



**T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**POLİSİTEMİA VERA VE ESANSİYEL TROMBOSİTOZ
HASTALARINDA DEMİR METABOLİZMASININ GDF15 ,
HEPSİDİN VE MİTOFERRİN 1 ÜZERİNDEN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Canan ALBAYRAK YAŞAR

Uzmanlık Tezi

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Kocaeli – 2015

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**POLİSİTEMİA VERA VE ESANSİYEL TROMBOSİTOZ
HASTALARINDA DEMİR METABOLİZMASININ GDF15 ,
HEPSİDİN VE MİTOFERRİN 1 ÜZERİNDEN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Canan ALBAYRAK YAŞAR

Tez Danışmanı: Doç.Dr.Pınar TARKUN

Anabilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Sadettin HÜLAGÜ

2014 Etik Proje No: KOU KAEK 2014/90

Karar No: 6/6

Tez yazma sürecinde desteğini esirgemeyen, sorularımı yanıtızsız bırakmayan tez danışmanı sevgili hocam Doç. Dr. Pınar TARKUN'A, anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Sadettin HÜLAGÜ'ye ve başkan vekilimiz Prof. Dr. Berrin ÇETİNARSLAN'a, Tıp eğitimi ile birlikte uzmanlık eğitimi alma şansı yakaladığım tüm Dahiliye anabilim dalı hocalarıma,

Sabri ve güleryüzlülüğüyle kendine hayran bırakan Biyoistatistik bölümü hocamız sevgili Doç.Dr.Canan BAYDEMİR'e,

Her zaman yanımda olan, evimin huzur ve sevgi kaynağı, iyi kalpli sevgili eşime,

Bugünlere gelmemde en büyük payı olan, hayatın her alanında en büyük destekçim, kötü günlerimin tesellisi sevgili anne ve babama,

Daha anne karnındayken zorlu tez yazma süreci ile tanışan, motivasyon kaynağım biricik kızıma;

teşekkürü borç bilirim.

Dr.Canan ALBAYRAK YAŞAR

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABC	:ATP bağlayan kaset taşıyıcı protein
Abcb10	:ATP bağlayan kaset taşıyıcı protein, B ailesi, 10.Üyesi
ACE	:Angiotensin dönüştürücü enzim
ASXL	:Additional sex combs like 1
AT-2	:Anjiotensin 2 reseptörü
Apo-Tf	:Apo transferrin
BFU-E	:Burst forming unit eritroid
BMP	:Kemik morfogenetik protein
BRE	:BMP cevaplı DNA elemanları/BMP responsive DNA elements
CARL	:Calreticulin
CFU-MK	:Colony forming unit megakaryosit
Co-SMAD	:Common Sons of mothers against decapentaplegic homologue
CRP	:C reaktif protein
Dcytb	:Duodenal sitokrom B
DMT-1	:Divalent metal-iyon taşıyıcı 1
DNMT3A	:DNA-metiltransferaz 3 alfa
DSÖ	:Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	:Etilendiamin tetra asetik asit
Elisa	:Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay(Enzim bağlantılı antijen-antikor tutma testi)
EPO	:Eritropoetin
ET	:Esansiyel trombositoz
Fe-S	:Demir-sülfür bileşiği
FERM	:JAK molekülü amino terminal bölümünü oluşturan proteinler
G	:Guanin
G6PD	:Glikoz 6 fosfat dehidrogenaz
GDF15	:Growth diferansiasyon faktör 15

HAMP	:Hepsidin geni
HCP	:Hematopoetik hücre fosfataz
HCP-1	:Hem taşıyıcı protein
HIF	:Hipoksi indüklenbilir faktör
HJV	:Hemojuvelin
HÜ	:Hidroksiüre
IDH	:Izositrat dehidrogenaz
IFN- α	:Interferon alfa
IGF	:Insulin benzeri büyüme faktörü
IGFBP	:IGF bağlayıcı protein
IL-6	:Interlökin 6
IRE	:Demir cevaplı elementler (iron responsive elements)
IRP	:Demir düzenleyici protein (iron regulatory protein)
JAK	:Janus kinaz 2
JH1	:Jak homolog 1
JH2	:Jak homolog 2
KMPH	:Kronik miyeloproliferatif hastalık
LDH	:Laktat dehidrogenaz
MCV	:Ortalama kırmızı hücre hacmi
MPL	:Miyeloproliferatif Lösemi Virusu-Myeloproliferatif Leukemia Virus
mRNA	:Mesajcı ribonükleik asit
Mfrn	:Mitoferrin
PDGF	:Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PMF	:Primer Miyelofibroz
PPMM	:Postpolisitemik miyeloid metaplazi
PRV-1	:Polisitemia rubra vera
PTK	:Protein tirozin kinaz
PV	:Polisitemia vera
RNA	:Ribonükleik asit

rpm	:Devir/dakika
SLC 25	:Madde taşıyıcı ailesi 25
SMAD	:Sons of mothers against decapentaplegic homologue
STAT	:Sinyal dönüştürücüler ve transkripsiyon aktivatör proteinleri
STEAP 3	:Six-transmembran epithelial antigen of prostate 3
T	:Timin
TET2	:Ten-Eleven-Translokasyonu 2
TfR	:Transferrin reseptörü
Tf	:Transferrin
TGF- β	:Transforming büyüme faktörü β
TPO	:Trombopoetin
vWH	:Von Willebrand Hastalığı
WBC	:Beyaz küre

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

Simgeler Ve Kısaltmalar Dizini	ii
İçindekiler	v
Tablo Listesi	vii
Şekil Listesi	viii
1. AMAÇ VE KAPSAM	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLAR	3
2.1.1. POLİSİTEMİA VERA	4
2.1.1.1. Epidemiyoloji	4
2.1.1.2. Etiyoloji ve Patogenez	4
2.1.1.2.1. Biyolojik ve Moleküler Patogenez	6
2.1.1.2.1.1. JAK2 Yapısı ve Fonksiyonu	7
2.1.1.2.1.2. JAK2 V617F Mutasyonu	9
2.1.1.2.1.3. MPL (Myeloproliferatif Leukemia Virus) Mutasyonu	10
2.1.1.2.1.4. Calreticulin (CARL) Mutasyonu.....	10
2.1.1.2.1.5. EPO Reseptörü	11
2.1.1.2.1.6. IGF-1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1).....	12
2.1.1.2.1.7. Renin-Angiotensin Sistemi (RAS).....	13
2.1.1.3. Klinik	13
2.1.1.4. Laboratuvar.....	15
2.1.1.5. Tanı Kriterleri.....	17
2.1.1.6. Ayırıcı Tanı	18
2.1.1.7. Tedavi	20
2.1.1.8. Prognoz.....	23
2.1.2. ESANSİYEL TROMBOSİTOZ	25
2.1.2.1. Epidemiyoloji	25
2.1.2.2. Etiyoloji ve Patogenez	25
2.1.2.3. Klinik Bulgular	27
2.1.2.4. Laboratuvar.....	28
2.1.2.5. Tanı Kriterleri.....	29
2.1.2.6. Ayırıcı Tanı	30

2.1.2.7. Tedavi	30
2.1.2.8. Prognoz	32
2.2. DEMİR METABOLİZMASI	33
2.2.1. Demirin Mitokondriye Taşınması, Mitoferrin Tanımı ve Fonksiyonu	36
2.2.2. Demir Döngüsü	38
2.3. HEPsİDİN VE DEMİR METABOLİZMASINDAKİ ROLÜ	40
2.3.1. Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi.....	41
2.4. GDF15 TANIMI VE FONKSİYONU	45
2.5. GDF-15 ve HEPsİDİN İLİŞKİSİ	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM	49
3.1. Hasta Seçimi	49
3.2. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı	50
3.3. Yöntem.....	50
3.4. İstatistik.....	50
4. BULGULAR	51
5. TARTIŞMA.....	62
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	70
7. ÖZET	72
8. ABSTRACT	74
9. KAYNAKLAR.....	76

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: Miyeloproliferatif Hastalıkların Sınıflandırılması	3
Tablo 2: DSÖ 2008 Polisitemia Vera Tanı Kriterleri	17
Tablo 3: Polisitemia Vera Dışındaki Eritrositoz Sebepleri	19
Tablo 4: DSÖ 2008 Esansiyel Trombositoz Tanı Kriterleri	29
Tablo 5: Çalışma Gruplarının Genel Özellikleri	51
Tablo 6: KMPH ile Sağlıklı Kontrol Gruplarının Laboratuvar Değerlerinin Karşılaştırması	53
Tablo 7: PV ile Sağlıklı Kontrol Gruplarının Laboratuvar Değerlerinin Karşılaştırması	55
Tablo 8: ET ile Sağlıklı Kontrol Gruplarının Laboratuvar Değerlerinin Karşılaştırması	56
Tablo 9: PV ve ET Gruplarının Laboratuvar ve Klinik Özelliklerinin Karşılaştırması ...	58
Tablo 10: Hepsidin, GDF 15 ve Mitoferrin 1 Düzeylerine İlişkin Değerlendirmeler	59
Tablo 11: Hepsidin, GDF 15 ve Mitoferrin 1 Düzeyleri ile Cinsiyet İlişkisi	60
Tablo 12: Hasta Gruplarının Sağlıklı Kontroller ile ve Birbiri ile Hepsidin, GDF 15 ve Mitoferrin 1 Düzeyleri Yönünden Karşılaştırması	61

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: Tromboz ve Hemoraji Patofizyolojisi.....	6
Şekil 2: JAK2'nin Yapısı	8
Şekil 3: Eritropoetin Reseptörü.....	12
Şekil 4: Demirin İntestinal Lümenden Enterosite Girişi ve Plazmaya Verilişi	34
Şekil 5: Transferrin Döngüsü	35
Şekil 6: Mitoferrin Fonksiyonu	38
Şekil 7: Demir Döngüsü.....	39
Şekil 8: Demir Döngüsünde Hepsidin Rolü ve Ferroportin ile İlişkisi.....	41
Şekil 9: Demir Bağımlı BMP Sinyal Yolağı.....	42
Şekil 10: Hepsidin Fonksiyonu ve Düzenleyicileri.....	44
Şekil 11: İnefektif Eritropoezde GDF15 in Fonksiyonu	48

1. AMAÇ VE KAPSAM

Polisitemia Vera (PV) aşırı miktarda olgunlaşmış hematopoetik hücre, özellikle eritrosit üretimi ile karakterize kök hücre bozukluğudur. Eritrosit hücre öncüllerinin kontrolsüz çoğalmasından, büyük ölçüde Janus Kinaz 2 (JAK) V617F mutasyonu sorumludur ve hastaların % 96 sında saptanabilmektedir.¹

Etkilenen erkeklerde hemoglobin düzeyi 18.5 gr/dl nin, kadınlarda 16.5 gr/dl'nin üzerindedir. Eritropoetin düzeyleri düşüktür, bu bulgu sekonder eritrositoz formlarından ayırt edilmesine yardım eder.

Semptomların çoğu kanı aşırı visköz hale getiren artmış eritrosit kitlesi ile ilişkilidir. Anormal kan akımı ve edinilmiş trombosit işlev bozuklukları sıklıkla kanama veya tromboz komplikasyonlarına neden olur. Sıklıkla sıcak suyla alevlenen kaşıntı yaygın bir yakınmadır. El ve ayaklarda mikrovasküler tıkanmaya bağlı ortaya çıkan yanma hissi olan eritromelalji daha ciddi bir sorundur. Zaman içinde hücre çoğalması ve sitopeni kombinasyonlarına, miyelofibrozu ve akut lösemiye ilerleme eklenir.²

Esansiyel Trombositoz (ET), başta megakaryositik seri olmak üzere tüm hematopoetik hücre serisinde artışın görüldüğü klonal bir kök hücre hastalığıdır. Trombosit sayısının reaktif bir sürece yol açabilecek bir neden bulunmaksızın belirgin derecede yükselmesi olarak da tanımlanabilir (Plt >450 x10⁹/L).

Hastaların %50-55 inde bulunan JAK2 mutasyonu tanıyı büyük ölçüde kolaylaştırır. Mutasyon bulunmayanlarda trombositemi tanısı ancak diğer nedenler dışlandıktan sonra konulabilir, bu da bilinen bütün reaktif ve klonal trombositoz nedenlerinin dışlanması demektir. En sık görülen semptomlar, trombosit işlev bozukluğuna bağlı kanamalar veya pıhtılaşma eğilimi artışına bağlı tromboz ve mikrovasküler iskemidir. Ayrıca baş ağrısı, baş dönmesi, senkop, görme bozuklukları, parestezi, livedo retikularis, parmaklarda eritromelalji gibi vazomotor bulgular bulunur. Hastaların az bir kısmında miyelofibroza ilerleme meydana gelir. Akut miyeloid lösemiye dönüşüm nadirdir.¹

Demir tüm hücreler için gerekli bir elementtir fakat plazmada yüksek konsantrasyonlarda toksik hale gelir; bu nedenle hücreler tarafından depolanır veya kullanılır. Mitokondri de hem molekülü sentezlemek ve demir-sülfür (Fe-S) bileşiği

oluşturmak için demiri kullanır. Mitokondriye demir molekülünün taşınması Mitoferrin 1 ve 2 olarak adlandırılan mitokondriyal taşıyıcı proteinler sayesinde olur. Mitoferrin 1 gelişmekte olan eritrositlerde mitokondriyal demir taşınması için gereklidir. Mitokondri membranında Abcb10 (ATP-Binding Cassette subfamily B member 10) ve ferroşelataz ile kompleks bir yapı oluşturduğu gösterilmiştir. Mitoferrin 2 ise noneritroid hücrelerde mitokondriyal demir metabolizmasında rol alır ve bu hücrelerde mitoferrin 1 den daha fazla etkindir.^{3,4}

Hepsidin başlıca karaciğerden salınan küçük bir proteindir. Demirin emilimi ve dokulara dağılımında ana düzenleyicidir. Hepsidin üretimini düzenleyen ise, başlıca plazma demir seviyesi ve eritropoetik aktivitedir. Demir seviyesi artışı, hepsidin üretimini arttırır ve artan hepsidin seviyesi, diyetle alınan demir emilimini azaltır; böylece dokularda demir birikimini önler. Tam aksi durum olan demir eksikliğinde, üretimi azalır böylece duodenal demir emilimi artar. Artan eritropoetik aktivite de hepsidini baskılar. İnflamasyon ve enfeksiyon durumlarında ise konak savunması olarak mikroorganizmalara demir sağlanmasını önlemek amacıyla hepsidin üretimi artar.⁵

GDF15 (Growth diferansiyasyon faktör-15), TGF- β (Transforming growth faktör β) üst ailesinin bir üyesidir, matur eritroblastlardan salınır. Hepsidin baskılayıcı faktörü olarak tanımlanmıştır. İnfektif eritropoez gözlenen hastalıklarda (örn: talasemi, sideroblastik anemi, konjenital diseritropoez...) yüksek seviyelerde bulunur. Bu hastalarda GDF15 çok yüksek seviyelere ulaştığında hepsidini baskılar ve böylece demirin emilimini arttırarak dokularda aşırı birikimine katkıda bulunmuş olur.⁶

Bu çalışmadaki amacımız, kronik miyeloproliferatif hastalıklarda rol alan demir metabolizmasındaki değişiklikleri mitoferrin 1, GDF15 ve hepsidin üzerinden tespit etmek, bu hastalıkların patogenezeine dair yeni süreçleri araştırmak ve bunun sonucunda yeni tedavilerin geliştirilmesine aracılık etmektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLAR

Kronik miyeloproliferatif hastalıklar (KMPH) hematopoetik kök hücrenin klonal maligniteleridir. Birincil olarak tek bir hücre serisinin çoğalması olarak ortaya çıksalar bile granülositik, eritrositik ve megakaryositik dizilerin kökenlerini aynı anormal klondan aldıkları gösterilmiştir.⁷

1951 de Dameshek kronik miyeloid lösemi, polisitemia vera, esansiyel trombositoz ve idiyopatik miyelofibrozisin bağlantılı hastalıklar olduğunu bulmuş ve bu hastalıklara miyeloproliferatif hastalıklar adını vermiştir.⁸

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)⁹ tarafından miyeloproliferatif hastalıklar olarak sınıflandırılan bozukluklar tablo 1 de görülmektedir.

<i>Tablo 1: Miyeloproliferatif Hastalıkların Sınıflandırılması⁹</i>
1-Kronik Miyeloid Lösemi (BCR/ABL pozitif)
2- BCR/ABL negatif Miyeloproliferatif Hastalık
2a-Primer Miyelofibroz
2b-Prefibrotik Primer Miyelofibroz
2c-Primer (Esansiyel) Trombositemi
2d-Polisitemia Vera
3-Kronik Nötrofilik Lösemi
4- Kronik Eozinofilik Lösemi, başka şekilde sınıflandırılmayan
5-Mastositozis
6-Miyeloproliferatif Neoplazi, sınıflandırılmayan

2.1.1. POLİSİTEMİA VERA

Polisitemia Vera; klonal, kronik ve ilerleyici bir hastalıktır, sinsi bir başlangıcı vardır. Aşırı miktarda olgunlaşmış hematopoetik hücre özellikle de eritrosit üretimi ayrıca lökositöz, trombositöz ve splenomegali ile karakterizedir.⁷

Vaquez¹⁰ ilk kez 1892 yılında bu hastalığın muayene bulgularını tanımlamıştır. Cabot¹¹ ve Osler¹² bu hastalığa PV adını vermişlerdir.

2.1.1.1.Epidemiyoloji

PV insidansı 2,3-2,8/100.000 dir. Miyeloproliferatif hastalıklar içinde en sık görülenidir. Erkek/kadın oranı 1,2/1 dir. Ortalama tanı yaşı 60 yaştır. 30 yaşın altında çok nadir görülür.^{13,14}

Epidemiyolojik bir çalışmaya göre petrol rafineri ve kimyasal tesis çalışanlarında genel popülasyona göre artmış insidans görülmüştür.¹⁵

2.1.1.2. Etiyoloji ve Patogenez

PV hastalarında mortalitenin en sık sebebi vasküler trombozdur. Trombotik yatkinlıktaki artışın, eritrosit hücre yoğunluğu artışı ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır. Fakat PV deki trombotik eğilim trombosit ve nötrofillerin de katkıda bulunduğu multifaktöriyel bir orjine sahip olabilir.⁷

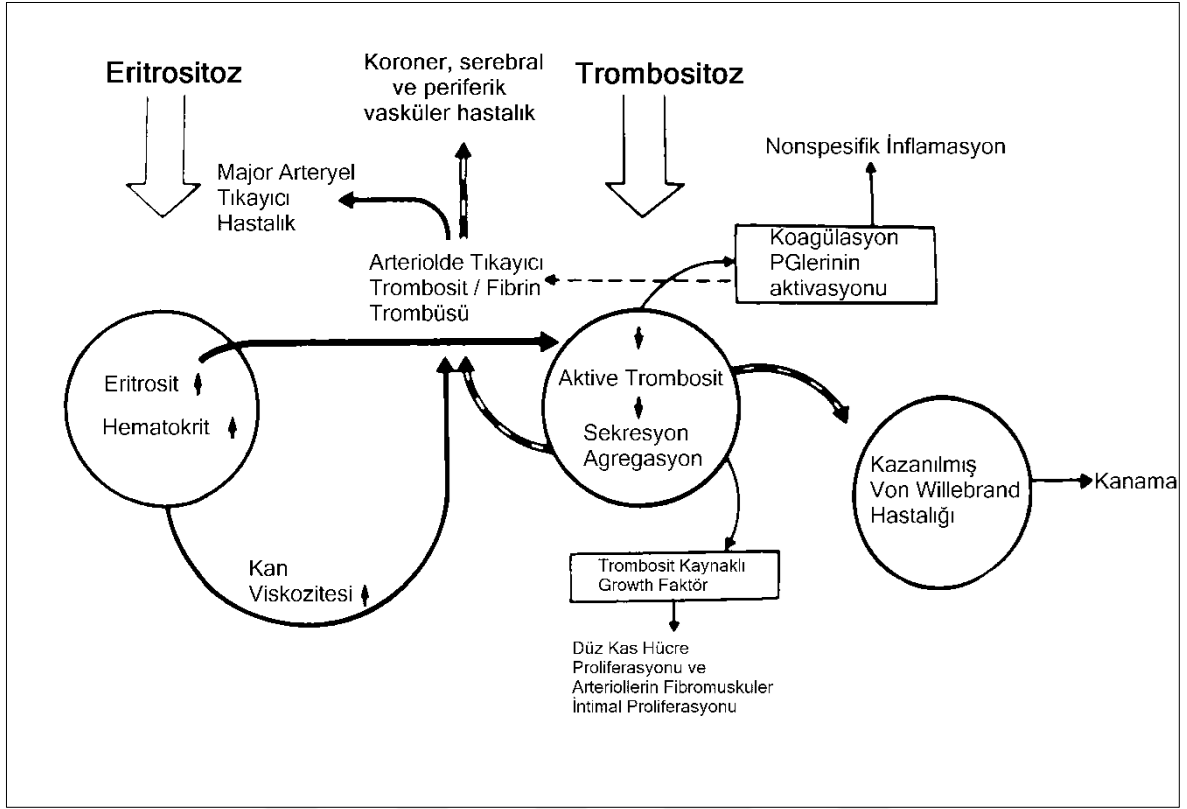
PV deki ana hemorajik anormallik artan kan viskozitesi ile ilişkilidir. Hematokritin düşürülmesi kan viskozitesinde ve beyin kan akımında iyileşme sağlar. Bazı hastalarda hematokritin düşürülmesine rağmen devam eden viskozite artışı, patogenezde hematokrit artışının tek faktör olamayacağını göstermektedir.¹⁶ PV hastalarının hemen hepsinde demir eksikliği gelişmektedir.¹⁷ Demir eksikliğinde görülen eritrosit boyutundaki azalmanın, kan viskozitesini arttırdığı ve polikarbonat filtrelerden eritrositlerin geçmesini azalttığı, Tillman ve Schröter¹⁸ ve Yip ve arkadaşlarının (ark.)¹⁹ yaptığı çalışmalarda gösterilmiştir.

Trombositöz ve trombosit niteliğinin değişmesi, tromboz gelişimine yardımcı faktörlerdir.⁷ Dawson ve Ogston²⁰ PV hastalarındaki tromboz nedeninin kontrolsüz

trombositoz olduğunu belirtmişlerdir ve fakat bu ilişki Kessler ve ark.ları²¹ ve Berk ve ark.ları²² tarafından doğrulanmamıştır. Bu hastalarda artmış plazma ve üriner tromboksan üretimi, artmış trombosit aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir.²³ Düşük doz asetil salisilik asit tedavisi ile oluşan trombosit siklooksijenaz inhibisyonunun, artan tromboksan üretimini baskıladığı ve hastalarda klinik yararı olduğu bulunmuştur.²⁴⁻²⁷ Ayrıca bazı hastalarda eritromelalji veya geçici iskemik atak gibi vasküler komplikasyonlar, antiagregan veya sitoredüksiyon tedavileri uygulaması ile hızlı bir şekilde gerilemiştir.²⁶⁻²⁸ Tüm bu veriler trombositlerin anormal tromboksan metabolizması ile birleştirildiğinde, PV de görülen trombotik ve hemorajik eğilime trombositlerin katkıda bulunduğu ana fikrini oluşturmaktadır.⁷

Artan beyaz küre sayısı, tromboz risk artışı ile ilişkilidir. Aktive lökositlerden salınan proteaz ve oksijen radikalleri endotel hücreleri ve trombositleri değiştirerek protrombotik durum gelişimine neden olur.²⁹⁻³¹

PV hastaları ayrıca hayatı tehdit eden hemorajik komplikasyonlar yaşayabilirler. Trombosit fonksiyon ve sayı anormallikleri bu hemorajik eğilimin ana sebebidir. Trombosit nitelik anormallikleri, trombosit fonksiyonlarının azalmasını kapsar. Trombosit fonksiyon azalması ise in vitro trombosit agregasyonu bozulması, depolanmasının bozulması, trombosit membran defektleri ve artmış trombosit agregasyonu şeklinde kendini gösteren artan trombosit reaktivasyonunu, artan plazma beta tromboglobulin seviyelerini ve azalmış trombosit ömrünü kapsar. Trombosit sayısı $>1000 \times 10^9$ olduğunda, von Willebrand faktörünün (vWF) eksikliği veya fonksiyon bozukluklarına bağlı, otozomal geçişli bir kalıtsal kanama diyatezi olan vWF sendromu geliştiği raporlanmıştır ve hayatı tehdit edici hemorajik ataklarla ilişkilidir.^{32,33} PV da trombositoz gelişim mekanizmasına etki eden faktörler şekil 1 de gösterilmiştir.³²



Şekil 1: Tromboz ve Hemoraji Patofizyolojisi³²

2.1.1.2.1. Biyolojik ve Moleküler Patogenez

Prchal ve Axelrad³⁴, PV hastalarından alınan kemik iliğinin, ekzojen eritropoetin (EPO) yokluğunda çok sayıda eritroid koloni ürettiklerini, sağlıklı kişilere ait kemik iliğinin ise böyle bir yeteneği olmadığını göstermişlerdir. Bu eritroid koloniler “endojen koloni” olarak isimlendirilmiştir.^{35,36} Ayrıca PV kemik iliği, EPO varlığında daha fazla klonlama etkinliği göstermiştir. Karışık koloni oluşumu da PV hastalarında gösterilmiştir. Karışık koloniler öncül hücrelerden kaynaklanır.³⁶ Bu gözlemler PV da EPO ya değişik yanıt alınmasının sadece eritroid öncül hücrelerden değil daha çok primitif hematopoetik öncül hücrelerden kaynaklandığını göstermektedir. Hücre döngüsü analizlerinde hematolojik öncül hücrelerde başka bir anormallik daha gözlenmiştir. PV öncül hücrelerin büyük bölümü, normal hücrelere kıyasla hücre döngüsünün sentez fazında daha fazla kalmaktadır.³⁷

Prchal ve ark.ları³⁸, Afrika-Amerikalı glikoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) izoenzimi heterozigot bayanların iliklerini inceledikleri bir çalışmada, endojen eritroid kolonilerin

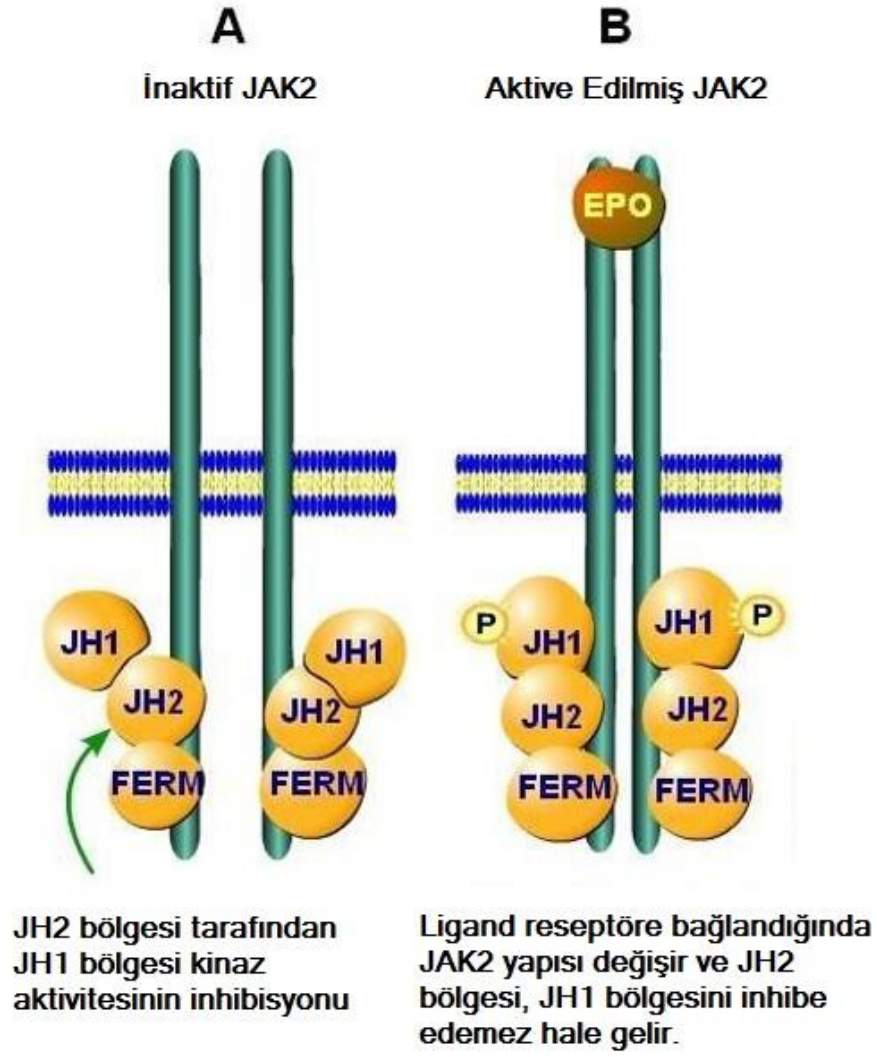
anormal klonal köken aldığını, bu anormal klonun periferik kana eritrosit, granülosit ve trombosit sağladığını göstermişlerdir. Ayrıca ekzojen EPO eklendiğinde malign kaynaklı olmayan G6PD izoenzimi üreten koloniler oluşmuştur. Bu veri, PV hastalarının kemik iliğinde malign ve malign olmayan hematopoetik öncül hücrelerin varlığının göstermiştir.

Zanjani ve ark.ları³⁵ PV hastalarındaki eritroid öncül hücrelerin EPO yokluğunda çoğalmadığını aslında bu hormona anormal derecede aşırı hassas olduklarını ispatlamıştır. Bu artmış cevap serumda az miktarda EPO olsa bile, bu hücrelerin koloni oluşturmaya izin verir. Eaves ve Eaves³⁹ çalışmasında benzer sonuçlar bulmuştur ve çalışmalarının sonucunda birçok PV hastasında iki eritroid öncül hücre popülasyonu olduğu görülmüştür; ilki EPO ya normal cevaplı hücre popülasyonu iken diğeri EPO yokluğunda veya az miktarda varlığında çoğalan ve olgun hücre popülasyonudur.

2.1.1.2.1.1. JAK2 Yapısı ve Fonksiyonu

Protein tirozin kinazlar (PTKs) KMPH patogenezi ile ilişkilidir. PTKs, sitoplazmik olanlar ve reseptör görevi görenler olarak ikiye ayrılır. KMPH ile ilgili sitoplazmik PTKs; Janus Kinaz ailesini (JAK 1 ,JAK 2, JAK 3 ve Tirozin kinaz 2), Src kinaz ailesini ve ABL kinazı içerir.⁴⁰

JAK2 kromozomu, 9p24 te yer alır ve diğeri JAK'lar gibi iki tane homolog kinaz bölgesi vardır; bunlar JAK homolog 1 (JH1) ve 2 (JH2) dir. JH1 kinaz aktivitesi taşır. JH2 ise enzim aktivitesi taşımaz, JH1 i inhibe ederek aktiviteyi düzenler. JAK2; trombopoetin reseptörü MPL (Miyeloproliferatif Leukemia Virus); EPO reseptörü EPOR gibi sitokin reseptörlerinin sinyal iletimine aracılık eder⁴⁰, ayrıca tüm hematopoetik hücrelerde bulunur ve hematopoetik büyüme faktörlerine yanıt olarak çoğaltıcı hücre içi sinyal için gereklidir.⁴¹



Şekil 2: JAK2'nin Yapısı⁴²

Sitokin reseptörleri ligandları ile birleştiğinde (TPO-MPL, EPO-EPOR gibi) tirozin fosforilasyonu ile JAK aktive olur. JAK aracılı reseptör fosforilasyonu, STATs (Signal transducers and activators of transcription) benzeri sinyal moleküllerinin aktivasyonunu sağlayacak bağlanma bölgesi oluşturur. JAKlar ayrıca benzer reseptörlerin hücre yüzeyindeki sentezini artırır. Aktive olan STATs dimerize olarak, hedef gen transkripsiyonunu uarmak üzere çekirdeğe geçer. JAK-STAT yoluğı birden çok seviyede, protein tirozin fosfatazlar, sitokin sinyal baskılayıcıları ve aktive STAT protein inhibitörleri ile negatif yönde düzenlenir.⁴³

JAK2, 1992 yılında keşfedilmiştir ve EPO, IL-3, IFN- γ ve büyüme hormonu sinyal iletimi için başlıca mediyatör olarak tanımlanmıştır. Kısa süre sonra prolaktin, IL-6, granulosit/makrofaj colony-stimulating faktör (GM-CSF), IL-12, TPO, IL-5, stem cell faktör (SCF), IL-4 ve IL-3 ile bağlantısı da gösterilmiştir.⁴³

2.1.1.2.1.2. JAK2 V617F Mutasyonu

JAK2 V617F ekzon 14 te, Guanin (G) 'in Timin (T) 'e dönüştüğü somatik bir mutasyondur. Nükleotid 1849 pozisyonunda değişir ve kodon 617 de valin yerine fenilalanin geçmesi ile oluşur. JAK2 V617F, ilk olarak 2005 yılında PV, ET ve primer miyelofibroz (PMF) hastalarında tanımlanmıştır. Daha sonra AML, MDS gibi diğer miyeloid neoplazilerde de gösterilmiştir.⁴³

Bu tek nükleotid değişimi, PV eritroid öncül hücrelerin EPO bağımsız ve hipersensitif özelliklerini taklit eder. Bu mutasyon JAK2 nin, JH2 bölgesinde yer alır ve bu bölgenin yaptığı inhibisyonu önleyerek JAK2 enziminin sitokin bağımsız tirozin fosforilasyonu ile aktif halde kalır. Mutant JAK2 daha sonra reseptöre bağlanır, hematopoetik büyüme faktörlerinin yokluğunda veya çok az varlığına rağmen STATları toplar ve fosforile eder, böylece anormal hematopoeze neden olur.⁴⁴ Benzer şekilde ERK/mitojen aktive protein kinaz (MAPK) ve fosfoinozitol 3-kinaz (PI3K) /AKT/ mammalian target of rapamycin (mTOR) sinyal yolları da aktive olur.⁴⁵ Bu yollar EPO reseptör etkileşiminde rol aldığı için mutasyon sonucu EPO'dan bağımsız büyüme ve EPO'ya hipersensitivite ortaya çıkar.⁴⁶

JAK2 V617F mutasyonu PV hastalarında %96, ET hastalarında %55, PMF ve prefibrotik PMF hastalarında %65 oranında görülür.⁴⁷⁻⁴⁹

JAK2 V617F varlığı veya artmış allel yükü, PV ve ET hastalarında sağ kalımı veya lösemik transformasyonu etkilemezken⁴⁹⁻⁵¹, PV hastalarında kaşıntı ve fibrotik transformasyon ile ilgilidir.⁵⁰ ET hastalarında ise arteriyel tromboz risk atışı ve ET sonrası gelişen miyelofibrozis riskinde azalma ile ilgilidir.^{51,52} Genel olarak ise ileri yaş, yüksek hemoglobin konsantrasyonu, lökositöz ve düşük trombosit sayımı ile ilişkilidir.⁴⁹

JAK2 mutasyonlarına ek olarak en sık tanımlanan diğer mutasyon, ekzon 12 de tanımlanmıştır. JAK2 ekzon 12 mutasyonu, PV için spesifiktir ve JAK2 V617F negatif

hastalarda %3 oranında görülür. Bu mutasyon ile ilişkili hastalık fenotipi; genç yaş, düşük EPO seviyeleri ve başvuruda izole eritrositozu içerir.⁵³

2.1.1.2.1.3. MPL (Myeloproliferatif Leukemia Virus) Mutasyonu

MPL, TPO (Trombopoetin) reseptörüdür; megakaryosit, trombosit ve pluripotent hematopoetik kök hücrelerince sentezlenir. Trombopoetin; megakaryosit büyüme ve farklılaşmasını, trombosit üretimini sağlar.⁵⁴

İnsan trombopoetin geni kromozom 3q27 de yer alır, MPL geni ise kromozom 1p34 tedir.⁴⁰

Mutasyon sıklıkla 10.ekzonda 1544 nükleotidinde (MPLW515L) G nin T ye dönüşümüne yol açarak 515.kodondaki triptofanın yerine lösin aminoasidinin sentezlenmesine neden olur.⁵⁵ Aynı lokusta başka MPL mutasyonları da tanımlanmıştır.(MPLS505N gibi) Araştırmalar MPLW515L mutasyonunun reseptör kompleksinin aktivasyonuna ve fare kemik iliğinde miyeloproliferatif hastalık benzeri bozukluğa neden olduğunu göstermiştir. ET hastalarında % 4, PMF de %11 sıklıkta, PV hastalarında çok nadir görülür.⁴⁹ MPL mutasyonu içeren hastalık fenotipi; ileri yaş, bayan cinsiyet, düşük hemoglobin düzeyi ve trombosit sayısı ile karakterizedir.⁵⁶⁻⁵⁸ Bu mutasyon, JAK2 V617F mutasyonunun rol aldığı sinyal yolağında gözlemlendiği için KMPH patogenezi açıklamaya adaydır.⁵⁹

2.1.1.2.1.4. Calreticulin (CARL) Mutasyonu

Calreticulin, primer olarak endoplazmik retikulumda yer alan kompleks Ca^{+2} bağlayan proteindir. Bu protein geni (CALR, calregulin) kromozom 19p13.2 de yer alır. Bu mutasyon PV hastalarında nadir görülürken, ET hastalarında %15-24 oranında görülür.⁶⁰⁻⁶⁵

Bununla birlikte PV ve ET hastalarında çeşitli kromozomal anormallikler ayrıca TET2 (Ten-Eleven-Translocation 2), IDH (Izositrat dehidrogenaz), ASXL (Additional sex combs like 1) veya DNMT3A (DNA-metiltransferaz 3 alpha) gibi mutasyonlar, PRV-1 (Polisitemia rubra vera) geni aşırı sentezlenmesi de gösterilmiştir.⁵³

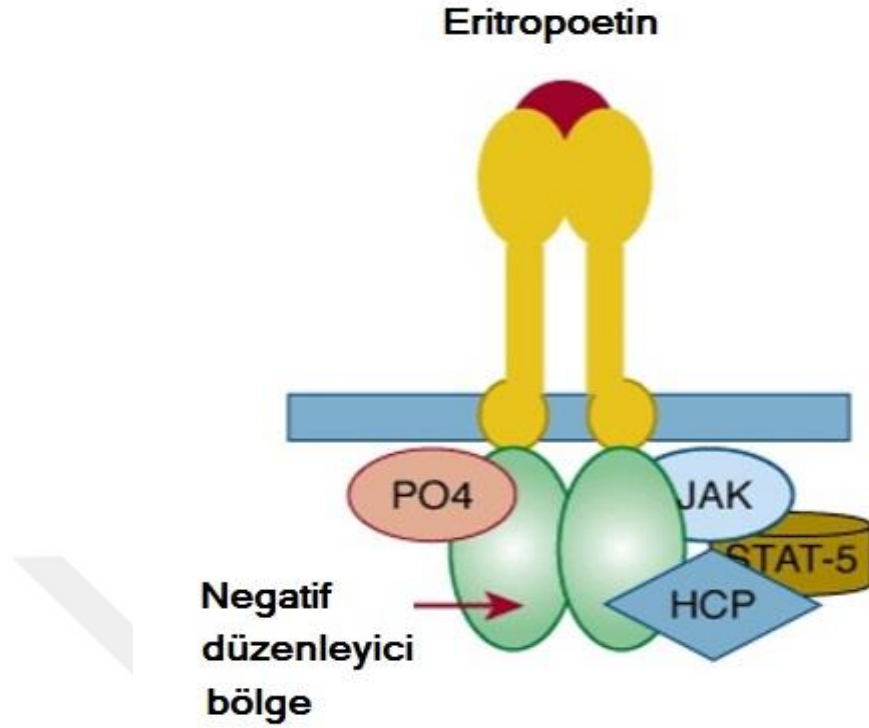
2.1.1.2.1.5. EPO Reseptörü

EPO, eritroid öncüllerde bulunan EPO reseptörüne (EPOR) bağlandığında;

- 1-Eritroid öncül hücrelerin bölünmesinin uyarılması
- 2-Eritroid-spesifik protein sentezinin uyarılması ile farklılaşma
- 3-Eritroid öncül ve öncü hücrelerin apoptozisinin engellenmesi gerçekleşir.

EPOR un sitoplazmik bölümü, JAK2 ile etkileşen pozitif düzenleyici bölge içerir. EPO bağlandıktan sonra JAK-2; kendini, EPOR ve STAT5 gibi diğer transkripsiyon proteinlerini fosforiller ve eritroid spesifik sinyal yolağını başlatır, apoptozisi önler. Bu JAK2/STAT5 sinyali, EPO/EPOR ilişkili eritropoez düzenlenmesinde başlıca rolü oynar. EPOR nün C-terminal sitoplazmik bölümü ise negatif düzenleyici bölümdür. Hematopoetik hücre fosfataz (HCP) bu bölümle etkileşir ve sinyal oluşumunu önler. HCP bağlanan bölümün inaktive olması JAK2/STAT5 fosforilasyonunun uzamasına, eritroid öncül hücrelerin çoğalmasına yol açar. Eritropoezin diğer negatif düzenleyicisi CISH, EPOR un sitoplazmik bölümüne bağlanır ve EPO bağımlı JAK2/STAT5 sinyalinin baskılar. Böylece EPOR un distal C-terminal sitoplazmik bölümünün delesyonu negatif düzenleyici elemanları devre dışı bırakır ve eritroid öncül hücrelerin aşırı çoğalmasına neden olur.⁶⁶⁻⁶⁹

Familyal ve konjenital polisitemiler EPOR mutasyonu ile oluşurken, PV bu mutasyon nedeniyle oluşmaz. İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve renin-angiotensin sisteminin komponentleri gibi ikincil faktörler eritrosit üretimini etkileyebilir.⁷⁰



Şekil 3: Eritropoetin Reseptörü⁷⁰

2.1.1.2.1.6. IGF-1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1)

İn vitro yapılan çalışmaların çoğu, serum veya serum bileşeni proteinleri içeren koşullarda eritropoez düzenleyicilerini göstermişlerdir. Bunlardan bir tanesi eritropoezde uyarılmayı sağlayan, erken eritroid öncülleri hedefleyen, EPO benzeri aktivitesi olan; IGF-1 dir. Serum içermeyen koşullarda IGF-1, EPO nun yerini alarak normal eritroid kolonilerin ve PV hastalarındaki eritroid öncüllerinin çoğalmasını desteklemiştir. Dolaşan IGF-1, bilinen altı tane bağlayıcı proteine (IGF bağlayıcı protein, IGFBP-1 ile IGFBP-6 arası) bağlıdır. IGFBP-1 seviyeleri PV hastalarında artmıştır ayrıca normal eritropoez ve PV deki vitro eritropoezde güçlü bir uyarandır.⁷

Correa ve ark.ları⁷¹ serum içermeyen koşullarda, PV hastalarının periferik kanındaki endojen eritroid kolonilerin (BFU-E -burst forming unit eritroid), EPO ya duyarlılık göstermezken; IGF-1'e oldukça yüksek duyarlılık gösterdiklerini kanıtlamıştır. Bu duyarlılık ise IGF-1 reseptörleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Yine bu grup tarafından PV hastalarının kanında IGF-1 seviyelerinin artmadığı halbuki IGF-1 bağlayıcı protein seviyelerinin arttığı ve bunların eritroid öncülleri uyardığı gösterilmiştir.

2.1.1.2.1.7. Renin-Angiotensin Sistemi (RAS)

RAS, sıvı ve elektrolit dengesini ve kan basıncını düzenler; ayrıca eritropoez düzenlenmesinde rolü olduğu ileri sürülmüştür. Gelişme sırasında angiotensinin başlıca görevi doku büyümesi ve farklılaşmasını düzenlemektir. Angiotensin II nin, tip 1 ve tip 2 (AT1 ve AT2) olarak adlandırılan iki reseptörü vardır. AT1 hücre çoğalmasında anahtar rol oynar.⁷

RAS'ın eritropoezi etkilediği, ilk olarak 1980 lerde; angiotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin (ACE-I) hipertansiyonu tedavi etmekle birlikte anemiye sebep olabileceği gösterildiğinde anlaşılmıştır. İnsanlarda Angiotensin II infuzyonu, serum EPO seviyelerini yükseltir. Bu mekanizma tam anlaşılmasına rağmen bazı araştırmacılar tarafından Angiotensin II nin renal perfüzyon ve sodyum geri emilimini değiştirerek EPO üretimini düzenlediği varsayılmaktadır. Angiotensin II ayrıca direkt olarak hematopoetik öncül hücrelerin çoğalmasını in vitro uyarır ve bu etkinin ACE-I kullanılarak önlenmesi, renal transplant alıcılarında eritroid öncüllerin apoptozisine neden olur.⁷

2.1.1.3. Klinik

Baş ağrısı, güçsüzlük, kaşınma, baş dönmesi, aşırı terleme, görmede bozulma, parestezi, eklem ağrıları, epigastrik ağrı ve kilo kaybı gibi nonspesifik semptomlarla başvurabilirler. Tromboz da sık görülen bir başvuru şeklidir.⁷

PV hastalarının fizik muayene bulguları siyanoz, konjuktival pletore, hepatomegali, splenomegali ve hipertansiyondur. Tedavi görmeyen hastalar trombotik ve hemorajik olayların riski altındadır. İskemik inme, miyokard infarktüsü ve geçici iskemik atak en sık görülen arteriyel trombotik olaylardır. Hastalar ayrıca derin ven trombozu, pulmoner emboli ve periferik vasküler oklüzyon ile de başvurabilir. PV hastalarında splenik, hepatik, portal ve mezenterik venlerde görülen trombozlar da sık görülür.⁷ Barbui ve ark.ları⁷² PV hastalarıyla yaptığı bir çalışmada, arteriyel ve venöz tromboz riskini belirleyen en önemli faktörün daha önce geçirilmiş tromboz öyküsü olduğunu saptamışlardır. Ek olarak hipertansiyon, arteriyel tromboz; ileri yaş ise venöz tromboz ile ilişkili bulunmuştur.

Özellikle ciddi trombotik olaylardan bir tanesi de hepatik venlerin veya inferior vena kavanın trombozu ve obstrüksiyonunun neden olduğu Budd-Chiari Sendromudur. Budd-Chiari sendromu PV hastalarında %10-40 arası görülür.⁷

PV nin karakteristiği olan hiperproliferatif kemik iliği ve artan nükleoprotein yıkımının sonucu olarak hiperürisemi görülür.⁷

Nörolojik anormallikler tedavisiz ve iyi tedavi edilmeyen PV hastalarında %60-80 oranında görülür. Bu anormallikler geçici iskemik atak, serebral infarkt, serebral hemoraji, dalgalı demans, konfüzyon hali ve kore sendromunu içerir. Ek olarak baş dönmesi, parestezi, görme bozukluğu, çınlama ve baş ağrıları, artan kan viskozitesi ve eritrositozun neden olduğu azalan serebral kan akımına bağlı gelişebilir. Geçici nörolojik semptomlar bazal ganglionlardaki küçük infarktlara bağlı olabilir ve BT ile teşhis edilebilir. PV hastalarında serebrovasküler tromboz, genel popülasyona göre artmış sıklıkta görülür. Karotid veya vertebral arterin geçici yetmezliğine bağlı semptomlar da çok sık görülür. Aseptik kavernoöz sinüs trombozu ise çok nadir görülür.⁷

PV sıklıkla periferik vasküler hastalık semptomları ile başvurur. Parmakların yanma ile birlikte olabilen aşırı kırmızılığı veya siyanozu, klasik eritromelalji, digital iskemi veya başka nedene bağlanamayan tromboflebit ile de başvurabilirler. Eritromelalji parmaklarda yanma ile karakterizedir, sıcaklık artışı hissedilir ve soğutma ile rahatlar. PV eritromelaljinin en yaygın görülen nedenidir ayrıca ülserle birlikte görülebilen digital iskemi nedenidir.⁷

PV hastaları ile yapılan retrospektif çalışmalarda, pulmoner hipertansiyon gelişimi beklenenden fazla sayıda hastada bildirilmiştir. Etiyolojide; pulmoner arterlerin dolaşan megakaryositler ile obstrüksiyonu, pulmoner parankimde ekstrameduller hematopoez, aktive trombositlerden salınan trombosit kaynaklı büyüme hormonu salınımı sonucu düz kas hiperplazisi, kronik yaygın damar içi pıhtılaşma ve farkedilmeyen tekrarlayıcı trombotik olaylar sayılabilir.⁷

PV hastalarının %30 ile %40'ında geçirilmiş hemorajik olay öyküsü vardır. Bu hemorajik olaylar burun ve dişeti kanaması gibi önemsiz kanamalar olabildiği gibi hayati tehdit edici gastrointestinal kanama veya hayati organların hematomu şeklinde olabilir. Gastrointestinal bölge hemorajik komplikasyonların sıklıkla gözlendiği yerdir. PV

hastalarında portal ven trombozu ve buna bağlı varis kanamasına ve mide hastalıkları gözlenebilir. Serebral hemoraji, mortalite ve morbiditenin yaygın bir nedenidir.⁷

Yaygın kaşıntı PV hastalarının %50 sini etkiler. Duş alma gibi su teması kaşıntıyı indükler. PV deki kaşıntının etiyojisi kesin değildir. Birkaç araştırmacı tarafından kan ve idrar histamin seviyeleri artışının, kaşıntı patogeneğinde rol aldığı belirtilmiştir.^{73,74} Jackson ve ark.ları⁷³ kaşıntı şiddeti ile deri mast hücre sayısı arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Demir eksikliği de kaşıntıya katkıda bulunan bir faktör olarak görülmüştür. Demir yerine koyma tedavisi semptomatik iyileşme sağlasa da bu yaklaşım kontrolsüz eritrositoza sıklıkla neden olduğu için uygun değildir.⁷

Miyelofibrozis, splenomegali ve anemi beraber görülmesi hastalığın postpolisitemik miyeloid metaplazi (PPMM) döneminde olduğunu düşündürür. Bu dönemde daha önce flebotomi gereksinimi olan hastalar, transfüzyona ihtiyaç gösterebilir. PV nin son dönem komplikasyonudur. Bu dönemde akut lösemiye dönüşüm riski (lösemik faz) artmıştır. PV sıklıkla AML ve MDS ye, nadiren KML ye dönüşür.⁴¹

2.1.1.4 Laboratuvar

PV tüm miyeloid seride artış ile karakterizedir bu yüzden hematokrit, beyaz küre ve trombosit artışı görülür. Mutlak nötrofil sayısı artışı hastaların üçte ikisinde gözlenir.⁴¹ Hematokrit değerleri erkekte %51, kadında %48 üzerine çıktığında ileri araştırmayı gerektirir. Hemoglobin konsantrasyonu ve eritrosit sayımı genellikle artmış, ortalama hücre hacmi ise normal veya düşük bulunabilir.⁷⁵ Serum demir ve ferritin seviyeleri azalmış, demir bağlama kapasitesi artmıştır. Demir eksikliği demirin artmış eritrosit kitlesine transferi, gastrointestinal sistemden kronik kan kaybı ve hiperviskozite nedeniyle uygulanan flebotomilere sekonderdir.⁴¹

Eritrosit morfolojisi değişimleri tüm eritrositik formlar boyunca gözlenir ve demir eksikliğinin karakteristiklerini içerir; bunlar mikrositoz, hipokromi ve sıklıkla polikromazidir. Anizositoz ve poikilositoz da gözlenir, fetal hemoglobin seviyeleri yükselebilir. PPMM fazında periferik kanda gözyaşı hücreleri, miyelosit, metamiyelosit ve nadiren blast ve promiyelositlerin izlendiği lökoeritroblastik kan tablosu görülür.⁷

Beyaz küre morfolojisi normaldir, buna rağmen bazofil, eosinofil ve immatur miyeloid formları sayıca artış gösterebilir. Trombosit morfolojisi dikkat çekicidir, megatrombositler sıklıkla periferik yaymada görülür. Hastaların sıklıkla trombosit sayısı $1000 \times 10^3 / \text{mm}^3$ altındadır fakat bu değerün üstünde trombosit sayısına sahip hastaları da görmek mümkündür. Trombosit sayısı $>1000 \times 10^3 / \text{mm}^3$ olduğunda kazanılmış von Willebrand hastalığı (vWH) gelişebildiği raporlanmıştır. Bu hastalarda konjenital tip2 vWH na benzer şekilde von Willebrand faktör multidimerlerinin kaybı görülür. vWF'nin adhezyon fonksiyonunu asıl belirleyen moleküler boyutudur bu nedenle büyük vWF multidimerlerinin kaybı kanamaya eğilimle sonuçlanır. Bu sendromun karakteristik bulguları normal veya uzamış kanama zamanı, normal faktör 8, vWF antijen seviyeleri ve ristosetin ile agregasyonun azalmasıdır. Kazanılmış vWH, artmış trombosit sayımı ile seyreden PV ve diğer miyeloproliferatif hastalıklarda görülebildiği gibi, reaktif trombositozda da gözlenebilir. Kazanılmış vWH, trombositozun derecesi ile ilişkilidir ve trombosit sitoredüksiyonu ile ortadan kalkar.⁷

Trombosit agregasyon testleri ve kanama zamanı sıklıkla bozulmuştur.⁷ Kazanılmış von Willebrand hastalığı, TPO reseptör bozukluğu, trombosit membran glikoproteinlerinde anormallikler ve trombositlerin epinefrine yanıtının azalması kalitatif trombosit bozukluğunun nedenlerini oluşturur.⁴¹ PT, aPTT ve fibrinojen seviyeleri ise normaldir. Lökosit alkalin fosfataz seviyesi %70 hastada artmıştır. Serum B12 seviyesi %40 hastada artarken B12 bağlayıcı protein seviyeleri %70 hastada artmıştır. Hiperürisemi ve histamin seviyesi artışı çok sayıda hastada görülür.⁷

Tanı esnasında kemik iliği aspirasyonu ve biopsisi alındığında kemik iliğinin hiperselüler olduğu ve eritroid, granülositik ve megakaryositik seride hiperplazi görülür, ayrıca demir depoları yok denecek kadar azdır.⁷

JAK2 V617F mutasyonu tespiti, PV hastalığını hematokrit artışına yol açan diğer nedenlerden ayırmada %97 sensitivite ve %100 spesifiteye sahiptir.^{76,77} Yanlış pozitif veya negatif mutasyon ölçümünü dışlamak için eş zamanlı serum EPO ölçümü önemlidir.⁷⁸ Tanı anında serum EPO seviyesi düşük veya normalin alt sınırındadır.⁷

2.1.1.5. Tanı Kriterleri

Tablo 2: DSÖ 2008 Polisitemia Vera Tanı Kriterleri ⁷⁹

<i>Major Kriterler</i>
1. Hemoglobin erkek için > 18.5 g/dl, kadın için > 16.5 g/dl veya eritrosit kütleli artışının diğer bulgularının olması *
2. JAK2 V617F veya JAK2 ekzon 12 mutasyonu gibi diğer fonksiyonel olarak benzer mutasyonların varlığı
<i>Minör Kriterler</i>
1. Yaşa göre hiperselülarite gösteren kemik iliği biyopsisi; belirgin eritroid, granülositik megakaryositik çoğalmayla kendini gösteren üç dizi hiperplazisi (panmiyelozis)
2. Normal referans aralığının altında serum eritropoetin düzeyi
3. İn vitro endojen eritroid koloni oluşumu
*Yaş, cinsiyet, yaşanan yerdeki yüksekliğe göre belirlenmiş referans aralığının 99 persentil üzerindeki hemoglobin veya hematokrit değeri. Kişiyeye özel bazal hemoglobin değerinde demir eksikliği anemisinin düzeltilmesi ile ilişkisiz olarak en az 2 g/dl düzeyinde, belgelenmiş ve devamlılık gösteren bir artışın varlığında, erkekte 17 g/dl, kadında 15 g/dl hemoglobin değeri. Eritrosit kütleli artışın öngörülen normal ortalama değerinden %25`den daha fazla artış

Tanı için iki majör ve bir minör veya iki minör kriterle beraber birinci majör kriterin varlığı gerekir.

2.1.1.6 Ayırıcı Tanı

Sekonder eritrositoz nedenlerinden ayırımı yapılmalıdır. Splenomegaliyi içeren klinik muayene bulguları; normal oksijen saturasyonu, lökosit alkalin fosfataz aktivitesi artışı, serum B12 düzeyi artışı, B12 bağlayan protein düzeyi artışını içeren laboratuvar bulguları PV yi sekonder eritrositoz nedenlerinden ayırabilir. Oksijen saturasyonu, karboksihemoglobin seviyesi ve parsiyel oksijen basıncı ölçümü de mutlaka yapılmalıdır. Düşük oksijen basıncı ve saturasyonu, hipoksinin neden olduğu eritrositozu düşündürür. $PaO_2 >67$ mmHg ve O_2 saturasyonu %95 ten fazla ise hipoksiye bağlı eritrositoz nedenleri dışlanabilir. Sigara içenlerde polisitemi görülebildiği için karboksi hemoglobin ölçümü yapılmalıdır. Ayrıca serum EPO seviyesi ölçümü, hematopoetik hücre klonalitesi analizi ve kemik iliği biopsisi de bu ayırımında yardımcıdır. Artmış EPO ölçümleri hipoksinin neden olduğu sekonder eritrositoz nedenlerini düşündürürken, çok düşük EPO seviyeleri (<4 mIU/mL) PV için karakteristiktir.⁷ Çeşitli sayıda çalışmada serum EPO seviyesi ölçümü ile eritrositozlu hastalar %90 oranında sınıflandırılabilirdiği gösterilmiştir.⁸⁰⁻⁸² Polisitemia vera dışındaki eritrositoz nedenleri tablo 3'te görülmektedir.⁸³

Tablo 3: Polisitemia Vera Dışındaki Eritrositoz Sebepleri ⁸³

Konjenital Eritrositoz

Yüksek oksijen-afiniteli hemoglobin
2,3-Bifosfogliserat mutaz eksikliği
EPO reseptör mutasyonu
Chuvash eritrositozu (Von Hippel-Lindau mutasyonu)
Diğer konjenital nedenler

Sekonder (Kazanılmış) Eritrositoz

Hipoksi nedenli ve EPO ilişkili

- Santral hipoksik süreçler
- Karbon monoksit zehirlenmesi
- Sigara içimine bağlı eritrositoz
- Hipoveantilasyon sendromları (Uyku-apne sendromu)
- Yüksek rakımda yaşama
- Lokal renal hipoksi
- Renal arter stenozu
- Son dönem böbrek yetmezliği
- Hidronefroz
- Renal kistler (Polikistik böbrek hastalığı)

Patolojik EPO yapımı

- Hepatosellüler karsinom
- Renal hücreli karsinom
- Renal kistler
- Serebellar hemanjiyoblastom
- Paratiroid karsinomu ve adenomu
- Uterus leiomyomları
- Feokromositoma
- Meningiyoma

Ekzojen EPO

- İlaçlarla ilişkili
- Androjen preparatları ile tedavi
- Postrenal transplant eritrositozu

İdiyopatik Eritrositoz

Diğer miyeloproliferatif hastalıklar olan KML, esansiyel trombositoz ve idiyopatik miyelofibrozisten ayrımı yapılmalıdır. KML'deki sitogenetik ve moleküler genetik anormallikler (Philadelphia kromozom, BCR-ABL gen füzyonu) ve PV dekinin aksine lökosit alkalin fosfataz seviyesinin düşüklüğü ve yine kırmızı hücre kitlesinin azalması ile ayırım kolayca yapılabilir. ET ile ayrımında kırmızı seri hücre kütlesi kullanılabilir.⁷

2.1.1.7. Tedavi

Tedavinin amacı hemoraji ve tromboz riskini azaltmak, hematokrit seviyesini normale indirmek, akut lösemi ve miyelofibrozis dönüşümünü engellemek ve gelişebilecek diğer komplikasyonlara karşı önlem almaktır.⁸³

Flebotomi

Bütün eritrositozlu PV hastalarının ilk tedavileri hiperviskozite ve eritrositoza yönelik olmalı ve tromboz riski kontrol altına alınmalıdır. Bu amaçla flebotomi yapılmalıdır. Erkeklerde ve kadınlarda hematokrit <%45 tutulmalıdır. Flebotomi sonucu gelişen demir eksikliği tedavi edilmemelidir, öncelikle flebotomilerin sıklığı azaltılmalıdır.⁸³

Asetil salisilik asit

Asetil salisilik asit 75-100 mg/gün dozunda, kontrendike olmadıkça tüm PV hastalarına başlanmalıdır. Mikrovasküler bozukluklardan kaynaklanan (özellikle eritromelalji) akut semptomların kontrolü için önerilenden daha yüksek dozlarda kullanımı gerekebilir.⁸³

Sitoredüksiyon

Sitoredüksiyon şu hastalara verilmelidir⁸³;

- 60 yaş üstünde yüksek trombosit sayısına sahip,
- Geçirilmiş tromboz öyküsü olan
- Trombosit sayısı $>1500 \times 10^9/L$ olan hastalar.

Sitoredüksiyon ayrıca;

- ✓ Lökosit sayısı $>15 \times 10^9/L$ olan *,
- ✓ 60 yaşından küçük ve trombosit sayısı $> 600 \times 10^9/L$ olan hastalarda moleküler remisyona ulaşmak için *

- ✓ Flebotomiyi kaldıramayan hastalarda,
- ✓ Semptomatik veya ilerleyici splenomegalisi olan hastalarda,
- ✓ Hastalığın ilerleyici olduğunu düşündüren kilo kaybı, gece terlemesi gibi semptomları taşıyan hastalarda da düşünülebilir.

*Anagrelid için uygun değildir.

Hidroksiüre

Miyeloproliferatif hastalıklarda tromboza yönelik olarak verilen en yaygın tedavidir. Ribonükleotid redüktazı bloke eden, alkali olmayan bir ajandır.⁷ PV de ilk basamak sitoredüktif tedavi olarak önerilmektedir.⁸³ Yakın zamanda arteriyal trombozu ve miyelofibrozis gelişimini önlemede anagrelidten daha üstün olduğu gösterilmiştir⁸⁴, buna karşın venöz trombozu önleme potansiyeli daha düşüktür. HÜ ile ilgili en önemli yan etki lösemik dönüşüme neden olmasıdır, fakat literatürde bu etkisini ispatlayan kesin bir bulgu yoktur. Bazı hastalarda diğer yan etkileri gastrointestinal şikayetler, cilt pigmentasyonu, mukozal ve bacak ülserleri, mielosupresyon görülebilir. Bazı vaka sunumlarında HÜ ile ilişkili cilt kanserleri de bildirilmiştir. Hastalığın son evrelerinde yan etki olarak anemi de görülebilir.⁸³

HÜ nin gebelerde kullanımı önerilmez.⁸³

Interferon- α (IFN- α)

IFN- α , hematolojik öncül hücrelerin çoğalmasını engeller. İlk olarak ET hastalarında trombositozu kontrol ettiği gösterilmiş daha sonra PV hastalarında eritrosit kitlesi artışını kontrol altına aldığı bulunmuştur.⁸³ IFN- α , ayrıca trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) etkisini in vitro olarak antagonize etmiştir bu nedenle miyelofibrozis patogenezinde önemli bir role sahip olabilir.⁷ Silver⁸⁵ IFN tedavisinin, hastalığın PPMM ve miyelofibrozise gidişatı önleyerek, doğal seyrini değiştirebileceğini ileri sürmüştür fakat bunu destekleyen bir veri henüz yoktur.

Lengfelder ve ark.nın⁸⁶, 279 PV hastası ile yaptıkları çalışma IFN tedavisinin sonuçlarını özetler niteliktedir; %90 hastada trombositoz düzelmiş, %77 hastada splenomegali gerilemiş, %81 hastada kaşıntı kontrol altına alınmış ve %82 hastada flebotomi sıklığı azalmıştır.

IFN nun lökomojenik etkisi bildirilmemiştir. PV hastalarıyla yapılan çalışmalarda anormal biyolojik süreci düzelten tek tedavi olarak gösterilmiştir. Çalışmalar sonucunda kromozom anormalliklerini düzelttiği^{87,88}, monoklonal hematopoezi poliklonal hematopoeze dönüştürdüğü, EPO bağımsız eritroid koloni gelişimini baskıladı⁸⁹ ve PRV-1 üretimini normale getirdiği gösterilmiştir.^{90,91}

Kladjian ve grubu tarafından⁹², peg- IFN- α 2b nin çok iyi tolere edildiği gösterilmiştir. Bu grubun JAK2 V617F mutasyonu olan 29 PV hastasıyla yaptıkları bir çalışmada, söz konusu hastaların 26 sında allel yüzdesinde düşüş elde etmişlerdir.⁹³ Ayrıca IFN- α 2b tedavisinin, kemik iliğindeki eritroid öncüllerde JAK2 V617F klonunu yok ettiğini göstermişlerdir.⁹⁴

Hemen tüm hastalarda görülen yan etkisi grip benzeri sendromdur, birkaç aylık tedavi sonrası düzelme gösterir. Daha ciddi yan etkiler yüksek ateş, aşırı kuvvetsizlik ve geri dönebilen alt ekstremitte bilateral nöritini kapsar. IFN nun pegile formu da KMPH tedavisinde büyük bir başarı ile uygulanmıştır. Haftada bir kez kullanılır ve daha az toksik profile sahiptir.⁷

Trombosit sayısı $>1500 \times 10^9/L$ olan veya vasküler komplikasyon (trombosit değerlerinin kısa sürede düşürülmesi gereken) eşlik eden hastalarda, IFN'na cevap süresi uzun olduğu için başlangıç tedavisi olarak HÜ verilmeli daha sonra IFN'na geçiş yapılmalıdır. IFN- α , 60 yaş altı hastalarda daha iyi tolere edilir.⁸³

HÜ nin lösemik dönüşüme neden olması ve IFN ile yapılan son çalışmalarda IFN nun JAK 2 allelinde düşüş sağladığının gösterilmesi üzerine; IFN kullanımı genç hastalarda ve doğurganlık çağındaki bayanlarda daha çok tercih edilir hale gelmiştir.⁸³

Anagrelid

Megakaryosit gelişiminin mitoz sonrası fazına etki ederek trombosit üretimini inhibe eder, sayısını düşürür. Trombotik ve hemorajik komplikasyonlar görülen trombositozlu PV hastalarında tedavi amaçlı kullanılır. Lökomojenik etkisi yoktur.⁷

En yaygın görülen yan etkileri çarpıntı, baş ağrısı ve diyaredir. Pozitif inotropik etkisinden dolayı kalp yetmezliği veya koroner arter hastalığı olanlara önerilmemektedir.

Eritrositoz ve sistemik semptomları çok etkili bir şekilde kontrol altına almaz, flebotomi tedavisine destek olarak kullanılabilir. Anagrelid, IFN veya HÜ tedavisine yanıtız veya bu tedavileri tolere edemeyen hastalarda trombosit sayısını kontrol altına almak için kullanılabilir.⁸³

Busulfan

Alkilleyici bir ajan olması nedeniyle 75 yaş ve üstünde önerilmektedir. HÜ, IFN veya anagrelid tedavisini tolere edemeyen hastalarda tercih edilir.⁸³

Radyoaktif Fosfor(P³²)

PV hastalığını kontrol altına alabilir ancak lösemik dönüşüm riski nedeniyle 75 yaş ve üzerinde, flebotomi ve diğer tedavilere refrakter veya tolere edemeyen hastalarda kullanılabilir.⁸³

Kaşıntı Tedavisi

Psoralen ve UV ışın ile yapılan fotokemoterapi denenebilir. Antihistaminikler genellikle verilir fakat çok etkili değildirler. Asetil salisilik asit ve siproheptadin yararlı olabilir. IFN tedavisi bazı hastalarda faydalı olabilir.⁴¹ Paroksetin de tedavi seçenekleri arasındadır.⁷

2.1.1.8. Prognoz

PV hastaları hastalığın ilk döneminde asemptomatiktir. Klinisyene başvurdıklarında izole polisitemi, trombositoz ve splenomegali saptanır. Eğer bu dönemde tedavisiz kalırlarsa aşırı eritrosit ve trombosit üretimine bağlı semptomatik hale gelirler.⁷

Birkaç yıl sonra hastalık inaktif hale gelir. Bu hastalarda idiyopatik miyelofibrozisten ayırımı sıklıkla yapılamayan, sitopeni, miyelofibroz ve ekstremitaller hematopoez ile karakterize postpolisitemik miyeloid metaplazi (PPMM) gelişir. Bu hastaların çok önemli bir bölümünde en sonunda akut miyeloid lösemi gelişimi görülür. Sınırlı sayıda hastada,

hastalık bu sırayı izlemez, polisitemik fazdan akut lösemiye veya miyelodisplastik sendroma dönebilir.⁷ Tefferi ve ark.ları⁹⁵ tarafından 1,500 üstü hasta ile yapılan bir çalışmada PV hastalarında lösemik transformasyon risk faktörleri ileri yaş, lökositoz ve anormal karyotip varlığı ile ilişkili bulunmuştur.

PV hastalarında prognoz hastalık komplikasyonlarının şiddetine bağlıdır. Ek olarak prognoz hastalığın eritrositik fazda ne kadar kaldığına, PPMM veya akut lösemiye dönüşüm için geçen zamana ve eritrositik fazda uygun tedavi verilip verilmediğine bağlıdır. Kontrolsüz eritrositozu olanlar tromboz gelişimi için yüksek risk altındadır.⁷ Tefferi ve ark.nın⁹⁵ yaptığı aynı çalışmada prognozu etkileyen risk faktörleri ileri yaş, lökositoz, venöz tromboz ve anormal karyotip varlığı ile ilişkili bulunmuştur.

Tedavisiz hastalarda sağkalım 1,5 yıl gibi kısa olabilir. Uygun tedavi verildiğinde sağkalım 10-15 yıla uzayabilir. Bu uzun sağkalım süresi miyeloid metaplazi, miyelofibrozis ve akut lösemi gibi durumların gelişmesine neden olabilir.⁷ Yakın zamanda Mayo Klinik tarafından 826 hasta ile yapılan bir çalışmada ortalama sağkalım süresi PV hastalarında 14 yıl, ET hastalarında 20 yıl ölçülmüştür.⁹⁶

PVSG çalışmasına göre, çalışmanın ilk dört yılında hastalarda gelişen trombozun özellikle flebotomi tedavisi alan ve hematokrit kontrolü yeterince sağlanamayanlarda geliştiği görülmüştür. Uzun dönem sonuçlara bakıldığında ise önemli sayıda ölümün miyelosupresif ajanlarla tedaviye bağlı gelişen hematolojik ve nonhematolojik maligniteler sonucu olduğu görülmüştür.^{97,98}

2.1.2. ESANSİYEL TROMBOSİTOZ

Esansiyel Trombositoz (ET) miyeloproliferatif hastalıklardan birisidir ve trombosit artışı yaratan megakaryosit artışı ile karakterizedir. Trombosit sayısı $600 \times 10^9 /L$ üzerine çıktığında kemik iliğinde megakaryosit artışının ön planda olduğu kemik iliği hiperplazisi, splenomegali ve hemorajik veya trombotik klinikle kendini gösterir. JAK2 ve MPL mutasyonları ile ilişkilidir.⁵⁴

ET ilk kez 1934 yılında Epstein ve Goedel⁹⁹ tarafından tanımlanmıştır.

2.1.2.1. Epidemiyoloji

İnsidansı yılda 1,5-2,4 /100000 olarak tanımlanmıştır. 50-60 yaşlarında sık görülür. Hastalık ikinci pikini 30 yaş civarı kadınlarda yapar. Çocukluk çağında da nadiren görülebilir.^{100,101} Yapılan çalışmaların çoğunda cinsiyet farkı bulunmamışken bazı kaynaklarda kadınlarda daha sık görüldüğü bildirilmiştir.⁵⁴

2.1.2.2. Etiyoloji ve Patogenez

ET de trombositozu yol açan mekanizma çok az anlaşılabilmiştir. Trombositoz, megakaryositler tarafından üretilen trombosit artışı ile ilgilidir.⁵⁴

ET, pluripotent hematopoetik kök hücre seviyesinden köken alan klonal bir hematolojik hastalıktır. ET nin klonal kökeni, X kromozom geni polimorfizmi kullanılarak bulunmuştur.⁵⁴

Serum içermeyen kültürler ile yapılan çalışmalarda ekzojen sitokin eklenmediği halde, CFU-MK (colony forming unit megakaryosit) tarafından spontan megakaryosit üretimi görülmüştür. Aynı zamanda ET deki eritroid öncül hücreler, serumdaki çok az miktardaki sitokine yanıt olarak çoğalabilir. Bir diğer miyeloproliferatif hastalık olan PV nin karakteristiği, ekzojen EPO yokluğunda eritroid koloni oluşum defektidir. Bu koloniler diğer adıyla, burst –forming unit eritroid koloniler ET li hastaların kemik iliği ve periferik kan örneklerinden elde edilebilir ve ekzojen EPO yokluğunda eritroid koloni oluşturabilirler.⁵⁴

ET nin moleküler patogenezi, 2005 yılında JAK2 geninde kazanılmış mutasyonun gösterilmesi ile aydınlatılmıştır.¹⁰² Bu mutasyon ET hastalarında %55 oranında görülür.⁴⁷⁻⁴⁹ TPO reseptörü MPL genindeki mutasyonlar ise %4 oranında görülür.⁴⁹ MPL mutasyonu transmembran (MPLS505N) veya jukstamembran (MPL W515) bölgede olabilir ve reseptör kompleksinin aktivasyonuna neden olur. Nadiren ET hastalarında hem JAK2 hem MPL mutasyonu bir arada bulunabilir.¹⁰³

ET nin klinik sonuçları hemorajik ve trombotik epizotlara bağlıdır. Mikrovasküler tromboz, digital veya santral sinir sistemi iskemisine yol açarak çeşitli klinik yakınmalar oluşturur. Son çalışmalar trombosit sayısı artış derecesinin trombotik ve hemorajik olayları belirlemede önemli bir belirleyici olduğunu göstermiştir.⁵⁴

Birkaç araştırmacı tarafından yüksek trombosit seviyelerinin ($1000 \times 10^9/L$) kazanılmış vWH hastalığı ile ilişkili olduğu ve trombosit sayısının düşürülmesinin bu anormalliği geriye çevirerek kanama ataklarını düzelttiği gösterilmiştir.^{104,105}

ET hastalarında kalitatif trombosit anormallikleri olduğu bilinmektedir. Artmış ve azalmış trombosit aktivasyonu gösterilmiş olmasına rağmen bu bulguların trombohemorajik komplikasyonlarla ilişkisi gösterilememiştir. Bu durumun ilk istisnası eritromelaljidir. Eritromelaljide siklooksijenaz inhibitörleri ile sağlanan iyileşme, vasküler oklüzyon gelişiminde protoglandinlerin rol oynadığını göstermiştir. İkinci istisna ise ET hastalarında kanamaların başlıca sebebi olan kazanılmış vWH hastalığıdır.⁵⁴

ET hastalarında %7-19 sıklıkta kanama zamanında uzama, %35 -%100 sıklıkta trombosit agreagasyonunda bozulma gösterilmiştir.¹⁰⁶

Falange ve ark.ları¹⁰⁷ tarafından ET hastalarında pretrombotik durum oluşumunda trombosit ve lökosit aktivasyonunun rolü olabileceğini öne sürülmüştür. Trombosit ilişkili trombozda prostoglandin ve endoperoksitlerinin santral bir rolü vardır.¹⁰⁸ Trombosit membran anormallikleri de ayrıca gösterilmiştir. En yaygın olanlar glikoprotein 1b, 2b ve 3a konsantrasyonlarında azalmadır.¹⁰⁶

2.1.2.3. Klinik Bulgular

Hastaların çoğu asemptomatiktir ve tanı rastlantısal olarak konulur. Semptomatik olan hastaların çoğu tromboz veya minör kanamalar ile başvurur.⁵⁴ Carobbio ve ark.nın^{109,110} DSÖ kriterlerine göre tanı almış 891 ET hastası ile yaptıkları bir çalışmada, 6 yıl takip süresinin sonunda hastaların %12' sinde arteriyal veya venöz tromboz geliştiği görülmüştür. Bu çalışmada arteriyal tromboz gelişimi için risk faktörleri 60 yaş üstü olmak, tromboz öyküsü, sigara kullanımı, hipertansiyon veya diyabeti içeren kardiyovasküler risk faktörleri, lökositoz ($>11 \times 10^9/L$) ve JAK2 V617F varlığı ile ilişkili bulunmuştur. Venöz tromboz riskinin ise sadece erkek cinsiyet ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Nörolojik komplikasyonlar yaygındır. En sık baş ağrısı görülür, ekstremitte paretezileri ikinci sıradadır. Geçici iskemik atak da oldukça sık görülür.⁵⁴

Mikrovasküler yetmezlik ayak ve el parmaklarında sık görülür. Bu durum parmak uçlarında ağrıya, distal ekstremitelerde gangrene ve eritromelaljiye sebep olabilir. Eritromelalji ekstremitelerde kızarıklık ve yanıcı ağrı ile karakterizedir. Tek doz asetil salisilik asitin birkaç gün kullanımı ile rahatlama tanısal özelliğidir. Eritromelaljinin oluşum mekanizması trombosit aracılı arteriyolar inflamasyon, akrosiyanoz ve gangrene yol açabilen tıkaçıcı tromboz ile açıklanabilir.⁵⁴

Mikrovasküler trombozun daha yaygın görülmesine rağmen büyük ven ve arterlerde de tromboz görülür. Bir çalışmada %51 hastada büyük damarların trombozuna bağlı semptomlar görülmüştür. Bunların da %30 u bacak arterlerinde, %18 i koroner arterlerde, %10 u renal arterlerde görülmüştür. Aynı çalışmada %7 hastada splenik ven, hepatik ven veya bacak veya pelvis venlerinde tromboz görülmüştür.¹¹¹ Renal arter veya venlerin tıkanıklığına bağlı akut böbrek yetmezliği de görülebilir.⁵⁴

Hastalarda miyokardiyal iskemi veya infarktüsü bildirilmiştir, anginal semptomlarda artma görülebilir. Alveolar kapillerlerin, trombositler ve megakaryositlerle tıkanması sonucu pulmoner hipertansiyon görülebilir. ET hastalarında hemorajik problemler de izlenebilir ve başlıca kanama yeri gastrointestinal sistemdir. Kilo kaybı, terleme, düşük dereceli ateş ve kaşıntı gibi konstutisyonel semptomlar %20-30 hastada görülebilir ve miyelosupresif tedavi başlanması ile düzelebilir.⁵⁴

Fizik muayene çoğu olguda dikkat çekici değildir. Splenomegali %40-50, hepatomegali %20 oranında görülür.⁵⁴

2.1.2.4. Laboratuvar

ET nin özelliği, sürekli ve açıklanamayan trombosit sayımı yüksekliğidir. Trombositoz tanısı için gereken sayı 450 ile $1000 \times 10^9/L$ arasında değişir.⁵⁴

ET hastalarının katıldığı büyük bir çalışmada lökositozun yaygın bir bulgu olduğu görülmüştür. Orta düzeyde eosinofili ($>400/mm^3$) ve bazofili ($>100/mm^3$) hastaların $1/3$ ünden daha fazlasında görülmüştür.¹¹²

Periferik kanda en yaygın görülen morfolojik anormallik kırmızı kan hücrelerinde boyut ve şekil varyasyonları ve megatrombosit varlığıdır.⁵⁴ Polisitemia Vera Çalışma Grubunun yaptığı bir çalışmada %90 hastada kemik iliği hücreliliğinin arttığı görülmüştür. Hastaların üçte ikisinde megakaryosit hiperplazisi, nükleer polimorfizm gösteren tuhaf megakaryosit morfolojisi ve megakaryosit kümeleşmesi bulunmuştur. %25 hastada retikülin içeriği artmıştır fakat kollajen fibrozis belirgin değildir. Hastaların %70-80 sinde demir depolarının varlığı görülmüştür.¹¹³

Hemen hemen tüm hastaların serum ferritin seviyeleri normaldir. Kanama zamanı hastaların %10 ile %20 sinde uzamıştır. Trombosit agregasyon testleri bozulmuş; epinefrin, ADP ve kollajene agregasyon yanıtı azalmıştır.⁵⁴

Yaklaşık %25 hastada serum ürik asit seviyeleri tanı anında yüksektir.⁵⁴

Trombosit sayısının artışı ile ilişkili olarak kazanılmış von Willebrand sendromu gelişimi ve kanama eğilimi vardır. Doğal antikoagülanlar protein C, protein S ve antitrombin III konsantrasyonunun azalmasına bağlı trombotik eğilim artışı vardır.⁵⁴

ET hastalarında lq delesyonu gibi çeşitli kromozomal anormallikle de bildirilmiştir.⁵⁴

2.1.2.5. Tanı Kriterleri

Tablo 4:DSÖ Esansiyel Trombositoz Tanı Kriterleri 2008 ⁷⁹
1. Trombosit sayısının sürekli olarak $\geq 450.000 /\mu\text{L}$ olması
2. Megakaryositik dizinin hakimiyetinde, büyük olgun megakaryositlerin sayısında artış bulunan, proliferasyon gösteren kemik iliği biyopsi örneği. Nötrofilik granülopoezde dikkate değer artış yoktur.
3. Polisitemia vera ^b , primer miyelofibroz ^c , BCR-ABL pozitif kronik miyelositik lösemi ^d , miyelodisplastik sendrom ^e veya diğer miyeloid neoplazilerin DSÖ kriterlerinin bulunmaması
4. JAK2 v617F veya diğer klonal bir belirtecin gösterilmesi veya JAK2 v617F yokluğunda reaktif trombositoz ^f bulgusunun olmaması
a. Değerlendirme süreci boyunca süreklilik b. Düşük serum ferritini varlığında, demir yerine koyma tedavisi hemoglobin miktarını polisitemia vera düzeyine yükseltmemelidir. Polisitemia vera dışlanması hemoglobin ve hematokrit düzeyleri temel alınarak yapılır, eritrosit kütlesi ölçümü gerekli değildir. c. Önemli düzeyde retiküler fibroz, kollajen fibroz ve çevresel kanda lökoeritroblastoz olmamalı veya primer miyelofibrozis için tipik megakaryosit morfolojisinin (bozuk sitoplazma/ çekirdek oranlı ve hiperkromatik, kabarcıklı veya düzensiz büklümlü ve yoğun kümeleşme gösteren çekirdekli, küçükten büyüğe değişen megakaryositler) eşlik ettiği belirgin hiperselüler kemik iliği olmamalı. d. BCR-ABL füzyon geni pozitif olmamalıdır. e. Diseritropoez ve disgranülopoez bulunmamalıdır. f. Demir eksikliği anemisi, splenektomi, cerrahi, infeksiyon, inflamasyon, bağ dokusu hastalıkları, metastatik kanser ve lenfoproliferatif bozukluklar reaktif trombositoz nedenleri içinde yer alır. Buna karşın, reaktif trombositoz ile ilişkili bir durumun varlığı eğer ilk üç kriter karşılanıyorsa esansiyel trombositemi ihtimalini dışlamaya yetmeyebilir.

Tanı için dört kriterin tümünün karşılanması gerekir.

2.1.2.6. Ayırıcı Tanı

ET nin tanısı, bir dışlama tanısıdır. Reaktif eritrositoz formlarından ve diğer trombositoz yapan miyeloproliferatif hastalıklardan ayırımı yapılmalıdır. Trombositoz tespit edilen 280 hastayla yapılan bir çalışma serisinde reaktif trombositoz %82, miyeloproliferatif hastalıklara bağlı trombositoz %14 oranında saptanmıştır. Bu çalışmada reaktif trombositoz nedenlerinin % 72'si enfeksiyon, %43'ü postsplenektomi veya hiposplenektomi, %33'ü travma, %21'i inflamasyon, %13'ü ise kan kaybına bağlı oluşmuştur.¹¹⁴ PV'den ayırım için kırmızı hücre yoğunluğu ve plazma hacmi çalışmaları yapılabilir. KML dışlanması için kemik iliği karyotip analizi veya BCR-ABL füzyon geni çalışmaları yapılmalıdır.⁵⁴

2.1.2.7. Tedavi

ETli hastalarda tedavideki asıl amaç majör komplikasyonları önlemek ve farklı durumlarda uygun tedavi verebilmektir.⁸³

Asetil salisilik asit

Mikrovasküler semptomları önlemede etkilidir. Birkaç çalışma, özellikle sitoredüktif tedavi ile birlikte verildiğinde trombozu önlemede etkili olduğunu göstermiştir.¹¹⁵⁻¹¹⁷

Tüm hastalarda 75-100 mg/gün dozunda kullanılmalıdır. Bu durumun istisnası yüksek trombosit sayısına sahip ($Plt > 1500 \times 10^9 / L$) hastalardır. Bu hastalarda en kısa sürede sitoredüktif tedavi başlanmalıdır. Asetil salisilik asit ayrıca majör kanama öyküsü olan veya diğer kontrendikasyonları taşıyan hastalarda kullanılmamalıdır.⁸³

Sitoredüktif Tedavi

Sitoredüktif tedavi şu hastalara verilmelidir⁸³;

1. 60 yaş üstündeki hastalar
2. Tromboembolik komplikasyon öyküsü olanlar
3. Trombosit sayısı $> 1500 \times 10^9 / L$ olan hastalar

Ayrıca şu hastalara da verilmesi düşünülebilir;

- Mikrovasküler dolaşım bozukluğu, lökositoz ve/veya kardiyovasküler risk faktörleri olanlar (örn: hipertansiyon, hiperkolestrolemi ve/veya sigara içimi)
- Klonal hematopoezin kanıtlanması, EPO seviyesinin azalması, JAK2 v617F mutasyonu ve/veya F5 Leiden mutasyonu olanlar

Hidroksiüre

ET tedavisinde ilk basamak tedavi olarak önerilmektedir.

Önerilen standart dozu 500-1000 mg/gün dür, doz aralığı 500-1500 mg/gün arası değişir.

Gebe olanlar veya gebelik planlayanlarda önerilmez.

Uzun dönem kullanımında AML veya sekonder malignitelere dönüşüme neden olabilir fakat ET hastaları ile yapılan uzun dönemli randomize bir çalışma yoktur.⁸³

Interferon-α

Multipotent hematopoetik progenitör hücreleri baskılar.

Lösemik transformasyon bildirilmemiştir. ET de güvenle kullanılabilir. HÜ nin uzun dönem kullanımı ile oluşabilecek komplikasyonların göze alınmadığı genç hastalarda veya HÜ yi tolere edemeyen hastalarda kullanılabilir.

Gebelik planlayan ve gebe hastalarda tercih edilen tedavidir.

Haftalık kullanım dozu 6 ile 70 MU arası değişir. Peg-IFN ise haftalık verildiğinde gösterdiği etkinlik, konvansiyonel INF nun iki haftada bir verilen dozuna eşittir.

Peg-IFN-α-2b standart dozu 0.5 µg/kg/hafta, peg-IFN-α-2a nın ise 90 µg/hafta dır. Konvansiyonel IFN nun başlangıç dozu haftada 3 kez uygulanan 3MU dur. İdame doz aralığı ise haftada üç kez kullanılan 1-5 MU dir.⁸³

Anagrelid

Megakaryotik gelişimin mitoz sonrası fazına etki ederek megakaryosit çoğalmasını azaltır. Çeşitli non randomize çalışmalarda ET hastalarında trombosit sayısını normale getirme etkinliği %70 bulunmuştur.^{118,119}

HÜ nin uzun dönem kullanımının sorun oluşturacağı genç hastalarda veya HÜ yi tolere edemeyen hastalarda kullanılır. En önemli yan etkileri vazodilatatör ve pozitif inotrop etkisinden kaynaklanır bu nedenle kullanımı uygun görülen hastalar normal kardiyak fonksiyona sahip olmalıdır. Gebelikte veya gebelik planlayanlarda kullanılmaz.

Başlama dozu 12 saatte bir 0.5 mg'dır, sıklıkla kullanılan dozu 1-5 mg/gün dür.⁸³

Busulfan

Tedavi yanıt alınana kadar aralıklı şekilde 4-6 mg/gün verilir. Aralıklı busulfan tedavisi 75 ve üstü yaşlı hastalarda veya HU, IFN veya anagrelid tedavisine uygun olmayan hastalarda kullanılır.⁸³

Radyoaktif fosfor

1970lerden beri kullanılmaktadır. Randomize olmayan bir İsveç çalışmasında P³² tedavisi sonrası AML dönüşümü %10 oranında bulunmuştur.¹²⁰

Yaşlı ET hastalarında veya HÜ, IFN veya anagrelid tedavisine uygun olmayan hastalarda kullanılabilir.⁸³

2.1.2.8. Prognoz

ET hastalarında 10 yıllık sağkalım %64-80 arasındır.⁵⁴

Ölüm nedeni olarak trombotik komplikasyonlar baskındır. Mortalitenin önemli nedenlerinden biri de akut miyeloid lösemiye dönüşümdür. Lösemik dönüşüm %3-10 arasındır. Akut lösemiye dönüşüm nadir görülmesine rağmen kemoterapötik ajanların kullanımı ile artış gösterdiği ispatlanmıştır.⁵⁴

ET hastalarında idiyopatik miyelofibroze ve diğer miyeloproliferatif hastalıklara da dönüşüm bildirilmiştir.⁵⁴ Barbui ve ark.ları¹²¹ tarafından 1,100 den fazla ET veya prefibrotik PMF hastaları ile yapılan bir çalışmada ortalama sağkalımı belirleyen risk faktörleri prefibrotik PMF morfoloji, ileri yaş, tromboz öyküsü, lökositoz ve anemi olarak belirtilmiştir. Aynı çalışmada lösemik dönüşüm için öngörülen risk faktörleri ise prefibrotik PMF morfoloji, tromboz ve aşırı trombositoz (Plt>1 milyon/ μ L) olarak gösterilmiştir.

2.2. DEMİR METABOLİZMASI

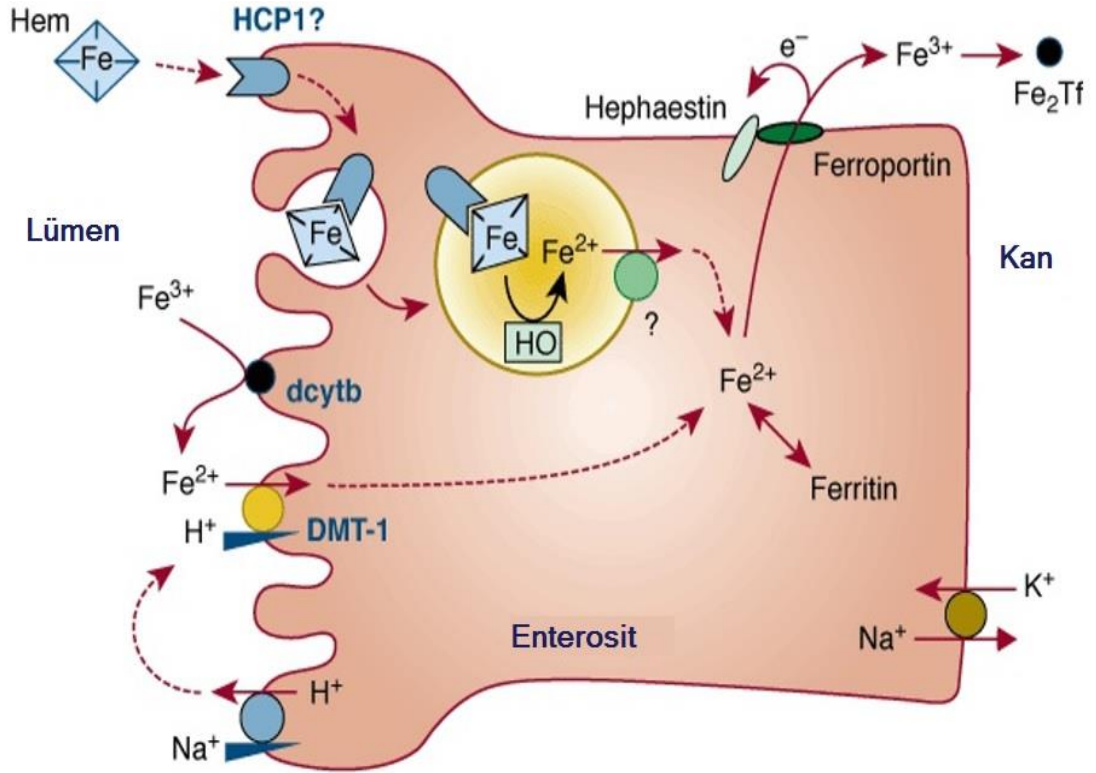
Demir yaşayan tüm organizmaların metabolizmaları için anahtar elementtir. Elektron transportunda rol alan sitokromların ve Krebs döngüsündeki koenzimlerin aktif bölümünü oluşturan ‘ hem ‘ molekülünün bileşiğidir. Hemoglobin ve miyoglobin yapısında bulunan hem, oksijeni bağlar; akciğerlerden dokulara oksijen transferini sağlar. Hem molekülü ayrıca hücreleri oksidatif hasardan koruyan peroksitlerin yapısında bulunur.¹²²

Demir, gastrointestinal sistem yoluyla en fazla duodenumdan emilir. Emilen demir miktarı vücudun ihtiyaçlarına göre belirlenir. Aktif eritropoez ve/veya demir eksikliği emilimi arttırırken, demir fazlalığı emilimi inhibe eder.¹²²

Diyetle alınan demir, Fe^{+2} ve Fe^{+3} tuzlarını ve organik kompleksleri içerir. Emilim öncesi enterosit yüzeyinde ferrik demir (Fe^{+3}), ferröz demire (Fe^{+2}) çevrilmek zorundadır. Fe^{+3} askorbik asit ve apikal membrandaki duodenal sitokrom B (dcytb) tarafından Fe^{+2} ye çevrilir. Fırçamsı kenardaki asit ortamı, H^+ elektrokimyasal potansiyel fark oluşturur ve bu ortam Fe^{+2} nin, divalent metal-iyon transporter (DMT-1) yoluyla enterosite alınmasını sağlar. DMT-1 ayrıca başka önemli metal iyonlarının emilimine de katkıda bulunur.¹²² (örn: Mn^{+2} , Zn^{+2} , Cu^{+2})

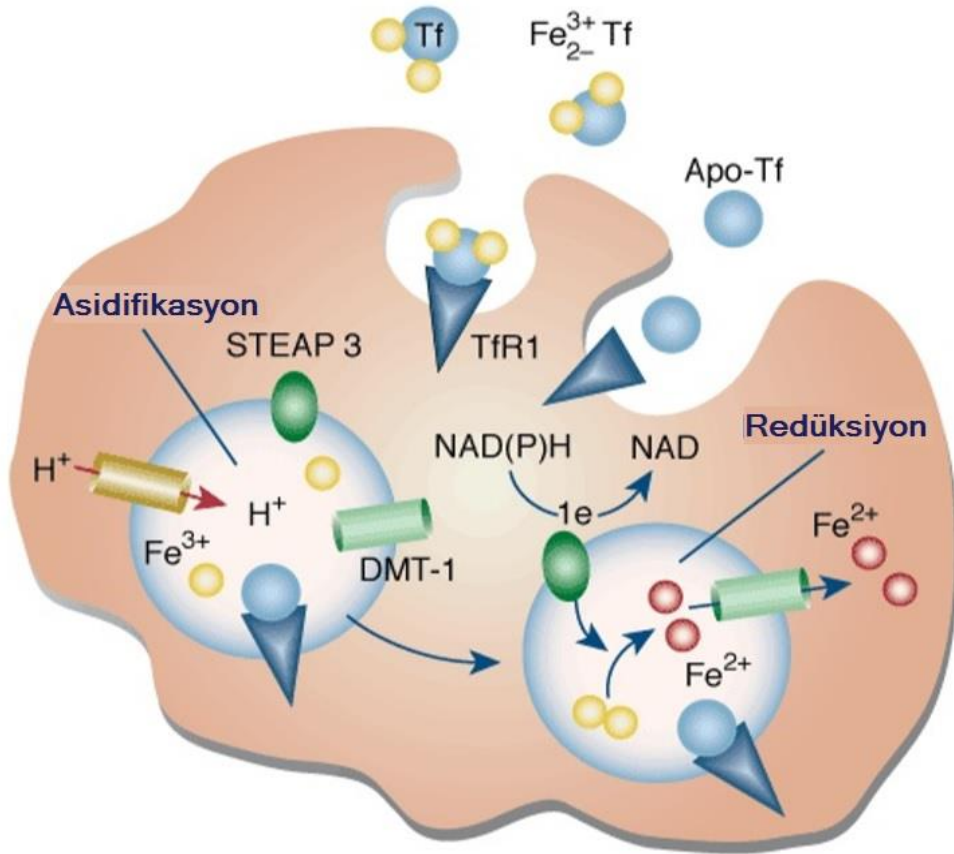
Diyetle alınan demirin başka bir kaynağı hem molekülüdür. Başlıca et ürünlerinde bulunan hemoglobin ve miyoglobinin parçalanması veya yaşlanmış eritrositlerdeki hemoglobinin yıkılması ile oluşur. Hem emilimi inorganik demir emilim yolundan farklı olsa da bu yollar intestinal hücrede kesişir. Hem, hem taşıyıcı protein 1 (HCP-1)’e hücre yüzeyinde bağlandıktan sonra endositoz yoluyla enterosite alınır ve Fe^{+2} serbestleşmesi hem oksijenaz tarafından endozom/lizozom içinde gerçekleşir. Günümüzde HCP-1’ i de içeren proteinlerin moleküler içeriği henüz netlik kazanmamıştır.¹²²

Fe^{+2} nin enterositten plazmaya çıkışı hephaestin reoksidasyonu sonrasında ferroportin aracılığıyla gerçekleşir ve demir ferrik (Fe^{+3}) durumda oksidize olur. Fe^{+3} , plazma apotransferrini tarafından bağlanır. Apotransferrin, hepatosit ve monosit-makrofaj sistemi hücreleri tarafından sentezlenen bir glikoproteindir, her molekül Fe^{+3} için iki bağlanma bölgesi içerir.¹²² Demir atomu bağladığında transferrin adını alır.^{14,15} Transferrin proteinin asıl görevi demir molekülünü plazmaya girdiği yerden (intestinal villus, dalak sinuzoidleri) kemik iliği eritroblastlarına ve diğer kullanım yerlerine taşımaktır.¹²²



Şekil 4: Demirin İntestinal Lümeninden Enterosite Girişi ve Plazmaya Verilişi¹²³

Fe^{+3} bağlı (diferrik) transferrin, hücre yüzeyindeki transferrin reseptörüne (TfR) bağlanır ve transferrin-TfR kompleksi hücre yüzeyindeki klatrin kaplı girintide toplanır. Bu kompleks endositozla hücre içine alınır. Sitoplazma içinde oluşan endozom, proton pompası sayesinde asidifiye hale getirilir. Yaklaşık 5 civarı olan düşük pH bir tane demir atomunun serbestleşmesini sağlar. STEAP3 (six-transmembran epithelial antigen of prostate 3) ferrik demiri (Fe^{+3}), ferröz demire (Fe^{+2}) dönüştürür. DMT-1 aktivitesi ile demir atomu endozom dışına verilir. Daha sonra apotransferrin-TfR kompleksi hücre membranına döner, buradaki nötral ph da apotransferrin interstisyel sıvıya salınır ve tekrar plazmaya dönerek demir bağlar. Süreç boyunca transferrin ve TfR de yapısında bozulma olmaz. Demir, eritroid olmayan hücrelerde ferritin veya hemosiderin olarak depolanır; gelişmekte olan eritroblastlarda ise hem molekülü oluşturmak üzere mitokondri içine alınır.¹²²



Şekil 5: Transferrin Döngüsü ¹²⁴

Transferrin reseptörü disülfid bağları ile bağlı iki alt üniteden oluşan, transmembran bir proteindir. Demir metabolizmasının düzenlenmesinde önemlidir. TfR sentezi demir eksikliği olduğunda veya deneysel olarak demir şelatörü desferoksamin verildiğinde artar.¹²⁵ Hem molekülü ise TfR sentezini inhibe eder. Hem yapısından hem oksijenaz ile serbestleşen demir, iron responsive elements/ iron regulatory protein-1 (IRE/IRP) düzenleyici sistemi ile TfR mRNA'nın yapısını bozarak bu sentezi inhibe eder.¹²²

IRE etkisini IRP ye bağlanarak gösterir. IRP iki çeşittir; IRP-1 sitoplazmik bir akonitazdır, demiri bağlayabilir ve akonitaz aktivitesi için gerekli dört tane Fe-S bileşiğinden oluşur. IRP-2, IRP-1 in homologudur fakat akonitaz aktivitesi içermez. Apoferritin, TfR, aminolevulinic asit (ALA), apotransferrin, akonitaz, DMT-1 ve ferroportin sentezi posttranskripsiyonel olarak düzenlenir. Bu proteinlerin mRNAsı bir veya birden fazla IRE ye sahiptir. IRE 5' ucuna yerleşirse translasyonu düzenler, 3' ucuna bağlanırsa mRNA stabilitesini sağlar.¹²²

Apoferritin mRNA sını 5' ucunda bir tane IRE ye sahiptir. Sitoplazmadaki demir konsantrasyonu düştüğünde, IRE mRNA nın 5' ucuna bağlanarak apoferritin mRNA translasyonunu baskılar ve apoferritin oluşumu azalır. TfR mRNA sının ise 3' ucunda birden fazla IRE vardır.¹²⁶ Demir konsantrasyonu düştüğünde IRE, mRNA nın 3' ucuna bağlanarak TfR mRNA sını endonükleaz yıkımından korur, stabilitesini sağlar ve translasyonunu arttırarak TfR miktarını arttırır. Sitoplazmada aşırı miktarda demir olduğunda ise IRP-1, apoferritin ve TfR nin mRNA sına bağlanmaz, bu durumda TfR mRNA stabilizasyonu bozularak yıkıma uğrar, apoferritin sentezi ise azalır.¹²²

2.2.1. Demirin Mitokondriye Taşınması, Mitoferrin Tanımı ve Fonksiyonu

Hemoglobin insanda en fazla hem içeren proteindir, kana kırmızı rengini verir. Hem sentezi mitokondride başlar ve biter fakat bazı ara basamaklar sitoplazmada gerçekleşir bu nedenle biyokimyasal prekürsörleri mitokondri membranından taşıyacak bir taşıyıcı gereklidir.¹²⁷

Hem sentezindeki son basamak mitokondriyal ferroşelataz tarafından katalizlenen protoporfirin IX'a demir atomunun eklenmesidir.¹²⁷ Önceden demir molekülünün bu enzime nasıl aktarıldığı bilinmiyorken 2006 da Shaw ve ark.ları³ derin anemisi olan frascati zebrafishte bulunan mutasyonlu bir geni ve bu genin sentezlediği proteini tanımlamışlardır. Bu genin ürünü olan protein, omurgalılarda mitokondriyal madde taşınım ailesinde (SLC 25) yer alır ve "mitoferrin" olarak tanımlanmıştır. Daha önce mayalarda mitokondriyal metal taşınmasında rol aldığı gösterilen ve mutasyonu sonucunda mitokondriye demir taşınmasında ve Fe-S bileşiği oluşumunda hatalar oluşan MRS3 ve MRS4 proteinleri ile homolog olduğu görülmüştür.¹²⁸⁻¹³⁰

Mitoferrin 1 (Slc 25a37 olarak da bilinir) hem sentezi için gerekli demiri mitokondri membranından taşır. Demir, mitokondriye mitoferrin ile taşındıktan sonra ferroşelataza aktarılır böylece hem sentezi için demirin protoporfirin IX'a yerleşmesi katalizlenir. Oluşan hem molekülü daha sonra sitoplazmaya gönderilir. Farelerdeki mitoferrin 1 in, başlıca hematopoetik organlarda, fetal karaciğer, kemik iliği ve dalakta yüksek miktarda sentezlendiği saptanmıştır. Gelişmekte olan fare embriyosunda mitoferrin 1 ekspresyonu en önce ekstraembriyonik yumurta kesesinde daha sonra fetal karaciğerde görülmüştür.³

Mitoferrin 2 ise, mitoferrin 1 in analogu kabul edilmiştir, mitoferrin 1 ile %65 oranında benzer protein içerir. Tüm dokularda düşük miktarda saptanmıştır fakat başlıca eritroid olmayan hücrelerde hemoproteinlerdeki hem sentezi ve Fe-Sülfür bileşiği oluşumu için gereklidir.³ Mitoferrin 1, benzer şekilde eritroid olmayan hücrelerde de mitokondriye demir taşınmasında rol alabilir oysa mitoferrin 2 gelişen eritroid hücrelerin hem üretiminde rol alamaz.¹³¹ Mitoferrin 1 i hasar görmüş veya mutasyona uğramış, derin anemisi olan maya ve farelerde, mitoferrin 2 nin ektopik etkisi, anemiye düzeltmemiştir. Bu nedenle mitoferrin 1 in omurgalı hayvanların eritropoezinde benzersiz ve telafi edilemeyen bir yeri vardır.³

Kaplan grubu¹³¹ yaptığı bir çalışmada mitokondriye demir taşınmasında kilit rolü üstlenen ve mitoferrin 1 in stabilizasyonunu sağlayan bir molekülün varlığından söz etmişlerdir. Kaplan grubu ile birlikte Chen ve ark.ları¹³² mitoferrin stabilizasyonunu sağlayan molekülün, eritroid mitokondri iç membranında bulunan başka bir protein olan Abcb10 (ATP-Binding Cassette subfamily B member 10, ayrıca Abc-me olarak da bilinir) ile etkileşim sonucu olduğunu göstermişlerdir. Abcb10, hücre membranında ATP bağımlı taşıma görevini üstlenmiş, SLC ailesinin alt gruplarından ATP bağlayan kaset taşıyıcı protein (ABC) ailesinde yer alan bir proteindir.¹³³ Mitokondri iç membranında bulunur ve eritroid maturasyonu sırasında yüksek miktarda uyarılır. Fare eritroid hücre farklılaşmasında mitoferrin 1 ile etkileşen yegane proteindir. 105 aa den oluşur. Eritrosit maturasyonu sırasında Abcb 10, mitoferrin 1'in yarı ömrünü uzatır dolayısıyla konsantrasyonunu artırır. Böylece mitokondri içine hem molekülü ve Fe-S bileşiği sentezi için daha fazla demir molekülü alınmasını sağlar.¹³² Abcb10, oluşan hem molekülü tarafından inhibe edilir ve böylece mitoferrin 1 aktivitesi azalır.¹²⁷ Mitoferrin yıkımını nasıl önlediği ise bilinmemektedir. Ayrıca bu çalışmada Mitoferrin 1 stabilizasyonunu sağlayan yapının sadece Abcb 10'dan oluşmadığı, oligomerik yapıda bir kompleksin varlığından söz etmişlerdir.¹³²

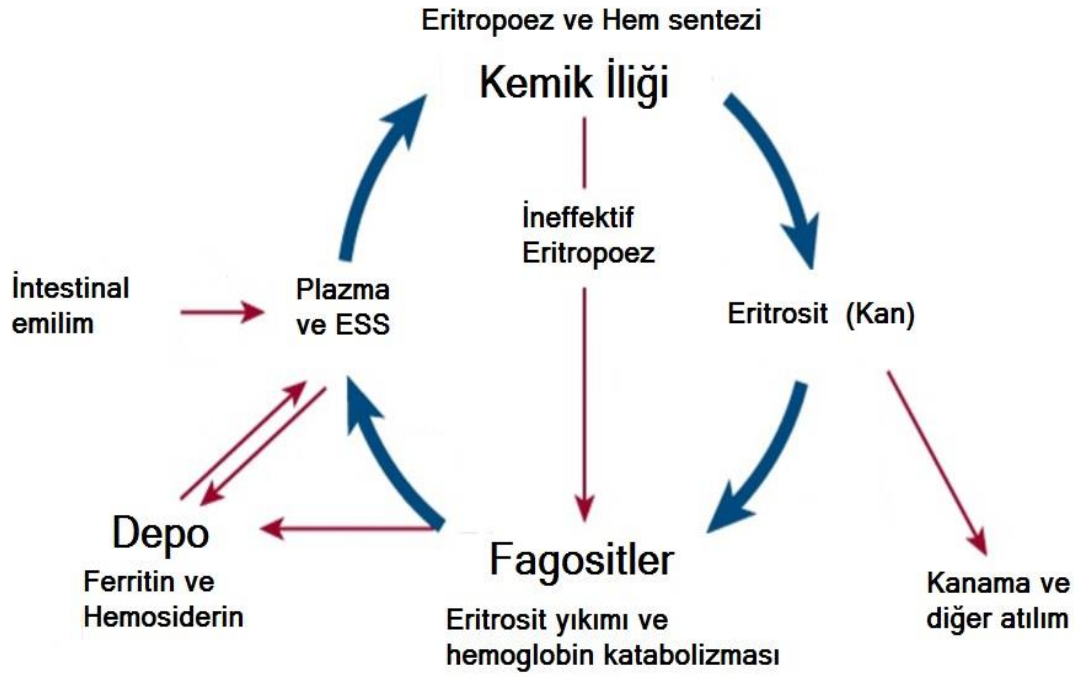
Yine Chen ve ark.ları⁴ son yaptıkları çalışmada oligomerik yapıdaki bu kompleksin mitoferrin 1 ve Abcb 10 ile birlikte ferroselataz proteininden oluştuğunu göstermişlerdir. Ferroselataz, 86 kDa ağırlığında, iki tane Fe-S bileşiği içeren mitokondri iç membranında yer alan bir proteindir. Bu çalışma ile ferroselataz, mitoferrin 1 ve Abcb 10 kompleksinin, hem sentezi için demiri mitokondriye taşıdığı ve böylece porfirine demir aktarımının sağlandığı ispatlanmıştır.



Şekil 6: Mitoferrin Fonksiyonu ⁴

2.2.2. Demir Döngüsü

Demir, plazma ve ekstraselüler sıvıdan hemoglobin yapısına katılacağı kemik iliği arasında tekrarlanan kapalı bir sistem içinde korunur. Kemik iliğinden eritrositlerin içinde kana verilir ve dolaşımı yaklaşık dört ay sürer. Daha sonra yaşlanan eritrositler retikuloendotelial makrofaj sistemi tarafından fagosite edilir ve yıkıma uğratılır. Hemoglobin yapısından açığa çıkan demir plazmaya gönderilir ve döngü devam eder. Her döngüde demirin az bir miktarı ferritin veya hemosiderin olarak depolanır, depo demirin az bir miktarı plazmaya salınır, yine demirin az bir kısmı idrar, ter, feçes veya kanama ile kaybedilir. Demir, kaybedilen miktar kadar intestinal sistemden geri emilir. Ek olarak yeni oluşan eritrositlerin az bir kısmı (yaklaşık %10 u) kemik iliğinde yıkıma uğrar ve salınan demir döngünün dolaşan kan kısmına katılmaz; bu durum inefektif eritropoez olarak adlandırılır.¹²²



Şekil 7: Demir Döngüsü ¹²²

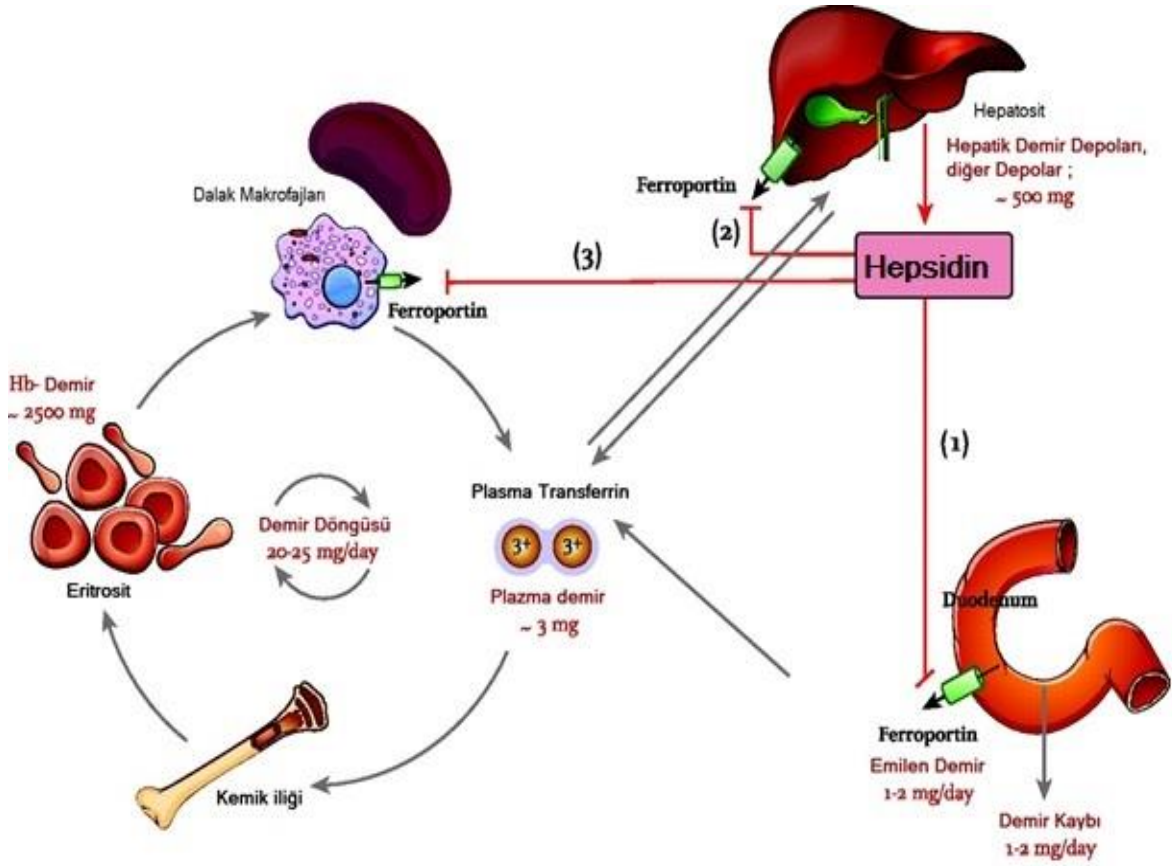
Plazma demir seviyesinin ana kaynağı yaşlanmış ve hasar görmüş eritrositlerden demiri toplayan retikuloendotelial makrofaj sistemidir ve bu sistem plazma demir havuzuna 20-25 mg/gün katkı sağlar. Diyetle alınan ve barsaklardan emilen demir seviyesi ise 1-2 mg/gün dür bu da hücre dökülmesi ve minör kanamalara bağlı demir kaybını karşılar. Plazma demir seviyesi 10-30 $\mu\text{mol/l}$ seviyesinde sabit tutulmaya çalışılır.¹³⁴

Eritrositlerdeki hemoglobin sentezi için 20-25 mg/gün demir gereklidir. Eritrosit öncülleri için demirin ana kaynağı plazmadaki demir-transferrin (Fe-Tf) bileşiğidir. Normal bireylerde plazma demirinin yaklaşık tümü transferrin molekülüne bağlanır. Kanda dolaşan Fe-Tf havuzu, günlük demir gereksiniminin 10 kat daha azıdır. Bu yüzden kemik iliğine yeterli demiri sağlayabilmek için yüksek bir turnover gereklidir.¹³⁴

2.3. HEPİİDİN VE DEMİR METABOLİZMASINDAKİ ROLÜ

Hepsidin molekülünün, hepsidinin demiri hücre dışına veren ferroportin ile ilişkisinin ve demir taşınmasının düzenlenmesindeki rolünün keşfi, demir emilimi ve dağılımına moleküler düzeyde açıklama getirmiştir. Hepsidin ilk kez insan idrarı ve plazmasında tanımlanan 25 aminoasit içeren bir peptittir.^{135,136} Hepsidinin ana kaynağı hepatositlerdir.^{135,137} Son çalışmalar hepsidinin ferroportine bağlanarak ferroportin özümsemesi ve lizozomal yıkımına yol açmasıyla sistemik demir akışının başlıca düzenleyicisi olduğunu göstermiştir.^{138,139} Duodenal enterosit, plasental sinsityotrofoblast, makrofaj ve hepatositler hücrel demiri plazmaya verebilirler. Transmembran protein olan ferroportin, demiri hücre dışına veren proteindir ve demiri plazmaya verebilen hücrelerde bulunur. Ferroportin ferrik demiri, plazmadaki transferrine aktarmak için ferooksidaz tarafından desteklenir.¹⁴⁰ Enterositlerde hephaestin, makrofajlarda seruloplazmin ferooksidaz aktivitesine sahiptir.^{141,142} Ferroportin hücre membranından kaldırıldığında plazmaya demir verilmesi orantılı olarak azalır.¹⁴⁰

Demir depoları yeterli veya fazla olduğunda karaciğer hepsidin üretir ve oluşan hepsidin dolaşımına ince barsağına ulaşır. Burada hepsidin, ferroportinin özümsemesine yol açarak enterositte plazmaya demir transferini önler. Demir depoları az olduğunda ise hepsidin üretimi baskılanır, ferroportin molekülleri enterositlerin bazolateral membranında açığı çıkar ve demiri enterosit sitoplazmasından plazma transferrine aktarır. Benzer olarak hepsidin-ferroportin ilişkisi, makrofaj demir döngüsünün düzenlenmesini ve inflamatuvar süreçlerdeki yüksek hepsidin üretiminin karakteristik bulgusu olan demir içeren makrofajları açıklar. Hepsidin konsantrasyonu yüksek olduğunda hepsidin ferroportine bağlanır, ferroportin özümsemir, demirin hücre dışına verilmesi önlenir ve demir makrofaj (özellikle splenik) içinde kalır.¹⁴⁰



Şekil 8: Demir Döngüsünde Hepsidin Rolü ve Ferroportin ile İlişkisi¹⁴³

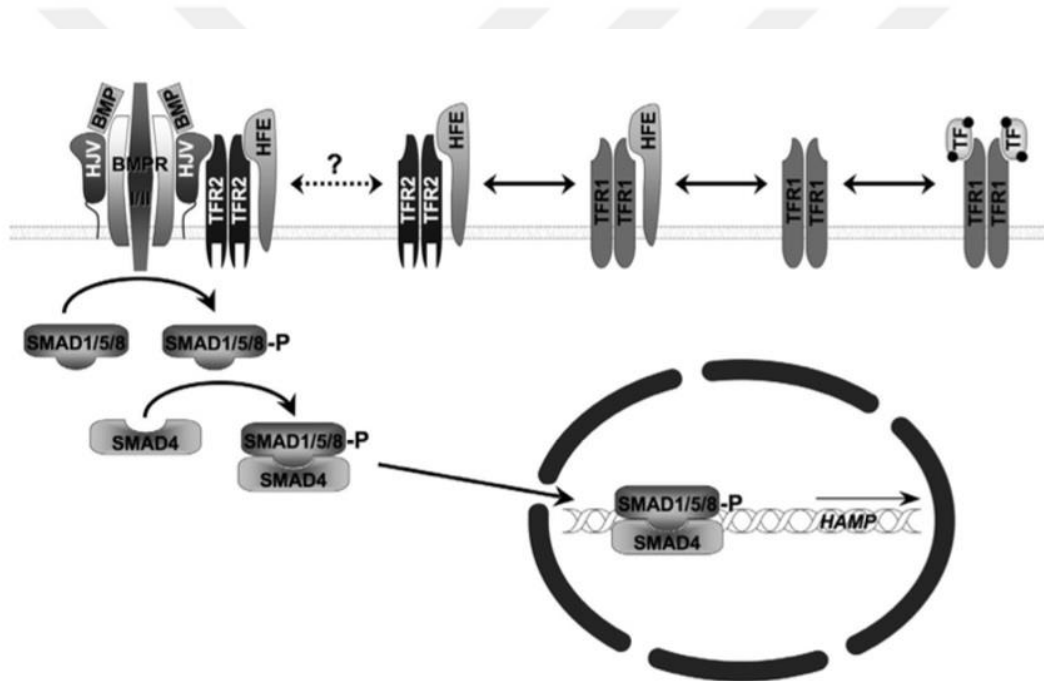
2.3.1. Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi

Farelerle yapılan deneylerde hepsidin sentezinin, yüksek demir içeren bir günlük diyet alımında¹⁴⁴, aynı şekilde kronik demir yüklenmesinde¹³⁷ arttığı görülmüştür. İnsanlarda ise demir alımı ile bir günden kısa sürede idrar hepsidin miktarı artar.¹⁴⁴ Hepsidin düzeylerinin demir tarafından nasıl düzenlendiği bilinmemektedir fakat bu düzenlemeye yönelik çeşitli görüşler mevcuttur.

Bu görüşlerden bir tanesi BMP (Kemik morfogenetik proteinler) ile ilgilidir. BMP, hücre yüzey reseptörleri ile sinyal ileten çözünebilir otokrin veya parakrin etkilere sahiptir. BMP'nin reseptörleri BMP tip 1 ve BMP tip2 dir. BMP'nin bu reseptörler dışında co-reseptöre bağlanması, kendi reseptörleri ile bağlantı kurmayı kolaylaştırır.¹⁴⁵ Hemojuvelin (HJV) BMP nin co-reseptörüdür ve sinyal iletimini kolaylaştırabilir, hepatositlerde farklı BMP yollarını kullanarak hepsidin sentezlenmesini artırır.¹⁴⁶⁻¹⁴⁹ (Şekil 9)

Transferrin reseptör-1 (TFR-1), otozomal resesif herediter hemakromatozis proteinleri HFE, transferrin reseptör 2 (TFR-2), hemojuvelin (HJV) ve BMP reseptör tip 1 ve 2, hücre yüzeyi ile bağlantılıdır. HFE, holo-transferrin (diferrik-Tf) tarafından düzenlenen denge ile TFR-1 ve TFR-2 ile bağlantı kurar. HFE ve TFR2 nin de HJV-BMPR 1/2 ile bağlantı kurabildiği öne sürülmüştür.¹⁴⁵ (Şekil 9)

BMP tip 1 reseptörün fosforilasyonu SMAD (sons of mothers against decapentaplegic homologue) proteinleri içeren (SMAD 1/5/8) hücre içi sinyali başlatır. SMAD proteinlerinden oluşan co-SMAD (common), SMAD 4 ile etkileşir ve çekirdeğe yer değiştirirler. BMP-cevaplı DNA elemanlarına (BRE) bağlanarak hepsidin gen (HAMP) transkripsiyonunu uyarırlar.¹⁴⁵ (Şekil 9)



Şekil 9: Demir Bağımlı BMP Sinyal Yolağı¹⁴⁵

İn vitro olarak hepatositlerin fazlaca sature olmuş transferrine maruz kalmaları, kronik demir yüklenmeleri ve in vivo akut demir yönetimi, HJV bağımlı BMP sinyalini ve hepsidin gen transkripsiyonunu uyarır. Bu nedenle hepatositlerdeki BMP sinyalinin demir molekülü tarafından düzenlendiği aklı gelmektedir.^{147,150,151}

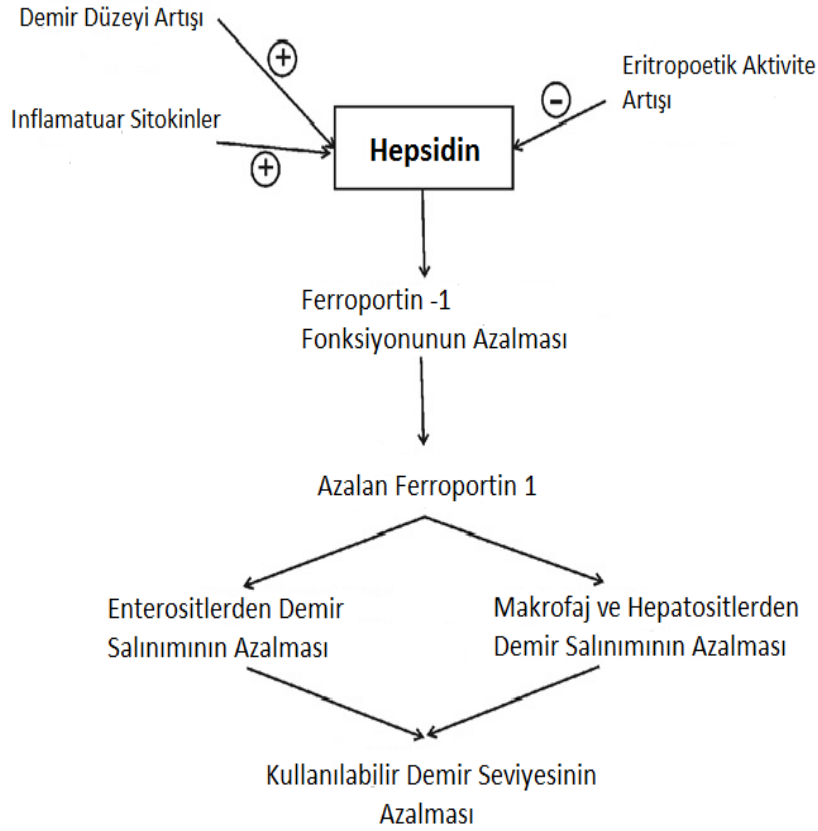
Eritrosit üretimi, kan kaybı ve hipoksi gibi eritropoetik uyarı sonrası artar. Benzer şekilde hepsidin üretimi de anemi ve hipoksi tarafından düzenlenir.¹⁵² Oksijen yeterli

düzye de olmadığında homostatik cevap daha fazla eritrosit üretmektir. Bu nedenle hepsidin seviyeleri azalır, intestinal demir emilimi ayrıca makrofaj ve retikuloendotelyal sistem depolarından demir salınımı artar. İnsan hepsidin düzenleyicisi, hipoksi indüklenebilir faktör (HIF) için bağlanma bölgeleri içerse de bunlar karakteristik değildir, diğer memelilerde korunmamıştır ve rolleri deneysel olarak test edilmemiştir. Esas olarak hepsidinin anemiye yanıtı; doku hipoksisi, eritropoetin seviyesinde artış, eritropoetik aktivite artışı veya eritroid öncüller için demir kullanımı sonrası doku-plazma demir seviyeleri azalması ile düzenlenir. Eritropoetik aktivite, hepsidin sentezinin en güçlü baskılayıcısıdır fakat kemik iliğinden bu sinyali karaciğerdeki hepsidin sentezi bölgesine ileten spesifik mediyatör bilinmemektedir.¹⁴⁰

Hepsidin sadece demir düzenleyici bir hormon değildir. Hepsidin, konak savunması ile demir metabolizması arasında da önemli bir bağlantıdır. Enfeksiyon ve inflamasyonda, demir durumu ve eritropetik aktiviteden bağımsız hepsidin sentezi artar.^{137,144,152,153} Interlökin-6 (IL-6) fare inflamasyonu ve insanlardaki akut inflamasyonda hepsidin sentezinin önemli bir uyarıcısıdır.^{144,153} Farelerle yapılan deneylerden alınan son verilere göre diğer sitokinler olan IL-1, TGF- β (Transforming growth faktör β) ve BMP 2, BMP 4, BMP 9'un hepsidin sentezini düzenleyebileceği gösterilmişse de¹⁵⁴⁻¹⁵⁶ insanlardaki işlevsel rolü henüz belgelenmemiştir. İnflamasyonda görülen anemi; kronik enfeksiyonların, enfeksiyöz olmayan yaygın inflamatuvar hastalıkların, bazı kanserlerin ve sepsisin seyrinde görülen yaygın bir sonuçtur. Bu anemiler, demir seviyesi ve transferrin kapasitesi azalması, ferritin artışı, depo alanlarından gelen demir taşınmasını yansıtan kemik iliği makrofajlarında demir varlığı ile karakterizedir. İnflamasyonda görülen aneminin patogenezi başlıca katkıda bulunanlar; IL-6 ve diğer inflamatuvar sitokinler tarafından^{144,153,157,158} hepsidin uyarılması ve bunun sonucu kemik iliğine demir desteğinin azalmasıdır.¹⁵⁹⁻¹⁶² Normalde transferrin demirinin büyük kısmı kemik iliğine yönlendirilir fakat aşırı hepsidin üretiminin yol açtığı kan demir seviyesi azalması, hemogloblin sentezi ve eritrosit üretimi için gerekli olan demir miktarını azaltır. Aslında hepsidin üretiminin aşırı olduğu klinik ve deneysel durumların çoğu anemi ile ilişkilidir. Ayrıca şiddetli anemi nadiren otonom hepsidin üreten karaciğer tümörü olan hastalarda görülmüştür.¹⁶¹

Deneysel olarak IL-6 tedavisi verilen hastalarda anemi gelişmiştir. Bu durum IL-6 salınımının fazla olduğu hastalıklar olan Castleman's sendromu, multiple myelom ve juvenil romatoid artrit ile benzerdir.¹⁴⁰

Demir birikimi ile giden anemiler, inefektif eritropoez ve artmış intestinal demir emilimi ile karakterizedir. En yaygın görülenler intermediate ve majör β talasemi olmakla birlikte daha nadir görülenler konjenital diseritropoetik anemi, X'e bağı sideroblastik anemi ve DMT-1 mutasyonları ile ilişkili anemilerdir. İntermediate β talasemi, konjenital diseritropoetik anemi ve DMT-1 mutasyonları ile ilişkili anemilerde hepsidin seviyeleri düşük bulunmuştur.^{163,164} Tanno ve ark.ları¹⁶⁵, talasemili hastalar ile yaptıkları çalışmada TGF- β (Transfroming growth faktör β) ve GDF15 (growth diferansiasyon faktör-15) seviyelerinin arttığını ve bu artışın in vitro olarak hepsidin seviyelerini baskılayabileceğini göstermişlerdir.



Şekil 10: Hepsidin Fonksiyonu ve Düzenleyicileri¹⁶⁶

2.4. GDF15 TANIMI VE FONKSİYONU

GDF15 (Growth Diferansiyasyon Faktör-15), 25 kDa ağırlığında bir proteindir.⁵ İnsan GDF15 gen lokusu kromozom 19p12.1-13.1 de saptanmıştır.¹⁶⁷ Tümör süpresor protein p53 tarafından salınımı indüklenen başlıca proteinlerden birisidir. Birkaç çalışma GDF15 uyarılmasının hücre döngüsünde duraklama ve apoptozis ile ilişkili olduğunu göstermiştir.¹⁶⁸ GDF15 in üretimini düzenleyen tek kopyalanma faktörü p53 değildir. GDF15 düzenleyicisi, başka kopyalama faktörlerini de içerir.¹⁶⁹⁻¹⁷¹ (Örn: Sp-1, COUP-TF-1, GATA, Egr-1) Bu nedenle GDF15 in kopyalanma aktivitesi apoptotik, stres cevabı ve doku farklılaşmasının bir parçası olarak kopyalanma faktörleri arasındaki dengeye bağlıdır. Hipoksi ve diğer hücrel stresler p53, Sp1 ve Egr-1 salınımını arttırdığı için GDF15 in artmış seviyeleri hücrel stres veya ölüm göstergesi olabilir.¹⁷²

GDF15, TGF- β süperailisinin bir üyesidir. TGF- β süperailisi, hücre farklılaşması, gelişmesi ve apoptozisi içeren birçok olayda görev alır.¹⁷³

Eritroblastların fazlaca üretildiği ve bunu tam olmayan maturasyonun izlediği hücre kültürlerinin inefektif eritropoezi yansıttığı düşünülmektedir.¹⁷⁴ Tanno ve ark.ları¹⁶⁵ tarafından bu hücre kültürlerindeki matur eritroblastlarda, GDF15 gen sentezi yüksek seviyelerde saptanmıştır. Bu hücre kültürlerinde olduğu gibi inefektif eritropoez veya diğer hematopoetik bozukluğu sahip hastalarda GDF15 seviyelerinin aşırı arttığı bulunmuştur. Talasemi sendromları (α ve β talasemi) inefektif eritropoezin en yaygın nedenlerini oluşturur. Talasemi sendromlarında sağlıklı gönüllülere göre serum GDF15 seviyeleri oldukça artmıştır.¹⁶⁵ İnektif eritropoez ve demir birikimi ile seyreden konjenital diseritropoetik anemi tip 1 hastalarında da talasemi hastaları gibi GDF15 seviyeleri artmış bulunmuştur.^{175,176} Bir diğer inefektif eritropoezin gözleendiği hasta grubu ise mitokondride demir birikimi nedeniyle eritroblast çekirdeğinin halka olarak görüldüğü ring sideroblast anemili hastalardır.^{177,178} Bu grupta da GDF 15 seviyeleri artmıştır.¹⁷⁹ Son olarak piruvat kinaz eksikliği olan hastalarda inefektif eritropoez bildirilmiştir.^{180,181} Bu hastalarla yapılan bir çalışmada, talasemi hastalarından daha düşük seviyede olmakla birlikte GDF15 seviyeleri artmış bulunmuştur.¹⁸² Öte yandan kemik iliği nakli¹⁸³ veya EPO enjeksiyonu¹⁸⁴ sonrası efektif eritropoezin gözleendiği hastalarda serum GDF15 büyük artış göstermemiştir. National Institute of Health in başlangıç çalışmalarında GDF15 salınımı,

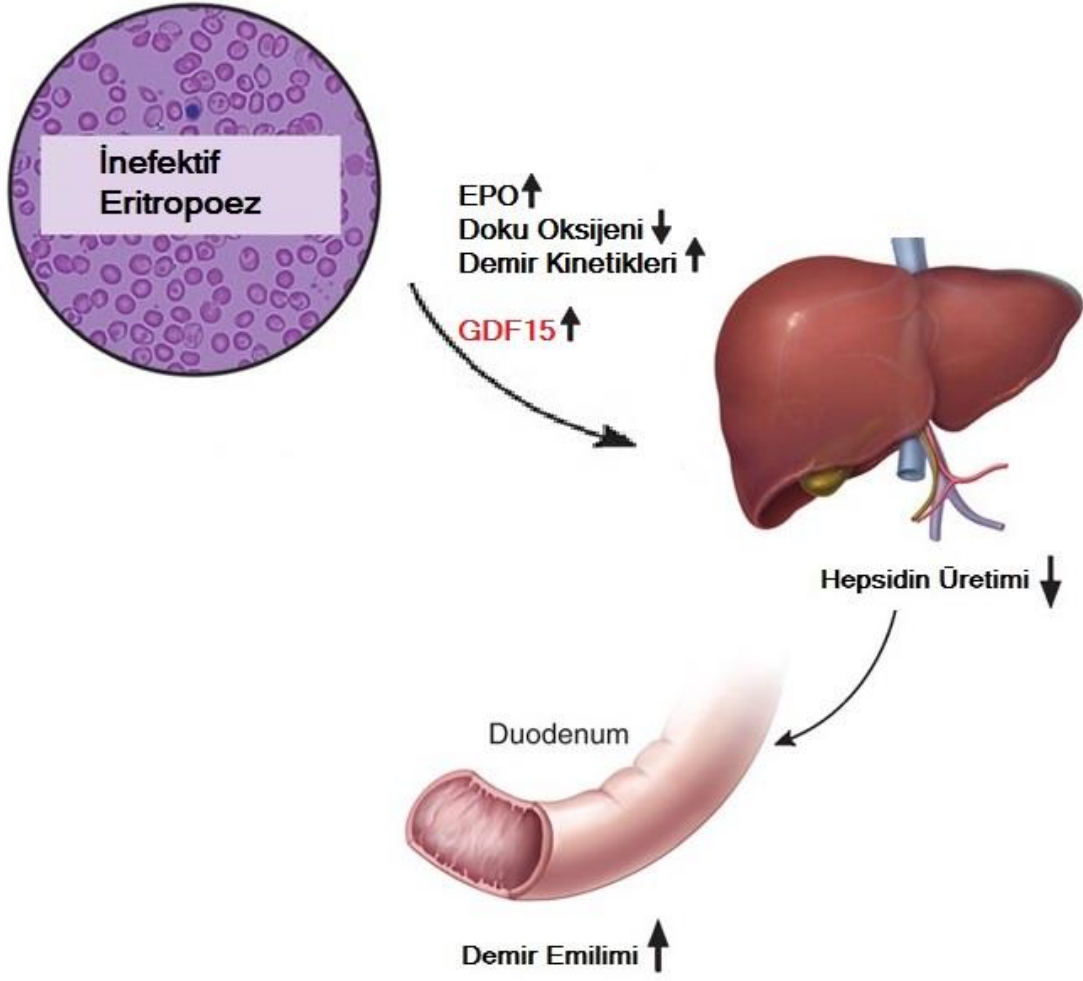
talasemili hastaların kemik iliğindeki eritroid öncüllerin belirgin boyanması ile kıyaslanınca, normal kemik iliğinde çok zor saptanabilmiştir.⁶

GDF15 sadece eritroblastlardan salınmaz, kanser ve inflamatuvar hastalığı olan kişilerde bu sitokinin artışı eritroblast artışına bağlanamaz. Kronik hastalık anemisi olan hastalarda GDF15 yüksekliği bildirildiği düşünüldüğünde bu nokta önemlidir.¹⁸⁵ Tüm veriler göz önüne alındığında GDF15 ölçümlerinin inefektif eritropoez ve apoptotik eritropoezi öngörmeye yardımcı olabileceği söylenebilir.⁶



2.5. GDF-15 ve HEPİİDİN İLİŞKİSİ

Normal eritropoezde GDF15, hepsidin fizyolojik baskılanmasında yer almaz.^{183,184} Normal eritropoezde hepsidin baskılanmasını sağlayan mekanizma henüz bilinmemektedir. İnefektif eritropoezin hepsidin yükselmesine izin vermeyerek aşırı demir yüklenmesine neden olduğu düşünülebilir.⁶ Talasemi hastalarındaki düşük veya alt sınıra yakın hepsidin değerleri bunu desteklemektedir.¹⁸⁵ İnefektif eritropoez görülen, aşırı demir yüklenmesi olan hastalardaki normal serum hepsidin seviyelerinin patolojik bir sinyal ile açıklanmasından sonra, çalışmalar GDF15 in demir metabolizması ile ilişkisine odaklanmıştır.^{185,186} Tanno ve ark.ları^{165,186} tarafından talasemili hastalar ile yapılan başka bir çalışmada, insan hepatosit kültürlerinde, talasemili hastaların serum GDF15'i, aynı şekilde rekombinant GDF15 proteini, hepsidin salınımını baskılamıştır. Hepsidin baskılanması için yüksek GDF 15 seviyeleri gerekli olduğu görülmüştür (>5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ve en yüksek doz 100.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ bile ilave edildikten sonra baskılanma tam olarak gerçekleşmemiştir. Ayrıca talasemili hastaların serumu, GDF15 uzaklaştırıldıktan sonra bile, hücre kültürlerinde hepsidini baskılamıştır.¹⁶⁵ Sonuç olarak bu çalışmada, GDF15 in yüksek seviyelerde salınımı, inefektif eritropoezin inkomplet hepsidin baskılaması yaparak patolojik demir yüklenmesine katkıda bulunması sonucunda oluştuğu ispatlanmıştır.⁶ İnefektif eritropoez ortamında artan demir kinetiği, doku hipoksisi ve EPO birlikte hepsidini baskılar ve eritroblastın demir ihtiyacını karşılar. Konağın dokuları, eritroblast ihtiyacını karşılamak için demirle yeterince doyduğunda, dokuların aşırı demir yüklenmesini önlemek amaçlı hepsidin artmalıdır. Bu çalışmada GDF15 in kısmen fazla salınımına rağmen hepsidin sentezinin normal aralıkta kaldığı gösterilmiştir.⁶ Tranfüzyon yapılan hastalarda ise, eritrositten açığa çıkan demiri makrofaj içinde tutmak için konağın yeterli hepsidin salgılayamaması sonucu, demir yüklenmesinin etkilerinin kötüleştiği görülmüştür.⁶



Şekil 11: İnefektif Eritropoezde GDF15 in Fonksiyonu ¹⁶⁵

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 18.03.2014 tarihinde KOU KA EK 2014/90 sayılı numara ile onay alınmıştır.

3.1.Hasta Seçimi

Çalışmamıza, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı polikliniğine Mart 2014 ile Ocak 2015 tarihleri arası başvuran ve Polisitemia Vera ve Esansiyel Trombositoz tanısı alan hastalar dahil edildi. Hastalara 2008 DSÖ kriterlerine⁷⁹ göre tanı konuldu. Demir metabolizmasını etkileyebilecek herhangi bir tedavi alanlar, daha önce flebotomi ile tedavi edilmiş olanlar, PV ve ET dışı hematolojik hastalığı olanlar, aktif enfeksiyon ve inflamasyonu olanlar, dekompanse karaciğer, kalp ve böbrek hastalığı olanlar çalışmaya alınmadı.

Sağlıklı kontrol grubu olarak, bilinen herhangi bir hastalığı olmayan, rutin kontrol amaçlı poliklinik başvurusu olan, hasta grubu ile benzer cinsiyet ve yaş dağılımına sahip 27 kişi çalışmaya dahil edildi.

Hastaların yaşı, hastalık süresi, tam kan sayımı, serum demir ve ferritin düzeyi, transferrin saturasyonu, total demir bağlama kapasitesi, sedimentasyon, C reaktif protein (CRP), üre, kreatinin, ürik asit ve LDH düzeyi, eritropoetin düzeyleri Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi merkez laboratuvarında çalışıldı, varsa kemik iliği biyopsi sonuçları kaydedildi. Trombotik, hemorajik olay öyküsü, fizik muayenede veya USG görüntülemesinde splenomegali varlığı sorgulandı. Dalak uzun aksınının 12 cm den fazla olması splenomegali olarak kabul edildi.

Hastaların JAK2 V617F gen mutasyon analizi QIAGEN Rotor-Gene Q cihazıyla real time PCR yöntemi ile çalışıldı.

Sağlıklı kontrollerin tam kan sayımı, serum demir düzeyi, transferrin saturasyonu, total demir bağlama kapasitesi, ferritin düzeyi, sedimentasyon, CRP ve biyokimyasal değerleri Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi merkez laboratuvarında çalışıldı.

3.2. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı

Hastalardan ve sağlıklı kontrollerden periferik antecubital venden EDTA lı ve düz tüplere 4-5 cc kan örnekleri alındı. Alınan kanlar 30 dakika içinde 3500 rpm de 2-8 C⁰ de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum ve plazmalar -80 C⁰ de saklandı.

3.3. Yöntem

Mitoferrin-1 düzeyleri, Cusabio[®] human mitoferrin-1 (SLC25A37) ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) kiti Cusabio Inc. (Wuhan, Hubei, P.R.China) ile company analyser cihazıyla ELİSA metoduyla çalışıldı. Sonuçlar pg/mL birimiyle kaydedildi.

Hepsidin düzeyleri, DRG[®] Hepsidin 25 (bioactive) ELISA DRG International Inc.(Marburg, Germany) kiti ile, company analyser cihazıyla ELİSA metoduyla çalışıldı. Sonuçlar ng/mL birimiyle kaydedildi.

GDF 15 düzeyleri, RayBio[®] human GDF 15 ELISA kiti RayBiotech Inc. (Norcross GA, USA) ile company analyser cihazıyla ELİSA metoduyla çalışıldı. Sonuçlar pg/mL birimiyle kaydedildi.

3.4. İstatistik

İstatistiksel analizler için SPSS for Windows 20.0 versiyonu kullanıldı.

Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotlar kullanıldı. Normal dağılıma uygun verilerde ortalama \pm standart sapma, normal dağılıma uygun olmayan verilerde ise medyan (25.per-75.per) değerleri kullanıldı. Normal dağılım gösteren sayısal değişkenlerin karşılaştırılmasında iki ortalamalı t testi, tek yönlü varyans analizi, Tukey çoklu karşılaştırma testi, normal dağılım göstermeyen sayısal değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, Kruskal –Wallis tek yönlü varyans analizi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında Pearson kıkare ve Fisher's Exact testi kullanıldı.

Değişkenler arasındaki ilişkiler pearson korelasyon katsayısı ile değerlendirildi. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı polikliniğine Mart 2014 ile Ocak 2015 tarihleri arası başvuran, KMPH'a sahip olan 27 hasta [10 polisitemia vera (%37), 17 esansiyel trombositoz (%63) hastası] ve 27 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edilmiştir.

Hastalar cinsiyetlerine göre incelendiğinde KMPH grubu 11 kadın (%40,8), 16 erkek (%59,2) , PV tanısı olanlar 4 kadın (%40,0) , 6 erkek (%60), ET tanısı olanlar 7 kadın (%41,2) 10 erkek (%58,8) şeklinde dağılıma sahipti. Sağlıklı kontrollerin de KMPH grubu ile aynı oranda cinsiyet dağılımı mevcuttu. KMPH grubunda en genç olgu 28 en yaşlı olgu 86 yaşında olup bu olguların yaş ortalaması $57,07 \pm 13,39$ saptandı. Grup içi dağılıma bakıldığında, PV grubunun yaş ortalaması $57,80 \pm 15,33$ iken ET grubunun yaş ortalaması $56,66 \pm 12,59$ bulundu. Tüm grupların sayı, yaş ve cinsiyet özellikleri tablo 5'te görülmektedir.

Tablo 5: Çalışma Gruplarının Genel Özellikleri

	KMPH	Sağlıklı Kontrol	PV	ET
n (%)	27 (%100)	27 (%100)	10 (%37)	17 (%63)
Yaş (Yıl) (Ortalama±SS)	$57,07 \pm 13,39$	$56,74 \pm 10,97$	$57,80 \pm 15,33$	$56,66 \pm 12,59$
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	11/16	11/16	4/6	7/10

KMPH grubunda beyaz küre (WBC) değerleri ortalaması ($10,75 \pm 4,58 \times 10^3 / \mu\text{L}$), sağlıklı kontrollerin değerlerine ($6,86 \pm 1,04 \times 10^3 / \mu\text{L}$) göre yüksek ölçüldü ve bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

Benzer şekilde KMPH grubunda trombosit değerleri ($731,000 \pm 252,124 \times 10^3 / \text{mL}$) sağlıklı kontrol grubunun değerleri ($240,925 \times 10^3 \pm 57,501 \times 10^3 / \text{mL}$) ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek ölçüldü ($p < 0,001$).

KMPH grubundan 25 kişinin serum laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyi ölçülebildi ve ölçülen değerler ($236,20 \pm 55,95 \text{ U/L}$) sağlıklı kontrol grubuna göre ($167,25 \pm 25,61 \text{ U/L}$) anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p < 0,001$).

KMPH grubunda ortanca kreatinin [$0,83 (0,72-0,97 \text{ mg/dl})$] ve ürik asit değerleri [$5,85 (4,97-6,90 \text{ mg/dl})$] sağlıklı kontrol grubunun ölçümlerinden [sırasıyla $0,76 (0,68-0,84) \text{ mg/dl}$ ve $5,20 (3,70-6,00 \text{ mg/dl})$] yüksek bulundu ve anlamlı fark saptandı (sırasıyla $p:0,017$ ve $p:0,027$).

KMPH grubunun MCV değerleri ise ($80,90 \pm 10,26 \text{ fL}$) sağlıklı kontrol grubuna göre ($90,86 \pm 3,68 \text{ fL}$) düşük ölçüldü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

KMPH grubunda 26 kişinin demir düzeyleri mevcuttu ve demir düzeyleri ($57,42 \pm 34,74 \text{ mcg/dL}$) sağlıklı kontrol grubuna göre ($91,18 \pm 28,60 \text{ mcg/dL}$) anlamlı düzeyde düşük ölçüldü ($p < 0,001$).

KMPH grubunda ortanca transferrin saturasyonu % $17,47 (5,65-27,48)$ saptandı ve bu değer sağlıklı kontrol grubunda % $27,38 (22,60-32,76)$ ölçüldü. KMPH grubunun ortanca transferrin saturasyonunun kontrol grubuna göre düşük ölçülmesi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p:0,003$).

Benzer şekilde KMPH grubunda ortanca serum ferritin düzeyi [$26,80 (7,30-61,30 \text{ ng/ml})$] sağlıklı kontrol grubundan [$63,00 (38,60-99,00 \text{ ng/ml})$] düşük bulundu ve istatistiksel fark saptandı ($p:0,003$).

KMPH grubunun, sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslanan total demir bağlama kapasiteleri, ortanca hemoglobin, hematokrit, CRP ve sedimentasyon değerleri arasında fark saptanmadı ($p > 0,05$).

KMPH grubunun, sağlıklı kontroller ile kıyaslanan değerleri tablo 6'da görülmektedir.

Tablo 6: KMPH ile Sağlıklı Kontrol Gruplarının Laboratuvar Değerlerinin Karşılaştırması

	KMPH Grubu Ortalama±SS/ Medyan(25.per-75.per)	Sağlıklı Kontrol Ortalama±SS/ Medyan(25.per-75.per)	P
Kreatinin² (0,6-1,3 mg/dL) ³	0,91±0,23 / 0,83 (0,72-0,97)	0,77±0,11(0,76)/ 0,76 (0,68-,084)	0,017*
Ürik asit² (2.5-7.7 mg/dL) ³	5,85±0,99/ 5,85 (4,97-6,90)	4,97±1,34/ 5,20(3,70-6,00)	0,027*
LDH¹ (125-220U/L) ³	236,20±55,95	167,25±25,61	<0,001*
Hb² (12.2-18.1 g/dL) ³	14,37±1,91/ 15,10 (12,8-15,6)	14,41±1,23/ 14,00 (13,5-15,6)	0,736
Hct² (%37.7-53.7) ³	44,27±7,02/ 44,60 (38,8-50,6)	42,98±3,66/ 41,60 (40,7-44,9)	0,324
MCV¹ (80.0-97.0 fL) ³	80,90±10,26	90,86±3,68	<0,001*
Lökosit¹ (4.60-10.2 x10 ³ /µL) ³	10,75±4,58	6,86±1,04	<0,001*
Trombosit¹ (142-424x10 ³ /L) ³	731,55±252,12	240,92±57,50	<0,001*
CRP² (0-0.5 mg/dL) ³	0,39±0,65/ 0,13 (0,07-0,41)	0,28±0,21/ 0,25 (0,11-0,42)	0,444
Eritrosit sedimentasyon hızı (Sedim)² (<20 mm/saat) ³	10,18±12,7/ 4,50 (4,00-11,25)	8,18±7,36/ 6,00 (2,00-13,00)	0,441
Serum demir¹ (Kadın:50-170 µg/dL) ³ (Erkek:65-175 µg/dL) ³	57,42±34,74	91,18±28,60	<0,001*
Ferritin² (Kadın:11-306.8 ng/mL) ³ (Erkek:23.9-336.2 ng/mL) ³	53,45±73,24/ 26,80 (7,30-61,30)	79,59±51,92/ 63,00 (38,60-99,00)	0,003*
Total demir bağlama kapasitesi¹ (228-428 mcg/dL) ³	344,69±64,72	318,92±35,31	0,081
Transferrin saturasyonu² (%20-50) ³	%18,07±12,17/ % 17,47 (5,65-27,48)	%28,84±9,07/ %27,38 (22,60-32,76)	0,003*

*P <0,05 istatistiksel anlamlı, ¹Independent Sample t-test, ²Mann-Whitney U-test, ³Parantez içi verilen değerler normal referans aralıklarıdır.

PV ve ET gruplarının her ikisinde de WBC değerleri (sırasıyla $12,18 \pm 5,39$ ve $9,91 \pm 3,97 \times 10^3 / \mu\text{L}$) sağlıklı kontrollerden ($6,86 \pm 1,04 \times 10^3 / \mu\text{L}$) yüksekti ve bu ölçüm istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

Yine PV ve ET grubunun trombosit değerleri (sırasıyla $567,20 \pm 194,31$ ve $828,23 \pm 235,04 \times 10^3 / \text{mL}$) sağlıklı kontrollerden ($240,925 \times 10^3 \pm 57,501 \times 10^3 / \text{mL}$) yüksekti ve istatistiksel olarak fark bulundu ($p < 0,05$).

PV ve ET grubunun LDH düzeyleri de (sırasıyla $243,75 \pm 62,98$ ve $232,64 \pm 62,98 \text{ U/L}$) sağlıklı kontrol grubundan ($167,25 \pm 25,61 \text{ U/L}$) anlamlı yüksek ölçüldü ($p < 0,05$).

PV grubunda ortanca hematokrit değeri [%50,15 (45,37-51,95)] sağlıklı kontrol grubundan [%41,60 (40,7-44,9)] anlamlı düzeyde yüksek ölçülürken ($p < 0,03$), bu fark ET grubunda gözlenmedi ($p > 0,05$).

PV ve ET gruplarının MCV değerleri ise (sırasıyla $77,99 \pm 11,06$ ve $82,61 \pm 9,69 \text{ fL}$) sağlıklı kontrollerden ($90,86 \pm 3,68 \text{ fL}$) anlamlı düşük bulundu ($p < 0,05$).

Benzer şekilde PV ve ET gruplarının serum demir ölçümlerinin (sırasıyla $62,37 \pm 29,73 \text{ mcg/dl}$ ve $49,50 \pm 42,03 \text{ mcg/dl}$) sağlıklı kontroller ile kıyaslamasında ($91,18 \pm 28,60 \text{ mcg/dL}$) daha düşük değerler elde edildi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

PV grubunda serum ferritin değerleri [23,60 (6,95-45,17)] ve transferrin saturasyonu [%7,07 (3,83-29,4)] ve sağlıklı kontrol grubuna göre [sırasıyla $63,00$ (38,60-99,00 ng/ml) ve %27,38 (22,60-32,76)] anlamlı düşük ölçüldü ($p < 0,05$). Oysa ET grubunun ferritin ve transferrin saturasyonu değerleri ile [sırasıyla $26,80$ (7,30-78,80 ng/ml) ve %20,98 (11,04-27,22)] sağlıklı kontrol grubunun ölçümleri arasında fark izlenmedi ($p > 0,05$).

PV ve ET gruplarının kontrol grubu ile kıyaslanan total demir bağlama kapasitesi, hemoglobin, CRP, sedimentasyon, kreatinin ve ürik asit değerleri arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p > 0,05$).

PV ve ET gruplarının, sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslanan değerleri sırasıyla tablo 7 ve 8'de görülmektedir.

Tablo 7: PV ile Sağlıklı Kontrol Gruplarının Laboratuvar Değerlerinin Karşılaştırması

	PV Grubu Ortalama±SS/ Medyan(25.per-75.per)	Sağlıklı Kontrol Ortalama±SS/ Medyan(25.per-75.per)	P
Kreatinin ² (0,6-1,3 mg/dL) ³	0,95±0,32 / 0,78 (0,72-1,32)	0,77±0,11(0,76)/ 0,76 (0,68-,084)	>0,05
Ürik asit ² (2,5-7,7 mg/dL) ³	6,07±1,05/ 6,10 (5,05-7,15)	4,97±1,34/ 5,20 (3,70-6,00)	>0,05
LDH ¹ (125-220U/L) ³	243,75±39,63	167,25±25,61	<0,001*
Hb ² (12,2-18,1 g/dL) ³	15,34±1,65/ 15,30 (14,32-16,57)	14,41±1,23/ 14,00 (13,5-15,6)	>0,05
Hct ² (%37,7-53,7) ³	48,75±5,96/ 50,15 (45,37-51,95)	42,98±3,66/ 41,60 (40,7-44,9)	0,031*
MCV ¹ (80,0-97,0 fL) ³	77,99±11,06	90,86±3,68	<0,001*
Lökosit ¹ (4,60-10,2 x10 ³ /µL) ³	12,18±5,39	6,86±1,04	<0,001*
Trombosit ¹ (142-424x10 ³ /L) ³	567.20±194,31	240.92±57.50	<0,001*
CRP ² (0-0,5 mg/dL) ³	0,58±1,01/ 0,20 (0,09-,064)	0,28±0,21/ 0,25 (0,11-0,42)	>0,05
Eritrosit sedimentasyon hızı(Sedim) ² (<20 mm/saat) ³	10,18±12,7/ 4,50 (4,00-11,25)	8,18±7,36/ 6,00 (2,00-13,00)	>0,05
Serum demir ¹ (Kadın:50-170 µg/dL) ³ (Erkek:65-175 µg/dL) ³	49,50±42,03	91,18±28,60	0,002*
Ferritin ² (Kadın:11-306,8 ng/mL) ³ (Erkek:23,9-336,2 ng/mL) ³	47,53±79,92/ 23,60 (6,95-45,17)	79,59±51,92/ 63,00 (38,60-99,00)	0,019*
Total demir bağlama kapasitesi ¹ (228-428 mcg/dL) ³	342,90±47,72/ 326,50 (305,25-390,50)	318,92±35,31	0,437
Transferrin saturasyonu ² (%20-50) ³	% 15,72±14,54	% 28,84±9,07/ % 27,38 (22,60-32,76)	0,037*

*P <0,05 istatistiksel anlamlı, ¹Independent Sample t-test, ²Mann-Whitney U-test, ³Parantez içi verilen değerler normal referans aralıklarıdır.

Tablo 8: ET ile Sağlıklı Kontrol Gruplarının Laboratuvar Değerlerinin Karşılaştırması

	ET Grubu Ortalama±SS/ Medyan(25.per-75.per)	Sağlıklı Kontrol Ortalama±SS/ Medyan(25.per-75.per)	P
Kreatinin ² (0,6-1,3 mg/dL) ³	0,91±0,23 / 0,83 (0,72-0,97)	0,77±0,11(0,76) / 0,76 (0,68-,084)	>0,05
Ürik asit ² (2,5-7,7 mg/dL) ³	5,85±0,99/ 5,85 (4,97-6,90)	4,97±1,34/ 5,20(3,70-6,00)	>0,05
LDH ¹ (125-220U/L) ³	236,20±55,95	167,25±25,61	<0,001*
Hb ² (12,2-18,1 g/dL) ³	13,81±1,86/ 14,30 (11,95-15,40)	14,41±1,23/ 14,00 (13,5-15,6)	>0,05
Hct ² (%37,7-53,7) ³	41,64±6,35/ 43,60 (36,65-45,90)	42,98±3,66/ 41,60 (40,7-44,9)	1,000
MCV ¹ (80,0-97,0 fL) ³	82,61±9,69	90,86±3,68	<0,003*
Lökosit ¹ (4,60-10,2 x10 ³ /µL) ³	9,91±3,97	6,86±1,04	<0,011*
Trombosit ¹ (142-424x10 ³ /L) ³	828,23±235,04	240.92±57.50	<0,001*
CRP ² (0-0,5 mg/dL) ³	0,29±0,35/ 0,11 (0,05-,046)	0,28±0,21/ 0,25 (0,11-0,42)	>0,05
Eritrosit sedimentasyon hızı (Sedim) ² (<20 mm/saat) ³	10,18±12,7/ 4,50 (4,00-11,25)	8,18±7,36/ 6,00 (2,00-13,00)	>0,05
Serum demir ¹ (Kadın:50-170 µg/dL) ³ (Erkek:65-175 µg/dL) ³	62,37±29,73	91,18±28,60	<0,016*
Ferritin ² (Kadın:11-306,8 ng/mL) ³ (Erkek:23,9-336,2 ng/mL) ³	56,92±71,34/ 26,80 (7,30-78,80)	79,59±51,92/ 63,00 (38,60-99,00)	0,089
Total demir bağlama kapasitesi ¹ (228-428 mcg/dL) ³	345,81±74,91	318,92±35,31	0,244
Transferrin saturasyonu ² (%20-50) ³	%19,54±10,67/ %20,98 (11,04-27,22)	%28,84±9,07/ %27,38 (22,60-32,76)	0,061

*P <0,05 istatistiksel anlamlı, ¹Independent Sample t-test, ²Mann-Whitney U-test, ³Parantez içi verilen değerler normal referans aralıklarıdır.

PV ve ET grupları birbiri ile karşılaştırıldığında ise; yaş, cinsiyet, MCV, lökosit, CRP, serum demir, ferritin ve JAK 2 V617F mutasyonu yönünden istatistiksel fark saptanmadı.

PV grubunda ortanca hemoglobin değeri [15,30 (14,32-16,57) g/dL] ET grubundan [14,30 (11,95-15,40) g/dL] yüksek ölçüldü ve gözlenen farklılık istatistiksel olarak anlamlılığa yakındı (p:0,052).

PV grubunun ortanca hematokrit değeri ise (48,75±5,96 dL) ET grubundan (41,64±6,35 dL) anlamlı yüksek bulundu (p:0,007).

ET grubunda ise PV grubundan anlamlı yüksek trombosit değerleri (828,23±235,04) elde edildi (p:<0,001).

Hasta gruplarındaki splenomegali oranlarına bakıldığında; PV tanılı 8 hastada (%80), ET tanılı 3 hastada (%17,6) splenomegali saptandı. PV grubunda daha yüksek oranda splenomegali görülmesi istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0,003).

JAK2 V617F mutasyonu ET grubunda 14 hastada pozitif (%82,4), 3 hastada (%17,6) negatif bulundu. PV grubunda ise 10 hastanın tümünde pozitif ölçümler elde edildi.(%100) ET ve PV grupları arasında JAK2 V617F mutasyonu görülme sıklığı yönünden istatistiksel fark saptanmadı (p:0,274).

Tromboz öyküsü ET grubunda 1 hastada (%5,9) PV grubunda 2 hastada (%20,0) mevcuttu. İki hastalık grubu arası tromboz görülme sıklığında fark gözlenmedi (p:0,535).

Kanama öyküsü ET grubunda 1 hastada (%5,9) saptandı, PV grubunda ise kanama öyküsü tarifleyen hasta yoktu. İki hastalık grubu arası kanama görülme sıklığında fark izlenmedi (p:1,000).

ET ve PV gruplarının birbiri karşılaştırılan değerleri tablo 9'da görülmektedir.

Tablo 9: PV ve ET Gruplarının Laboratuvar ve Klinik Özelliklerinin Karşılaştırması

	PV Ortalama±SS /n(%) /Medyan(25.per-75.per) (n=10 hasta)	ET Ortalama±SS /n(%) /Medyan(25.per-75.per) (n=17 hasta)	P
Yaş (Yıl)	57,80±15,33	56,66±12,59	0,970
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	4/6	7/10	1,000
Hb¹ (12.2-18,1 g/dL) ²	15,34±1,65 / 15,30 (14,32-16,57)	13,81±1,86 / 14,30 (11,95-15,40)	0,052
Hct¹ (%37,7-53,7) ²	48,75±5,96 / 50,15 (45,37-51,95)	41,64±6,35 / 43,60 (36,65-45,90)	0,007*
MCV (80,0-97,0 fL) ²	77,99±11,06	82,61±9,69	0,289
Lökosit (4.60-10.2 x10 ³ /µL) ²	12,18±5,39	9,91±3,97	0,199
Trombosit (142-424x10 ³ /L) ²	567.20±194,31	828,23±235,04	<0,001*
CRP¹ (0-0,5 mg/dL) ²	0,58±1,01 / 0,20 (0,09-,064)	0,29±0,35 / 0,11 (0,05-,046)	0,401
Serum demir (Kadın:50-170 µg/dL) ² (Erkek:65-175 µg/dL) ²	49,50±42,03	62,37±29,73	0,577
Ferritin¹ (Kadın:11-306,8 ng/mL) ² (Erkek:23,9-336,2 ng/mL) ²	47,53±79,92 / 23,60 (6,95-45,17)	56,92±71,34 / 26,80 (7,30-78,80)	0,400
Splenomegali varlığı (N=12 cm)	8 (%80)	3 (%17,6)	0,003*
JAK2 V617F mutasyon pozitifliği n(%)	10 (%100)	14 (%82,4)	0,274
Tromboz n (%)	2 (%20,0)	1 (%5,9)	0,535
Kanama n (%)	0 (%0)	1 (%5,9)	1,000

*P <0,05 istatistiksel anlamlı ¹ Mann-Whitney U-test, ²Parantez içi verilen değerler normal referans aralıklarıdır.

KMPH grubunda serum hepsidin düzeyleri ($22,50 \pm 17,38$ ng/ml) sağlıklı kontrol grubu ile ($23,51 \pm 12,14$ ng/ml) benzer ölçüldü ($p:0,806$) (Tablo 10).

KMPH grubunda serum GDF15 düzeyleri ortalaması ($280,44 \pm 138,44$ pg/ml), sağlıklı kontrol grubuna göre ($178,2 \pm 77,03$) yüksek ölçüldü ve bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p:0,002$) (Tablo 10).

KMPH grubunda serum mitoferrin 1 düzeyleri ($37,00 \pm 10,19$ pg/ml) kontrol grubuna göre ($42,73 \pm 9,63$ pg/ml) düşük ölçüldü ve istatistiksel fark saptandı ($p:0,039$) (Tablo 10).

KMPH hastalarında serum GDF15 ve mitoferrin 1 değerleri, JAK2 V617F mutasyonu varlığı ile ilişkili bulunmadı. Oysa hepsidin seviyeleri, JAK2 mutasyonu pozitif olan hastalarda ($19,44 \pm 13,7$ ng/ml), negatif olan hastalara ($47,06 \pm 26,9$ ng/ml) göre düşük ölçüldü ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p:0,007$) (Tablo10).

KMPH hastalarında splenomegali olup olmamasının; GDF15, hepsidin ve mitoferrin 1 ortalama değerleri ile ilişkili olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$) (Tablo 10).

Tablo 10: Hepsidin, GDF 15 ve Mitoferrin 1 Düzeylerine İlişkin Değerlendirmeler

	Hepsidin(ng/mL) Ortalama±SS	GDF15 (pg/mL) Ortalama±SS	Mitoferrin1(pg/mL) Ortalama±SS
KMPH Grubu(n=27 hasta)	22,50±17,38	280,44±138,44	37,00±10,19
Sağlıklı Kontrol (n=27 kişi)	23,51±12,14	178,20±77,03	42,73±9,63
<i>P</i> -değeri	0,806	0,002*	0,039*
JAK2 V617F mutasyonu (+) (n=24 hasta)	19,44±13,78	281,42±143,80	36,51±10,63
JAK2 V617F mutasyonu (-) (n=3 hasta)	47,06±26,95	272,55±106,13	40,96±4,68
<i>P</i> -değeri	0,007*	0,919	0,487
Splenomegali (+) (n=11)	18,92±20,12	291,30±168,16	39,48±11,67
Splenomegali (-) (n= 16) (N=12 cm)	24,97±15,42	272,92±119,27	35,29±9,02
<i>P</i> -değeri	0,385	0,742	0,303

* $P < 0,05$ istatistiksel anlamlı

Pearson ve Spearman korelasyon analizine göre, KMPH grubunda serum hepsidin ve mitoferrin 1 seviyeleri ile cinsiyet arasında ilişki bulunmadı ($p>0,05$). Oysa serum GDF-15 seviyeleri, erkeklerde ($329,54 \pm 155,56$ pg/ml), kadınlardan ($209,02 \pm 63,76$ pg/ml) daha yüksek ölçüldü ve istatistiksel fark bulundu ($p:0,011$) (Tablo 11).

Tablo 11: Hepsidin, GDF 15 ve Mitoferrin 1 Düzeyleri ile Cinsiyet İlişkisi

	Hepsidin(ng/mL) Ortalama±SS	GDF15 (pg/mL) Ortalama±SS	Mitoferrin1 (pg/mL) Ortalama±SS
Kadın (n=11 hasta)	22,27±13,32	209,02 ± 63,76	35,90±9,67
Erkek (n=16 hasta)	22,67±20,13	329,54± 155,56	37,76±10,77
<i>P</i> -değeri	0,955	0,011*	0,650

* $P < 0,05$ istatistiksel anlamlı

KMPH grubunda 14 hastada (%51,8) demir eksikliği anemisi saptandı. Demir eksikliği anemisi ile GDF-15, mitoferrin ve hepsidin seviyeleri arasında ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

KMPH grubu PV ve ET olarak gruplara ayrıldığında serum GDF15 düzeyleri; PV grubunda ($301,64 \pm 159,8$ pg/ml) ve ET grubunda ($267,9 \pm 127,7$ pg/ml) sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek ölçüldü (sırasıyla $p:0,013$; $p:0,034$). PV ve ET grupları birbiri ile kıyaslandığında, serum GDF15 değerleri yönünden fark saptanmadı ($p:0,371$).

Serum hepsidin düzeyleri PV grubunda ($15,31 \pm 10,91$ ng/ml) sağlıklı kontrol grubuna göre düşük ölçüldü fakat istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p:0,291$). ET grubunda ise ($26,74 \pm 19,30$ ng/ml) kontrol grubuna göre benzer ölçümler elde edildi ($p:0,756$). PV ve ET grupları arasında serum hepsidin değerleri yönünden fark görülmedi ($p:0,131$).

Serum mitoferrin 1 düzeyleri PV grubunda ($40,35 \pm 12,94$ pg/ml) sağlıklı kontrol grubuna göre düşük ölçüldü fakat istatistiksel fark saptanmadı ($p:0,791$). ET grubunda serum mitoferrin 1 düzeyleri ($35,03 \pm 7,95$ pg/ml), sağlıklı kontrol grubuna göre düşük bulundu ve

istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (p:0,038). PV ve ET grupları birbiri ile kıyaslandığında, serum mitoferrin 1 değerleri yönünden fark izlenmedi (p:0,371). PV ve ET gruplarının karşılaştırılan değerleri tablo 12’de görülmektedir.

Tablo 12: Hasta Gruplarının Sağlıklı Kontroller ile ve Birbiri ile Hepsidin, GDF 15 ve Mitoferrin 1 Düzeyleri Yönünden Karşılaştırması

	Hepsidin(ng/mL) Ortalama±SS	GDF15 (pg/mL) Ortalama±SS	Mitoferrin1(pg/mL) Ortalama±SS
PV (n=10 hasta)	15,31±10,91	301,64±159,84	40,35±12,94
Sağlıklı Kontrol (n=27 kişi)	23,51±12,14	178,20±77,03	42,73±9,63
<i>P</i> -değeri	0,291	0,013*	0,791
ET (n=17 hasta)	26,74±19,30	267,97±127,78	35,03±7,95
Sağlıklı Kontrol (n=27 kişi)	23,51±12,14	178,20±77,03	42,73±9,63
<i>P</i> -değeri	0,756	0,034*	0,038*
PV (n=10 hasta)	15,31±10,91	301,64±159,84	40,35±12,94
ET (n=17 hasta)	26,74±19,30	267,97±127,78	35,03±7,95
<i>P</i> -değeri	0,131	0,734	0,371

*P <0,05 istatistiksel anlamlı

5.TARTIŞMA

Polisitemia vera, erkeklerde biraz daha sık görülmekle birlikte her iki cinsiyette benzer oranlarda görülen bir hastalıktır. Ortalama tanı yaşı 60 tır.¹³ Carobbio ve ark.nın¹⁸⁷ PV hastaları üzerinde yaptığı bir çalışmada, hastaların yaş ortalaması 61; kadın/erkek oranı %46/%54 olarak saptanmıştır. Gangat ve ark.nın¹⁸⁸ PV hastaları ile yaptığı bir çalışmada ise yaş ortalaması 60, kadın/erkek oranı % 44,3/%55,7 bulunmuştur. Bizim çalışmamızda PV grubunun cinsiyet dağılımı erkek/kadın %40/%60, yaş ortalaması 57,8 ±15,3 bulunarak mevcut çalışmalarla uyumlu olduğu görüldü.

PV tüm miyeloid seride artış ile karakterizedir bu yüzden beyaz küre, hemoglobin ve trombosit artışı görülür.⁷ Bonicelli ve ark.nın¹⁸⁹, 300 den fazla PV hastası ile yaptığı bir çalışmada, ortanca lökosit $13 \times 10^9/L$ ve trombosit sayısı $515 \times 10^9/L$ olarak normalden yüksek ölçülmüştür. Ortanca hemoglobin ise 17,6 g/dL ölçülmüştür. Lim Y. ve ark.nın¹⁹⁰ yaptığı bir çalışmada ortanca hemoglobin değeri 19 g/dl, trombosit $415 \times 10^9/L$ ve lökosit $15 \times 10^9/L$ saptanmıştır. Bizim çalışmamızda PV hastalığı ile uyumlu olacak şekilde beyaz küre, hemoglobin ve trombosit artışı görüldü.

PV hastalığının karakteristiği olarak hemoglobin konsantrasyonu, eritrosit sayımı ve hematokrit genellikle artmıştır.⁷⁵ Serum demir ve ferritin seviyeleri azalmıştır.⁴¹ Bizim çalışmamızda da PV hastalarında serum demir, ferritin seviyeleri ve transferin saturasyonunu azalmış, hematokrit seviyeleri artmış olarak bulundu.

Serum LDH düzeyi PV hastalarında yüksek olarak saptanabilmektedir.⁷ Akay ve ark.nın¹⁹¹ miyeloproliferatif hastalar üzerinde yaptığı çalışmada PV hastalarında %69 oranında serum LDH yüksekliği görülmüştür. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde PV grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı yüksek serum LDH değerleri elde edildi (p:<0,001).

PV tanısı konulan ve tedavi görmeyen hastalar trombotik ve hemorajik olayların riski artmıştır.⁷ 1545 tane PV li hastanın incelendiği bir çalışmada tanı öncesi arteriyal ve venöz tromboz öyküsü %23,4 olarak bulunmuştur.⁹⁸ Gangat ve grubunun¹⁸⁸ PV hastaları ile yaptığı çalışmada ise tanı öncesi tromboz öyküsü %22 bulunmuştur. Bizim çalışmamızda, PV grubunda 2 hastada (%20,0) tromboz öyküsü mevcuttu ve çalışmalarla uyumlu olduğu görüldü.

PV hastalarının fizik muayene bulguları arasında splenomegali yer alır.⁷ Akay ve ark.nın¹⁹¹ yaptığı çalışmada PV hastalarında splenomegali oranı %79 bulunmuştur. Gangat ve grubunun¹⁸⁸ 459 PV hastası ile yaptıkları çalışmada palpable splenomegali oranı % 46 saptanmıştır. Bizim çalışmamızda literatüre benzer şekilde PV grubunda 8 hastada (%80,0) splenomegali saptandı.

Esansiyel trombositoz hastalığı, her iki cinsiyette benzer oranlarda görülür ve ortalama tanı yaşı 50-60 tır.⁵⁴ Passamonti ve ark.nın¹⁹² ET hastaları ile yaptığı bir çalışmada ortanca tanı yaşı 55, erkek/kadın oranı %38/62 bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ET grubunun cinsiyet dağılımı %41,2/%58,8; yaş ortalaması 56,6 ±12,5 bulunarak literatür ile benzer sonuçlar elde edildi.

ET nin önemli özelliği sürekli ve açıklanamayan trombosit sayımı yüksekliğidir.⁵⁴ Chou ve ark.nın¹⁹³ ET hastaları ile yaptığı bir çalışmada ET hastalarının ortanca trombosit sayısı 813 x10⁹/L olarak oldukça yüksek bulunmuştur. ET hastalarının katıldığı büyük bir çalışmada lökositözün yaygın bir bulgu olduğu görülmüştür.¹¹² Chou ve ark.nın¹⁹³ yaptığı aynı çalışmada ortanca lökosit sayısı 11,2x10⁹/L olarak normalden yüksek ölçülmüştür. Bizim çalışmamızda literatür verileriyle uyumlu olacak şekilde ET grubunda beyaz küre ve trombosit değerlerinde yükseklik görüldü. Serum LDH düzeyi ET hastalarında yüksek olarak saptanabilmektedir.⁵⁴ Akay ve ark nın¹⁹¹ miyeloproliferatif hastalar üzerinde yaptığı çalışmada ET hastalarında LDH yüksekliği %78 bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da ET grubunda LDH değerleri, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı yüksek ölçüldü (p:<0,001).

Başvuru sırasında semptomatik olan ET hastalarının çoğu, tromboz veya minör kanamalar ile başvurur.⁵⁴ Carobbio ve ark.nın¹¹⁰ DSÖ kriterlerine göre tanı almış 891 ET hastası ile yaptıkları bir çalışmada 6 yıl takip süresinin sonunda hastaların %12 sinde arteriyel veya venöz tromboz geliştiği görülmüştür. Bizim çalışmamızda ET grubunda 1 hastada (%5,9) tromboz öyküsü mevcuttu. PV ve ET grupları arası tromboz görülme sıklığında fark gözlenmedi. Bu uyumsuzluğun hasta sayımızın az olması ile ilişkili olduğu düşünüldü.

ET hastalarında splenomegali ile başvuru siktir.⁵⁴ Varghese ve ark.nın¹⁹⁴ 16 yılı içeren çalışmasında ET hastalarında splenomegali ile başvuru oranı % 19 saptanmıştır. Chou ve ark.nın¹⁹³ 146 ET hastası ile yaptıkları çalışmada splenomegali oranı % 28,1 bulunmuştur. Bizim çalışmamızda literatür verileriyle uyumlu olarak ET grubunda 3 hastada (%17,6)

splenomegali saptandı. PV grubunda ET grubunda göre daha fazla sayıda hastada splenomegali saptanması anlamlı bulundu.

PV, ET ve miyelofibrozis hastalarını içeren KMPH hastaları ile ilgili birkaç vaka çalışmasında histolojik olarak glomerulopati ve nefrotik sendrom gösterilmiştir.¹⁹⁵⁻¹⁹⁸ 138 KMPH hastasının tarandığı retrospektif bir çalışmada glomerulonefrit oranı %3,6 bulunmuştur.¹⁹⁹ Yakın zamanda KMPH ile ilişkili glomerulopati yeni bir histolojik tanı olarak sunulmuştur.¹⁹⁵ 9 yıl boyunca 143 KMPH hastasının izlendiği bir çalışmada, tanı anında %29 hastada evre 3-veya 4 kronik böbrek hastalığı saptanmıştır. %20 hastada GFR de ($>3 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$) beklenmeyen hızlı bir kayıp olmuştur. Bu hastalarda artan hücre sayımının (lökosit, trombosit, eritrosit) ve inflamatuvar sitokinlerin glomeruler endoteli endoteli etkileyebileceği hipotezi ileri sürülmüştür.²⁰⁰ Bizim çalışmamızda bu verileri destekler şekilde, KMPH grubunda ortanca serum kreatinin değeri sağlıklı kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek ölçülmüştür (p:0,017). Çalışmamızda izlem süresi olmadığı için glomerulopati ile ilişkili detaylı veriler analiz edilemedi.

Hepsidein sistemik demir hemostazında anahtar rol oynar. Hepsidin, ferroportine bağlanarak inhibe eder ve makrofajlardan demir salınımını, barsaklardan demir emilimini önler.¹³⁴

Hepsidin üretimi plazma demir seviyesi ve eritropoetik aktivite tarafından düzenlenir. Demir seviyesindeki artış, hepsidin üretimini arttırarak makrofaj ve duodenal enterositlerden plazmaya demir salınımını önler. Bu sayede plazma demiri sabit bir seviyede tutularak aşırı demir emilimi ve dokularda birikimi önlenmiş olur. Tersine demir eksikliği ise hepsidini baskılar. Ayrıca artan eritropoetik aktivite; hemoglobin üretimi için gerekli olan demirin makrofajlardan diğer hücelere aktarılmasını sağlamak amacıyla hepsidin üretimini baskılar. İnflamasyon ve enfeksiyon durumlarında konağın savunma sisteminin sonucu olarak mikroorganizmalara demir sağlanmasını önlemek amaçlı hepsidin seviyesi artar. Yüksek hepsidin seviyeleri ayrıca kanser ve akut yaralanma durumlarında görülür.⁵

Literatürde kronik miyeloproliferatif hastalıklarda hepsidin seviyeleri ölçümü ile ilgili birkaç çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan bir tanesinde dört tane miyelofibrozis hastasının idrar hepsidin seviyeleri ölçülmüş ve hepsidin seviyeleri düşük çıkmıştır.²⁰¹ Kwaipisz ve ark.nın²⁰² yaptığı başka bir çalışmada PV hastalarında prohepsidin seviyeleri

ölçülmüş ve kontrol grubuna göre düşük değerler elde edilmiştir. Özellikle demir eksikliği olan hastalarda hepsidin ölçümleri daha düşük bulunmuştur. Demir eksikliğine bağlı hepsidin azalmasının demir emilimini arttıracığı neticede eritropoez artışına neden olacağı ve bunun hastalığın patogenezinin bir parçasını açıkladığı düşünülmüştür.²⁰² Son çalışmalar ise prohepsidin seviyelerinin üriner ve serum hepsidin seviyeleri ile ilişkili olmadığını göstermiştir.^{202,203} Tarkun ve ark.nın²⁰⁴ PV ve ET hastalarını içeren KMPH hastaları ile yaptığı çalışmasında, KMPH hastalarının sağlıklı kontrol grubu ile serum hepsidin seviyeleri benzer ölçülmüştür ve ayrıca demir eksikliği olan PV hastalarında serum hepsidin seviyeleri değişiklik göstermemiştir. Bizim çalışmamızda benzer şekilde KMPH grubunun sağlıklı kontrol grubu ile serum hepsidin seviyeleri benzer ölçüldü ve demir eksikliğinin serum hepsidin seviyelerini değiştirmedığı görüldü. PV grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre düşük serum hepsidin değerleri bulunmasına rağmen istatistiksel fark saptanmadı. Bu veriler önceki çalışmaya benzer şekilde demir desteğini azaltılarak hematopoezi azaltmaya yönelik vücudun savunma mekanizması olduğunu gösterir niteliktedir.

GDF15, TGF- β superailisinin bir üyesidir.¹⁷³ Buna bağlı olarak GDF 15 üretimi hücrel stres, hasar ve apoptozis ile ilişkilidir. İnefektif eritropoezin gözlemlendiği talasemi sendromları, konjenital diseritropoez, sideroblastik anemi, piruvat kinaz eksikliği gibi hastalıklarda GDF-15 matur eritroblastlardan yüksek miktarda salgılanır. Artan GDF-15 seviyeleri hepsidin üretimini baskılar. Bu baskılanma için çok yüksek miktarda GDF-15 seviyesi gereklidir.^{6,165,176,205}

Tarkun ve ark.nın²⁰⁴ PV ve ET hastalarını içeren KMPH hastaları ile yaptığı çalışmasında, KMPH grubunda serum GDF-15 seviyeleri; sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek ölçülmüştür. Yine bu çalışmada PV ve ET gruplarının serum GDF-15 seviyeleri benzer bulunmuştur. KMPH grubunda GDF-15 seviyelerinin artışı, eritroblastik aktivite artışına bağlanmıştır. Çalışmamızda, bu çalışmaya benzer şekilde, KMPH grubunda sağlıklı kontrol grubundan daha yüksek serum GDF-15 seviyeleri elde edildi (p:0,002). PV ve ET gruplarının serum GDF-15 seviyeleri benzer ölçüldü.

Literatürde GDF-15 in hepsidin salgınımı düzenlenmesinde potansiyel rolünü gösteren birkaç çalışma mevcuttur. Tanno ve ark.ları¹⁶⁵ inefektif hematopoezin görüldüğü β talasemili hastalarda serum GDF-15 seviyelerini yüksek, hepsidin seviyelerini ise düşük

olarak bulmuşlardır. Yine bu çalışmada insan hepatosit kültürlerinde talasemili hastalardaki serum GDF-15 ve rekombinant GDF-15 in, hepsidin üretimini baskıladığı gösterilmiştir. Bu baskılanma için yüksek GDF-15 seviyeleri gerekli olmuş (>5000 pg/mL) ve en yüksek dozda 100.000 pg/mL bile ilave edildikten sonra baskılanma tam olarak gerçekleşmemiştir.¹⁶⁵ Mast ve ark.larının²⁰⁶ yaptığı başka bir çalışmada, efektif hematopoezin beklendiği yoğun miktarda kan vericilerinde hepsidin seviyeleri düşük ölçülmüş fakat GDF-15 seviyelerinde önemli bir artış izlenmemiştir. Tarkun ve ark.nin²⁰⁴ yaptığı çalışmada KMPH grubunda serum GDF-15 seviyeleri anlamlı yüksek bulunmuş, fakat serum hepsidin seviyelerinde kontrol grubu ile fark izlenmemiştir. Ayrıca GDF-15 ile hepsidin seviyeleri arasında korelasyon bulunmamıştır. Bu sonuçlar GDF-15 in, hepsidini baskılayabilecek kadar artmamış olmasına bağlanmıştır. Ayrıca eritropoetik aktivite ve GDF15 seviyeleri artışına rağmen hepsidin seviyelerinin baskılanmamış olması, eritropoetik aktivitenin daha fazla artmasını önlemek amaçlı demir kullanımını azaltmaya yönelik bir çaba olabileceği hipotezi kurulmuştur. Bir diğer açıklayıcı yaklaşım, miyeloproliferatif hastalıklarda hepsidin salınım düzenlenmesinde yer alan BMP6 ekspresyonunun artması veya çalışmada sınırlı sayıda hastanın yer alması olarak gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da serum GDF15 ile hepsidin düzeyleri arasında korelasyon saptanmadı. Bu sonuç önceki çalışma ile benzer şekilde GDF15 in, hepsidini baskılayabilecek düzeyde artmamış olmasına, miyeloproliferatif hastalıklarda hepsidin salınım düzenlenmesinde yer alan BMP6 ekspresyonunun artmasına, eritropoetik aktivitenin aşırı artmasını önlemeye yönelik geliştirilmiş bir savunma mekanizmasına veya yeterli sayıda hastaya ulaşılamamış olmasına bağlandı.

Mitokondriye demir molekülünün taşınması **mitoferrin** olarak adlandırılan mitokondriyal taşıyıcı proteinler sayesinde olur. Mitoferrin 1 gelişmekte olan eritrositlerde mitokondriyal demir taşınması için gereklidir.^{3,131} Son çalışmalar mitoferrin 1 in, mitokondri membranında ferroşelataz ve Abcb 10 ile oligomerik yapıda bir kompleks oluşturduğunu, bu kompleks aracılığıyla hem sentezi için gerekli demirin mitokondriye taşındığını ve porfirine demir aktarımının sağlandığını göstermiştir.^{4,132}

Çalışmamızda KMPH grubunda serum mitoferrin 1 düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düşük ölçüldü (p:0,039). KMPH grubu ile benzer şekilde ET grubunda, anlamlı düşük serum mitoferrin 1 değerleri elde edildi (p:0,038). Oysa PV grubunda serum mitoferrin 1 düzeyleri düşük ölçülmesine rağmen istatistiksel fark saptanmadı. PV ve ET

gruplarının birbiri ile karşılaştırmasında serum mitoferrin 1 değerleri yönünden istatistiksel fark izlenmedi. KMPH grubunda serum mitoferrin 1 seviyelerinin düşük çıkma nedenleri ile ilişkili olarak birkaç teori üzerinde durulabilir. Bunların birincisi; mitoferrin 1 demir molekülünün mitokondriye girişine aracılık ettiği ve mitokondri içine demir girişini sağlamak amacıyla kullanıldığı için serum seviyeleri düşük saptanmış olabilir. Bu durumda serum mitoferrin 1 seviyelerindeki düşüş, myeloproliferatif hastalıklardaki hematopoez artışının indirekt bir göstergesi olabilir. KMPH grubunda serum mitoferrin 1 ölçümlerinin düşük çıkmasının diğer bir nedeni ise; tıpkı serum hepsidin seviyelerinde düşüş olmaması gibi bir savunma mekanizması olabilir. KMPH'larda hepsidin seviyeleri düşmemesi demir kullanımını azaltarak başta eritropoez olmak üzere myeloproliferasyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olabileceği düşünülmüştür. Serum mitoferrin 1 seviyelerinin düşük olmasının da mitokondriye demir taşınmasının azaltılıp yine myeloproliferasyonun kontrolünde yardımcı olabileceği kanısındayız. Bu konunun kesinlik kazanabilmesi için bu hasta grubunda hücre düzeyinde mitoferrin 1 gen ekspresyonunun ve sentezinin değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu hücresel savunma mekanizması, mitoferrin 1 ekspresyonunu engelleyen tespit edilmemiş ek faktörler ile de gerçekleşiyor olabilir. Üçüncü bir mekanizma; mitoferrin 1 ile kompleks oluşturan Abcb 10, ferroşelataz proteinlerinin veya bu kompleksin henüz keşfedilmemiş bir üyesinin, mitoferrin üzerine direkt olarak inhibisyon yapması ile oluşabilir. Bu teorilerin hepsi KMPH'larda hiperviskosite artışı nedeni ile oluşan ve kliniğin bir parçası olan tromboembolik olayların önlenmesine yönelik koruyucu bir mekanizma olabilir. Eritropoezin daha baskın olduğu PV grubunda anlamlı düşük serum mitoferrin 1 değerlerinin elde edilememesi yeterli hasta sayısına ulaşamamasına bağlanmıştır. Literatürde KMPH hastalarında serum mitoferrin 1 ölçümüne dayanan bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız bu hastalarda serum mitoferrin 1 düzeylerini gösteren ilk çalışma olduğundan veri karşılaştırması yapılamamıştır.

Çalışmamızda KMPH grubunda serum GDF15 seviyelerinin erkeklerde, kadınlardan daha yüksek olduğu gözlemlendi ve istatistiksel fark bulundu. Bu fark GDF15 in matur eritroblastlardan yüksek miktarda salgılanmasına ve erkeklerin daha yüksek eritrosit kütesine sahip olmasına bağlandı. Ayrıca bu sonucun, cinsiyet hormonları ile ilişkili olabileceği düşünüldü. KMPH hastalarında hepsidin ve mitoferrin seviyeleri ile cinsiyet arasında ise ilişki bulunmadı.

JAK2 V617F nokta mutasyonunun PV, ET ve primer miyelofibroziste görüldüğü kanıtlanmıştır. Mutasyon 1849 kök pozisyonu ekzon 14 te; G nin T ye homozigot transversiyonu ile görülür ve bu JAK2 nin 617 inci pozisyonunda valinin fenilalanine yer değiştirmesine (V617F) neden olur ve böylece tirozin kinaz aktivitesi artar. JAK2V617F mutasyonunun kök hücre seviyesinde olduğu gösterilmiş ve bu mutasyonun tanı koydurucu kriteri olduğu kadar PV ve ET yi içeren KMPH gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir.⁴³

Yonal-Hindilerden ve ark.nin²⁰⁷, 2015 yılında Türk popülasyonundaki ET hastaları ile yaptığı bir çalışmada JAK2 V617F mutasyonu %59,8 oranında saptanmıştır. 2014 yılında Vytrva ve ark.nin²⁰⁸ yaptığı çalışmada JAK2 V617F mutasyonu PV hastalarında %97,5; ET hastalarında %46,2 oranında saptanmıştır. Ancochea ve ark.nin²⁰⁹ yaptığı çalışmada mutasyon oranı PV hastalarında %94, ET hastalarında %64 saptanmıştır. Payzin ve ark.nin²¹⁰ 2014 te yaptığı çalışmada mutasyon oranı PV hastalarında %98, ET hastalarında %68 oranında görülmüştür. Levine ve ark.nin²¹¹ 2006 da yaptığı çalışmada ise PV hastalarında %99, ET hastalarında %72 oranında JAK2 V617F mutasyonu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda JAK2 mutasyonu PV grubunda %100, ET grubunda %82,4 oranında pozitif bulunarak literatür ile benzer ölçümler elde edildi. PV ve ET grupları arasında JAK2 mutasyonu görülme sıklığı yönünden fark saptanmadı.

Hepsidin sıkı bir şekilde ferroportin seviyelerini düzenler. Hepsidinin ferroportine bağlanması ile ferroportin fosforilasyonu gerçekleşmiş olur.¹³⁸ Domenico ve ark.ları²¹², JAK2 nin bu fosforilasyon için gerekli olduğunu ve JAK2 nin ferroportine bağlanmasının hepsidin bağımlı olduğunu göstermişlerdir. Takip eden yıllarda Ross ve ark.ları²¹³ hepsidin aracılı ferroportin internalizasyonu için JAK2 nin gerekli olmadığını ve JAK-STAT yolunun ferroportin fosforilasyonuna dahil olmadığını göstermişlerdir. Tarkun ve ark nın²⁰⁴ KMPH hastaları ile yaptığı çalışmada, hepsidin düzeyleri JAK2 mutasyonu olan ve olmayanlar hastalarda benzer bulunmuştur. Aynı çalışmada GDF15 düzeyleri JAK2 V617F mutasyonu olan hastalarda anlamlı düzeyde yüksek ölçülmüştür. Bu bulgulara rağmen, hepsidin ile GDF15 arasındaki negatif korelasyon gösterilemediği için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir. Birbiri ile çelişen tüm bu literatür verileri nedeniyle KMPH olanlarda JAK2 mutasyonunun demir metabolizması üzerindeki direkt rolü kesinlik kazanmamıştır. Bizim çalışmamızda ise KMPH grubu içinde, JAK2 mutasyonu olan ve olmayan hastalar arasında serum GDF15 ve mitoferrin 1 değerleri benzer bulundu. Oysa JAK2 mutasyonu olanlarda hepsidin düzeyleri, demir eksikliği

durumundakine benzer olarak anlamlı şekilde düşük ölçüldü. Önceki çalışma ile çelişen bu verinin, JAK2 negatif grupta sadece üç hasta olduğu için yorumlanmamasının uygun olacağı düşünülmüştür.

Sonuç olarak çalışmamızın temel amacı olan KMPH grubunda GDF15, hepsidin düzeyleri sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslandığında; literatürdeki tek çalışma ile uyumlu olarak serum GDF15 düzeyleri anlamlı yüksek, hepsidin düzeyleri ise benzer bulunmuştur. KMPH hastalarında serum mitoferrin 1 düzeyleri ise kontrol grubuna göre anlamlı düşük ölçülmüştür ve bu hasta grubunda mitoferrin 1 düzeylerini değerlendiren ilk çalışmadır.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada DSÖ kriterlerine göre yeni tanı almış 10'u polisitemia vera (PV), 17'si esansiyel trombositoz (ET) hastası olmak üzere kronik miyeloproliferatif hastalığı (KMPH) olan toplam 27 hasta; demografik özellikleri, laboratuvar değerleri, serum GDF15, hepsidin, mitoferrin 1 düzeyleri ve JAK2 V617F mutasyonu yönünden karşılaştırılmıştır.

Hastalar değerlendirildiğinde KMPH grubunun serum hepsidin düzeyleri, sağlıklı kontrol grubu ile benzer ölçülürken (p:0,806), serum GDF15 düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan yüksek ölçüldü (p:0,002). Serum mitoferrin 1 düzeyleri ise sağlıklı kontrol grubuna göre düşük ölçüldü (p:0,039).

KMPH hastalarında serum GDF15 ve mitoferrin 1 değerleri, JAK2 V617F mutasyonu varlığı ile ilişkili bulunmadı. Oysa hepsidin seviyeleri, JAK2 V617F mutasyonu pozitif olan hastalarda negatif olan hastalara göre düşük ölçüldü (p:0,007).

KMPH grubu PV ve ET olarak gruplara ayrıldığında serum GDF15 düzeyleri; PV grubunda ve ET grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek ölçüldü (sırasıyla p:0,013; p:0,034).

Serum hepsidin düzeyleri PV grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre düşük ölçüldü fakat istatistiksel olarak fark saptanmadı (p:0,291). ET grubunda ise kontrol grubuna göre benzer ölçümler elde edildi (p:0,756).

Serum mitoferrin 1 düzeyleri PV grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre düşük ölçüldü fakat istatistiksel fark saptanmadı (p:0,791). ET grubunda ise serum mitoferrin 1 düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre düşük bulundu (p:0,038).

Sonuç olarak, KMPH'lar myeloproliferasyonun arttığı ve buna bağlı klinik bulguların ortaya çıktığı bir grup hastalıktır. Bu hastalıklar genetik mutasyonların yol açtığı kök hücre hastalıklarıdır. Hastalıkların gelişimi sırasında birçok mekanizma ile vücut kendini korumaya çalışmaktadır. Hematopoezde önemli rolü olan demir bu savunmada anahtar role sahip gibi görünmektedir. Demir metabolizmasında etkili olan hepsidin, mitoferrin 1 gibi birçok molekülün, bu hastalıkların kliniğinin ortaya çıkışında koruyucu olarak rol aldığı düşünülmektedir. Kısıtlı sayıda hasta içeren çalışmamızda JAK2 mutasyonunun bu grup

hastalıklardaki demir metabolizması üzerine bir etkisi tespit edilmedi. Birçok bilinmeyen olduğu bu konuların açığa çıkarılması için özellikle hepsidin ve mitoferrinin gen ekspresyonlarının çalışıldığı geniş hasta popülasyonlarını içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.



7. ÖZET

AMAÇ: Polisitemia vera (PV) ve esansiyel trombositoz (ET), tüm miyeloid seride artış ile kendini gösterebilen ve büyük oranda JAK2 mutasyonu ile ilişkili kronik miyeloproliferatif hastalık grubu (KMPH) içinde yer alır. GDF15, hepsidin ve mitoferrin 1 sistemik demir metabolizmasında rol alan proteinlerdir. İnefektif eritropoez görülen hastalar başta olmak üzere GDF15 ve hepsidin ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Mitoferrin 1 ile ilgili çalışmalar ise frascati zebrafish ve fare hücre kültürlerinde yapılmış olup serum düzeyi ölçümlerine dayanan bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada KMPH grubu içinde yer alan PV ve ET hastalarında demir metabolizmasını araştırmak amacıyla serum GDF15, hepsidin ve mitoferrin 1 düzeyleri çalışılmıştır.

METHOD: Çalışmamıza, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı polikliniğine Mart 2014 ile Ocak 2015 tarihleri arası başvuran, 2008 DSÖ kriterlerine göre yeni tanı konulan, daha önce herhangi bir tedavi uygulanmamış 10 PV ve 17 ET hastası dahil edildi. Sağlıklı kontrol grubu olarak benzer yaş ve cinsiyet dağılımına sahip 27 kişi çalışmaya alındı. Hastaların serum GDF15, hepsidin ve mitoferrin 1 düzeyleri Elisa (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) metoduyla çalışıldı.

BULGULAR: KMPH grubunda serum GDF15 seviyeleri sağlıklı kontrol grubundan yüksek ölçülürken ($p:0,002$), serum hepsidin düzeylerinde fark gözlenmedi. Serum mitoferrin 1 düzeyleri ise sağlıklı kontrol grubundan düşük ölçüldü ($p:0,039$). Benzer şekilde ET hastalarında sağlıklı kontrol grubundan anlamlı düşük mitoferrin 1 düzeyleri elde edildi ($p:0,038$). PV ve ET grupları arasında GDF15, hepsidin ve serum mitoferrin 1 düzeyleri yönünden fark gözlenmedi.

SONUÇ: KMPH grubunda serum GDF15 düzeylerinin anlamlı yüksek bulunması eritropoez artışına bağlanmıştır. GDF15 düzeylerinin ve eritropoezin artışına rağmen hepsidin düzeylerinin baskılanmadığı görülmüştür. KMPH grubunda serum mitoferrin 1 düzeylerinin anlamlı düşük ölçülmesi eritropoez artışı nedeniyle oluşan kullanım artışına bağlı olabilir. Bunun yanında, eritropoez artışının veya hiperviskozite nedeniyle oluşan tromboembolik olayların önlenmesine karşı gelişen bir savunma mekanizmasının, hepsidin düzeylerinin baskılanmasını önleyebildiği gibi mitoferrin 1 düzeylerini azaltabilir. Mitoferrin 1 ile kompleks oluşturan Abcb 10, ferroşelataz proteinlerinin veya bu

kompleksin henüz keşfedilmemiş bir üyesinin, mitoferrin üzerine direkt olarak inhibisyon yapması da düşük ölçümün sebebi olabilir. Bu mekanizmaların açığa çıkarılması için özellikle hepsidin ve mitoferrinin gen ekspresyonlarının çalışıldığı geniş hasta popülasyonlarını içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

ANAHTAR KELİMELER: Polisitemia vera; esansiyel trombositoz; kronik miyeloproliferatif hastalık; GDF15; hepsidin; mitoferrin 1



8. ABSTRACT

AIMS: Polycythemia vera (PV) and Essential thrombocythemia (ET) are chronic myeloproliferative diseases (CMPD) associated with JAK2 mutation. GDF15, hepcidin and mitoferrin 1 are the proteins which have a role in systemic iron regulation. GDF15 and hepcidin studies were especially carried out in patients with ineffective eritropoesis. Studies associated with mitoferrin 1 were made in frascati zebrafish and mice eritroleukemia cells. There are no studies demonstrating the serum mitoferrin 1 levels in humans. The aim of this study is to investigate the iron metabolism via GDF15, hepcidin and mitoferrin 1 levels in PV and ET patients.

METHODS: 10 PV and 17 ET patients who admitted to hematology out-patient clinic of Kocaeli University Hospital between March 2014 and January 2015 and diagnosed according to WHO criteria were enrolled. The patients were newly diagnosed and free of any medication. The healthy group that is age and sex matched with patients consisted of 27 individuals without any diagnosed disease. The serum GDF15, hepcidin and mitoferrin 1 values were measured with Elisa (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) method.

RESULTS: The serum GDF-15 levels were found to be significantly higher in patients with CMPD ($p:0,002$). However, serum hepcidin levels in patients with CMPD were not significantly different from healthy controls. Mitoferrin 1 levels were significantly lower in CMPD patients ($p:0,039$). No difference could be found between patients with PV and ET in terms of hepcidin, GDF-15 and mitoferrin 1 levels. Serum mitoferrin 1 levels were found to be significantly lower in ET group in comparison with healthy control group ($p:0,038$).

CONCLUSION: The increase in serum GDF-15 levels in CMPD patients may be related to increased erythropoiesis in these patients. However, serum hepcidin levels were not suppressed despite the increased serum GDF15 levels and erythroid activity in these patients. In CMPD, serum mitoferrin 1 levels were significantly lower compared to healthy controls. This decrease in mitoferrin 1 levels can be the result of increased turn-over of this molecule due to increased myelopoiesis. Besides, a defense mechanism against increased erythroid activity and thromboembolic complications can result in similar hepcidin levels in patients and controls and a decline in the mitoferrin 1 levels in patients in comparison to

controls. Abcb10 or ferrochelatase which forms a complex with mitoferrin 1 or another unexplored molecule of the complex may be the cause of low mitoferrin 1 levels in patients. Further studies exploring the place of hepcidin and mitoferrin1 in CMPD pathogenesis are needed with larger populations.

KEY WORDS: Polycythemia vera; essential thrombocythemia; chronic myeloproliferative disease; GDF15; hepcidin; mitoferrin 1



9. KAYNAKLAR:

1. Hillman R, Ault K, Leporrier M, Rinder H. Eritrositoz ve Polisitemi Vera. Klinik Uygulamada Hematoloji, 5. Baskı. Lange Clinical Medicine. 2010:163-174
2. Bunn HF, Aster JC. Miyeloproliferatif Hastalıklar ve Miyelodisplastik Sendromlar. Kan Hastalıklarının Patofizyolojisi, 1.Baskı. Lange Clinical Medicine. 2011:229-243
3. Shaw GC, et all. Mitoferrin is essential for erythroid iron assimilation. Nature. 2006;440(7080):96-100
4. Chen W, Dailey HA, Paw BH. Ferrochelataze forms an oligomeric complex with mitoferrin-1 and Abcb10 for erythroid heme biosynthesis. Blood. 2010;116(4):628-30
5. Nemeth E, Ganz T. The role of hepcidin in iron metabolism. Acta Haematol. 2009;122:78-86
6. Tanno T, Noel P, Miller JL. Growth differentiation factor 15 in erythroid health and disease. Curr Opin Hematol. 2010;17(3):184-90
7. Hoffman R, Baker KR, Prchal JT. The Polycythemia. Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ Hematology: Basic Principles and Practice 4.Baskı. Elsevier Churchill Livingstone. 2004:1209-1291
8. Damashek W: Some speculations on the myeloproliferative syndromes. Blood. 1951;6:372
9. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, Harris NL, Le Beau MM, Hellström-Lindberg E, Tefferi A, Bloomfield CD. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood. 2009;114(5):937-51
10. Vaquez H: Sur une forme speciale de cyanose s`accompagnant d`hyperglobule excessive et persistente. CR Soc Biol. 1892;44:384
11. Cabot RC. A Case of chronic cyanosis without discoverable cause, ending in cerebral hemorrhage. Boston Med Surg J. 1899;141:574
12. Osler W. Chronic cyanosis with polycythemia and enlarged spleen: A new clinical entity. Am J Med Sci. 1903;126:187

13. Kutti J, Ridell B. Epidemiology of the myeloproliferative disorders: Essential thrombocythemia, polycythemia and idiopathic myelofibrosis. *Pathol Biol (Paris)*. 2001;49:164
14. Johansson P, Kutti J, Andreasson B, et al. Trends in the incidence of chronic Philadelphia chromosome negative myeloproliferative disorders in the city of Goteborg, Sweeden during 1983-99. *J Intern Med*. 2004;256:161
15. Marsh GM, Enterline PE, McCraw D. Mortality patterns among petroleum refinery and chemical plant workers. *Am J Ind Med*. 1991;19:29
16. Kubota K, Tamura J, Shirakura T, et al. The behavior of red cells in the narrow tubes in vitro as a model of the microcirculation. *BR J Haematol*. 1996;94:266
17. Ellis JT, Silver RT, Collman M, Geller SA. The bone marrow in the polycythemia vera. *Semin Hematol* 1975;12:433
18. Tillman W, Schröter W. Deformability of erythrocytes in iron deficiency anemia. *Blood*. 1980;40:9
19. Yip R, Mohandas N, Clark MR, et al. Red cell membrane stiffness in iron deficiency. *Blood*. 1983;62:99
20. Dawson AA, Ogston D. The influence of the platelet count on the incidence of trombotic and haemorrhagic complications in polycythemia vera. *Postgrad Med J*. 1970;46:76
21. Kessler CM, Klein HG, Havlik RJ. Uncontrolled thrombocytosis in chronic myeloproliferative disorders. *Br J Haematol*. 1982;50:157
22. Berk PD, Goldberg JN, Donovan PB, et al. Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols. *Semin Hematol*. 1986;23:132
23. Landolfi R, Ciabattoni G, Patrignani P, et al. Increased thromboxane biosynthesis in patients with polycythemia vera: Evidence for aspirin- suppressible platelet activation in vivo. *Blood*. 1992;80:1965
24. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med*. 2004;350:114
25. Spivak J. Daily aspirin- only half the answer. *N Engl J Med*. 2004;350:99
26. Gruppo Italiano Studio Policitemia (GISP): Low dose aspirin in polycythemia vera: A pilot study. *Br J Haematol*. 1997;77:453

27. Landolfi R, Patrono C. Aspirin in polycythemia vera and essential thrombocythemia: current fads and perspectives. *Leuk Lymph.* 1996;22(Suppl 1):83
28. Michiels JJ, Abels J, Steketee J, et al. Erythromelalgia caused by platelet mediated arteriolar inflammation and thrombosis in thrombocythemia. *Ann Intern Med.* 1985;102:466
29. Schafer AI. Bleeding and thrombosis in myeloproliferative disorders. *Blood.* 1984;64:1
30. Alvarez-Larran A, Garcia-Trepagan JC, Abrales JG, et al. Increased CD11b neutrophil expression in Budd-Chiari Syndrome or portal vein thrombosis secondary to polycythemia vera. *Br J Hematol.* 2004;127:329
31. Falanga A, Marchetti M, Evangelista V, et al. Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood.* 2000;96:4261
32. Michiels JJ, Leenknecht H, Budde U. Acquired von Willebrand disease in myeloproliferative disorders. *Leuk Lymph.* 1996;22:79
33. Finnazzi G, Budde U, Michiels JJ. Bleeding time and platelet function in essential thrombocythemia and other myeloproliferative syndromes. *Leuk Lymph.* 1996;22:71
34. Prchal JF, Axelrad AA. Bone marrow responses in polycythemia vera. *N Engl J Med.* 1974;290:1382
35. Zanjani ED, Lutton JD, Hoffman R, Wasserman LR. Erythroid colony formation by polycythemia vera bone marrow in vitro: Dependence on erythropoietin. *J Clin Invest.* 1977;59:841
36. Ash RC, Detrick RA, Zanjani ED. In vitro studies of human pluripotent hematopoietic progenitors in polycythemia vera. *J Clin Invest.* 1982;69:1112
37. Singer JW, Fialkow PJ, Adamson JW, et al. Polycythemia vera: Increased expression of normal committed granulocytic stem cells in vitro after exposure of marrow to tritiated thymidine. *J Clin Invest.* 1979;64:1320
38. Prchal JF, Adamson JW, Murphy S, et al. Polycythemia vera: The in vitro response of normal and abnormal stem cell lines to erythropoietin. *J Clin Invest.* 1978;61:1044
39. Eaves JV, Eaves AC. Erythropoietin dose response curves for three classes of erythroid progenitors in normal human marrow and in patients with polycythemia vera. *Blood.* 1978;52:1196

40. Tefferi A. JAK2 Mutations and Clinical Practice in Myeloproliferative Neoplasms. *Cancer J.* 2007;13: 366–371
41. Josef T, Prchal FJ. Polycythemia vera. Lichtman M, Kaushansky K, Beutler E, Seligsohn U, Kipps T, Prchal FJ. *Williams Hematology*, 8. Baskı. United States: McGraw-Hill. 2010:1919-1943
42. Michael Bennett, et al. Recent advances in the bcr-abl negative chronic myeloproliferative diseases. *J Transl Med.* 2006;4:41-41
43. Tefferi A. JAK and MPL mutations in myeloid malignancies. *Leukemia & Lymphoma.* 2008;49(3):388–397
44. Uptodate: Prchal JT, Schrier SL. Molecular pathogenesis of congenital polycythemic disorders and polycythemia vera. http://www.uptodate.com/contents/molecular-pathogenesis-of-congenital-polycythemic-disorders-and-polycythemia-vera?source=search_result&search=Molecular+pathogenesis+of+congenital+polycythemic+disorders+and+polycythemia+vera.&selectedTitle=1%7E150. Erişim Tarihi: 17.06.2015
45. Pasquier F, Cabagnols X, Secardin L, Plo I, Vainchenker W. Myeloproliferative neoplasms: JAK2 signaling pathway as a central target for therapy. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2014;14:23-35.
46. James C, Ugo V, Le Couedic J-P et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signaling causes polycythemia vera. *Nature.* 2005;434:1144-8
47. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia.* 2010;24(6):1128–1138.
48. Pardanani A, Lasho TL, Finke C, et al. Prevalence and clinicopathologic correlates of JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythemia vera. *Leukemia.* 2007;21(9):1960– 1963.
49. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Clinical correlates of JAK2V617F presence or allele burden in myeloproliferative neoplasms: A critical reappraisal. *Leukemia.* 2008;22(7):1299–1307.
50. Passamonti F, Rumi E, Pietra D, et al. A prospective study of 338 patients with polycythemia vera. The impact of JAK2V617F allele burden and leukocytosis on

fibrotic or leukemic disease transformation and vascular complications. *Leukemia*. 2010;24(9):1574–1579.

51. Tefferi A. Mutant molecules of interest in myeloproliferative neoplasms: introduction. *Acta Haematol*. 2008;119(4):192–193.
52. Lasho TL, Tefferi A, Hood JD, et al. TG101348, a JAK2-selective antagonist, inhibits primary hematopoietic cells derived from myeloproliferative disorder patients with JAK2V617F, MPLW515K or JAK2 exon 12 mutations as well as mutation negative patients. *Leukemia*. 2008;22(9):1790–1792
53. Vakil E, Tefferi A. BCR-ABL1--negative myeloproliferative neoplasms: a review of molecular biology, diagnosis, and treatment. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2011;11:37-45
54. Fruchtmann SM, Hoffman R. Essential Thrombocythemia. Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ *Hematology: Basic Principles and Practice*, 4. Baski. Elsevier Churchill Livingstone. 2004:1277-1296
55. Y. Pikman, B.H. Lee, T. Mercher, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med*. 2006;3:270
56. A.M. Vannucchi, E. Antonioli, P. Guglielmelli, et al. Characteristics and clinical correlates of MPL W515L/K mutation in essential thrombocythemia. *Blood*. 2008;112:844–847
57. P.A. Beer, P.J. Campbell, L.M. Scott, et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood*. 2008;112:141–149
58. P. Guglielmelli, A. Pancrazzi, G. Bergamaschi, et al. Anemia characterises patients with myelofibrosis harbouring Mpl mutation. *Br J Haematol*. 2007;137:244–247
59. X. Lu, R. Levine, W. Tong, et al. Expression of a homodimeric type I cytokine receptor is required for JAK2V617F-mediated transformation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:18962–18967
60. Broseus J, Park JH, Carillo S, et al. Presence of calreticulin mutations in JAK2-negative polycythemia vera. *Blood*. 2014.
61. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;369(25): 2379–2390.

62. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2391–2405.
63. Rotunno G, Mannarelli C, Guglielmelli P, et al. Impact of calreticulin mutations on clinical and hematological phenotype and outcome in essential thrombocythemia. *Blood*. 2013. DOI 10.1182/blood-2013-11-538983.
64. Rumi E, Pietra D, Ferretti V, et al. JAK2 or CALR mutation status defines subtypes of essential thrombocythemia with substantially different clinical course and outcomes. *Blood* 2013. DOI 10.1182/blood-2013-11-539098.
65. Tefferi A, Lasho TL, Finke CM, et al. CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: Clinical, cytogenetic and molecular comparisons. *Leukemia* 2014. Prepublished on 2014/01/10 as DOI 10.1038/leu.2014.3.
66. Ebert BL, Bunn HF. Regulation of the erythropoietin gene. *Blood*. 1999;94:1864
67. Witthuhn B, Quelle FW, Silvennoinen O, et al. JAK2 associated with the erythropoietin receptor and is tyrosine phosphorylated and activated following stimulation with erythropoietin. *Cell*. 1993;74:227
68. Parganas E, Wang D, Stravopodis D, et al. Jak2 is essential for signaling through a variety of cytokine receptors. *Cell*. 1998;93:385
69. D'Andrea AD, Yoshimura A, Youssoufian H, et al. The cytoplasmic region of the erythropoietin receptor contains nonoverlapping positive and negative growth-regulatory domains. *Mol Cell Biol*. 1991;11:1980
70. Le Couedic JP, Mitjavila MT, Villeal JL, et al. Missense mutation of the erythropoietin receptor is a rare event in human erythroid malignancies. *Blood*. 1996;87:1502
71. Mirza AM, Ezzat S, Axelrad AA. Insulin-like growth factor binding protein 1 is elevated in patients with polycythemia vera and stimulates erythroid burst formation in vitro. *Blood*. 1997;89:1862
72. Barbui T, Carobbio A, Rumi E, et al. In contemporary patients with polycythemia vera, rates of thrombosis and risk factors delineate a new clinical epidemiology. *Blood*. 2014;124(19):3021– 3023.

73. 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;116:21
74. Denman ST. A review of the pruritus. *J Am Acad Dermatol.* 1986;14:375
75. Ruggeri M, Tossetto A, Frezzato M, Rodeghiero F. The rate of progression to polycythemia vera or essential thrombocythemia in patients with erythrocytosis or thrombocytosis. *Ann Intern Med.* 2003;139:470
76. Tefferi A, Sirhan S, Lasho TL, et al. Concomitant neutrophil JAK2 mutation screening and PRV-1 expression analysis in myeloproliferative disorders and secondary polycythaemia. *Br J Haematol.* 2005;131(2):166–171
77. James C, Delhommeau F, Marzac C, et al. Detection of JAK2 V617F as a first intention diagnostic test for erythrocytosis. *Leukemia.* 2006;20(2):350–353
78. Mossuz P, Girodon F, Donnard M, et al. Diagnostic value of serum erythropoietin level in patients with absolute erythrocytosis. *Haematologica* 2004;89(10):1194–1198
79. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al, eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC. 2008.
80. Messinezy M, Westwood NB, Woodcock SP, et al. Low serum erythropoetin a strong criterion of primary polycythemia even at normal hemoglobin levels. *Clin Lab Haem.* 1995;17:217
81. Messinezy M, Westwood NB, El Hemaidi I, et al. Serum erythropoietin values in erythrocytoses and in primary thrombocythemia. *Br J Haematol.* 2002;117:47
82. Spival JL. Polycythemia vera: Myths, mechanisms and management. *Blood.* 2002;100:4272
83. The Nordic study group on myeloproliferative disorders (NMPD). Guidelines for the diagnosis and treatment of patients with polycythemia vera, essential thrombocythemia and primary myelofibrosis. 2009.
84. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D, Wilkins BS, van der Walt JD, Reilly JT, Grigg AP, Revell P, Woodcock BE, Green AR. United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocythemia 1 Study. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med.* 2005;353:33-45

85. Silver RT. Interferon alpha; effects of long term treatment for polycythemia vera. *Semin Hematol.* 1997;34:40
86. Lengfelder E, Berger U, Hehlman R. Interferon- α in the treatment of polycythemia vera. *Ann Hematol.* 2000;79:103-9
87. Hino M, Futami E, Okuno S, Miki T, Nishizawa Y, Morii H. Possible selective effect of interferon α -2b on a malignant clone in a case of polycythemia vera. *Ann Hematol.* 1993;66:16162
88. Messora C, Bensi L, Vechi A, Giacobbi F, Temperani P, Berini M, Emilio G, Sacci S. Cytogenetic conversion in a case of polycythaemia vera treated with interferon-alpha. *Br J Haematol.* 1994;86:402-04
89. Liu E, Jelinek J, Pastore YD, Guan Y, Prchal JF, Prchal JT. Discrimination of polycythemia and thrombocytoses by novel, simple, accurate clonality assays and comparison with PRV-1 expression and BFU-e response to erythropoietin. *Blood.* 2003;101:3294-3301.
90. Samuelsson J, Hasselbalch H, Bruserud O, Temerinac S, Brandberg Y, M Merup, Linder O, Bjorkholm M, Pahl H, & Birgegard G. A phase II trial of pegylated interferon α -2b therapy in polycythemia vera and essential thrombocythemia. Feasibility, clinical and biological effects and impact on quality of life. *Cancer.* 2006;106:2397-405
91. Fruehauf S, Topaly J, Villalobos M, Veldwijk MR, Laufs S, Ho AD. Quantitative real-time polymerase chain reaction shows that treatment with interferon reduces the initially upregulated PRV-1 expression in polycythemia vera patients. *Haematologica.* 2003;88:349-350
92. Kiladjian JJ, Cassinat B, Turlure P, Cambier N, Roussel M, Belluci S, Menot ML, Massonnet G, Dutel JL, Ghomari K, Rousselot P, Grange MJ, Chait Y, Vainchenker W, Parquet N, Abdelkader-Aljasseem L, Bernard JF, Rain JD, Chevret S, Chomienne C, Fenaux P. High molecular response rate of polycythemia vera patients treated with interferon alpha-2a. *Blood.* 2006;108:2037-2040
93. Kiladjian JJ, Cassinat B, Chevret S, Turlure P, Cambier N, Roussel M, Bellucci S, Grandchamp B, Chomienne C, Fenaux P. Pegylated interferon- α -2a induces complete hematologic and molecular responses with low toxicity in polycythemia vera. *Blood.* 2008;112:3065-72

94. Kiladjian JJ, Dupont S, Cassinat B, Massé A, Vainchenker W, Chomienne C, Delhommeau F, Fenaux P. Can Peg-interferon -2a eradicate JAK2V617F-positive bone marrow progenitors in polycythemia? *Blood*. 2008;112:659
95. Tefferi A, Rumi E, Finazzi G, et al. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: An international study. *Leukemia*. 2013;27(9):1874–1881.
96. Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, et al. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood*. 2014;124(16):2507–2513.
97. Landaw SA. Acute leukemia in polycythemia vera. In Waaserman R, Berk PO, Berlin NI(Eds). *Polycythemia vera and the myeloproliferative disorders*. Philadelphia, WB Saunders. 1995;p 154
98. Berk PD, Wasserman LR, Fruchtmann SM, Goldberg JD. Treatment of polycythemia vera: A summary of clinical trials conducted by the polycythemia vera study group. In Berk PD, Wasserman LR, Berlin NI(eds). *Polycythemia vera and the myeloproliferative disorders*. Philadelphia, WB Saunders.1995; p 166
99. Preston EE. Primary thrombocythemia. *Lancet*. 1982;1:102
100. Mesa RA, Silverstein M, Jacobsen J, et al. Population based incidence and survival figures in essential thrombocythemia and acrogenic myeloid metaplasia. Olmsted County Study,1976-1995. *Am J Hematol*. 1999;61:10
101. Kutti J, Ridel B. Epidemiology of the myeloproliferative disorders: Essential thrombocythemia, polycythemia vera and idiopathic myelofibrosis. *Pathol Biol*. 2001;49:164
102. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al: Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet*. 365:1054, 2005
103. Philip A. Beer and Anthony R. Green. *Essential Thrombocythemia*. Lichtman M, Kaushansky K, Beutler E, Seligsohn U, Kipps T, Prchal FJ. *Williams Hematology*, 8. Bask1. United States: McGraw-Hil. 2010:1944-1961
104. Regev A, Stark P, Blickstein D, Lahav M. Thrombotic complications in essential thrombocythemia with relatively low platelet count. *Am J Hematol*. 1997;3:168

105. Michiels JJ, Budde U, van der Planken M, et al. Acquired von Willebrand syndromes: Clinical features, aetiology, pathophysiology, classification and management. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2001;114:401
106. Finazzi G, Budde U, Michiels JJ. Bleeding time and platelet function in essential thrombocythemia and another myeloproliferative syndromes. *Leuk Lymphoma*. 1996;28(suppl):71
107. Falanga A, Marchetti M, Evangelista V, et al. Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood*. 2000;96:4261
108. Michiels JJ, van Genderen PJJ, Lindemans J, Van Vliet HHDM. Erythromelalgia, thrombotic and hemorrhagic manifestations of 50 cases of thrombocythemia. *Leuk Lymphoma*. 1996;28(suppl):71
109. Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood* 2012;120(26):5128– 5133; quiz 5252.
110. Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, et al. Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients. *Blood*. 2011;117(22):5857–5859.
111. Hehlmann R, Jahn M, Baumann B, Kopcke W. Essential thrombocythemia: Clinical characteristics and course of 61 cases. *Cancer*. 1988;61:2487
112. Iland HJ, Laszlo J, Peterson P et al. Essential thrombocythemia; Clinical and laboratory characteristics at presentation. *Trans Assoc Am Physicians*. 1983;96:165
113. Belluci S, Janvier M, Tobelem G et al. Essential thrombocythemias: Clinical, evolutionary and biological data. *Cancer*. 1986;58:2440
114. Buss DH, Cashell AW, O'Conner ML, et al. Occurrence, etiology and clinical significance of extreme thrombocytosis; A study of 280 cases. *Am J Med*. 1994;96:247
115. Jensen MK, de Nully Brown P, Lund BV, Nielsen OJ, Hasselbalch HC. Increased circulating platelet-leukocyte aggregates in myeloproliferative disorders is correlated to previous thrombosis, platelet activation and platelet count. *Eur J Haematol*. 2001;66:143-151.

116. Regev A, Stark P, Blickstein D, Lahav M. Thrombotic complications in essential thrombocythemia with relatively low platelet counts. *Am J Hematol.* 1997;56(3):168-72
117. Michiels JJ. Normal life expectancy and thrombosis-free survival in aspirin treated essential thrombocythemia. *Clin Appl Thromb Hemost.* 1999;5(1):30-6
118. Birgegård G, Björkholm M, Kutti J, Lärfars G, Löfvenberg E, Markevärn B, Merup M, Palmblad J, Mauritzson N, Westin J, Samuelsson J. Adverse effects and benefits of two years of anagrelide treatment for thrombocythemia in chronic myeloproliferative disorders. *Hematologica.* 2004;89:520-27
119. Storen EC, Tefferi A. Long-term use of anagrelide in young patients with essential thrombocythemia. *Blood.* 2001;97(4):863-6
120. Brandt L, Anderson H. Survival and risk of leukaemia in polycythemia vera and essential thrombocythaemia treated with oral radiophosphorus: are safer drugs available? *Eur J Haematol.* 1995;54(1):21-6
121. Barbui T, Thiele J, Passamonti F, et al. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: An international study. *J Clin Oncol.* 2011;29(23):3179–3184
122. Ernest Beutler. Disorders of Iron Metabolism. Lichtman M, Kaushansky K, Beutler E, Seligsohn U, Kipps T, Prchal FJ. *Williams Hematology*, 8. Baskı. United States: McGraw-Hil. 2010:860-934
123. Mackenzie B, Garrick MD: Iron Imports; Iron uptake at the apical membrane in the intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005;289:G981
124. McKie AT: A ferrireductase fills the gap in the transferrin cycle. *Nat Genet.* 2005;37:1159
125. Rouault T, Rao K, Harford J, et al: Hemin, chelatable iron and the regulation of transferrin receptor biosynthesis. *J Biol Chem.* 1985;260:14862
126. Cairo G, Pietrangelo A: Iron regulatory proteins in pathobiology. *Biochem J.* 2000;2:241
127. Nancy CA, ABCs of erythroid mitochondrial iron uptake. 2009;106(38): 16012–16013
128. Foury F, Roganti T. Deletion of the mitochondrial carrier genes. Deletion of the mitochondrial carrier genes MRS3 and MRS4 suppresses mitochondrial iron

- accumulation in a yeast frataxin-deficient strain. *J Biol Chem.* 2002;277(27):24475-83
129. Mühlenhoff U, et al. A specific role of the yeast mitochondrial carriers MRS3/4p in mitochondrial iron acquisition under iron-limiting conditions. *J Biol Chem.* 2003;278(42):40612-20.
130. Zhang Y, Lyver ER, Knight SA, Lesuisse E, Dancis A. Frataxin and mitochondrial carrier proteins, Mrs3p and Mrs4p, cooperate in providing iron for heme synthesis. *J Biol Chem.* 2005;280(20):19794-807
131. Paradkar PN, Zumbrennen KB, Paw BH, Ward DM, Kaplan J. Regulation of mitochondrial iron import through differential turnover of mitoferrin 1 and mitoferrin 2. *Mol Cell Biol.* 2009;29:1007–1016.
132. Chen W, et al. Abcb10 physically interacts with mitoferrin-1 (Slc25a37) to enhance its stability and function in the erythroid mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:16263–16268
133. Vasiliou V, Vasiliou K, Nebert DW. Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family. *Hum Genomics.* 2009;3(3):281-290
134. Nemeth E. Iron regulation and erythropoiesis. *Curr Opin Hematol.* 2008;15(3):169-75
135. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem.* 2001;276:7806-7810.
136. Krause A, Neitz S, Magert HJ, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett.* 2000;480:147-150
137. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem.* 2001;276:7811-7819
138. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, et al. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science.* 2004;306:2090-2093
139. Knutson MD, Oukka M, Koss LM, Aydemir F, WesslingResnick M. Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:1324-1328

140. Ganz T. Heparin and its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006;29-35:507
141. Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL, et al. Hephastin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet*. 1999;21:195-199.
142. Harris ZL, Durley AP, Man TK, Gitlin JD. Targeted gene disruption reveals an essential role for ceruloplasmin in cellular iron efflux. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96:10812-10817
143. Rayko Evstatiev, Christoph Gasche. Iron sensing and signalling. *Gut*. 2012;61(6):933-52
144. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, et al. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest*. 2004;113:1271-1276.
145. Truksa J, Peng H, Lee P, Beutler E. Bone morphogenetic proteins 2, 4, and 9 stimulate murine hepcidin 1 expression independently of Hfe, transferrin receptor 2 (Tfr2), and IL6. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:10289-10293.
146. Babitt JL, Huang FW, Wrighting DM, et al. Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat Genet*. 2006;38:531-539
147. Babitt JL, Huang FW, Xia Y, Sidis Y, Andrews NC, Lin HY. Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance. *J Clin Invest*. 2007;117:1933-1939.
148. Yu PB, Hong CC, Sachidanandan C, et al. Dorsomorphin inhibits BMP signals required for embryogenesis and iron metabolism. *Nat Chem Biol*. 2008;4:33-41.
149. Fleming MD. The regulation of hepcidin and its effects on systemic and cellular iron metabolism. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2008:151-8
150. Lin L, Valore EV, Nemeth E, Goodnough JB, Gabayan V, Ganz T. Iron-transferrin regulates hepcidin synthesis in primary hepatocyte culture through hemojuvelin and BMP2/4. *Blood*. 2007;110:2182-2189
151. Gehrke SG, Kulaksiz H, Herrmann T, et al. Expression of hepcidin in hereditary hemochromatosis: evidence for a regulation in response to the serum transferrin saturation and to non-transferrin-bound iron. *Blood*. 2003;102:371-376

152. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest.* 2002;110:1037-1044
153. Nemeth E, Valore EV, Territo M, et al. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood.* 2003;101:2461-2463.
154. Babitt JL, Huang FW, Wrighting DM, et al. Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat Genet.* 2006;38:531-539.
155. Truksa J, Peng H, Lee P, Beutler E. Bone morphogenetic proteins 2, 4, and 9 stimulate murine hepcidin 1 expression independently of Hfe, transferrin receptor 2 (Tfr2), and IL-6. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:10289-10293.
156. Wang RH, Li C, Xu X, et al. A role of SMAD4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression. *Cell Metabolism.* 2005;2:399-409
157. Lee P, Peng H, Gelbart T, Wang L, Beutler E. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:1906-1910
158. Kemna E, Pickkers P, Nemeth E, van der HH, Swinkels D. Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood.* 2005;106:1864-1866.
159. Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:4596-4601.
160. Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, et al. Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood.* 2005;106:2196-2199.
161. Weinstein DA, Roy CN, Fleming MD, et al. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood.* 2002;100:3776-3781
162. Rivera S, Liu L, Nemeth E, et al. Hepcidin excess induces the sequestration of iron and exacerbates tumor-associated anemia. *Blood.* 2005;105:1797-1802.
163. Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis JI, et al. Hepcidin in iron overload disorders. *Blood.* 2005;105:4103-4105
164. Kearney SL, Nemeth E, Neufeld EJ, et al. Urinary hepcidin in congenital chronic anemias. *Pediatr Blood Cancer.* 2005; Oct 11.

165. Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, et al. High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat Med.* 2007;13:1096-1101
166. <http://www.eclinpath.com/chemistry/iron-metabolism/physiology/hepcidin/> Erişim tarihi:19.06.15
167. Lawton LN, Bonaldo MF, Jelenc PC, et al. Identification of a novel member of the TGF-beta superfamily highly expressed in human placenta. *Gene.* 1997;203:17–26.
168. Bauskin AR, Brown DA, Kuffner T, et al. Role of macrophage inhibitory cytokine-1 in tumorigenesis and diagnosis of cancer. *Cancer Res.* 2006;66:4983–4986
169. Li PX, Wong J, Ayed A, et al. Placental transforming growth factor-beta is a downstream mediator of the growth arrest and apoptotic response of tumor cells to DNA damage and p53 overexpression. *J Biol Chem.* 2000;275:20127–20135
170. Baek SJ, Kim JS, Moore SM, et al. Cyclooxygenase inhibitors induce the expression of the tumor suppressor gene EGR-1, which results in the up-regulation of NAG-1, an antitumorigenic protein. *Mol Pharmacol.* 2005;67:356–364
171. Baek SJ, Horowitz JM, Eling TE. Molecular cloning and characterization of human nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene promoter. Basal transcription is mediated by Sp1 and Sp3. *J Biol Chem.* 2001;276:33384–33392
172. Cummins EP, Taylor CT. Hypoxia-responsive transcription factors. *Pflugers Arch.* 2005;450:363–371.
173. Whitman M. Smads and early developmental signaling by the TGFbeta superfamily. *Genes Dev.* 1998;12:2445–2462
174. Wojda U, Noel P, Miller JL. Fetal and adult hemoglobin production during adult erythropoiesis: coordinate expression correlates with cell proliferation. *Blood.* 2002;99:3005–3013
175. Heimpel H, Schwarz K, Ebnöther M, et al. Congenital dyserythropoietic anemia type I (CDA I): molecular genetics, clinical appearance, and prognosis based on long-term observation. *Blood.* 2006;107:334–340
176. Tamary H, Shalev H, Perez-Avraham G, Zoldan M, Levi I, Swinkels DW, Tanno T, Miller JL. Elevated growth differentiation factor 15 expression in patients with congenital dyserythropoietic anemia type I. *Blood.* 2008;112:5241–5244.

177. Bowman WD Jr. Abnormal ("ringed") sideroblasts in various hematologic and non-hematologic disorders. *Blood*. 1961;18:662–671
178. Merchant SH, Gonchoroff NJ, Hutchison RE. Apoptotic index by Annexin V flow cytometry: adjunct to morphologic and cytogenetic diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Cytometry*. 2001;46:28–32
179. Ramirez JM, Schaad O, Durual S, et al. Growth differentiation factor 15 production is necessary for normal erythroid differentiation and is increased in refractory anemia with ring-sideroblasts. *Br J Haematol*. 2009;144:251–262
180. Aizawa S, Kohdera U, Hiramoto M, et al. Ineffective erythropoiesis in the spleen of a patient with pyruvate kinase deficiency. *Am J Hematol*. 2003;74:68–72
181. Zanella A, Berzuini A, Colombo MB, et al. Iron status in red cell pyruvate kinase deficiency: study of Italian cases. *Br J Haematol*. 1993;83:485–490
182. Finkenstedt A, Bianchi P, Theurl I, et al. Regulation of iron metabolism through GDF15 and hepcidin in pyruvate kinase deficiency. *Br J Haematol*. 2009;144:789–793.
183. Kanda J, Mizumoto C, Kawabata H, et al. Serum hepcidin level and erythropoietic activity after hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2008;93:1550–1554
184. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, et al. Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin. *Haematologica*. 2009
185. Kemna EH, Kartikasari AE, van Tits LJ, et al. Regulation of hepcidin: insights from biochemical analyses on human serum samples. *Blood Cells Mol Dis*. 2008;40:339–346
186. Zimmermann MB, Fucharoen S, Winichagoon P, et al. Iron metabolism in heterozygotes for hemoglobin E (HbE), alpha-thalassemia 1, or beta-thalassemia and in compound heterozygotes for HbE/beta-thalassemia. *Am J Clin Nutr*. 2008;88:1026–1031
187. Carobbio et al. JAK2V617F allele burden and thrombosis: a direct comparison in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol*. 2009;37(9):1016–1021

188. Gangat N. et al. Leucocytosis in polycythemia vera predicts both inferior survival and leukaemic transformation. *Br J Haematol.* 2007;138(3):354-8
189. Bonicelli G. et al. Leucocytosis and thrombosis at diagnosis are associated with poor survival in polycythaemia vera: a population-based study of 327 patients. *Br J Haematol.* 2013;160(2):251-4
190. Lim Y, et al. Prediction of thrombotic and hemorrhagic events during polycythemia vera or essential thrombocythemia based on leukocyte burden. *Thromb Res.* 2015 May;135(5):846-51
191. Akay OM, Yaşar NŞ, Teke HÜ, Mutlu FŞ, Gülbaş Z. Retrospective analysis of 111 cases with chronic myeloproliferative disorders: clinical features and survival. *Türkiye Klinikleri.* 2009;29:162-8
192. Passamonti F, Rumi E, Pungolino E, Malabarba L, Bertazzoni P, Valentini M et al. Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Med.* 2004;117:755–761.
193. Chou YS et al. Leukocytosis in polycythemia vera and splenomegaly in essential thrombocythemia are independent risk factors for hemorrhage. *Eur J Haematol.* 2013;90(3):228-36
194. Varghese SJ, et al. Essential Thrombocythaemia: A Single Institution Experience of 16 Years. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2013;29(3):139–146
195. S.M. Said, N. Leung, S. Sethi, L.D. Cornell, M.E. Fidler, J.P. Grande, et al. Myeloproliferative neoplasms cause glomerulopathy. *Kidney Int.* 2011;80:753–759
196. M. Kosch, C. August, M. Hausberg, K. Kisters, G. Gabriels, F. Matzkies, et al. Focal sclerosis with tip lesions secondary to polycythaemia vera. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15:1710–1711
197. R.K. Sharma, H.S. Kohli, P. Arora, A. Gupta, M. Murari, R. Pandey, et al. Focal segmental glomerulosclerosis in a patient with polycythemia rubra vera. *Nephrol.* 1995;69:361
198. K. Haraguchi, H. Shimura, R. Ogata, H. Inoue, T. Saito, T. Kondo, et al. Focal segmental glomerulosclerosis associated with essential thrombocythemia. *Clin Exp Nephrol.* 2006;10:74–77

199. W.Y. Au, K.W. Chan, S.L. Lui, C.C.K. Lam, Y.L. Kwong. Focal segmental glomerulosclerosis and mesangial sclerosis associated with myeloproliferative disorders. *Am J Kidney Dis.* 1999;34:889–893
200. Christensen AS, Møller JB, Hasselbalch HC. Chronic kidney disease in patients with the Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms. *Leuk Res.* 2014;38(4):490-5
201. Winder A, Lefkowitz R, Ghoti H, Leiba M, Ganz T, Nemeth E, Rachmilewitz EA. Urinary hepcidin excretion in patients with myelodysplastic syndrome and myelofibrosis. *Br J Haematol.* 2008;142:668–80.
202. Kwapisz J, Zekanowska E, Jasiniewska J. Decreased serum prohepcidin concentration in patients with polycythemia vera. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2009;10:791–5.
203. Frazer DM, Anderson GJ. Hepcidin compared with prohepcidin: an absorbing story. *Am J Clin Nutr.* 2009;89: 475–6
204. Tarkun P. et al. Serum hepcidin and growth differentiation factor-15 (GDF-15) levels in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Eur J Haematol.* 2013;91(3):228-35
205. Musallam KM, Taher AT, Duca L, Cesaretti C, Halawi R, Cappellini MD. Levels of growth differentiation factor-15 are high and correlate with clinical severity in transfusionindependent patients with b thalassemia intermedia. *Blood Cells Mol Dis.* 2011;47:232–4
206. Mast AE, Foster TM, Pinder HL, Beczkiewicz CA, Bellissimo DB, Murphy AT, Kovacevic S, Wroblewski VJ, Witcher DR. Behavioral, biochemical, and genetic analysis of iron metabolism in high-intensity blood donors. *Transfusion.* 2008;48:2197–204
207. Yonal-Hindilerden I. et al. The Burden of JAK2V617F Mutated Allele in Turkish Patients With Myeloproliferative Neoplasms. *J Clin Med Res.* 2015;7(3):161-70
208. Vytrva N, et al. Megakaryocytic morphology and clinical parameters in essential thrombocythemia, polycythemia vera and primary myelofibrosis with and without JAK2 V617F. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138(9):1203-9
209. Ancochea A, et al. The role of serum erythropoietin level and JAK2 V617F allele burden in the diagnosis of polycythaemia vera. *Br J Haematol.* 2014;167(3):411-7

210. Payzin KB, et al. JAK2 V617F mutation status of 232 patients diagnosed with chronic myeloproliferative neoplasms. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2014;14(6):525-33
211. Levine RL, et al. X-inactivation-based clonality analysis and quantitative JAK2V617F assessment reveal a strong association between clonality and JAK2V617F in PV but not ET/MMM, and identifies a subset of JAK2V617F-negative ET and MMM patients with clonal hematopoiesis. *Blood.* 2006;107(10):4139-41
212. Domenico ID, Lo E, Ward DM, Kaplan J. Hepcidin-induced internalization of ferroportin requires binding and cooperative interaction with Jak2. *PNAS.* 2009;106:3800–5
213. Ross SL, Tran L, Winters A, et al. Molecular mechanism of hepcidin-mediated ferroportin internalization requires ferroportin lysines, not tyrosines or JAK-STAT. *Cell Metab.* 2012;15:905–17



