

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

**MYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA JAK2 V617F
MUTASYONU İLE TROMBOSİT FONKSİYONLARI
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. GÜLSÜM AKGÜN ÇAĞLIYAN**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ALİ KESKİN**

DENİZLİ-2011

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**MYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA JAK2 V617F
MUTASYONU İLE TROMBOSİT FONKSİYONLARI
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
DR. GÜLSÜM AKGÜN ÇAĞLIYAN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ALİ KESKİN

DENİZLİ-2011

Prof.Dr. Ali KESKİN danışmanlığında Dr. GÜLSÜM AKGÜN ÇAĞLIYAN tarafından yapılan “Kronik Myeloproliferatif Hastalıklarda JAK2 Mutasyonu ile Trombosit Fonksiyonları Arasındaki İlişkinin Araştırılması” başlıklı çalışma jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN Prof.Dr. Ali KESKİN

ÜYE Doç.Dr. H.İsmail SARI

ÜYE Doç.Dr. Mustafa YILMAZ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

22.03.2014
Prof. Dr. Mustafa KILIÇ
Dekan

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANI

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
POLİSTEMİ VERA.....	3
Epidemiyoloji.....	3
Etiyoloji ve patogenez.....	3
Klinik.....	4
Tanı.....	5
Tedavi.....	5
PV ve JAK mutasyonu.....	6
ESANSİYEL TROMBOSİTOZ	7
Epidemiyoloji.....	7
Etyoloji ve patogenez.....	7
Klinik.....	8
Tanı.....	9
Tedavi.....	9
ET ve JAK mutasyonu.....	10
İDİOPATİK MİYELOFİBROZİS	10
Epidemiyoloji.....	10
Etyoloji ve patogenez.....	11
Klinik.....	11
Tanı.....	12
Tedavi.....	13
İMF ve JAK mutasyonu.....	13
TROMBOSİT FONKSİYON BOZUKLUKLARI	13
EDİNİLMİŞ TROMBOSİT FONKSİYON BOZUKLUĞU	13
Trombosit fonksiyon bozukluğuna neden olan ilaçlar.....	13
Trombosit fonksiyon bozukluğuna neden olan sistemik	

Hastalıklar.....	14
Kronik Böbrek Yetmezliği.....	14
Karaciğer Hastalığı.....	15
Paraproteinemiler.....	15
Miyeloproliferatif Hastalıklar.....	15
Kardiyopulmoner By-pass Cerrahisi.....	16
Akkiz Depo Havuzu Eksiklikleri.....	17
TROMBOSİT SAYI VE FONKSİYONLARINI	
DEĞERLENDİREN TESTLER.....	17
Trombosit Sayımı ve Periferik Yayma.....	17
Kanama Zamanı.....	17
Platelet Function Analyzer.....	18
Aggregometre.....	18
Akım Sitometrisi.....	20
GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
HASTA GRUBU.....	22
İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	23
BULGULAR.....	24
TARTIŞMA.....	35
SONUÇ.....	48
ÖZET.....	50
YABANCI DİL ÖZETİ.....	52
KAYNAKLAR.....	53

TABLolar ÇİZELGESİ

	Sayfa No
Tablo-1: Trombosit Fonksiyon Testleri	20
Tablo-2: Çalışmaya alınan hastaların demografik ve laboratuvar verileri	23
Tablo-3: Çalışmaya alınan hastaların laboratuvar verileri.....	24
Tablo-4: Çalışmaya alınan hastaların cinsiyet dağılımı	24
Tablo-5: Çalışmaya alınan hastaların JAK2 mutasyon durumları	25
Tablo-6: Çalışmaya alınan hastalarda ilaç kullanım sıklıkları	25
Tablo-7: Çalışmaya alınan hastaların kanama sıklıkları ve JAK2 mutasyonu ile ilişkisi	26
Tablo-8: Çalışmaya alınan hastalarda tromboz sıklıkları ve JAK2 mutasyonu ile ilişkisi	26
Tablo-9: Çalışmaya alınan hastaların trombosit fonksiyonları ile JAK2 mutasyonu ilişkisi	27
Tablo-10: Çalışmaya alınan hastalarda epinefrin ile JAK2 mutasyonu ilişkisi	28
Tablo-11: Çalışmaya alınan hastalarda ristosetin ile JAK2 mutasyonu ilişkisi	29
Tablo-12: Çalışmaya alınan hastalarda ADP ile JAK2 mutasyonu ilişkisi	29
Tablo-13: Çalışmaya alınan hastalarda kollagen ile JAK2 mutasyonu ilişkisi	30
Tablo-14: Çalışmaya alınan PV hastalarının trombosit fonksiyonları ile JAK2 mutasyonu ilişkisi	31
Tablo-15: Çalışmaya alınan ET hastalarının trombosit fonksiyonları ile JAK2 mutasyonu ilişkisi	31
Tablo-16: Çalışmaya alınan IMF hastalarının trombosit fonksiyonları ile JAK2 mutasyonu ilişkisi	32

ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

	Sayfa No
Şekil-1: Normal agregasyon yanıtı.....	32
Şekil-2: Agregasyon yanıtı olmaması.....	32
Şekil-3: Azalmış agregasyon yanıtı	33

KISALTMALAR

MPH:	Miyeloproliferatif Hastalıklar
PV:	Polistemi Vera
ET:	Esansiyel Trombositoz
İMF:	İdiopatik Miyelofibrosiz
WHO:	World Health Organization
BFU-E:	Burst forming unit-eritroid
ITP:	İdiopatik trombositopenik purpura
JAK2:	Janus kinaz 2
JAK2V617F:	617. Pozisyondaki janus kinaz 2
KML:	Kronik myeloid lösemi
Ph:	Philedelphia
Bcr- abl:	KML tanımlanmış füzyon geni
Bcl-X:	Antiapoptotik protein
INK4a/ARF:	Hücre döngüsü ve apoptoziste görevli molekül
GM-CSF:	Granulosit- makrofaj koloni stimüle edici faktör
G-CSF:	Granulosit- makrofaj koloni stimüle edici faktör
IL-3:	İnterlökin 3
IL-11:	İnterlökin 11
MDS:	Myelodisplastik Sendrom
MPL :	Trombopoietin reseptörü
MPL 515W:	515. Pozisyondaki trombopoietin reseptörü
cAMP:	Siklik adenozin monofosfat
DDAVP:	Desmopressin
DIC:	Yaygın damar içi pıhtılaşma
HELLP:	(Sendrom) Hemoliz, karaciğer fonksiyon testi yüksekliği, trombositopeni
HÜS:	Hemolitik Üremik Sendrom
TTP:	Trombotik trombositopenik purpura
ADP:	Adenozin difosfat
Kol/epi:	Kollagen/epinefrin
Kol/ADP:	Kollagen/Adenozin difosfat
PFA-100:	Platelet Function Analyzer

VWH: Von Willebrand Hastalığı

GPIIb/IIIa: Glikoprotein IIb/IIIa

Epo: Eritropoietin

p: İstatiksel değer

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Miyeloproliferatif hastalıklar (MPH) bir ya da daha fazla miyeloeritroid hücrenin kemik iliğindeki kontrolsüz proliferasyonu ve periferik kanda matur ve immatur hücrelerin sayısının artmasıyla karakterize, hemostaz ve trombozis anomalileri ve akut lösemiye ilerleme gösterebilen klonal hastalıklardır. Polistemi vera (PV), esansiyel trombositoz (ET) ve idiopatik miyelo fibrozis (İMF) bu hastalık grubundandır. Hastalığa bağlı komplikasyonlardan en önemlileri değişik damarlarda meydana gelen kanama ve pıhtılaşmalardır. Janus kinaz 2 (JAK2) mutasyonunun keşfinden sonra MPH'ların sınıflaması ve tanı kriterleri değişmiş, tedaviye yönelik yeni ilaç geliştirilmesi için yoğun araştırmalar başlatılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yeniden revize edilen kriterlerinde PV, ET ve İMF'nin tanısında JAK2V617F mutasyonu varlığı tanı kriterleri içine girmiştir. JAK2 mutasyonu ile hastalığın şiddeti arasında ilişki olduğu ortaya konulmuştur. JAK2 mutasyonunun pıhtılaşma oluşumuna olan katkısı tartışmalıdır ve bu konuda çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir (1-4).

JAK2 mutasyonu ile miyeloproliferatif hastalığın şiddeti arasında ilişki olduğu ortaya konulmuştur. Ancak hemostatik sistemle mutasyon arasındaki ilişki net ortaya konulamamıştır. JAK2 mutasyonunun klonal eritropoezdeki rolü gösterilmiş olmakla birlikte trombosit fonksiyonları ile bu mutasyon arasındaki ilişki bilinmemektedir. Bu çalışma JAK2 mutasyon varlığı ile trombosit fonksiyonları arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

MPH'lar bir ya da daha fazla miyeloid hücrenin kemik iliğindeki kontrolsüz proliferasyonu ve periferik kanda matur ve immatur hücrelerin sayısının artmasıyla karakterize, hemostaz ve tromboz anomalileri ve akut lösemiye ilerleme gösterebilen klonal hastalıklardır (1-3). MPH terimi, kronik miyeloproliferatif hastalıkları ve atipik miyelodisplastik sendrom (MDS) ve hastalıkları kapsamaktadır. MPH genel olarak 'klasik' ve 'atipik' şeklinde sınıflandırılır. Klasik ve atipik MPH'larda artmış kemik iliği selülaritesi, hücrel maturasyon ve organomegali gözlenir (5). Klasik MPH olarak 4 hastalık tanımlanmıştır; Philadelphia (Ph) translokasyonu ve bcr-abl füzyon geni taşıyan kronik miyeloid lösemi (KML), Ph ve bcr-abl negatif polisitemi vera (PV), idiyopatik miyelofibrozis (IMF) ve esansiyel trombositoz (ET)'dur. Atipik MPH'lar 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'lar olarak tanımlanmıştır (1,2,6,7).

ET, PV ve IMF bcr-abl negatif kronik MPH'lardır. Bu grup onkohematolojik hastalıklar hematopoietik prekürsörler tarafından olgun kan hücrelerinin aşırı üretimi ve trombohemorajik komplikasyon riskinin artışıyla karakterizedir. Bu hastalıkların ortak klinik ve biyolojik özellikleri bulunmaktadır, ayrıca bu hastalıklar birbirine dönüşebilmektedir. PV'de esas olarak persistan eritrositoz gözlenirken, ET'de tipik olarak megakaryosit artışı ve platelet sayısında artış görülmektedir. IMF'de ise kemik iliği fibrozisi ön plandadır (8).

MPH'larda 2005 yılında JAK2V617F exon 14 mutasyonunun varlığının belirlenmesinden sonra bcr-abl negatif kronik MPH patogenezi ile ilgili bilgiler artmıştır. JAK 2 mutasyonunun keşfinden sonra MPH'ların sınıflaması ve tanı kriterleri değişmiş, tedaviye yönelik yeni ilaç geliştirilmesi için yoğun araştırmalar başlatılmıştır. WHO'nun yeniden revize edilen kriterlerinde PV, ET ve IMF tanımlarında JAK2V617F

mutasyonu varlığı tanı kriterleri içine girmiştir. Özellikle eşik değerde trombosit sayısına sahip hastalarda bu mutasyonun varlığı teşhis için daha da önemli hale gelmiştir. Yapılan çalışmalarda JAK2 mutasyon sıklığı PV hastalarında %65-97, ET hastalarında %23-43 ve IMF hastalarında %35-95 olarak saptanmıştır (9).

POLİSTEMİ VERA

PV, kırmızı kan hücre artışı, lökositoz, trombositoz ve splenomegali ile karakterize klonal, progresif bir MPH'tır. İlk defa 1892'de Vaguez tarafından tanımlanmıştır (10). PV'de kırmızı kan hücresi ve platelet aşırı üretimi kontrol altına alınırsa uzun süreli yaşam beklenir. Bu uzun süreli yaşam süresinden dolayı akut lösemi, miyelodisplastik sendrom ve miyelofibroze dönüşüm riski vardır (11).

Epidemiyoloji:

PV, primer polisiteminin en yaygın nedenidir ve insidansı 2.3-2.8/100.000 olarak bildirilmiştir ve MPH'lar içinde en yaygın olanıdır. PV'de erkek/kadın oranı yaklaşık olarak 1,2/1 şeklindedir. Ortalama tanı yaşı 60'tır ve nadiren 30 yaş altı hastalarda görülebilir. Yapılan bir çalışmada hastaların %5'nin 40 yaş altında %1'nin ise 25 yaş altında tanı aldığı saptanmıştır (11-14).

Etiyoloji ve Patogenez:

PV'li hastalarda eritrosit, monosit, trombositlerde ve granülositlerde X kromozomunda polimorfizm saptanmıştır. PV olgularında serum eritropoetin (epo) seviyeleri reaktif polisitemi ve sekonder eritrositoz olgularına göre normalin altında saptanmıştır. PV'li hastalarda kemik iliğinde normal epo duyarlılığı olan "burst forming unit-eritroid" (BFU-E) koloniler ve epo olmadan çoğalan koloniler de bulunmaktadır. PV'nin trombopoetin reseptörü (Mpl) ile ilişkili olduğu saptanmıştır (15-17). PV progenitör hücrelerinde antiapoptotik protein (Bcl-x) aşırı ekspresyonu ve eritroid hücrelerde apoptozisde görevli olan (INK4a/ARF) ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (18). Philadelphia negatif MPH'larda JAK2V617F mutasyonunun tanımlanmasından sonra tanı, sınıflama ve tedavide yeni yaklaşımlar gözlenecektir (1, 2, 6, 7).

Klinik:

PV'de başlıca klinik belirtiler değişik hematopoetik hücre serilerinin neoplastik oluşumu ve aşırı üretimini kapsamaktadır. Semptomatik hastalardaki nonspesifik semptomlar baş ağrısı, zayıflık, kaşıntı, baş dönmesi, terleme, görme rahatsızlığı, parastezi, eklem yakınmaları, epigastrik ağrı ve kilo kaybı şeklindedir. Artropati, hiperürisemiye bağlı olarak gut kliniğine benzemektedir. Başlıca fizik muayene bulguları siyanoz, plethore, hepatomegali, splenomegali ve hipertansiyon şeklindedir. Tromboz sık rastlanılan bir olaydır. Tedavi edilmemiş hastalar trombotik ve hemorajik olaylar açısından yüksek risklidir. 1213 hastayı değerlendiren geniş bir seride tromboz hastaların %30-40'ında ölüm nedenidir (19-24). Trombotik olayların 2/3'ü arteryeldir. İskemik inme, myokard infarktüsü ve geçici iskemik atak en yaygın trombotik olaylardır. Hastalarda ayrıca derin ven trombozu, pulmoner emboli, periferik vasküler okluzyon gözlenebilir. PV hastaları sıklıkla periferik vasküler hastalık semptomları ile kliniğe başvurur bu nedenle ilk önce dermatolog ve kalp damar cerrahları tarafından görülürler (25-27). Reisner ve arkadaşları MPH'larda kardiyak valvuler anormallikler tanımlamışlardır. PV'de, aort ve mitral valvuler lezyonlar %77 olarak saptanmıştır (28). PV ile ilişkilendirilmiş ciddi bir trombotik olay da hepatik venöz veya inferior vena cava trombozunun neden olduğu Budd-Chiari Sendromudur (29-34). Tedavi edilmeyen PV'li hastalarda %60-80 oranında konfüzyon, demans, serebral hemoraji, infarkt ve geçici iskemik atağı içeren nörolojik komplikasyonlar meydana gelebilir. Ayrıca artmış kan viskozitesine bağlı olarak baş dönmesi, parastezi, tinnitus ve baş ağrısı gözlenebilir (25, 27, 28, 35-38). PV hastalarının % 30-40'ında epistaxis, gingival ve gastrointestinal hemoraji veya vital organlarda hematomlar gözlenebilir (39). Yaklaşık %50 hastada kaşıntı görülür. Sıcak banyo ve duş sonrası tolere edilemeyen kaşıntı tipiktir (40-43). PV çalışma grubunun yaptığı 15 yıllık randomize kontrollü izlemde flebotomi ile tedavi edilen hastalarda akut lösemiye dönüşüm riski %1.5, klorambusil ile tedavi edilen grupta %17.5 ve radyoaktif fosfor ile tedavi edilen grupta %10.9 saptanmıştır (43-46). PV'li hastalar %5 ile %50 oranında IMF'yle bağlantılıdır. Dönüşüm tanı aldıktan ortalama 10 yıl sonradır. IMF'si mevcut olan PV'li hastaların akut lösemiye dönüşme riski yüksektir. Son evreye giren hastaların %20-50'sinde lösemik transformasyon gözlenir (47, 48).

Tanı:**PV için Revize Edilmiş Dünya Sağlık Örgütü Kriterleri**

Tanı için 2 major ve 1 minör kriter veya birinci major kriterle birlikte 2 minör kriter bulunması olarak tanımlanmıştır.

Major Kriterler:

1. Artmış eritrosit kitlesi, hemoglobin değerinin erkekte >18.5g/dl ve kadında >16.5g/dl olması veya yaş, cinsiyet ve yaşanan irtifaya göre hesaplanmış referans aralığının % 99'undan büyük hemoglobin değeri.

2. JAK2V617F mutasyon varlığı veya JAK2 ekzon 12 mutasyonu gibi fonksiyonel olarak benzer mutasyonun varlığı

Minör Kriterler:

1. Eritroid, granulositik ve megakaryositik proliferasyon ve panmyelozis ile birlikte hiperselularite gösteren kemik iliği biyopsisi

2. Düşük serum eritropoietin seviyesi

3. İn vitro endojen eritroid koloni oluşumu (49)

Tedavi:

Düşük riskli (60 yaş altı, geçirilmiş tromboz öyküsü olmayan ve platelet sayısı < 1.5×10^6 mm³) olan hastalarda tedavi algoritması flebotomi ve düşük doz aspirin (81mg/g) şeklindedir. Aspirin hemoraji öyküsü olan veya edinilmiş von willebrand sendromu veya ekstrem trombositozu olan olgularda kullanılmamalıdır. Yüksek riskli (60 yaş üstü, önceden tromboz öyküsü ve platelet sayısı > 1.5×10^6) olan hastalarda ise flebotomi, aspirin ve miyelosupresif tedavi (hidroksiüre, busulfan, anagrelid, interferon alfa, radyoaktif fosfor) şeklindedir. Aspirin tedavisi yalnız platelet sayısı < 1.5×10^6 olan hastalara verilmelidir (50).

Flebotomi: Eritrositoz etiyolojisine göre kesin PV olan hastalar doğru olarak belirlenmelidir. Böylece malign hastalığı olmayan hastalar kuvvetli lökogenik ajanlardan korunmuş olurlar. İlk olarak kan volumü olabildiği kadar hızlı şekilde normal değere düşürülmelidir. Flebotomi hızı hastanın genel durumuna bağlıdır. (Gün aşırı 250-500ml) Yaşlı hastalarda kardiyovasküler ve pulmoner komplikasyonlar açısından

dikkatli olunmalıdır. Haftada iki kez ya da daha küçük volumlerle flebotomi yapılmalıdır. Hematokrit seviyeleri kadınlarda %42, erkeklerde %45'de tutulmalıdır (50).

Hidroksiüre: Miyelosupresif tedavi olarak hidroksiürenin başlangıç dozu ilk haftada 30mg/kg oraldır. İdame dozu 15mg/kg/gün şeklindedir. Eğer trombotik epizodlar devam ediyorsa ve ekstrem trombositoz varsa ya da hidroksiüre tolere edilemiyorsa pegile interferon 90-180mg/hafta veya 4-6mg/gün oral busulfan ile devam edilebilir. Platelet sayısı 300×10^9 'un altına geldiğinde tedavi kesilmelidir. Aşırı doz kemoterapatik ajan uygulamasından kaçınılmalıdır. Flebotomi ile kemoterapatik ajanlara bağlı kemik iliği ve sistemik toksik etkilerden korunmuş olunur. Hiperürisemi allopurinol ile tedavi edilir. (100-300mg/gün) Kaşıntı 4-16mg/dl siproheptadinle tedavi edilebilir. Eğer başarılı olunamazsa haftada üç kez interferon alfa 3×10^6 ünite, serotonin geri alım inhibitörü paroksetin 20mg/dl veya fluoksetin 10mg/dl önerilebilir (50).

Elektif cerrahi ve diş ile ilgili girişimler kırmızı hücre kitlesi ve platelet sayısı normale gelene kadar ertelenmelidir. Aspirin cerrahiden bir hafta önce kesilmelidir. Eğer acil cerrahi planlanıyorsa flebotomi ve sitofereze devam edilmelidir. Çocuk yapmayı planlayan kadın ve erkekler flebotomi ve düşük doz aspirinle tedavi edilmelidir. Eğer yalnızca düşük doz aspirin ve flebotomi kullanılırsa, çoğunlukla gebelik boyunca tedavi gerekli değildir. Eğer flebotomi yetersizse interferon alfa ile devam edilebilir (50).

PV ve JAK2 mutasyonu

Vainchenker ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları araştırma sonucunda JAK2 mutasyonunun, psödokinaz domaininin 617. pozisyonundaki valinin fenilalanine yer değişimi sonucu oluştuğunu ortaya koymuşlardır (7). Kralovisc ve arkadaşları PV'li hastalarda 9p kromozomu üzerinde heterozigotluk kaybı tanımlamışlardır. Tüm PV'li hastalarda 6.2-Mbp bölgesi ortaktır. Bu bölge JAK2'yi kapsamaktadır ve eritropoezdeki rolü bilinmemektedir (2). JAK2 mutasyonu edinilmiş somatik bir mutasyondur ve sekonder eritrositozu olan hastalarda ve hematolojik olmayan hücrelerde görülmemektedir. Tüm PV'li hastaların homozigot mutasyonu olan eritroid progenitor hücrelere sahip olduğu bildirilmiştir (51). PCR yöntemi kullanılarak, granulositlerde düşük JAK2 yükü olan hastalar heterozigot (<%50), yüksek JAK2 yükü olan hastalar

homozigot (>%50) olarak adlandırılır (2,52). MPH'larda JAK2V617F mutasyon sıklığını araştıran ve 1000 vakayı kapsayan bir çalışmada PV'li hastalarda JAK2 mutasyon sıklığı %65-97 oranlarında ve ortalaması yaklaşık olarak %82 bulunmuştur. James ve arkadaşlarının çalışmasında %89, Levine ve arkadaşlarının çalışmasında %74, Kralovisc ve arkadaşlarının çalışmasında %65 ve Baxter ve arkadaşlarının çalışmasında %97 olarak saptanmıştır (1-3,6,7,53).

ESANSİYEL TROMBOSİTOZ

ET, reaktif trombositoz nedenleri (enfeksiyon, demir eksikliği, splenektomi, cerrahi, inflamasyon, otoimmün hastalık, metastatik kanser, lenfoproliferatif hastalık) ve diğer kronik miyeloid bozuklukların dışlanması ile doğrulanabilir bir tanıdır (54).

Epidemiyoloji:

ET, kemik iliğinde megakaryosit proliferasyonu ve dolaşımda platelet sayısının artışı ile karakterizedir. Hastaların 2/3'ü asemptomatik olmakla birlikte klinikte splenomegali, tromboz ve hemorajilerle seyreden kronik bir MPH'tır. İlk defa 1934 yılında tekrarlayan hemorajik epizodları olan ve platelet sayısı artmış bir hastada Epstein ve Goodel tarafından tanımlanmıştır. 2005 yılında JAK2 mutasyonunun keşfinden sonra hastalığın patogenezi, tanısı ve sınıflamasında önemli değişiklikler ortaya çıkmıştır. Hastalığın görölme insidansı yaklaşık olarak 1.5-2.4/100.000 olarak bildirilmiştir. Genelde orta yaşlarda görölmeye başlar ve ortalama tanı yaşı 50-60 yaş civarındadır. Kadınlarda daha sık görüldüğü belirlenmiştir (54).

Etyoloji ve Patogenez:

ET'li hastaların klonal orjininde X kromozomunda polimorfizm olduğu doğrulanmıştır (55-58). Trombopoietin seviyeleri ET'li hastalarda normal veya biraz yüksek saptanır (59-62). ET'li hastaların plateletlerinde trombopoietin reseptör ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (60-65). Philadelphia negatif MPH'larda JAK2V617F mutasyonunun tanımlanmasından sonra tanı, sınıflama ve tedavide yeni yaklaşımlar gözlenecektir (1,2,6,7).

Klinik:

ET'de yaşam beklentisini tromboz ve daha az oranda hemorajiyi içeren hemostatik komplikasyonlar etkilemektedir. Eritroid seri normale yakındır ve kemik iliği fibrozisi minimal düzeydedir. Akut lösemiye dönüşme potansiyeli %5 civarındadır (66). Hidroksiüre tedavisiyle ilişkili AML veya MDS meydana gelebilir, bu durum genellikle 17p delesyonu olan hastalarda gözlenir (66). İki seride %76-84 oranında hastaların tanı sırasında asemptomatik olduğu belirlenmiştir (67,68). Semptomları olan hastalarda büyük veya küçük damarlarda tromboz ve minör kanamalar gözlenir. Hem arteriyel hem venöz tromboz görülebilir ama arteriyel tromboz daha sık görülür. Major kanamalar nadiren gözlenir. Trombositoz sonrası semptomları ortaya çıkan hastaların %13-37'sinde hemorajik olaylar, %22-84'ünde ise tromboembolik komplikasyonlar saptanmıştır (67,69). ET'li 100 hastayı kapsayan bir seride hastaların %76'sı asemptomatik iken, 4 hastada hemoraji (3'ü başlangıçta, 1'i takip eden dönemde), 20 hastada tromboz (17'sinde arteriyel, 3'ünde venöz) bulunmuştur (67). Arteriyel tromboz cerebral, koroner, periferik arterleri içermektedir. Geçici iskemik ataklar inme kadar siktir. ET, derin ven trombozunu içeren venöz trombozlara, pulmoner emboliye, yüzeyel flebitlere, serebral sinus ve splanik vaskuler yatak gibi sıklığı az olan bölgelerde trombozlara neden olmaktadır. Eritromelalji el ve ayaklarda yanma ağrısı, parastezi ve konjesyonun gözlendiği bir durumdur. ET'li nörolojik şikayetleri olan 33 hastanın, 13'ünde baş ağrısı, 10'ununda parastezi, 9'unda posterior cerebral arter iskemisi, 6'sında anterior serebral arter iskemisi, 6'sında görme bozukluğu ve 2'sinde epileptik atak saptanmıştır (70-72). Mikrovaskuler oklüzyonlar eritromelalji, görsel ve duysal semptomlar, raynaud fenomeni, baş ağrısı gibi farklı klinik semptomlara neden olabilir. ET'de mikrovaskuler trombozlar daha fazladır ve bu durumun sorumlusu plateletlerin neden olduğu arteriyel sirkülasyonun sonundaki geçici oklüziv trombozdur (8). ET hastaları tromboz ve hemoraji açısından düşük ve yüksek riskli olmak üzere sınıflandırılabilir. Hastanın düşük riskli olarak tanımlanması için <60 yaş, tromboz öyküsünün olmaması ve platelet sayısının 1.5 milyon/ μ L'nin altında olması gereklidir. Tanı anında 60 veya daha büyük yaşta olan ve tromboz öyküsü bulunan hastalar ise yüksek riskli olarak değerlendirilir (69,72).

Tanı:**ET için Revize Edilmiş Dünya Sağlık Örgütü Kriterleri**

Tanı için 4 kriterin varlığı gereklidir.

1. Trombosit değerinin $>450 \times 10^9 / \text{lt}$ olması
2. Kemik iliği biyopsisinde büyük ve olgun megakaryositlerin sayısının artışıyla karakterize megakaryositik seri proliferasyonunun gösterilmesi, buna karşılık eritropoezde veya nötrofilik granülopoezde belirgin artışın olmaması
3. Kronik miyeloid lösemi, miyelofibrozis, polisitemia vera veya miyelodisplazi gibi diğer miyeloid hastalıkların teşhisi için ortaya konan kriterlerin karşılanamaması
4. JAK2 mutasyonu veya diğer klonal markerların varlığının gösterilmesi, reaktif trombositoz olmadığının gösterilmesi (49)

Tedavi:

ET'li hastalarda düzenli olarak düşük doz aspirin (81-100 mg/gün) kullanılmasının trombotik olaylardan koruduğu gösterilmiştir. Geçirilmiş kanama öyküsü olmayan ve platelet sayısı $<1000 \times 10^9$ olan hastalarda kanama riski minimize edilebilir. ET'li hastalarda platelet sayısını normale düşürmek için hidroksiüre, anagrelid ve interferon alfa gibi çeşitli ajanlar kullanılabilir (73).

Hidroksiüre: ET'de yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. ET için başlangıç dozu 15 mg/kg/gün şeklindedir ve ilaç başlangıçtan sonra nötropeniden korunmak amaçlı kan sayımı yapılmalıdır. Tedaviyle platelet sayısı 600×10^9 altında tutulmaya çalışılmalıdır. Hidroksiüreye bağlı doz ilişkili nötropeni, mide bulantısı, stomatit, saç kaybı, tırnak bozukluğu, oral ve ekstremitelerdeki ülserleri gözlenebilir (74,75).

Anagrelid: ET'nin nonlökogenik tedavisinde kullanılır. Anagrelid, imidazokinazolin türevidir ve insan çalışmalarında düşük dozlarda trombositopeni yaptığı gözlenmiştir. Öncelikle megakaryositleri ve megakaryosit proliferasyonunu azaltıcı etkisi bulunmaktadır. Düşük dozlarda anagrelid tedavisinin hastaların %93'ünde etkili olduğu saptanmıştır, daha da önemlisi ilk uygulanan tedaviye dirençli hastalarda etkili olmasıdır. Anagrelid için başlangıç dozu 0,5mg günde 2-4 kez ve oraldir. Anagrelid tedavisinin vazodilatör ve pozitif inotrop etkilerine bağlı yan etkileri

bulunmaktadır. Baş ağrısı, baş dönmesi, sıvı retansiyonu ve yüksek debili kalp yetmezliği gözlenebilir (76,77).

İnterferon alfa: Megakaryosit koloni formasyonu ve trombopoietik sitokinlerin GM-CSF (granulosit-makrofaj koloni stimulan faktör), G-CSF (granulosit koloni stimulan faktör), IL-3 (interlökin 3) ve IL-11 (interlökin 11) salınımının inhibisyonu yoluyla etkilidir. İnterferon alfa diğer kemoterapotik ajanları almış ve geleneksel sitotoksik ilaçlara dirençli hastalarda etkilidir (78-80).

ET ve JAK 2 mutasyonu

JAK 2 büyüme faktörleri reseptörleri ve sitoplazmik sitokin domainleri ile ilişkili bir tirozin kinazdır. Bu mutasyon PV'de %90, ET ve IMF hastalarının yarısında mevcuttur. ET hastalarının %40-60'ında JAK2V617F mutasyonu mevcuttur. MPH'larda JAK2V617F mutasyon sıklığını araştıran ve 1000 vakayı kapsayan bir çalışmada ET'li hastalarda JAK2 mutasyon sıklığı yaklaşık olarak %50-60 oranında bulunmuştur. James ve arkadaşlarının çalışmasında %43, Levine ve arkadaşlarının çalışmasında %32, Kralovisc ve arkadaşlarının çalışmasında %23, Baxter ve arkadaşlarının çalışmasında %57, Jones ve arkadaşlarının çalışmasında %41 olarak saptanmıştır (1-3,6,7,53).

Bir çalışmada JAK2 mutasyonunun ET'li hastalarda %23-43 oranında saptandığı ve mutasyon varlığının geçirilmiş venöz tromboz ile korele olduğu bildirilmiştir (9).

İDİOPATİK MYELOFİBROZİS

IMF lökoeritroblastoz, gözyaşı hücresi, poikilositoz, çeşitli derecelerde kemik iliği fibrozisi, artmış mikrodamar dansitesi ve extramedullar hematopoezle karakterize kronik malign bir hematolojik hastalıktır (82).

Epidemiyoloji:

IMF, dalak ve karaciğerinde extrameduller hematopoez ve kemik iliği fibrozisi olan iki hastada ilk defa 1879 yılında Heuck tarafından tanımlanmıştır. Hastalığın görülme insidansı yaklaşık olarak 0.5-1.3/100.000 olarak bildirilmiştir. Ortalama tanı

yaşı yaklaşık 65'tir ve çoğu hasta tanı anında 50 ve 69 yaş arasındadır. Bazı serilerde erkeklerde kadınlardan daha sık görüldüğü belirlenmiştir (82,83).

Etiyoloji ve Patogenez:

Çeşitli hayvan modellerinde kimyasal ajanların, endüstriyel solventler, hormonlar, virüsler, immunolojik stimulus ve iyonize radyasyonun kemik iliği fibrozisi gelişmesinde etkili olduğu saptanmıştır (84). IMF'de kemik iliği stromasında extrasellüler matrix proteinlerinde artış görülmektedir. Bu proteinler tip I, III, V ve VI kollagen, hyaluronik asit, fibronektin, vitronektin, tenaskin ve laminindir. Philadelphia negatif MPH'larda JAK2V617F mutasyonunun tanımlanmasından sonra tanı, sınıflama ve tedavide yeni yaklaşımlar gözlenecektir (1,2,6,7).

Klinik:

Tüm hastaların yaklaşık %25'i asemptomatiktir ve rutin fizik muayenede büyümüş dalak veya anormal kan sayımı veya periferik yayma ile saptanırlar. Fizik muayenedeki en belirgin semptom halsizlik, bitkinliktir. Halsizlik anemi sonucu oluşur, efor dispnesi ve çarpıntı gözlenebilir. Halsizliğin anemik olmayan hastalarda da önemli bir bulgu olduğu saptanmıştır. Anemi ve splenomegali dışında ateş, gece terlemesi, kaşıntı, kemik ağrısı, kilo kaybı gibi semptomlar tanı anında %20-50 oranında gözlenebilir ve yaşlılarda daha sık görülmektedir (85).

Trombotik epizodların görülme sıklığı yaklaşık olarak 5 yılda %9.6 şeklindedir ve bu oran genel populasyona göre daha sıktır. Trombozlar, venöz (serebral sinus trombozu, splanik ven trombozu, derin ven trombozu ve pulmoner tromboemboli) veya arteryel (inme, geçici iskemik atak, retinal arter tıkanıklığı, miyokard enfarktüsü, anjina pectoris ve periferik arter hastalığı) olabilir. Kardiyovasküler risk faktörleri ve trombositoz tromboz açısından risk faktörleridir (86).

Kanamalar, önemli olmayan peteşi ve ekimozdan hayatı tehdit edebilen özafajial kanamalara kadar değişebilir. Bu durum trombositopeni veya azalmış trombosit fonksiyonuna bağlıdır (84,87,88).

Pulmoner, gastrointestinal sistem, santral sinir sistemi ve genitoüriner sistemde ektopik myeloid metaplazi odakları belirlenmiştir. Extrameduller hematopoez nadiren

ciltte meydana gelebilir ve kaşıntı, pembe ve mor plaklar, papül ve hemanjiom benzeri görüntüye sebep verebilir (84,87,88).

Hepatik kan akımı artışı ve intrahepatik obstruksiyon sonucu portal hipertansiyon meydana gelebilir. Nadir olarak multipl mukokutanöz ödematöz plaklar ve nodüllerle karakterize Sweet Sendromu görülebilir. IMF, pulmoner hipertansiyon ve nefrotik sendrom ile ilişkilendirilmiştir (84-88).

Tanı:

İMF için Revize Edilmiş Dünya Sağlık Örgütü Kriterleri

Tanı için 3 major ve 2 minör kriter gereklidir.

Major kriterler:

1. Retikülin ve/veya kollagen fibrozisin eşlik ettiği megakaryosit proliferasyonu ve atipi varlığı; veya henüz önemli bir retikülin fibrozis artışının olmadığı erken dönem hastalarında granülositik proliferasyon ve azalmış eritropoezle karakterize kemik iliği sellülarite artışının eşlik ettiği megakaryosit değişiklikleri (prefibrotik sellüler faz)
2. WHO kriterlerine göre PV, KML, MDS ve diğer myeloid neoplazmların bulunmaması
3. JAK2V617F veya diğer klonal markerın gösterilmesi 515. pozisyondaki MPL (MPL515W) veya klonal markerın gösterilemediği durumlarda; kemik iliği fibrozisinin, infeksiyon, inflamasyon veya diğer neoplazilere sekonder olarak geliştiğini gösterecek bulguların olmaması

Minör Kriterler:

1. Lökoeitroblastozis
2. Artmış serum laktat dehidrogenaz seviyeleri
3. Anemi
4. Palpabl splenomegali (49)

Tedavi:

İMF için optimal tedavi formu henüz tanımlanamamıştır. Bu hastalarda allojenik kök hücre nakli kür açısından umut vericidir. Genel kabul edilen görüş asemptomatik hastaları izleme ve semptomları olan hastalara terapotik yaklaşımdır. Hidroksiüre IMF

tedavisinde faydalı bir ajan olarak görünmektedir. Kemoterapotik ve biyolojik yanıt için busulfan, 6 tioguanin, klorambusil, prednison, interferon alfa ve melfelan kullanılabilir (87-90).

IMF ve JAK mutasyonu:

JAK2 büyüme faktörleri reseptörleri ve sitoplazmik sitokin domainleri ile ilişkili bir tirozin kinazdır. Bu mutasyon PV'de %90, ET ve IMF hastalarının yarısında mevcuttur (57). MPH'larda JAK2V617F mutasyon sıklığını araştıran ve 1000 vakayı kapsayan bir çalışmada IMF'li hastalarda JAK2 mutasyon sıklığı yaklaşık olarak %50-60 oranında bulunmuştur. James ve arkadaşlarının çalışmasında %43, Levine ve arkadaşlarının çalışmasında %35, Kralovisc ve arkadaşlarının çalışmasında %57, Baxter ve arkadaşlarının çalışmasında %50, Jones ve arkadaşlarının çalışmasında %43 ve olarak saptanmıştır (1-3,6,7,53).

TROMBOSİT FONKSİYON BOZUKLUKLARI

Trombositlerin fonksiyonlarındaki bozukluk sonucu primer hemostatik tıkaç oluşturulamaz ve kanamaya eğilim oluşur. Trombosit sayısı ve koagülasyon testleri normal olduğu halde kanama zamanı uzun olan bir hastada kanama bulgularının olması trombosit fonksiyon bozukluğunu düşündürür. Trombosit fonksiyon bozuklukları kalıtsal veya edinilmiş olabilirler. Kalıtsal bozuklukların görülmesi oldukça nadir iken, edinilmiş trombosit fonksiyon bozukluklarıyla daha sık karşılaşılmaktadır (91).

EDİNİLMİŞ TROMBOSİT FONKSİYON BOZUKLUKLARI

Birçok ilacın kullanımında ve bazı sistemik hastalıklarda edinilmiş trombosit fonksiyon bozukluğu ile karşılaşılmaktadır (92-94).

1-Trombosit fonksiyon bozukluğuna neden olan ilaçlar:

a) Trombosit reseptörleri ve membran ile etkileşenler: Antihistaminikler, α -agonistler, β -blokerler, trisiklik antidepresanlar, lokal anestezipler, tiklopidin, klopidogrel, Glikoprotein(GP) IIb/IIIa antagonistleri, penisilin ve sefalosporinler

b) Prostoglandin yolağında inhibisyon yapanlar: Aspirin, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar ve kortikosteroidler

c) Siklik adenozin monofosfat (cAMP) düzeyini azaltanlar: Dipiridamol, aminofilin ve prostanoidler

d) Diğerleri: Dextran, alkol, klofibrat ve nitrogliserin

2-Trombosit fonksiyon bozukluğu yapan sistemik hastalıklar:

Böbrek yetmezliği, karaciğer hastalığı, paraproteinemiler, miyeloproliferatif hastalıklar, lösemi, miyelodisplastik sendrom, kardiyopulmoner bypass cerrahisi, edinilmiş depo havuzu eksiklikleri

Kronik Böbrek Yetmezliği

Kanama böbrek yetmezliğinin sık görülen komplikasyonlarından. Kronik böbrek yetmezliğinde genellikle trombosit fonksiyon bozukluğunun göstergesi olan peteşi, purpura, burun kanaması, ekimoz ve gastrointestinal kanama gibi kanamalar sık görülür. Ana kanama nedenleri trombositlerde metabolik kusur olması, trombosit endotel ilişkisinin bozulması ve aneminin normal trombosit fonksiyonlarına olumsuz etkisidir. Trombosit fonksiyonlarının adezyon, aggregasyon ve prokoagülan aktivitesinde bozukluk dışında trombositopeni de görülebilir. Vücutta biriken guinidosüksinik asit ve hidroksifenolik asit gibi üremik metabolitler trombosit kusurunun muhtemelen ana nedenidir. Hemotokrit düzeyinin %25'ten az olması kanama zamanını uzatır. Ayrıca kullanılan ilaçlar (heparin ve β -laktam antibiyotikler) ve trombositopenide böbrek yetersizliğindeki kanama olasılığını ve şiddetini artırır. Trombosit agregasyon çalışmasında böbrek yetmezliğine has anormallik saptanmaz. Tedavide primer hastalığın tedavisi ile birlikte dializ, desmopressin (DDAVP), konjuge östrojenler, kriyopresipat kullanılabilir. Diyaliz trombosit fonksiyonlarının ve uzun kanama zamanının düzeltilmesinde ve kanama riskinin azaltılmasında en etkin yöntemdir. Trombosit süspansiyonu ise kanamayı düzeltmez. Verilen trombositler hastada mevcut toksinlere maruz kalarak fonksiyon bozukluğuna uğrarlar (94,95).

Karaciğer Hastalığı

Kronik karaciğer hastalıklarında kanama nedeni çok çeşitlidir; Trombosit fonksiyon bozukluğu, trombosit adezyonunun azalması, anormal agregasyon ve depo havuzu eksikliği şeklinde görülürse de tam olarak ortaya konamamıştır. Bu hastalarda kanama zamanındaki uzamanın kanama riskinin göstergesi olup olmadığı bilinmemektedir. Karaciğer hastalıklarında gelişen splenomegali sonucunda hipersplenizme bağlı trombosit sayısında azalma saptanır. Defektif olan lipid metabolizması sonucunda tıpkı eritrositlerin membranlarında olduğu gibi trombosit membran yüzeyinde de fonksiyon değişiklikleri oluşur. Kronik karaciğer hastalığında olan kanamaların tedavisinde trombosit transfüzyonu, trombositopeni ve kanamada düzelmeye sağlayabilir. Birçok koagülasyon faktöründe de eksiklik olması nedeniyle taze donmuş plazma uygulanması yararlı olabilir. Konjuge östrojen kullanımı akut atak sonrasında tüm kanamalara olan eğilimde bir azalma meydana getirebilir (94-96).

Paraproteinemiler

Paraproteinler trombosit fonksiyonlarının tüm evrelerini etkiler. Kanama ve diğer hemostaz değişiklikleri muhtemelen trombosit membranının paraproteinlerle kaplanmasına ve koagülasyon faktörlerinin inhibisyonuna bağlıdır. Trombosit sayısı ve koagülasyon testlerinin normal olmasına rağmen kanama olabilir. Tedavisinde plazmaferez ve kemoterapi etkilidir (94).

Miyeloproliferatif Hastalıklar

Kanamalar genelde trombosit fonksiyon bozukluğunun özelliklerini taşıyan derimukoza kanamaları şeklindedir. Kanama yanında arteriyel veya venöz sistemde trombozlar da olabilir. Birçok olguda ve özellikle de trombozun görüldüğü olgularda trombositoz eşlik eden faktördür. Kanama ve tromboz birlikte görülebileceği gibi birbirini takip de edebilir. Trombosit fonksiyon bozukluğuna ait birçok mekanizma tanımlanmışsa da, her bir hasta için riskin önceden tahmin edilebilmesi zordur. Trombosit agregasyon testlerinin bu hastalığa ait tipik bir özelliği yoktur. Sıklıkla epinefrine agregasyon yanıtında bozukluk görülür. Kanama zamanı birçok olguda uzamıştır. Ancak kanama zamanı kanama veya tromboz riskinin göstergesi değildir.

Miyeloproliferatif hastalıklarda esas hastalığa yönelik olarak yapılan tedavi, aynı zamanda kanama veya tromboz riskini azaltmayı da amaçlar. Aspirin trombozların tekrarlamasını engellemede veya eritromelalji gibi tipik komplikasyonların tedavisinde kullanılabilir. Kontrol edilemeyen kanamalarda trombosit süspansiyonu kontrolü sağlayabilir (94,95,97).

Kardiyopulmoner bypass Cerrahisi

Yaşamsal tehdit oluşturan kanamalar ile karşılaşılabilir. Her ne kadar hemodilüsyona bağlı olarak pıhtılaşma faktörlerinin düzeyinde azalma, fibrinolitik aktivitede bir artış varsa da, trombosit fonksiyon bozukluğu, ana kanama nedenidir. Cerrahi sırasında bypass makinesinde fizyolojik olmayan yüzeylerle trombositlerin etkileşime girerek aktiflenmeleri ve parçalanmaları, hipotermi, kompleman aktivasyonu, sitokin salınımı, trombin oluşması trombosit fonksiyon bozukluğuna yol açan ana nedenlerdir. Cerrahi sonrası kanama zamanı uzun ve aşırı kanama varsa, trombosit sayısı normal de olsa trombosit süspansiyonu kullanılabilir. Taze donmuş plazma ve kriyopresipitat kanamanın sadece koagülasyon faktörlerindeki eksikliğe bağlı olduğu durumda kullanılmalıdır. DDAVP sıklıkla yüksek riskli olgularda profilaktik olarak veya meydana gelen kanamanın durdurulabilmesi için kullanılabilir. Aprotinin de, trombosit membran reseptörlerinin plazmin tarafından parçalanmalarını engelleyerek, ameliyat sonrası olan kanamaları ve kan transfüzyonunu azaltmada kullanılabilir (94,96).

Akkiz Depo Havuzu Eksiklikleri

Akkiz depo havuzu eksiklikleri sistemik lupus eritamosus, immün trombositopenik purpura, mikroanjiopatik hemolitik anemiler, yaygın damar içi pıhtılaşma, MPH'lar, tüylü hücreli lösemi, akut myeloblastik lösemi ve kardiyopulmoner bypass'da görülebilmektedir (94,95).

TROMBOSİT SAYI VE FONKSİYONLARINI DEĞERLENDİREN TESTLER

Trombosit sayımı ve periferik yayma: Trombosit sayımı direkt gözle veya tam kan sayım cihazları ile yapılabilir. Yetişkinlerdeki normal trombosit sayısı 150000-450000/mm³'dir. Periferik yaymanın trombosit sayısı, morfolojisi ve küme varlığı ile beyaz küreler ve eritrositler yönünden dikkatli olarak incelenmesi gerekir. Periferik yayma antikoagülan kullanılmamış kandan (parmak ucundan) taze olarak hazırlanmalıdır. Periferik yaymada normal fonksiyona sahip trombositler kümeler oluştururlar. Bu kümelenmelerin görülmemesi trombosit fonksiyon bozukluğunu düşündürmelidir. Periferik yaymada normalde 100'lük büyütmede her alanda 7'den daha az trombosit görülmesi trombositopeni yönünden uyarıcı olmalıdır. Periferik yaymada büyük trombositlerin görülmesi bir yıkıma bağlı olarak kemik iliği yanıtının arttığını (trombosit yaşam döngüsünün hızlandığını) düşündürür. Buna eğer eritrosit fragmantasyonu da eşlik ediyorsa, mikroanjiopatik hastalıklardan yaygın damar içi pıhtılaşma (DİC), hemoliz, karaciğer fonksiyon testi yüksekliği, trombositopeni ile seyreden (HELLP) sendromu, hemolitik üremik sendrom (HÜS) veya trombotik trombositopenik purpura (TTP) gibi şüphelenilmelidir. Trombositoz varlığı ile büyük trombositler veya megakaryosit parçacıklarının görülmesi myeloproliferatif hastalık olasılığını akla getirir (97-99).

Kanama zamanı: Deride standart bir kesi yapıldıktan sonra kanamanın durması için geçen zamanı ölçen ve değişkenlikler gösteren bir testtir. Testin referans aralığı 1 ile 9 dakikadır. Trombositler ve damar duvarı arasındaki etkileşimi ölçer. Test sadece trombosit sayı ve fonksiyonuna bağlı değildir, aynı zamanda fibrinojen konsantrasyonuna, yeterli vasküler fonksiyona, kesinin boyutu ve yönüne, kesi bölgesine, deri kalitesine, derinin ısısına, uygulayıcıya ve hasta ile uyuma bağlıdır. Trombosit sayısı normal ve aspirin kullanmayan hastalarda kanama zamanı temel olarak kalıtsal trombosit fonksiyon bozukluklarının taranması amacıyla kullanılır. Test bir çok laboratuvar tarafından, sonuçlarının değişkenlik göstermesi, tekrarlanabilirliğinin düşüklüğü ve cerrahide kanama ile ilişkisinin yetersizliği nedeniyle uygulamadan

kaldırılmıştır. Yeni trombosit fonksiyon ölçüm cihazları başlangıç trombosit fonksiyon taraması için popülerlik kazanmaktadır (97-101).

Platelet Function Analyzer (PFA-100): Kanama zamanına göre trombosit fonksiyonlarını çok daha duyarlı ve tekrarlanabilir olarak değerlendirebilmektedir. Trombosit fonksiyon tarama testi olarak kanama zamanının yerine kullanılmaya başlanmıştır. İki adet kartuş kullanılarak çalışma yapılır. Kartuşların membranı agonist kollajen-epinefrin (kol/epi) veya kollajen-adenozin difosfat (kol/ADP) ile kaplıdır. Trombositler bu delikten yüksek akım hızı ile geçerler. Cihaz trombositlerin bu membrana yapışıp, agregasyon olup ve daha sonrada açıklığın tıkanması için geçen “kapanma zamanı”nı ölçer. Üretici firmanın verdiği ve sağlıklı insanlarda yapılan bir çok çalışmada kapanma zamanının normal sınırları Kol/Epi kartuşu için 85–165sn, Kol/ADP kartuşu için 71–118sn sınırları arasında bulunmuştur (91,100). Bu cihaz aspirine bağlı kusurlar ile daha ağır fonksiyon bozukluklarının ayırımı yapabilmektedir. Normal sonuç daha pahalı olan trombosit fonksiyon testlerinin yapılmasına olan gereksinimi ortadan kaldırmaktadır. Ancak PFA-100, in vivo bir test olan kanama zamanı gibi vasküler fonksiyonu değerlendirememektedir. PFA-100 standart agregasyon ile karşılaştırıldığında aspirine bağlı kusurlar, VWH (Von Willebrand Hastalığı) ve Glanzmann trombastenisi tanısında duyarlılığı yüksektir. Ancak diğer spesifik trombosit kusurlarında (depo havuzu eksiklikleri gibi) duyarlılığı düşüktür. Ayrıca aspirinin etkisine olan duyarlılığına karşın, diğer trombosit antagonisti ilaçların etkilerine duyarlılığı düşüktür (95,102).

Agregometre: Trombosit agregasyon çalışması ile in vitro trombosit aktivasyonu ve agregasyonu ölçülür. Birçok faktör çalışma sonuçları üzerinde etkili olur (trombosit sayısı, işlem yapılan sıcaklık, karıştırma hızı ve işlem zamanı). Trombosit aktivasyonu üç aşamada gerçekleşir.

- 1) Uyarı: Agonistlerin trombositlere bağlanması hücrenin aktivasyonunu başlatır.
- 2) Hücre içindeki ikincil mesajların uyarıyı iletmeleri.

3) Cevap: Trombosit iskelet yapısının değişmesi (trombositin şekil değiştirmesi), trombositlerin fibrinojen aracılığı ile yapışıp küme oluşturmaları ve granül sekresyonudur (92,97, 99,103,104).

Trombosit aktivasyonunu başlatan agonistler zayıf ve güçlü olarak sınıflanırlar. Güçlü agonistler (kollajen, trombin vb.) agregasyonun engellendiği şartlarda bile granül sekresyonunu uyarabilirler. Zayıf agonistler (ADP, epinefrin vb.) ise yalnız başlarına granül sekresyonunu uyaramazlar; ancak agregasyonu uyarabilirler. Agregasyon neticesinde sekresyon gerçekleşebilir (103). ADP ve epinefrin trombositlerin depo granüllerinde bulunur ve primer hemostatik tıkcacın oluşumu sırasında salınarak trombosit kümeleşmesine katkıda bulunmaktadırlar. Bu ajanlara invitro trombosit yanıtı hastanın kanama bozukluğunun yapısını belirlemede yardımcıdır. Kollajen ise trombositler tarafından ihtiva edilmez, damar duvarında bulunur ve vasküler travma sonrası trombositlerin karşılaştığı öncül agrege edici veya prokoagülan faktör olarak kabul görür. Bu yüzden invitro trombosit yanıt çalışması tanısal açıdan önemlidir. En sık kullanılan agonistler trombin, kollajen, araşidonik asit, ristosetin, ADP ve epinefrindir (92,98,103).

Trombosit agregasyon testi, trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesinde günümüzde kullanılan en değerli invitro testlerden biridir. Kalıtsal ve edinsel trombosit fonksiyon bozukluklarının teşhisi ve uygun tedavi seçiminde klinik öneme sahiptir (92,93,99).

Agregometre; impedans, luminesans ve optik metod olmak üzere üç şekilde trombosit fonksiyonlarını değerlendirir; **İmpedans metodu** ile agregasyon çalışmasında tam kan kullanılır. Kan rnekleri içine yerleştirilen bir çift elektroda, eklenen agonistlerin (ADP, kollajen, epinefrin, ristosetin vb.) etkisiyle aktive olan trombositlerin yapışması sonucu elektrodlar arası impedansın artması ve impedansta meydana gelen değişikliğin kaydedilmesi esasına dayanmaktadır. **Luminesans metodu;** agonistlerin plazma içine pipetlendiği anda, plazmayla bir kimyasal birleşme yapması sonucu ortaya bir ışının çıkmasına ve bu ışının, Photo Multiplier Tube denen çok yüksek duyarlıklılı bir ışık dedektörü kullanılarak ölçülmesi prensibine dayanır. **Optik metod;** plazmaların yoğunluklarının optik yolla karşılaştırılması prensibine dayanır. Agonist ajanlar (ADP, kollajen, epinefrin, ristosetin vb.) bir manyetik düzenek yardımıyla karıştırılan sitratla

antikoagüle edilmiş trombositten zengin plazma örneğine eklenince trombositlerde şekil değişikliği ve takiben agregasyon oluşur. Sonuçta bulanık bir suspansiyon olan trombositten zengin plazma agregatlar oluştuğunda saydamlaşarak ışık geçirmeye başlar. Agregometre, trombosit suspansiyonunun ışık geçirgenliğindeki değişimi kaydeder. Geçirgenlikteki artış agregasyonun oluştuğunu gösterir (105-107).

Hastalıklarda trombositlerin agonistlere verdiği cevaplar ve tanı için gerekli diğer çalışmalar aşağıdaki tabloda verilmiştir (92).

Tablo-1:Trombosit Fonksiyon Testleri

	Testler	Konjenital	Kazanılmış
Adezyon	Trombosit adezyon	Bernard Soulier	İTP
	Ristosetin aglutinasyon	Sendromu	MPH
Agregasyon	Epi, ADP, Kol, trombin ile agregasyon	Glanzman trombastenisi	Bypass KBY Heparin
Sekresyon	ATP/ADP oranı	Depo havuz hast.	
VWAg	VW: Ag: Elisa İmmunassay	VWH	Kazanılmış VWH
VWF aktivitesi	FVIII: C, Ricof, VWF multimerler, CBA	VWH	
Damar-trombosit ilişkisi	PFA, kanama zamanı	Yukarıdaki tüm hastalıklar	Aspirin, NSAİİ, antibiyotikler

Akım sitometrisi: Akım sitometrisi de trombosit yapı ve fonksiyonunu ölçmede kullanılabilir. Trombosit aktivasyonu sırasında hücre yüzeyinde ortaya çıkan (P-selektin ve trombospondin gibi) proteinlerin ve GP IIb/IIIa'nın fibrinojene bağlanmasıyla oluşan yeni epitoplara antikorlar aracılığıyla saptanması trombosit aktivasyonunun saptanmasında kullanılmaktadır. Aynı zamanda trombosit yüzey glikoproteinlerinde eksiklik olup olmadığı da saptanabilmektedir (Glanzman trombositopenisinde GP IIb/IIIa reseptörlerinin eksikliği gibi). Akım sitometrisi ayrıca dense granüllerin (mepakrin uptake veya salınımı), agregasyon, mikropartikül oluşumu ve trombosit prokoagülan aktivitesinin ölçümünde de kullanılmıştır. Akım sitometrisinin

diğer bir kullanım yeri ise idiyopatik trombositopenik purpura (İTP) ve ilaca bağlı trombositopenilerde trombosit otoantikoklarının saptanmasıdır (92,100).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Pamukkale Üniversitesi hematoloji polikliniğine başvuran ve yapılan incelemelerde miyeloproliferatif hastalık tanısı olan hastalarda yapılmıştır. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu tarafından 02.12.2009 tarih ve 08 nolu sayısıyla onay verilen çalışma, Ocak 2010-Aralık 2010 tarihleri arasında yapılmış olup, çalışmaya 60 gönüllü hasta dahil edilmiştir.

Çalışmaya alınacak kişilerin geçmiş ve şu anki sağlık durumları, mevcut ve geçirilmiş kanama semptomları (kolay morarma, burun kanaması, diş eti kanaması, dental veya cerrahi girişimlerde aşırı kanama, postpartum hemoraji) ve trombotik semptomları (serebral, kardiyak, periferik damar arteriyel ve venöz tromboz) kaydedildi. Tüm hastaların anamnez ve fizik muayeneleri yapılarak onamları alındı.

Bilinen kanama veya pıhtılaşma bozukluğuna neden olabilecek, hormon bozuklukları, karaciğer ve böbrek yetmezliği olan hastalar çalışmaya alınmadı. Non steroid anti inflamatuvar ilaçlar, aspirin ve platelet fonksiyon bozukluğu yapabilecek tüm ilaç ve bitkisel ajanlar en az 14 gün öncesinden kesilmiştir.

Çalışmaya alınmasına karar verilen bireylerde; tam kan sayımı ve trombosit fonksiyonlarını değerlendirmek için ADP, kollagen, epinefrin ve ristosetin ile trombosit agregasyon testleri yapıldı. Rutin olarak hematoloji polikliniğinde takip edilen tüm MPH tanılı hastalarda başlangıçta tanı aşamasında genetik laboratuvarında JAK2 mutasyonlarına bakılmaktadır. Hastaların dosyalarından bu bilgiler alınarak kaydedildi.

Tam kan sayımı için kan örneği venöz yoldan %3.8 sodyum sitrat içeren tüplere alındıktan sonra 4000 g devirde 5 dakika santrifüj edilerek plazma örneği ayrıldı. Hazır kitler kullanılarak Dode Behring BCS XP cihazında çalışıldı. Normal referans aralıkları hemoglobin için 12-16g/dl, hematokrit için %36-50, trombosit için $150-450 \times 10^3 / \text{mm}^3$ ve lökosit için $4-10 \times 10^3 / \text{mm}^3$ olarak belirlendi.

Trombosit agregasyon testleri için gereken kan örnekleri venöz yoldan %3.8 sodyum sitrat içeren tüplere sabah aç karnına alınarak bekletilmeden çalışıldı. Optik metod ile çalışılan test için ilk olarak kan örnekleri 1000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip plazması ayrılarak PRP elde edildi. Aynı kan örnekleri 4000 rpm'de 12 dakika santrifüj

edilerek PPP hazırlandı. Agregasyon testleri Chrono-Log (Chrono-log Corporation) agregometre cihazında yapıldı. Reaktif (uyarıcı ajan) olarak; epinefrin, ADP, kollajen ve ristosetin kullanıldı. Önceden 37⁰C'ye kadar ısıtılmış 450µL referans plazma (PPP) doldurulmuş sikonize tüp agregometrenin PPP kuyucuğuna, 450µL trombosit zengin plazma (PRP) içeren sikonize tüp ise PRP kuyucuğuna konuldu. PRP içeren tüp içerisine bir adet karıştırıcı manyetik çubuk atıldı. İşlem cihaz üzerinde başlatıldı. Cihazın SetBaseline butonuna basılarak PPP ile PRP'yi yoğunluk bakımından karşılaştırarak bu oranı sifira eşitleyip cihazın kendi kalibrasyonu'nu yapması sağlandı. Bu sağlandıktan sonra işlem yeniden başlatılarak PRP küvetine reaktiflerden biri (ADP 0.3 µl (mikrolitre), kollajen 0.1 µl, epinefrin 0.4 µl, ristosetin 0.4 µl) eklenerek bilgisayar ekranından agregasyon sonucu gözlemlendi. Agregasyon tamamlandıktan sonra ekrandaki çizgi düz çizmeye başladığında işlem durduruldu. Program menüsünden hesaplama kısmına girilerek istenen zaman dilimi arasındaki agregasyon eğrisinin genliği (amplitude) ve eğimi (slope) hesaplandı. Aynı işlem reaktiflerden her biri için sırasıyla tekrarlandıktan sonra sonuçlar yazdırılarak yorumlandı. Normal referans aralıkları; kollajen için %70-94, ADP için %69-88, epinefrin için %78-88, ristosetin için %87-102 olarak kabul edildi.

PRP içerisinde henüz santrifüj edilerek çöktürülmemiş trombositler bulunmaktadır. Bunlar test sırasında eklenen reaktifler ile (ADP, kollajen, epinefrin, ristosetin) hızla agregasyon olmaya başlar ve plazma içerisinde gittikçe büyüyen partiküller (agregantlar) oluşur. Agregometre cihazı PPP ile PRP'nin yoğunluklarının optik yolla karşılaştırılması prensibine dayanmaktadır. PRP içindeki partiküller absorbans (optik geçirgenlik) değerinin gittikçe artmasına neden olur. Bu ışık geçirgenliğindeki değişiklik zamana bağlı olarak cihaz tarafından kaydedilir. Kullanılan reaktif hacimleri ve konsantrasyonları, her firmanın kitine ve kullanılan cihaza bağlı olarak değişir her laboratuvar kendi cut-off değerlerini bulmalıdır.

Veriler kişisel bilgisayarda Statistical Package for Social Sciences Version 13.0 (SPSS-13.0) istatistik paket programında değerlendirildi. Verilerin analizinde Oneway anova, student T testi ve Chi-Square Test kullanıldı. p<0.05 düzeyinde anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

MPH tanısı ile çalışmaya 60 hasta alındı. Yaşları 22 ve 88 arasında olan hastaların ortalama yaşı $61.68 \pm 15,1$ idi. Ortalama lökosit sayısı $11.74 \pm 10.24 \times 10^3$, ortalama Hb değeri 15.06 ± 1.80 , ortalama Htc değeri 44.9 ± 5.64 ve ortalama trombosit sayısı $494.78 \pm 2.69 \times 10^3$ bulundu. (Tablo-2)

Tablo-2: Çalışmaya alınan hastaların demografik ve laboratuvar verileri (n=60)

	Min-Maks	Ortalama \pm SD
Yaş	22-88	61.68 ± 15.1
Lökosit	3840-31140	11741 ± 10243
Hemoglobin	10.7-18.2	15.06 ± 1.80
Hemotokrit	33.6-54.3	44.92 ± 5.64
Trombosit	121000-1928000	490783 ± 2698

Ortalama lökosit sayısı PV hastalarında $11.85 \pm 5.51 \times 10^3$, ET hastalarında $11.49 \pm 13.99 \times 10^3$ ve IMF hastalarında ise $13.50 \pm 3.53 \times 10^3$ saptandı. PV, ET ve IMF tanılı hastaların lökosit sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı. (p=0.963)

Ortalama Hb değerleri PV hastalarında 16.14 ± 1.09 , ET hastalarında 13.94 ± 1.73 ve IMF hastalarında ise 14.45 ± 2.33 saptandı. PV, ET ve IMF tanılı hastaların hemoglobin değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulundu. (p=0.0001)

Ortalama trombosit değerleri PV hastalarında $392.83 \pm 180.68 \times 10^3$, ET hastalarında $604.60 \pm 311.84 \times 10^3$ ve IMF hastalarında ise $366.50 \pm 205.76 \times 10^3$ saptandı. PV, ET ve IMF tanılı hastaların trombosit sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulundu. (p=0.0001), (Tablo-3)

Tablo-3: Çalışmaya alınan hastaların laboratuvar verileri (n=60)

	Lökosit	Hemoglobin	Trombosit
PV	11.85±5.51x10 ³	16.14±1.09	392.83±180.68 x10 ³
ET	11.49± 13.99x10 ³	13.94±1.73	604.60±311.84x10 ³
İMF	13.50±3.53 x10 ³	14.45±2.33	366.50±205.76 x10 ³
p	0.963	0.0001	0.0001

(p=0.0001, istatikselsel olarak anlamlı)

Çalışmaya alınan hastaların %41.7'si (25/60) kadın, % 58.3'ü (35/60) erkekti. Kadın hastaların %68'inde (17/25) JAK2 mutasyonu pozitif iken, erkek hastaların JAK2 mutasyon pozitifliği %62.9 (22/35) idi. Kadın ve erkek hastalar arasında JAK2 mutasyonu varlığı açısından istatikselsel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.681) (Tablo-4)

Tablo-4: Çalışmaya alınan hastaların cinsiyet dağılımı (n=60)

	JAK2 pozitif	JAK2 negatif	Toplam
Erkek	22 (%62.9)	13 (%37.1)	35 (%58.3)
Kadın	17 (%68)	8 (%32)	25 (41.7)
Toplam	39 (%65)	21 (%35)	60 (%100)

(p=0.681, istatikselsel olarak anlamlı değil)

Çalışmaya alınan 60 hastanın %65'inde (39/60) JAK2 mutasyonu pozitif bulundu. %35'inde (21/60) ise JAK2 mutasyonu negatif bulundu. Çalışmaya alınan 60 MPH tanılı hastanın; %50'si (30/60) PV, %46.7'si (28/60) ET ve %3,3'ü (2/60) İMF idi. JAK2 mutasyon sıklığı PV'li hastalarda %83.3, ET'li hastalarda %42,9 ve İMF'li hastalarda %100 olarak saptandı. Çalışmaya alınan hastalarda JAK2 mutasyon varlığı açısından anlamlı bir farklılık bulundu. (p=0.003) (Tablo-5)

Tablo-5: Çalışmaya alınan hastaların JAK2 mutasyon durumları (n=60)

	JAK2 pozitif	JAK2 negatif	Toplam
PV	25 (%83.3)	5 (%16.7)	30 (%100)
ET	12 (%42.9)	16 (%57.1)	28 (%100)
İMF	2 (%100)	0	2 (%100)
Toplam	39 (%65)	21 (%35)	60 (%100)

(p=0.003, istatistiksel olarak anlamlı)

Çalışmaya alınan hastaların %61.7'si (37/60) daha öncesinde aspirin, %1.7'si (1/60) klopidogrel tedavisi kullanıyordu ve testin uygulanmasından en az 14 gün önce tedavileri kesilmişti. Hastaların %36.7'si (22/60) aspirin veya diğer bir antiagregan tedavi almıyordu. Tüm hastaların hastalıklarına yönelik kullandığı hidroksiüre ve tromboeduktin tedavilerine devam edildi. (Tablo-6)

Tablo-6: Çalışmaya alınan hastalarda ilaç kullanım sıklıkları (n=60)

	Sıklık(n=60)	Yüzde(%)
Antiagregan kullanmayan	22	36,7
Aspirin kullanan ve test öncesi tedavisi kesilen	37	61,7
Klopidogrel kullanan ve test öncesi tedavisi kesilen	1	1,7

Hastaların kanama anamnezine yönelik olarak; kolay morarma, burun kanaması, diş eti kanaması, dental veya cerrahi girişimlerde aşırı kanama, postpartum hemoraji ve gastrointestinal kanama durumları sorgulandı. Tüm hastaların %33.3'ünde (20/60) kanama izlendi. JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %41'inde (16/39) kanama izlenirken, JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise %19'unda (4/21) kanama izlendi. JAK2 mutasyonu pozitif hastalarda, JAK2 mutasyonu negatif olan hastalara göre

kanamanın daha sık izlenmesi klinik açıdan anlamlı olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. (p=0.085) (Tablo-7)

Tablo 7: Çalışmaya alınan hastaların kanama sıklıkları ve JAK2 mutasyonu ile ilişkisi (n=60)

	Kanama Var	Kanama Yok	Toplam
JAK2 pozitif	16 (%41)	23 (%59)	39 (%100)
JAK2 negatif	4 (%19)	17 (%81)	21 (%100)
Toplam	20 (%33.3)	40 (%66.7)	60 (%100)

(p=0.085, istatistiksel anlamlı değil)

Hastaların ayrıca trombotik semptomları (serebral, kardiyak, periferik damar arteriyel ve venöz tromboz) sorgulandı ve hastaların %50'sinde (30/60) trombotik olay izlendi. JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %64.1'inde (25/39) trombotik olay izlenirken, JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların %23.8'inde (5/21) trombotik olay izlendi. JAK2 mutasyonu pozitif hastalarda trombotik olayların daha sık olması klinik açıdan ve istatistiksel olarak da anlamlı bulundu. (P=0.003) (Tablo-8)

Tablo-8: Çalışmaya alınan hastalarda tromboz sıklıkları ve JAK2 mutasyonu ile ilişkisi (n=60)

	Tromboz var	Tromboz yok	Toplam
JAK2 pozitif	25 (%64.1)	14 (%35.9)	39 (%100)
JAK2 negatif	5 (%23.8)	16 (%76.2)	21 (%100)
Toplam	30 (%50)	30 (%50)	60 (%100)

(p=0.003, istatistiksel olarak anlamlı), (n=60)

Çalışmaya alınan 60 MPH tanıılı hastanın % 20'sinin (12/60) trombosit fonksiyonları tamamen normal bulunurken, tüm hastaların %80'inde (48/60) trombosit fonksiyon bozukluğu bulundu. JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %76.9'unda (30/39), JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise % 85.7'sinde (18/21) trombosit fonksiyon testlerinde bozukluk saptandı. Çalışmaya alınan hastaların trombosit fonksiyon testleri sonuçları ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.417) (Tablo-9)

Tablo-9: Çalışmaya alınan hastaların trombosit fonksiyonları ile JAK2 mutasyonu ilişkisi

	Normal	Tam yanıtsızlık+Azalmış Yanıt
JAK2 pozitif (n=39)	9 (%23.1)	30 (%76.9)
JAK2 negatif (n=21)	3 (%14.3)	18 (%85.7)
Toplam (n=60)	12 (%20)	48 (%80)

(p=0.417, istatistiksel olarak anlamlı değil), (n=60)

Tüm hastaların %80'inde (48/60) trombosit fonksiyon bozukluğu bulundu. Bunlar içinde en sık %23.3'ünde (14/60) ristosetine bozulmuş agregasyon yanıtı gözlenirken, ikinci olarak %11.7'sinde (7/60) hem ristosetin, hem de epinefrine yanıt azalması gözlemlendi. Bunların dışında 4 hastada (%6.7) epinefrine, 4 hastada (%6.7) ristosetin, epinefrin ve ADP'ye, 3 hastada (%5) ristosetin, ADP, epinefrin ve kollajene, 2 hastada (%3.3) ristosetin ve ADP'ye, 2 hastada (%3.3) ristosetin, kollagen ve ADP'ye, 2 hastada (%3.3) ristosetin, kollagen ve epinefrine, 2 hastada (%3.3) epinefrin ve ristosetine, 1 hastada (%1.7) epinefrin ve ADP'ye, 1 hastada (%1.7) kollagen ve ristosetine bozulmuş agregasyon yanıtı saptandı. Ayrıca 1 hastada (%1.7) ristosetine tam yanıtsızlık gözlemlendi. 1 hastada (%1.7) epinefrine azalmış yanıtla beraber ristosetine tam yanıtsızlık, 1 hastada (%1.7) ADP'ye azalmış yanıtla beraber kollajene tam yanıtsızlık, 1 hastada (%1.7)

ADP'ye azalmış yanıtla beraber kollagen, ristosetin ve epinefrine tam yanıtızsızlık, 1 hastada (%1.7) ristosetin ve ADP'ye yanıt azalmasıyla beraber epinefrine tam yanıtızsızlık ve 1 hastada (%1.7) ise ristosetin, kollagen ve ADP'ye azalmış yanıtla beraber epinefrine tam yanıtızsızlık gözlemlendi.

Çalışmaya alınan 60 hastanın trombosit fonksiyon testlerinden epinefrine %36.7'sinde (22/60) bozulmuş agregasyon yanıtı, % 8.3'ünde (5/60) tam yanıtızsızlık gözlemlendi. JAK2 mutasyonu pozitif hastalardan %35.9'unda (14/39) epinefrine azalmış yanıt gözlenirken, %12.8'inde (5/39) epinefrine tam yanıtızsızlık gözlemlendi. JAK2 mutasyonu negatif hastalarda ise %38.1'inde (8/21) epinefrine agregasyon yanıtı azalmış gözlemlendi. Çalışmaya alınan hastaların epinefrin değerleri ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.224) (Tablo-10)

Tablo-10: Çalışmaya alınan hastalarda epinefrin ile JAK2 mutasyonu ilişkisi (n=60)

	Normal	Tam yanıtızsızlık	Azalmış Yanıt
JAK2 pozitif (n=39)	20 (%51.3)	5 (%12.8)	14 (%35.9)
JAK2 negatif (n=21)	13 (%61.9)	0	8 (%38.1)
Toplam	33 (%55)	5 (%8.3)	22 (%36.7)

(p=0.224, istatistiksel olarak anlamlı değil)

Çalışmaya alınan 60 hastanın trombosit fonksiyon testlerinden ristosetine %61.7'sinde (37/60) bozulmuş agregasyon yanıtı, % 8.3'ünde (5/60) tam yanıtızsızlık gözlemlendi. JAK2 mutasyonu pozitif hastalardan %53.8'inde (21/39) ristosetine azalmış yanıt gözlenirken, %12.8'inde (5/39) ristosetine tam yanıtızsızlık gözlemlendi. JAK2 mutasyonu negatif hastalarda ise %76.2'inde (16/21) ristosetine agregasyon yanıtı azalmış gözlemlendi. Çalışmaya alınan hastaların ristosetin değerleri ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.122) (Tablo-11)

Tablo-11: Çalışmaya alınan hastalarda ristosetin ile JAK2 mutasyonu ilişkisi (n=60)

	Normal	Tam yanıtızsızlık	Azalmış Yanıt
JAK2 pozitif (n=39)	13 (%33.3)	5 (%12.8)	21 (%53.8)
JAK2 negatif (n=21)	5 (%23.8)	0	16 (%76.2)
Toplam (n=60)	18 (%30)	5 (%8.3)	37 (%61.7)

(p=0.122, istatistiksel olarak anlamlı değil)

Çalışmaya alınan 60 hastanın trombosit fonksiyon testlerinden ADP'ye % 31,7'sinde (19/60) bozulmuş agregasyon yanıtı gözlemlendi. JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %23.1'inde (9/39) ADP'ye azalmış yanıt gözlemlendi. JAK2 mutasyonu negatif hastaların ise %47.6'sında (10/21) ADP'ye agregasyon yanıtı azalmış olarak gözlemlendi. Çalışmaya alınan hastaların ADP değerleri ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı. (p=0.051) (Tablo-12)

Tablo-12: Çalışmaya alınan hastalarda ADP ile JAK2 mutasyonu ilişkisi (n=60)

	Normal	Azalmış Yanıt
JAK2 pozitif (n=39)	30 (%76.9)	9 (%23.1)
JAK2 negatif (n=21)	11 (%52.4)	10 (%47.6)
Toplam (n=60)	41 (%68.3)	19 (%31.7)

(p=0.051, istatistiksel olarak anlamlı değil)

Çalışmaya alınan 60 hastanın trombosit fonksiyon testlerinden kollajene %20'sinde (12/60) bozulmuş agregasyon yanıtı, %3.3'ünde (2/60) tam yanıtızsızlık gözlemlendi. JAK2 mutasyonu pozitif hastaların %15.4'ünde (6/39) kollajene azalmış yanıt gözlemlenirken, %2.6'sında (1/39) kollajene tam yanıtızsızlık gözlemlendi. JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise %28.6'sında (6/21) kollajene bozulmuş agregasyon yanıtı ve

%3.3'ünde (2/21) kollagene tam yanıtızsızlık gözlemlendi. Çalışmaya alınan hastaların kollagen değerleri ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.405) (Tablo-13)

Tablo-13: Çalışmaya alınan hastalarda kollagen ile JAK2 mutasyonu ilişkisi (n=60)

	Normal	Tam yanıtızsızlık	Azalmış Yanıt
JAK2 pozitif (n=39)	32 (%82.1)	1 (%2.6)	6 (%15.4)
JAK2 negatif (n=21)	14 (%66.7)	1 (%4.8)	6 (%28.6)
Toplam (n=60)	46 (%76.7)	2 (%3.3)	12 (%20)

(p=0.405, istatistiksel olarak anlamlı değil)

Tüm PV tanılı hastalarının %76.7'sinde (23/30) trombosit fonksiyonları bozuk iken, %23.3'ünde (7/30) trombosit fonksiyon testleri tamamen normaldi. PV tanılı ve JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %72'sinin (18/25) trombosit fonksiyonlarında bozukluk saptanırken, PV tanılı ve JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların %100'ünde (5/5) trombosit fonksiyonu bozukluk saptandı. Çalışmaya alınan PV'li hastaların trombosit fonksiyon testleri sonuçları ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.177) (Tablo-14)

Tablo-14: Çalışmaya alınan PV hastalarının trombosit fonksiyonları ile JAK2 mutasyonu ilişkisi (n=30)

PV tanıli hastalar	Normal	Tam yanıtızsızlık+Azalmış Yanıt
JAK2 pozitif (n=25)	7 (%28)	18 (%72)
JAK2 negatif (n=5)	0 (%0)	5 (%100)
Toplam (n=30)	7 (%23.3)	23 (%76.7)

(p:0,177, istatikselsel olarak anlamlı değil)

Tüm ET tanıli hastaların %82.1'inde (23/28) trombosit fonksiyonları bozuk iken, %17.9'unda (5/28) trombosit fonksiyon testleri tamamen normaldi. ET tanıli ve JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %83.3'ünün (10/12) trombosit fonksiyonlarında bozukluk saptanırken, ET tanıli ve JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise %81.3'ünde (13/16) trombosit fonksiyonlarında bozukluk saptandı. Çalışmaya alınan ET'li hastaların trombosit fonksiyon testleri sonuçları ile JAK2 mutasyonu arasında istatikselsel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.887) (Tablo-15)

Tablo-15: Çalışmaya alınan ET hastalarının trombosit fonksiyonları ile JAK2 mutasyonu ilişkisi (n=28)

ET tanıli hastalar	Normal	Tam yanıtızsızlık+Azalmış Yanıt
JAK2 pozitif (n=12)	2 (%16,7)	10 (%83,3)
JAK2 negatif (n=16)	3 (%18,8)	13 (%81,3)
Toplam (n=28)	5 (%17,9)	23 (%82,1)

(p:0,887, istatikselsel olarak anlamlı değil)

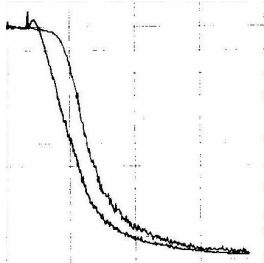
Miyelofibrozis tanı 2 hastanın, 2'sinde de JAK2 mutasyonu pozitif ve 2'sinin de trombosit fonksiyonları bozuktur, hasta sayısı az olduğundan istatistiksel analiz yapılamadı. (Tablo-16)

Tablo-16: Çalışmaya alınan IMF hastalarının trombosit fonksiyonları ile JAK2 mutasyonu ilişkisi (n=2)

IMF tanı hastalar	Normal	Tam yanıtsızlık+Azalmış Yanıt
JAK2 pozitif (n=2)	0	2 (% 100)
JAK2 negatif (n=0)	0	0
Toplam (n=2)	0	2 (% 100)

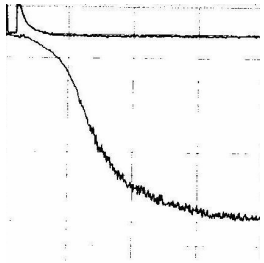
Hastaların trombosit agregasyon yanıtlarının örnekleri aşağıda görülmektedir.

Trombosit agregasyon yanıtı normal olarak görülmektedir. (Şekil 1)



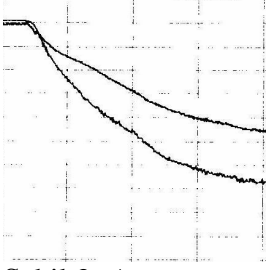
Şekil 1- Normal agregasyon yanıtı

Trombosit agregasyonuna yanıtsızlık görülmektedir. (Şekil 2)



Şekil 2- Agregasyon yanıtı olmaması

Trombosit agregasyon yanıtı azalmış olarak görülmektedir. (Şekil 3)



Şekil 3- Agregasyona azalmış yanıt

5.TARTIŞMA

Miyeloproliferatif hastalıklar bir ya da daha fazla miyeloeritroid hücrenin kemik iliğindeki kontrolsüz proliferasyonu ve periferik kanda matur ve immatur hücrelerin sayısının artmasıyla karakterize, hemostaz ve trombozis anomalileri ve akut lösemiye ilerleme gösterebilen klonal hastalıklardır. PV, ET ve idiopatik miyelofibrozis bu hastalık grubundandır (1-3).

JAK2 mutasyonu yapısal bir tirozin kinaz olup, Vainchenker ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları araştırma sonucunda, psödokinaz domaininin 617. pozisyonundaki valinin fenilalanine yer değişimi sonucu oluştuğu saptanmıştır (7).

MPH'larda 2005 yılında JAK2V167F exon 14 mutasyonunun varlığının belirlenmesinden sonra bcr/abl negatif MPH patogenezi ile ilgili bilgiler artmıştır. JAK2 mutasyonunun saptanması ile MPH'ların sınıflaması ve tanı kriterleri değişmiş, WHO'nun yeniden revize edilen kriterlerinde PV, ET ve İMF'nin tanısında JAK2V617F mutasyonu varlığı tanı kriterleri içine girmiştir (1-4).

JAK2 mutasyonu hematopoietik kök hücre düzeyinde ortaya çıkmakta, mutasyona bağlı olarak hematopoietik prekürsörlerin eritropoietin ve trombopoietin stimülasyonuna duyarlılığı artmaktadır. Bu durum MPH'da gözlenen kırmızı küre ve trombosit artışını açıklamaktadır. Tahmini olarak bu mutasyon PV'de %95 ve ET ve IMF'de %50-60 oranında bulunmaktadır (108).

JAK2 mutasyonu ile miyeloproliferatif hastalığın şiddeti arasında ilişki olduğu ortaya konulmuştur. Ancak hemostatik sistemle mutasyon arasındaki ilişki net ortaya konulamamıştır. JAK2 mutasyonu ile trombosit fonksiyonları arasındaki ilişki bilinmemektedir. Bu çalışma JAK2 mutasyon varlığı ile trombosit fonksiyonları arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla planlanmıştır.

Biz bu çalışmada bcl-abl negatif kronik MPH tanısı ile Pamukkale Üniversitesi hematoloji polikliniklerinde takipli 30'u PV, 28'i ET ve 2'si IMF hastası olmak üzere toplam 60 olguyu değerlendirdik.

MPH'larda 2005 yılında JAK2 mutasyonun keşfinden sonra James ve arkadaşları tarafından Fransa'da 45 PV, 21 ET ve 7 IMF tanılı hastayı içeren çalışmada JAK2 mutasyon sıklığı PV'de %89, ET'de %43 ve IMF'de %43 olarak saptanmıştır (7). Levine ve arkadaşlarının Boston'da 164 PV, 115 ET ve 46 IMF tanılı hastayı içeren çalışmasında JAK2 mutasyon sıklığı PV'de %74, ET'de %32 ve IMF'de %35 olarak saptanmıştır (6). Kralovisc ve arkadaşlarının İsviçre ve İtalya'da 128 PV, 93 ET ve 23 IMF tanılı hastayı içeren çalışmasında JAK2 mutasyon sıklığı PV'de %65, ET'de %23 ve IMF'de %57 olarak saptanmıştır (2). Baxter ve arkadaşlarının İngiltere'de 73 PV, 51 ET ve 16 IMF tanılı hastayı içeren çalışmasında JAK2 mutasyon sıklığı PV'de %97, ET'de %57 ve IMF'de %50 olarak saptanmıştır (1). Jones ve arkadaşlarının 72 PV, 59 ET ve 35 IMF tanılı hastayı içeren çalışmasında JAK2 mutasyon sıklığı PV'de %81, ET'de %41 ve IMF'de %43 olarak saptanmıştır (3).

Moliterno ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı 92 PV, 84 ET ve 19 IMF tanılı hastayı içeren çalışmasında JAK2 mutasyon pozitifliği PV'de %92, ET'de %45 ve IMF'de %42 olarak saptanmıştır (109). Zhang ve arkadaşları tarafından Çin'de yapılan 23 PV, 40 ET ve 8 IMF tanılı hastayı içeren çalışma sonucunda ise JAK2 mutasyon sıklığı PV'de %70, ET'de %45 ve IMF'de %37 olarak saptanmıştır (110).

Yapılan çalışmalarda JAK2 mutasyon sıklığı PV hastalarında %65-97, ET hastalarında % 23-43 ve IMF hastalarında %35-95 olarak saptanmıştır (9).

Bizim çalışmamızda da 60 MPH tanısı olan hasta çalışmaya alınmış olup, tüm hastalarda JAK2 mutasyonu sıklığı %65 olarak saptandı. JAK2 mutasyon sıklığı PV'de %83.3, ET'de %42.9 ve IMF'de %100 olarak saptandı. PV ve ET hastalarında gözlenen JAK2 mutasyon oranları literatür bilgileri ile uyumluydu. Çalışmamızda JAK2 mutasyonu görülme sıklığı PV tanılı hastalarda daha fazla bulundu. PV ve ET tanılı

hastalarda JAK2 mutasyonu görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu. ($p=0.003$) IMF hastalarında ise hasta sayısı yetersiz olması nedeniyle istatistiksel değerlendirme yapılamadı. Yine de IMF tanılı 2 hastanın 2'sinin de JAK2 mutasyonunun pozitif olarak saptanması bu hastalarda da mutasyonun varlığını göstermektedir.

Bizim çalışmamıza alınan kadın hastalarda JAK2 mutasyonu pozitifliği %68 iken, erkek hastalarda JAK2 mutasyon pozitifliği %62.9 saptandı. Kadın ve erkek hastalar arasında JAK2 mutasyonu varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. ($p=0.681$) Literatürde de cinsiyet ile JAK2 mutasyonu arasında anlamlı ilişki bulunmamaktadır (111).

ET, PV ve IMF bcl-abl negatif kronik MPH'lardır. Bu grup onkohematolojik hastalıklar hematopoietik prekürsörler tarafından olgun kan hücrelerinin aşırı üretimi ve trombohemorajik komplikasyon riskinin artışıyla karakterizedir (8).

PV'de trombozlar sık gözlenmektedir. Tedavi edilmemiş hastalar trombotik ve hemorajik olaylar açısından yüksek risklidir. 1213 hastayı değerlendiren geniş bir seride tromboz hastaların %30-40'ında ölüm nedenidir (19-24). Trombotik olayların 2/3'ü arteryeldir. İskemik inme, myokard infarktüsü ve geçici iskemik atak en yaygın trombotik olaylardır. Hastalarda ayrıca derin ven trombozu, pulmoner emboli, periferik vasküler okluzyon gözlenebilir. PV hastaları sıklıkla periferik vasküler hastalık semptomları ile kliniğe başvurur bu nedenle ilk önce dermatolog ve kalp damar cerrahları tarafından görülürler (25-27). PV ile ilişkilendirilmiş ciddi bir trombotik olay da hepatik venöz veya inferior vena cava trombozuna neden olan Budd-Chiari Sendromudur (29-34).

ET tanılı hastalarda büyük veya küçük damarlarda trombozlar ve minör kanamalar gözlenmektedir. Hem arteryel hem venöz tromboz görülebilir ama arteryel tromboz daha sık görülür. Major kanamalar nadiren gözlenir. Trombositoz sonrası semptomları ortaya çıkan hastaların %13-37'sinde hemorajik olaylar, %22-84 ise tromboembolik

komplasyonlar saptanmıştır (67, 69). Arteriyel tromboz cerebral, koroner, periferik arterleri içermektedir. Geçici iskemik ataklar inme kadar sıktır. ET, derin ven trombozunu içeren venöz trombozlara, pulmoner emboliye, yüzeysel flebitlere, serebral sinus ve splanik vasküler yatak gibi sıklığı az olan bölgelerde trombozlara neden olmaktadır. ET’de mikrovasküler trombozlar daha fazladır ve bu durumun sorumlusu plateletlerin neden olduğu arteriyel sirkulasyonun sonundaki geçici okluziv trombozdur (8).

Barbui ve Finazzi’nin 1638 PV hastası üzerinde yaptıkları çalışmada majör tromboz sıklığı %11.5 oranında saptanmıştır. Bu hastalardaki tüm trombozların %70.4’ü arteriyel, %29.6’sı ise venöz tromboz şeklinde bulunmuştur. Fenaux ve arkadaşlarının 147 ET hastası üzerinde yaptıkları çalışmada %13.6 oranında majör tromboz geliştiği gözlenmiştir. Bu hastalardaki tüm trombozların %86’sı arteriyel, %14’ü ise venöz tromboz şeklinde bulunmuştur. Genel olarak literatürde ET’de tromboz sıklığı %11-25, PV’de ise %11-39 arasındadır (112).

Ziakas’ın 2008 yılında yaptığı metaanalizde toplam 2905 ET hastası değerlendirilmiş ve 778 hastada arteriyel ve venöz trombozlar gözlenmiştir. JAK2V617F mutasyonuna sahip olan hastalar wild tip JAK2 ile karşılaştırıldıklarında, trombotik olay varlığının JAK2V617F mutasyonuna sahip hastalarda artmış olduğu bulunmuştur (113).

Dahabreh ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptığı çalışmada arteriyel ve venöz tromboz riskinin JAK2V617F mutasyonuna sahip ET hastalarında arttığı görülmüştür (113).

Lussana ve arkadaşları 2009 yılında ET veya IMF tanılı toplam 3150 hastayı değerlendirmişler ve arteriyel, venöz trombozlar ve mikrovasküler hastalıkları içeren trombotik olayların homozigot JAK2V617F mutasyonu pozitif olan hastalarda (wild tip ve heterozigot tipe göre) daha sık olduğu görülmüştür (113).

Finazzi ve arkadaşlarının 177 ET ve 77 PV hastası ile yaptığı çalışmada JAK2 mutasyonu pozitif olan ET hastalarında, JAK2 mutasyonu olmayanlara göre anlamlı olarak daha sık trombotik olayların geliştiği gösterilmiştir. PV hastaları ile karşılaştırıldığında ise, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (114).

Campbell ve arkadaşları 806 ET tanılı hastayı değerlendirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada hastalardaki venöz tromboz varlığı ile JAK2V617F mutasyonu arasında ilişki tespit edilmiştir. Ayrıca pulmoner emboli, retinal ven trombozu, splenik ven trombozu, serebral sinus trombozu gibi yaygın olmayan trombozların JAK2 mutasyonu pozitif hastalarda JAK2 mutasyonu negatif hastalardan daha sık olduğu saptanmıştır (115).

124'ü PV, 93'ü ET ve 23'ü IMF olmak üzere 244 hastayı içeren bir retrospektif analizde JAK2 mutasyonuna sahip olan hastaların daha fazla trombotik riski olduğu gösterilmiştir (115).

60 ET tanılı hastayı içeren bir retrospektif analizde arteriyel ve venöz trombotik olayların JAK2V617F mutasyonu içeren hastalarda belirgin daha fazla olduğu bulunmuştur (115).

JAK2V617F mutasyonu homozigot olan ET tanılı hastalar ile heterozigot ve wild tip JAK2 mutasyonu olan PV tanılı hastalar çok merkezli bir çalışma ile karşılaştırılmıştır. İstatistiksel analiz sonucunda ET tanılı ve JAK2V617F mutasyonu (homozigot) olan hastalarda kardiyovasküler olayların 3.9 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (115).

Özellikle PV ve ET'de tromboz ve kanama morbidite ile yüksek oranda ilişkilidir. Major operasyon geçiren PV tanılı 54 hastayı içeren bir seride postoperatif komplikasyonlar olarak %18'inde tromboz, %52'sinde hemoraji ve %14'ünde hemoraji ve tromboz görülmüştür (116).

PV'nin kanama ve trombotik riskleri konusunda tanımlanmış olan (Avrupa) PV'de düşük doz aspirin çalışmasında 1638 hastanın 633'ünde (%38.4) trombotik olay hikayesi saptanmıştır. Çalışma sırasında ölen 164 hastanın %41'i tromboz, %7'si kanama nedeniyle ölmüştür (116).

Barbui ve arkadaşlarının yaptığı 21 retrospektif kohort çalışmasında hemoraji oranı % 3.9-63 iken, tromboz oranı %9-84 olarak saptanmıştır (116, 118).

Bizim çalışmamızda tüm hastaların %33.3'ünde kanama, %50'sinde trombotik olay saptandı.

Çalışmamızda JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %41'inde, JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise %19'unda kanama saptandı. JAK2 mutasyonu pozitif olan hastalarda kanamanın, JAK2 negatif hastalara göre daha sık gözlenmesi istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. ($p=0.085$) İstatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen oran olarak JAK2 pozitif olan hastalarda kanama sıklığının daha fazla olduğu görüldü.

Bizim çalışmamızda JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %64.1'inde, JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise %23.8'inde trombotik olay saptandı. JAK2 mutasyonu pozitif olan hastalarda trombotik olayların daha sık olması klinik açıdan ve istatistiksel olarak da anlamlı bulundu. ($p=0.003$) Literatürde de JAK2 mutasyonu pozitifliği ile tromboz arasında anlamlı ilişki bulunmaktadır.

MPH'larda trombosit fonksiyon bozukluğu hem hemostatik, hem de trombotik sistemi etkilemektedir. MPH'larda görülen trombosit fonksiyon bozuklukları ile ilgili bazı özelliklerin vurgulanması önemlidir. İlk olarak, hiçbir bozukluk daimi olarak kanama veya tromboz riskini öngöremez. İkincisi, hiçbir bozukluk tek başına değildir ve bu nedenle MPH'a özel değildir. Üçüncüsü, trombosit fonksiyon bozukluğu sıklığı farklı serilerde geniş varyasyonlar göstermektedir. Bu nedenle MPH'larda trombosit fonksiyon bozukluklarının klinik önemi net olarak bilinmemektedir (119-121).

MPH'larda trombosit fonksiyon bozukluğu ile ilgili major komplikasyonlar kanama ve trombozdur. Trombosit fonksiyon bozukluğuna ait birçok mekanizma tanımlanmışsa da, her bir hasta için riskin önceden tahmin edilebilmesi zordur. Trombosit agregasyon testlerinin bu hastalığa ait tipik bir özelliği yoktur. Sıklıkla epinefrine agregasyon yanıtında bozukluk görülür (119,120).

MPH'larda trombositler çeşitli morfolojik anormallikler gösterebilir. Bunlar sekretuar granül sayısının azalması, boyut ve şekil değişkenliğini içerir. En sık görülen anormallik sekresyon ve agregasyona agonist (zellikle epinefrin, ADP, kollagen) yanıtının azalmasıdır. Bu anormalliklerin nedeni trombosit sayısının yüksek olması değildir. Çünkü reaktif trombositozu olan hastaların trombosit fonksiyonları normaldir (122).

Edinsel VWH, hipotiroidi, otoimmün hastalıklar, solid tümörler, lenfoproliferatif ve myeloproliferatif hastalıklar, konjenital kalp hastalıkları ve enfeksiyonlar gibi birçok hastalık seyrinde veya öncesinde gelişebildiği gibi altta yatan bir hastalık olmaksızın da ortaya çıkabilir. Edinsel VWH tipi, klinik seyri ve kanama semptomlarının şiddeti altta yatan hastalığa göre farklılık gösterir. Lenfoproliferatif ve myeloproliferatif malignitelerdeki edinsel VWH'nın nedeni de çoğunlukla antikor gelişmesidir ve daha çok tip 2 VWH belirtisi vardır (123,124).

MPH tanılı hastaların bir kısmında kanama zamanının uzaması görülebilmektedir. Normal kanama zamanı olan hastaların bir kısmında ise ciddi kanama komplikasyonları oluşabilmektedir. Trombosit sayısının artması bazı çalışmalarda kanama ve tromboz ile ilişkilidir, ama spontan kanamalar nadiren trombosit sayısı 10^6 altında olan hastalarda görülmektedir. Çok yüksek trombosit sayısı ($1,5 \times 10^6$) Von Willebrand hastalığının edinilmiş formuyla ilişkilidir. VWF'n en geniş multimerlerinin yetersizliği mevcuttur (119-121).

ET'de platelet agregasyon çalışmaları sıklıkla anormaldir, en sık gösterilen agregasyon bozukluğu epinefrin, ADP ve kollajene karşı yanıt azalması şeklinindedir

fakat araşidonik asit ve ristocetine yanıt normaldir. Spontan platelet aggregasyonun bazı hastalarda sıklıkla geliştiği rapor edilmiştir, ama bu genel bir bulgu değildir (125).

Platelet aggregasyon çalışmaları ve kanama zamanı PV'li hastalarda sıklıkla anormaldir, ama kanama epizodları riskiyle sıklıkla korele değildir. En sık ortak anormallik primer ve sekonder aggregasyona karşı epinefrin ve ADP'nin birine veya her ikisine yanıt azalması ve kollajene yanıt azalmasıdır. Genellikle araşidonik asite normal yanıt gözlenmektedir (126-128).

Wehmeier ve arkadaşlarının birlikte yaptıkları 24'ü KML, 17'si PV, 10'u ET ve 6'sı IMF olmak üzere 57 MPH tanılı hastayı içeren çalışmada trombosit fonksiyon testleri çalışılmıştır. ADP, kollagen, adrenalin ve ristocetine agregasyon yanıtları değerlendirilmiştir. Adrenaline karşı yanıt azalmasının tüm hasta gruplarında benzer olduğu görülmüştür. ADP ve ristocetine karşı yanıtların ise PV ve ET tanılı hastalarda benzer iken, IMF tanılı hastaların yanıtlarının ET tanılı hastalara göre daha az derecede azaldığı saptanmıştır (129).

MPH ve trombosit fonksiyon bozukluğunu değerlendiren Schafer'ın yürüttüğü 15 çalışma sonucunda hastaların %57'sinde adrenaline, %39'unda ADP'ye ve % 37'sinde kollajene bozulmuş agregasyon gözlenmiştir (127).

Falanga ve arkadaşlarının ET hastalarında PFA100 ile yaptığı çalışmada kontrol grubuna göre ET hastalarında ADP/kollagen ve epinefrin/kollagen cihaz kapatma zamanının önemli derecede uzadığı saptanmıştır (81).

Leoni ve arkadaşları 12 erkek ve 6 kadın hasta olmak üzere toplam 18 IMF hastasında trombosit fonksiyon testlerini değerlendirmiştir. ADP, kollagen ve epinefrine agregasyon yanıtlarında azalma gözlenirken, ristocetine agregasyon yanıtları genel olarak normal saptanmıştır (130).

Berger ve arkadaşlarının PV hastalarında yaptıkları çalışmada ADP, kollagen, epinefrin ve trombine agregasyon yanıtları 62 çalışma ile değerlendirilmiştir. 62 çalışma sonuçlarında hastaların %81'inde testler anormal olarak bulunmuştur. Trombosit sayısı ve hemotokrit değerleri normal olan hastaların %75'inde, trombosit sayısı ve hemotokrit değerleri artmış olan hastaların ise %100'ünde trombosit fonksiyon bozukluğu tespit edilmiştir. En sık görülen trombosit fonksiyon bozukluğu epinefrine (%52) ve ADP'ye (%47) bozulmuş agregasyon yanıtı olarak saptanmıştır (131).

[Waddell CC](#) ve arkadaşları MPH tanılı 18 hastayı trombosit fonksiyonları açısından değerlendirmiştir. Bazı hastalarda trombositöz gözlenirken, bazı hastaların trombosit sayısı normal olarak saptanmıştır. 18 hastanın 11'inde epinefrine bozulmuş agregasyon yanıtı, 9'unda ADP 'ye bozulmuş agregasyon yanıtı ve 7 hastada kollajene bozulmuş agregasyon yanıtı saptanmıştır (132).

Bizim çalışmamızda 60 MPH tanılı hastanın % 20'sinin trombosit fonksiyonları tamamen normal olarak değerlendirilirken, tüm hastaların %80'inde ise trombosit fonksiyon bozukluğu bulundu. Bunlar içinde en sık %23.3'ünde sadece ristosetine bozulmuş agregasyon yanıtı şeklinde iken, ikinci olarak %11.7'sinde hem ristosetin, hem de epinefrine yanıt azalması gözlemlendi. Bunların dışında 4 hastada (%6.7) epinefrine, 4 hastada (%6.7) ristosetin, epinefrin ve ADP'ye, 3 hastada (%5) ristosetin, ADP, epinefrin ve kollajene, 2 hastada (%3.3) ristosetin ve ADP'ye, 2 hastada (%3.3) ristosetin, kollagen ve ADP'ye, 2 hastada (%3.3) ristosetin, kollagen ve epinefrine, 2 hastada (%3.3) epinefrin ve ristosetine, 1 hastada (%1.7) epinefrin ve ADP'ye, 1 hastada (%1.7) kollagen ve ristosetine bozulmuş agregasyon yanıtı saptandı. Ayrıca 1 hastada (%1.7) ristosetine tam yanıtızsızlık gözlemlendi. 1 hastada (%1.7) epinefrine azalmış yanıtla beraber ristosetine tam yanıtızsızlık, 1 hastada (%1.7) ADP'ye azalmış yanıtla beraber kollajene tam yanıtızsızlık, 1 hastada (%1.7) ADP'ye azalmış yanıtla beraber kollagen, ristosetin ve epinefrine tam yanıtızsızlık, 1 hastada (%1.7) ristosetin ve ADP'ye yanıt azalmasıyla beraber epinefrine tam yanıtızsızlık ve 1 hastada (%1.7) ise ristosetin, kollagen ve ADP'ye azalmış yanıtla beraber epinefrine tam yanıtızsızlık gözlemlendi.

Çalışmamızda ayrıca MPH tanılı hastaların JAK2 mutasyon varlığı ile trombosit fonksiyon bozukluğu ilişkisi değerlendirildi. Literatürde bu ilişkiyi değerlendiren kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Arellano ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 49 ET tanılı hastada flow sitometri ile trombosit ve lökosit aktivasyon durumları değerlendirilmiştir. JAK2V617F mutasyonu taşıyan hastaların trombositlerinde trombosit adezyon molekülü olan p selektinin ekspresyonunun arttığı görülmüştür (115).

Robertson ve arkadaşları MPH tanılı hastalarda yaptıkları bir çalışmada p selektin düzeylerinin JAK2 wild tip ile karşılaştırıldığında, JAK2V617F mutasyonuna sahip hastalarda belirgin derecede yükseldiğini belirlemişlerdir. Diğer koagülasyon aktivasyon parametreleri değerlendirildiğinde JAK2 pozitif ve negatif grup arasında önemli bir fark bulunamamıştır (115).

Anna Falanga ve arkadaşlarının ET tanılı toplam 75 hastada 2009 yılında yaptığı çalışmada 37'si JAK2V617F mutasyonlu ve 38'i JAK2 wild tip hastalar arteriyel ve venöz trombotik olayların varlığı açısından karşılaştırılmış ve bu hastalarda PFA-100 ile, ADP-kollagen ve epinefrin-kollagen çalışıldığında cihaz kapatma zamanının sağlıklı kontrol grubuna göre ET tanılı hastalarda daha çok uzadığı görülmüştür. ADP-kollagen ve epinefrin-kollagen sonuçları değerlendirildiğinde JAK2V617F mutasyonu taşıyan hastalarla wild tip mutasyonu olan hastalar karşılaştırıldığında ise istatistiksel açıdan önemli bir farklılık saptanamamıştır (81).

Hattori ve arkadaşlarının PV ve ET tanılı 53 hastada yaptıkları çalışmada JAK2 mutasyonu varlığı ile trombosit fonksiyonları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bu hastalardaki trombosit adezyonu ve agonist (ADP, kollagen) ile trombosit agregasyonunun JAK2 mutasyonu varlığından etkilenmediği belirlenmiştir (133).

Çalışmamızda JAK2 mutasyonu pozitif hastaların %35.9'unda (14/39) epinefrine azalmış yanıt gözlenirken, %12.8'inde (5/39) epinefrine tam yanıtızlık gözlendi. JAK2

mutasyonu negatif hastalarda ise %38.1'inde (8/21) epinefrine agregasyon yanıtı azalmış gözlemlendi. Epinefrin değerleri ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.224) Ancak JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların epinefrine olan yanıt azalması oran olarak daha fazlaydı.

Çalışmamızda JAK2 mutasyonu pozitif hastaların %53.8'inde (21/39) ristosetine azalmış yanıt gözlenirken, %12.8'inde (5/39) ristosetine tam yanıtızsızlık gözlemlendi. JAK2 mutasyonu negatif hastalarda ise %76.2'inde (16/21) ristosetine agregasyon yanıtı azalmış gözlemlendi. Çalışmaya alınan hastaların ristosetin değerleri ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.122) Ancak JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ristosetine olan yanıt azalması oran olarak daha fazlaydı.

Çalışmamızda JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %23.1'inde (9/39) ADP'ye azalmış yanıt gözlemlendi. JAK2 mutasyonu negatif hastaların ise %47.6'sında (10/21) ADP'ye agregasyon yanıtı azalmış olarak gözlemlendi. JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ADP'ye olan yanıt azalması oran olarak daha fazla iken, çalışmaya alınan hastaların ADP değerleri ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı. (p=0.051)

Çalışmamızda JAK2 mutasyonu pozitif hastaların %15.4'ünde (6/39) kollagene azalmış yanıt gözlenirken, %2.6'sında (1/39) kollagene tam yanıtızsızlık gözlemlendi. JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise %28.6'sında (6/21) kollagene bozulmuş agregasyon yanıtı ve %3.3'ünde (2/21) kollagene tam yanıtızsızlık gözlemlendi. Çalışmaya alınan hastaların kollagen değerleri ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.405) Ancak JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların kollagene olan yanıt azalması oran olarak daha fazlaydı.

Tüm hastaların sonuçları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen JAK2 mutasyonu negatif olan hastalarda trombosit fonksiyon bozukluğu sıklığı oran olarak daha fazla saptandı.

Bizim çalışmamızda PV tanılı ve JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %72'sinin (18/25) trombosit fonksiyonlarında bozukluk saptanırken, PV tanılı ve JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların %100'ünde (5/5) trombosit fonksiyonu bozukluk saptandı. Çalışmaya alınan PV'lı hastaların trombosit fonksiyon testleri sonuçları ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.177) Ancak JAK2 mutasyonu negatif olan hastalarda trombosit fonksiyon bozukluğu oran olarak daha fazlaydı. JAK2 mutasyonu negatif olan 5 hastanın 5'inin de trombosit fonksiyonlarının bozuk olduğu görüldü.

Bizim çalışmamızda ET tanılı ve JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %83.3'ünün (10/12) trombosit fonksiyonlarında bozukluk saptanırken, ET tanılı ve JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise %81.3'ünde (13/16) trombosit fonksiyonlarında bozukluk saptandı. Çalışmaya alınan ET'li hastaların trombosit fonksiyon testleri sonuçları ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.887) Mutasyon pozitif ve negatif olan hastalarda trombosit fonksiyon bozukluğu oranlarının benzer olması ET hastalarındaki JAK2 mutasyon görülme sıklığı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Myelofibrozis tanılı 2 hastanın, 2'si de JAK2 mutasyonu pozitif ve 2'sinin de trombosit fonksiyonları bozuktu, hasta sayısı az olduğundan istatistiksel analiz yapılamadı.

Bizim çalışmamızda JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %76.9'unda (30/39), JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise % 85.7'sinde (18/21) trombosit fonksiyon testlerinde bozukluk saptandı. Çalışmaya alınan hastaların trombosit fonksiyon testleri sonuçları ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. (p=0.417) JAK2 mutasyonu negatif olan hastalarda trombosit fonksiyon bozukluğu (ADP, kollagen, ristosetin ve epinefrine olan bozulmuş agregasyon yanıtı) oran olarak daha sık olduğu gözlenmesine rağmen, JAK2 mutasyon varlığı ile trombosit fonksiyonları arasında net bir ilişki saptanmaması, MPH'larda görülen trombosit fonksiyon bozukluğunun JAK2 mutasyonundan bağımsız olduğunu düşündürmektedir.

SONUÇ

1. Çalışmaya alınan 60 hastanın %65'inde JAK2 mutasyonu pozitif bulundu. %35'inde ise JAK2 mutasyonu negatif bulundu. JAK2 mutasyon sıklığı PV'li hastalarda %83.3, ET'li hastalarda %42,9 ve İMF'li hastalarda %100 olarak saptandı.
2. Tüm hastaların %33.3'ünde kanama izlendi. JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %41'inde kanama izlenirken, JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise %19'unda kanama izlendi. JAK2 mutasyonu pozitif hastalarda, JAK2 mutasyonu negatif olan hastalara göre kanama daha sık izlenmesine rağmen anlamlı farklılık bulunamadı.
3. Hastaların %50'sinde trombotik olay izlendi. JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %64.1'inde trombotik olay izlenirken, JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların %23.8'inde trombotik olay izlendi. JAK2 mutasyonu pozitif hastalarda trombotik olayların daha sık olması anlamlı bulundu.
4. Çalışmaya alınan 60 MPH tanıli hastanın %80'inde trombosit fonksiyon bozukluğu bulundu. JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %76.9'unda, JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise % 85.7'sinde trombosit fonksiyon testlerinde bozukluk saptandı. Çalışmaya alınan hastaların trombosit fonksiyon testleri sonuçları ile JAK2 mutasyonu arasında anlamlı ilişki bulunamadı.
5. Tüm hastaların %80'inde trombosit fonksiyon bozukluğu bulundu. Bunlar içinde en sık %23.3'ünde (14/60) ristosetine bozulmuş agregasyon yanıtı gözlenirken, ikinci olarak %11.7'sinde (7/60) hem ristosetin, hem de epinefrine yanıt azalması gözlemlendi. Bunların dışında 4 hastada (%6.7) epinefrine, 4 hastada (%6.7) ristosetin, epinefrin ve ADP'ye, 3 hastada (%5) ristosetin, ADP, epinefrin ve kollajene, 2 hastada (%3.3) ristosetin ve ADP'ye, 2 hastada (%3.3) ristosetin, kollagen ve ADP'ye, 2 hastada (%3.3) ristosetin, kollagen ve epinefrine, 2 hastada (%3.3) epinefrin ve ristosetine, 1 hastada (%1.7) epinefrin ve ADP'ye, 1 hastada (%1.7) kollagen ve ristosetine bozulmuş agregasyon yanıtı saptandı. Ayrıca 1 hastada (%1.7) ristosetine tam yanıtızsızlık gözlemlendi. 1 hastada (%1.7) epinefrine azalmış yanıtla beraber ristosetine tam yanıtızsızlık, 1 hastada (%1.7) ADP'ye azalmış yanıtla beraber kollajene tam yanıtızsızlık, 1 hastada (%1.7) ADP'ye azalmış yanıtla beraber kollagen, ristosetin ve epinefrine tam yanıtızsızlık, 1

hastada (%1.7) ristosetin ve ADP'ye yanıt azalmasıyla beraber epinefrine tam yanıtızsızlık ve 1 hastada (%1.7) ise ristosetin, kollagen ve ADP'ye azalmış yanıtla beraber epinefrine tam yanıtızsızlık gözlemlendi.

6. PV tanılı ve JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %72'sinin trombosit fonksiyonlarında bozukluk saptanırken, PV tanılı ve JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise %100'ünde (5/5) bozukluk saptandı. Tüm ET tanılı hastaların %82,1'inde trombosit fonksiyonları bozukluğu bulundu. ET tanılı ve JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %83,3'ünün trombosit fonksiyonlarında bozukluk saptanırken, ET tanılı ve JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların %81,3'ünde (13/16) bozukluk saptandı. Myelofibrozis tanılı 2 hastanın, 2'sinde de JAK2 mutasyonu pozitif ve 2'sinin de trombosit fonksiyonları bozuktu. Çalışmaya alınan 60 hastanın trombosit fonksiyon testleri sonuçları ile JAK2 mutasyonu arasında anlamlı ilişki bulunamadı.

ÖZET

Myeloproliferatif Hastalıklarda JAK2V617F Mutasyonu ile Trombosit Fonksiyonları Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Miyeloproliferatif hastalıklar (MPH) bir ya da daha fazla miyeloid hücrenin kemik iliğindeki kontrolsüz proliferasyonu ve periferik kanda matur ve immatur hücrelerin sayısının artmasıyla karakterize, hemostaz ve trombozis anomalileri ve akut lösemiye ilerleme gösterebilen hastalıklardır. WHO'nun yeniden revize edilen kriterlerinde PV, ET ve İMF'nin tanısında JAK2V617F mutasyonu varlığı tanı kriterleri içine girmiştir. Bu çalışmada 60 MPH tanılı hastada JAK2V617F mutasyonu ile trombosit fonksiyonları arasındaki ilişki araştırılması amaçlandı.

Çalışma Pamukkale Üniversitesi hematoloji kliniğine başvuran ve yapılan incelemelerde WHO'nun revize edilen kriterlerine göre MPH tanısı alan hastalarda yapılmıştır. Çalışmaya 30'u PV, 28'i ET ve 2'si IMF olmak üzere toplam 60 hasta alındı. Hastaların ADP, ristosetin, epinefrin ve kollagen ile trombosit agregasyon testleri yapıldı.

Tüm hastaların %80'inde (48/60) trombosit fonksiyon bozukluğu bulundu. JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %76,9'unda (30/39), JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise % 85,7'sinde (18/21) trombosit fonksiyon testlerinde bozukluk saptandı. Tüm PV tanılı hastaların %76,7'sinde (23/30) trombosit fonksiyonları bozukluğu bulundu. PV tanılı ve JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %72'sinin (18/25) trombosit fonksiyonlarında bozukluk saptanırken, PV tanılı ve JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise %100'ünde (5/5) bozukluk saptandı. Tüm ET tanılı hastaların %82,1'inde (23/28) trombosit fonksiyonları bozukluğu bulundu. ET tanılı ve JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %83,3'ünün (10/12) trombosit fonksiyonlarında bozukluk saptanırken, ET tanılı ve JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların %81,3'ünde (13/16) bozukluk saptandı. Myelofibrozis tanılı 2 hastanın, 2'sinde de JAK2 mutasyonu pozitif ve 2'sinin de trombosit fonksiyonları bozuktu.

Yaptığımız çalışmada JAK2 mutasyon varlığı ile trombosit fonksiyonları arasında net bir ilişki saptanmamıştır. MPH'larda görülen trombosit fonksiyon bozukluğunun JAK2 mutasyonundan bağımsız olduğunu düşündürmektedir.

SUMMARY

Relationship Between JAK2V617F Mutation and Platelet Functions in Myeloproliferative Diseases

Myeloproliferative diseases are a group of diseases characterized by uncontrolled proliferation of one or more lines of myeloerythroid cells in bone marrow and increased number of mature or immature cells in the peripheral blood and are associated with hemostasis and thrombosis anomalies as well as progression to acute leukemia. Presence of JAK2V617F mutation has been included in the revised WHO criteria for the diagnosis of PV, ET and IMF. In this study, the association of JAK2V617F mutation with thrombocyte function was investigated in 60 patients with MPD.

The study included 60 patients who are evaluated in Pamukkale University Department of Hematology and diagnosed with MPD according to the revised WHO criteria. Of the total of 60 patients admitted to the study, 30 patients had PV, 28 had ET and 2 had IMF. Thrombocyte aggregation tests were performed with ADP, ristocetin, epinephrine and collagen.

Impaired thrombocyte function was found in 80% (48/60) of all patients. 76.9% of the patients (30/39) with JAK2 mutation had thrombocyte dysfunction whereas this ratio was 85,7% (18/21) in the patients without this mutation. Thrombocyte dysfunction was shown in 76.7% (23/30) of all patients with PV. Of these patients, 72% (18/25) with and 100% (5/5) without the mutation had thrombocyte dysfunction. Impaired thrombocyte function was shown in 82,1% (23/28) of the patients with ET. In patients with ET, 83,3% (10/12) of the patients with JAK2 mutation and 81,3% (13/16) without JAK2 mutation had thrombocyte dysfunction. Two patients in the study had myelofibrosis and both had JAK2 mutation and thrombocyte dysfunction.

In this study, a clear association with JAK2 mutation and thrombocyte function could not be shown. This finding suggests thrombocyte dysfunction in MPD is not associated with JAK2 mutation.

8. KAYNAKLAR

1. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005; 365: 1054–1061.
2. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005; 352 (17):1779–1790.
3. Jones AV, Kreil S, Zoi K, Waghorn K, Curtis C, Zhang L, et al. [Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders](#). *Blood* 2005; 106(6): 2162-2168.
4. Van Etten RA, Shannon KM. Focus on myeloproliferative diseases and myelodysplastic syndromes. *Cancer Cell* 2004;6(6): 547–552.
5. Shannon K, Van Etten RA. JAKing up hematopoietic proliferation. *Cancer Cell* 2005; 7(4): 291–293.
6. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, [Ebert BL](#), [Wernig G](#), [Huntly BJ](#), et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005; 7(4): 387–397.
7. James C, Ugo V, Le Couedic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005; 434(7037): 1144–1148.
8. Marchetti M, Falanga A. Leukocytosis, JAK2V617F mutation, and hemostasis in myeloproliferative disorders. *Pathophysiol Haemos Thromb* 2008; 36(3-4): 148-159.

9. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, Wheatley K, East CL, Marsden JT, 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): 1945–1953.
10. Krantz SB. [Erythropoietin](#). *Blood* 1991; 77(3): 419-434.
11. Messinezy M, Westwood NB, El-Hemaidi I, Marsden JT, Sherwood RS, Pearson TC. [Serum erythropoietin values in erythrocytoses and in primary thrombocythaemia](#). *Br J Haematol* 2002; 117(1):47-53.
12. Kutti J, Ridell B. [Epidemiology of the myeloproliferative disorders. Essential thrombocythaemia, polycythaemia vera and idiopathic myelofibrosis](#). *Pathol Biol* 2001; 49(2): 164-166.
13. Norcliffe LJ, Rivera-Ch M, Claydon VE, Moore JP, Leon-Velarde F, Appenzeller O, et al. [Cerebrovascular responses to hypoxia and hypocapnia in high-altitude dwellers](#). *J Physiol* 2005; 566(Pt 1): 287-294.
14. Osgood EE. [Polycythemia vera: Age relationships and survival](#). *Blood* 1965; 26:243-256 .
15. Solar GP, Kerr WG, Zeigler FC, Hess D, Donahue C, de Sauvage FJ, et al. Role of c-mpl in early hematopoiesis. *Blood* 1998; 92(1):4-10.
16. Wendling F, Varlet P, Charon M, Tambourin P. MPLW: A retrovirus complex inducing an acute myeloproliferative leukemic disorder in adult mice. *Virology* 1986; 149(2): 242-246.
17. Souyri M, Vigon I, Penciolelli JF, Heard. JM, Tambourin P, Wendling F, et al. [A putative truncated cytokine receptor gene transduced by the myeloproliferative leukemia virus immortalizes hematopoietic progenitors](#). *Cell* 1990; 63(6):1137-1147.

18. Dai C, Krantz SB. [Increased expression of the INK4a/ARF locus in polycythemia vera.](#) Blood 2001; 97(11):3424-3432.
19. Hookham MB, Elliott J, Suessmuth Y, Staerk J, Ward AC, Vainchenker W, et al: [The myeloproliferative disorder-associated JAK2 V617F mutant escapes negative regulation by suppressor of cytokine signaling 3.](#) Blood 2007; 109(11): 4924-4929.
20. Michiels JJ, Leenknecht H, Michiels JJ, Budde U. [Acquired von Willebrand disease in myeloproliferative disorders.](#) Leuk Lymph 1996; 22 Suppl 1:79-82.
21. Finnazzi G, Budde U, Michiels JJ. [Bleeding time and platelet function in essential thrombocythemia and other myeloproliferative syndromes.](#) Leuk Lymph 1996; 22 Suppl 1:71-8.
22. Schafer AI: Bleeding and thrombosis in myeloproliferative disorders. Blood 1984; 64(1):1-12.
23. Harrison CN. [Platelets and thrombosis in myeloproliferative diseases.](#) Hematology Am Soc Hematol Educ Program Thomas' Hospital, Lambeth Palace Road, London, England SE1 7EH, United Kingdom 2005: 409-415.
24. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatly K, East CL, Bareford D, et al. [Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia.](#) N Engl J Med 2005; 353(1):33-45.
25. Berk PD, Goldberg JN, Donovan PB, Fruchtman SM, Berlin NI, Wasserman LR, et al. [Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols.](#) Semin Hematol 1986; 23(2): 132-143.
26. Gruppo Italiano Studio Policitemia: [Polycythemia vera. The natural history of 1213 patients followed for 20 years.](#) Ann Intern Med 1995; 123(9):656-664.

27. Pearson TC, Wetherley-Mein G. Vascular occlusive episodes and venous haematocrit in primary proliferative polycythemia. *Lancet* 1978; 2(8102):1219-1222.
28. Reisner SA, Rinkevich D, Markiewicz W, Tatarsky I, Brenner B. Cardiac involvement in patients with myeloproliferative disorders. *Am J Med* 1992; 93(5):498-504.
29. Mitchell MC, Boitnott JK, Kaufman S, Cameron JL, Maddrey WC. [Budd-Chiari syndrome: Etiology, diagnosis and management.](#) *Medicine* 1982; 61(4):199-218.
30. Lamy T, Devillers A, Bernard M, Moisan A, Grulois I, Drenou B, et al: [Inapparent polycythemia vera: An unrecognized diagnosis.](#) *Am J Med* 1997; 102(1):14-20.
31. Menon KV, Shah V, Kamath PS. [Current concepts: The Budd-Chiari syndrome.](#) *N Engl J Med* 2004; 350(6):578-585.
32. Valla D, Casadevall N, Lacombe C, Varet B, Goldwasser E, Franco D, et al. [Primary myeloproliferative disorder and hepatic vein thrombosis: A prospective study of erythroid colony formation in vitro in 20 patients with Budd-Chiari syndrome.](#) *Ann Intern Med* 1985; 103(3):329-334.
33. Pagliuca A, Mufti GJ, Janossa-Tahernia M, Eridani S, Westwood NB, Thumpston J, et al: [In vitro colony culture and chromosomal studies in hepatic and portal vein thrombosis Possible evidence of an occult myeloproliferative state.](#) *Q J Med* 1990; 76(281):981-989.
34. Melear JM, Goldstein RM, Levy MF, Molmenti EP, Cooper B, Netto GJ, et al. Hematologic [aspects of liver transplantation for Budd-Chiari syndrome with special reference to myeloproliferative disorders.](#) *Transplantation* 2002; 74(8):1090-1095.
35. Silverstein A, Gilbert H, Wasserman LR. Neurologic complications of polycythemia. *Ann Intern Med* 1962; 57:909-916.

36. Pearce JM, Chandrasekera CP, Ladusans EJ. [Lacunar infarcts in polycythaemia with raised packed cell volumes](#). Br Med J (Clin Res Ed) 1983; 287(6397):935-936.
37. Koudstaal PJ. [Atypical transient ischemic attacks in thrombocythemia of various myeloproliferative disorders](#). Leuk Lymph 1996; 22 (Suppl 1): 65-70.
38. Boniuk M. [The ocular manifestations of ophthalmic vein and aseptic cavernous sinus thrombosis](#). Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol 1972; 76(6):1519-1534.
39. Askew A. [Spontaneous bleeding in polycythaemia vera](#). Med J Aust 1980; 2(8): 456.
40. Steinman HK, Kabza-Black H, Lotti TM. [Polycythemia rubra vera and water induced pruritus: Blood histamine levels and cutaneous fibrinolytic activity before and after water challenge](#). Br J Dermatol 1987; 116(3):329-333.
41. Jackson N, Burt D, Crocker J, Boughten B. [Skin mast cells in polycythemia vera: Relationship to the pathogenesis and treatment of pruritus](#). Br J Dermatol 1987; 116(1): 21-29
42. Denman ST. [A review of pruritus](#). J Am Acad Dermatol 1986; 14(3):375-392.
43. Berk PD, Goldberg JD, Silverstein MN. [Increased evidence of acute leukemia in polycythemia vera associated with chlorambucil therapy](#). N Engl J Med 1981; 304(8):441-447.
44. Landaw SA. Acute leukemia in polycythemia vera. Semin Hematol 1986 ;23(2):156-165.
45. Berk PD, Wasserman LR, Fruchtman SM, Goldberg JD. Treatment of polycythemia vera: A summary of clinical trials conducted by the polycythemia vera study group. In: Wasserman LR, Berk PD, Berlin NI, ed. Polycythemia Vera and the Myeloproliferative Disorders, Philadelphia: WB Saunders; 1995: 166.

46. Fruchtman SM, Mack K, Kaplan ME, Peterson P, Berk PD, Wasserman LR. [From efficacy to safety: A polycythemia vera study group report on hydroxyurea in patients with polycythemia vera.](#) Semin Hematol 1997; 34(1):17-23.
47. Najean Y, Arrago JP, Rain JD, Dresch C. [The spent phase of polycythemia vera: Hypersplenism in the absence of myelofibrosis.](#) Br J Haematol 1984; 56(1):163-170.
48. Silverstein MN. [The evolution into and treatment of late stage polycythemia vera.](#) Semin Hematol 1976; 13(1):79-84.
49. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, Kvasnicka HM, Barbui T, Hanson CA, 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):1092-1097.
50. Ronald Hoffman, MD, Bruce Furie, MD, Edward J. Benz, Jr, MD, Philip McGlave, MD, Leslie E. Silberstein, MD, Sanford J. Shattil, MD. Hematology: Basic Principles and Practice, Therapy of Polycythemia Vera, 5th Edition. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2009:1101-1107.
51. Scott LM, Scott MA, Campbell PJ, Green AR. [Progenitors homozygous for the V617F mutation occur in most patients with polycythemia vera, but not essential thrombocythemia.](#) Blood 2006; 108(7):2435-2437
52. Kralovics R, Guan Y, Prchal JT. [Acquired uniparental disomy of chromosome 9p is a frequent stem cell defect in polycythemia vera.](#) Exp Hematol 2002; 30(3):229-236.
53. Levine RL, Loriaux M, Huntly BJ, Loh ML, Beran M, Stoffregen E, 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):3377-3379

54. Gunz FW. [Hemorrhagic thrombocythemia: A critical review.](#) Blood 1960; 15: 706-723
55. El-Kassar N, Hetet G, Briere J, Grandchamp B. [Clonality analysis of hematopoiesis in essential thrombocythaemia: Advantages of studying T lymphocytes and platelets.](#) Blood 1997; 89(1):128-34.
56. Harrison CN, Gale RE, Machin SJ, Linch DC. [A large proportion of patients with a diagnosis of essential thrombocythemia do not have a clonal disorder and may be at lower risk of thrombotic complications.](#) Blood 1999; 93(2): 417-424.
57. Liu E, Jelinek J, Pastore YD, Guan Y, Prchal JF, Prchal JT. [Discrimination of polycythemias and thrombocytoses by novel, simple, accurate clonality assays and comparison with PRV-1 expression and BFU-E response to erythropoietin.](#) Blood 2003; 101(8):3294-3301
58. Anger B, Janssen JW, Schrezenmeier H, Hehlmann R, Heimpel H, Bartram CR. [Clonal analysis of chronic myeloproliferative disorders using X-linked DNA polymorphisms.](#) Leukemia 1990; 4(4): 258-261.
59. Tahara T, Usuki K, Sato H, Ohashi H, Morita H, Tsumura H, et al. [A sensitive sandwich ELISA for measuring thrombopoietin in human serum: Serum thrombopoietin in healthy volunteers and in patients with hematopoietic disorders.](#) Br J Haematol 1996; 93(4):783-788.
60. Horikawa Y, Matsumura I, Hashimoto K, Shiraga M, Kosugi S, Tadokoro S, et al. [Markedly reduced expression of platelet C-mpl receptor in essential thrombocythemia.](#) Blood 1997; 90(10):4031-4038.
61. Cerutti A, Custodi P, Duranti M, Noris P, Balduini CL. [Thrombopoietin levels in patients with primary and reactive thrombocytosis.](#) Br J Haematol 1997; 99(2):281-284.

62. Harrison CN, Gale RE, Pezella F, Mire-Sluis A, MacHin SJ, Linch DC. [Platelet c-mpl expression is dysregulated in patients with essential thrombocythaemia but this is not of diagnostic value.](#) Br J Haematol 1999; 107(1):139-147
63. Li J, Xia Y, Kuter DJ. [The platelet thrombopoietin receptor number and function are markedly decreased in patients with essential thrombocythaemia.](#) Br J Haematol 2000; 111(3):943-953.
64. Moliterno AR, Hankins WD, Spivak JL. [Impaired expression of the thrombopoietin receptor by platelets with polycythemia vera.](#) N Engl J Med 1998; 338(9):572-580.
65. Mesa RA, Hanson CA, Li C, Yoon S-Y, Rajkumar SV, Schroeder G, et al. Diagnostic and prognostic value of bone marrow angiogenesis and megakaryocyte c-Mpl expression in essential thrombocythemia. Blood 2002; 99(11):4131-4137.
66. Sterkers Y, Preudhomme C, Lai JL, Demory JL, Caulier MT, Wattel E, et al. Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes following essential thrombocythemia treated with hydroxyurea: high proportion of cases with 17p deletion. Blood 1998; 91(2):616–622.
67. Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G. [Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia.](#) J Clin Oncol 1990; 8(3):556-562.
68. Kwong YL, Liang RH, Chiu EK, Lie AK, Chan LC, Todd D, et al. [Essential thrombocythemia: A retrospective analysis of 39 cases.](#) Am J Hematol 1995; 49(1): 39-42.
69. Wehmeier A, Daum I, Jamin H, Schneider W. [Incidence and clinical risk factors for bleeding and thrombotic complications in myeloproliferative disorders.](#) Ann Hematol 1991; ;63(2):101-106.

70. Michiels JJ, Van Genderen PJJ, Jansen PH, Koud staal PJ. Atypical transient ischemic attacks in thrombocythemia of various myeloproliferative disorders. *Leuk Lymphoma* 1996; 22 Suppl 1:65-70
71. Michiels JJ, Koudstaal PJ, Mulder AH, Van Vliet HDM. [Transient neurologic and ocular manifestations in primary thrombocythemia.](#) *Neurol* 1993; 43(6):1107-1110.
72. Arboix A, Besses C, Acin P, Massons J, Florensa L, Oliveres M, et al. [Ischemic stroke as first manifestation of essential thrombocythemia.](#) *Stroke* 1995; 26(8):1463-1466.
73. Van Genderen PJ, Mulder PG, Waleboer M, Van de Moesdijk D, Michiels JJ. [Prevention and treatment of thrombotic complications in essential thrombocythemia: Efficacy and safety of aspirin.](#) *Br J Haematol* 1997; 97(1): 179-184.
74. Finazzi G, Ruggeri M, Rodeghiero F, Barbui T. [Efficacy and safety of long-term use of hydroxyurea in young patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis.](#) *Blood* 2003; 101(9):3749.
75. Bernansconi P, Boni M, Cavigliaro PM. [Acute myeloid leukemia \(AML\) having evolved from essential thrombocythemia \(ET\): Distinctive chromosome abnormalities in patients treated with pipobroman or hydroxyurea.](#) *Leukemia* 2002; 16(10):2078-2083.
76. Fruchtman SM, Pettitt RM, Gilbert HS, Fiddler G, Lyne A. Anagrelide Study Group. [Anagrelide: analysis of long-term efficacy, safety and leukemogenic potential in myeloproliferative disorders.](#) *Leuk Res* 2005; 29(5):481-491.
77. Silverstein MN: [The Anagrelide Study Group: Anagrelide, a therapy for thrombocythemic states: Experience in 577 patients.](#) 1992; 92(1): 69-76.

78. M Lazzarino ,A Vitale ,E Morra ,A Gagliardi ,P Bernasconi ,C Torromeo , et al. [Interferon alpha-2b as treatment for Philadelphia-negative chronic myeloproliferative disorders with excessive thrombocytosis.](#) Br J Haematol 1989; 72: 173-177.
79. Samuelsson J, Hasselbalch H, Bruserud O, Temerinac S, Brandberg Y, Merup M, et al: [Nordic Study Group for Myeloproliferative Disorders. 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):2397-2405.
80. Peschel C, Aulitzky WE, Huber C. [Influence of interferon-a on cytokine expression by the bone marrow microenvironment-impact on treatment of myeloproliferative disorders.](#) Leuk Lymphoma 1996; 22(suppl 1): 129-134
81. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, Balducci D, Russo L, Guerini V, et al. V617F JAK-2 mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules. Experimental Hematology, 2007; 35(5): 702–711.
82. Barosi G, Hoffman R. [Idiopathic myelofibrosis.](#) Semin Hematol 2005; 42(4):248-258.
83. Mesa RA, Silverstein MN, Jacobsen SJ, Wollan PC, Tefferi A. Population-based incidence and survival [figures in essential thrombocythemia and agnogenic myeloid metaplasia: an Olmsted County Study.](#) Am J Hematol 1999; 61(1):10-15.
84. Silverstein MN: Agnogenic Myeloid Metaplasia. Acton, Mass: Publishing Sciences Group: 1975; 197.
85. Cervantes F, Barosi G, Demory J-L, Reilly J, Guarnone R, Dupriez B, et al. [Myelofibrosis with myeloid metaplasia in young individuals: disease characteristics.](#)

- prognostic factors and identification of risk groups. Br J Haematol 1998; 102(3):684-690.
86. Cervantes F, Alvarez-Larran A, Arellano Rodrigo E, Granell M, Domingo A, Montserrat E. Frequency and risk factors for thrombosis in idiopathic myelofibrosis: analysis in a series of 155 patients from a single institution. Leukemia 2006; 20(1):55-60.
87. Tefferi A. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. N Engl J Med 2000; 342(17):1255-1256.
88. Barosi G. Myelofibrosis with myeloid metaplasia: Diagnostic definition and prognostic classification for clinical studies and treatment guidelines. J Clin Oncol 1999; 17(9):2954-2970.
89. Foley-Nolan D, Martin MF, Rowbotham D, McVerry A, Gooi HC. Systemic lupus erythematosus presenting with myelofibrosis. J Rheumatol 1992; 19(8): 1303.
90. Tefferi A, Silverstein MN: Current perspective in agnogenic myeloid metaplasia. Leuk Lymphoma 1996; 22(Suppl 1): 169-171
91. Bennet JS. Hereditary disorders of platelet function. In:Hoffman R, Benz JR.EJ, Shatttil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P, editors. Hematology Basic Principles and Practice 3rd ed. Churchill Livingstone, Philedelphia: 2000: 2154-2172.
92. Kottke-Marchant K, Corcoran G. The Laboratory Diagnosis of Platelet Disorders An Algorithmic Approach. Arch Pathol Lab Med 2002; 126(2): 133–146.
93. Laffan M, Manning R. Investigation of haemostasis. In: Lewis SM, BainBJ, Bates I, editors. Dacie and Lewis, Practical Haematology. 10th Edition, Churchill Livingstone: 2002; 380-437.

94. George JN, Shattil SJ. Acquired disorders of platelet function. In: Hoffman R, Benz JR, EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P, editors. Hematology Basic Principles and Practice 3rd ed. Churchill Livingstone, Philadelphia: 2000: 2172-2186.
95. Weigert AL, Schafer AI. Uremic bleeding: pathogenesis and therapy. Am J Med Sci 1998; ;316(2):94-104..
96. Landolfi R, Marchioli R, Patrono C. Mechanisms of bleeding and thrombosis in myeloproliferative disorders. Thromb Haemost 1997; 78(1): 617-621.
97. Kaptan K. Trombosit Hastalıklarında Temel Tanısal Yaklaşım 5. İlk Basamak Kursu, 8 Kasım 2006, Antalya; 2006. P.11-15.
98. Collier BS, Schneiderman PI. Clinical Evaluation of Hemorrhagic Disorders: The Bleeding History and Differential Diagnosis of Purpura. In: Hoffman R, Benz EJ, Shatil SJ eds. Hematology Basic Principles and Practices. 4th ed. Philadelphia, Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 1975-1999.
99. Cox D, Platelet Function Studies. Quinn M, Fitzgerald D, editors. Platelet Function Assessment, Diagnosis, and Treatment. New Jersey: Humana Press, 2005: 201-223.
100. Triplett DA. Coagulation and bleeding disorders: review and update. Clin Chem 2000; 46 (8 Pt 2): 1260-1269.
- 101 .Lind SE. The bleeding time does not predict surgical bleeding[see comments] Blood 1991; 77: 2547-2552.
102. Emmanuel JF. Utility of the PFA-100 for assessing bleeding disorders and monitoring therapy: a review of analytical variables, benefits and limitations. Haemophilia 2001;-7;-170-179.

103. Koca E, Haznedaroğlu İC, Büyükaşık Y. Trombosit aktivasyonu. *Türk J Cardiol* 2007; 10: 82-90.
104. Harrison P. Platelet function analysis. *Blood Rev* 2005; 19(2): 111-123.
105. Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN (eds). *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott Company, 2001.
106. Breddin HK. Can platelet aggregometry be standardized? *Platelets* 2005; 16(3-4): 151-158.
107. Storey RF, Heptinstall S. Laboratory investigation of platelet function. *Clin Lab Haem* 1999; 21(5): 317-329.
108. Campell PJ, Gren AR. The myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2006; 355 (23): 2452-2466.
109. Moliterno AR, Donna MW, Ophelia R, Spivak JL: Molecular mimicry in the chronic myeloproliferative disorders: reciprocity between quantitative JAK2 V617F and Mpl expression. *Blood* 2006;108(12):3913-3915.
110. Zhang SJ, Li WD, Song JH, Xu W, Qiu HX, Li JY: The investigation of JAK2 V617F point mutation in myeloproliferative disorders by allele-specific polymerase chain reaction in combination with sequence analysis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2007;87(30):2109-2112.
111. Tefferi A. Classification, diagnosis and management of myeloproliferative disorders in the JAK2V617F 2006; 240-245.
112. Elliott MA, Tefferi A. Trombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *British Journal of Hematology* 2004; 128(3):275-290.

113. Vannucchi AM. JAK2 Mutation and thrombosis in the myeloproliferative neoplasms *Curr Hematology* 2010; 5(1): 22-28.
114. Finazzi G, Ramboldi A, Guerini V, Carobba A, Barbui T. Risk of trombosis in patients with essential thrombocytemia and polycythemia vera according to JAK2V617F mutation status. *Haematologica* 2007; 92(1): 135-136.
115. Marchetti M, Falanga A. Leukocytosis, JAK2V617F mutation, and hemostasis in myeloproliferative disorders. *Pathophysiology of hemostasis and Trombosis* 2007-08; 36(3-4):148-159.
116. Wasserman LR, Gilbert HS: [Surgical bleeding in polycythemia vera](#). *Ann NY Acad Sci* 1964; 115:122-138.
117. Menon KV, Shah V, Kamath PS. The Budd-Chiari syndrome. *N Engl J Med* 2004; 350(6):578-585..
118. Barbui T, Barosi G, Grossi A, Gugliotta L, Liberato LN, Marchetti M, et al. [Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia: A statement from the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation](#). *Haematologica* 2004; 89(2):215-232.
119. Van Genderen PJ, Leenknegt H, Michiels JJ. [The paradox of bleeding and thrombosis in thrombocythemia: Is von Willebrand factor the link?](#) *Semin Thromb Hemost* 1997; 23(4):385-389.
120. Van Genderen PJ, Leenknegt H, Michiels JJ. [Acquired von Willebrand disease in myeloproliferative disorders](#). *Leuk Lymphoma* 1996; 22(Suppl I): 79-82

121. Van Genderen PJ, Budde U, Michiels JJ, Budde U. [The reduction of large von Willebrand factor multimers in plasma in essential thrombocythaemia is related to the platelet count.](#) Br J Haematol 1996; 93(4):962-965.
122. Ginsburg AD: [Platelet function in patients with high platelet counts.](#) Ann Intern Med 1975; 82(4):506-511.
123. Kumar S, Pruthi RK, Nichols WL. Acquired von Willebrand Disease. Mayo Clin Proc 2002; 77(2): 181-187.
124. Michiels JJ, Budde U, van der Planken M. Acquired von Willebrand syndromes: clinical features, aetiology, pathophysiology, classification and management. Best Pract Res Clin Haematol 2001; 14(2): 401-436.
125. Finazzi G, Budde U, Michiels JJ. [Bleeding time and platelet function in essential thrombocythemia and other myeloproliferative syndromes.](#) Leuk Lymphoma 1996; 28(supp 1): 71-78.
126. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, Gisslinger H, Tognoni G, Patrono C, et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. N Engl J Med 2004; 350 (2): 114-124.
127. Schafer AI. [Bleeding and thrombosis in myeloproliferative disorders.](#) Blood 1984; 64(1):1-12.
128. Harrison CN. [Platelets and thrombosis in myeloproliferative diseases.](#) Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2005; 409: 15.
129. Wehmeier A, Scharf R.E, Schneider W. Bleeding and trombosis in chronic myeloproliferative disorders: Relation of platelet disorders to clinical aspect of the disease. Haemostasis 1989; 19(5): 251-259.

130. [Leoni P](#), [Rupoli S](#), [Lai G](#), [Brunelli MA](#), [Belmonte MM](#), [Pugnali A](#), et al. Platelet abnormalities in idiopathic myelofibrosis: functional, biochemical and immunomorphological correlations. [Haematologica](#) 1994 Jan-Feb; 79(1): 29-39.
131. [Berger S](#), [Aledort LM](#), [Gilbert HS](#), [Hanson JP](#), [Wasserman LR](#). Abnormalities of platelet function in patients with polycythemia vera. [Cancer Res.](#) 1973 Nov; 33(11): 2683-2687.
132. [Waddell CC](#), [Brown JA](#), [Repinecz YA](#): Abnormal platelet function in myeloproliferative disorders. [Arch Pathol Lab Med.](#) 1981 Aug; 105(8): 432-435.
133. Hattori N, Fukuchi K, Nakashima H, Maeda T, Adachi D, Saito B, et al. Megakaryopoiesis and platelet function in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients with JAK2. *The Japanese Society of Hematology* 2008; 88(2): 181-188.