

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Hematoloji Bilim Dalı

**KRONİK MİYELOPROLİFERATİF
HASTALIKLARDA GÖRÜLEN ARTEROVENÖZ
TROMBOZLARIN JAK-2^{V617F} MUTASYONU İLE
İLİŞKİSİ**

(Hematoloji Yan Dal Uzmanlık Tezi)

Dr. M. Cem Ar

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Birsen ÜLKÜ
İstanbul-2009**

Yan dal uzmanlık eğitimim süresince yetişmeme katkıda bulunan, bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren, yakın ilgi ve desteklerini her zaman hissettiğim, başta tez danışmanı hocam Prof. Dr. Birsen Ülkü olmak üzere, Hematoloji Bilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Yıldız Aydın, Prof. Dr. Burhan Ferhanoğlu, Prof. Dr. Teoman Soysal ve Prof. Dr. Zafer Başlar'a, bilimsel katkılarından dolayı Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. A. Nur Buyru ve Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Nükhet Tüzüner ve Doç. Dr. Hilal Akı'ya, birlikte çalışmaktan büyük zevk aldığım mesai arkadaşlarım Uz. Dr. Şeniz Öngören, Uz. Dr. Ahmet Emre Eşkazan ve Uz. Dr. Ayşe Salihoğlu'na, desteklerini esirgemeyen Hematoloji Bilim Dalı'nın hemşirelerine ve tüm personeline en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

<i>GİRİŞ VE AMAÇ</i>	3
<i>GENEL BİLGİLER</i>	5
<i>GEREÇ VE YÖNTEM</i>	10
<i>BULGULAR</i>	16
<i>TARTIŞMA</i>	22
<i>KAYNAKLAR</i>	27
<i>ÖZET</i>	30
<i>İNGİLİZCE ÖZET</i>	31

GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik miyeloproliferatif hastalıklar (KMPH) başlığı altında toplanan polistemi vera (PV), esansiyel trombositemi (ET), primer miyelofibroz (PM) ve kronik miyeloid lösemi (KML) herhangi bir farklılaşma veya olgunlaşma kusuru göstermeksizin proliferasyonla giden miyeloid kök hücre hastalıklarıdır. Bulardan, KML kendine özgü bir klonal genetik bozukluk olan Philadelphia (Ph) kromozomu [translokasyon t(9;22)] varlığı ile diğer üç hastalıktan ayrılır. PV, ET ve PM'de tanım gereği Ph kromozomu bulunmaz ve bu nedenle Ph-negatif KMPH olarak adlandırılırlar.

2005 yılında, Ph-negatif KMPH'lerde Janus kinaz 2 (JAK2)^{V617F} adı verilen yeni bir mutasyon tanımlanmıştır.¹ Hücre içi sinyal iletiminde rol oynayan JAK2 enzimini kodlayan gende gösterilen bu klonal mutasyon PV hastalarının %90-95'inde, ET ve PM hastalarının %50-60'ında saptanmaktadır; KML hastalarında ise JAK2^{V617F} pozitifliği son derece nadirdir.² JAK2^{V617F} mutasyonunun Ph-negatif KMPH'lerde hastalık patogeneze katkısı tam olarak bilinmemektedir.

KML'de prognozu akut lösemiye dönüşüm belirlemektedir. Ph-negatif KMPH'lerde ise akut lösemiye dönüşüm nadir görüldüğünden prognozu etkileyen en önemli etken olarak venöz ve arteriyel trombozlar öne çıkmaktadır. Özellikle, PV ve ET'de %30'lara varan oranlarda tromboz sıklığı bildirilmiştir.³

Ph-negatif KMPH'de görülen ve prognostik öneme sahip olan, artmış tromboz sıklığı ile JAK2^{V617F} mutasyonu varlığı arasında bir ilişki olup olmadığı, mutasyonun tanımlandığı 2005 yılından bu yana araştırılmaktadır. Ancak, literatürde mevcut olan çalışmalarda elde edilen sonuçlar birbiri ile çelişmektedir. Bu çelişkinin başlıca nedeni çalışmaların hasta özellikleri ve yöntemler açısından homojen olmamalarıdır. Dolayısıyla bu konuda yapılacak iyi kurgulanmış çalışmalara gereksinim vardır.

Bu çalışmada Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı tarafından 1988-2008 yılları arasında takip edilen 189 Ph-negatif KMPH hastası retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın iki amacı vardır:

1. Ph-negatif KMPH'de JAK2^{V617F} mutasyon varlığı ile tromboz arasında bir ilişki olup olmadığının irdelenmesi çalışmanın birincil amacıdır. Bu amaçla, önce tüm hastalar, daha sonra PV, ET ve PM alt gruplarındaki hastalar JAK2^{V617F} varlığına göre ayrı ayrı arteriyel, venöz ve toplam trombotik olayların sıklığı açısından karşılaştırılacaktır.
2. Çalışmanın ikincil amacı, Ph-negatif hastalardaki JAK2^{V617F} varlığı ve tromboz sıklığına yönelik Türkiye verilerinin oluşumuna katkıda bulunmaktır.

GENEL BİLGİLER

Kronik Miyeloproliferatif Hastalıklar ve JAK2

Polistemi vera (PV), esansiyel trombositemi (ET), primer miyelofibrozu (PM) ve kronik miyeloid lösemi (KML), kronik miyeloproliferatif hastalıklar (KMPH) olarak adlandırılan miyeloid kök hücre hastalıklarıdır. KMPH Philadelphia (Ph) kromozomu taşıyıp taşımadıklarına göre ikiye ayrılır. Ph kromozomu [t(9;22)] KML'ye özgü bir translokasyondur ve tanım gereği KML dışındaki diğer KMPH'lerde bulunmaz. Dolayısıyla, t(9;22) translokasyonunu göstermeyen PV, ET ve PM Ph-negatif KMPH'ler olarak adlandırılmaktadır.

Ph-negatif kronik miyeloproliferatif hastalık olgularının önemli bir kısmında **Janus kinaz 2 (JAK2)** genine ait edinsel bir nokta mutasyonunun (**1849G>T**) varlığı ilk defa 2005 yılında beş ayrı grup tarafından gösterilmiştir. Bir sitoplazmik tirozin kinaz inhibitörü olan JAK2, aktive olmuş tip I sitokin (örn: eritropoietin) reseptörlerinden gelen sinyallerin hücre içine iletiminden sorumludur; bu iletiler ön planda hücre içi proliferasyon mekanizmasında önemli rol oynarlar. 1849G>T nokta mutasyonu JAK2 molekülünde oto-inhibisyonla görevli psödokinaz bölgesi 617. pozisyonundaki valin'in yerine fenilalanin gelmesine neden olur. Bu durum, JAK2 enziminin sitokin uyarımından bağımsız olarak aktive olmasına ve kontrolsüz hücre içi sinyal iletimi yoluyla denetimsiz hücre proliferasyonuna yol açmaktadır.^{1,4,5,6,7}

Polistemi vera (PV) hastalarının %90-95'inde, esansiyel trombositemili (ET) ve PM hastaların %50-60'ında JAK2^{V617F} saptanmaktadır. KML hastalarında ise JAK2^{V617F} pozitifliği son derece nadirdir.²

JAK2^{V617F} mutasyonunun KMPH patogenezindeki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak hastalık kliniği ile bu mutasyon arasında bir ilişki olduğuna dair işaretler mevcuttur. Örneğin, ET'de JAK2 mutasyonunun varlığı ileri yaş, hemoglobin yüksekliği, artmış lökosit sayısı ve daha düşük trombosit sayısı ile ilişkilendirilmiştir.^{8,9}

Olguların neredeyse tamamının JAK2^{V617F} pozitif olduğu PV hastalarında ise homozigot genotip heterozigot ile karşılaştırıldığında homozigotlarda hemoglobin ve lökosit düzeylerinin daha yüksek, trombosit sayısının ise daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ayrıca homozigot pozitiflik kaşıntı ile ilişkili bulunmuştur.^{10,11} JAK2^{V617F} pozitif primer miyelofibrozu (PM) hastalarda lökosit sayılarının daha yüksek, ve dalak boyutunun daha büyük olduğu bildirilmiştir. Bu hasta grubunda da kaşıntı ile JAK2^{V617F} varlığı arasında patogenezi bilinmeyen bir ilişki olduğu görülmüştür.^{12,13}

Ph-negatif Kronik Miyeloproliferatif Hastalıklar ve Tromboz

Tromboz sıklığı, PV ve ET'de sırasıyla, %12-39 ve %11-25 arasında bulunmuştur.³ Tromboz, KMPH'de önemli bir prognostik faktördür. Bu nedenle tromboza eğilimin sebeplerini irdeleyen bir çok çalışma mevcuttur. KMPH'de tromboz riskini artırdığı kanıtlanmış en önemli iki risk faktörü yaş (>60) ve geçirilmiş tromboz varlığıdır.^{14,15} Prognostik değeri tartışmalı olan belirleyiciler arasında sigara kullanımı, hipertansiyon, diyabet ve dislipidemi gibi daha çok arteriyel tromboza yol açan klasik kardiyovasküler risk faktörleri sayılabilir.¹⁶ Ayrıca, artmış eritrosit, lökosit ve trombosit sayılarının ve değişmiş reolojik etkenlerin tromboza katkısı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.^{17,18}

Bu verilerden yararlanılarak polistemi vera ve esansiyel trombositemi tanılı hastalarda tromboz gelişme riskini öngören bir skorlama sistemi ve bu sistemi temel alan bir tedavi algoritması oluşturulmuştur (Tablo 1, 2).¹⁹

{Tablo-1} Skorlama Sistemi ¹⁹

Risk Faktörü	Skor
Yaş	
< 40	0
40 – 55	1
56 – 65	2.5
> 65	3.5
Hipertansiyon	0.5
Dislipidemi	0.5
Trombosit (> 1000 x 10 ⁶ /l)	1
Lökosit (> 12 x 10 ⁶ /l)	1
Sigara kullanma	1.5
Diyabet	1.5
Tromboz öyküsü	3.5

{Tablo-2} Polistemi Vera ve Esansiyel Trombositemide Tromboz Risk Stratifikasyonu ¹⁹

Skor	Risk Seviyesi	Tedavi Önerisi		YMR*
		PV	ET	
<1	Düşük	Flebotomi, aspirin verilebilir	Aspirin verilebilir	<1.5
1-3	Orta	Flebotomi Aspirin	Aspirin İnterferon veya hidrokşiüre ile sitoredüksiyon denenebilir	1.5-3
3.1-5.5	Yüksek	Aspirin Hidroksiüre	Aspirin Hidroksiüre	3.1-6
>5.5	Çok yüksek	Aspirin Hidroksiüre Daha agresif tedaviler?	Aspirin Hidroksiüre Daha agresif tedaviler?	>6

JAK2^{V617F} Mutasyonu ve Tromboz Mekanizması

JAK2^{V617F} mutasyonunun tanımlanmasını takiben diğer etkenler yanında bu genetik defektin de KMPH'de görülen artmış trombotik hastalık sıklığı ile ilişkili olup olmadığı araştırılmaya başlanmıştır. ET'de JAK2^{V617F} mutasyonu ile artmış lökosit ve trombosit sayısı arasında ilişki olduğunun gösterilmesi söz konusu mutasyonun reolojik mekanizmalar üzerinden trombozu arttırabileceğini düşündürmüştür. Takib eden çalışmalarda JAK2^{V617F} mutasyonunun ayrıca moleküler düzeyde değişikliklere yol açarak hücreler arası ilişkileri ve hemostaz mekanizmasını etkilediği ve protrombotik bir zemin yarattığına dair bulgular elde edilmiştir. JAK2^{V617F} mutasyonun trombojenik etkilerini kısaca özetleyecek olursak:

- a. JAK2^{V617F}'nin trombopoietin reseptörü olan MPL'nin hücre yüzeyindeki yerleşimi ve stabilitesini değiştirerek trombosit aktivasyonuna etki edebileceği ileri sürülmüştür.²⁰
- b. JAK2 mutasyonu neticesinde aktive olan JAK/STAT ileti yolunun bazı apoptoz ve transkripsiyon faktörlerinin ekspresyon düzeylerinde değişikliklere yol açarak koagülasyon mekanizmasını dolaylı olarak etkileyebileceği bildirilmiştir.²¹
- c. Robertson ve ark. trombositlerin lökositlere bağlanmasını sağlayarak yüksek trombojenik potansiyele sahip trombosit-lökosit agregatları oluşmasına yol açan solübl p-selektinin, JAK2 (+) KMPH'lerde yüksek düzeylerde bulunduğunu göstermişlerdir.²²
- d. Falanga ve arkadaşları da JAK2^{V617F} pozitif ET hastalarından elde edilen trombositlerde trombosit p-selektin (CD62p) ekspresyonunun artmış olduğunu ve benzer şekilde doku faktörü bağlı trombosit miktarının da JAK2^{V617F} hastalarda daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir.²³
- e. Alvarez-Larran ve arkadaşları JAK2^{V617F} pozitif hastalarda monosit ve nötrofiller üzerinde CD11b ekspresyonunun artmış olduğunu göstermişlerdir.²⁴

JAK2^{V617F} mutasyonunun yukarıda özetlenen mekanizmalar üzerinden protrombotik bir etkiye sahip olabileceğinin ileri sürülmesi idyopatik tromboz ve trombozla giden başka hastalıklarda (KMPH dışı) JAK2^{V617F} varlığının araştırılmasına neden olmuştur. Bayraktar ve arkadaşları izole splanknik ven trombozu ile başvuran hastalarda JAK2^{V617F} sıklığının yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ancak JAK2^{V617F} hastaların daha sonra yapılan incelemede latent KMPH olguları oldukları anlaşılmıştır.²⁵ Fouassier ve arkadaşları trombozla seyreden paroksizmal noktürnal hemoglobinürili 11 hastanın hiçbirinde JAK2^{V617F} mutasyonu gösteremediklerini bildirmişlerdir.²⁶ 2007'de yayınlanan retrospektif bir başka çalışmada Pardanani ve arkadaşları, herediter trombofili tetkiki için sevk edilen ve KMPH tanısı /splanknik ven trombozu olmayan 664 hastada JAK2^{V617F} mutasyonu sıklığını araştırmışlar ve hastaların ancak %1'inde pozitif bulmuşlardır. Bu sonuçtan yola çıkarak JAK2^{V617F} mutasyonunun rutin hiperkoagülabilite taraması içinde yer almasını gerektirecek yeterli kanıt olmadığını ileri sürmüşlerdir.²⁷

JAK2^{V617F} Mutasyonunun Sağlıklı Bireylerdeki Sıklığı

JAK2^{V617F} mutasyonunun toplumdaki sıklığını araştıran en kapsamlı çalışma Xu ve arkadaşları tarafından Çin'de 4000'e yakın sağlıklı hastane çalışanına ait kan örnekleri üzerinde yapılmış ve JAK2 sıklığı yaklaşık %1 civarında bulunmuştur.²⁸

Ph-negatif Kronik Miyeloproliferatif Hastalıklar, JAK2 ve Tromboz

JAK2^{V617F} mutasyonu ile trombotik risk arasında bir bağ olup olmadığını araştıran en geniş kapsamlı prospektif klinik çalışma Campell ve arkadaşlarının 2005'te yayınlanmıştır. 776 ET tanılı hastanın takip edildiği bu çalışmada JAK2^{V617F} mutasyonu pozitif 414 hastada, gerek ET tanısı almadan önceki yıl içinde gerekse tanı aldıktan sonra, geri kalan 362 JAK2^{V617F} negatif hastaya nazaran anlamlı olarak daha yüksek venöz tromboemboli (VTE) oranlarına rastlanmıştır. Arteriyel tromboz oranlarında ise anlamlı bir fark gösterilememiştir.²⁹

Bu verileri destekleyen çalışmalar yanında JAK2^{V617F} mutasyonu ile vasküler olaylar arasında bir ilişki olmadığını gösteren yayınlar da mevcuttur. Wolanskyj ve arkadaşlarının 73'ü JAK2^{V617F} mutasyonu pozitif, 150 ET tanılı hastayı ortanca 137 ay takiple inceledikleri ve 2005'te yayınlanan retrospektif çalışmalarında toplam (arteriyel ve venöz) tromboz oranları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.⁹

JAK2^{V617F} mutasyonu ile tromboz arasındaki ilişkiyi araştıran mevcut yayınların sonuçları birbiri ile çelişmektedir. Bu çelişkinin başlıca nedeni çalışmaların hasta özellikleri ve yöntemler açısından farklılıklar göstermeleridir; bu nedenle JAK2^{V617F} mutasyonunun trombozu kolaylaştırıp kolaylaştırmadığı konusunda net bir sonuca varmak güçtür.

GEREÇ VE YÖNTEM

1. Hasta Grubu

Çalışmaya Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı Polikliniği'nde 1988-2008 yılları arasında Ph-negatif kronik miyeloproliferatif hastalık (PV, ET, PM) tanısı almış 189 hasta dahil edilmiştir.

2. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Polikliniğe ilk başvurdıkları tarih itibarı ile o tarihlerde geçerli klasik tanı kriterlerine (bkz. 2.1.) göre KMPH tanısı almış ve onam vermiş tüm hastalar çalışma kapsamına alınmıştır.

2.1. Tanı Kriterleri

PV, ET ve PM tanı kriterleri zaman içinde değişikliğe uğramıştır. aktadır. Hastalar ilk tanı aldıkları tarihte geçerli olan kriterlere göre değerlendirilmiştir. Bu nedenle 1988-2008 arasında geçerli olan tüm kriterler aşağıda verilmiştir.

Polistemi Vera Tanı Kriterleri

WHO (2008)³⁰

Majör Kriterler:

1. Erkeklerde Hb> 18.5 g/dl, kadınlarda Hb> 16.5 g/dl olması veya artmış eritrosit kütesine işaret eden diğer bulguların bulunması (erkeklerde >17, kadınlarda >15 g/dl olan ve demir eksikliğinin yerine konması ile ilişkilendirilemeyen ≥ 2 g/dl hemogloblin artışı veya normal değere göre %25'in üzerinde artmış eritroid kütle indeksi)
2. JAK2^{V617F} mutasyonu veya JAK2^{exon12} gibi fonksiyonel olarak benzerlik gösteren mutasyonların varlığı

Minör Kriterler:

1. Yaşa göre hipersellüler kemik iliği; her üç dizide de (eritroid, granülositer ve megakaryositer) belirgin proliferasyon
2. Eritropoietin düzeyinin normal referans değerlerinin altında saptanması
3. İn vitro endojen eritroid koloni oluşumunun gösterilmesi

Sekonder polistemi nedenlerinin dışlandığı bir hastada polistemi vera tanısı için iki majör ve bir minör kriter veya ilk majör kriterle beraber iki minör kriter varlığı gereklidir.

WHO (2001)³¹

Majör Kriterler:

1. Artmış eritrosit kütesi (Erkeklerde Hb> 18.5 g/dl, kadınlarda Hb> 16.5 g/dl olması veya erkeklerde >17, kadınlarda >15 g/dl olan ve demir eksikliğinin yerine konması ile ilişkilendirilemeyen ≥ 2 g/dl hemogloblin artışı veya normal değere göre %25'in üzerinde artmış eritroid kütle indeksi)
2. Sekonder eritrositoza dair bulgu olmaması
3. Palpabl splenomegali
4. Kemik iliği hücrelerinde Philadelphia kromozomu veya bcr-abl füzyon geni dışında klonal genetik anomali gösterilmesi
5. İn vitro endojen eritroid koloni oluşumunun gösterilmesi

Minör Kriterler:

1. Trombositoz (>400000/mm³)
2. Lökositoz (>12000/mm³)
3. Yaşa göre hipersellüler kemik iliği; her üç dizide de (eritroid, granülositer ve megakaryositer) belirgin proliferasyon
4. Eritropoietin düzeyinin normal referans değerlerinin altında saptanması

Polistemi vera tanısı için ilk iki majör kritere ek olarak bir majör kriter veya iki minör kriter varlığı gereklidir.

Polistemi Vera Çalışma Grubu Orijinal Tanı Kriterleri³²

Majör Kriterler:

1. Artmış eritrosit kütle indeksi (erkeklerde ≥ 36 ml/kg; kadınlarda ≥ 32 ml/kg)
2. Normal arteriyel oksijen satürasyonu ($\geq \% 92$)
3. Splenomegali

Minör Kriterler:

1. Trombositoz ($>400000/\text{mm}^3$)
2. Lökositoz ($>12000/\text{mm}^3$)
3. Lökosit Alkalen fosfataz >100 veya vitamin B₁₂ > 900 pg/ml veya serbest B₁₂ bağlama kapasitesi > 2200 pg/ml

Polistemi vera tanısı için üç majör kriter veya ilk iki majör kritere ek olarak iki minör kriter varlığı gereklidir.

Esansiyel Trombositemi Tanı Kriterleri

WHO (2008) Kriterleri³⁰

1. Trombositoz ($\geq 450000/\text{mm}^3$)
2. Morfolojik olarak artmış sayıda büyük ve olgun megakaryositlerin varlığı ile karakterize megakaryositer dizi proliferasyonu ile giden, granülopoiez ve eritropoiezde anlamlı artışın eşlik etmediği kemik iliği
3. KML, PV, PM, MDS veya diğer miyeloid neoplazilere ait WHO tanı kriterlerine uymayan hastalık bulguları
4. JAK2^{V617F} veya diğer klonal belirteçlerin varlığının gösterilmesi; JAK2^{V617F} yokluğunda reaktif trombositozu işaret eden bulguların olmaması

Esansiyel trombositemi tanısı için her dört kriterin de varlığı gereklidir.

WHO (2001) Kriterleri³¹

1. Trombositoz ($\geq 600000/\text{mm}^3$)
2. Morfolojik olarak artmış sayıda büyük ve olgun megakaryositlerin varlığı ile karakterize megakaryositer dizi proliferasyonu ile giden kemik iliği
3. KML, PV, PM, MDS veya diğer miyeloid neoplazilerin dışlanmış olması

Esansiyel trombositemi tanısı için her üç kriterin de varlığı gereklidir.

Primer Miyelofibroz Tanı Kriterleri

WHO (2008) Kriterleri³⁰

Majör Kriterler:

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

Minör Kriterler:

1. Lökoeitroblastoz
2. Serum LDH düzeyinde artış
3. Anemi
4. Splenomegali

Primer miyelofibroz tanısı üç majör ve iki minör kriterin varlığını gerektirir.

WHO (2001) Kriterleri³¹

Prefibrotik evre:

1. Sınırdan hepatomegali ve/veya splenomegali olması veya hepato/splenomegali bulunmaması
2. Çevresel kanda hafif düzeyde anemi/lökositoz/trombositoz, hafif lökoeitroblastoz / poikilositoz ve az sayıda dakrositler
3. Kemik iliğinde artmış hücresellik, atipi ve minimal retiküler fibrozun eşlik ettiği granülositer ve megakaryositer proliferasyon

Fibrotik evre:

1. Orta derecede veya ciddi Hepato ve/veya splenomegali
2. Çevresel kanda hafif veya orta düzeyde anemi, lökosit ve trombosit sayısı azalmış / normal / artmış, lökoeitroblastoz, eritrositlerde belirgin poikilositoz ve dakrositoz
3. Kemik iliğinde azalmış hücresellik, retikülin ve/veya kollajen lif artışı (fibroz), kemik iliğinde ekstramedüller hematopoiez ile giden sinüzoidal genişleme, atipinin eşlik ettiği belirgin megakaryositer proliferasyon, endofitik kemik rejenerasyonu (osteoskleroz)

Primer miyelofibroz tanısı her üç kriterin varlığını gerektirir.

2.2. Trombotik olayların tanımlanması

Çalışmaya dahil edilen hastalarda KMPH tanısı öncesi ve/veya sonrasına ait tüm trombotik olaylar kaydedilmiştir. Bunlardan klinik (belirti/bulgu/ilaç), laboratuvar ve/veya görüntüleme yöntemleri (tetkik sonuçları) ile kanıtlananlar trombotik olay olarak kabul edilerek değerlendirilmeye alınmıştır. Trombotik olaylar iki başlık altında ele alınmıştır:

a. Venöz damar sistemi ile ilişkili:

tüm venöz tromboembolizm (VTE) ile giden durumlar (derin ven trombozu [DVT], pulmoner emboli [PE], portal ven trombozu, splenik ven trombozu, mezenterik ven trombozu v.b.)

b. Arteriyel damar sistemi ile ilişkili:

tüm aterosklerotik ve/veya arteriyel tromboz ile seyreden (aterotrombotik damar hastalığı [ATDH]) klinik durumlar (miyokard enfarktüsü, koroner arter hastalığı, akut koroner sendrom, serebrovasküler olay, organ enfarktleri, periferik arter hastalığı, v.b)

3. Çalışma Planı

Ph-negatif KMPH'li hastalarda venöz/arteriyel tromboz sıklığı ve bu sıklığın yeni tanımlanan JAK2^{V617F} mutasyonu ile ilişkisini araştırmak amacıyla 1988 – 2008 yılları arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, Hematoloji BD Polikliniği'nde Ph-negatif KMPH tanısı alan ve halen izlenmekte olan 189 hasta retrospektif dosya taraması yoluyla Tablo-3'te listelenen parametreler açısından incelenmiştir. Çalışmanın retrospektif olması sebebiyle hastalarda herediter trombofili etkenlerine bakılamamıştır. Ancak tanı esnasında yeterli verisi bulunan hastalarda tromboz risk skorları (bkz. Tablo-1) hesaplanmıştır.

{Tablo-3} Dosya Tarama Parametreleri

Tanı yaşı

Cinsiyet

JAK2^{V617F} mutasyon durumu (var/yok)

Tanı esnasındaki çevresel kan değerleri (hemoglobin, lökosit, trombosit)

Tanı esnasındaki LDH düzeyi

Dalak boyutu

Hastalarda aterosklerotik hastalığa ait bulgular/tromboz risk skoru (hipertansiyon, diyabetes mellitus, hiperlipidemi, sigara kullanma)

İlaç anamnezi

Tromboz hikayesi (arteriyel / venöz)

4. İstatistiksel analiz

Çalışmanın istatistiksel değerlendirmesi SPSS 15.0 for Windows software programı yardımıyla yapılmıştır. Retrospektif bir çalışma olması nedeniyle JAK2^{V617F} mutasyonu varlığı ile tromboz ilişkisi *odds oranları* ve *Ki-kare (Fisher kesin testi)* kullanılarak araştırılmıştır. Odds oranının %95 güven sınırları 1.77 ve 8.42 olarak alınmıştır. JAK2^{V617F} (+) ve (-) hasta gruplarının JAK2^{V617F} mutasyonu dışında tromboz gelişimine katkıda bulunabilecek diğer olası etkenler açısından benzer olup olmadığı *Student t testi* ve *Mann-Whitney U testi* ile saptanmıştır. *Student t testi*, *Mann-Whitney U* ve *ki-kare* testleri için istatistiksel anlamlı fark $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya yaşları 15 – 86 arasında değişen (ortanca 54) 107'si (%57) PV, 50'si (%26) ET ve 27'si (%14) PM tanılı toplam 189 Ph-negatif KMPH hastası katılmıştır. 5 hastada (%3) KMPH alt grup ayrımı yapılamamıştır. Erkek / kadın oranı 1'dir (95/94).

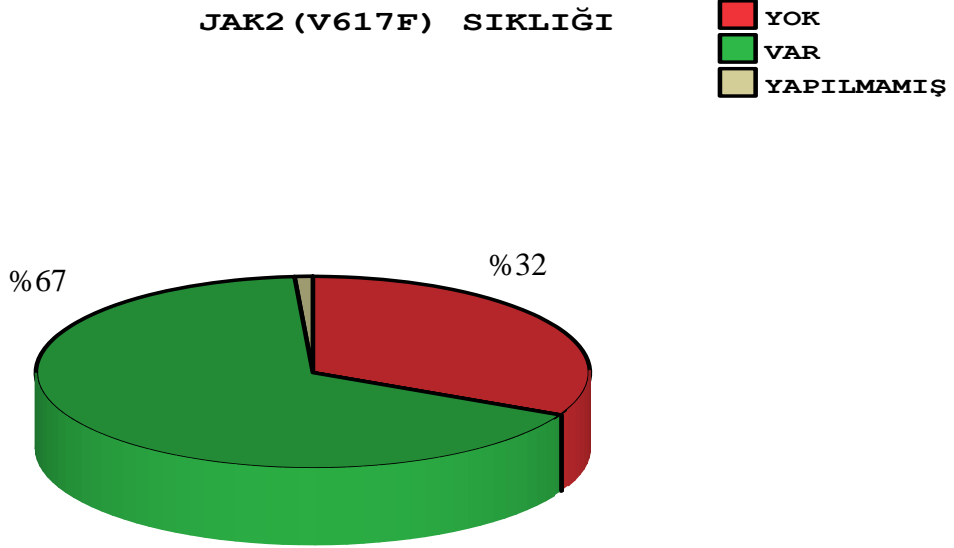
Toplam 189 hastanın 54'ünde (%29) geçirilmiş veya aktif arteriyel ve/veya venöz tromboembolik/aterotrombotik damar hastalığı bulunduğu tespit edilmiştir. 35 hastada izole arteriyel, 15 hastada izole venöz, 4 hastada ise hem arteriyel hem venöz hastalık gelişmiş olduğu saptanmıştır. Bu hastalıkların dağılımı Tablo-4'te özetlenmiştir.

{Tablo-4} Tromboembolik /Aterotrombotik Damar Hastalıkları

Venöz Tutulum		Arteriyel Tutulum	
Yeri	Hasta sayısı	Yeri	Hasta sayısı
Derin ven trombozu	7	Miyokard enfarktüsü	5
Pulmoner emboli	2	Koroner damar hastalığı	16
Splenik ven trombozu	4	Serebrovasküler enfarkt	11
Portal ven trombozu	5	Periferik arter hastalığı	4
Mezenterik ven trombozu	1	Splenik enfarkt	3
Toplam	19*	Toplam	39*

*35 hastada izole arteriyel, 15 hastada izole venöz, 4 hastada ise hem arteriyel hem venöz hastalık

JAK2^{V617F} mutasyonu 126 hastada (%67) pozitif, 61 hastada (%32) negatif saptanmıştır. İki hastanın (%1) JAK2^{V617F} mutasyon sonucu dosya kayıtlarında bulunamamıştır (Şekil – 1).



Şekil -1 Hastaların JAK2^{V617F} mutasyonu varlığına göre dağılımı

Hipertansiyon 93 hastada (%49), diyabetes mellitus 19 hastada (%10) mevcuttu. Dislipidemi hastaların %27'sinde gözlemlendi. Ancak 26 hastaya (%14) ait başlangıç kan lipid değerlerine ulaşılamadı.

Tanı anında splenomegali 102 hastada (%54) mevcut iken 60 hastada (%32) yoktu. 27 hastanın (%14) dosyasında başlangıç fizik muayene bulgularına ulaşılamadı.

Hasta özelliklerine alt gruplar temelinde bakacak olursak PV'li hastalarda ortalama yaş 53 (15 – 86), erkek/kadın oranı 48/59 idi. JAK2^{V617F} pozitifliği %79 oranında bulundu. 107 hastanın 25'inde arteriyel, 8'inde venöz trombotik hastalık tespit edildi. LDH yüksekliği hastaların %70'inde, splenomegali %64'ünde mevcuttu. Tromboz risk skoru 4 (0 – 11) idi. Çevresel kan değerlerinde hemoglobin 17,3 g/dl (8.9 – 22), hematokrit %52,8 (26.2 – 76.3), lökosit 13000/mm³ (4080 – 53500) ve trombosit 538000/mm³ (83000 – 3342000) bulundu (Tablo-5A).

ET'li hastalarda ortalama yaş 50.5 (17 – 82), erkek/kadın oranı 16/9 idi. JAK2^{V617F} pozitifliği %47 oranında bulundu. 50 hastanın 9'unda arteriyel, 4'ünde venöz trombotik hastalık tespit edildi. LDH yüksekliği hastaların %63'ünde, splenomegali %47'sinde mevcuttu. Tromboz risk skoru 4 (0 – 10.5) idi. Çevresel kan değerlerinde hemoglobin 13,3g/dl (7.3 – 17), hematokrit %40,8 (22.4 – 55.2), lökosit 8675/mm³ (4390 – 20600) ve trombosit 1025500/mm³ (319000 – 2534000) bulundu (Tablo-5A).

PM'li hastalarda ortalama yaş 62 (31 – 78), erkek/kadın oranı 4/5 idi. JAK2^{V617F} pozitifliği %63 oranında bulundu. 27 hastanın 5'inde arteriyel, 7'sinde venöz trombotik hastalık tespit edildi. LDH yüksekliği ve splenomegali hastaların %100'ünde mevcuttu. Tromboz risk skoru 3,75 (1 – 9) idi. Çevresel kan değerlerinde hemoglobin 11,5g/dl (6,9 – 18), hematokrit %35,7 (18,1 – 52,8), lökosit 14500/mm³ (2000 – 31000) ve trombosit 328000/mm³ (49000 – 1207000) bulundu (Tablo-5A).

{Tablo-5A} Alt gruplara (PV, ET, PM) Göre Hasta Özellikleri

Parametre	PV (n=107)	ET (n=50)	PM (n=27)
Yaş (ortalama)	53 (15 – 86)	50.5 (17 – 82)	62 (31 – 78)
K/E oranı	48/59	16/9	4/5
JAK2 ^{V617F}	84/106 (%79)	23/49 (%47)	17/27 (%63)
Arter tutulumu	25/107 (%23,4)	9/50 (%18)	5/27 (%18,5)
Ven tutulumu	8/107 (%7,5)	4/50 (%8)	7/27 (%25)
Artmış LDH	58/83 (%70)	25/40 (%63)	24/24 (%100)
Splenomegali	56/88 (%64)	21/45 (%47)	24/24 (%100)
Ortalama tromboz risk skoru	4 (0 – 11)	4 (0 – 10,5)	3,75 (1 – 9)
Hemoglobin (g/dl)	17,3 (8,9 – 22)	13,3 (7,3 – 17)	11,5 (6,9 – 18)
Hematokrit (%)	52,8 (26,2 – 76,3)	40,8 (22,4 – 55,2)	35,7 (18,1 – 52,8)
Lökosit(/mm ³)	13000 (4080 – 53500)	8675 (4390 – 20600)	14500 (2000 – 31000)
Trombosit (/mm ³)	538000 (83000 – 3342000)	1025500 (319000 – 2534000)	328000 (49000 – 1207000)

JAK2^{V617F} mutasyon varlığına göre hasta özelliklerine bakıldığında JAK2^{V617F} (+) grupta ortalama yaş 54.21±13.97 idi. Çevresel kan değerlerinde hemoglobin 15.40±3.15g/dl, hematokrit %48.11±9.56, lökosit 13947±7539/mm³ ve trombosit 714921±512275/mm³ bulundu. JAK2^{V617F} (-) grupta ise ortalama yaş 50.87±13.34 idi. Çevresel kan değerlerinde hemoglobin 14.02±3.44g/dl, hematokrit %42.33±11.10, lökosit 10512±5521/mm³ ve trombosit 758475±510604/mm³ bulundu. İki grup arasında hemoglobin (hematokrit) ve lökosit değerlerinde (JAK2^{V617F} (+) grupta daha yüksek) istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (Tablo 5B).

{Tablo-5B} JAK2^{V617F} varlığına Göre Hasta Özellikleri

Parametre	JAK2 ^{V617F} (+) [n=126]	JAK2 ^{V617F} (-) [n=61]	p
Yaş	54.21±13.97	50.87±13.34	0.12
Hemoglobin (g/dl)	15.40±3.15	14.02±3.44	0.007*
Hematokrit (%)	48.11±9.56	42.33±11.10	0.001*
Lökosit(/mm ³)	13947±7539	10512±5521	0.002*
Trombosit (/mm ³)	714921±512275	758475±510604	0.58

* istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05)

JAK2^{V617F} mutasyon varlığının venöz tromboembolik (VTE) olaylar, arteriyel aterotrombotik olaylar (ATDH) ve her iki durumun toplamına (trombotik olaylar toplamına) etkisi ayrı ayrı olmak üzere önce çalışmaya dahil edilen tüm Ph-negatif KMPH hastalarında daha sonra PV, ET ve PM alt gruplarında tetkik edilmiştir. Ayrıntılar Tablo-6, 7, 8, 9, 10 ve 11’de verilmiştir. Çalışmanın retrospektif olması nedeniyle olasılık hesapları odds oranları kullanılarak yapılmıştır. Odds oranının %95 güven sınırları 1.77 ve 8.42 olarak alınmıştır.

{Tablo-6} JAK2^{V617F} varlığına göre venöz tromboemboli (VTE) dağılımı

	JAK2 (+)	JAK2(-)	Odds oranı
VTE var	14	5	14/5
VTE yok	112	56	112/56
Toplam	126	61	1.4 (p=0.53)

Sadece venöz tromboembolik olaylar ele alındığında JAK2^{V617F} (+) KMPH hastalarında VTE ile karşılaşma olasılığı JAK2^{V617F} (-) hastalardan 1.4 kat fazla görünmektedir (odds oranı=1.4) (Tablo-6). Bu oranın sadece arteriyel olaylar değerlendirildiğinde 1.3 (Tablo-7), tüm damarsal hadiseler hesaba katıldığında ise 1.21 olduğu ortaya çıkmaktadır.

{Tablo-7} JAK2^{V617F} varlığına göre aterotrombotik damar hastalıkları (ATDH)

	JAK2 (+)	JAK2(-)	Odds oranı
ATDH var	28	11	28/11
ATDH yok	98	50	98/50
Toplam	126	61	1.3 (p=0.50)

Ancak her üç odds oranı da belirlenen %95 güven aralığının (1.77 – 8.42) dışında kalmaktadır. Bu oranların hiçbiri istatistiksel olarak anlamlı bir farka işaret etmediğinden JAK2^{V617F} mutasyonunun tromboz ve/veya damar hastalığı ile ilişkili bir sıklık artışına yol açtığından bahsetmek mümkün değildir (sırasıyla p değerleri 0.53, .50 ve 0.57; bkz. Tablo-8).

{Tablo-8} JAK2^{V617F} varlığına göre VTE+ATDH dağılımı

	JAK2 (+)	JAK2(-)	Odds oranı
VTE ve/veya ATDH var	38	16	38/16
VTE ve/veya ATDH yok	88	45	88/45
Toplam	126	61	1.21 (p=0.57)

Aynı parametreleri kullanarak bir alt grup analizi yaptığımızda ET ve PM'de JAK2^{V617F} mutasyonu ile VTE arasında bir ilişki gösterilememiştir (sırasıyla p=0.35 ve p=0.47). PV grubunda ise oluşan tüm VTE'ler JAK2^{V617F} (+) grupta yer alırken, JAK2^{V617F} (-) grupta hiç VTE görülmemiştir. Bu durum çok kuvvetli bir ilişki varmış izlenimi yaratmakla birlikte odds oranı belirlenen %95 güven aralığının dışındadır ve p değeri 0.05'ten küçüktür (p=0.14) (Tablo-9).

{Tablo-9} Alt grup analizi VTE			
PV	JAK2 (+)	JAK2(-)	Odds oranı
VTE var	8	0	8/0
VTE yok	76	22	76/22
Toplam	84	22	>8.42 (p=0.14)
ET			
VTE var	1	3	1/3
VTE yok	22	23	22/23
Toplam	23	26	0.35 (p=0.35)
PM			
VTE var	5	2	5/2
VTE yok	12	8	12/8
Toplam	17	10	1.67 (p=0.47)

Arteriyel tromboz veya aterosklerozla giden hastalıklar açısından yapılan alt grup analizinde PV ve ET'de anlamlı bir fark tespit edilmezken PM'li hastalarda aterotrombotik damar hastalıklarının tamamı JAK2^{V617F} (+) hastalarda görülmüştür. Ancak burada da odds oranı güven aralığının dışında kalmaktadır. Hesaplanan p değeri (p=0.07) istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığına işaret etmektedir (Tablo-10).

{Tablo-10} Alt grup analizi (Aterotrombotik damar hastalıkları [ATDH])			
PV	JAK2 (+)	JAK2(-)	Odds oranı
ATDH var	20	5	20/5
ATDH yok	64	17	64/17
Toplam	84	22	1.06 (p=0.91)
ET			
ATDH var	3	6	3/6
ATDH yok	20	20	20/20
Toplam	23	26	0.50 (p=0.29)
PM			
ATDH var	5	0	5/0
ATDH yok	12	10	12/10
Toplam	17	10	>8.42 (p=0.07)

Tüm damarsal olayların ele alındığı alt grup analizinde sadece PM alt grubundaki odds oranı güven aralığı içinde yer almıştır. Buna göre PM tanılı JAK2^{V617F} mutasyonu (+) hastalarda damarsal patolojilere (VTE/arteryel tromboz/ateroskleroz) JAK2^{V617F} (-) hastalardan yaklaşık 3.5 kat daha sık rastlama olasılığı vardır. Ancak burada da istatistiksel düzede anlamlı bir fark saptanamamıştır (p=0.16) (Tablo-11).

{Tablo-11} Alt grup analizi VTE+ATDH

PV	JAK2 (+)	JAK2(-)	Odds oranı
VTE ve/veya ATDH var	26	5	26/5
VTE ve/veya ATDH yok	58	17	58/17
Toplam	84	22	1.52
			(p=0.45)
ET			
VTE ve/veya ATDH var	4	9	4/9
VTE ve/veya ATDH yok	19	17	19/17
Toplam	23	26	0.40
			(p=0.17)
PM			
VTE ve/veya ATDH var	8	2	8/2
VTE ve/veya ATDH yok	9	8	9/8
Toplam	17	10	3.54
			(p=0.16)

Hastalar ayrıca tromboz risk skorlaması ile değerlendirilmiş ve gerek tüm grup gerek ise alt grup tromboz risk skoru yüksek bulunmuştur. Tüm grup için 4 (0-11), PV, ET ve PM için sırasıyla 4 (0-11), 4 (0-10.5) ve 3.75 (1-9) bulunmuştur (Tablo-5A). JAK2^{V617F} mutasyonu pozitif ve negatif gruplar arasında da tromboz risk skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (Tablo-12).

{Tablo-12} JAK2^{V617F} (+) ve (-) gruplarda tromboz risk skoru

	Hasta sayısı	Risk skoru ortalaması	p-değeri
JAK2 (+)	55	4.50±2.5	
JAK2 (-)	116	4.09±2.5	0.32

TARTIŞMA

Kronik miyeloproliferatif hastalıklarda tromboz en önemli morbidite ve mortalite nedenidir.³³ Bu hastalık grubunda tromboz sıklıkla venlerde ve/veya büyük arterlerde bildirilmektedir.³ 2005 yılında polistemi vera tanılı hastalarda tanımlanan klonal JAK2^{V617F} mutasyonu kronik miyeloproliferatif hastalıkların tanı ve tedavisine yönelik birçok araştırmaya da zemin hazırlamıştır.

JAK2^{V617F} mutasyonu polistemi vera hastalarının %95'inden fazlasında, esansiyel trombositemili ve primer miyelofibrozu hastaların %50-60'ında saptanmaktadır. Mevcut çalışmamızda PV, ET ve PM'li hastalarda JAK2^{V617F} mutasyonu sıklığı sırasıyla %79, %47 ve %63 bulunmuştur. Bu oranlar literatür ile kısmen örtüşmektedir. PV'li hastalarda beklenenden daha düşük, PM'li hastalarda beklenenden daha yüksek JAK2^{V617F} pozitifliği görülmüştür. Bu durum çalışmanın retrospektif olması nedeniyle bazı hastalarda fibrotik faz PV, PM ayırımının net olarak yapılamamasından kaynaklanmaktadır.

KMPH'li hastalarda artmış JAK2^{V617F} sıklığı ile birlikte yüksek oranda trombotik damar hastalığına rastlanması, bunun yanında Budd-Chiari sendromu gibi trombozla giden bazı klinik durumlara JAK2^{V617F} pozitifliğinin KMPH bulguları olmaksızın eşlik ettiğinin gösterilmesi JAK2^{V617F} mutasyonu ile tromboz gelişimi arasında bir bağlantı olduğunu düşündürmüştür.³⁴

KMPH'de tromboz sıklığı %10-30 arasında değişmektedir.³ Bizim çalışmamızda aterosklerotik damarsal değişiklikler de dahil olmak üzere KMPH hastalarının %29'unda arteriyel ve/veya venöz trombotik patoloji saptanmıştır.

KMPH'de JAK2^{V617F} mutasyonu ile tromboz arasındaki ilişkiye ilk defa Kralovic ve arkadaşları tarafından 2005'te yayınlanan makalede değinilmiştir. 128 PV, 93 ET ve 23 IMF olmak üzere toplam 244 hastanın incelendiği bu yayında JAK2^{V617F} pozitiflik oranı %48 olarak bildirilmiştir.⁵ Genel olarak arteriyel ve venöz trombozların ortak olarak değerlendirilmiş ve tromboz varlığı JAK2^{V617F} pozitif grupta %26, JAK2^{V617F} negatif grupta %15 oranında bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

Bizim çalışmamızda ise JAK2^{V617F} pozitif grupta tromboz (arter + ven) sıklığı %30, venöz grupta %26 bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (p=0.57).

Campbell ve arkadaşları tarafından 2005'te yayınlanan ve sadece ET tanılı hastaların (n=776) incelendiği çalışmada özellikle tanı öncesi dönemde JAK2^{V617F} pozitif hastalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış VTE sıklığı saptanmış arteriyel tromboz sıklığında değişiklik gösterilememiştir.²⁹

Yine sadece ET hastalarını değerlendiren Wolanskyj ve arkadaşlarının çalışmasında bizim çalışmamıza benzer doğrultuda genel tromboz sıklığı ile JAK2^{V617F} varlığı arasında bir bağlantı tespit edilemezken,⁹ 60 ET'li hastayı inceleyen Cheung ile 179 ET'li hastayı tetkik eden Finazzi ve arkadaşları JAK2^{V617F} pozitif grupta belirgin olarak artmış tromboz sıklığı (%62'ye karşılık %26 ve %46'ya karşılık %4) bildirmişlerdir.^{35,36}

Çalışmamızda JAK2^{V617F} pozitif ve negatif gruplar arasında hemoglobin ve lökosit düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterilmiştir (Tablo-5B). Buna rağmen JAK2^{V617F} pozitif gruptaki tromboz sıklığı ile JAK2^{V617F} negatif gruptaki tromboz sıklığı arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Her iki gruptaki hastaların tanı anındaki bilgilerine dayanarak üretilen tromboz risk skorları (tromboza eğilimleri) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Bu sonuç dolaylı olarak, hemoglobin ve lökosit düzeylerindeki farklılıklara rağmen risk faktörleri bütün olarak değerlendirildiğinde JAK2^{V617F} pozitif ve negatif gruplarda tromboza eğilim düzeyinin benzer olduğunu göstermektedir.

ET'de JAK2 mutasyonunun varlığı ileri yaş, hemoglobin yüksekliği, artmış lökosit sayısı ve daha düşük trombosit sayısı ile ilişkilendirilmiştir.^{8,9} JAK2^{V617F} pozitif PV hastalarında ise homozigot genotip heterozigot ile karşılaştırıldığında homozigotlarda hemoglobin ve lökosit düzeylerinin daha yüksek, trombosit sayısının ise daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bulgularımız bu açıdan literatür ile uyumudur.

JAK2^{V617F} mutasyon varlığının tromboz riskini artırdığını ileri süren yayınlar ayrıntılı incelendiğinde bazılarında JAK2^{V617F} pozitif grupta aynı zamanda hemoglobin değerinin, diğerlerinde lökosit sayısının daha yüksek olduğu veya trombozun daha fazla görüldüğü grupta yaş ortalamasının da daha yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Bu durum tromboz sıklığındaki artışın JAK2^{V617F} mutasyonu dışında başka faktörler tarafından da etkilendiğini düşündürmekte ve sonuçları çelişkili kılmaktadır.

Genel olarak bakıldığında JAK2^{V617F} mutasyonunun KMPH'li hastalarda tromboz riskini arttırdığına dair net bir sonuç elde etmek mümkün değildir. Bu durum kısmen hasta popülasyonunun homojen olmamasından, kısmen de tromboza katkıda bulunan faktörlerin çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır. Bir diğer konu da halen JAK2^{V617F} pozitif hasta grubunda eş zamanlı trombofilik mutasyonların varlığının tromboz sıklığına katkısının bilinmemesidir.

Her ne kadar KMPH kliniği içinde JAK2^{V617F} mutasyonu tromboz ile ilişkilendirilmeye çalışılsa da, KMPH dışında gelişmiş arteriyel ve venöz trombozlarda JAK2^{V617F} pozitifliği gösterilememiştir. Bugün için idyopatik venöz trombozda veya erken yaşta ve/veya beklenmedik bölgelerde venöz/arteriyel trombozla başvuran hastalarda rutin trombofili taraması içine JAK2^{V617F} mutasyonunu dahil etmeyi gerekli kılacak düzeyde elde kanıt yoktur. Bu durumun tek istisnası splanknik ven trombozları olabilir.^{34,37} Çeşitli çalışmalarda da gösterildiği gibi ön planda izole splanknik ven trombozu ile başvuran hastalarda artmış oranlarda (%17-58) JAK2^{V617F} pozitifliği bildirilmektedir. Bu hastaların hemen tamamının aslında KMPH olduğu yapılan ileri çalışmalarla anlaşılmıştır.

2007 yılında Türkiye'den Bayraktar ve arkadaşlarının yayınladığı bir çalışmada kronik izole non-sirotik portal ven trombozu bulunan ve daha önce bu nedenle trombofili tetkikleri yapılmış 25 hasta retrospektif olarak JAK2^{V617F} mutasyonu varlığı açısından irdelenmiştir.²⁵ JAK2^{V617F} pozitifliğinin %24 oranında saptandığı ve tetkikler sonrası JAK2^{V617F} pozitif ve negatif toplam KMPH oranının %44 olduğu bu hasta serisinde 25 hastanın 19'unda ek olarak en az bir trombofilik faktör varlığı gösterilmiştir. JAK2^{V617F} negatif ancak klinik olarak KMPH olan 5 hastanın 3'ünde herhangi bir trombofilik risk faktörüne rastlanmamıştır Diğer 2 hastada protein C ve antitrombin eksikliği

bulunmuştur. JAK2^{V617F} pozitif 6 hastanın (bir PV hariç diğer beşi latent KMPH) üçünde homozigot metilentetrahidrofolik asit redüktaz (MTHFR) C677T mutasyonu homozigot olarak tespit edilmiştir.

Bizim hasta grubumuzda da 10 hasta splanknik ven trombozu ile başvurup daha sonraki değerlendirmelerde KMPH tanısı alan hastalardır. Bu hastalar KMPH tanısı aldıktan sonra Hematoloji polikliniğine yönlendirildiklerinden öncesinde diğer trombofilik etkenler açısından taranıp taranmadıklarına dair bilgi dosya kayıtlarından elde edilememiştir. Hasta grubumuzda yer alan bu 10 hastanın hepsi JAK2^{V617F} mutasyonu taşımaktadır. Bu durum söz konusu hastaların bir hematolojik hastalık saptandıktan sonra hematoloji polikliniğine yönlendirilmiş olmaları ile açıklanabilir; splanknik ven trombozlarındaki gerçek JAK2^{V617F} sıklığını yansıtmamaktadır.

Mevcut bilgiler, splanknik ven trombozu ile başvuran hastalarda trombofili taramasına yönelik panele JAK2^{V617F} mutasyonunun eklenmesinin uygun olacağı yönündedir.

Trombozla giden başka hastalıklarda JAK2^{V617F} mutasyon sıklığında artış görülmemesi de bu mutasyonla tromboz gelişimi arasında direkt bir ilişki olduğu savını zayıflatmaktadır. Nitekim, yeni tamamladığımız ve yayına hazırlamakta olduğumuz bir çalışmamızda trombozlu ve trombozsuz Behçet hastalarında JAK2^{V617F} mutasyon sıklığı açısından bir fark gösteremedik. Benzer şekilde Fouassier ve arkadaşları trombozla seyreden paroksizmal noktürnal hemoglobinürili 11 hastanın hiçbirinde JAK2^{V617F} mutasyonu saptamadıklarını bildirmişlerdir.²⁶

Her retrospektif çalışmada olduğu gibi bizim çalışmamızda da sonuçları değerlendirirken dikkate alınması gereken bazı noktalar mevcuttur. Öncelikle, oldukça yüksek sayıda hasta dahil edilmiş olmasına karşın poliklinik kayıtları kaybolmuş, izlemiden çıkmış veya ölmüş olmaları nedeniyle JAK2^{V617F} mutasyon bilgileri ve/veya dosyaları bulunamayan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Bu durumda olan hasta sayısı 18'dir.

Sonuçları değerlendirirken dikkate alınması gereken bir başka konu hastaların izlem süresidir. Mevcut çalışmamızda ortanca izlem 3 yıl olmakla birlikte alt ve üst değerler 0 ile 24 yıl (Cerrahpaşa'da dosyası 1988'de açılan ancak tanısı 1984'ten beri bilinen bir hasta nedeniyle) arasında değişmektedir. Diğer bir deyişle hasta grubunun büyük bir kısmı yeni tanı almış ve uzun süre takibi yapılmamış hastalardan oluşmaktadır. İzlemleri süresince tromboz geçirme olasılıkları devam etmektedir. Bu durum mevcut sonuçlara yansımamaktadır.

Sonuçlara etkisi olabilecek üçüncü bir unsur da tanısı son yıllarda konan hastaların bir kısmının tedavi kılavuzları doğrultusunda profilaktik antiaggregan tedavi alıyor olmalarıdır. Bu durum yüksek riskli hastalarda beklenen düzeyde trombotik olayla karşılaşılmasına bir açıklama olabilir.

Sonuç olarak, çalışmamızla KMPH'li hastalarda (toplamda ve alt grup karşılaştırmalarında) JAK2^{V617F} mutasyonu ile arteriyel ve/veya venöz tromboz ilişkisinin araştırıldığı bu çalışmada söz konusu mutasyon varlığı ile artmış tromboz sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Bu sorunun yanıtı ancak prospektif düzenlenmiş, homojen hasta gruplarıyla ve uzun süreli takip ile yapılacak çok merkezli çalışmalarla mümkündür.

KAYNAKLAR

1. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005; 365: 1054 – 1061.
2. Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V et al. JAK2^{V617F} mutation 1849G>T is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Ph-negative CML and megakaryocytic leukemia. *Blood* 2005; 106: 3370-3373.
3. Elliot MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2005; 128: 275 – 290.
4. 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 – 1148.
5. 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 – 1790.
6. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythaemia vera, essential thrombocythemia and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005; 7: 387 – 397.
7. Zhao R, Xing S, Li Z, et al. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem* 2005; 280: 22788 – 22792.
8. Kittur J, Knudson RA, Lasho TL, et al. Clinical correlates of JAK2^{V617F} allele burden in essential thrombocythemia. *Cancer* 2007; 109: 2279 – 2284.
9. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, et al. JAK2^{V617F} mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* 2005; 131: 208 – 213.
10. Tefferi A, Strand JJ, Lasho TL, et al. Bone marrow JAK2^{V617F} allele burden and clinical correlates in polycythaemia vera. *Leukemia* 2007; 21: 2074 – 2075.
11. Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM, et al. The clinical phenotype of wild-type, heterozygous, and homozygous JAK2^{V617F} in polycythemia vera. *Cancer* 2006; 106: 631 – 635.
12. Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM, et al. The JAK2 tyrosine kinase mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: lineage specificity and clinical correlates. *Br J Haematol* 2005; 131: 320 – 328.
13. 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 – 4036.
14. Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G., et al. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 1990; 8: 556 – 562.

15. Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, et al. Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood* 2007; 109: 2446 – 2452.
16. Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, et al. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2224 – 2232.
17. Finazzi G, Gregg XT, Barbui T, et al. Idiopathic erythrocytosis and other nonclonal polycythemias. *Best Prac Res* 2006; 19: 471-482.
18. Di Nisio M, Barbui T, Di Gennaro L, et al. The hematocrit and platelet target in polycythemia vera. *Br J Hematol* 2007; 136: 249-259.
19. Landolfi R and Di Gennaro L. Prevention of thrombosis in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Haematologica* 2008; 93(3) 331 – 335.
20. Royer Y, Staer J, Costuleanu M, et al. Janus kinases affect thrombopoietin receptor cell surface localisation and stability. *J Bio Chem* 2005; 280: 27251 – 27261.
21. Kralovics R, Teo SS, Buser AS, et al. Altered gene expression in myeloproliferative disorders correlates with activation of signaling by the V617F mutation of JAK2. *Blood* 2005; 106: 3374 – 3376.
22. Robertson B, Urquhart C, Ford I, et al. Platelet and coagulation activation markers in myeloproliferative diseases: relationships with JAK2^{V617F} status, clonality, and antiphospholipid antibodies. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1679 – 1685.
23. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, et al. V617F JAK2 mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules. *Exp Hematol* 2007; 35: 702 – 711.
24. Alvarez-Larran A, Arellano-Rodrigo E, Reverter JC, et al. Increased platelet, leucocyte, and coagulation activation in primary myelofibrosis. *Ann Hematol* 2008; 87: 1218 – 1223.
25. Bayraktar Y, Harmanlı Ö, Büyükaşık Y, et al. JAK2^{V617F} mutation in patients with portal vein thrombosis. *Dig Dis Sci* 2008; DOI 10.1007/s10620-008-225-y.
26. Fouassier M, Girodon F, et al. Absence of JAK2^{V617F} in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-associated thrombosis. *Thromb Haemost* 2009; 102(1): 180-182
27. Pardanani A, Lasho TL, Schwager S, et al. JAK2V617F prevalence and allele burden in non-splanchnic venous thrombosis in the absence of overt myeloproliferative disorder. *Leukemia* 2007; 21: 1828 – 1829.
28. Xu X, Zhang Q, Luo J, et al. JAK2(V617F): Prevalence in a large Chinese hospital population. *Blood* 2007; 109: 339 – 342.
29. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, et al. Definition of subtypes of essential thrombocythemia and relation to polycythemia vera based on JAK2V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005; 366: 1945 – 1953.

30. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Eds. Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, James W. Varidman. WHO, OMS, International Agency for Research on Cancer, 4th ed. Lyon, 2008.
31. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Eds. Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, James W. Varidman. WHO, OMS, International Agency for Research on Cancer, 4th ed. Lyon, 2001.
32. Pearson TC, Messinezy M. The diagnostic criteria of polycythaemia rubra vera. *Leuk Lymphoma* 1996; 22(Suppl 1):87-93
33. Cervantes F, Passamonti F, Barosi G. Life expectancy and prognostic factors in the classic bcr/abl-negative myeloproliferative disorders. *Leukemia* 2008; 22: 905-914.
34. Patel RK, Lea NC, Henegham MA, et al. Prevalance of activating JAK2 tyrosine kinase mutation V617F in the Budd-Chiari syndrome. *Gastroenterology* 2006; 130(7): 2031-2038.
35. Cheung B, Radia D, Pantelidis P, et al. The presence of JAK2^{V617F} mutation is associated with a higher haemoglobin and increased risk of thrombosis in essential thrombocythemia. *Br J Hematol* 2006; 132: 244-245.
36. Finazzi G, Rambaldi A, Guerini V et al. Risk of thrombosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera according to JAK2^{V617F} mutation status. *Haematologica* 2007; 92: 135-136.
37. Kiladjian JJ, Cervantes F, Leebeek FW; et al. The impact of JAK2^{V617F} and MPL mutations on diagnosis and prognosis of splanchnic vein thrombosis: A report on 241 cases. *Blood* 2008; 111: 4922-4929.

ÖZET

Giriş. Polistemi vera (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve primer miyelofibrozdun (PM) oluşan Ph-negatif KMPH'lerde prognozu belirleyen en önemli etken venöz ve arteriyel trombozlardır. Özellikle, PV ve ET'de %30'lara varan oranlarda tromboz sıklığı bildirilmiştir. 2005 yılında KMPH'li hastalarda Janus kinaz 2 (JAK2) isimli tirozin kinazın geninde klonal bir mutasyon (V617F) tanımlanmıştır. Birçok hematopoietik büyüme faktörü reseptörünün hücre içi sinyal iletiminde rol oynayan bu enzime ait mutasyonun PV'li hastaların tamamına yakınında, ET ve PM'li hastaların ise %50'sinden fazlasında bulunduğu takip eden çalışmalarla gösterilmiştir. JAK2^{V617F} mutasyonunun KMPH'de artmış tromboz sıklığı ile ilişkili olduğuna dair çelişkili yayınlar mevcuttur.

Amaç. Bu çalışmanın amacı KMPH'de arteriyovenöz tromboz gelişme sıklığı ile JAK2^{V617F} mutasyonu varlığı arasında bir ilişki olup olmadığının araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem. Bu çalışmada Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı tarafından takipli 189 KMPH hastası retrospektif olarak JAK2^{V617F} mutasyon varlığı ile ilişkili geçirilmiş arteriyel trombotik/aterosklerotik olay ve venöz tromboembolizm sıklığı açısından değerlendirilmiştir.

Bulgular. 189 hastanın 126'sında JAK2^{V617F} pozitif, 61'inde negatif bulunmuştur. 2 hastada JAK2^{V617F} kaydına rastlanmamıştır. Her iki gruptaki hasta özellikleri karşılaştırıldığında JAK2^{V617F} pozitif gruptaki hastaların hemoglobin ve lökosit değerlerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu ancak tromboz risk skorlarının her iki grupta eşit olduğu görülmüştür. Genel ve alt gruplar (PV, ET, PM) içinde JAK2^{V617F} pozitif ve negatif gruplar arasında tromboz gelişimi sıklığı açısından anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Tartışma ve Sonuç. KMPH'de tromboza yol açtığı düşünülen birçok etken mevcuttur. JAK2^{V617F} mutasyonunun buradaki yerinin anlaşılabilmesi ancak prospektif düzenlenmiş ve çok sayıda homojen özellik gösteren hasta ve uzun süreli takip ile yapılacak çok merkezli çalışmalarla mümkündür.

ABSTRACT

Introduction. Arterial and/or venous thrombotic disease is a major prognostic factor in Philadelphia (Ph) negative chronic myeloproliferative disease (CMPD) which includes polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PM). Increased rates of thrombosis (up to 30%) have been reported in patients with PV and ET. An acquired clonal mutation (V617F) in Janus kinase 2 (JAK2) gene was discovered in patients with CMPD in 2005. JAK2 is a tyrosine kinase that has an important role in signalling pathways of many haematopoietic growth factor receptors. The JAK2^{V617F} mutation has been reported to occur in almost all cases with PV and more than half of the patients with ET and PM. There is conflicting evidence for the association of JAK2^{V617F} mutation with the increased frequency of thrombosis in patients with CMPD.

Aim. The aim of this study is to determine the relationship of JAK2^{V617F} mutation with the occurrence of arterial/venous thrombotic diseases in patients with CMPD.

Material and Method. A total of 189 patients with CMPD were retrospectively evaluated for the presence of JAK2^{V617F} mutation and associated increased frequency of thrombotic disease. The study was held at the Haematology Outpatient Clinics of Cerrahpaşa Medical Faculty

Results. JAK2^{V617F} was positive in 126 of 189 patients, negative in 61 patients and was not done 2 patients. The JAK2^{V617F} positive and negative patient groups were similar in terms of thrombotic risk scores and patient characteristics except significantly higher haemoglobin and leukocyte levels in JAK2^{V617F} positive group. Overall and subgroup (PV, ET, PM) analysis showed no statistically significant difference between JAK2^{V617F} positive and negative groups in the frequency of thrombotic disease.

Discussion and Conclusion. Several factors contribute to the occurrence of thrombosis in CMPD. The exact association of JAK2^{V617F} mutation with thrombotic disease in CMPD is to be defined by prospective, multicenter studies with large homogenous cohorts.