının 73'ü JAK2_{V617F} 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 (75).

JAK2_{V617F} mutasyonunun trombojenik etkilerini:

JAK2_{V617F}'nin trombopoietin reseptörü olan MPL'nin hücre yüzeyindeki yerleşimi ve stabilitesini değiştirerek trombosit aktivasyonuna etki edebileceği ileri sürülmüştür (76).

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 (77). Robertson ve ark. trombositlerin lökositlere bağlanmasını sağlayarak yüksek trombojenik potansiyele sahip trombosit-lökosit agregatları oluşmasına yol açan solübl p-selektinin, JAK2 pozitif KMPN' larda yüksek düzeylerde bulunduğunu göstermişlerdir (78). Falanga ve arkadaşları da JAK2_{V617F} pozitif ET hastalarından elde edilen trombositlerde trombosit p-selektin (CD62p) ekspresyonunun artmış olduğunu ve benzer şekilde doku faktörü bağlı trombosit miktarının da JAK2_{V617F} hastalarda daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir (79). Alvarez-Larran ve arkadaşları JAK2_{V617F} pozitif hastalarda monosit ve nötrofiller üzerinde CD11b ekspresyonunun artmış olduğunu göstermişlerdir (80).

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu klinik çalışma, 2000 ile Mart 2011 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Hematoloji Polikliniğine başvuran 102 Esansiyel Trombositoz hastası üzerinde retrospektif olarak yapıldı. Çalışma öncesinde yerel etik kurul onayı alındı. Hastalarda ulaşılan tanılar WHO 2008 kriterleri göz önüne alınarak değerlendirilmiş olup bu kriterlere uyan hastalar çalışmaya alındı.

Hastaların tanı sırasındaki standart klinik ve laboratuvar özellikler yanında tanıya ulaşmada kullanılan hematolojik, histopatolojik, biyokimyasal, radyodiagnostik incelemeler dosyadaki bilgilerinden aranarak titizlikle tarandı, verileri kaydedildi. Hastaların dosya kayıtları, ET tanısı konmadan önce tromboz ve kanamalı komplikasyonları yönünden öykü, fizik muayene, klinik, laboratuvar bulguları ve görüntüleme metodları ile detaylı bir şekilde incelendi.

Hastalarda, abdominal ultrasonografik görüntüleme, karaciğer ve dalak uzun aksının 130 mm'den fazla olması hepatomegali ve splenomegali olarak değerlendirildi (81).

Kanama komplikasyonları 10 grupta incelendi: 1-Kanama yok, 2-Burun kanaması, 3-Üst Gastrointestinal kanama, 4-Ekimoz, 5-Diş eti kanaması, 6-Hematom, 7- Eritromelalji, 8-Hematüri, 9-Metroraji, 10-Sınıflandırılmamış Tromboz komplikasyonları 5 grupta incelendi: 1-Tromboz yok, 2-Derin Ven Trombozu (DVT), 3-Akut Miyokard İnfarktüsü (AMI), 4-Portal Ven Trombozu (PVT), 5-İskemik Serabrovasküler Olay (ISVO), Çalışmada değerlendirilen laboratuvar parametrelerinden; tam kan sayımı (WBC, RBC, Hb, PDW, PCT, HCT, MPV ve Plt) Beckman Coulter LH-780 analizatöründe spektrofotometrik yöntemle, biyokimyasal incelemeler (LDH) Aeroset-500 analizatöründe fotometrik yöntemiyle, JAK2 V617F mutasyonu hastaların

periferal kanından izole edilen genomik DNA, real-time PCR tekniği kullanılarak TÖTM Tıbbı Genetik Laboratuvarında alışıldı.

JAK2 V617F mutasyonunun yaş, cinsiyet, hemoglobin, hematokrit, LDH, lokosit sayısı, splenomegali ve hepatomegali, kanama ve tromboz komplikasyonları ile olan ilişkisi; kanama ve trombotik olay geçiren hastaların MPV'leri arasındaki ilişkisi istatistiksel analizle incelendi.

Değerler; nicel veriler için ortalama \pm standart sapma, nitelik veriler ise sayı ve yüzde ile özetlendi. Nicel verilerle nitelik değişkenlerin ikili alt gruplarının karşılaştırılması bağımsız örneklerde T-Testi kullanıldı. Nitel değişkenler arasındaki bağımlılık Yates'in dzeltiymiş Chi-Square, Fisher'in Kesin Chi-Square testi ile incelendi. Karşılaştırma sonucunda $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

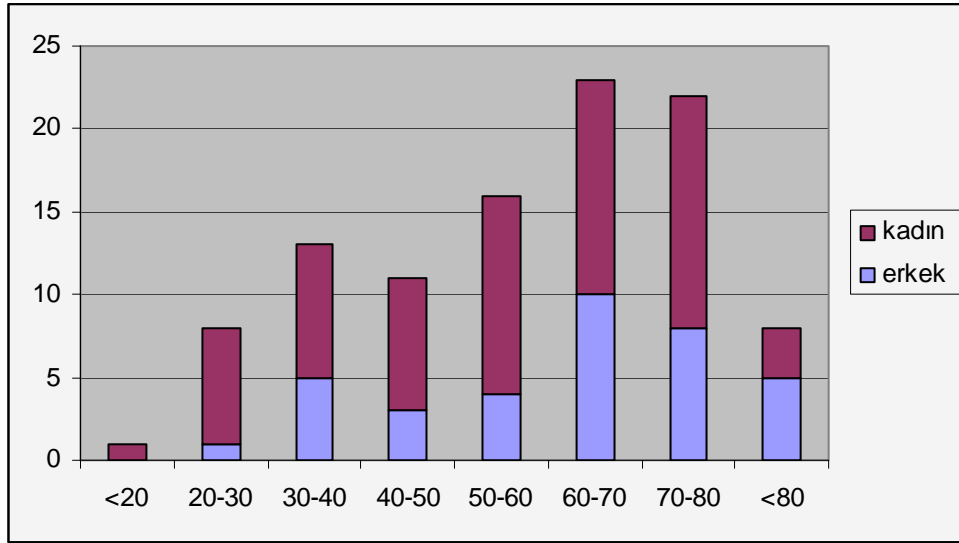
4-BULGULAR

Bu çalışmaya WHO 2008 kriterlerine göre ET tanısı almış 102 hasta alındı. Hastaların 37'si (%36,2) erkek, 65'i (%63,8) kadındı. Hastaların ortalama yaşı 56,9 (sd \pm 17,7) olup hastaların laboratuvar özellikleri tablo 5'te; cinsiyet ve yaş aralığına göre dağılımı grafik 1'de gösterilmiştir.

Tablo 5: ET hastaların tanı anındaki genel özellikleri

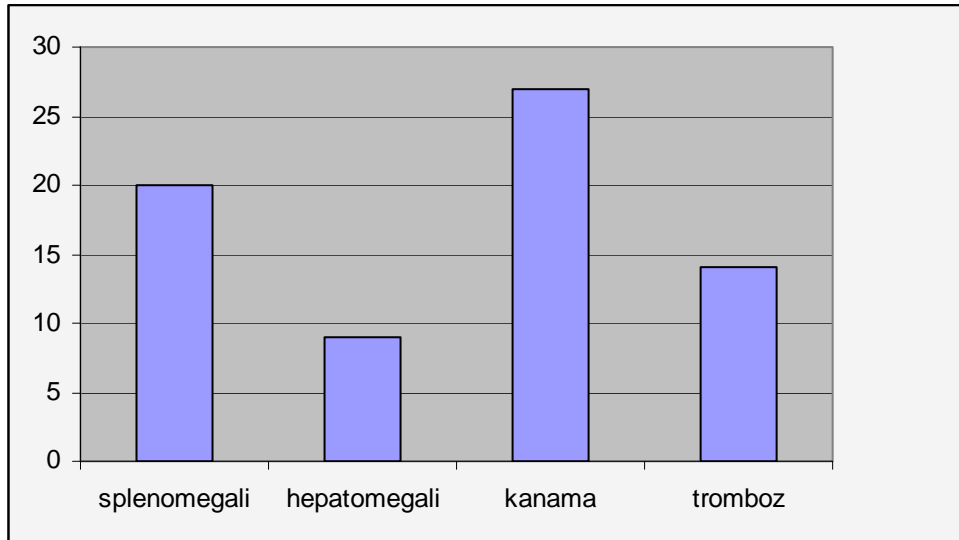
	Mean \pm Std. Deviation
Yaş (yıl)	56,96 \pm 17,59
PDW	17,53 \pm 0,79
PCT (%)	0,76 \pm 0,32
WBC(mm ³)	13,73 \pm 7,03
RBC (ml)	5,3 \pm 1,19
Hb (gr/dl)	14,1 \pm 2,06
HCT (%)	42,27 \pm 6,41
PLT(mm ³)	1174,8 \pm 564,1
MPV(fL)	7,55 \pm 0,85
MCV (fL)	81,53 \pm 12,65
RDW	17,8 \pm 4,67
LDH(mg/dl)	331,8 \pm 126,6

Grafik 1: ET olgularının cinsiyet ve yaş aralığına göre dağılımı



Hastaların tanı sırasında 20 sinde (%24,3) splenomegali, 9'unda (%13,2) hepatomegali vardı. Çalışmaya alınan 102 hastanın 75'inde (%73,5) kanama yok iken 27'sinde (%26,5) kanama vardı. 88' inde (%86,3) tromboz yok iken 14'ünde (%13,7) tromboz vardı. Hastaların geliş bulguları grafik 2 de gösterilmiştir.

Grafik 2: ET Hastalarının Geliş Bulguları



Trombozu olan hastaların 4'ünde (%3,9) PVT, 3'ünde (%2,9) AMI, 3'ünde (%2,9) ISVO, 2'sinde (%2) DVT, 1'inde (%1) PAH vardı. Hastaların trombotik atak dağılımları tablo 6 da gösterilmiştir.

Tablo 6: ET hastalarının trombotik atak dağılımları

Tromboz durumu	N / (%)
Tromboz yok	89 / 87,3
DVT	2 / 2
AMI	3 / 2,9
PVT	4 / 3,9
ISVO	3 / 2,9
PAH	1 / 1
Total	102 / 100

Kanaması olan hastaların 7'sinde (%6,9) epistaksis, 5'inde (%4,9) Üst GİS kanaması, 4'ünde (%3,9) cilt altı kanaması, 2'sinde (%2) metroraji, 2'sinde (%2) epistaksis ve Üst GİS kanaması, 1'inde (%1) hematüri, 1'inde (%1) hemopitizi, 1'inde (%1) hematom, 1'inde (%1) diş eti kanaması, 1'inde (%1) eritromelalji, 1'inde (%1) sınıflandırılmamış kanama mevcuttu. ET hastalarının kanama dağılımları tablo 7 de gösterilmiştir.

Tablo 7: ET hastalarının kanama dağılımları

Kanama durumu	n
Kanama yok	76
Hematüri	1
Metroraji	2
Hemopitizi	1
Hematom	1
Epistaksis	7
Epistaksis+Üst GİS	2
Üst GİS	5
Ekimoz	4
Diş Eti	1
Eritromelalji	1
Sınıflandırılmamış	1
Total	102

Dosyalarında JAK2 mutasyonu yönünden taranan toplam 78 (%74,6) hasta mevcuttu. Bu hastaların 27 si (34,6) erkek, 51'i (65,4) kadındı. Hastaların 35'inde (%44,9) JAK2 mutasyonu açısından normal iken 40'ında (%51,3) heterozigot, 3'ünde (%3,8) homozigot bulundu. JAK2 mutasyon durumu tablol 8 de gösterilmiştir.

Tablo 8: ET hastalarında JAK2 mutasyon durumu (n=78)

	Negatif n/(%)	Heterozigot n/(%)	Homozigot n/(%)	Toplam n/(%)
Erkek / (%)	13 / 16,7	14 / 17,9	0 / 0	27 / 34,6
Kadın / (%)	22 / 28,2	26 / 33,2	3 / 3,8	51 / 65,4
Toplam / (%)	35 / 44,9	40 / 51,2	3 / 3,8	78 / 100

JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların 13'ü (%37,1) erkek, 22' si (%62,9) kadın olup ortalama yaş:52,2 (sd±19,7) iken JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların 14'ü (32,5) erkek, 29'u (%67,5) kadın olup ortalama yaş: 59,8 (sd ±59,86) idi. Tablo 9 da JAK2 pozitif/negatiflik durumuna göre grupların karşılaştırılması gösterilmiştir.

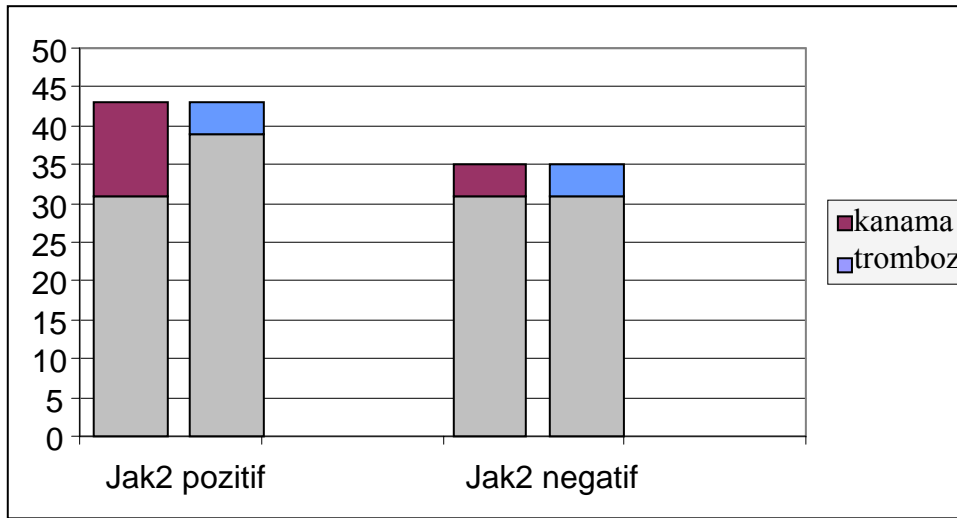
Tablo 9: JAK2 pozitif/negatiflik durumuna göre grupların karşılaştırılması

	JAK2 pozitif	JAK2 negatif	p
	Mean±Std. Deviation	Mean±Std. Deviation	
Yaş (yıl)	59,86 ± 16,12	52,23 ± 19,71	0,70
PDW	17,65 ± 0,69	17,29 ± 0,83	0,045
PCT (%)	0,7 ± 0,3	0,79 ± 0,21	0,143
WBC(mm3)	15,6 ± 58,48	11,86 ± 3,82	0,017
RBC (ml)	5,75 ± 1,13	4,72 ± 0,63	<0,0001
Hb (gr/dl)	4,43 ± 1,74	13,65 ± 1,63	0,047
HCT (%)	43,92 ± 5,72	40,04 ± 4,39	0,002
PLT(mm3)	1022,5 ± 4388,4	1351,6 ± 732,77	0,021
MPV(fL)	7,79 ± 0,9	7,23 ± 0,73	0,006
MCV (fL)	77,75 ± 12,31	84,66 ± 6,68	0,003
RDW	18,57 ± 3,35	15,97 ± 4,16	0,004
LDH(mg/dl)	345,83 ± 135,89	302,7 ± 116,97	0,167

JAK2 mutasyonu negatif olan 35 hastanın 31'inde (%88,6) tromboz yok iken 4'ünde (%11,4) tromboz vardı. Bu hastaların 1'inde DVT, 1'inde AMI, 1'inde PVT, 1'inde PAH vardı. JAK2 mutasyonu negatif olan 35 hastanın 31'inde (%88,6) kanama yok iken 4'ünde (%11,4) kanama vardı. Bu hastaların 2'sinde (%5,7) epistaksis, 2'sinde (%5,7) Üst GİS kanaması vardı.

JAK2 mutasyonu pozitif olan 43 hastanın 39'unda (%90,7) tromboz yok iken 4'ünde (%9,3) tromboz vardı. Bu hastaları 1'inde (%2,3) AMI, 1'inde (%2,3) PVT, 2'sinde (%4,7) ISVO vardı. JAK2 mutasyonu pozitif olan 43 hastanın 31'inde (%72,1) kanama yok iken 12'sinde (%27,8) kanama vardı. Bu hastaların 3'ünde (%6,9) cilt altı kanama, 2'sinde (%4,7) Üst GİS kanaması, 2'sinde (%4,7) epistaksis, 1'inde (%2,3) metroraji, 1'inde (%2,3) hematom, 1'inde (%2,3) dişeti kanaması, 1'inde (%2,3) epistaksis ve Üst GİS kanaması, 1'inde (%2,3) sınıflandırılmamış kanama vardı.

Grafik 3: JAK2 durumuna göre kanama/tromboz dağılımı



JAK2 ile kanama ve trombotik olaylar açısından gruplar karşılaştırıldığında; JAK2 mutasyonu pozitif olan grupta kanama %27,9 (12/43) iken negatiflik olan grupta kanama %8,6 (3/35) idi. Hesaplanan p değeri istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterdi (p=0,043). Ancak JAK2 pozitif grupta trombotik olay %9,3 (4/43) iken negatif olan grupta %11,4 (4/35) olup istatistiksel olarak fark saptanmadı (p=0,52). Yaş, PCT, splenomegali, Hepatomegali ve LDH düzeyi ile JAK2 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0,005). Ancak JAK2 pozitif olan grupta PDW (p=0,045), WBC (p=0,017), RBC (p<0,0001), Hb (p=0,047), Hct (p=0,002), MPV (p=0,006), RDW

($p=0,004$) yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı iken MCV ($p=0,003$), Plt ($p=0,021$) değerleri daha düşük bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

JAK2 pozitif olan grubta yaş ve LDH ortalaması klinik olarak yüksek bulunmuş olup istatistiksel fark saptanmadı (sırasıyla $p=0,70$, $p=0,167$).

Hastalar kanama durumlarına göre gruplandırıldığında yaş, PDW, PCT, WBC, RBC, Hb, HCT, Plt, MPV, MCV, RDW, LDH, hepatomegali ve splenomegali ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,005$). Hastalar tromboz durumlarına göre gruplandırıldığında yaş, PDW, PCT, WBC, RBC, Hb, HCT, Plt, MPV, MCV, RDW, LDH, hepatomegali ve splenomegali ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,005$).

5-TARTIŞMA

Kronik Myeloproliferatif Neoplazmlar hematopoetik kök hücrelerin neoplastik transformasyonu ve klonal proliferasyonu ile ortaya çıkan klonal hastalıklardır. Bu hastalıklar içinde PV, ET, PMF ve KML ile daha nadir görülen kronik nötrofilik lösemi, hiper eozinofilik sendrom/kronik eozinofilik lösemi ve sistemik mast hücre hastalığı yer alır. 2005 yılında JAK2^{V617F} mutasyonunun varlığının tespit edilmesi, tanı ve tedavide farklı yaklaşımları gündeme getirmiştir. JAK2 mutasyonlarının PV'li olguların neredeyse tamamında, ET'li ve PMF'li olguların ise yaklaşık olarak yarısında mevcut olduğunun keşfedilmesi, klasik myeloproliferatif neoplazmlar için halen kullanılmakta olan tanısıl kriterlerin yeniden gözden geçirilmesi ihtiyacını ortaya koymuştur. Bu mutasyonun keşfinden sonra 2008 WHO kriterlerinde ET tanısında JAK2^{V617F} mutasyonu tanı kriteri olarak yer almıştır (82).

ET olgularında JAK2 mutasyon pozitifliği ile kanama ve tromboz arasındaki ilişkiye bakılan birçok çalışmada farklı sonuçlar bildirilmiştir. Çalışmamızda JAK2 pozitif ET olgularında kanama ve trombozun JAK2 mutasyonu ve MPV arasındaki ilişkiyi incelemeyi hedefledik.

Geniş olgu serilerini içeren Campbell ve arkadaşları (83) 776 ET hastasının %53'ünde, Carabbio ve arkadaşları (84) ET tanısı alan 867 hastanın %57'sinde, Jones ve arkadaşları 59 ET hastasının %41'inde JAK2^{V617F} mutasyon varlığını tespit etmişlerdir. Asya bölgesini içeren 102 ET hastasında yapılan bir çalışmada ise hastaların %34'ünde JAK2^{V617F} mutasyonu tespit edilmiştir. Esansiyel trombositoz hastalarında beklenen JAK2^{V617F} mutasyon sıklığı yaklaşık %50-60'tır (85). Çalışmamızdaki JAK2 mutasyon pozitifliği %55 saptanmış olup literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Esansiyel Trombositoz hastalarında JAK2^{V617F} mutasyonunun klinik özelliklere etkisinin araştırıldığı Antonioli ve arkadaşlarının (86) yaptığı çalışmalarında; JAK2^{V617F} mutasyon pozitifliğinin hemoglobin ve lökosit seviyelerinin daha yüksek olması ve lösemik dönüşüm hızının artışı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Toyama ve arkadaşları (87) çalışmalarında ET hastalarında JAK2^{V617F} mutasyonu varlığı ile yüksek lökosit sayısı ve tromboz görülme sıklığında artış arasında anlamlı ilişki tespit etmişlerdir. 106 ET hastasında yapılan bir çalışmada JAK2^{V617F} mutasyonu varlığının artmış hematokrit, artmış, lökosit ve düşük platelet sayısı ile olan ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kittur ve arkadaşları tarafından 176 ET hastası üzerinde yapılan çalışma sonucunda; 96 hastada (%55) JAK2 mutasyonu saptanmıştır. JAK2 mutasyonu olan hastalarda anlamlı olarak yüksek hemoglobin ($p<0,0001$) ve lökosit ($p: 0,008$) değerleri olduğu gösterilmiştir (88). Bu çalışmada da JAK2 pozitif olan grupta WBC ($p=0,017$), Hb ($p=0,047$), Hct ($p=0,002$) yüksek bulunurken Plt ($p=0,021$) değerleri daha düşük bulunmuş olup literatür ile uyumluydu.

Ayrıca JAK2 pozitif olan RDW ($p=0,004$), PDW ($p=0,045$), RBC ($p<0,0001$) değerlerin yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlıydı. MCV ($p=0,004$) değeri daha düşük bulunmuş olup bu durumun JAK2 pozitif olgularda kanamanın daha sık görülmesinden kaynaklanmış olabileceği düşünüldü.

JAK2 mutasyonu ile MPV arasındaki ilişkiye ait literatür bilgileri sınırlı olup Tafazzoli ve arkadaşlarının trombosit parametrelerinin ile trombositoz etiyojisi arasındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçlayan 146 vakalık çalışmalarında Primer trombositozlu olguların MPV değerlerinin sekonder trombositozlu olguların MPV değerlerinin daha yüksek olduğunu tespit etmişler. Ülkemizde Akarsu ve arkadaşlarının 452 vakalık bir çalışmasında çeşitli kan ve sistemik hastalıklardaki MPV ve PDW değerlerinin belirlenmesi amaçlanmış olup bu çalışmada MPV açısından gurublar arasında istatistiksel fark bulunmamış ($p>0,05$). Ancak bu çalışma ayrıntılı incelendiğinde kan hastalıkları içerisinde ET hastalarının alınmadığı görülmüştür.

Bu çalışmada ise JAK2 pozitif olan grub, negatif olan gruba karşılaştırıldığında MPV değerlerinin her ikisinde de normal aralıkta olmasına rağmen JAK2 pozitif grupta daha yüksek olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p=0,006$).

Birçok çalışmada miyeloproliferatif hastalıklarda, JAK2 mutasyonu ile artmış trombotik komplikasyon riski gösterilmiştir. Ancak, buna zıt olarak, JAK2 mutasyonu ile trombotik komplikasyon arasında ilişki olmadığına dair de bir çok çalışma

mevcuttur. Bunlara örnek olarak Barbui ve Finazzi 1638 PV hastası üzerinde yaptıkları çalışmada %11,5 oranında majör tromboz geliştiğini; tüm trombozların %70,4'ünün arteriyel, %29,6'sının venöz tromboz olduğunu bildirmişlerdir. Fenaux ve arkadaşlarının 147 ET hastası üzerinde yaptıkları incelemede bu hastaların izlemleri esnasında %13,6 oranında majör tromboz geliştiği; tüm trombozların %86'sının arteriyel, %14'ünün venöz tromboz olduğu saptanmıştır (89).

2007 yılında Carobbio ve arkadaşları tarafından 439 ET hastası üzerinde yapılan çalışma sonucunda ise; JAK2 mutasyonunun tromboz gelişimi ile ilişkisi gösterilememiştir (90).

2007 yılında Finazzi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; 177 ET ve 77 PV hastası üzerinde yapılan çalışma sonucunda; JAK2 mutasyonu olan ET hastalarında, mutasyon olmayanlara göre anlamlı olarak daha sık trombotik komplikasyon geliştiği gösterilmiştir (91). Lieu ve arkadaşlarının Miyeloproliferatif hastalar üzerinde yaptığı bir çalışmada JAK2V617F mutasyonu saptanan hastalarda kanama ve tromboz sıklığı %32, mutasyon saptanmayan hastalarda %17 oranında saptanmış olup, istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir (92).

Yapılan çeşitli çalışmalarda tromboz sıklığını ET'de %11-25 arasında bulunmuştur (93). Bu çalışmada ise ET hastalarında tromboz sıklığı %13,7 bulunmuş olup literatür ile uyumlu idi. Ancak JAK2 pozitif ve negatif olan gruplar karşılaştırıldığından JAK2 ile tromboz arasında istatistiksel fark bulunmadı ($p>0,05$). Palandri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (94) ET'de JAK2 mutasyonu olan grupta splenomegalinin anlamlı ($p=0.01$) olarak fazla olduğu gösterilmişti. Cho (95), Kittur (96) ve Antonioli'nin (97) yaptığı çalışmalarda JAK2 ile splenomegali arasında bağlantı gösterilememiştir. Zhang ve arkadaşlarının 2008'de 523 KMPN'lı hastada yaptıkları çalışmada (98). JAK2 mutasyonu ile KMPN'lar arasında bağlantı incelenmiş. JAK2 mutasyon allel yükü yüksek olanlarda tanı anındaki hepatomegalinin varlığı arasındaki ilişki PMF'lerde anlamlı iken ET ve PV hastalarında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Bu çalışmada ise ET hastalarında splenomegali oranını %24,3 iken bu oran JAK2 negatif olanlarda %16,1, JAK2 pozitif olanlarda % 27,5 idi ve istatistiksel olarak fark bulunamamıştır ($p=0,204$). ET'de kanama komplikasyon oranı 11.8 / 100 hasta yıldır ve kanama en sıklıkla cilt, mukozal membranlar ve gastrointestinal sistemde olmaktadır (99).

Literatürde ET' da kanama sıklığı %4-10 arasında değişmekte olup Palondri ve arkadaşlarının 275 ET hastasında yaptığı çalışmalarında tüm ET hastalarında kanama oranını %10, Jak2 pozitif olan grupta %8, Jak 2 negatif olan grupta %14 olarak bulmuşlar (94). Choo ve arkadaşlarının 108 kişilik seride yaptıkları çalışmada tüm ET hastalarında kanama oranını %4,6, Jak2 pozitif olan grupta %2, Jak 2 negatif olan grupta %6,6 olarak bildirmişler ancak istatistiksel fark saptamamışlardır. (95).

Antonioli ve arkadaşlarının 260 ET hastasında yaptıkları çalışmada ise tüm ET hastalarında kanama oranını %6, Jak2 pozitif olan grupta %6, Jak 2 negatif olan grupta %4 olarak bulmuşlardır (97). Çalışmamızda ise Jak 2 pozitif olan grupta kanama oranı %15,3; Jak2 negatif olan grupta %5,1 olarak bulunmuş olup bu oranlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,043$).

Cinsiyetler arasında JAK2 mutasyonu açısından fark saptanmamış olup yapılan çalışmalarda da cinsiyet ile mutasyon arasında bir ilişki bulunmamıştır (100).

Çalışmamızda ise Jak2 pozitif olan hastaların %32,6'sı erkek, %67,4'ü kadın; JAK2 olan grubun %37,2'si erkek, %62,8'i kadın olup JAK2 pozitif /negatifliği açısından istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0,05$).

JAK2 mutasyonu olan hastaların daha ileri yaşta olduğu bunun anlamlı olduğu tespit edilmiştir ve diğer çalışmalarda benzer sonuç elde edilmiştir (100). Çalışmamızda JAK2 pozitif ve negatif grubun karşılaştırmasında JAK2 pozitif olan grubun yaş ortalaması (sırası ile 52,2 yıl ve 59,6 yıl) klinik olarak daha yüksek bulunmuştur; ancak istatistiksel fark saptanmamıştır ($p=0,70$).

6. SONUÇ

- 1) ET hastalarımızdaki JAK2 gen mutasyonu sıklığı %55,1' dir.
- 2) JAK2 pozitifliği olan hastalarda lökosit ve hemoglobin değerleri daha yüksek; trombosit sayısı daha düşük bulundu.
- 3) JAK2 pozitifliği ile trombotik olay arasında bir ilişki saptanmaz iken JAK2 pozitifliği durumunda kanama komplikasyonları daha sık görüldü.
- 4) JAK2 pozitifliği ile organomegali arasında bir ilişki bulunmadı.
- 5) JAK2 sıklığı ile yaş ve cinsiyet arasında bir ilişki bulunamadı.
- 6) JAK2 pozitif olgularda MPV değeri daha yüksek bulundu.
- 7) Kanama ve trombotik olay geçiren hastaların MPV değerlerinde anlamlı fark bulunmadı.

Bu çalışmada ET olgularında; MPV değerlerinin kanama ve tromboz komplikasyonları üzerinde bir etkisi görülmemiştir. ET olgularında JAK2 mutasyon pozitifliği ile tromboz ve kanama ile ilişkisi konusundan literatürde birbiriyle çelişen bilgiler mevcuttur. Çalışmamızda JAK2 mutasyonu pozitif ve negatif olan gruplar karşılaştırıldığında; JAK mutasyon varlığı ile tromboz arasında bir ilişki saptanmamış olup, kanama komplikasyonlarının daha sık olduğu görülmüştür. Ancak bu çelişkinin giderilmesi için daha çok vaka içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

Amaç: ET hastalarında JAK2 mutasyon sıklığı %50-60 oranında bildirilmiştir. Bu hastalarda JAK2 pozitifliği ile kanama ve trombotik atak arasındaki ilişki açısından literatürde birbiriyle çelişen bilgiler mevcuttur. Bu hasta grubunda kanama ve trombotik olayların MPV değerleri ile arasındaki ilişki ortaya koymaya amaçlayan literatür bilgiside yoktur.

Çalışmamızda ET olgularındaki JAK2 mutasyon sıklığı, kanama ve trombozun JAK2 ve MPV ile ilişkisini araştırmayı hedefledik.

Metaryel Metot: Bu klinik çalışma, Kasım 2000 ile Mart 2011 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Hematoloji Polikliniğine başvuran Esansiyel Trombositoz tanısı alan hastaların dosyaları retrospektif olarak tarandı. Çalışma öncesinde yerel etik kurul onayı alındı. Çalışmamız için gerekli olan veriler hastane dosya arşivi ve otomasyon sistemi kullanılarak elde edildi. Standart klinik ve laboratuvar özellikler yanında tanıya ulaşmada kullanılan hematolojik, histopatolojik, biyokimyasal, radyodiagnostik incelemeler dosyadaki bilgilerinden aranarak titizlikle tarandı. Hastaların tanı sırasındaki verileri kaydedildi. Hastaların dosya kayıtları, ET tanısı konmadan önce tromboz ve kanamalı komplikasyonları yönünden öykü, fizik muayene, klinik, laboratuvar bulguları ve görüntüleme metodları ile detaylı bir şekilde incelendi. Hastalarda, abdominal ultrasonografik görüntüleme, karaciğer ve dalak uzun aksının 130 mm'den fazla olması hepatomegali ve splenomegali olarak değerlendirildi. JAK-2 V617F mutasyonunun yaş, cinsiyet, hemoglobin, hematokrit, LDH, MCV, PCT, trombosit sayısı, lökosit sayısı, splenomegali ve hepatomegali, kanama ve tromboz komplikasyonları ile olan ilişkisi ve kanama ve trombotik olay geçiren hastaların MPV ile ilişkisi istatistiksel analizle incelendi.

Bulgular: Çalışmaya ET tanılı hasta alındı. 102 hasta alındı. ET hastalarımızdaki JAK2 gen mutasyonu sıklığı %55,1 olarak bulundu. JAK2 pozitifliği ile trombotik olay arasında bir ilişki saptanmaz iken JAK2 pozitifliği durumunda kanama komplikasyonları daha sık görüldü.

JAK2 pozitifliği ile organomegali arasında bir ilişki bulunmadı. JAK2 sıklığı ile yaş ve cinsiyet arasında bir ilişki bulunamadı. Kanama ve trombotik olay geçiren hastaların MPV değerlerinde anlamlı fark bulunmadı.

Sonuç: Çalışmamızda ET hastalarında MPV'nin kanama ve trombotik olay üzerinde bir etkisi görülmemiştir. Literatürdeki JAK2 mutasyon pozitifliği ile kanama ve tromboz arasındaki ilişkisiyle ilgili çelişen bilgilerin giderilmesi için daha çok vaka içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

8. ABSTRACT

Aim: The frequency of JAK2 mutation in patients with essential thrombocythemia have been reported by 50-60%. About the relationship between thromboembolism and bleeding with JAK 2 situation in these patients, there are conflicting information available in the literature. There is no study which aims to determine the relationship between bleeding and thrombotic events with the level of MPV in this group of patients. In our study we aimed to analyse relationship between Jak2 mutation frequency, bleeding and thrombosis with MPV levels in essential thrombocythemia patients.

Materials and Method: In this clinical study, all patients' files were scanned retrospectively who have a diagnosis of ET and come to İnönü University Medicine Faculty, TOTM Haematology Department between the date of 01.11.2000 and 01.03.2001. Before the just beginning of study we take approval of the local ethics committee. We have obtained all data, which are essential in our study, from files archive of the hospital and automation system. In addition of standard clinical and laboratory tests, all haematological, histopathological, biochemical, radiodiagnostic tests in the files were scanned carefully. All this data of patients were memorized at the time of diagnosis. Patients' file data, thrombosis and bleeding complications before the ET diagnosis, physical examinations, clinical and laboratory data, radiodiagnostic tests were examined in detail. If liver and spleen long axis was bigger than 150 mm with Abdominal USG, measure was accepted hepatomegaly or splenomegaly. Relationship of JAK2 mutation with age, gender, haemoglobin levels, haematocrit levels, LDH levels, PCT, PLT, WB, splenomegaly, hepatomegaly, bleeding and thrombosis were examined. Also relationship between MPV with patients, who had a bleeding and thrombotic events history, examined in statistical analysis.

Findings: Our study were included in the study of 102 patients diagnosed with ET. The frequency of JAK2 mutation in ET disease of our patients was found to be 55.1%. No relationship was found between JAK2 gen mutation and trombotic event but it was found a positive relationship between JAK2 mutation and bleeding complications. There was no relationship between JAK2 mutation and organomegaly in our study. Also no relationship was found between JAK2 frequency with gender and age. MPV values of patients, who had trombotic event or bleeding attack in history, did not differ significantly.

Result: In our study MPV values was not effected bleeding and thrombotic events in literature there are conflicting informations about relationship between JAK2 mutation positiveness with bleeding and thrombosis. In order to resolve these contradictions, it is necessary to do more case including studies.

9. KAYNAKLAR

1. Elliot MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2005; 128: 275 – 290.
2. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of Jak-2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-1790.
- 3- Marco Picardi, Pietro Mureto et al, Budd-Chiari syndrome in chronic myeloid leukemia, *Haematologica* 2000; 85: 42.
- 4- Je Jung Lee, Hyeoung Joon Kim et al, Portal, Mesenteric, and Splenic Vein Thromboses After Splenectomy in a Patient With Chronic Myeloid Leukemia Variant With Thrombocythemic Onset *American Journal of Hematology* 1999, 61: 212–215.
- 5- Michiels JJ, De Raeve H, Berneman Z, et al. The 2001 World Health Organization and updated European clinical and pathological criteria for the diagnosis, classification, and staging of the Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative disorders. *Semin Thromb Hemost* 2006;32: 307-40.
- 6- Wadleigh M, Tefferi A. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms according to the 2008 World Health Organization criteria. *Int J Hematol* 2010;91:174-9
- 7- Copland M. Chronic myelogenous leukemia stem cells: What's new *Curr Hematol Malig Rep* 2009;4: 66-73.
- 8- Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M. Chronic myelogenous leukemia: update on biology and treatment. *Oncology (Williston Park)* 1999;13: 169-80; discussion 181, 184
- 9- Pierre R, Imbert M, Thiele J, Vardiman JW, Brunning RD, Flandrin G. Chronic myeloproliferative diseases. *IARC Press* 2001;61-73.

- 10- Dameshek W: Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood* 1951;6: 372-375.
- 11- Palandri F, Ottaviani E, Salmi F, et al. JAK2V617F mutation in essential thrombocythemia: correlation with clinical characteristics, response to therapy and long-term outcome in a cohort of 275 patients. *Leukemia & Lymphoma*, February 2009; 50(2): 247–253.
- 12- Johansson P, Kutti J, Andreasson B, Safai-Kutti S, Vilen L, Wedel H et al Trends in the incidence of chronic Philadelphia chromosome negative (Ph-) myeloproliferative disorders in the city of Goteborg, Sweden, during 1983-99. *J Intern Med.* 2004 Aug; 256(2):161-5.
13. Fruchtman S, Hoffman R. Essential Thrombocythemia. In Hoffman R, Benz E, Shattil S (Eds) *Hematology Basic Principles and Practice*. Fourth edition. Elsevier 2005, 1277-1296.
14. Rozman C, Giralto M, Feliu E, Rubio D, Cortes MT. Life expectancy of patients with chronic nonleukemic myeloproliferative disorders. *Cancer* 1991;67: 2658-63.
15. Lennert K, Nagai K, Schwarze EW. Patho-anatomical features of the bone marrow. *Clin Haematol* 1975;4: 331-51
16. Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M, et al. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med* 1995;332:1132-6.
17. Osturk A, Gunay A, Uskent N. Therapeutic efficacy of recombinant interferon-alfa in polycythemia vera. *Acta Haematol* 1998; 60: 273
18. Kesler CM, Klein HG, Haulik RJ. Uncontrolled thrombocythemia in chronic myeloproliferative disorders. *Br J Haematol* 1982; 50: 157

19. Ohto T, Shihara H, Miyauchi Y et al. A case of coronary artery bypass surgery using LITA ve RGEA for a patient with essential thrombocythemia. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg* 1998;46: 767-71.
20. Brodmann S, Passweg JR, Gratwohl A, et al. Myeloproliferative disorders: Complications, survival and causes of death. *Ann Hematol* 2000;79: 312-8.
21. Schafer AI. Thrombocytosis and Essential Thrombocythemia. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS (Eds) *Willams Hematology*. Sixth Edition. McGraw-Hill. 2001, 1541-154.
22. Tefferi A, Fonseca R, Pereira DL, Hoagland HC. A long-term retrospective study of young women with essential thrombocythemia. *Mayo Clin Proc* 2001;76: 22-8.
23. Fruchtman S, Hoffman R. Essential Trombocythemia. In Hoffman R, Benz E, Shattil S (Eds) *Hematology Basic Principles and Practice*. Fourth edition. Elsevier 2005, 1277-1296
24. Buhr GT, Buesche G, Kreft A, Choritz H. Classification of Ph-negative Myeloproliferative disorders by histopathology and staging from bone marrow biopsies. *Leuk Lymphoma* 1996; 22(suppl):15-29.
25. Lutomski DM, Bower RH. The effect of thrombocytosis on serum potassium and phosphorous concentrations. *Am J Med Sci* 1994; 307:255-258.
26. Reisner SA, Rinkevich D, Markiewicz W, ve ark. Cardiac involvement in patients with myeloproliferative disorders. *Am J Med*. 1992; 93(5):498-504.
27. Hess CE, Nichols AB, Suratt PM, ve ark. Pseudohypoxemia secondary to leukemia and thrombocytosis. *Med Intell* 1979; 301:361-363.
28. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 2006;108:3472-6

29. 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, 2008.
30. 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.
31. Tefferi A. Risk-based management in essential thrombocythemia. ASH Education Program Book. Hematology 1999; 172
- 32- Landolfi R and Di Gennaro L. Prevention of thrombosis in polycythemia vera and essential thrombocythemia. Haematologica 2008; 93(3) 331 – 335
33. van Genderen PJJ, Michiels JJ, van Strik R, et al. Platelet consumption in thrombocythemia complicated by erythromelalgia: reversal by aspirin. Thromb Haemost 1995; 73: 210.
34. Elliott MA, Tefferi A. Thrombocythaemia and pregnancy. Best Pract Res Clin Haematol 2003; 16: 227-42.
35. Liebelt EL, Balk SJ, Faber W, Fisher JW, Hughes CL, Lanzkron SM, et al. NTP-CERHR expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of hydroxyurea. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol 2007; 80: 259-366.
36. Pettit RM, Silerstein MN; Petrone ME. Anagrelide for control thrombocythemia in polycythemia and other myeloproliferative disorders. Sem Hematol 1997; 34 :51.
37. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D, et al. United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocythemia 1 Study. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. N Engl J Med 2005; 353: 33-45.

38. Gisslinger H, Chott A, Scheithauer W, et al. Alpha interferon in the management of essential thrombocythaemia. *Eur J Cancer* 1991;27(suppl 4):69
39. Sacchi S, Gugliotta L, Papineschi F, et al. Alfa-interferon in the treatment of essential thrombocythemia: clinical results and evaluation of its biological effects on the hematopoietic neoplastic clone. Italian Cooperative Group on ET. *Leukemia* 1998; 12: 289-294.
40. Er TK, Lin SF, Chang JG, Hsieh LL, Lin SK, Wang LH et al Detection of the JAK2 V617F missense mutation by high resolution melting analysis and its validation. *Clin Chim Acta*. 2009 Oct;408(1-2):39-44.
41. Campbell PJ, Green AR. The myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2006 Dec 7;355(23):2452-66.
42. Kim SH, Lee MS. STAT 1 as a key modulator of cell death. *Cellular Signaling* 2007;19:454-465
43. Benekli N, Baer MR, Baumann H, Wetzler M. Signal transducer and activator of transcription proteins in leukemias. *Blood* 2003;101:2940-2954
44. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008;22 :14-22.
45. Wadleigh M, Tefferi A. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms according to the 2008 World Health Organization criteria. *Int J Hematol* 2010;91 :174-9.
46. Benekli M, Baer MR, Baumann H, Wetzler M: Signal transducer and activator of transcription proteins in leukemias. *Blood* 2003;101:2940-2954.

47. Levy DE, Darnell JE: Stats: transcriptional control and biological impact. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3: 651-662.
48. Patel RK, Lea NC, Heneghan MA: Prevalence of the activating JAK2 tyrosine kinase mutation V617F in the Budd-Chiari syndrome. *Gastroenterology* 2006;130:2031-8.
49. James C, Ugo V, Le Couedic J-P, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C: A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signaling causes polycythemia vera. *Nature* 2005;434:1144-1148.
50. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo S-S, Tiedt R, Passweg JR: A gain of function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-1790.
51. Saharinen P, Takaluoma K, Silvennoinen O: Regulation of the Jak2 tyrosine kinase by its pseudokinase domain. *Mol Cell Biol* 2000;20: 3387-3395.
52. Rane SG, Reddy EP Janus kinases: components of multiple signaling pathways. *Oncogene* 2000;19: 5662-5679.
- 53-Manning G, Whyte DB, Martinez R, Hunter T, Sudarsanam S, The protein kinase complement of the human genom. *Science*.2002;298:1912-1934
54. Ihle JN The Janus protein tyrosine kinase family and its role in cytokine signaling. *Adv Immunol* 1995; 6:1-35
55. Zhao R, Xing S, Li Z: Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem* 2005;280:22788-22792.
56. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJP: Activating mutation in the thyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005;7: 387-397.

57. Lu X, Levine R, Tong W: Expression of a homodimeric type I cytokine receptor is required for JAK2 V617F mediated transformation. *Proc Natl Acad Sci* 2005;102:18962- 18967.
58. Silva M, Richard C, Benito A: Expression of Bcl-x in erythroid precursors from patients with polycythemia vera. *N Engl J Med* 1998;338:564-571.
59. Garcon L, Rivat C, James C: Constitutive activation of STAT5 and Bcl-xL overexpression can include endogenous erythroid colony formation in human primary cells. *Blood* 2006;108:1551-1554.
60. Staerk J, Kallin A, Demoulin JB, Vainchenker W, Constatinescu SN: JAK1 and Tyk2 activation by the homologous polycythemia vera JAK2 V617F mutation: cross-talk with IGF1 receptor. *J Biol Chem* 2005;280:41893-9.
- 61-Yamaoka K, Saharinen P, Pesu M, Holt III VET, Silvennoinen O, O'Shea JJ. The Janusu kinases (Jaks) *Genome Biology* 2004;5(12)253
- 62-Danial NN, Rothman P. JAK-STAT signaling activated by Abl oncogenes. *Oncogene* 2000;19: 2523–2531
- 63-Verstovsek S. Therapeutic potential of JAK2 inhibitors. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009:636-42.
64. Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V et al. JAK2V617F mutation 1849G>T is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Ph-negative CML and megakaryocytic leukemia. *Blood* 2005; 106: 3370-3373.
65. Beer AP, Green AR. Pathogenesis and management of essential thrombocythemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009; 621-628.

66. Campbell PJ, Scott LM, Buck G: Definition of subtypes of essential thrombocythemia and relation to polycythemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005;366:1945-63.
67. Levine RL, Belisle C, Wadleigh M: X inactivation based clonality analysis and quantitative JAK2 V617F in PV but not ET/MMM, and identifies a subset of JAK2 V617F negative ET and MMM patients with clonal hematopoiesis. *Blood* 2006;107:4139-41.
68. Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A: Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2005;19: 1847-9.
69. Campbell PJ, Baxter EJ, Beer PA: Mutation of JAK2 in the myeloproliferative disorders: timing, clonality studies, cytogenetic associations and role in leukemic transformation. *Blood*
70. Landolfi R, Di Gennaro L. Prevention of thrombosis in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2008 Mar;93(3):331-5.
71. Hexner EO. JAK2 V617F: implications for thrombosis in myeloproliferative diseases. *Curr Opin Hematol*. 2007 Sep;14(5):450-4.
72. Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larran A, Reverter JC, Villamor N, Colomer D, Cervantes F. Increased platelet and leukocyte activation as contributing Mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status. *Haematologica*. 2006 Feb;91(2):169-75
73. Campbell PJ, Scott LM, Buck G: Definition of subtypes of essential thrombocythemia and relation to polycythemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005;366:1945-63
74. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, et al. Definition of subtypes of essential thrombocythemia and relation to polycythemia vera based on JAK2V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005; 366: 1945 – 1953.

75. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, et al. JAK2V617F mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* 2005; 131: 208 – 213.
76. Royer Y, Staer J, CostuleanuM, et al. Janus kinases affect thrombopoietin receptor cell surface localisation and stability. *J Bio Chem* 2005; 280: 27251 – 27261.
77. Kralovics R, Teo SS, Buser AS, et al. Altered gene expression in myeloproliferative disorders correlates with activation of signaling by the V617F mutation of JAK2. *Blood* 2005; 106: 3374 – 3376.
78. Robertson B, Urquhart C, Ford I, et al. Platelet and coagulation activation markers in myeloproliferative diseases: relationships with JAK2V617F status, clonality, and antip hospholipid antibodies. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1679 – 1685.
79. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, et al. V617F JAK2 mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules. *Exp Hematol* 2007; 35: 702– 711.
80. Alvarez□Larran A, Arellano-Rodrigo E, Reverter JC, et al. Increased platelet, leucocyte, and coagulation activation in primary myelofibrosis. *Ann Hematol* 2008; 87: 1218 – 1223.
81. Dick R, Watkinson A. The liver and spleen. In: Sutton D, Ed. *Textbook of Radiology and Imaging*, London: Churchill Livingstone 2003; 737-786.
82. Wadleigh M, Tefferi A. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms according to the 2008 World Health Organization criteria. *Int J Hematol* 2010; 91: 174-9.
83. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, et al. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005;366:1945-53.

84. Brodmann S, Passweg JR, Gratwohl A, et al. Myeloproliferative disorders: Complications, survival and causes of death. *Ann Hematol* 2000;79: 312-8.
85. Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V et al. JAK2V617F mutation 1849GT is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Ph-negative CML and megakaryocytic leukemia
86. Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, et al. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2005;19: 1847-9.
87. Toyama K, Karasawa M, Yamane A, et al. JAK2-V617F mutation analysis of granulocytes and platelets from patients with chronic myeloproliferative disorders: advantage of studying platelets. *Br J Haematol* 2007;139: 64-9.
88. Kittur J, Knudson RA, Lasho TL, Finke CM, Gangat N, Wolanskyj AP, Li CY, Wu W, Ketterling RP, Pardanani A, Tefferi A: Clinical correlates of JAK2V617F allele burden in essential thrombocythemia. *Cancer* 2007;109(11):2279-84.
89. Elliot MA, Tefferi A: Thrombosis and haemorrhage in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *British Journal of Haematology* 2004;128:275-290.
90. Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, Spinelli O, Delaini F, Marchioli R, Borrelli G, Rambaldi A, Barbui T: Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood* 2007;109(6):2310-3.
91. Finazzi G, Rambaldi A, Guerini V, Carobbo A, Barbui T: Risk of thrombosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera according to JAK2 V617F mutation status. *Haematologica* 2007;92(1):135-6.
- 92-Lieu CH, Wu HS, Hon YC, et al. Prevalence of the JAK2-V617F mutation in Taiwanese patients with chronic myeloproliferative disorders. *Intern Med J* 2008;38: 422-6

93. Elliot MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2005; 128: 275 – 290.
95. Palandri F, Ottaviani E, Salmi F, ve ark. JAK2V617F mutation in essential thrombocythemia: correlation with clinical characteristics, response to therapy and long-term outcome in a cohort of 275 patients. *Leukemia & Lymphoma*, February 2009; 50 (2) : 247–253.
95. Cho YU, Chi HS, Lee EH, ve ark. Comparison of clinicopathologic findings according to JAK2 V617F mutation in patients with essential thrombocythemia. *Int J Hematol* 2009; 89: 39–44
96. Kittur J, Knudson RA, Lasho TL, ve ark. Clinical correlates of JAK2V617F allele burden in essential thrombocythemia. *Cancer* 2007; 109:2279-2284
97. Antonioli E, Guglielmelli P, Poli G, ve ark. Influence of JAK2V617F allele burden on phenotype in essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2008; 93(1):41-48.
98. Elliot MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2005; 128: 275 – 290.
99. Brodmann S, Passweg JR, Gratwohl A, et al. Myeloproliferative disorders: Complications, survival and causes of death. *Ann Hematol* 2000;79: 312-8.
100. Kittur J, Knudson RA, Lasho TL, ve ark. Clinical correlates of JAK2V617F allele burden in essential thrombocythemia. *Cancer* 2007; 109:2279-2284
- 101- Imbert M, Pierre R, Thiele J, ve ark. Essential thrombocythaemi. In Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (eds): *Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. IARC Press, 2001; 39.