

**T.C**  
**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**MYELOPROLİFERATİF NEOPLAZMLARDA**  
**JAK2 MUTASYONU VE KLİNİK ÖZELLİKLER**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Ayşe Kevser DEMİR**

**SAMSUN-2010**

**T.C**  
**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**MYELOPROLİFERATİF NEOPLAZMLARDA**  
**JAK2 MUTASYONU VE KLİNİK ÖZELLİKLER**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Ayşe Kevser DEMİR**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. Mehmet TURGUT**

**SAMSUN-2010**



## **TEŞEKKÜR**

Asistanlık eğitimim süresinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarıma tek tek teőekkürlerimi sunarım.

Bu tezin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı, değerli hocam ve tez yöneticim Prof. Dr. Mehmet TURGUT'a ayrıca çok teşekkür ederim.

Daima yanımda olan eőim ve aileme; birlikte çalıőtıđımız asistan arkadaşlarıma, hemőire ve sağlık personelimize sonsuz teőekkürlerimi sunuyorum.

Dr. A. Kevser DEMİR

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLO DİZİNİ.....	iv
ŞEKİL DİZİNİ.....	v
KISALTMALAR.....	vi
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Kronik Myeloproliferatif Neoplazmlar.....	2
2.1.1 Polisitemia Vera.....	3
2.1.2 Esansiyel Trombositoz.....	4
2.1.3 Primer Myelofibrozis.....	6
2.2 Janus Kinaz ve Hücre içi sinyal iletimi.....	7
2.2.1 Janus Kinaz ve JAK Ailesi.....	8
2.2.2 JAK-STAT sinyal iletimi.....	10
2.3 BCR-ABL Negatif MPN'da Mutasyon Analizi.....	11
2.3.1 JAK2 Ekson 14 Mutasyonu ( $JAK2^{V617F}$ ).....	12
2.3.2 JAK2 Ekson 12 Mutasyonu ( $JAK2^{K539L}$ ).....	13
2.3.3 MPL Mutasyonu.....	13
2.3.4 TET2 Mutasyonu.....	14
2.3.5 ASXL1 Mutasyonu.....	14
2.4 Myeloproliferatif neoplazm tedavisinde JAK2 inhibitörleri.....	15
2.4.1 INCB018424.....	16
2.4.2 TG101348.....	17
2.4.3 CEP-701 (Lestaurtinib).....	17
2.4.4 XL019.....	18

2.4.5 SB1518.....	19
2.4.6 CYT387.....	19
2.4.7 AZD-1480.....	19
2.4.8 R723.....	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
3.1 Hastaların Genel Özellikleri.....	21
3.2 JAK2 <sup>V617F</sup> Mutasyonunun Belirlenmesi. ....	22
3.3 İstatistiksel Değerlendirme.....	23
4. BULGULAR.....	24
5. TARTIŞMA.....	28
5.1 Polistemia Vera.....	29
5.2 Esansiyel Trombositoz.....	31
5.3 Primer Myelofibrozis.....	32
6. SONUÇ.....	34
7. KAYNAKLAR.....	35

## TABLO LİSTESİ

<b><u>Tablo No:</u></b>	<b><u>Sayfa No:</u></b>
<b>Tablo 1:</b> 2008 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Polisitemia Vera tanı kriterleri.	<b>4</b>
<b>Tablo 2:</b> DSÖ 2008 Esansiyel Trombositoz tanı kriterleri.	<b>5</b>
<b>Tablo 3:</b> DSÖ 2008 Primer Myelofibrozis tanı kriterleri.	<b>7</b>
<b>Tablo 4:</b> JAK inhibitörlerinin JAK reseptör üyelerine spesifitesi ve devam eden çalışmaların faz aşamaları.	<b>16</b>
<b>Tablo 5:</b> Çalışmaya alınan hastaların sayısı, yaş ve cinsiyet özellikleri.	<b>24</b>
<b>Tablo 6:</b> Gruplara göre JAK2 <sup>V617F</sup> mutasyon sıklığının karşılaştırılması.	<b>25</b>
<b>Tablo 7:</b> Polistemia Vera hastalarında JAK2 <sup>V617F</sup> mutasyonuna göre olguların genel özelliklerinin sunumu.	<b>26</b>
<b>Tablo 8:</b> Esansiyel Trombositoz Hastalarında JAK2 <sup>V617F</sup> mutasyonuna göre olguların özelliklerinin sunumu.	<b>27</b>
<b>Tablo 9:</b> Primer Myelofibroz Hastalarının Demografik Özellikleri.	<b>27</b>
<b>Tablo 10:</b> Myeloproliferatif neoplazmlarda JAK2 <sup>V617F</sup> mutasyon sıklığı.	<b>29</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

<b><u>Sekil No:</u></b>	<b><u>Sayfa No:</u></b>
<b>Şekil 1:</b> JAK üyeleri ve reseptör ilişkilerinin şematik gösterimi.	<b>9</b>
<b>Şekil 2:</b> Sitokinlerin hücre içi sinyal iletim yolu ile STAT ve JAK ilişkisinin şematik olarak gösterimi.	<b>11</b>
<b>Şekil 3:</b> JAK2 <sup>V617F</sup> mutasyonunun şematik gösterimi.	<b>12</b>
<b>Şekil 4:</b> Hasta gruplarında JAK2 <sup>V617F</sup> mutasyon varlığı.	<b>25</b>



## KISALTMALAR LİSTESİ

MPN	: Myeloproliferatif neoplazmlar
KMPN	:Kronik myeloproliferatif neoplazmlar
KML	: Kronik myeloid lösemi
PV	: Polistemia vera
ET	: Esansiyel trombositoz
PMF	: Primer myelofibrozis
AML	: Akut Myeloblastik Lösemi
MDS	: Myelodisplastik sendrom
JAK2	: Janus kinaz 2
JH	: Janus homoloji
Jh 1	: Kinaz domain
Jh 2	: Psödokinaz domain
TYK2	: Tirozin kinaz 2
FISH	: Floresan insitu hibridizasyon
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
EPO	: Eritropoietin
TPO	: Trombopoietin
c-MPL	: Trombopoietin reserptörü
DNA	: Deoksiribonükleik asit
Ph	: Philedelphia
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü

IFN- $\alpha$	: <b>İnterferon-alfa</b>
PO	: <b>Per oral</b>
STAT	: <b>Sinyal iletim ve transkripsiyon aktivatörü</b>
SOCS	: <b>Suppressors of Cytokine Signaling</b>
PIAS	: <b>Protein Inhibitors of Activated STATs</b>
PCR	: <b>Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu</b>
FLT3	: <b>FMS benzeri tirozin kinaz 3</b>
MAPK	: <b>Mitojen aktivasyonu yapan protein kinaz</b>
Htc	: <b>Hematokrit</b>
BK	: <b>Lökosit sayısı</b>
HM	: <b>Hepatomegali</b>
HT	: <b>Hipertansiyon</b>

## ÖZET

### Myeloproliferatif Neoplazmlarda JAK2 Mutasyonu ve Klinik Özellikler

**Amaç:** BCR/ABL negatif kronik myeloproliferatif neoplazmlarda (KMPN), JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu varlığının tespit edilmesi ile bu hastalıkların patogenezi ile ilgili bilgiler artmıştır. 2008 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tanı kriterlerinde JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu polistemia vera (PV), esansiyel trombositoz (ET) ve primer Myelofibroz (PMF) tanısında önemli bir konuma gelmiştir. Bu çalışmada kliniğimizde BCR/ABL negatif MPN tanısıyla takip edilen hastalarda JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu sıklığının ve mutasyonun hastalığın klinik özelliklerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı Polikliniği'ne Ocak 2007-Mart 2010 tarihleri arasında başvuran BCR/ABL negatif MPN tanısı alan JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu çalışılmış 52 hasta dahil edildi. 2008 DSÖ kriterlerine göre hastaların 28'i PV, 21'i ET ve 3'ü PMF idi. Hastaların tanı anındaki yaş, cinsiyet, hemoglobin, hematokrit, trombosit ve lökosit değerleri kaydedildi. Hepatomegali, splenomegali, kanama ve tromboz varlığı değerlendirildi. JAK2<sup>V617F</sup> mutasyon analizi hastaların periferik kan granülositlerinden Real Time-PCR Melting Curve analizi ile yapıldı.

**Bulgular:** Hastaların yaş ortalaması PV hastalarında 51,6±11,8, ET hastalarında 55,9±11,3 ve PMF hastalarında 62,3±13,7 idi. JAK2<sup>V617F</sup> mutasyon sıklığı PV, ET ve PMF hastalarında sırası ile %85,7 (24/28), %47,6 (10/21) ve %33,3 (1/3) idi. Tanı yaşı ile JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmedi (p>0,05). Hastalar JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu varlığına göre incelendiğinde PV ve ET hastalarında mutasyon olanlarda daha yüksek lökosit, hemoglobin ve hematokrit değerleri ile tromboz görülme oranı elde edilmiş olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05). Hepatomegali ve splenomegali görülme oranları PV ve ET'de JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan hastalarda daha yüksek idi. PV'da hepatomegali görülme oranı JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,030). JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan ET hastalarında tanı anında trombosit sayısı daha düşüktü, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,397).

**Sonuç:** JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun keşfi ile BCR/ABL negatif MPN'ın moleküler temeline ait yeni bilgiler elde edilmesinin yanında, mutasyonun varlığı bu hastalıkların klinik özellikleri hakkında yol gösterici olmaktadır. 2008 DSÖ tanı kriterleri arasında yer alan JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu, PV hastalarında %95, ET ve PMF hastalarında %50 sıklıkta mevcuttur. Bu çalışma bölgemizde MPN olgularında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu sıklığının değerlendirildiği ilk çalışma olup, bulgularımız literatür verileri ile uyumlu bulunmuştur.

**Anahtar sözcükler:** JAK2<sup>V617F</sup>, polistemia vera, esansiyel trombositoz, primer myelofibrozis, myeloproliferatif neoplazmlar, klinik.

## ABSTRACT

### Clinical Findings and Jak2 Mutation on Myeloproliferative Diseases

**Objective:** With the discovery of JAK2 mutation in BCR/ABL negative chronic myeloproliferative diseases (CMPD), knowledge about the pathogenesis of this disease has increased. In world health organization (WHO) 2008 diagnosis criterias, JAK2<sup>V617F</sup> mutation became a primary criteria for the diagnosis of polisitemia vera (PV), essential thrombocytosis (ET) and primary myelofibrosis (PMF). In this study, we aimed to determine the frequency of JAK2<sup>V617F</sup> mutation in BCR/ABL negative myeloproliferative disease and the effects of this mutation on clinical course of the disease.

**Material and Method:** The study includes patients with BCR/ABL negative myeloproliferative disease and confirmed JAK2<sup>V617F</sup> mutation who admitted on hematology department of Ondokuz Mayıs University between January 2007 and March 2010. According to the WHO 2008 criteria 28% of the patients were PV, 21% were ET and 3% were PMF. Age, gender, hemoglobin, hematocrit, platelet and leukocyte values were recorded. The presence of hepatomegaly, splenomegaly, hemorrhage and thrombosis were evaluated. JAK2<sup>V617F</sup> mutation analysis was evaluated from the peripheral blood granulocytes by Real Time-PCR Melting Curve.

**Findings:** Patient's mean age were 51.6±11.8 in PV patients, 55.9±11.3 and 62.3±13.7 in ET and PMF patients respectively. There were no statistically significant correlation between age and JAK2 mutation ( $p>0.05$ ). The frequency of JAK2<sup>V617F</sup> mutation in PV, ET, PMF patients was 85.7% (24/28), 47.6 (10/20) and 33.3% (1/3) respectively. When evaluated by the presence of JAK2 mutation, in PV and ET patients with mutation, leukocyte, hemoglobin and hematocrit values were higher as well as the incidence of thrombosis, but the difference was not statistically significant ( $p>0.05$ ). The incidence of hepatomegaly and splenomegaly were higher in PV and ET patients with JAK2<sup>V617F</sup> mutation. Moreover the incidence of hepatomegaly in PV patients with JAK2<sup>V617F</sup> mutation was statistically significantly high ( $p=0.030$ ). Platelet count at diagnosis of ET patients with JAK2 mutation was lower, however this difference was not statistically significant ( $p=0.397$ ).

**Conclusion:** The discovery of JAK2<sup>V617F</sup> mutation provided new information about the molecular basis of BCR/ABL negative MPH and the clinical course in patients with this mutation. As a criteria in 2008 WHO diagnosis criterias, JAK2<sup>V617F</sup> mutation is found in 95% of PV patients, and 50% of ET and PMF patients. In our knowledge, the present study is the first to evaluate the frequency of JAK2<sup>V617F</sup> mutation on MPH patients in our region, and our results are in concordance with the medical literature.

**Keywords:** JAK2, polisitemia vera, essential thrombocytosis, primary myelofibrosis.

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ:

Kronik myeloproliferatif neoplazmlar (KMPN) bir ya da birden fazla myeloid hücre dizisinin proliferasyonu, nispeten normal bir olgunlaşmanın varlığı, çeşitli oranlarda akut lösemiye dönüşüm ve kemik iliğinde fibrozis özelliklerini taşıyan bir grup hastalıktır. KMPN içinde Kronik myelositer lösemi (KML), patogenezinde rol oynayan BCR/ABL füzyon geni ile diğerlerinden farklılık göstermektedir. BCR/ABL negatif kronik myeloproliferatif neoplazmların [polisitemia vera (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve primer myelofibrozis (PMF)] patogenezi ise KML kadar açık değildir.

2005 yılında JAK2 (Janus kinaz 2) ekson 14 mutasyonunun keşfedilmesi ile, BCR/ABL negatif kronik MPN'ların patogenezi ile ilgili bilgiler artmış ve hastaların tedavisinde ümit vaat eden gelişmeler olmuştur. JAK2 geni psödokinaz (JH2) domaininin 617. pozisyonunda bulunan valin yerine fenilalanin değişiminin olduğu JAK2<sup>V617F</sup> somatik mutasyonunun, MPN'da hematopoetik öncül hücrelerde büyüme faktörlerine karşı aşırı hassasiyete neden olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda BCR/ABL negatif KMPN'da JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu sıklığının araştırılması amaçlanmıştır. Polisitemia vera, esansiyel trombositoz ve primer myelofibrozis hastalarında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu sıklığı ve mutasyon olan ve olmayan hastalarda tanı anındaki klinik özellikler değerlendirilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Kronik Myeloproliferatif Neoplazmlar

Kronik myeloproliferatif neoplazmlar bir ya da birden fazla myeloid hücre dizisinin proliferasyonu, nispeten normal bir olgunlaşmanın varlığı, hepatosplenomegalinin görülmesi, çeşitli oranlarda akut lösemiye dönüşüm ve kemik iliğinde fibrozis özelliklerini taşıyan bir grup hastalıktır.<sup>1</sup> 2008 DSÖ sınıflandırmasına göre bu grup içinde polisitemia vera, esansiyel trombositoz, idiyopatik myelofibrozis ve kronik myeloid lösemi ile daha nadir görülen kronik nötrofilik lösemi, hiper eozinofilik sendrom/kronik eozinofilik lösemi ve sistemik mastozitozis yer alır.<sup>2</sup>

Kronik myeloproliferatif neoplazmalar arasında en sık görülen kronik myeloid lösemi olup, 9. kromozomda yer alan ABL (Abelson Leukemia Virus) geni ve 22. kromozomda yer alan BCR (Break-point Cluster Region) geninin t(9;22) bir araya gelerek yeni bir füzyon geni (BCR/ABL geni) oluşturması ile diğer kronik myeloproliferatif neoplazmlardan farklılık göstermektedir.<sup>3</sup> *Philadelphia* kromozomu olarak adlandırılan bu translokasyon kronik myeloid lösemi tanısı alan hastaların %90-95'inde tespit edilmektedir.<sup>4</sup>

BCR/ABL negatif kronik myeloproliferatif neoplazmlarda 2005 yılında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun tespit edilmesi, tanı ve tedavide farklı yaklaşımları gündeme getirmiştir. Polisitemia vera hastalarında %90-95, esansiyel trombositoz ve idiyopatik myelofibrozisde %50 oranlarında JAK2 mutasyonunun varlığı tespit edilmiştir.<sup>5</sup> Bu mutasyonun tespiti ile 2008 DSÖ sınıflamasında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu varlığı tanı kriterleri arasında yer almıştır.<sup>2</sup> Kronik myeloproliferatif neoplazmlarda JAK2 ekson 12 mutasyonu, MPL, TET2 ve ASXL1 mutasyonlarının varlığı araştırılmaktadır.<sup>6</sup>

### 2.1.1 Polistemia Vera:

Polistemia vera (PV) sinsi başlangıçlı klonal, kronik, ilerleyici bir myeloproliferatif neoplazmdır.<sup>7</sup> Genellikle lokositoz, trombositoz, splenomegali ile birlikte olan mutlak kırmızı kan hücre kitlesinde artış ile karakterizedir.<sup>7</sup> Hastalıkta kemik iliğinde eritroid, myeloid ve megakaryositer seri aşırı üretilmektedir.<sup>7</sup> Diğer hematolojik malignitelerden farklı olarak kırmızı kan hücreleri ve trombositlerin fazla üretimini kontrol altına alınması durumunda uzun sağ kalıma sahiptir.<sup>8-9</sup> Hastalar sıklıkla asemptomatiktir.

London ve arkadaşları,<sup>10</sup> PV'da artan kırmızı kan hücre kitlesinin, kemik iliği tarafından kırmızı kan hücre üretiminde 2-3 katına varan artış yüzünden olduğunu ispatlamıştır. Aynı zamanda granülosit ve platelet üretiminde de artışın mevcut olduğu bu hastalığın neoplastik orjinli olduğu ve myelostimülan faktörlere kemik iliğinin aşırı yanıtından kaynaklandığı düşünülmektedir.<sup>11</sup>

Polistemia vera, primer polistemilerin ve BCR/ABL negatif myeloproliferatif neoplazların en yaygın olanıdır.<sup>12</sup> Yıllık insidansı 100.000 populasyonda 2,3-2,8 vaka olarak saptanmıştır.<sup>13</sup> Ortalama tanı yaşı 50-70 yaş arasındadır.<sup>14</sup> Polistemia vera tanısı alan hastaların aile bireylerinde hastalığın prevalansının beklenenden yüksek olduğu görülmüştür.<sup>15-16</sup>

Hastalar sıklıkla asemptomatik olup, rastlantısal olarak hemotokrit yüksekliği saptanması sonrasında tanı almaktadır. Semptomatik olan hastalarda baş ağrısı, halsizlik, kaşıntı, terleme, baş dönmesi, kulak çınlaması ve kilo kaybı en sıklıkla karşılaşılan yakınmalardır.<sup>17</sup> Fizik muayenede siyanoz, hipertansiyon, hepatomegali ve splenomegali en sık rastlanan bulgulardır.<sup>17</sup> PV hastalarında tedavi edilmeyen semptomatik olgularda ortalama sağ kalım süresi 6-18 ay kabul edilirken, tedavi ile bu süre 10 yılın üzerine çıkmaktadır.<sup>18</sup> Ölüm sebepleri arasında tromboz, hemoraji, hematolojik maligniteler, hematolojik olmayan maligniteler, ve myelofibrozis gelişimi yer almaktadır.<sup>17</sup>

Son 20 yılı aşkın süredir PV'da genetik defektin araştırılması yapılmaktadır. Bu çalışmalarda 9. kromozomun kısa kolunda yer alan JAK2 geni psödokinaz (JH2)

domaininin 617. pozisyonunda bulunan valin yerine fenilalanin değişiminin olduğu JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu keşfedilmiştir.<sup>19</sup> Günümüzde kronik myeloid lösemide BCR/ABL varlığına benzer olarak PV'da JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu hastalığın tanısında moleküler diagnostik bulgu haline gelmiştir (Tablo 1).<sup>2</sup>

<b>Tablo 1:</b> Polisitemia Vera tanısı için 2008 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterleri aşağıdaki gibidir. <sup>2</sup>
<b>Majör:</b> 1-Hb'in erkeklerde 18,5gr/dl nin, kadınlarda 16,5 gr/dl nin üstünde olması. 2- JAK2 <sup>V617F</sup> mutasyonu saptanması
<b>Minör:</b> 1-Kemik iliği biyopsisinde her üç seride artış, 2-Serum eritropoetin düzeyinin normalin altında olması 3-Endojen eritroid koloni oluşumu
2 majör + 1 minör veya ilk majör kriter ile beraber 2 minör kriter varlığı PV tanısı için yeterlidir.

PV'da tedavide semptomların ortadan kaldırılması ve uzun dönem komplikasyonların (tromboz, kanama, maligniteler, myelofibrozis) önlenmesi amaçlanmaktadır. Flebotomi hipervizkoziteyi azaltmak amacı ile kullanılmaktadır.<sup>20</sup> Günümüzde standart tedavide trombotik olay açısından yüksek riskli hastalara flebotomi uygulamaları ile birlikte hidroksiüre verilmektedir.<sup>21</sup> Refrakter durumlarda İnterferon alfa, anegralid (megakaryosit gelişimini inhibe eder) ve tromboz geliştiğinde antikoagülan tedavi başlanmaktadır.<sup>21-22</sup>

### 2.1.2 Esansiyel Trombositoz:

Esansiyel trombositoz (ET) dolaşımdaki trombosit sayısında artışa neden olan sürekli megakaryosit proliferasyonu ile ilişkilidir.<sup>23</sup> Geleneksel olarak ET puluripotent kök hücreleri tutan klonal hastalık olarak düşünülmektedir, fakat çalışmalar bazı hastaların poliklonal hemotopoeze sahip olduğunu göstermektedir.<sup>23-24</sup> Hastalık 600.000 üzerinde trombosit sayısı, megakaryosit hiperplazisi ve splenomegali ile karakterizedir, klinik seyrinde trombotik ve hemorajik olaylar ile karşılaşmaktadır.<sup>25-26</sup>



ET’da trombositlerin yaşam süresi normaldir. Trombositoz megakaryositlerin trombosit üretimini artırması sebep olur. Trombosit üretimindeki bu artış sitokinlere artan sensitiviteye, platelet inhibitör faktörlere azalan duyarlılığa ya da otonom aktivasyona bağlı olarak gelişmektedir.<sup>27</sup>

Tanıda, tam kan sayımında uzun süreli trombositoz saptanması önemlidir. Kemik iliği aspirasyon ve biyopsisinde megakaryositlerde artış saptanır. Tanı için KML, polisitemia vera gibi diğer MPN’in olmadığına gösterilmesi gerekir. Bu amaçla kan tahlilleri, radyolojik tetkikler, genetik tahliller ve patolojik incelemeler yapılmaktadır. ET’de hastalığın moleküler tanısına yönelik incelemelerde trombopoetin (TPO) ve TPO reseptör (c-mpl) genlerinde mutasyon bulunmamıştır.<sup>28</sup> JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun MPN’da keşfi ile ET hastalarının moleküler tanısına yönelik bilgiler artmıştır. 2008 DSÖ kriterlerinde ET tanı kriterlerinde yer alan JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu hastaların yaklaşık %50’sinde tespit edilmiştir (Tablo 2).<sup>2</sup>

<b>Tablo 2: DSÖ 2008 kriterlerine göre ET sınıflandırması;<sup>2</sup></b>
1-Trombosit sayısı 450.000 den fazla olmalı, 2- Kemik iliği biyopsisinde megakaryositlerde artış olmalı, 3-DSÖ kriterlerine göre KML, PV, MDS ve Primer myelofibrozisin olmadığına gösterilmesi, 4- JAK2 <sup>V617F</sup> mutasyonunun varlığı veya reaktif trombositozun olmadığına gösterilmesi.
Tanı için 4 kriterin olması gerekmektedir.

ET’nin yıllık insidansı 100.000 popülasyonda 2,38 yeni vaka olarak saptanmıştır.<sup>29</sup> Ortalama tanı yaşı 60 olup, ileri yaşta erkek ve kadın cinsiyette benzer sıklıkta görülür. ET’li hastalarda on yıllık sağ kalım süresi %64–80 olarak belirtilmiştir ki aynı yaştaki genel popülasyondan önemli oranda farklı değildir.<sup>30</sup> Ölüm genellikle trombotik komplikasyonlardan meydana gelmektedir.

Hastaların %25-33’ü tanı anında asemptomatiktir. Semptomatik olanlarda vasomotor semptomlar, nörolojik semptomlar (baş ağrısı, baş dönmesi, disartri, senkop, nöbet vs.) eritromelalji (el ve ayaklarda kızarıklık ve morarmanın eşlik ettiği ağrı ve yanma hissi), kanama ya da tromboza bağlı semptomlar görülmektedir. Hemoraji ve tromboz mekanizması çok iyi tanımlanmamıştır.<sup>31</sup> Trombosit agregasyonunda azalma

ya da trombositlerin fazla agregasyonu ve çeşitli kimyasalların intraselüler konsantrasyonundaki değişiklikleri içine alan birkaç defekt tanımlanmıştır.<sup>31</sup> ET'lu hastaların en sık fizik muayene bulgusu %20 hastada hepatomegali ile birlikte olan %40–50 hastada palpabl splenomegalidir.<sup>32</sup>

### 2.1.3 Primer Myelofibrozis:

Primer myelofibrozis (PMF) myeloid hücrelerin değişken morfolojik maturasyonu ve klonal proliferasyonu ile karakterize myeloproliferatif bir bozukluktur.<sup>33</sup> William Dameshek tarafından 1951'de MPN grubu içinde sınıflandırılmıştır.<sup>11</sup> PMF; kemik iliği fibrozisi, kemik iliği yetmezliği, semptomatik splenomegali, halsizlik, enfeksiyonlara yatkınlık, ateş ve kilo kaybı ile karakterizedir. Bu semptomlar hastaların yaşam kalitesini ileri derecede azaltmaktadır.<sup>34</sup>

Hastalığın sıklığı 100.000 popülasyonda 1,5 yeni vaka olarak bildirilmiştir.<sup>35</sup> Genelde orta yaş üzeri erkekleri etkileyen bir hastalıktır.<sup>35</sup> Ortalama görülme yaşı 65'dir.<sup>36</sup> Ortalama sağ kalım 3,5–10 yıl arasındadır. Ölüm nedenleri arasında enfeksiyon, kanama, organ yetmezlikleri ve hastalığın ilk 10 yılında görülen lösemik transformasyon sayılabilir.<sup>37</sup> Genel olarak hastalığın seyrinin ilaç tedavisi ile değişmediği, ancak allogenik kök hücre transplantasyonu ile uzun süreli remisyon elde edilebildiği gözlenmiştir.<sup>37</sup>

Sitogenetik çalışmalarda kromozom 13q ve 20q delesyonu, trizomi 8 ile 1, 7 ve 9. kromozom anomalilerinin myelofibrozis ile ilişkisi olabileceği gösterilmiştir.<sup>36</sup> Son zamanlarda hastalığın patogenezinde etkisi gösterilmiş olan JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu, bu hastalarda tedavide de bize umut vaat etmektedir.<sup>38</sup> Myelofibrozis hastalarının belirlenmesinde 2008 DSÖ kriterlerinde JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu major kriterler arasında yer almaktadır (Tablo 3).

<b>Tablo 3: DSÖ 2008 Primer Myelofibrozis tanı kriterleri</b>
<p><b>Major Kriterler :</b></p> <p>1.Genellikle retikülin ve/veya kollajen fibrozisle beraber megakaryositik proliferasyon ve atipi varlığı ya da belirgin retikülin fibrozis yokluğunda, megakaryositik değişikliklere, granülositik proliferasyon ve sıklıkla azalmış eritropoez ile karakterize, artmış kemik iliği sellüleritesi eşlik etmelidir.</p> <p>2.Polisitemia vera, BCR-ABL1+kronik myelositik lösemi, myelodisplastik sendrom ya da diğer myeloid neoplaziler için DSÖ kriterlerinin karşılanmaması.</p> <p>3.JAK2<sup>V617F</sup> veya diğer klonal belirteçlerin (örn MPLW515K/L) gösterilmesi ya da klonal belirteç yokluğunda, kemik iliği fibrozisi veya diğer değişikliklerin enfeksiyon, otoimmün bozukluk, diğer enflamatuvar durumlar, saçlı hücreli lösemi ve diğer lenfoid neoplaziler, metastazlı tümör veya toksik (kronik) myelopatilere sekonder olduğunu gösteren bulgu olmaması.</p>
<p><b>Minor Kriterler :</b></p> <p>1.Lökoeritroblastozis</p> <p>2.Serum laktat dehidrogenaz düzeyinde artış</p> <p>3.Anemi</p> <p>4.Splenomegali</p>
<p>Tanı için 3 major ve 2 minör kriter gereklidir.</p>

## 2.2 Janus Kinaz ve Hücre içi sinyal iletimi

Birçok hücre, intraselüler sinyal iletiminde fosfotransfer kinaz kaskadını kullanmaktadır.<sup>39</sup> İnsanlarda tipik olarak serin, treonin ve tirozin rezidülerini fosforile eden 500'den fazla farklı kinaz vardır. JAK2, 4 farklı stoplazmik tirozin kinazdan biridir.

JAK enzimleri sitokin ve büyüme faktör reseptörlerinin sinyal iletimi için gereklidir.<sup>40-41</sup> Birçok sinyal iletim yolunda, birden fazla JAK üyesi birlikte rol almaktadır, fakat bazı büyüme faktörlerinde, örneğin eritropoetin (EPO) ve trombopoetin (TPO) de sadece JAK2 rol oynamaktadır.<sup>42</sup> JAK1 sıklıkla diğer JAK üyeleri ile birlikte proinflamatuvar sitokinlerin sinyal iletiminde, JAK3 IL-2 aracılı immün fonksiyonda major rol oynar. Tyk2 IL12 ve IL23 gibi sitokinlerin sinyal iletiminde JAK2 ve JAK3 ile birlikte rol oynar.<sup>40</sup>

Aberrant tirozin kinaz sinyal iletimi lökojenik olabilir ve JAK/STAT sinyallerinin hematolojik malignitelerde arttığını gösterir birçok kanıt vardır.<sup>43-45</sup> Hastalığın patogenezine katkı sağlayan bu durum üç farklı mekanizma ile açıklanabilir.<sup>42</sup>

(a) JAK/STAT malign hücrelerde büyüme, proliferasyon, diferansiasyon ve uzun süreli yaşamaya neden olan c-Myc, cyclin D, Mcl-1 ve Bcl-XL genlerinin transkripsiyonunda artışa neden olabilir.

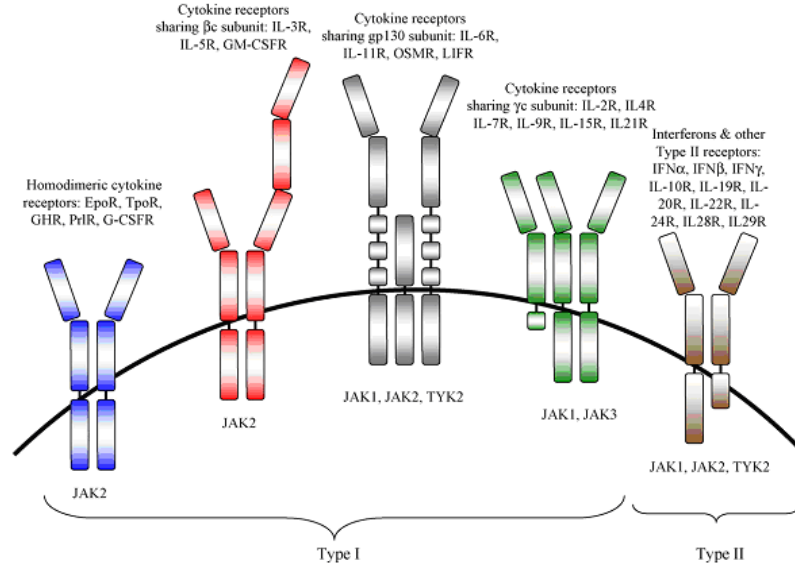
(b) Malign hematolojik hücrelerde; JAK sinyaline negatif regülatör etkisi olan faktörler, örneğin *silencer of cytokine signaling* (SOCS) ve *phosphatases* (SHPs ve PTPs), normale göre oldukça yüksek seviyelerdedir.

(c) Çeşitli hematolojik kanserlerde JAK sinyal iletimini kullanan sitokin ve büyüme faktörleri yüksek düzeyde bulunmuştur.<sup>42</sup>

Myeloproliferatif neoplazmlarda (MPN) JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun keşfi, bu hastaların tedavisinde yeni bir yaklaşım gündeme getirmiştir.<sup>46</sup> Bu mutasyon JAK2 enziminin psödokinaz domaininde ortaya çıkar, buna bağlı olarak JAK2 enziminin aktif parçası olan kinaz domain kısmında psödokinaz domaine bağlı oluşması gereken negatif regülasyonda bozulma olur.<sup>47</sup> Kontrolsüz JAK2 aktivasyonu, bir çok büyüme faktörü ve sitokin için anahtar sinyal enzim rolü oynar. Bu aktivasyonun MPN patofizyolojisinde major rol oynadığına inanılır.<sup>48</sup> JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu, MPN ile ilişkili olduğu bilinen ve kontrolsüz JAK2 aktivasyonuna neden olan en yaygın mutasyon olmasına rağmen diğer mutasyonlarında (MPL<sup>W515</sup> ve ekson 12 de JAK2 mutasyonu gibi) JAK2 enziminde kontrolsüz aktivasyona neden olduğu bilinmektedir.<sup>42</sup>

### 2.2.1 Janus Kinaz ve JAK Ailesi:

Janus Kinazlar (JAKs) sitokinler, interferonlar ve büyüme faktörleri için sinyal iletiminde kritik role sahip olan non-reseptör tirozin kinazlardır.<sup>49-50</sup> JAKs esas olarak sitokin reseptörlerinin membran proksimal bölgesi ile ilişkilidir, tirozin kalıntıları üzerine ligand-induced reseptör agregasyonun otofosforilasyonu ile aktive olur. Aktive JAKs, STAT'ları (sinyal iletim ve transkripsiyon aktivatörü) fosforile ederek aktive etmektedir.<sup>49-50</sup> JAKs karboksi ucunda lokalize fonksiyonel kinaz (JH1) ve pseudo kinaz (JH2) dan oluşan 7 JAK homolojik domaine sahiptir.<sup>49-50</sup> Memelilerde 4 JAK vardır, ki bunlar JAK1, JAK 2, JAK 3 ve Tirozin Kinaz 2 (Tyk 2) (Şekil 1).<sup>49-50</sup>



Şekil 1: JAK üyeleri ve reseptör ilişkilerinin şematik gösterimi.<sup>40</sup>

JAK 1 hemen hemen her hücrede üretilir, yaygın bulunan  $\gamma$  zinciri (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 ve IL-21 için), gp130 ( IL-6, IL-11, onkostatın M, lösemi inhibitör faktör, siliyer nörotropik faktör ve leptin için), tip 2 sitokin reseptörleri (IFN- $\alpha$ , - $\beta$ , ve - $\gamma$ , IL-10, -20, -22 ve -28 için) ve granülosit koloni-stimüle edici faktör (G-CSF) reseptörü sinyal iletiminde kritik rolü vardır.<sup>49-51</sup> JAK 1'in sinyal iletimi gp130, G-CSFR veya IFNRs için diğer JAK üyelerine (JAK 2, JAK 3 ve Tyk2) ihtiyaç duyar.<sup>49-50</sup> JAK 1 -/- fareler perinatal dönemde  $\gamma$  zinciri, gp130 ve klas 2 sitokin reseptörleri sinyal yolu bozukluklarına bağlı olarak ölürlür.<sup>51</sup> Flex ve arkadaşları<sup>45</sup> çalışmalarında JAK1 mutasyonu T cell ALL hastalarının %18'inde tespit edilmiştir.

JAK 2 yaygın olarak ifade edilir, diğer JAK üyelerine bağlı olmayarak büyüme hormonu, prolaktin, eritropoetin (EPO) ve trombopoetin (TPO) reseptörleri ve yaygın  $\beta$  zincir [IL-3, IL-5 ve granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) için] sinyal iletiminde rol oynar.<sup>49-50</sup> JAK 2 Tyk2'nin IL-12 ve IL-23 sinyal iletimi üzerine ve JAK 1'in IFN-  $\gamma$  sinyal iletimi üzerine tandem etkisi daima vardır.<sup>49-50</sup> JAK 2 gen eksikliğinde eritropoez yokluğuna bağlı olarak embriyolojik ölüm olmaktadır. JAK 2 -/- olan hücrelerde EPO, TPO, IL-3, GM-CSF ve IFN-  $\gamma$  cevabı alınmazken; G-CSF, IFN-  $\alpha/\beta$ , IL-6 ve lösemi inhibitör faktör cevabında etkilenme olmamaktadır.

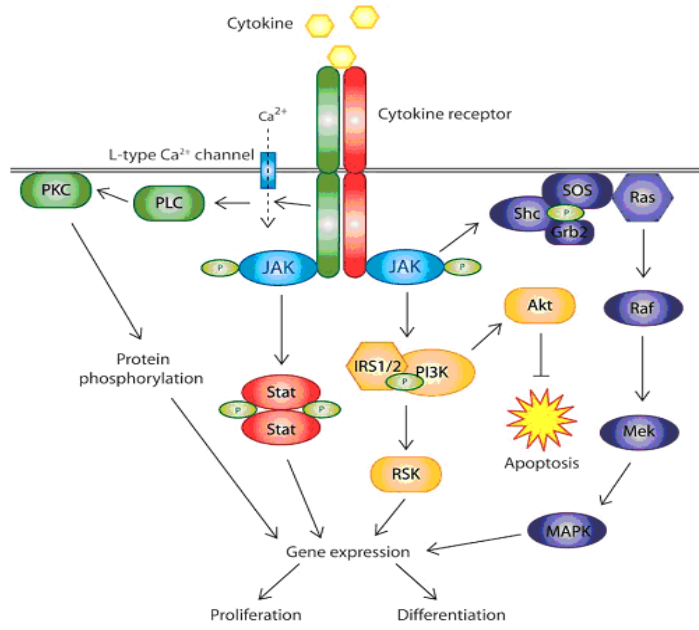
Tyk2 ise JAK 1 ve JAK 2 nin ikisi ile birlikte görev yapar ve IFN  $\gamma$ , ve IL-12 sinyalinde kritik rol oynar.<sup>49-50</sup> Tyk2  $-/-$  fareler sadece azalmış IFNs ve IL-12 yanıtına neden olur.<sup>52</sup> Bununla birlikte, homozigot Tyk2 gen delesyonu bulunan 22 yaşında Japon erkek bireyde sitokin sinyalinde defektlerin olduğu ve otozomal resesif hiper Ig-E sendromu olan bu olgunun atipik mikobakteriozisli olduğu, Tyk2'nin insanlarda immün yanıtta önemli bir bulgu olduğu bildirilmiştir.<sup>53</sup>

JAK 3 sadece lenfoid hücrelerde exprese edilir,  $\gamma$  zincir sinyalinin iletiminde JAK 1 ile birlikte rol oynar.<sup>49-50</sup> JAK 3  $-/-$  farelerde kemik iliğinde ve timus dokusunda pre-B evresinden B cell gelişiminde ciddi blokaj olduğu görülmüştür.<sup>54-55</sup>

### 2.2.2 JAK ve STAT İlişkisi:

STAT'lar (*signal transducers and activators of transcription*) ilk olarak interferon sinyal iletiminde tanımlanmış olan, hücre içi sinyal iletim yollarında rol alan proteinlerdir.<sup>56</sup> Tirozin kinaz reseptörüne bağlı olmaksızın tirozin rezidülerini fosforile eden JAK enzim üyeleri tarafından aktive edilmektedirler. Aynı zamanda STAT iletim yolu tirozin kinaz reseptörü, G-proteinine bağlı reseptörler, transforming growth faktör  $\beta$  ve Wnt reseptörleri gibi diğer reseptörler tarafından da aktive edilebilir.<sup>57</sup>

Sitokin aracılı STAT aktivasyon aşamaları şu şekilde sıralanmaktadır. Sitokin hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlanır. Daha sonra  $\alpha\alpha$  ya da  $\alpha\beta$  oligomerizasyonu gerçekleşir. Bu oligomerizasyon reseptör ile ilişkili JAK proteinlerini çapraz fosforilasyon ile aktive eder. Aktive JAK proteinleri hücre içinde rol oynayacak olan 7 farklı STAT reseptör üyesini (STAT1, 2, 3, 4, 5a, 5b ve 6) tirozin rezidülerini fosforile ederek aktive etmektedir.<sup>58</sup> Aktive olan STAT proteinleri ekstraselüler polipeptitlerde taşınan sinyallerin dönüşümü ve hücre çekirdeğine iletisine olanak tanır.<sup>59</sup> Böylece hücre çekirdeğinde gen aktivasyonunu başlatır ve proliferasyon, diferansiasyon ve apoptozun düzenlenmesini sağlar.<sup>59</sup> Etkilerini STAT yolu ile gösterebilen sitokinler, mitojen aktivasyonu yapan protein kinaz (MAPK) veya fosfatidil inozitol-3 fosfat kinaz (PI3K) yolu ile de hücre içi etkilerini gösterebilmektedirler (Şekil 2).<sup>57</sup>



Şekil 2: Sitokinlerin hücre içi sinyal iletim yolu ile STAT ve JAK ilişkisinin şematik olarak gösterimi.<sup>57</sup>

Aktif STAT sinyal iletiminin sonlandırılmasında birçok mekanizma vardır. SHP2 (SH-2-containing phosphatase) tarafından tirozin kalıntılarının defosforilasyonu aktivasyonun durdurulması sağlamaktadır. PIAS (Protein inhibitor of activated STAT) ise STAT aktivasyonuna bağlı transkripsiyonu durdurmaktadır. Ayrıca son zamanlarda sitokin aktivasyonunun durdurulmasında SOCS (Suppressors of cytokine signalling) diye adlandırılan sitokin sinyal yolunda negatif feed-back mekanizması rolü olduğu tespit edilen, 8 farklı üyeden (CIS ve SOCS1–7) oluşan farklı bir hücre içi iletim yolu keşfedilmiştir.<sup>57</sup>

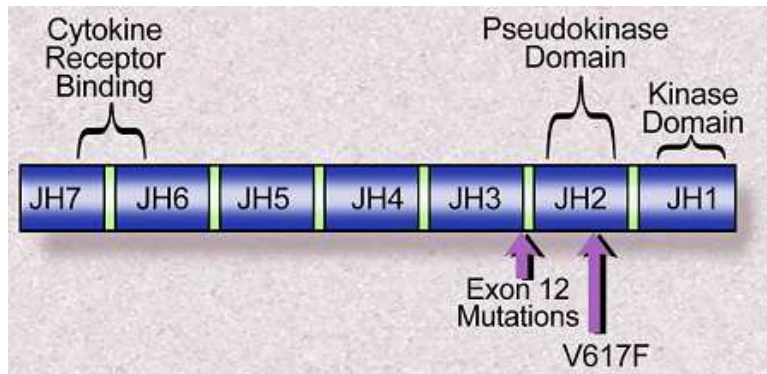
### 2.3 BCR-ABL Negatif Klasik Myeloproliferatif Neoplazmlarda Mutasyon Analizi:

2005 yılından itibaren myeloid neoplazmalarda JAK2 (ekson 14 veya 12 de), MPL, TET2 ve ASXL1 gibi yeni ortaya çıkan mutasyonlar tanımlanmıştır. Bu mutasyonlardan hiçbiri primer onkogenik kanıta sahip değildir.<sup>60</sup> JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu (ekson 14 mutasyonu)<sup>48, 61</sup>, JAK2<sup>K539L</sup> (ekson 12 mutasyonu)<sup>62</sup> ve MPL<sup>W515L</sup> mutasyonu<sup>63</sup> yapılan farelerin MPN benzeri fenotipe sahip olduğu gösterilmiş olup, günümüzde insanlarda bu mutasyonlar MPN oluşumunda önemli bir yere sahiptir.<sup>64</sup>

### 2.3.1 JAK2 Ekson 14 Mutasyonu (JAK2<sup>V617F</sup>):

Sitokinlerin hücre içi sinyal iletiminde tirozin kalıntılarını fosforile ederek gen ekspresyonunu aktive eden JAK2 enzim geni, 9. kromozomun kısa kolunda yer alır.<sup>57</sup> JAK2 geni, Jh1 (kinaz domain) ve aktif kinaz domainini regüle eden Jh 2'den (Psödokinaz domain) oluşur. JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunda, JAK2 geni ekson 14'de yer alan psödokinaz domaini 617. pozisyondaki valin yerine fenilalanin somatik tek nokta mutasyonu olmaktadır (Şekil 3). Bu mutasyon 2005 yılında dört farklı araştırmacı tarafından gösterilmiştir.<sup>46, 48, 61, 65</sup> Somatik olarak oluşan JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu nesilden nesile aktarılamaz. PV hastalarında iki alel gende JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu sıklıkla görülmekte olup, ET ve PMF de iki alel gende de bu mutasyonun görülmesi nadirdir.<sup>66</sup> Psödokinaz domaininde oluşan bu mutasyon ile JAK2 enziminde sitokinlere duyarlılık artmakta ve hatta sitokine ihtiyaç duymadan JAK/STAT enzim yolu ile gen ekspresyonu aktive edilmektedir.

JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu BCR/ABL negatif klasik MPN olgularının çoğunluğunda görülmektedir. Polistemia vera (PV) hastalarının %90–95'inde, esansiyel trombositoz (ET) ve PMF hastalarının %50'sinde bu mutasyon gösterilmiştir.<sup>5</sup> Fakat bu mutasyon MPN'a spesifik değildir; ring sideroblastlı refrakter anemili bireylerin %20–50'sinde, pirimer AML yada MDS'li hastaların %5'inden azında mutasyon görülmektedir.<sup>67-68</sup> JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu ET ve PMF hastalarında yüksek tanı yaşı, yüksek hemoglobin düzeyi ve yüksek lökosit sayısı ile, ET hastalarında düşük platelet sayısı ile ilişkili bulunmuştur.<sup>66</sup> Benzer şekilde, mutasyonun varlığı polistemia vera ve PMF hastalarında kaşıntıya eğilimi artırmaktadır.<sup>38, 69</sup>



Şekil 3: JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun şematik gösterimi.<sup>47</sup>



### 2.3.2 JAK2 Ekson 12 Mutasyonu ( $JAK2^{K539L}$ ):

Birçok çalışmada  $JAK2^{V617F}$  mutasyonu negatif olgularda JAK2 ekson 12 mutasyonu olduğu tespit edilmiştir.<sup>62, 70-72</sup> Scott ve arkadaşları<sup>62</sup> çalışmalarında  $JAK2^{V617F}$  mutasyonu negatif 10 MPN olgusunda ekson 12 mutasyonu saptamıştır. Scott ve arkadaşlarının<sup>62</sup> başka bir çalışmalarında ekson 12 mutasyonu olan olguların ekson 14 mutasyonu olan olgulardan daha genç yaşta olduğu tespit edilmiştir. Pardanani ve arkadaşları<sup>70</sup> 220 PV hastasının 5'inde (yaklaşık %3'ü), ekson 12 mutasyonu olduğunu tespit etmişlerdir. Martinez-Aviles ve arkadaşlarının<sup>72</sup> çalışmalarında  $JAK2^{V617F}$  mutasyonu negatif 20 PV hastasının 4'ünde ekson 12 mutasyonu olduğu görülmüştür. JAK2 ekson 12 mutasyonu olan MPN'da klinik prezentasyon, ekson 14 mutasyonu olan hastalardan belirgin farklı değildir.<sup>72</sup>

Klinik olarak PV bulgularını taşıyan, serum EPO düzeyi düşük olup  $JAK2^{V617F}$  mutasyonu olmayan, kemik iliği biyopsi incelemesinde eritroid hiperplazi ve atipik megakaryosit görülen olgularda yüksek olasılıkla JAK2 ekson 12 mutasyonu beklenmektedir.<sup>73</sup>

### 2.3.3 MPL Mutasyonları:

$MPL^{W515L}$ ,  $MPL^{W515K}$  ve diğer MPL ekson 10 mutasyonları ET ve PMF hastalarının yaklaşık olarak %5'inde görülmekte olup,  $JAK2^{V617F}$  mutasyonu negatif hastalarda bu oran yaklaşık %10'dur.<sup>64, 74</sup> Bu mutasyonlardan  $MPL^{W515L}$  daha sık olarak karşılaşılan formdur.  $MPL^{S505N}$  mutasyonu ise nadir olmakla birlikte daima herediter trombositemide görülmektedir.<sup>64</sup> Teofili ve arkadaşları<sup>75</sup> esansiyel trombositemi aile hikâyesi olan 7 olgunun tümünde  $MPL^{S505N}$  mutasyonu olduğunu tespit etmişlerdir. Bu olguların ailelerinde ciddi (major) trombotik epizodların görüldüğü bildirilmiştir. Bu çalışmada ailesel trombositemisi olan  $MPL^{S505N}$  mutasyonlu hastaların tromboz, splenomegali ve kemik iliği fibrozisi geliştirme riskinin çok yüksek olduğu bildirilmiştir.<sup>75</sup>

Vannucchi ve arkadaşları<sup>76</sup> 946 ET hastasından 30'unda (%3)  $MPL^{W515L/K}$  mutasyonu olduğunu tespit etmişlerdir. Bu hastaların %82'sinde aynı zamanda

JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu da olduğu tespit edilmiş. MPL<sup>W515L/K</sup> mutasyonu olan hastaların daha yaşlı bireyler olduğu, takip süresi içinde daha fazla arteriyel tromboz geliştirdikleri bildirilmiştir.<sup>76</sup>

776 olgudan oluşan (ET ve idiopatik myelofibrozis hastaları) bir çalışmada MPL mutasyonu olan hastalar ile JAK2<sup>V617F</sup> pozitif olan hastalar karşılaştırılmıştır.<sup>74</sup> Bu çalışmada MPL mutasyonu olan hastaların daha yaşlı bireyler olduğu ve bu hastalarda diğer gruba göre daha düşük hemoglobin ve daha yüksek platelet sayısı olduğu görülmüştür.<sup>74</sup> Çalışmada mutasyonun olduğu hastalarda survey, fibrotik ve lösemik transformasyon ve trombohemorajik komplikasyon oranları farklı bulunmamıştır.<sup>74</sup>

#### **2.3.4 TET2 Mutasyonları:**

TET2 kromozom 4q24 de bulunan bir tümör supresör genidir.<sup>77</sup> İlk kez 2009 yılında Delhommeau ve arkadaşları<sup>78</sup> tarafından TET2 mutasyonu myeloid kanserlerde tanımlanmıştır. 309 myeloid kanserli hastanın (MPN, MDS,Kronik myelomonositik lösemi,AML) değerlendirilmesinde TET2 mutasyonu %15 oranında tespit edilmiştir. Daha sonra yapılan birçok çalışmada elde edilen veriler Delhommeau ve arkadaşlarının bulgularını desteklemektedir.<sup>79-80</sup> Son yıllarda yapılan çalışmalarda JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu pozitif olanlarda %17, negatif olanlarda %7 oranında TET2 mutasyonu olduğu bildirilmiştir.<sup>81</sup>

#### **2.3.5 ASXL1 Mutasyonu:**

ASXL1 (additional sex comb-like 1) geninin retinoid reseptörler, retinoik asid reseptörler (RAR) ve retinoid X reseptörlerinde ko-aktivasyon veya ko-reseptör rolü vardır.<sup>82</sup> BCR/ABL negatif MPN'larda ASXL1 mutasyonunun prognostik etkisi olabileceği bildirilmektedir.<sup>83</sup>

MPN üzerinde şu ana kadar yayınlanmış tek bir çalışma 35 ET hastası, 11 PMF hasta ve 10 PV hastasından oluşmakta idi. Bu çalışmaya alınan tüm hastaların 5 tanesinde (3'ü PMF, 2'si ET) heterozigot ASXL1 mutasyonu olduğu görüldü.<sup>83</sup> MPN üzerinde ASXL1 mutasyonunun etkisi henüz net olarak bilinmemektedir, daha geniş olgu serilerinden oluşan çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 2.4 Myeloproliferatif neoplazmların tedavisinde JAK2 inhibitörleri:

Günümüzde MPN'da JAK2 inhibitörlerinin tedavide etkinliğini araştıran çalışmalar devam etmektedir (Tablo 1).<sup>84</sup> MPN içinde PMF; kemik iliği fibrozisi, kemik iliği yetmezliği, semptomatik splenomegali, halsizlik, enfeksiyonlara yatkınlık, ateş ve kilo kaybı ile karakterizedir. Bu semptomlar hastanın yaşam kalitesini ileri derecede azaltmaktadır. Allojenik kök hücre transplantasyonu hastalığın küratif tedavisinde tek seçenektir, fakat bu tedavi yaklaşık olarak %30 mortaldır ve sınırlı sayıda hastaya uygulanmaktadır.<sup>85</sup> Çoğu hastada semptomları dindirmek için çeşitli ilaçlar kullanılmakta, fakat medikal tedavinin PMF hastalarındaki etkisi net olarak bilinmemektedir. Son zamanlardaki gelişmeler JAK2 inhibitörlerinin hastalarda genel olarak iyi tolere edildiğini ve diğer hematopoez üzerine etkili ilaçlara göre daha az yan etkilerinin olduğunu gösterdi.<sup>84</sup> JAK2 inhibitörlerinin önemli bir etkisi de splenomegaliyi dramatik ve hızlı olarak azaltmasıdır.<sup>84</sup> Hastaların büyük bir çoğunluğunda dalak kitlesinde %50'nin üzerinde azalma tedavinin 2. ve 3. ayı içinde görülmektedir.<sup>84</sup> Hastalarda splenomegalinin hızlı bir şekilde düzelmesi çoğu olguda iştah artışı, kilo alımı, kaşıntı ve gece terlemesinde azalma ile günlük aktivite artışına neden olmaktadır.<sup>84</sup> Bu semptomlardaki düzelmeler JAK2 inhibitörlerinin en önemli faydasıdır.

JAK2 inhibitörleri JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan hastalarda tedavi süresince hastalığın belirgin olarak düzelmesini sağlamaktadır.<sup>86-88</sup> Fakat hiçbir yayınlanmış çalışmada JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonlu hücrelerin komple eradikasyonu bildirilmemiştir.<sup>84</sup> JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonuna sahip hücreler uzun ömürlü, multipotent ve kendini yenileyebilen hücrelerdir.<sup>89</sup> Bu hücreler, deoksifiye edici enzimler, anti-apoptotik enzimler ve ilaç transporterleri üretirler,<sup>90</sup> oluşan hipoksik ortam ilaç moleküllerinin etkin doza ulaşmasına engel teşkil eder.<sup>91</sup> Bu nedenle kemoterapatik ilaçlarla zor eradike edilirler.<sup>92-93</sup> JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan hastalarda uzun süreli JAK2 inhibitör tedavisi (>1 yıl) hastalığın bulgularını azaltabilir. Fakat bu inhibitör tedavisi JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan hastalarda tek başına hastalığı eradike etmeye yeterli değildir.<sup>84</sup>

PMF hastaları aşırı yüksek düzeyde pro-inflamatuar sitokin ve büyüme faktörleri içermektedir.<sup>84</sup> PMF hastalarında INCB018424 (JAK1 ve JAK2 dual selektif inhibitör)

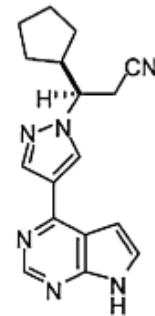
ve XL019 (JAK2 selektif inhibitör) ile pro-inflamatuar sitokin ve büyüme faktörlerinin hızla süpresyonu sağlanabilmektedir.<sup>86, 94</sup> Fakat benzer bir plazma sitokin düzeyi değişikliği TG101348 (JAK2 selektif inhibitör) ile elde edilmemiştir.<sup>95</sup>

**Tablo 4:** JAK inhibitörlerinin JAK reseptör üyelerine spesifitesi ve devam eden çalışmaların faz aşamaları

Molekül	JAK2 n(M)	JAK1 (kat)	JAK3 (kat)	TYK2 (kat)	Klinik Aşama
INCB018424	4.5	0.6	72	4	II
TG101348	3	35	332	135	I/II
XL019	2	65	125	170	I
SB1518	22	58	24	-	I/II
CEP701	1	-	3	-	II
CYT387	18	0.6	9	-	I/II
AZD1480	0.26	-	14	-	I/II
R723	2	370	13	>500	Preklinik

#### 2.4.1 INCB018424:

INCB018424 tüm JAK üyelerini (JAK1, JAK2, Tyk2) inhibe etmektedir. İlacın MPN hastalarında kullanımı faz I/2 aşamasındadır. 25 mg ve 50 mg BID formlarının günde 1 veya 2 kez kullanımı yapılmaktadır. Genel olarak karaciğer yolu ile metabolize edilir. INCB018424, CYP3A4 için substrat görevi yapar. Genel olarak iyi tolere edilmektedir. Grade 3–4 reversible trombositopeni doza bağımlı olarak hastaların %32'sinde görülür (25 mg BID). Nadir görülen yan etkiler diyare, mide bulantısı, baş ağrısı ve baş dönmesidir. Bu ilacın başlangıç maximum tolere edilebilen dozu 25 mg BID'dir.<sup>96-97</sup> Dalak boyutu 20 cm üzerinde olan hastalarda bu tedavi ile %93 oranında splenomegalide gerileme ve kilo alımı saptanmıştır.<sup>98</sup> PMF hastaları yüksek düzeyde CD34+ hücre varlığı ile karakterizedir. INCB018424 tedavisi CD34+ hücre düzeyini azaltmaktadır. PMF hastalarında INCB018424 inhibisyonu IL-6 uyarımı ile STAT3 fosforilasyonuna neden olmakta ve pro-inflamatuar sitokin üretiminde JAK2 mutasyonuna bağlı olmaksızın azalma sağlamaktadır.<sup>94</sup> Bu ilacın psöriazis hastaları için topikal kullanımı şuan faz II aşamasındadır. Bu hastalarda etkilenen cilt kalınlığı, eritem ve kabuklanmayı belirgin ölçüde azaltmaktadır. Yine romatoid artrit hastalarında etkinliği gösterilmiştir.<sup>84</sup>



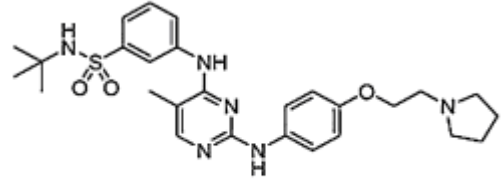
**INCB018424**

#### 2.4.2 TG101348:

TG101348, JAK2'nin klinik çalışmalarda güncel olarak bilinen en selektif inhibitörüdür.<sup>99-100</sup> Günde bir kez kullanımı PMF hastalarında iyi tolere edilmektedir.<sup>100-42</sup>

Fare modellerinde JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonlu PV

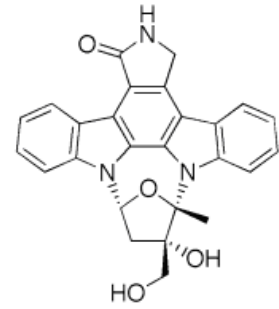
olguları, TG101348 ile tedavi edildiğinde hematokrit ve dalak boyutunda azalma ve tedavinin daha uzun yaşam süresi ile ilişkili olduğu görüldü.<sup>42</sup> Maximum toksik dozu 680 mg/gündür.<sup>42</sup> En sık görülen hematolojik olmayan toksik etkileri hafif bulantı hissi (%64) ve diaredir (%50), anti-emetik ve anti-diaretik ilaçlar ile kolay kontrol edilebilir. Ciddi trombositopeni hataların %25'inde, ciddi nötropeni %11'inde görülmektedir.<sup>42</sup> Hastaların hemen hemen tamamında dalak boyutunda %50'den fazla küçülme görülmektedir. Lokositozis hastaların neredeyse tamamında tamamen kaybolmaktadır. TG101348 ile tedavi edilen hastalarda erken dönemde plazma sitokin seviyelerinde (EPO, TPO, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-6 ve IL-8) belirgin değişiklik olmamaktadır.<sup>84</sup>



**TG101348**

#### 2.4.3 CEP-701 (Lestaurtinib):

Lestaurtinib, indolocarbazole K252 derivesi olan straurosporine analogudur.<sup>42</sup> JAK2 kinazın potent bir inhibitörü olan Lestaurtinib, FLT-3 (class III tirozin kinaz reseptör), RET ve Trk-A'nın (transforming tirozin kinaz protein) inhibisyonunu sağlar.<sup>101</sup> Lestaurtinib, 1985 yılında ortaya çıkmıştır ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanım için geliştirme çalışmaları devam etmektedir. Günümüzde faz II ve faz III çalışmaları yapılmaktadır.<sup>102-103</sup>



**Lestaurtinib**

İlacın dozu 80-120 mg günde iki kez olarak alınır, en önemli yan etkisi gastrointestinal rahatsızlıklara neden olmasıdır.<sup>104</sup> Hexner ve arkadaşları<sup>101</sup> fare xenograft model çalışmasında MPN'lı 18 olgunun 15'inde, CEP-701'in 100nM konsantrasyonda CD34+ eritroid hücrelerin STAT-5 fosforilasyonu ile inhibe edildiği

bildirilmiştir. 8 olgunun incelendiği bir çalışmada 6 olguda tedavinin 6. haftasında dalak boyutunda azalma tespit edilmiştir.<sup>104</sup>

Santos ve arkadaşlarının<sup>105</sup> 28 JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu saptanan hastalardan oluşan faz II klinik çalışmalarında, günde 80 mg Lestaurtinib tedavisinin etkinliği MPN'da orta düzeyde bulunmuştur. Bu çalışmada dalak boyutunda gerileme sadece 4 olguda saptanmıştır. Ortalama ilaç kullanım süresinin 3 ay olduğu bu çalışmada kemik iliği fibrozisinde düzelme elde edilmemiştir. %36 oranında (8 olgu) grade 3–4 toksik etkinin görüldüğü bu çalışmada olguların %27'sinde (6 olgu) ilaç dozunun azaltılması gerekmiştir. Myelosüpresyona bağlı trombositopeni %23, grade 3–4 anemi ise %13 oranında görülen yan etki iken diğer bir önemli yan etki ise gastroentestinal semptomlar (%72 diare, %50 bulantı, %27 kusma) olarak tespit edilmiştir.<sup>105</sup>

Nöroblastom tedavisinde Lestaurtinib kullanımı ile yapılan invivo ve invitro deneylerde tümör büyümesi üzerine başarılı sonuçlar elde edilmiştir.<sup>106</sup> AML hastalarında yapılan çalışmalarda relaps ve yeni tanı almış olgularda ümit verici sonuçlar görülmektedir.<sup>103</sup>

#### **2.4.4 XL019:**

XL019 JAK2'nin selektif inhibitörüdür. Bu molekülün EPO'nun eritroid hücrelerdeki sitümilasyonunu STAT5 fosforilasyonu ile inhibe edici etkisi diğer hücre sistemlerinden 10 kat daha selektiftir.<sup>107</sup> Başlangıç doz 100 mg/gün 21 gün şeklinde verilmektedir. JAK2 veya MPL mutasyonu pozitif hastalarda %50'nin üzerinde dalak boyutunda küçülme görülmüştür.<sup>86</sup> Günümüzde XL019 PMF hastalarında faz 1–2 aşamasındadır, fakat XL019 klinik olarak etkin bulunsa da toksik yan etkileri nedeni ile kullanımı ile ilgili kuşkular vardır.<sup>84</sup>

#### 2.4.5 SB1518:

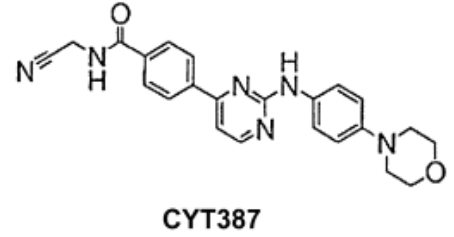
SB1518, JAK2 ve JAK2<sup>V617F</sup> mutant kinazın her ikisinde potent, selektif ve ATP kompetitif inhibitörüdür.<sup>108</sup> İn vitro olarak JAK2'ye selektivitesi JAK1'e göre 28, JAK3'e göre 24 kat daha fazladır.<sup>108</sup> Fare modellerinde SB1518 ile JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonlu MPN olgularında beyaz küre sayısında, karaciğer ve dalak boyutunda azalma gözlenmiştir. Etkisini STAT-5 fosforilasyonunda azalma ile göstermektedir.<sup>108</sup>

PMF hastalarında, hodgkin lenfoma, B hücreli lenfoma ve ileri myeloid maliniteli hastalarda SB1518 tedavisi faz 1–2 klinik çalışma aşamasındadır.<sup>84</sup>

#### 2.4.6 CYT387:

CYT387 JAK1 ve JAK2'nin ATP kompetitif potent inhibitörü olan küçük bir moleküldür, JAK3'ü az oranda etkilemektedir.<sup>109</sup> İn vitro olarak, JAK2<sup>V617F</sup> pozitif PV olgularda CYT387 selektif olarak eritroid kolonilerini inhibe etmektedir.<sup>109</sup>

Hayvan modellerinde JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu oluşturulan MPN olgularında CYT387 ile beyaz küre ve hemotokrit düzeylerinde normalizasyon, splenomegalide azalma ve kemik iliği fibrozisinde gerileme gözlenmiştir.<sup>110</sup> Bu ilaç günümüzde PMF hastalarında faz 1–2 klinik çalışma aşamasındadır.<sup>84</sup>



#### 2.4.7 AZD–1480:

Potent bir JAK2 inhibitörü olan AZD–1480, JAK-2'ye daha selektiftir.<sup>111</sup> Fare deney modellerinde yapılan çalışmalarda AZD–1480, JAK2 mutant proteinlerin proliferasyonunu azalttığı gösterilmiştir.<sup>84</sup> Bu ilacın PMF hastalarında klinik kullanımı için faz 1–2 çalışmaları devam etmektedir.

#### **2.4.8 R723:**

R723 molekülü, JAK2'nin potent ve yüksek selektif inhibitörüdür.<sup>112</sup> Özellikle bu ilaç ile JAK2<sup>V617F</sup> pozitif hücrelerde oluşan STAT-5 fosforilasyonunun inhibisyonu, IL-2 ile oluşan inhibisyondan 10-20 kat daha fazladır. R723 invivo olarak daha çok EPO reseptörlerini inhibe etmektedir ve etkisini 25-100 mg BID dozunda göstermektedir.



### **3. GEREÇ ve YÖNTEM:**

#### **3.1. Hastalara genel bakış:**

Çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji bilim Dalı polikliniğine Ocak 2007 ile Mart 2010 tarihleri arasında başvuran hastalardan BCR/ABL negatif kronik myeloproliferatif neoplazm tanısı alan ve JAK2<sup>617F</sup> mutasyonu çalışılmış 52 hasta dahil edildi. Hastaların verileri dosyalarından geriye dönük olarak değerlendirildi.

Çalışmaya alınan hastaların tanıları 2008 DSÖ kriterlerine göre sınıflandırıldı. Tüm hastaların yaşları, cinsiyetleri, hastalığın süresi, başlangıç yakınmaları, sistemik hastalıkları ile tanı anındaki tam kan sayımları değerlendirmeye alındı. Hastaların trombotik ve hemorajik olay öyküsü incelendi. Kilo kaybı, kaşıntı ve eritromelalji gibi eşlik eden semptom ve bulgular kaydedildi.

Tomografi ile değerlendirildiğinde, dalak uzun aksı normalde 11 cm (10–14 cm), genişliği 7 cm (6–8 cm) ve ön arka genişliği 4 cm (3–4 cm) olarak kabul edilmektedir. Dalağın bu üç duvarının en az ikisinde 2–3 cm genişleme olması splenomegali olarak değerlendirilmektedir. Ultrasonografi ile değerlendirildiğinde dalağın uzun aksının 11 cm üzerinde olması splenomegali olarak kabul edilmektedir.<sup>113</sup> Çalışmamızda splenomegali bu kriterlere göre değerlendirildi.

Palpasyonla yapılan değerlendirmede karaciğer sağ lop alt sınırının, kostal arkın 2 cm (bir-iki parmak kalınlığı) altında palpe edilmesi, perküsyon ile karaciğer uzunluğunun 14 cm üzerinde olması ve ultrasonografik incelemede karaciğer uzun aksının 15 cm üzerinde olması hepatomegali olarak değerlendirildi.<sup>113</sup>

Polistemia vera hastalarında tanı öncesi sekonder polistemi ayırıcı tanısı için göğüs hastalıkları konsültasyonu yapılmış, sekonder polistemi dışlanamayan hastalarda eritropoetin düzeyi çalışılmıştı. PV tanısında tablo 2’de belirtilen 2008 DSÖ kriterleri kullanılmıştır.

Esansiyel trombositoz hastalarının tümüne kemik iliği aspirasyon biyopsi incelemesi, reaktif trombositoz açısından malignite araştırması ve radyolojik incelemeler yapılmıştır. Esansiyel trombositoz tanısında tablo 3'te belirtilen 2008 DSÖ kriterleri kullanılmıştır.

Primer myelofibrozis hastalarının belirlenmesinde tablo 4'te belirtilen 2008 DSÖ tanı kriterleri dikkate alınmıştır.

Tüm hastaların periferik kan örneklerinden JAK2<sup>V617F</sup> mutasyon varlığı çalışılmıştır. Mutasyon analizi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda Real Time PCR (Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi ile çalışılmıştır.

### **3.2 JAK2<sup>V617F</sup> Mutasyonunun Tespiti:**

Hastalardan alınan periferik kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınır. Dansite gradienti ile lenfosit ve trombositlerin uzaklaştırılmasını takiben eritrositler parçalanır. Kalan granülositlerin saflıkları akım (flow) sitometride test edilerek DNA izolasyonu yapılır ve çalışma gününe kadar -20 °C de saklanır.

JAK2<sup>V617F</sup> nokta mutasyonunun "Real Time-PCR Melting Curve" analizi ile saptanması için, LightMix kiti kullanılır. LightMix, genomik cDNA hedeflerinde insan DNA JAK2<sup>V617F</sup> genotipini saptayan bir sistemdir. Yeterli DNA bulunduğu % 1'i JAK2<sup>V617F</sup> mutant olan DNA'yı saptama duyarlılığına sahiptir. LightMix sistemi, "LightCycler FastStart DNA Master Hybridization Probe"(Roche Diagnostics kullanıma hazır reaksiyon karışımı) ile test edilmiştir.<sup>114</sup>

Çalışmamızda, sırası ile JAK2<sup>V617F</sup>'nin 165 baz çiftli ve genomik cDNA hedefin 179 baz çiftli fragmanları LightCycler Red 640 adlı proba saptandı ve spesifik primerlerle amplifiye edildi. Seçilmiş nükleik asitlerin genotipleri, mutant olan için 61 °C'de ve wildtype (doğal tip) için 57 °C'de saptanan ergime eğrileri ile belirlendi. 116 baz çiftinden oluşan ilave bir ürün, ayrı bir reaksiyon ile örneklerin DNA miktarını ölçmek için kullanıldı (kantifikasyon). Elde edilen veriler (DNA kantifikasyonu ve ergime eğrileri) LightCycler kılavuzu kullanılarak değerlendirildi.

### **3.3 İstatistik Analiz:**

Araştırmadan elde edilen veriler kodlandıktan sonra SPSS 15.0 paket programında bilgisayara aktarıldı ve analiz edildi. İstatistiksel analizlerde tüm ölçümsel değişkenler için normalite testleri yapıldı. Veriler değerlendirilirken normal dağılıma uyan sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart ile, frekans verileri ise sayı ve yüzde (%) ile ifade edildi. Ölçümsel değişkenlerden normal dağılıma sahip olanlar “t testi” kullanılarak gruplar arası ölçümler ile karşılaştırıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenler “Mann-Whitney U” testi kullanılarak değerlendirildi. Tüm değerlendirmeler SPSS 15 paket programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi tüm testler için  $p < 0,05$  olarak kabul edildi

#### 4. BULGULAR:

Çalışmaya BCR/ABL negatif kronik myeloproliferatif neoplazm tanısı alan, JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu çalışılmış 52 hasta alındı. Hastaların 28'i (%53,8) PV, 21'i (%40,4) ET ve 3'ü (%5,8) PMF idi.

Çalışmaya alınan PV hastalarının 15'i (%53,6) erkek, 13'ü (%46,4) kadın olup yaş ortalaması 51,6±11,8 idi. ET hastalarının 9'u (%42,9) erkek, 12'si (%57,1) kadın olup yaş ortalaması 55,9±11,3 idi. PMF hastalarının tamamı (3'ü) erkek olup yaş ortalaması 62,3±13,7 idi. Yaş ve cinsiyet açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0,05). Tablo 5'de olguların genel özellikleri sunulmuştur.

**Tablo 5:** Çalışmaya alınan hastaların sayısı, yaş ve cinsiyet özellikleri.

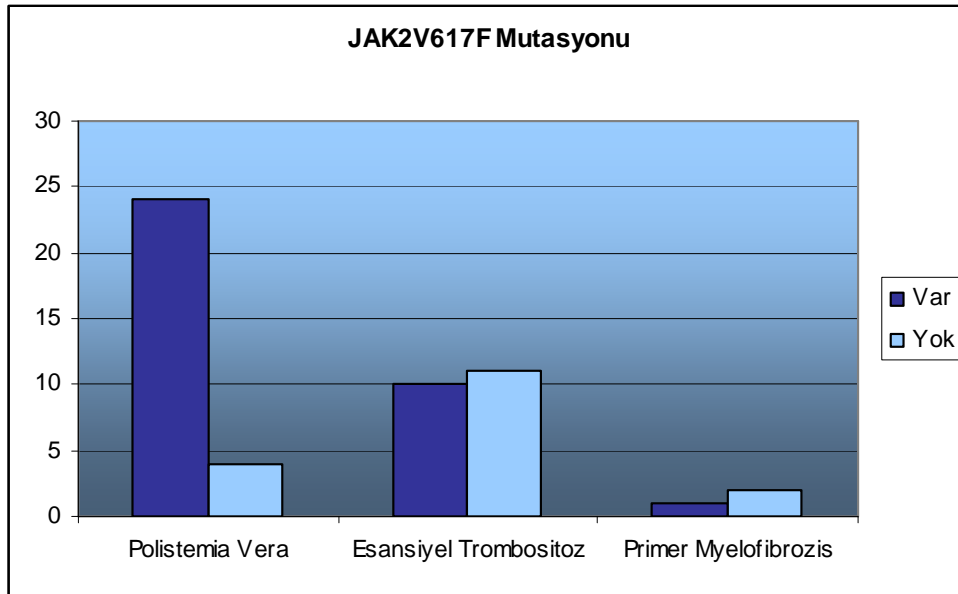
	Polistemia Vera	Esansiyel Trombositoz	Primer Myelofibrozis	Toplam
Yaş (yıl) ± SD	51,6±11,8	55,9±11,3	62,3±13,7	54,0±11,8
Cinsiyet (E/K)	15 / 13	12 / 9	3 / 0	30 / 22
Hasta Sayısı (%)	28 (53,8)	21 (40,4)	3 (5,8)	52 (100)

JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu açısından yapılan değerlendirme sonuçları tablo 6'da sunulmuştur. Değerlendirilmeye alınan 52 BCR/ABL negatif kronik myeloproliferatif neoplazm tanısı olan hastanın 35'inde (%66,7) JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu tespit edilmiştir. Hastalar tanısına göre değerlendirildiğinde PV grubunda hastaların %85,7'sinde (24/28), ET grubunda hastaların %47,6'sında (10/21) ve PMF grubunda hastaların %33,3'ünde (1/3) JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu saptanmıştır (Şekil 1). PV hastalarında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyon varlığı diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti (p=0,008).

**Tablo 6:** Gruplara göre JAK2<sup>V617F</sup> mutasyon sıklığının karşılaştırılması.

JAK2 <sup>V617F</sup> Mutasyonu	Polistemia Vera	Esansiyel Trombositoz	Primer Myelofibrozis	Toplam
Var (%)	24 (85,7)	10 (47,6)	1 (33,3)	35 (67,3)
Yok (%)	4 (14,3)	11 (52,4)	2 (66,7)	17 (32,7)
Hasta Sayısı (n)	28	21	3	52

**Şekil 4:** Hasta gruplarında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyon varlığı.



Polistemia vera hastaları JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu varlığına göre değerlendirildiğinde 28 hastanın 24'ünde (%85,7) mutasyon tespit edildi. Hastalar mutasyonun varlığına göre iki gruba ayrılarak incelendiğinde mutasyonun olduğu grupta daha yüksek yaş ortalaması mevcut olup, gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $p>0,05$ ). Yapılan tam kan sayımında hemoglobin ve hematokrit değerleri iki grup arasında benzerdi ( $p>0,05$ ). Trombosit ve beyaz küre ortalama değerleri mutasyonun olduğu grupta yaklaşık olarak iki kat yüksek olup, iki grup arasında her iki parametre için istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $p>0,05$ ). Mutasyonun olduğu grupta, kanama ve tromboz görülme sıklığı daha yüksek yüzdeye sahip iken, gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ). Hepatomegali görülme sıklığı, mutasyonun

olduğu grupta % 59,1 iken, diğer grupta %0,0 idi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ( $p<0,05$ ). Splenomegali görülme sıklığı her iki grupta benzerdi ( $p>0,05$ ). Tablo 7’de iki grubun detaylı karşılaştırılması sunulmuştur.

<b>Tablo 7:</b> Polistemia Vera hastalarında JAK2 <sup>V617F</sup> Mutasyonuna göre olguların genel özelliklerinin sunumu.					
	Hasta Sayısı (n)		JAK2 <sup>V617F</sup> mutasyonu		P değeri
	Var	Yok	Var	Yok	
Yaş ±SD	24	4	51,5±12,7	44,5±16,6	0,466
Hb*	24	4	17,3±2,3	17,8 ±0,8	0,731
Htc*	24	4	53,1±8,2	50,7±1,3	0,411
Platelet*	24	4	545.000	233.000	0,411
Lökosit*	24	4	14.000	7.365	0,358
Kanama (%)	24	4	25,0	0,0	0,259
Tromboz (%)	24	4	4,2	0,0	0,678
Hepatomegali (%)	22	4	59,1	0,0	0,030**
Splenomegali (%)	22	4	59,1	50,0	0,735

\* Tanı anındaki laboratuvar değerlerini ifade eder.

\*\* İstatistiksel olarak anlamlı değeri ifade eder ( $p<0,05$ )

Esansiyel trombositoz hastaları JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu varlığına göre değerlendirildiğinde 21 hastanın 10’unda (%47,6) mutasyon tespit edildi. Tablo 8’de ET hastalarının mutasyon varlığına göre iki gruba ayrılarak değerlendirilmesi sunulmuştur. Hastalar mutasyonun varlığına göre iki gruba ayrıldığında, mutasyonun olduğu grupta yaş ortalaması daha düşük olup, iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu ( $p>0,05$ ). İki grup arasında tanı anındaki hemoglobin, hematokrit ve beyaz küre değerleri benzer olup, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ). Hastalar ortalama trombosit sayı değerlerine göre incelendiğinde, mutasyonun olduğu grupta ortalama değerler mutasyon olmayan gruptan yaklaşık olarak %60 daha az idi. Fakat iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). Kanama ve splenomegali görülme yüzdeleri iki grup arasında benzer olup, gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu ( $p>0,05$ ). Tromboz görülme yüzdesi mutasyonun

olduğu grupta %22,2 olup, diğer grupta %9,1’idi. Hepatomegali görülme yüzdesi mutasyon olan grupta %66,7, olmayan grupta ise %36,4 idi. Mutasyon olan grupta daha yüksek hepatomegali ve tromboz görülmesine rağmen iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi ( $p>0,05$ ).

<b>Tablo 8: Esansiyel Trombositoz Hastalarında JAKV617F Mutasyonuna göre olguların özelliklerinin sunumu.</b>					
	Hasta Sayısı (n)		JAK2 <sup>V617F</sup> mutasyonu		P değeri
	Var	Yok	Var	Yok	
Yaş ±SD	10	11	53,2±11,6	58,4±11,0	0,329
Hb*	10	11	14,5±1,9	13,9±1,9	0,524
Htc*	10	11	43,1±5,7	40,5±5,3	0,455
Platelet*	10	11	804.000	1.330.000	0,397
Lökosit*	10	11	11.000	10.600	0,455
Kanama (%)	10	11	33,3	45,5	0,582
Tromboz (%)	10	11	22,2	9,1	0,413
Hepatomegali (%)	9	11	66,7	36,4	0,178
Splenomegali (%)	9	11	55,6	45,5	0,653

\* Tanı anındaki laboratuvar değerlerini ifade eder.

Çalışmamızda 3 primer myelofibrozis hastası incelenmiştir. Bu üç hastanın 1’inde (%33,3) JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu vardı. Çalışmaya alınan tüm PMF hastaları erkek idi. Hastaların demografik özellikleri, laboratuvar ve muayene bulguları tablo 9’da sunulmuştur.

<b>Tablo 9: Primer Myelofibroz Hastalarının Demografik Özellikleri</b>									
Yaş (yıl)	Cinsiyet	Hb*	Htc*	BK*	Platelet*	HM	SM	Transfüzyon İhtiyacı	JAK2 Mutasyonu
50	Erkek	7,6	25.0	4.600	659.000	-	+	+	-
77	Erkek	9,2	29.2	4.200	330.000	+	+	+	-
60	Erkek	8,4	25.6	5.700	257.000	+	+	+	+

- Tanı anındaki laboratuvar değerlerini ifade eder.

## 5. TARTIŞMA:

Myeloproliferatif neoplazmlar (MPN) hematopoetik kök hücrelerin kontrolsüz neoplastik proliferasyonu ile ortaya çıkan klonal hastalıklardır. Myeloproliferatif neoplazmlar içinde polisitemia vera (PV), esansiyel trombositoz (ET), primer myelofibrozis (PMF) ve kronik myeloid lösemi (KML) ile daha nadir görülen kronik nötrofilik lösemi, hiper eozinofilik sendrom/kronik eozinofilik lösemi ve sistemik mast hücre hastalığı yer alır.<sup>2</sup> KML patogenezinin BCR/ABL onkogen ürünü olan disregüle tirozin kinazdan kaynaklandığının anlaşılmasından sonra diğer myeloproliferatif neoplazmların patogenezine yönelik çalışmalar yoğunluk kazanmıştır.

BCR/ABL negatif kronik myeloproliferatif neoplazmlarda 2005 yılında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun varlığının tespit edilmesi, tanı ve tedavide farklı yaklaşımları gündeme getirmiştir. MPN'da yıllardır bilinen sitokinlere anormal bir yanıtın var olduğu PV da Eritropoetin (Epo) yokluğunda dahi eritroid öncü hücrelerin proliferere olduğu bilinmektedir. Epo ve Epo reseptörü (EpoR) yanında bir başka tirozin kinaz olan Januse Kinase (JAK2)'ında EpoR'a bağlandığı ve Epo'nun EpoR'a bağlanması ile aktive olduğu bilinmektedir. JAK2 mutasyonlarının PV'li olguların neredeyse tamamında, ET'li ve PMF'li olguların ise yaklaşık olarak yarısında mevcut olduğunun keşfedilmesi, klasik myeloproliferatif neoplazmlar için halen kullanılmakta olan tanısal kriterlerin yeniden gözden geçirilmesi ihtiyacını ortaya koymuştur.

JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun keşfi ile MPN'in moleküler temeline ait birçok yeni bilgi elde edilmesinin yanında, mutasyonun varlığı hastaların klinik özellikleri hakkında yol gösterici olmaktadır. 166 hastada yapılan bir çalışmaya göre MPN'da JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan hastaların mutasyon olmayan hastalara göre tanı yaşı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.<sup>115</sup> Bu çalışmaya göre JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu saptanan MPN'da tanı anındaki lökosit sayısı ve tromboz sıklığının arttığı tespit edilmiştir.<sup>115</sup> Lieu ve arkadaşları MPN'da JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu ile splenomegali, yüksek lökosit sayısı ve yüksek hemoglobin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptamışlardır.<sup>116</sup> Bu çalışmada JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu saptanan hastalarda kanama ve tromboz sıklığı %32, mutasyon saptanmayan hastalarda %17 oranında saptanmış olup, istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir.<sup>116</sup> Xavier ve arkadaşlarının ise portal ven



trombozu olan 77 hasta ile Budd Chiari sendromu olan 32 hastanın dahil edildiği çalışmalarında hastaların %22'sinde JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olduğu tespit edilmiştir.<sup>117</sup> Bizim 52 hastayı içeren çalışmamızda, JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan hastalarda tromboz ve splenomegali sırasıyla %8,8 ve %61,3 , mutasyon olmayan hastalarda bu oranlar sırasıyla %5,9 ve %47,1 olarak saptanmış olup, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

MPN'da JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonuna ilk kez 2005 yılında yayınlanan dört farklı çalışmada değinilmiştir. Takip eden yıllarda, bu hastalıkların genetik temeline ait bilgilerde önemli artış gözlenmiştir. JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun yapılan çalışmalarda PV'li hastaların yaklaşık % 90-95'inde, ET'li hastaların % 50-70'inde ve PMF'li hastaların % 40-50'sinde olduğu gösterilmiştir (Tablo 10).

**Tablo 10:** Myeloproliferatif neoplazmlarda JAK2<sup>V617F</sup> mutasyon sıklığı.

JAK2 <sup>V617F</sup> mutasyonları	Polistemia Vera %	Esansiyel Trombositoz %	Primer Myelofibrozis %
James ve ark. (2005)	89	43	43
Levine ve ark. (2005)	74	32	35
Baxter ve ark. (2005)	97	57	50
Jones ve ark. (2005)	81	41	43
Levine ve ark. (2006)	99	72	39
Speletas ve ark. (2007)	81	69	58
Kozan S ve ark. (2009)*	86	34	-
Basquiera ve ark. (2009)	89	69	47
Yuan ve ark. (2010)	78	57	44

\*Ülkemizde yapılan çalışmadır.

## 5.1 Polistemia Vera:

PV için, JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun (ekson 14 mutasyonu) beklenen sıklığı ~% 95'dir.<sup>118</sup> JAK2<sup>V617F</sup> negatif PV olgularında ise JAK2 ekson 12 mutasyonu olabildiği gösterilmiştir.<sup>21, 73</sup> Buna göre hemen hemen tüm PV olgularında bir JAK2 mutasyonu mevcuttur ve PV için önemli bir tanısal belirteçtir.<sup>21, 118</sup> DSÖ 2008 kriterlerine göre PV tanısı için JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu major kriter olarak değerlendirilmeye alınmıştır. Passamonti ve arkadaşları,<sup>119</sup> 2010 yılında geniş olgu serisi içeren (338 PV hastasında) çalışmalarında hastaların %94,7'sinde JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu tespit etmişlerdir. Ülkemizde yayınlanan Kozan ve arkadaşlarının<sup>120</sup> çalışmasında PV hastalarının %85,7'sinde JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada sekonder eritrositoz hastalarının hiçbirinde bu mutasyonun tespit edilmemesi, PV hastalarının sekonder eritrositoz hastalarından ayırımında önemli bir belirteç olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise literatürle uyumlu olarak PV hastalarının %85,7'sinde (24/28) JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu varlığı tespit edilmiştir.

PV hastalarında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun hastaların klinik özelliklerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarında Vanucchi ve arkadaşları<sup>69</sup> mutasyonun olduğu hastalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek hematokrit ve lökosit seviyesi tespit etmişlerdir. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan PV hastalarında daha yüksek lökosit ve hematokrit değerleri elde edilmiş, fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ). 104 PV hastasında yapılan bir çalışmada, splenomegali görülme oranının JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan hastalarda istatistiksel anlamlı oranda yüksek olduğu bulunmuştur.<sup>121</sup> Bu çalışmada PV hastalarında tromboz ile JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu arasında önemli bir ilişki saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu saptanan PV hastalarında kanama, tromboz ve splenomegali görülme oranları yüksek bulunmuş, fakat istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ). Çalışmamızda hepatomegali görülme oranı, JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan PV hastalarında %59,1 oranında olup mutasyon olmayan olgular ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,030$ ). Bu bulgunun daha geniş olgu serileri ile desteklenmesi gerekmektedir.

Bir çalışmada JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu bulunmayan PV'li 11 olgunun 10'unda JAK2 geninin 12. eksonunda dört farklı mutasyon tanımlanmıştır.<sup>62</sup> Bu mutasyonlar da JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu gibi büyüme faktörlerine duyarlılığa yol açmaktadır. Polisitemia Vera Çalışma Grubu tanı kriterlerini tam olarak karşılayan 114 PV hastasında yapılan bir çalışmada JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu 111 olguda (%97) gösterilmiş ve diğer üç hastada da ise JAK2 geni 12. eksonda mutasyon bulunmuştur. Bu sonuçlar PV'li hastaların tamamında JAK2 geninin 14. veya 12. eksonunda mutasyonlardan birisinin bulunduğunu desteklemektedir.<sup>122-123</sup> Bizim JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu tespit etmediğimiz PV'li hastalarımızda JAK2 ekson 12 mutasyonu olma olasılığı yüksek görünmektedir.

## 5.2 Esansiyel Trombositoz:

Dolaşımda uzun süreli trombosit sayısının yüksek saptanması ile karakterize olan esansiyel trombositoz tanısında diğer trombositoz nedenlerinin dışlanması önemlidir. 2005 yılında MPN'da JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun keşfi, PV hastalarında olduğu gibi, ET hastalarına yaklaşımda da farklı bir bakış açısı kazandırmıştır. Bu mutasyonun keşfinden sonra 2008 DSÖ kriterlerinde ET tanısında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu tanı kriteri olarak yer almıştır.<sup>2</sup>

Esansiyel trombositoz hastalarında beklenen JAK2<sup>V617F</sup> mutasyon sıklığı yaklaşık % 50-60'tır. JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu negatif ET hastalarında daha az oranlarda da olsa MPL ve TET2 mutasyonları olduğu tespit edilmiştir.<sup>124</sup> Geniş olgu serilerini içeren Campbell ve arkadaşları<sup>125</sup> 776 ET hastasının %53'ünde, Carabbio ve arkadaşları<sup>126</sup> ET tanısı alan 867 hastanın %57'sinde, Jones ve arkadaşları 59 ET hastasının %41'inde JAK2<sup>V617F</sup> mutasyon varlığını tespit etmişlerdir. Asya bölgesini içeren 102 ET hastasında yapılan bir çalışmada ise hastaların %34'ünde JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu tespit edilmiştir.<sup>127</sup> Bizim 21 esansiyel trombositoz hastamızın %47,6'sında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu saptandı. Bulgularımız literatür verileri ile uyumlu bulunmuştur.

Esansiyel trombositoz hastalarında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun klinik özelliklere etkisinin araştırıldığı Antonioli ve arkadaşlarının<sup>128</sup> çalışmalarında; JAK2<sup>V617F</sup> mutasyon varlığının hemoglobin ve lokosit seviyelerinin daha yüksek olması ve lösemik dönüşüm hızının artışı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Toyama ve arkadaşları<sup>129</sup>

çalışmalarında ET hastalarında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu varlığı ile yüksek lökosit sayısı ve tromboz görülme sıklığında artış arasında anlamlı ilişki tespit etmişlerdir. 106 ET hastasında yapılan bir çalışmada JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu varlığının artmış hematokrit, artmış lökosit ve düşük platelet sayısı ile olan ilişkisi, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.<sup>130</sup> Bizim çalışmamızda literatürle uyumlu olarak JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan ET hastalarında daha yüksek lökosit ve hematokrit seviyeleri ve daha düşük trombosit sayısı tespit edilmiş olup, mutasyon olmayan ET hastaları ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir. Bu durum olgu sayısının az olması nedeni ile olabilir.

ET tanısı olan 776 hastanın JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu varlığına göre hastalığın prognozu açısından karşılaştırıldığı çalışmada iki grup arasında beklenen yaşam süresi, lösemik ve fibrotik transformasyon veya arteriyal trombotik olay görülmesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadığı gösterildi.<sup>125</sup> Yine bu çalışmada venöz trombotik olay JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan hastalarda diğer gruba göre daha fazla görülmüştür.<sup>125</sup> Bir başka çalışmada ise ET hastalarında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu varlığı artmış tromboz sıklığı ile ilişkili bulunmaktadır.<sup>130</sup> Bizim çalışmamızda JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan 10 ET hastasının %22,2'sinde, mutasyon saptanmayan ET hastalarının %9,1'inde tromboz saptanmış olup, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,413). Çalışmamızda hepatomegali ve splenomegali görülme sıklığı JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan ET hastalarında daha yüksek olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi.

### **5.3 Primer Myelofibrozis:**

Myeloproliferatif neoplazmlar içinde en nadir görülen primer myelofibrozis olup patofizyolojisi oldukça karmaşıktır.<sup>131</sup> PMF bilinmeyen bir etyolojiye sahip multipotent, hematopoetik progenitör hücrenin klonal bozukluğudur. PMF olgularında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu gibi spesifik moleküler lezyonların tespiti, bu olgularda tanı, tedavi ve prognoz için önemlidir.<sup>131</sup> Son yıllarda PMF hastalarında JAK2 inhibitörleri (CEP 701) ile tedavi üzerine faz II aşamasında çalışmalar yapılmaktadır.<sup>105</sup>

PMF ve myelodisplastik sendrom (MDS), hiperselülerite, hafif/nonspesifik displastik değişiklikler ve değişken kemik iliği fibrotik özellikleri gibi sıklıkla birbiri

içine geçmiş morfolojik özellikleri taşırlar.<sup>132</sup> Kemik iliği biyopsi örneğinin yeterli olmaması durumunda PMF ve MDS ayrımı daha da zor olmaktadır. Son zamanlarda keşfedilen JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun MPN'da sıklıkla saptanması, MDS hastalarında çok nadir görülmesi bu iki klinik durumun ayrımında yol gösterici olmaktadır.<sup>132</sup>

PMF hastalarında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu sıklığı, PV hastalarında beklenen değerden düşük olmasına rağmen, olguların yaklaşık %50'sinde mutasyon görülmektedir. PMF tanısı alan hastalarda Barosi ve arkadaşları<sup>38</sup> 304 hastanın %63,4'ünde, Jones ve arkadaşları 35 hastanın %43'ünde, Lieu ve arkadaşları<sup>116</sup> 6 hastanın %33'ünde, Levine ve arkadaşları<sup>133</sup> ise hastaların %39'unda JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda, olgu sayısının az olmasına rağmen literatürle uyumlu olarak %33 oranında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu tespit edilmiştir.

PMF hastalarında yapılan bir çalışmada mutasyonun olduğu hastalarda nötrofil ve lokosit sayısının mutasyon olmayan hastalara kıyasla daha yüksek oranda olduğu görülürken, diğer diagnostik faktörlerin iki grupta benzer olduğu görülmüştür.<sup>134</sup> Barosi ve arkadaşları<sup>38</sup> PMF hastalarında yaptıkları çalışmalarında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu saptananlarda olmayanlara göre lösemik transformasyonun daha yüksek olduğu görülmüştür.

PMF hastalarında JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonunun klinik etkisi üzerine yapılan Barbui ve arkadaşlarının<sup>135</sup> çalışmasında mutasyonun olduğu PMF hastalarında istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek tromboz görülme oranları bildirilmiştir.

Barosi ve arkadaşları tarafından 2007'de yapılan çalışmada 304 PMF hastası incelenmiş ve JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu varlığı ile kaşıntı yakınması arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.<sup>38</sup> Çalışmamızdaki PMF olgu sayısı bu yöndeki bir kıyaslamayı yapacak yeterlilikte değildir.

PMF hastaları üzerinde yapılan uluslararası bir çalışmada 345 hasta değerlendirilmiş, survey ve prognoz açısından, JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu pozitif ve negatif olan hastalar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.<sup>136</sup> Lieu ve arkadaşları<sup>116</sup> PMF hastalarında splenomegali görülme oranını JAK2<sup>V617F</sup> mutasyonu olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda olgu sayısının azlığı nedeni ile PMF hastalarında bir kıyaslama yapılamamaktadır.

## 6. SONUÇ:

1. Çalışmamızda polistemia vera hastalarının %85,7'sinde, esansiyel trombositoz hastalarının %47,6'sında ve primer myelofibrozis hastalarının %33,3'ünde  $JAK2^{V617F}$  mutasyonu tespit edilmiştir.
2. Literatürle uyumlu olarak  $JAK2^{V617F}$  mutasyonu olan PV hastalarımızda tanı anındaki ortalama trombosit sayısı, mutasyon olmayanlardan yüksek olup, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,411$ ).  $JAK2^{V617F}$  mutasyonu olan ET hastalarımızda ise tanı anındaki ortalama trombosit sayısı mutasyon olmayan hastalardan daha düşük saptandı, fakat aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,397$ ).
3. PV hastalarımızda  $JAK2^{V617F}$  mutasyonu olan olgularda daha yüksek tromboz ve kanama oranları vardı. Ayrıca mutasyonun olduğu PV hastalarımızda splenomegali ve hepatomegali görülme oranları, mutasyon olmayan hastalarımızdan daha yüksekti, fakat sadece hepatomegali görülme oranı istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,030$ ).
4. ET hastalarımızda  $JAK2^{V617F}$  mutasyonu saptanan olgular mutasyon saptanmayan olgularla karşılaştırıldığında kanama görülme oranı daha düşük, tromboz görülme oranı ise daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Hepatomegali ve splenomegali görülme oranları mutasyonun olduğu hastalarımızda daha yüksek iken, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ( $p>0,05$ ).
5. Çalışmamız, bölgemizde MPN olgularında  $JAK2^{V617F}$  mutasyonu sıklığının değerlendirildiği ilk çalışma olup, bulgularımız literatür verileri ile uyumlu bulunmuştur.

## **Kaynaklar:**

1. Michiels JJ, De Raeve H, Berneman Z, et al. The 2001 World Health Organization and updated European clinical and pathological criteria for the diagnosis, classification, and staging of the Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative disorders. *Semin Thromb Hemost* 2006;32:307-40.
2. Wadleigh M, Tefferi A. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms according to the 2008 World Health Organization criteria. *Int J Hematol* 2010;91:174-9.
3. Copland M. Chronic myelogenous leukemia stem cells: What's new? *Curr Hematol Malig Rep* 2009;4:66-73.
4. Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M. Chronic myelogenous leukemia: update on biology and treatment. *Oncology (Williston Park)* 1999;13:169-80; discussion 181, 184.
5. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008;22:14-22.
6. Tefferi A. Mutational analysis in BCR-ABL-negative classic myeloproliferative neoplasms: impact on prognosis and therapeutic choices. *Leuk Lymphoma* 2010;51:576-82.
7. Damon A, Holub DA. Host factors in polycythemia vera. *Ann Intern Med* 1958;49:43-60.
8. Erf LA. Radioactive phosphorus in the treatment of primary polycythemia (vera). *Prog Hematol* 1956;1:153-65.
9. Levin WC, Houston EW, Ritzmann SE. Polycythemia vera with Ph-1 chromosomes in two brothers. *Blood* 1967;30:503-12.
10. London IM, Shemin D, West R, Rittenberg D: . Heme synthesis and red blood cell dynamics in normal humans and in subjects with PV, sickle cell anemia and pernicious anemia. *J Biol Chem* 1943;9:463.
11. Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood* 1951;6:372-5.
12. Kutti J, Ridell B. Epidemiology of the myeloproliferative disorders: essential thrombocythaemia, polycythaemia vera and idiopathic myelofibrosis. *Pathol Biol (Paris)* 2001;49:164-6.
13. Osgood EE. Polycythemia Vera: Age Relationships and Survival. *Blood* 1965;26:243-56.

14. Lengfelder E, Merx K, Hehlmann R. Diagnosis and therapy of polycythemia vera. *Semin Thromb Hemost* 2006;32:267-75.
15. 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;59:841-8.
16. Ash RC, Detrick RA, Zanjani ED. In vitro studies of human pluripotential hematopoietic progenitors in polycythemia vera. Direct evidence of stem cell involvement. *J Clin Invest* 1982;69:1112-8.
17. Thoennissen NH, Krug UO, Lee DH, et al. Prevalence and prognostic impact of allelic imbalances associated with leukemic transformation of Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2010;115:2882-90.
18. Berk PD, Goldberg JD, Donovan PB, Fruchtman SM, Berlin NI, Wasserman LR. Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols. *Semin Hematol* 1986;23:132-43.
19. Radich J. The Molecular Biology of Myeloproliferative Disorders. *Cancer Cell* 2010;18:7-8.
20. Elliott MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2005;128:275-90.
21. Landolfi R, Nicolazzi MA, Porfida A, Di Gennaro L. Polycythemia vera. *Intern Emerg Med* 2010.
22. Tefferi A, Fonseca R. Selective serotonin reuptake inhibitors are effective in the treatment of polycythemia vera-associated pruritus. *Blood* 2002;99:2627.
23. Fialkow PJ, Faguet GB, Jacobson RJ, Vaidya K, Murphy S. Evidence that essential thrombocythemia is a clonal disorder with origin in a multipotent stem cell. *Blood* 1981;58:916-9.
24. Gaetani GF, Ferraris AM, Galiano S, Giuntini P, Canepa L, d'Urso M. Primary thrombocythemia: clonal origin of platelets, erythrocytes, and granulocytes in a GdB/GdMediterranean subject. *Blood* 1982;59:76-9.
25. Barbui T, Finazzi G. Treatment indications and choice of a platelet-lowering agent in essential thrombocythemia. *Curr Hematol Rep* 2003;2:248-56.
26. Harrison CN, Donohoe S, Carr P, Dave M, Mackie I, Machin SJ. Patients with essential thrombocythaemia have an increased prevalence of antiphospholipid antibodies which may be associated with thrombosis. *Thromb Haemost* 2002;87:802-7.
27. Lennert K, Nagai K, Schwarze EW. Patho-anatomical features of the bone marrow. *Clin Haematol* 1975;4:331-51.



28. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 2006;108:3472-6.
29. Mesa RA, Silverstein MN, Jacobsen SJ, Wollan PC, Tefferi A. Population-based incidence and survival figures in essential thrombocythemia and agnogenic myeloid metaplasia: an Olmsted County Study, 1976-1995. *Am J Hematol* 1999;61:10-5.
30. Rozman C, Giralt M, Feliu E, Rubio D, Cortes MT. Life expectancy of patients with chronic nonleukemic myeloproliferative disorders. *Cancer* 1991;67:2658-63.
31. Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M, et al. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med* 1995;332:1132-6.
32. Tefferi A, Fonseca R, Pereira DL, Hoagland HC. A long-term retrospective study of young women with essential thrombocythemia. *Mayo Clin Proc* 2001;76:22-8.
33. Tefferi A. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. *N Engl J Med* 2000;342:1255-65.
34. Barosi G, Bordessoule D, Briere J, et al. Response criteria for myelofibrosis with myeloid metaplasia: results of an initiative of the European Myelofibrosis Network (EUMNET). *Blood* 2005;106:2849-53.
35. Visani G, Finelli C, Castelli U, et al. Myelofibrosis with myeloid metaplasia: clinical and haematological parameters predicting survival in a series of 133 patients. *Br J Haematol* 1990;75:4-9.
36. Rambaldi A. Therapy of myelofibrosis (excluding JAK2 inhibitors). *Int J Hematol* 2010;91:180-8.
37. Tefferi A, Gilliland DG. The JAK2V617F tyrosine kinase mutation in myeloproliferative disorders: status report and immediate implications for disease classification and diagnosis. *Mayo Clin Proc* 2005;80:947-58.
38. Barosi G, Bergamaschi G, Marchetti M, et al. JAK2 V617F mutational status predicts progression to large splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis. *Blood* 2007;110:4030-6.
39. Constantinescu SN. A new era for small molecule screening: from new targets, such as JAK2 V617F, to complex cellular screens. *J Cell Mol Med* 2009;13:212-214.
40. Vainchenker W, Dusa A, Constantinescu SN. JAKs in pathology: role of Janus kinases in hematopoietic malignancies and immunodeficiencies. *Semin Cell Dev Biol* 2008;19:385-93.
41. Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ. Janus kinases in immune cell signaling. *Immunol Rev* 2009;228:273-87.

42. Verstovsek S. Therapeutic potential of JAK2 inhibitors. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009;636-42.
43. Levine RL, Pardanani A, Tefferi A, Gilliland DG. Role of JAK2 in the pathogenesis and therapy of myeloproliferative disorders. *Nat Rev Cancer* 2007;7:673-83.
44. Pesu M, Laurence A, Kishore N, Zwillich SH, Chan G, O'Shea JJ. Therapeutic targeting of Janus kinases. *Immunol Rev* 2008;223:132-42.
45. Flex E, Petrangeli V, Stella L, et al. Somatically acquired JAK1 mutations in adult acute lymphoblastic leukemia. *J Exp Med* 2008;205:751-8.
46. James C, Ugo V, Le Couedic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005;434:1144-8.
47. Levine RL, Gilliland DG. Myeloproliferative disorders. *Blood* 2008;112:2190-8.
48. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005;7:387-97.
49. Yamaoka K, Saharinen P, Pesu M, Holt VE, 3rd, Silvennoinen O, O'Shea JJ. The Janus kinases (Jaks). *Genome Biol* 2004;5:253.
50. Schindler C, Levy DE, Decker T. JAK-STAT signaling: from interferons to cytokines. *J Biol Chem* 2007;282:20059-63.
51. Rodig SJ, Meraz MA, White JM, et al. Disruption of the Jak1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the Jaks in cytokine-induced biologic responses. *Cell* 1998;93:373-83.
52. Karaghiosoff M, Neubauer H, Lassnig C, et al. Partial impairment of cytokine responses in Tyk2-deficient mice. *Immunity* 2000;13:549-60.
53. Minegishi Y, Saito M, Morio T, et al. Human tyrosine kinase 2 deficiency reveals its requisite roles in multiple cytokine signals involved in innate and acquired immunity. *Immunity* 2006;25:745-55.
54. Nosaka T, van Deursen JM, Tripp RA, et al. Defective lymphoid development in mice lacking Jak3. *Science* 1995;270:800-2.
55. Thomis DC, Gurniak CB, Tivol E, Sharpe AH, Berg LJ. Defects in B lymphocyte maturation and T lymphocyte activation in mice lacking Jak3. *Science* 1995;270:794-7.
56. Darnell JE, Jr., Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994;264:1415-21.

57. Kristensen DM, Kalisz M, Nielsen JH. Cytokine signalling in embryonic stem cells. *APMIS* 2005;113:756-72.
58. Leonard WJ, O'Shea JJ. Jaks and STATs: biological implications. *Annu Rev Immunol* 1998;16:293-322.
59. Hebenstreit D, Horejs-Hoeck J, Duschl A. JAK/STAT-dependent gene regulation by cytokines. *Drug News Perspect* 2005;18:243-9.
60. Kralovics R, Teo SS, Li S, et al. Acquisition of the V617F mutation of JAK2 is a late genetic event in a subset of patients with myeloproliferative disorders. *Blood* 2006;108:1377-80.
61. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-90.
62. Scott LM, Tong W, Levine RL, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* 2007;356:459-68.
63. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med* 2006;3:e270.
64. Tefferi A. Mutational analysis in BCR-ABL-negative classic myeloproliferative neoplasms: impact on prognosis and therapeutic choices. *Leuk Lymphoma* 2010.
65. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365:1054-61.
66. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Pardanani A, Tefferi A. Clinical correlates of JAK2V617F presence or allele burden in myeloproliferative neoplasms: a critical reappraisal. *Leukemia* 2008;22:1299-307.
67. Renneville A, Quesnel B, Charpentier A, et al. High occurrence of JAK2 V617 mutation in refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis. *Leukemia* 2006;20:2067-70.
68. Schmitt-Graeff AH, Teo SS, Olschewski M, et al. JAK2V617F mutation status identifies subtypes of refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis. *Haematologica* 2008;93:34-40.
69. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Prospective identification of high-risk polycythemia vera patients based on JAK2(V617F) allele burden. *Leukemia* 2007;21:1952-9.
70. Pardanani A, Lasho TL, Finke C, Hanson CA, Tefferi A. Prevalence and clinicopathologic correlates of JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythemia vera. *Leukemia* 2007;21:1960-3.

71. Pietra D, Li S, Brisci A, et al. Somatic mutations of JAK2 exon 12 in patients with JAK2 (V617F)-negative myeloproliferative disorders. *Blood* 2008;111:1686-9.
72. Martinez-Aviles L, Besses C, Alvarez-Larran A, Cervantes F, Hernandez-Boluda JC, Bellosillo B. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera or idiopathic erythrocytosis. *Haematologica* 2007;92:1717-8.
73. Lakey MA, Pardanani A, Hoyer JD, et al. Bone marrow morphologic features in polycythemia vera with JAK2 exon 12 mutations. *Am J Clin Pathol* 2010;133:942-8.
74. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood* 2008;112:141-9.
75. Teofili L, Giona F, Torti L, et al. Hereditary thrombocytosis caused by MPLSer505Asn is associated with a high thrombotic risk, splenomegaly and progression to bone marrow fibrosis. *Haematologica* 2010;95:65-70.
76. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Characteristics and clinical correlates of MPL 515W>L/K mutation in essential thrombocythemia. *Blood* 2008;112:844-7.
77. Bacher U, Haferlach C, Schnittger S, Kohlmann A, Kern W, Haferlach T. Mutations of the TET2 and CBL genes: novel molecular markers in myeloid malignancies. *Ann Hematol* 2010;89:643-52.
78. Bernard OA, Delhommeau F, Fontenay M, Vainchenker W. [Mutations in TET2 in myeloid cancers]. *Med Sci (Paris)* 2009;25:785-8.
79. Tefferi A, Levine RL, Lim KH, et al. Frequent TET2 mutations in systemic mastocytosis: clinical, KITD816V and FIP1L1-PDGFR $\alpha$  correlates. *Leukemia* 2009;23:900-4.
80. Tefferi A, Lim KH, Abdel-Wahab O, et al. Detection of mutant TET2 in myeloid malignancies other than myeloproliferative neoplasms: CMML, MDS, MDS/MPN and AML. *Leukemia* 2009;23:1343-5.
81. Hussein K, Abdel-Wahab O, Lasho TL, et al. Cytogenetic correlates of TET2 mutations in 199 patients with myeloproliferative neoplasms. *Am J Hematol* 2010;85:81-3.
82. Lee SW, Cho YS, Na JM, et al. ASXL1 represses retinoic acid receptor-mediated transcription through associating with HP1 and LSD1. *J Biol Chem* 2010;285:18-29.
83. Carbuccioni N, Murati A, Trouplin V, et al. Mutations of ASXL1 gene in myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2009;23:2183-6.

84. Hitoshi Y, Lin N, Payan DG, Markovtsov V. The current status and the future of JAK2 inhibitors for the treatment of myeloproliferative diseases. *Int J Hematol* 2010;91:189-200.
85. Cervantes F. Modern management of myelofibrosis. *Br J Haematol* 2005;128:583-92.
86. Shah NP, Olszynski P, Sokol L, Verstovsek S, Hoffman R, List AF, et al. A phase I study of XL019, a selective JAK2 inhibitor, in patients with primary myelofibrosis, post-polycythemia vera, or post-essential thrombocythemia myelofibrosis. *Meet Abstr.* 2008;112:98.
87. Pardanani A, Gotlib J, Jamieson C, Cortes J, Talpaz M, Stone R, et al. TG101348, a JAK2-selective inhibitor, is well tolerated in patients with myelofibrosis and shows substantial therapeutic activity accompanied by a reduction in JAK2V617F allele burden. In: Coco FL, editor. 14th Congress of the European hematology association. Berlin 2009.
88. Verstovsek S, Kantarjian HM, Pardanani AD, Burn T, Vaddi K., Redman J et al. Characterization of JAK2 V617F allele burden in advanced myelofibrosis (MF) patients: no change in V617F:WT JAK2 ratio in patients with high allele burdens despite profound clinical improvement following treatment with the JAK inhibitor, INCB018424. *ASH Annu Meet Abstr* 2008;112:2802.
89. Jamieson CH, Gotlib J, Durocher JA, et al. The JAK2 V617F mutation occurs in hematopoietic stem cells in polycythemia vera and predisposes toward erythroid differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:6224-9.
90. Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer* 2005;5:275-84.
91. Trumpp A, Wiestler OD. Mechanisms of Disease: cancer stem cells--targeting the evil twin. *Nat Clin Pract Oncol* 2008;5:337-47.
92. Valent P, Deininger M. Clinical perspectives of concepts on neoplastic stem cells and stem cell-resistance in chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2008;49:604-9.
93. Kvinlaug BT, Huntly BJ. Targeting cancer stem cells. *Expert Opin Ther Targets* 2007;11:915-27.
94. Tefferi A, Kantarjian HM, Pardanani AD, Mesa RA, Newton RC, Scherle PA, et al. The clinical phenotype of myelofibrosis encompasses a chronic inflammatory state that is favorably altered by INCB018424, a selective inhibitor of JAK1/2. *ASH Annu Meet Abstr* 2008;112:2804.
95. Pardanani AD, Gotlib J, Jamieson C, Cortes J, Talpaz M, Stone RM, et al. A phase I study of TG101348, an orally bioavailable JAK2-selective inhibitor, in patients with myelofibrosis. *Annu Meet Abstr* 2008;112:97.

96. Verstovsek S, Kantarjian HM, Pardanani A, Thomas D, Cortes J, Mesa R, et al. INCB018424, an oral, selective JAK2 inhibitor, shows significant clinical activity in a phase I/II study in patients with primary myelofibrosis (PMF) and post polycythemia vera/ essential thrombocythemia myelofibrosis (post-PV/ET MF). ASH Annu Meet Abstr 2007;110:558.
97. Verstovsek S, Kantarjian HM, Pardanani A, Thomas DA, Cortes JE, Mesa R, et al. A phase I/II study of INCB018424, an oral, selective JAK inhibitor, in patients with primary myelofibrosis (PMF) and post polycythemia vera/essential thrombocythemia myelofibrosis (post-PV/ET MF). J Clin Oncol. 2008;26(May 20 suppl; abstr 7004) 2008:ASCO Annual Meeting.
98. Verstovsek S, Kantarjian HM, Pardanani AD, Thomas D, Cortes J, Mesa RA, et al. The JAK inhibitor, INCB018424, demonstrates durable and marked clinical responses in primary myelofibrosis (PMF) and postpolycythemia/essential thrombocythemia myelofibrosis (post PV/ET MF). ASH Annu Meet Abstr 2008;112:1762.
99. Wernig G, Kharas MG, Okabe R, et al. Efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in treatment of a murine model of JAK2V617F-induced polycythemia vera. Cancer Cell 2008;13:311-20.
100. Lasho TL, Tefferi A, Hood JD, Verstovsek S, Gilliland DG, Pardanani A. 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;22:1790-2.
101. Hexner EO, Serdikoff C, Jan M, et al. Lestaurtinib (CEP701) is a JAK2 inhibitor that suppresses JAK2/STAT5 signaling and the proliferation of primary erythroid cells from patients with myeloproliferative disorders. Blood 2008;111:5663-71.
102. Shabbir M, Stuart R. Lestaurtinib, a multitargeted tyrosine kinase inhibitor: from bench to bedside. Expert Opin Investig Drugs 2010;19:427-36.
103. Sanz M, Burnett A, Lo-Coco F, Lowenberg B. FLT3 inhibition as a targeted therapy for acute myeloid leukemia. Curr Opin Oncol 2009;21:594-600.
104. Smith BD LM, Beran M, Giles F, Kantarjian H, Berg K, et al. Single-agent CEP-701, a novel FLT3 inhibitor, shows biologic and clinical activity in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia. Blood 2004;103:3669-76.
105. Santos FP, Kantarjian HM, Jain N, et al. Phase 2 study of CEP-701, an orally available JAK2 inhibitor, in patients with primary or post-polycythemia vera/essential thrombocythemia myelofibrosis. Blood 2010;115:1131-6.
106. Iyer R, Evans AE, Qi X, et al. Lestaurtinib enhances the antitumor efficacy of chemotherapy in murine xenograft models of neuroblastoma. Clin Cancer Res 2010;16:1478-85.

107. Wernig G, Kharas MG, Okabe R, Moore SA, Leeman DS, Cullen DE, et al. Efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in treatment of a murine model of JAK2V617F induced polycythemia vera. *Cancer Cell* 2008;13:311-20.
108. Goh KC, Ong WC, Hu C, Hentze H, Liang AL, Stunkel W, et al. SB1518: a potent and orally active JAK2 inhibitor for the treatment of myeloproliferative disorders. *ASH Annu Meet Abstr.* 2007;110:538.
109. Pardanani A, Lasho T, Smith G, Burns CJ, Fantino E, Tefferi A. CYT387, a selective JAK1/JAK2 inhibitor: in vitro assessment of kinase selectivity and preclinical studies using cell lines and primary cells from polycythemia vera patients. *Leukemia* 2009;23:1441-5.
110. Bumm TGP, Tyner JW, Deininger J, Loriaux M, VanDyke J, Druker BJ, et al. Effects of CYT387, a potent novel JAK2 inhibitor on JAK2-V617F induced MPD. *ASH Annu Meet Abstr.* 2008;112:856.
111. Napper A. Drug Discovery and Development of Innovative Therapeutics--IBC's 13th Annual World Congress. Approaches to cancer therapy. *IDrugs* 2008;11:705-9.
112. Markovtsov V, Tonkin E, Fang S, Liu C, Gelman M, Lang W, et al. In vitro and in vivo inhibition of JAK2 signaling by potent and selective JAK2 inhibitor. *ASH Annu Meet Abstr.* 2008;112:3721.
113. Kuntz E, Kuntz, HD. *Hepatology textbook and atlas*, 3rd edition, Chapter 11. 2008.
114. Olsen RJ, Tang Z, Farkas DH, Bernard DW, Zu Y, Chang CC. Detection of the JAK2(V617F) mutation in myeloproliferative disorders by melting curve analysis using the LightCycler system. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130:997-1003.
115. Speletas M, Katodritou E, Daiou C, et al. Correlations of JAK2-V617F mutation with clinical and laboratory findings in patients with myeloproliferative disorders. *Leuk Res* 2007;31:1053-62.
116. Lieu CH, Wu HS, Hon YC, et al. Prevalence of the JAK2-V617F mutation in Taiwanese patients with chronic myeloproliferative disorders. *Intern Med J* 2008;38:422-6.
117. Xavier SG, Gadelha T, Pimenta G, et al. JAK2V617F mutation in patients with splanchnic vein thrombosis. *Dig Dis Sci* 2010;55:1770-7.
118. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, et al. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood* 2007;110:1092-7.

119. Passamonti F, Rumi E, Pietra D, et al. A prospective study of 338 patients with polycythemia vera: the impact of JAK2 (V617F) allele burden and leukocytosis on fibrotic or leukemic disease transformation and vascular complications. *Leukemia* 2010.
120. Kozan S, Güran Ş, Bahçe M, Kaplan K, ve ark. Kronik myeloproliferatif hastalık ve miyelodisplastik sendrom olgularında Jak 2 V617F mutasyonu. *Gülhane Tıp Dergisi* 2009;51:137-40.
121. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood* 2007;110:840-6.
122. Scott LM, Beer PA, Bench AJ, Erber WN, Green AR. Prevalance of JAK2 V617F and exon 12 mutations in polycythaemia vera. *Br J Haematol* 2007;139:511-2.
123. Butcher CM, Hahn U, To LB, et al. Two novel JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythaemia vera patients. *Leukemia* 2008;22:870-3.
124. Beer PA, Green AR. Pathogenesis and management of essential thrombocythemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009:621-8.
125. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, et al. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005;366:1945-53.
126. Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, et al. JAK2V617F allele burden and thrombosis: a direct comparison in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol* 2009;37:1016-21.
127. Wong GC, Kam GL, Koay ES. JAK2 Mutations in Asian Patients with Essential Thrombocythaemia. *Intern Med J* 2010.
128. Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, et al. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2005;19:1847-9.
129. Toyama K, Karasawa M, Yamane A, et al. JAK2-V617F mutation analysis of granulocytes and platelets from patients with chronic myeloproliferative disorders: advantage of studying platelets. *Br J Haematol* 2007;139:64-9.
130. Patriarca A, Pompetti F, Malizia R, et al. Is the absence of JAK2 mutation a risk factor for bleeding in essential thrombocythemia? An analysis of 106 patients. *Blood Transfus* 2010;8:21-7.
131. Stein BL, Moliterno AR. Primary myelofibrosis and the myeloproliferative neoplasms: the role of individual variation. *JAMA* 2010;303:2513-8.
132. Olsen RJ, Dunphy CH, O'Malley DP, Rice L, Ewton AA, Chang CC. The implication of identifying JAK2 ( V617F ) in myeloproliferative neoplasms and myelodysplastic syndromes with bone marrow fibrosis. *J Hematop* 2008;1:111-7.



133. Levine RL, Belisle C, Wadleigh M, et al. X-inactivation-based clonality analysis and quantitative JAK2V617F assessment reveal a strong association between clonality and JAK2V617F in PV but not ET/MMM, and identifies a subset of JAK2V617F-negative ET and MMM patients with clonal hematopoiesis. *Blood* 2006;107:4139-41.
134. Campbell PJ, Griesshammer M, Dohner K, et al. V617F mutation in JAK2 is associated with poorer survival in idiopathic myelofibrosis. *Blood* 2006;107:2098-100.
135. Barbui T, Carobbio A, Cervantes F, et al. Thrombosis in primary myelofibrosis: incidence and risk factors. *Blood* 2010;115:778-82.
136. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2009;113:2895-901.

