

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

**ESANSİYEL TROMBOSİTOZ HASTALARINDA
JAK2 V617F MUTASYONUNUN KANAMA VE TROMBOZA BAĞLI
KOMPLİKASYONLAR ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Hakkı Yılmaz

UZMANLIK TEZİ

**ANKARA
2010**

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

**ESANSİYEL TROMBOSİTOZ HASTALARINDA
JAK2 V617F MUTASYONUNUN KANAMA VE TROMBOZA BAĞLI
KOMPLİKASYONLAR ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Hakkı Yılmaz

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Nilgün SAYINALP

**ANKARA
2010**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde, başta tez danışmanım Prof. Dr. Nilgün Sayınalp ve anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Serhat Ünal olmak üzere bana katkısı bulunan tüm öğretim üyelerine, tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

JAK2 kitlerinin çalışılmasında ve sonuçlandırılmasında büyük katkısı olan Kimyager Banu Avşar'a teşekkür ederim.

Her aşamada bana destek olan, yardımını esirgemeyen anneme, babama ve eşime teşekkür ederim.

Dr. Hakkı Yılmaz

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
KISALTMALAR LİSTESİ	VI
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	1
2.1. Myeloproliferatif hastalıklar	1
2.2. Esansiyel Trombositoz	2
2.2.1. Epidemiyoloji.....	2
2.2.2. Patogenez.....	3
2.2.3. Klinik Özellikler	4
2.2.4. Laboratuvar değerlendirme	6
2.2.5. JAK2 Mutasyonu.....	8
2.2.6. Hastalık dönüşümü ve Prognoz	9
2.2.7. Ayırıcı tanı ve Tanı.....	9
2.2.8. Tedavi	12
2.3. Diğer Myeloproliferatif hastalıklar	17
2.3.1. Polistemia Vera.....	17
2.3.2. Primer Myelofibrozis	20
2.3.3. Kronik Myelositer Lösemi.....	22
2.4. Janus Kinaz ve Sinyal İletimi.....	24
2.4.1. Sinyal iletimi	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. JAK2 Geni V617F Mutasyonunun Saptanması	30
3.2. İstatistik Analiz.....	30
4. BULGULAR	31

5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	53
7. EK-1 HASTA KAYIT FORMU	55
KAYNAKLAR.....	56

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 1. Esansiyel trombositozda kemik iliği bulguları	7
Tablo 2. Trombositoz sebepleri.....	10
Tablo 3. PSVG'nin ET tanı kriterleri.....	11
Tablo 4. Dünya sağlık Örgütü 2008 ET tanı kriterleri	11
Tablo 5. JAK2 üzerinden etkili ilaçlar (JAK2 inhibitörleri).....	17
Tablo 6. PSVG'nin Polisitemia Vera Tanı Kriterleri	18
Tablo 7. Dünya Sağlık Örgütü PV tanı kriterleri	19
Tablo 8. PM İtalyan Tanı kriterleri.....	21
Tablo 9. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) PM tanı kriterleri.....	22
Tablo 10. ET'li Hastaların Tanı Anındaki Özellikleri	31
Tablo 11. JAK2 pozitif/negatif grubun kıyaslanması	34
Tablo 12. Kemik iliği bulguları	35
Tablo 13. JAK2 mutasyonuna göre arteriyel trombozların zamanlaması	36
Tablo 14. JAK2 mutasyonuna göre venöz trombozların zamanlaması	38
Tablo 15. Trombozu olan ve olmayan grubun kıyaslanması	40
Tablo 16. Hemorajik olay olan ve olmayan grubun kıyaslanması	42
Tablo 17. ET hastalarında AML/MMM gelişenlerin özellikleri.....	43
Tablo 18. ET'li hastalarda tedavi/yanıt analizi	45
Tablo 19. JAK2'ye göre risk gruplarındaki hasta sayısı	46
Tablo 20. Çalışmamızın tromboz/kanama açısından literatürle mukayese edilmesi...50	

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 1. Janus Homoloji Bölgesinin Yapısı.....25

Şekil 2. JAK2/STAT5 Sinyal iletim sistemi26

Şekil 3. JAK2 mutasyonunun değişik yaş gruplarındaki sıklığı.....32

Şekil 4. Yaş gruplarında tromboz geçiren hasta sayısı.....39

KISALTMALAR

MPH	: Miyeloproliferatif Hastalıklar
KML	: Kronik miyeloid lösemi
PV	: Polistemia vera
ET	: Esansiyel trombositemi
PM	: Primer miyelo fibrozis
JAK2	: Janus kinaz 2
AML	: Akut Myeloblastik Lösemi
MDS	: Myelodisplastik sendrom
KMML	: Kronik myelomonositer lösemi
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
PKA	: Protein Kinaz-A
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RT-PCR	: Real Time- Polimeraz zincir reaksiyonu
Epo	: Eritropoietin
TPO	: Trombopoietin
c-MPL	: Trombopoietin reserptörü
DNA	: Deoksiribonükleik asit
TGF	: Transforming growth factor
RT	: Reaktif trombositoz
BFU-E	: Burst forming unit-eritroid
CFU-E	: Colony forming unit-eritroid
PRV	: Polistemia rubra vera-1
Ph	: Philedelphia
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
Post-ET MF	: Post–trombositemik myelofibrozis
Post-PV MF	: Post-polisitemik myelofibrozis
PVSG	: Polistemia vera çalışma gurubu
VWH	: von Willebrand hastalığı
32P	: Radyoaktif fosfor
HU	: Hidroksiüre

AN	: Anagrelid
ASA	: Asetil salisilik asit
IFN-α	: İnterferon-alfa
MCV	: Kırmızı hücre hacmi
MPV	: Mean trombosit hacmi
PO	: Per oral
allo-HKHN	: Allojenik hematopoietik kök hücre nakli
STAT	: Signal Transducers and Activators of Transcription
TYK2	: Tirozin kinaz 2
MMM	: Miyelofibrozis miyeloid metaplazili
JH	: Janus homoloji
FERM	: 4.1, ezrin, radixin, moesin
FAK	: Fokal adezyon kinaz
SOCS	: Suppressors of Cytokine Signaling
PIAS	: Protein Inhibitors of Activated STATs
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
Rpm	: Devir/dakika
Hb	: Hemoglobin
Htc	: Hematokrit
BK	: Lökosit sayısı
Plt	: Trombosit
HM	: Hepatomegali
SM	: Splenomegali
DM	: Diabetes Mellitus
TG	: Trigliserit
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
HT	: Hipertansiyon
FLT3	: FMS benzeri tirozin kinaz 3
SVO	: Serebro vasküler olay
TİA	: Transient İskemik atak

AMİ	: Akut Myokard Enfarktüsü
Non-Q MI	:Q dalgasız Myokard enfarktüsü
PTE	: Pulmoner tromboemboli
DVT	: Derin Ven Trombozu

ÖZET

JAK2 mutasyon durumuna göre ET'li hastalarda tromboz , kanama ve hematolojik dönüşümün değerlendirilmesi

Amaç: JAK2 V617F mutasyonunun keşfiyle BCR/ABL negatif myeloproliferatif hastalıklar ve bunların patogenezi ile ilgili bilgilerde artış olmuştur. Yeni tanı algoritmaları geliştirilmiş ve alternatif tedavi seçenekleri ortaya çıkmıştır. Son çalışmalara göre PV'lerin %90-95'inde, ET'lerin %20-70'inde, PMF'lerin %40-50'sinde bu mutasyon saptanmıştır. Hemorajik, tromboembolik olaylarla birlikte akut myeloid lösemiye dönüşüm ET'de major morbidite ve mortalite sebepleridir. Bazı çalışmalarda JAK2 V617F ile trombotik olaylar arasında anlamlı bir ilişki bildirilmektedir. Ancak ET'li hastalarda bu konu halen tartışmalıdır. Bu çalışmada JAK2 mutasyonunun varlığına göre gruplandırılan 90 ET'li hastanın klinik bulgularını, laboratuvar bulgularını, tedavi yanıtlarını ve gelişen hematolojik komplikasyonları(özellikle tromboembolik, hemorajik olayları) kıyaslamayı amaçladık.

Materyal ve metod: Eylül 2005 ile ekim 2009 arasında başvuran 90 hasta retrospektif olarak değerlendirilmiş olup bunlar DSÖ 2008 kriterlerine göre ET tanısı konmuştu. Periferal kandan elde edilen DNA örneklerinde JAK2 V617F mutasyonu allel spesifik RT-PCR (Ipsogen mutagen kit, Fransa) metodu ile çalışılmıştır.

Sonuçlar: JAK2 V617F mutasyonu hastaların %64.4'ünde pozitifdi. Mutasyonu pozitif hastalar daha ileri yaşta ($p=0.049$), daha yüksek lökosit sayısı ($p=0.025$), hemoglobin ($p=0.005$) ve hematokrit ($p=0.000$) değerleri vardı. JAK2 mutasyonu olanlarda trombosit seviyeleri daha düşük olmakla beraber istatistiksel anlam gösterilemedi ($p=0.058$). Splenomegali mutasyonu olanlarda olmayanlardan daha sıkı (% 43.1 ve % 25, sırasıyla; $p=0.140$). Mutant alleli olan ve olmayan hastalar arasında total trombotik olay sıklığı açısından fark yoktu ($p=0.393$). Hemorajik olay ve hematolojik dönüşüm açısından gruplar arasında fark saptanmadı. Tedaviye yanıt ile mutasyon arasında bağlantı vardı. Mutasyonu olanlarda sitoreduktif tedavi ile daha düşük oranda tedaviye yanısızlık vardı (% 6.2, % 26; $p=0.077$) ve tam yanıt oranı mutant olanlarda belirgin daha iyiydi ($p=0.040$). 90 hastanın sadece 7'sinde hastalık dönüşümü vardı; 5'inde (% 5.5) MMM (2 negatif mutant; 3 JAK2 V617F) ve 2'sinde (% 2.2) AML gelişmişti (1 negatif mutant; 1 JAK2 V617F).

Sonuç: JAK2 mutasyonu Esansiyel trombositozun tanısında standart bir belirteç olarak yerini almıştır ve gelecekte anti-neoplastik tedavide potansiyel rolü olacaktır. Bu çalışma ET'de JAK2 mutasyonunun komplikasyonlar üzerine etkisinin değerlendirildiği bölgemizdeki ilk çalışmadır. Mutasyon prevalansı literatürle uyumlu bulunmuştur fakat JAK2 V617F ve tromboz arasında korelasyon gösterilememiştir. Ancak izlem süresinin kısa olması bu sonucu etkileyebileceği düşünülmüştür. İleri yaş (>60) ve yüksek lökosit seviyesi (>9700/ μ L) bu çalışmada tromboz için risk faktörü olarak görülmektedir. Sonuçları etkileyebileceği için daha uzun süreli izlem içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtarlar: JAK2, Esansiyel trombositoz(ET), Komplikasyonlar, Tromboz, Risk faktörleri.

ABSTRACT

Evaluation of thrombosis, bleeding and hematological transformation in patients with essential thrombocythemia according to JAK2 V617F mutation status

Background and aims: The recent discovery of JAK2 V617F point mutation in BCR/ABL negative chronic myeloproliferative disorders (MPD) has led to an increase in the knowledge for pathogenetic mechanisms. New diagnostic algorithms are developed for now and promising treatment alternatives are on the way. According to recent studies the mutation is shared by 90-95% of PV, 20-70% of ET and 40-50% of PMF patients. Hemorrhagic, thromboembolic events, together with transformation to acute myeloid leukemia, are the major causes of morbidity and mortality in essential thrombocytosis (ET). Some studies reported the positive correlation between the presence of JAK2 V617F mutation and thrombosis. It is still controversial whether JAK2 V617F mutation is linked to thrombosis in ET patients. In this study, we compared the clinical findings, laboratory, prognostic factors, treatments and complications (especially thromboembolic events) of 90 essential thrombocytosis (ET) classified according to the presence of JAK2 V617F mutation.

Material and methods: A retrospective evaluation was performed of 90 patients ET who presented between September 2005 and October 2009 with findings in strict accordance with the updated criteria of the WHO 2008 for the diagnosis of ET. JAK2 V617F mutation analysis was performed by Allele specific Real Time-PCR (Ipsogen mutagen kit, France) with the DNA samples extracted from peripheral blood.

Results: JAK2 V617F positivity was 64.4% in ET. Patients that are positive for JAK2 mutation were older ($p=0.049$), had higher leukocyte levels ($p=0.025$), higher levels of hematocrit ($p=0.000$) and hemoglobin ($p=0.005$). Patients carrying JAK2-V617 mutation displayed lower platelet levels at diagnosis than mutation negative patients, this difference was not significant comparing categorized groups ($p=0.058$). Splenomegaly was more frequently present patients with than without JAK2V617F mutation (43.1% and 25%, respectively; $p=0.140$). There was no difference between patients with mutations or no mutations as regards the frequency of total (arterial plus venous) thrombotic events, which affected 36.2% and 25% of the patients, respectively ($p=0.393$). The occurrence of hemorrhagic events, and hematologic transformations did not differ significantly in patients with and without the mutation. JAK2 mutational status was associated with distinct responses to treatment. V617F-positive patients displayed a lower rate of nonresponse to cytoreductive therapies (6.2% , 26% $p=0.077$), and a significantly better complete response rate to cytotoxic therapy ($p=0.040$). Only 7 out of 90 ET patients displayed progression of the disease, five (5.5%) in PMF(2 wild type; 3 JAK2 V617F) and two (2.2%) in AML(1 wild type; 1 JAK2 V617F).

Conclusion: JAK2 mutation has taken its place as a standard marker for diagnosis of ET and will have a potential role in anti-neoplastic treatment in the future. Our study about evaluation of JAK2 mutation related with complications in ET is to be one of the first in our region. Prevalance of this mutation in our study is correlated with the literature findings but there were no correlation between the presence of JAK2 V617F mutation and thrombosis. Higher age(>60) and higher leukocytes levels ($>9700/\mu\text{L}$) were risk factors for thrombosis in this study. Further studies with long term follow up are needed to clarify these issues.

Keywords: JAK2, Essential thrombocytosis (ET), Complications, Thrombosis, risk factors

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik myeloproliferatif hastalıklar (MPH) içinde Kronik myelositer lösemi (KML), patogeneğinde rol oynayan BCR/ABL füzyonu ile diğerlerinden ayrılır. Ailesel olmayan, BCR/ABL negatif kronik myeloproliferatif hastalıklar olarak adlandırılan polisitemia vera (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve primer myelofibrozis (PM) patogenezi ise KML kadar net değildir.

2005 yılında JAK2 (Janus kinaz 2) exon 14 mutasyonunun keşfi ile, BCR/ABL negatif kronik MPH'larda patogenezele ilgili bilgiler artmış, tanı algoritmaları gelişmiş ve tedavi için yeni seçenekler ortaya çıkmaya başlamıştır. JAK2 geninde V617→F yer değişimi sonrası ortaya çıkan bu somatik mutasyon MPH'larda hematopoietik öncül hücrelerde büyüme faktörlerine karşı aşırı bir hassasiyete ve bu hücrelerde anormal proliferasyona neden olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 2008'de oluşturulan tanı kriterlerinde yerini almıştır.

Çalışmamızda klasik MPH grubundan Esansiyel trombositozlu hastalarda JAK2 mutasyon sıklığını; JAK2 olan ve olmayan grupta tromboembolik olaylar başta olmak üzere kanama, akut lösemi ve myelofibrozis komplikasyonlarını ve bunlarla yaş, cinsiyet, kardiyovasküler risk faktörleri (HT, DM, Hiperlipidemi, Sigara vb.) ve laboratuvar parametreleri ile olan ilişkisini araştırdık. ET ile takip edilen hastaların mutasyonu olan ve olmayan grubun tedaviye yanıt ve cevapsızlık durumunu inceledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MYELOPROLİFERATİF HASTALIKLAR (MPH)

Hematopoietik pluripotent kök hücre kendini hem yenileme hem de farklılaşma yeteneğine sahip olup lenfoid ve myeloid serilere farklılaşır. Efektif hematopoez için büyüme faktörleri ve reseptör etkileşimlerinin uygun olduğu sağlıklı bir kemik iliği mikroçevresine ihtiyaç vardır (1).

Hematolojik maligniteler yapısına göre myeloid ve lenfoid kökenli olmak üzere sınıflandırılır. Morfolojik, immünotipik ve kemik iliğindeki immatür prekürsörler (blastlar)'ın birlikte değerlendirilmesi ile akut ve kronik şeklinde tekrar sınıflandırılır (1).

Kronik myeloid hastalıklar birkaç klinikopatolojik antite içinde değerlendirilir. Kronik myeloid hastalıklar, myelodisplastik sendromlar ve myeloproliferatif hastalıklar olmak üzere 2 ana grupta ele alınmıştır (1).

Myelodisplastik sendrom displastik kemik iliği hiperplazisi veya hipoplazisi ve bunlara eşlik eden değişen derecelerde periferel sitopenilerin olması ile karakterizedir (1).

Myeloproliferatif neoplazmlar, MDS'ye benzemeyen bir şekilde myeloid hücrelerin terminal formlarının artışı ile karakterize olup klasik ve atipik olarak sınıflandırılır.

Klasik myeloproliferatif neoplazmlar: Polisitemia vera, Esansiyel trombositoz, Kronik myeloid lösemi ve Primer myelofibrozis'dir. Atipik myeloproliferatif neoplazmlar: kronik nötrofilik lösemi, kronik eozinofilik lösemi, mast hücre hastalığı ve sınıflandırılmayan myeloproliferatif neoplazmlar'dır.

2.2. ESANSİYEL TROMBOSİTOZİS (ET)

Esansiyel trombositoz izole trombositoz ve trombo-hemorajik komplikasyonlarla karakterize klonal kök hücre bozukluğudur.

2.2.1. EPİDEMİYOLOJİSİ

Popülasyon bazlı epidemiyolojik çalışmalarda insidans hızı yılda 100.000 kişide 2,5 yeni vaka olarak bildirilmiştir (2). Amerika'da her yıl yaklaşık 6.000 yeni Esansiyel trombositoz (ET) vakası bildirilmektedir. Hastalığın prevalansı daha yüksek olup 100.000 kişide 24 vaka olduğu bildirilmiştir (3).

Birkaç çalışmada ET’de bayan/erkek oranının yaklaşık 2:1 olduğu gösterilmiştir (4-6). Hastaların ortalama tanı yaşı 60 olup sadece %20’si 40 yaş altındadır (7). 5 yıllık yaşam beklentisi %74-93; 10 yıllık yaşam beklentisi %61-84 arasında olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (5, 8).

2.2.2. PATOGENEZ

ET’nin patogeneğinde trombopoietin (TPO) ve TPO reseptörü (c-Mpl) araştırılmıştır. Bazı familyal ET vakalarında c-Mpl genindeki mutasyonlar bulunmuştur (9). Endojen megakaryosit kolonilerinin büyümesi otokrin TPO uyarımından bağımsız olabilmektedir (10, 11). Otozomal dominant familyal ET’de transkripsiyonel c-Mpl gen mutasyonunda aktivasyon sonucunda TPO’ya bağılı trombositoz ile ilişkili olabilir.

ET’de serum TPO seviyeleri uygunsuz bir şekilde normal veya yüksek olduğu bildirilmiştir (12, 13). ET ‘de kemik iliğı mikro çevresindeki TPO üretimi dolaşımdaki TPO’dan bağımsız olarak artmıştır. Ayrıca ET trombositlerinde c-Mpl ekspresyonun azalmasına bağılı olarak TPO klirensinde azalma söz konusudur (14, 15).

Megakaryosit progenitör hücre havuzu anormal sitokin uyarımından bağımsız bir şekilde artmıştır (16, 17, 18, 19, 20).

ET’de megakaryosit progenitör hücreleri IL-3, IL-6 ve TPO gibi bazı sitokinlerin uyarımına duyarlıdır (19, 20, 21). Bazı araştırmalar ise megakaryositopoezin inhibitörlerine direnç gelişmesinin de ET biyolojisinde önem taşıdığını ileri sürmüşlerdir (22).

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

Sonuçta apoptozis mekanizmasının çalışmamasıyla klonal hücrede proliferasyon meydana gelmektedir (23). Tek bir mutasyonla 3 farklı MPH ortaya çıkmaktadır. PM kemik iliğinde fibrozisle seyreden bir MPH'dır. Ancak PV ve ET aynı klonal kök hücre bozukluğunun farklı fenotipi olması muhtemeldir. JAK2 pozitif ET hastalarının PV'ye benzer fenotipe; daha fazla hemoglobin ve lökosit seviyesi varken, daha düşük trombosit seviyesinin olması tipiktir. JAK2 mutasyon seviyesi düşük olan farelerde belirgin trombositoz gözlenirken eritrositoz seviyesi daha az oranda artmaktadır. Fakat JAK2 mutasyon yükü arttıkça veya homozigot olduğunda CD 34 (+) hücrelerde STAT5 aktivasyonu ile eritroid diferansiyasyon belirgin olarak artarken megakaryosit seviyeleri daha az artmaktadır. Sonuçta hasta ET veya PV'nin gelişmesi JAK2 mutasyon tipine, yüküne, hastanın demir homeostazına ve kazanılmış veya herediter genetik düzenleyicilere göre değişmektedir (23).

2.2.3. KLİNİK BULGULAR

ET'li hastalarda birçok değişken semptom vardır. Birçok hastada (% 12-67) tesadüfen değişik derecede trombositoz rutin tam kan sayımında tespit edilir (24, 25, 26, 27, 28). Değişik iki seride vakaların % 76 ile % 84'ü asemptomatiktir ve tanı rastlantısal olarak konmuştur (29, 30).

ET'de vazomotor semptomlar oldukça sık görülmekte olup değişik serilerde insidansı % 34 ile % 40 arasında değişmektedir. Vazomotor semptomlar: baş ağrısı, akral parestezi, atipik göğüs ağrısı, senkop, livedo retikularis, eritromelalji, geçici görsel bozukluklar (ofmaltik migren, amaroksis fugax, skotoma) ve baş dönmesi'dir.

Hastaların bir çoğunda semptomlar küçük veya büyük damarlarda tromboz veya minör kanamaya bağlıdır (24-28, 31, 32). Major kanama ile başvuru oldukça nadirdir (33). Tanı anında ET'li 74 genç kadında yapılan bir çalışmada sırasıyla tromboz ve hemoraji insidansı %18 ve %26 olarak bulunmuştur (34). Bununla beraber major trombotik ve hemorajik olay oranı sırasıyla % 7 ve % 4'dür. Diğer bazı çalışmalarda tanı anında tromboz'un insidansı % 9-22 arasındayken, hemoraji insidansı % 3-37 arasındadır (7, 29, 35-38).

Tanı konduktan sonraki süreçte hemorajik olay hastaların % 13-37'sinde görülürken, tromboembolik komplikasyonlar hastaların % 22-84'ünde görülmektedir (24-29, 39).

Trombotik olaylar genellikle mikrovasküler yapıyı tutmakla beraber büyük damarların trombozu da görülmektedir. İnme, geçici iskemik atak (TİA), retinal arter veya venöz oklüzyonlar, koroner arter iskemisi, pulmoner emboli, hepatik veya portal ven trombozu, derin ven trombozu, ve dijital iskemi trombotik olaylar içerisinde (40). Nörolojik komplikasyonlar sıktır (24-28, 39, 41). En sık nörolojik olay başağrısıdır, ikinci sıklıkta ekstremitelerde parestezi olur. Anterior ve posterior serebral sirkulasyonu tutan TİA'lar da oldukça sık görülür. Dengesizlik, dizatri, motor hemiparezi, amaroşis fugax, vertigo, skotomalar, migren benzeri semptomlar, senkop ve nöbet geçici nörolojik semptomlardır (41).

Ayak ve el parmaklarının tutulumuyla giden mikrovasküler dolaşım yetmezliği oldukça sıktır (29, 41-42). Parmaklarda ağrı, sıcaklık hissi; distal ekstremitelerde gangren, ve klasik eritromelalji bu tutulumun değişik görüntüleridir. Eritromelalji terimi ekstremitelerde kızarıklık ve yanma tarzında ağrı diye tanımlanmaktadır. Eritromelalji semptomları vakaların çoğunda asimetriktir. Digital iskemi reynaud fenomeni gibi başlayıp, terminal flanksların iskemik nekrozuna kadar ilerleyebilir. KAH ve TİA eritromelaljiyle genelde beraber olur veya öncesinde meydana gelebilir. Eritromelaljisi olan hastaların bir kısmında kanama epizodları meydana gelir. Eritromelaljiyle beraber kanaması olan hastaların haricinde eritromelaljisi olan hastalarda sıklıkla trombosit sayısı 1 milyon/ μ L'nun altındadır (42). Aterosklerotik dolaşım obstruksiyonuyla karşılaştırıldığında eritromelaljide arteriyel nabızlar normal kalmaktadır (43, 44).

Mikrovasküler trombozun genelde daha sık görülmesine rağmen, büyük ven ve arterlerin trombozu da sıklıkla meydana gelmektedir (36, 45-46). Bir seride hastaların% 51'inde büyük damar trombozuna bağlı semptomlar görülmüş, en sık ayak arterleri (% 30), koroner arterler (% 18) ve renal arterler (% 10) etkilenmiştir. Karotis, mezenterik ve subklaviyan arterlerin tutulumu olağan değildir (45). Yine aynı seride pelvik ve ayak venleri, hepatik ve splenik venöz tromboz hastaların % 7'sinde görülmüştür. ET'nin nadir bir komplikasyonunda priapismdir (41, 47).

ET'li hastalarda miyokardiyal iskemi veya enfarktüs veya her ikisinin birden normal koroner anjiogramla beraber olabileceği gösterilmiştir (48-50). ET'nin de içinde yer aldığı myeloproliferatif hastalıklarda aortik ve mitral valvüler lezyonlara sıklıkla rastlanmaktadır. Bu lezyonlar nonbakteriyel trombotik endokardite benzemekte ve periferik arter embolilerinin orjini gibi gözükmetedir (50). ET'lilerde alveoler kapiller bölgede trombosit ve megakaryositlerin birikimine sekonder, pulmoner hipertansiyon gelişebilmektedir (51-52).

ET'li hastalarda başlangıçta hemorajik problemler göreceli olarak daha sıktır. Primer kanama bölgesi gastrointestinal sistemdir. Cilt, göz, üriner sistem, dişeti, dış çekimi sonrası çekilen bölgede, eklemde veya beyinde kanama görülebilir. Kanamalar sıklıkla çok ciddi değildir ancak eritrosit transfüzyonu gerekebilir (24, 26-28, 42). ET'de trombosit sayısı 1 milyon/microL' nin üstüne çıktıkça hemoraji riski artmaktadır (36). Bazı çalışmalarda ise 1,5 milyon/microL (34) veya 2 milyon/microL (35)'nin üzerinde kanama riskinin arttığı belirtilmiştir. Yine yüksek doz aspirin (> 325mg/gün) ve nonsteroid anti-inflamatuvar ilaç kullanımında kanama riski artmaktadır.

Bazı ET ve PV hastalarında trombosit sayısı 1 milyon/microL'nin üzerine çıkınca kazanılmış von Willebrand eksikliği meydana gelmektedir. Böyle hastalar aspirinle tedavi edildiğinde kanama meydana gelebilir (53-55).

Vakaların birçoğunda fizik muayenede belirgin bir bulgu yoktur. Vakaların çoğu tanı anında ciddi hasta olmayıp ortalama Karnofsky Skoru % 90'nın üstündedir (24, 26-28, 36, 56). Splenomegali hastaların % 40-50'sinde saptanabilir, hepatomegali ise vakaların yaklaşık % 20'sinde görülür (24, 26-28, 36, 56-58).

2.2.4. LABORATUAR DEĞERLENDİRME

ET de açıklanamayan ve devamlı yüksek olan trombositoz mevcuttur. Trombositozun seviyesi bazı vakalarda > 450.000/mikroL iken bazı vakalarda 1 milyon/mikroL'nin üzerindedir (24, 26-28, 36, 56-58).

Periferik kan yaymasında lökoeritroblastik tablo ve gözyaşı hücreleri ET'nin bulguları değildir. Hafif eozinofili ($> 400/\text{mm}^3$) ve bazofili ($> 100/\text{mm}^3$) hastaların üçte birinden daha fazlasında görülür (57, 58). Polisitemia vera çalışma grubu'nun çalışmasında hastaların % 90'ında kemik iliğinde sellülarite artmıştır (57, 59). Hastaların üçte ikisinde belirgin megakaryosit hiperplazisi ile beraber morfolojik olarak nükleer pleomorfizm olan ve kümeleşme eğiliminde olan megakaryositler sıklıdır (57, 59-60). Multilobule büyümüş megakaryositler ve sinüsler boyunca uzanan küçük gruplar halinde kümeler oluşturma eğiliminde olan megakaryositler ET'nin temel bulgusudur (61, 62). Artmış hücre sayıları dışında belirgin granülopoez ve eritropoez yoktur. Kemik iliğinde retikulin hastaların % 25'inde artmıştır fakat belirgin fibrozis yoktur (57, 59). Kemik iliği bulguları Tablo 1'de gösterilmiştir (57). Belirgin retikulin fibrozis veya kollajen fibrozis ET tanısı aleyhinedir (61). Kemik iliğinde hastaların % 70-80'inde azalmış olsa depo demiri vardır (63). Neredeyse hastaların hepsinde serum ferritin seviyeleri normaldir (62).

Tablo 1: Esansiyel Trombositozda kemik iliği bulguları				
PARAMETRELER	NORMAL	HAFİF ARTMIŞ	ORTA DERECEDE ARTMIŞ	İLERİ DERECEDE ARTMIŞ
Sellülarite	% 10.8	% 19	% 59.4	% 10.8
Megakaryosit sayısı	% 0	% 8.1	% 31.2	% 60.7
Eritroid elemanlar	% 16.2	% 32.4	% 40.6	% 10.8
Miyeloid elemanlar	% 19	% 29.7	% 45.9	% 5.4
Retikülin içeriği	% 78.3	% 19	% 2.7	% 0

Kanama zamanı hastaların % 10-20'sinde uzamıştır (36, 64). Trombosit agregasyon çalışmaları sıklıkla anormaldir. Epinefrin, ADP, ve kollajene agregasyon yanıtı bozulmuştur fakat araşidonik asit ve ristosetin yanıtı normaldir (64).

Tanı anında ET'li hastaların yaklaşık % 25'inde ürik asit seviyeleri yüksektir (28, 45, 59). Hastaların % 23'ünde pseudohiperkalemi ve artmış fosfor konsantrasyonları olmasına rağmen genellikle serum potasyum ve fosfor seviyeleri normaldir (65).

ET'li hastaların 1.5 milyon/mikroL üzerindeki trombosit sayılarında kazanılmış von Willebrand sendromunun klinik bulgularına yol açar, kanama zamanı uzar, faktör VIII koagulan aktivitesi normaldir. Ayrıca von Willebrand antijeni normalken von Willebrand riscosetin kofaktör aktivitesi azalmış, büyük von Willebrand multimerleri azalmış veya yoktur. Bunlar tip 2 von Willebrand eksikliği ile uyumludur (66).

ET hastalarında protein C, antitrombin III, protein S konsantrasyonları azaldığında ve aktive protein C rezistansı olduğunda (faktör V genetik defektleri) trombotik risk artar (67, 68). İleri derecede trombositozu olan hastalarda pseudohipoksemi gözlenebilir (69). Vakaların % 25'inde serum vitamin B12 düzeyi yüksektir (36, 57, 59).

2.2.5. JAK-2 MUTASYONU

ET'li hastalarda yapılan çeşitli araştırmalarda yaklaşık % 50 kadarında JAK2 V617F mutasyonunun varlığını ortaya koymuştur (70-72). Trombositozu olan bir vakada bu mutasyonun gösterilmesi myeloproliferatif bozukluk ilişkili trombositoz ile reaktif trombositozun (RT) ayırımı için oldukça değerli bir bilgi olmakla birlikte ET, PV ve PM arasındaki bir ayırımı katkıda bulunamaz (73, 74).

İki klinik çalışmada JAK2 mutasyonu gösteren ET hastalarında daha yüksek beyaz küre, hemoglobin seviyeleri varken trombosit sayıları daha düşük ancak mutasyonu olmayanlara göre PV'ye dönüşüm insidansı daha yüksek olduğu gösterilmiştir (75, 76).

Diğer iki farklı klinik çalışmada JAK2 mutasyonu olan ET'li hastalarda hemoglobin seviyeleri yüksek bulunmuştur (77, 78). Bazı farklı çalışmalarda ise JAK2 mutasyonu olan hastalarda tromboz insidansının arttığı gösterilmiştir (77, 79, 80). Yine benzer bir çalışmada ise mutasyonu gösteren ET olgularında artmış tromboz insidansı ile birlikte yalnızca WBC sayımlarındaki artış dikkati çekmektedir (79).

2.2.6. HASTALIK DÖNÜŞÜMÜ VE PROGNOZ

ET'nin; myelofibrozis ve PV'ye dönüşümü mümkündür. ET'lerin bir kısmında akut myeloid lösemiye dönmektedir. 72 genç bayan ET'li hastaların ortalama 9,2 yıl (0,2-26 yıl) takibinde % 2,7'si PV'ye; % 4'ü myelofibrozise; %1,4'ünde akut myeloid lösemiye dönüştüğü görülmüştür (34). 195 ET vakasının ortalama 8 yıl takip edildiğinde 13 (% 6,66) vakada miyelo-fibrozis gelişmiştir (81). Post trombositemik myelofibrozis ile de novo miyelo-fibrozis arasında tedavi ve prognoz açısından fark olup olmadığı açık değildir ayrıca ET'nin fibrotik transformasyona dönüşümünü engelleyecek spesifik bir tedavide yoktur (81).

605 ET'li hastanın ortalama 7 yıl takibinde 20 hastada (% 3,3) lösemik transformasyon gelişmiştir (d32.1). Bu çalışmada düşük hemoglobin düzeyi (kadınlarda < 12 gr/dl, erkeklerde < 13.5 gr/dl), trombosit sayısının $\geq$ 1 milyon/mikroL ve ileri yaş lösemik transformasyon için risk faktörleridir (82). Sitoreduktif tedavi ve JAK2 mutasyonunun varlığı lösemik dönüşüm riskini etkilememiştir (82). Retrospektif çalışmalarda ortalama 3 ile 7 yıl takip edilmiş ve ET'li hastaların % 0,6 ile % 5'inde akut myeloid lösemiye dönüştüğü görülmüştür (35-38, 83).

AML'ye transforme olan ET'li hastaların büyük çoğunluğu sitoreduktif tedavi almaktadır. Bir başka önemli nokta ise AML'ye dönen hastaların birçoğu birden fazla ilaçla tedavi görmüş. Hidroksiüre kullanan ET'li hastaların bir kısmında 17p delesyonu ile beraber miyelodisplastik sendrom ve AML'ye dönüşüm tespit edilmiştir (84).

ET'de komplikasyon (tromboz, hemoraji, hematolojik dönüşüm) gelişmeyen hastalarda normal yaşam beklentisi vardır.

2.2.7. AYRICI TANI VE TANI

Kronik MPH'lar (ET, PV, PMF, KML gibi) arasında sadece ET dışlama tanısıdır. Bilinen reaktif ve klonal trombositoz yokluğunda persistan trombositoz

varlığında ET tanısı konabilir. ET bir dışlama tanısıdır; trombositozun diğer nedenlerinin ekarte edilmesi gerekir (Tablo 2).

Polycythemia Vera Çalışma Grubu'nun (PVSG) ET için tanısal kriterleri Tablo 3'te gösterilmiş olup 2008'e kadar kullanımı devam etmiştir (85). 2008'de Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ET ve diğer myeloproliferatif hastalıklar için yeni tanı kriterleri belirlemiştir (86, 87). ET bir dışlama tanısı olduğu için tüm 4 kriterin olması gereklidir. 2008 DSÖ kriterleri Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 2: Trombositoz Sebepleri		
HEMATOPOİETİK SİSTEM HASTALIKLARI	*Polisitemia rubra vera *Kronik myeloid lösemi *Osteomiyelofibrozis *Esansiyel trombositoz *Kanamalar *Hemofili	*Hemoliz *Rebound trombositoz *Demir eksikliği anemisi *Myelodisplastik sendromlar *Tidal platelet disgenезis
NEOPLASTİK HASTALIKLAR	*Lenfoproliferatif Hastalıklar *Meningiom *Foliküler tiroid ca. *Mesothelioma	*Hepatoblastoma *Bronkojenik epidermoid ca. *Mide ca. *Meme ca.
İNFEKSİYON HASTA+LIKLARI	*Tüberküloz *Kronik osteomiyelit	*Pnömonoksik menenjit *Kronik pnömonitis *Gonokoksik artritis
İNFLAMATUAR HASTALIKLAR	*Ülseratif kolit *Crohn hastalığı *Romatoid artritis *Periarteritis nodoza *Akut Romatizmal Ateş	*Sarkoidozis *Wegener Granülomatozis *Karaciğerde sirotik ilerleme *Dev hücreli arteritis *Sprue Hastalığı
SPLENİK NEDENLER	*Splenektomi sonrası *Splenik agenezis	*Splenik atrofi *Splenik ven trombozu
İLAÇLAR	*Adrenalin *Vinca alkaloidleri *Beta laktam antibiyotikler	*Glukokortikoidler *Mikonazol *Growth faktörler
DİĞER NEDENLER	*Travma *Cerrahi operasyonlar *Ciddi yanıklar *Aşırı egzersiz *Gebelik *Benign familyal trombositoz	*Nefrotik sendromlar *Renal kistler *Cushing hastalığı *Glikojen depo hastalıkları *Feokromositoma *Kawasaki hastalığı *5q- sendromu vd.

Tablo 3: PSVG'nin ET Tanı kriterleri
1. Trombosit sayısı >600.000/mikroL
2. Kemik iliği aspirasyon ve biyopsisinde megakaryosit hiperplazisi olması
3. Philadelphia kromozomu bulunmaması
4. İnflamasyon, infeksiyon ve reaktif trombositoz'un diğer sebeplerinin olmaması.
5. Normal eritrosit kitlesi veya Hb<13gr/dl olması.
6. Kemik iliği aspirasyonunda boyanabilir demir deposunun olması veya 1 aylık oral demir tedavisinden sonra Hb konsantrasyonunda ≤ 1 gr/dl artış olması

Tablo 4: Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2008 ET Tanı Kriterleri
1. Trombosit sayısının devamlı olarak ≥ 450.000/mikroL olması
2. Kemik iliği biyopsisinde: Megakaryosit seride belirgin proliferasyon ve matür ve genişlemiş megakaryositlerde sayıca artış olması. Nötrofil granülopoezde sola kayma olmaması; nötrofil granülopoezde ve eritropoezde belirgin artış olmaması.
3. DSÖ kriterlerine göre PV, KML, PM veya myelodisplastik sendrom veya diğer myeloid neoplazilerin olmaması
4. JAK2V617F veya diğer klonal belirteçlerin olması; JAK2V617F olmaması durumunda reaktif trombositoz sebeplerinin ekarte edilmesi
TANI: 4 kriterin olması tanı için mutlaka gereklidir.

2.2.8. TEDAVİ

ET hastalarında tedavi planı yapılmadan önce risk durumunun belirlenmesi gerekir. Düşük riskli denilmesi için aşağıdaki 3 durumunda aynı anda olması gerekir (88): 1.Hastanın yaşı <60, 2. Önceden tromboz öyküsünün olmaması, 3. Trombosit sayısının < 1 milyon/mikroL

Hastaların yüksek riskli olabilmesi için aşağıdaki risk faktörlerinden en az bir tanesinin veya her ikisinin olması şarttır (88): 1.Yaş $\geq$ 60,
2.Önceden tromboz hikayesinin olması.

Yüksek risk grubuna girmeyen ancak Trombosit sayısının >1 milyon/mikroL üzerinde olan vakalar orta risk grubuna girmektedir (88).

ET'li hastaların büyük bir kısmında normal yaşam beklentisi vardır. ET'ye bağlı komplikasyonlar gelişmesi durumunda tedavi gereklidir (89-91).

En sık olan vazomotor semptomlar düşük doz aspirin (40-81 mg/gün) tedavisi ile kolaylıkla idare edilebilir (43, 92).

Düşük riskli hastalarda potansiyel olarak zararlı olan ilaçların uzun süreli kullanımı sıklıkla önerilmez (93, 94). Ancak kardiyovasküler risk faktörleri ve/veya kontrolsüz ciddi trombositoz bu riski daha da artırır (93, 95). Böyle durumlarda bile ilaç tedavisi halen tartışmalıdır. Öte yandan ET'li hastaların yaklaşık % 20'sinde major trombotik olay görülmekte, diğerlerinin de % 15'inde rekurren trombotik olay görülmektedir (35, 93). Bu nedenle 60 yaşın üstünde ve önceden tromboz geçirenlerde bu risk oldukça yüksektir. Yüksek riskli hastalara sitoreduktif tedavi verilmesi gerekir.

Kanama komplikasyonu daha az sıklıkla görülür. Aspirin 81 mg/gün den az olması ve non-steroid anti-inflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanımı olmadığı sürece kanama gelişimi önlenmiş olur (38, 96). Bununla beraber kontrol edilmemiş trombositoz varlığında kazanılmış von Willebrand bozukluğu gelişerek spontan kanamalara yol açabilir (53).

ET'li hastalarda yanıt kriterleri tekrar gözden geçirilmiştir (97). Yanıt kriterleri 3 kategoride ele alınmıştır: 1. Klinik ve hematolojik, 2. Moleküler, 3. Kemik iliğinde histolojik yanıt.

A- Klinikohematolojik yanıt açısından 3 grupta ele alınır.

Tam yanıt: 1. Trombosit sayısı $\leq 400.000/\text{mikroL}$, 2. Görüntülemelerde normal dalak boyutu, 3. Hastalıkla ilgili semptomların olmaması (mikrovasküler bozukluklar, kaşıntı, baş ağrısı), 4. Beyaz küre sayısı $\leq 10.000/\text{mikroL}$. Bu 4 kriterin olması tam yanıt olarak değerlendirilir.

Parsiyel yanıt: 1. Tüm tam yanıt kriterlerine uymaması, 2. Trombosit sayısı $\leq 600.000/\text{mikroL}$ veya bazal değerden $> \% 50$ daha fazla düşmesi.

Yanıtsız : hiçbir parsiyel yanıt kriterine uymaması.

B-Moleküler yanıt 3 kategoride değerlendirilmiştir:

Tam yanıt: spesifik moleküler anormalliğin tespit edilemeyecek seviyelere kadar azalması

Parsiyel yanıt: 1. Bazal değere göre mutant allel yükün $< \% 50$ düşmesi ile bazal değerden $\geq \% 50$ 'den fazla azalma olması veya 2. Hastalarda bazal değerden $\geq \% 25$ den fazla azalma ile beraber mutant allel yükünün $> \% 50$ 'den fazla azalması

Yanıtsız: parsiyel yanıt kriterlerine uymaması.

C-Histolojik yanıt ise: kemik iliğinde histolojik remisyon ve megakaryosit hiperplazisinin olmaması

Hidroksiüre: Başlangıç dozu 15 mg/kg /gün po bölünmüş dozlarda başlanır. Trombosit sayısını 100.000-400.000/mikroL arasında tutacak şekilde doz artırılıp azaltılabilir. İstenmeyen yan etkileri arasında nötropeni ve anemi vardır. Hidroksiüre'nin sık yan etkileri arasında oral ülserler, hiperpigmentasyon, ciltte döküntü, ve tırnak değişiklikleri vardır. Daha az sıklıkla ayak ülserleri, kusma, diyare

ve alopesi gelişebilir. Nadir komplikasyonları arasında ateş ve anormal karaciğer fonksiyon testleri yer alır. Gebelikte ve emzirme döneminde kullanımı önerilmez.

Hastaların değişen derecelerde nötropeni, megaloblastik değişikliklerin ön planda olduğu anemi ve trombositopeni gelişimi açısından takip edilmesi gerekir. Hidroksiüre ribonükleotid redüktaz enzim inhibitörü olup DNA sentezini engeller. Bu nedenle hidroksiüreye bağlı makrositozla giden anemide, nötropeni ve trombositopeni de folik asit ve vitamin B12 verilmesi bu etkileri geri döndürmez.

Cortelazzo ve arkadaşları tarafından 1995 yapılan randomize bir çalışmada 114 ET'li hasta hidroksiüre alan ve ilaç almayan olarak iki grupta ele alınmış; yüksek riskli hastalarda hidroksiüre kullanan grubun ortalama 27 ay takip sürecinde tromboz riskinin %24'ten %4'ün altına indiği gösterilmiştir (98).

809 ET'li hastanın değerlendirildiği başka bir çalışmada (MRC PT-1) hidroksiüre veya anagrelid aspirinle kombine edilmiş bu çalışmada hidroksiüre aspirin kombinasyonu (arteryel tromboz, major hemorajilerde önemli azalma tespit edilmiştir) daha üstün bulunmuştur (99).

Trombosit sayısının <400.000/mikroL olması durumunda trombotik riskin azaldığı gösterilmiştir (35, 100).

ET'li hastalarda sadece hidroksiüre kullanıldığında lösemik dönüşüm insidans oranları % 0-5 arasında değişmektedir (101-104). Bir seride 357 hastanın ortalama 8 yıl takiplerinde MDS veya AML'ye dönüşüm insidansı % 4.5'tur (101).

Anagrelid: Anagrelid bir imidazoquinazolin türevi oral bir ilaçtır. İnsanlarda trombosit agregasyonunu inhibe edici ve trombosit sayısını azaltıcı etkileri vardır. Araştırmalar megakaryosit maturasyonu ve proliferasyonu aşamasında etkili olduğunu göstermekle beraber mekanizması tam anlaşılmamıştır (105-107).

1985'ten beri klonal trombositozu olan (KML, PV, MF, ET) binlerce hasta anagrelid'le tedavi edilmiştir (108-111).

Erişkinlerde günlük başlangıç dozu günde 3 veya 4 kez po 0.5 mg'dir. İdame dozu 1-4 mg/gün'dir. Gençlerde idame ortalama dozu 2.5 mg/gün'dir (112). Taşiflaksi gelişmez.

79 ET'li hasta anagrelid'le tedavi edildiğinde ciddi trombosit sayısında düşme ile beraber minor ve majör arteriyel ve venöz tromboembolik komplikasyonlarda da belirgin azalma tespit edilmiştir (113). Anagrelid'le beraber aspirin alan hastalarda kanama komplikasyonları daha sık görülmektedir.

Anagrelid'in toksik etkisi ilacın direkt vazodilatör ve inotropik etkilerine bağlıdır. Çarpıntı, taşikardi, başağrısı, ödem, ishal sık görülen yan etkileridir. Uzun dönem tedavisinde hemoglobin değerinde 3gr/dl'den fazla düşüş olması hastaların % 24'ünde görülmüştür. Yan etkileri nedeniyle anagrelid'in kesilmesi hastaların sadece % 9'unda olmuştur (114).

Başka bir seride 577 anagrelid'le tedavi edilen ET hastasında % 24'ünde sıvı retansiyonu, % 2'sinde ise kalp yetmezliği görülmüştür (115). Anagrelid kullanan ET ve PV hastalarında kazanılmış idiyopatik kardiyomiyopati geliştiği görülmüştür (116). Bilinen veya süphelenilen kalp yetmezliği durumunda anagrelid tedavisi verilirken oldukça dikkatli olunmalıdır. Kalp yetmezliği olan hastalarda zorunlu kalınmadıkça verilmemesi tercih edilmelidir (117).

Alfa İnterferon: Alfa İnterferon tüm MPH'larda trombositozu kontrol etmede kullanılır. Başlangıç dozu günde sc 3-5 milyon ünite'dir. Günlük doz 5 milyon ünite/m²'ye kadar artırılabilir. Değişik çalışmalarda hematolojik yanıt oranı % 75-88 olup, hastaların % 32'sinde dalak boyutlarında küçülme tespit edilmiştir (118-122). Megakaryosit kitlesinde azalma olmasına rağmen, klonal hematopoez devam eder ve alfa interferon küratif değildir (123).

Alfa İnterferonun sık görülen yan etkileri: İnfluenza benzeri semptomlar, kusma, diyare, myalji, depresyon ve halsizliktir (124, 125). Tedavi başlangıcında neredeyse tüm hastalarda yan etkiler ortaya çıkar fakat tedaviye devam edilirse yan etkiler giderek hafifler (124). Yan etkilerin hafiflemesine rağmen ilacı bırakma

oranları % 15 ile % 66 arasında değişmekte, ortalama hastaların % 25'i ilacı bırakmaktadır (126, 127).

İnterferon alfa'nın immünmodölatör etkilerinden dolayı, hipotiroidi gibi otoimmün hastalıkların semptomatik epizotları ortaya çıkabilir (128). Otoimmün tiroidit (129), artrit (130), hipertrigliseridemi (131) ve iskemik optik nöropati (132) bildirilen yan etkileri arasındadır.

Depresyon/mani alfa interferon'un iyi dökümente edilmiş yan etkilerinden olup; bu yan etki alfa interferon'un ET tedavisinde kullanımını kısıtlamaktadır (133-135).

Pegylated interferon alfa'nın MPH'ların tedavisinde kullanımı araştırılmaktadır. Bu ajan interferon alfa'ya yüksek molekül ağırlıklı etilen glikol polimerlerinin eklenmesiyle elde edilmiştir (136). Bu kimyasal modifikasyon ilacın serumdaki yarı ömrünü artırıp, renal eksresyonunu azaltmış olup sonuçta günlük kullanım yerine haftada bir kez kullanımına olanak sağlamıştır. ET'nin de dahil olduğu MPH'larda trombosit sayısının ve semptomların kontrolünde Pegylated interferon alfa'nın etkili olduğu gösterilmiştir (137-139).

Pipobroman: Pipobroman oral piperazin türevi olup, yapısal olarak alkilleyici ajan sınıfında yer almaktadır (140). Amerika'da Pipobroman piyasada yoktur ancak Avrupa'da PV ve ET'nin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Başlangıç dozu 0.8-1 mg/kg/gün po dozunda kullanılır. Kusma, abdominal kramp, diyare, stomatit, ve kuru cilt görülen yan etkileri arasındadır. Kısa dönemli çalışmalarda, ET'de pipobroman kullanımının akut lösemi gelişmesi ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (84, 141). Ancak uzun dönemli tedavide azda olsa risk artışı mevcuttur (142, 143) . Pipobroman ile beraber hidroksiüre gibi diğer ajanlarla beraber kullanımı AML gelişim riskini önemli derecede artırır (84).

Radyoaktif Fosfor 32 (32P) Tedavisi: Bir çalışmada PV ve ET hastaları oral 32P ile tedavi sonrası ortalama 7.2 yıl takip edildikten sonra % 4.6 hastada akut lösemi geliştiği gösterilmiştir (144). 32P'nin önerilen başlangıç dozu 2.3 milicuri/m² IV (sınır 5 milicuri/doz)'dir. 32P'nin dozu her 12 haftada birden daha sık

verilmemelidir. Eğer trombosit sayısı kontrol edilemezse, ikinci ve sonraki 32P dozları % 25 artırılabilir (maksimum doz 7 milicuri).Yeni ajanların kullanıma geçmesinden sonra yan etkileri nedeniyle artık çok az kullanılan bir tedavi yöntemidir.

JAK2 inhibitörleri: JAK2 V617F mutasyonunun keşfiyle beraber moleküler hedefli tedaviler gündeme gelmiştir. Daha az yan etki, daha iyi komplikasyonların kontrolü ve hastalığın kontrolü için JAK2 inhibitörleri umut vaat etmektedir. JAK2'ye yeterli potensi olan ve faz çalışmaları devam eden ilaçlar (145, 146) Tablo 5'de özetlenmiştir.

Tablo 5: JAK2 üzerinden etkili ilaçlar (JAK2 inhibitörleri)			
Hastalık	İlaç	Hedef	Klinik faz
PMF/post-ET/PV MF	INBC018424	JAK1, JAK2	III
PMF/post-ET/PV MF	TG101348	JAK2	II
PMF/post-ET/PV MF	CEP701(Lestaurnib)	JAK2, FLT3	I/II
PMF/post-ET/PV MF	Erlotinib	JAK2	I/II
PMF/post-ET/PV MF	TG101209	JAK2,FLT3	I/II
PMF/post-ET/PV MF	MK 0457	Aurora kinaz	I/II
PMF/post-ET/PV MF	Go6976	FLT3, JAK2	PREKLİNİK

2.3. DİĞER MYELOPROLİFERATİF HASTALIKLAR

2.3.1. POLİSİTEMİA VERA (PV)

Primer eritrositoz veya polisitemia vera (Vaguez hastalığı) eritrosit kitlesinde artış ile karakterize klonal bir hematopoietik kök hücre hastalığıdır (1). Eritrositoz belirgin olmakla beraber lökositoz, trombositoz, siyanoz (rengi kırmızıya çalan) ve splenomegali ile kendini gösterir.

PSV'nin yıllık insidansı 100.000'de 0,5-2 kadardır (147-150). Erkeklerde bayanlara göre (E/K:1.2:1) daha sık görülür ve ortalama tanı yaşı 60'dır (147-150). Ortalama yaşam beklentisi tedavi edilmeyen olgularda 6-18 ay, tedavi ile 11-15 yıl olarak saptanmıştır (151).

PV yavaş seyirli kronik bir hastalıktır. Hastalığın semptomları kan hacmi ve kan viskozitesinin artışı ile ilgili olup birçok sistemi ilgilendirir (152).

PV orta ve ileri yaşın hastalığı olup, fizik muayene bulgular ve laboratuvar bulguları ile kolayca tanısı konulabilir. 1968'de polisitemiya vera çalışma grubunun (PSVG) belirlediği ve daha sonra modifiye edilen kriterler Tablo 6'da gösterilmiştir (153).

Tablo 6: PSVG'nin Polisitemia Vera Tanı Kriterleri
A1: Artmış eritrosit kitlesi(erkeklerde >36 ml/kg, kadınlarda >32 ml/kg)
A2: Arteriyel oksijen satürasyonunun > %92 olması
A3: Splenomegalinin mevcut olması
B1: Trombositoz (trombosit sayısı > 400.000/mm³)
B2: Lökositoz (lökosit sayısı > 12.000/mm³)
B3: Artmış lökosit alkalen fosfataz düzeyi (> 100 IU/ml)
B4: Artmış serum B12 vitamin düzeyi (>900 pg/ml) ve/veya artmış serum B12 vitamini bağlama kapasitesi (>2200 pg/ml)
PV tanısı: A1+A2+A3 veya A1+A2+B kategorisindeki kriterlerden herhangi ikisinin olması

PV tanı kriterleri 2008’de Dünya Sağlık Örgütü’nce (DSÖ) tekrar gözden geçirilmiş ve yeni PV tanı kriterleri oluşturulmuştur (86, 87). Tablo 7’de yeni kriterler gösterilmiştir.

Tablo 7: Dünya Sağlık Örgütü PV Tanı Kriterleri
A. Major kriterler:
1. Hemoglobin erkeklerde >18.5 gr/dl, bayanlarda >16.5 gr/dl veya eritrosit volümü artışının diğer bulguları olmayacak (hemoglobin veya hematokrit yaşı, cinsiyet ve oturduğu yerinyüksekliğini kapsayan metod spesifik değerlerin >99 persentil’in üstünde olması; demir eksikliği tedavisine bağlı olmadan bazal hemoglobin değerinin en az 2 gr/dl artıp erkeklerde >17 gr/dl, bayanlarda 15 gr/dl ‘nin üzerine çıkması; veya beklenen eritrosit kitlesinin %25’inden daha yüksek olması)
2. JAK2 V617F mutasyonun olması veya benzer bir mutasyon olan JAK2 ekson 12 mutasyonu olması
B. Minör kriterler:
1. Kemik iliği biyopsisinin yaşa göre hipersellüler olması ile birlikte her üç seride artış olması (panmiyelozis) eritroid, miyeloid, granülositik proliferasyon
2. Serum eritropoietin değerlerinin normal referans değerlerin altında olması
3. İn vitro endojen eritroid kolonilerin oluşması

PV tedavisinde flebotomi, düşük doz aspirin, hidroksiüre, anagrelid ve interferon alfa kullanılır (1). Hiperürisemiği önlemek için yeterli sıvı desteği ile beraber ksantin oksidaz inhibitörü olarak allopurinol verilmelidir. Kaşıntı için H1 ve H2 histamin antagonistlerinin verilmesi önerilmektedir (1).

2.3.2. PRİMER MYELOFİBROZİS (PM):

Myelofibrozis, kemik iliğinde artmış kollajen birikimini tanımlamak için kullanılan bir terimdir (1). Primer miyelofibrozis miyeloproliferatif hastalıklar grubunda yer alan ve anormal multipotent kök hücreden kaynaklanan progresif anemi, masif splenomegali, ekstramedüller hematopoezis, lökoeritroblastik kan yayması ile kollajen fibrozis, osteosklerozis ve anjiogenezin eşlik ettiği kemik iliği stromal reaksiyonu ile karakterize klonal bir hastalıktır (1). İlk defa 1879'da tanımlanan bu nadir hastalık idiyopatik myelofibrozis, osteomyelofibrozis, agnojenik myeloid metaplazi ve myeloid metaplazili myelofibrozis gibi bir çok değişik şekilde isimlendirilmiştir.

İdiyopatik myelofibrozis (PM) nadir görülen bir hastalıktır. PM karakteristik olarak 50 yaşından sonra görülür (154-164). Tanı anında yaklaşık ortalama yaş 65'tir (155, 157-161). Hastalığın yıllık insidansı 100.000'de 0.5-1.5 arasındadır (165-168). Diğer miyeloproliferatif hastalıkların seyri sırasında oluşan myelofibrozis bazı yazarlar tarafından sekonder myelofibrozis olarak adlandırılır. Bu tanımlamaya göre idiyopatik miyelofibrozise, primer miyelofibrozis denilmektedir. Myelofibrozlarda %10'u diğer miyeloproliferatif hastalıklardan gelişir.

Hastaların çoğunda halsizlik, kaşeksi, kilo kaybı vardır. Ateş ve gece terlemesi gibi hipermetabolik semptomlar ile kanama ve morluklar görülebilir (156-160). PM tanısı splenomegali, çevre kanında anizopoikilositoz ile immatür myeloid ve eritroid hücrelerin (lökoeritroblastozis) görülmesi, ekstramedüller hematopoez, klonal hematopoez ve kemik iliğinde fibrozis saptanması ile konabilir. PM'le öncelikle diğer kronik miyeloproliferatif hastalıklar (KML, PV, ET) arasında ayırıcı tanı yapmak gerekir (1).

PM tanısı ilk olarak 1999'da İtalyan konsensüs kriterleri olarak belirtilmiştir (169). Bu tanı kriterleri Tablo 8'de gösterilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2008 tanı kriterleri tekrar gözden geçirilmiştir (86, 87). Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 8: PM İtalyan Tanı kriterleri
1. Major kriterler:
A: Diffüz kemik iliği fibrozisi (biyopsi 3x15 mm'den küçük olmayacak ve mikroskopik olarak retikülin fiberler kanıtlanacak)
B: Bcr-abl veya philadelphia kromozomu olamayacak
2. Minör kriterler
A: Splenomegali
B: Anizopoikilositozla beraber tear-dorp (gözyaşı) hücreleri
C: Periferik kanda immatür myeloid hücreler
D: Periferik kanda eritroblastlar (nükleuslu eritrositler)
E: Kemik iliği kesitlerinde megakaryoblast kümeleri ve anormal megakaryositler
F: Myeloid metaplazinin varlığı
TANI:
1. Splenomegali varsa 2 major kriterle beraber herhangi 2 minör kriter olması.
2. Splenomegali yoksa 2 major kriterle beraber herhangi 4 minör kriter olması

Tablo 9: Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) PM tanı kriterleri
A. Major kriterler:
1. Megakaryosit proliferasyonu ve atipinin (küçük-büyük megakaryositler ile aberran nükleer/sitoplazmik oran ve hiperkromatik, bulbuz, veya irregüler katlantılı nükleus ve sıkı kümlenme) olması sıklıkla buna eşlik eden retikulin ve/veya kollajen fibrozis, veya ciddi retikülin fibrozis yokken megakaryosit değişikliklerine eşlik eden granülositik proliferasyonu ve sıklıkla azalmış eritropoezle karakterize olan artmış kemik iliği sellülaritesinin olması.
2. DSÖ kriterlerine göre PV, KML, MDS ve diğer myeloid neoplazilerin olmaması
3. JAK2 V617F ve diğer klonal belirteçlerin (MPLW515L/K) olması veya klonal belirteç yokken diğer miyelofibrozis nedenlerinin olmaması.
B. Minör kriterler:
1. Lökoeритроblastozis
2. Serum laktat dehidrogenaz seviyesinde artış
3. Anemi
4.Splenomegali

PM, allojeneik kemik iliği transplantasyonu yapılan az sayıda hasta hariç tam iyileşme sağlanamayan bir hastalıktır (1). Transplantasyon dışındaki tedaviler yaşam süresine etki etmez ve sadece hayat kalitesini düzeltmeye ve semptomları hafifletmeye yöneliktir (1).

2.3.3. KRONİK MYELOİD LÖSEMİ (KML):

KML, ABD’de görülen tüm lösemilerin %15-20’sini oluşturur. Her yaşta görülmekle birlikte ileri yaş (ortalama 67) grubu hastalığıdır. Hastalığın insidansı 1.3-1.4/100.000’dir (170-172). 2008’de yaklaşık 4830 vakaya tanı konulmuştur ve 450 kişi bu hastalıktan ölmüştür (173). Erkeklerde sıklığı biraz daha fazladır (1.5:1).

KML, Philadelphia kromozomu (Ph) olarak bilinen ve 9. Kromozomun uzun kolu ile 22. Kromozomun uzun kolu arasında meydana gelen resiprokal bir translokasyon [t(9;22)] sonucu oluşur. Bu translokasyon, 9. kromozomda yer alan abl (Abelson leukemia virus) geni ile 22. kromozomda bulunan bcr (Breakpoint cluster region) geninin biraraya gelerek yeni bir füzyon geni oluşturmaya sebep olur (172). Bcr/abl adı verilen bu füzyon geni p210 adlı bir füzyon proteinini kodlar (172).

Bazı vakalar tarama testleri sırasında tesadüfen yakalanabilir. Semptomatik hastalar halsizlik, yorgunluk, subfebril ateşler ve kilo kaybından yakınabilir (170-172, 174). Splenomegaliye bağlı olarak sol üst kadranda ağrısı, erken doyumluk hissi olabilir. Splenomegali fizik muayenenin değişmez bulgusudur; bazen masif boyutlarda olabilir (170, 174). Hafif hepatomegali sıkça görülür; lenfadenomegali beklenmez.

Fluoresan in situ hibridizasyon yöntemi ile abl ve bcr lokusları için problemler kullanılarak t(9;22) translokasyonu saptanabilir. Ayrıca, bcr/abl füzyon geni real time-polimeraz zincir reaksiyonu ile (RT-PCR) gösterilebilir (172). Bu testler özellikle Philadelphia kromozomunun standart sitogenetik yöntemlerle tespit edilemediği durumlarda tanıya yardımcıdır (1). Tedavi veya transplantasyon sonrası rezidüel hastalığı izlemek için de yine moleküler yöntemlerden yararlanılır.

KML kronik, akselere ve blastik olmak üzere 3 klinik faza ayrılır. Olguların büyük çoğunluğu (> % 85) kronik fazda tanı almaktadır (1). Hastaların yaklaşık % 30'u tanı anında asemptomatik olup, rutin medikal incelemeler sırasında rastlantısal olarak saptanmaktadır (172). Semptomatik hasta grubunda ise yakınmalar spesifik olmayıp, yavaş gelişim göstermektedir (175).

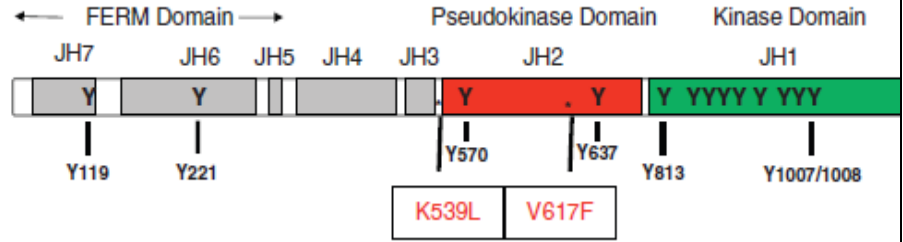
KML tedavisi, geçmişte interferon, allo-HKHN temelli rejimler ve hidroksiüre, busulfan gibi diğer konvansiyonel kemoterapiler şeklinde iken, bir BCR-ABL tirozin kinaz inhibitörü olan imatinib mesilatın kullanıma girmesi ile tamamen değişim göstermiştir (1). Günümüzde imatinib (direnci vakalarda nilotinib ve dasatinib), kronik fazdaki tüm KML olgularının başlangıç sitoreduksiyon tedavi seçeneğidir.

2.4. JANUS KİNAZ VE SİNYAL İLETİMİ:

Janus Kinaz: Janus kinaz (JAK) ailesi, JAK-STAT yolağı ile, sitokin ve büyüme faktörlerinin hücre içi sinyallerinin iletimini sağlayan bir tirozin kinaz grubudur. Bu yolaktaki yardımcı transkripsiyon faktörleri de STAT'lar (Signal Transducers and Activators of Transcription) olarak bilinir (176). Proliferasyon, büyüme, hematopoez ve immün yanıt gibi bir dizi hücrel fonksiyonlarının yerine getirilmesinde JAK-STAT yolağı rol alır (176). JAK ailesi; JAK1, JAK2, JAK3 ve Tirozin kinaz 2 (TYK2) olmak üzere dört üyeden oluşur (176). STAT ailesi ise, STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b ve STAT6 olmak üzere 7 üyeden oluşur (176, 177). JAK1 ve JAK2 tip II interferon (IFN- γ) sinyal yolunda rol alırken, JAK1 ve TYK2 tip I IFN sinyallenmesi ile ilişkilidir (178). TYK 2 “natural killer” fonksiyonlarına aracılık eder (179).

JAK'ların yapısında birbirine benzer, iki fosfat transfer edici bölge vardır. Bu iki bölgeden biri kinaz aktivitesi gösterirken, diğeri de bu kinaz aktivitesini negatif yönde regüle eder (180). JAK'lar 120-140 kDa büyüklüğünde olup, Janus homoloji domain 1-7 (JH 1-7) olarak adlandırılan yedi bölge ihtiva ederler (Şekil 1). JH1 JAK'ın enzimatik aktivitesi için önemli olan kinaz domaini olup, JAK aktivasyonu için gerekli tirozinleri (örneğin; JAK1'de Y1038/Y1039, JAK2'de Y1007/Y1008, JAK3'de Y980/Y981 ve TYK2'de Y1054/Y1055) ihtiva eder. Dolayısıyla bir tirozin kinazın klasik özelliklerine sahiptir (176, 180). Bu tirozin çiftlerinin fosforilasyonu JAK proteininde yapısal farklılaşmalara yol açarak substratın bağlanmasını kolaylaştırır. JH2 tirozin kinaza benzer yapıdaki psödokinaz bölgesidir (176, 180, 181). JH2, JH1'in aktivitesini düzenlemede görev alan, normal bir kinaz aktivitesi için gerekli olan, fakat enzimatik aktivitesi bulunmayan kısımdır. V617, JH2'de yer alır (Şekil-1) (182). JAK'ların JH3-JH4 alanı Src-homoloji-2 (SH2) alanları ile benzerlik göstermektedir. Amino terminal uç (NH2) olan JH4-JH7 ise FERM bölgesi olarak adlandırılır (4.1, ezrin, radixin, moesin). JAK'ların sitokin reseptörleri ve diğerk kinazlar ile olan ilişkilerinde rol alır (182). Bu protein, fokal adezyon kinaz (FAK) ailesine de üyedir (181, 182).

Şekil 1: JANUS Homoloji Bölgesinin Yapısı (JH1-7)



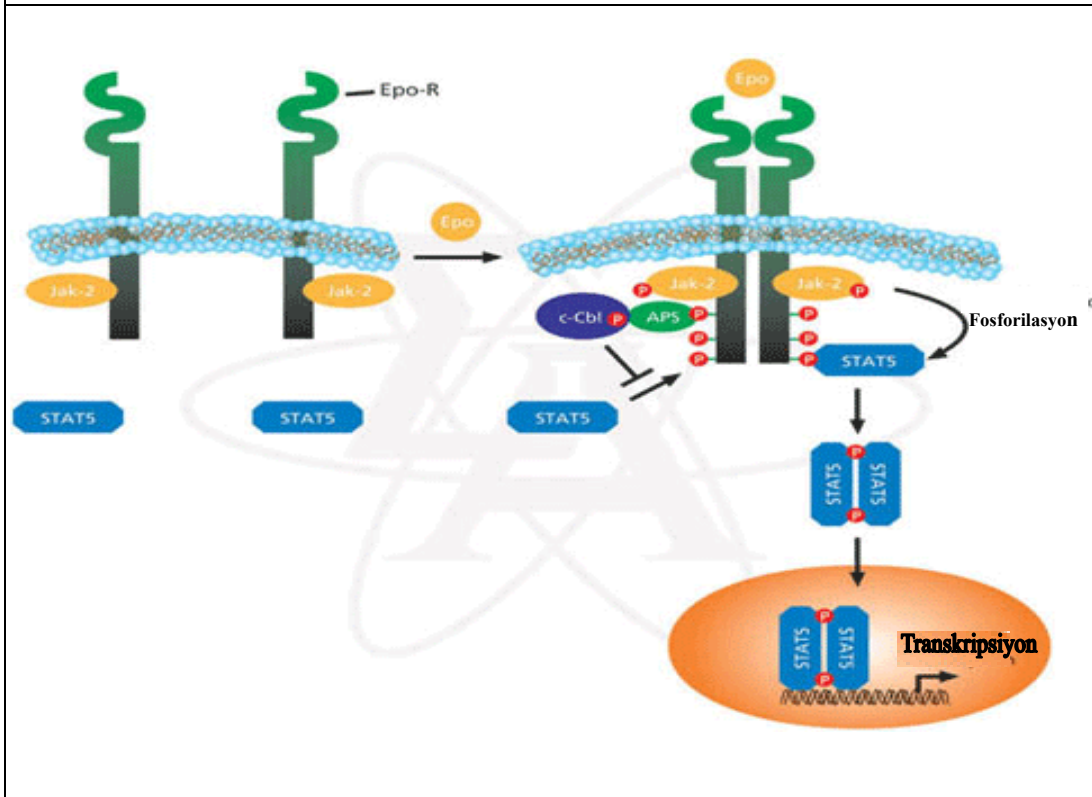
2.4.1. SİNYAL İLETİMİ:

JAK-STAT sinyal ileti sistemi, sitokinlere ve büyüme faktörlerine hücresel yanıtın düzenlenmesinde görev alarak, gen ekspresyonunu modifiye eder. Aktive STAT proteinleri, ekstrasellüler polipeptidlerde taşınan sinyallerin dönüşümünü ve hücre çekirdeğine iletilmesine olanak tanır (183). JAK-STAT yolağı hematopoiez için son derece önemlidir (183). Hücrelerdeki proliferasyon, diferansiyasyon, ve apoptozun düzenlenmesini sağlar (183).

Her reseptör, kendi ligandı (sitokin) ile bağlandığında, her iki JAK alanını birbirlerini fosforile edecek şekilde yakınlaştıran bir yapısal değişime uğrar. Ligandın reseptöre bağlanması kinaz aktivitesinde artışa sebep olur (183). Bu sayede tirozin rezidivleri fosforile olur ve reseptörde SH2 domain (fosfotirozin bağlanma bölgesi) bulunduran proteinlerle etkileşime girebilecek bölgeler ortaya çıkar. Bu fosfotirozin rezidivlerine bağlanabilen, SH2 domaine sahip olan STAT'lar reseptörde birikir ve bunlar da JAK'lar tarafından tirozin-fosforilasyona uğrar (183). Farklı STAT'lar üzerine eklendikçe hetero ve homodimerler meydana gelir. Aktive olan dimerler hücre çekirdeğinde birikerek hedef genlerin transkripsiyonunun aktivasyonuna yol açar (Şekil 2). STAT'ların direkt olarak reseptör tirozin kinazları tarafından tirozin-fosforillenmesi (örneğin epidermal growth faktör reseptörü) ve hatta reseptör dışı tirozin kinazlarla fosforillenmesi (örneğin c-src) de olasıdır (183).

JAK-STAT yolağı birden çok farklı aşamada negatif yönde regüle edilir. Protein tirozin fosfatazlar, sitokin reseptörlerinden, ve aktive STAT'lerden fosfatları ayırır (183). SOCS (Suppressors of Cytokine Signaling) sistemi JAK'ları bağlayarak, ya da STAT'lar ile reseptör bağlanma bölgeleri için yarışarak STAT fosforilasyonunu inhibe eder (184). STAT'ların, PIAS (Protein Inhibitors of Activated STATs) isimli negatif regülatörlerle hücre çekirdeği içinde inhibisyonu da olasıdır (185). Kısaca JAK otofosforilasyonu kendi içinde bir yapısal değişimi indükler ve daha ileri basamaklardaki transkripsiyon faktörlerinin (STAT'lar) fosforilasyonuna yol açarak aktive eder (183). Aktive STAT'lar reseptörden ayrılır ve hücre çekirdeğine gidip belirlenmiş genlerin transkripsiyonunu düzenler. JAK/STAT sinyal ileti yollarını kullanan moleküllere örnek olarak (183): Koloni uyarıcı büyüme faktörleri, prolaktin, büyüme hormonu ve birçok sitokin verilebilir.

Şekil 2: JAK2-STAT5 Sinyal İletim Sistemi (<http://www.sigmaaldrich.com/life-science/cell-biology/learning-center/pathway-slides-and/the-jak-stat-signaling-pathway.html>'den alınmıştır)



Dokuzuncu kromozomun kısa kolunda (9p) bulunan sitoplazmik tirozin kinaz Janus kinaz 2 (JAK2) genine yönelik bazı çalışmalarda MPH'lerde hematopoietik

progenitör hücrelerin büyüme faktörleri ve diğer sitokinlere olan hipersensitivitesini açıklayabilmektedir (186-190). Bir fare modelinde; JAK2 genindeki bir mutasyonun sürekli tirozin fosforilasyon aktivitesine yol açarak sitokinlere aşırı duyarlılığa yol açtığı ve eritrositozu indüklediği gösterilmiştir (186).

JAK2 mutasyonu mevcut olduğunda miyeloid ve eritroid hücrelerde oldukça belirgindir. Bunun tersine B hücresi, T hücresi ve NK hücresi serilerinde mutasyon varlığı ise halen bir tartışılmaktadır (191-194). 115 MPH tanısı olan hastanın dahil edildiği bir çalışmada JAK2 mutasyonu trombositlerde granulositlerden kısmen daha yüksek saptanmıştır (195).

Bu mutasyon JAK2 geninin exon 14'ündeki fenilalanin ile JH2 veya psödokinaz domainin 617. pozisyonunda gizlenmiş olan valinin yer değişimine yol açar (Val617Phe, V617F). Bu mutasyon ise kinaz domainini negatif regüle ederek Epo reseptör sinyalizasyonunda rol alan JAK-STAT ve diğer yolların sitokinden bağımsız bir şekilde aktivasyonuna sebep olur (196). JAK2'deki bu fonksiyon kazanımlı nokta mutasyon (V617F) PV hastalarının % 95-97'sinde, ET hastalarının % 23-75'inde, PMF hastalarının % 43-57'sinde gösterilmiştir (187, 196-199). Mutasyonun Epo'dan bağımsız çoğalan eritroid kolonilerde bulunması büyüme faktörü aşırı duyarlılığı ile ilişkisini ortaya koymaktadır (200). JAK2 V617F mutasyonunun diğer kronik miyeloid bozukluklarda (KML, MDS, kronik miyelomonositik lösemi, sistemik mastositoz, kronik nötrofilik lösemi vb) çok sık olmamakla birlikte, MPH sonrası ortaya çıkan AML hastalarında bulunabilmesi mutasyon ile klasik BCR/ABL negatif MPH'lar arasında spesifik bir bağlantıya işaret eder (201-205). Sonuç olarak bu mutasyonun varlığı veya yokluğunun gösterilmesi PV ile sekonder polisitemi, ET ile reaktif trombositoz (RT) ayırıcı tanısı yapılabilmektedir (206) ayrıca bu mutasyonun varlığı veya yokluğu tedavi sürecinde minimal residüel hastalığı ölçmek için bir belirteçtir (207). Hastalarda trombotik riski değerlendirmede bu mutasyonun varlığı yardımcı olabilir (208). Disregüle tirozin kinaz aktivitesinin varlığı ise bu grup hastalıklar için tirozin kinaz inhibitörü moleküllerin (209-214) KML ve diğer malignansilerde olduğu gibi tedavide kullanıma girebileceğini düşündürür.

JAK2 V617F mutasyonu transkripsiyon faktörlerinden stat ailesinin aktivasyonuna yol açar. İn vivo ve in vitro çalışmalarda STAT5A ve STAT5B sisteminin aktive olması JAK2 V617F mutasyonu olmasına bağlıdır (215). Aktifleşen STAT5'ler insan hematopoietik progenitör hücrelerde BCL-XL genini hedefler. Bu sayede apoptozis inhibe edilir ve klonal proliferasyon ortaya çıkar (215).

3. GEREÇ VE YÖNTEM:

Bu çalışma kapsamında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Ünitesi'nde Eylül 2005 ile Ekim 2009 tarihleri arasında ET tanısı ile tanı, takip ve tedavisi yapılan 113 hastanın dosya kayıtları retrospektif olarak incelendi. Bu hastaların kayıtlarının incelenmesinde yirmiüç hastanın dosyası yeterli bilgi ve veri içermemesi nedeniyle çalışmadan çıkartıldı. Çalışmaya 90 vaka dahil edildi. Bu hastaların 31'i erkek, 59'u kadın olup yaşları 20-81 arasında bulunmaktaydı.

Retrospektif bir çalışma olarak planlandı. Yeterli veri olan hastaların dosyaları standart bir forma kaydedildi. Üniversite etik komisyonunun onayı alındı (2009 yılı; 2850 no'lu karar).

Hasta dosyaları retrospektif olarak değerlendirildi. Hastalar için ortak bir form hazırlandı. Bu formda hastayı tanımlayan bilgiler (adı, soyadı, yaşı, cinsiyeti, özgeçmişi ve soygeçmişi) bulunmaktadır. Hastalarda ulaşılan tanılar (KML, PV, MF, ET) DSÖ 2008 kriterleri göz önüne alınarak değerlendirilmiş olup ET kriterlerini tutan hastalar bu çalışmaya alındı. Standart klinik ve laboratuvar özellikler yanında tanıya ulaşmada kullanılan hematolojik, histopatolojik, biyokimyasal, radyodiagnostik, nükleer tıp incelemeler dosyadaki bilgilerinden aranarak titizlikle kaydedildi. Hastaların hastalık süresi, ilave hastalıkları (kanser, diabetes mellitus, kollajen doku hastalıkları, kronik böbrek hastalığı ve karaciğer hastalığı vb.) kaydedildi. Kanama ve tromboz komplikasyonları anında, tedavinin 6. Ayında ve takip sürecinde en son kan sayımı değerleri kaydedildi. Hastaların dosya kayıtları, ET tanısı konmadan önce, tanı anında ve klinik seyri sırasında ortaya çıkan arteriyel, venöz trombotik ve kanamalı komplikasyonlar yönünden öykü, fizik muayene,

klirik, laboratuvar bulguları ve görüntüleme metodları ile detaylı bir şekilde incelendi. Arteriyel trombotik komplikasyonlar 7 grupta incelendi: 1. Serebrovasküler olaylar, Transient iskemik atak, 2. Akut koroner sendrom grubu (stabil anjina pektoris, unstabil anjina pektoris, non-Q myokard enfarktüsü, ST elevasyonlu myokard enfarktüsü), 3. periferik arteriyel hastalık, 4. Splenik enfarkt, 5. Hepatik enfarkt, 6. Mezenterik emboli, 7. Diğer . Venöz trombotik olaylar ise 6 grupta incelendi: 1. Derin ven trombozu, pulmoner emboli, 2. Portal splenik tromboz, 3. Mezenterik ven trombozu, 4. Budd-chiari sendromu, 5. Oküler ven trombozu, 6. Diğer. Kanamalı olaylar da 6 gruba ayrılmıştır: 1. Epistaksis, cilt ve mukozal kanama, 2. Hematüri, 3. Gastrointestinal sistem kanaması, 4. Hemorajik inme, 5. Hemoptizi, 6. Diğer. Kanama ve trombotik olayların lokalizasyonları, klinik özellikleri ve ortaya çıkış zamanları (tanı öncesinde, tanı anında, takip sürecinde) belirlendi. Kanama ve trombotik komplikasyonların trombosit sayısı, lökosit sayısı, hemoglobin ve hematokrit değerleri, yaş, cinsiyet ve JAK-2 V617F mutasyonu ile ilişkisi incelendi. Trombotik olaylara katkıda bulunabilecek risk faktörleri (hipertansiyon, diabetes mellitus, sigara kullanımı, LDL, HDL, trigliserit düzeyleri) araştırıldı.

Hastalarda, abdominal ultrasonografik görüntülemeye, karaciğer ve dalak uzun aksının 130 mm'den fazla olması hepatomegali ve splenomegali olarak değerlendirildi (216). Hastaların yapılan kemik iliği biyopsi raporlarında sellülarite, myeloid/eritroid seri oranı, kollajen fibrozis varlığı, retikülin fibrozis varlığı, megakaryosit, myeloid ve eritroid hücrelerin sayısı; varsa megakaryositlerin nükleus özellikleri (hipolobülasyon, hiperlobülasyon), hücresel displaziler, maturasyon defektleri, demir depoları kaydedildi. ET hastalarında uzun dönemde gelişebilen (akut lösemi ve myelofibrozis) komplikasyonların varlığı ve varsa mortalite dosyadan alındı. Myelofibrozis varlığı, kemik iliği biyopsi materyali incelemesinde 100 x büyütmede her alanda retikülin liflerinin varlığı ile değerlendirildi (169). Akut lösemi varlığı ise, kemik iliği veya periferik kanda blast oranının % 20'nin üzerinde olması şeklinde tanımlandı (217, 218).

Hastalar düşük, orta ve yüksek risk gruplarına (yaş, tromboz öyküsü ve trombosit sayısı) ayrıldı. Risk grupları arasında kanama ve tromboz komplikasyonlarının gelişimi ve JAK-2 V617F mutasyonu varlığı değerlendirildi.

JAK-2 V617F mutasyonunun yaş, cinsiyet, hemoglobin, hematokrit, LDH, MCV, MPV, trombosit sayısı, lökosit sayısı, sedim, CRP splenomegali ve hepatomegali, kemik iliği bulguları, kanama ve tromboz komplikasyonları ile olan ilişkisi istatistiksel analizle incelendi.

3.1. JAK2 GENİ V617F MUTASYONUNUN SAPTANMASI:

Hastalardan EDTA'lı tüpte kan alınır. 5 mikroL DNA elde edilir (yaklaşık 10 sn 10.000 rpm'de tüp altında kalan materyal). Bu DNA 5 ng/mikroL su içinde dilue edilir. Sonrasında JAK2 MutaScreen™ Kit'i (Ipsogen France) kullanılmıştır. Premix RQ-PCR komponenti elde etmek için: 1. TaqMan® Universal PCR Master Mix 2X (real-time PCR) 12.5µL 1 reaksiyon için konulur. 2. IPSOGEN Primers & Probes mix 10X 2.5µl 1 reaksiyon için 3. 20 µl'ye tamamlayacak kadar nükleazsız 5µL H2O konulur. 4. 5 µL DNA örneğinde konulup bu 4 komponent karıştırılır ve RQ-PCR komponenti oluşturulur. Bu komponent termal cyclerde yerleştirilir ve amplifikasyona başlanır. Sırasıyla: 50° 2 dakika 1 siklus; 95° 10 dakika 1 siklus; 92° 15 saniye sonrasında 60° 1 dakika 50 siklus yapılır. Bilgisayar yoluyla pozitif kontrol, negatif kontrol ve referans örneklerle kıyaslanarak mutasyonunun olup olmadığı belirtilir.

3.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ:

Veriler SPSS 15.0 (Statistical Package for Social Science) programı ile bilgisayar ortamına aktarıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile test edildi. Normal dağılan değişkenler için t testi veya tek yönlü varyans analizi; normal dağılım göstermeyen değişkenler içinse Mann Whitney U testi veya Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki Kare veya Fisher's exact test kullanıldı. Anlamlılık düzeyi 0,05 olarak alındı. Veriler ortalama ± standart sapma, (Alt Değer-Üst Değer) ve yüzde olarak sunuldu.

4. BULGULAR:

Çalışmaya, BCR/ABL negatif kronik myeloproliferatif hastalığı olan 90 ET hastası alındı. Tüm hastalar Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tanısal kriterlerine göre ET tanısı almışlardı.

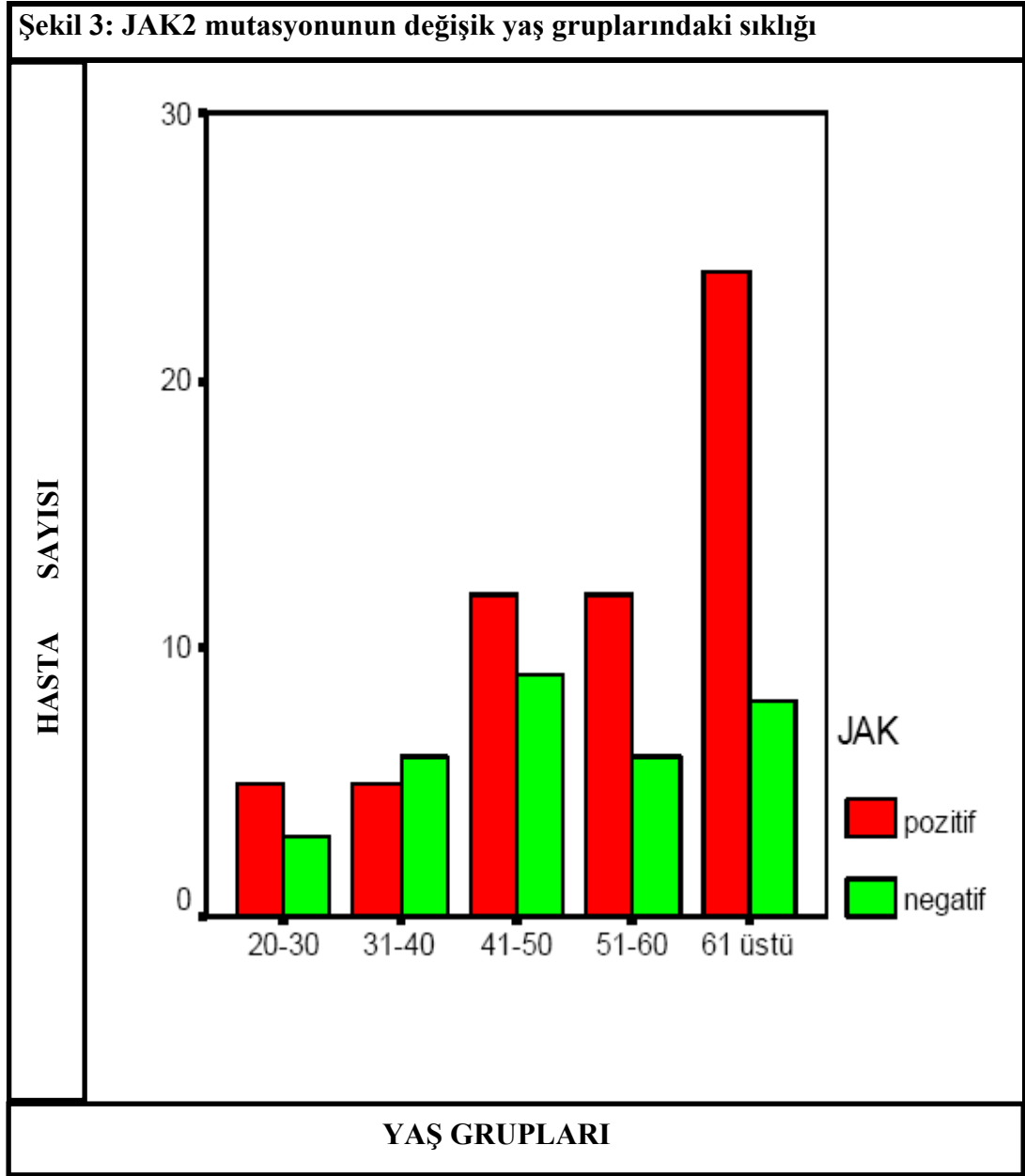
Bu çalışma kapsamında değerlendirilen 90 ET tanısı almış olan hastalardan 31'i (% 34.4) erkek, 59'u (% 65,6) kadındı. ET'li hastaların genel yaş ortalamasının 53 (20-81) yıl olduğu saptandı.

Tüm ET'li hastaların tanı konulduğu sırada yaş, hemoglobin, hematokrit, trombosit, lökosit, LDL, HDL ve Trigliserit değerleri toplu olarak Tablo 10'da verildi.

Tablo 10: ET'li Hastaların Tanı Anındaki Özellikleri	
	Hastalar (n=90)
Cinsiyet (kadın/erkek)	59/31
Yaş (Yıl)	53±15
Hb (gr/dl)	13.7±1.7
MCV (fL)	83±5
Lökosit sayısı (/mm³)	11.400±5.243
Trombosit sayısı (/mm³)	900.611±379.930
LDL (mg/dl)	110±32
HDL (mg/dl)	46±11.5
Trigliserit (mg/dl)	149±71

JAK2 V617F mutasyonunun ET'li hastaların % 64.4'ünde (58 kişide) pozitif olduğu; % 35.6'sında (32 kişide) negatif olduğu tespit edildi. JAK2 mutasyonu pozitif 58 kişiden 39'ü bayan (% 67.2), 19'u erkekti (% 32.8). JAK2 mutasyonu negatif olan 32 kişiden 20'si bayan (% 62.5), 12'si erkekti (% 37.5). Kadın ve erkek cinsiyeti arasında periferik kan lökositlerinde JAK2 V617F mutasyonu varlığı açısından anlamlı fark yoktu (p=0.825).

Tüm hastalar (N=90) tanı yaşı ve JAK2 V617F mutasyonu varlığı açısından karşılaştırıldığında, ileri yaş hastalarda mutasyon daha sık saptandı ($p=0.049$). Yaş gruplarına ayrıldığında ileri yaş grubunda mutasyonun belirgin arttığı gösterildi (Şekil 3).



Hastaların ortalama hastalık süresi 45.5 (3-209) aydı. JAK2 mutasyonu olanların ortalama hastalık süresi 39.8 ayken; mutasyonu olmayanların hastalık süresi 55.9 ay olup arada anlamlı fark vardı ($p=0.024$).

Hastalarda tanı anında JAK2 V617F mutasyonu olanlarda hemoglobin ve beyaz küre sayısı mutasyonu negatif olanlara göre anlamlı düzeyde yüksekti ($p=0.005$; $p=0.025$). Lökosit sayısı $> 10.000/\mu\text{L}$ ve $\leq 10.000/\mu\text{L}$ diye gruplandığında; JAK2 pozitif 58 hastanın 35'inde (% 60.3), negatif olan 32 hastanın 10'unda (% 31.25) $10.000/\mu\text{L}$ 'nin üzerinde lökosit saptandı ($p=0.015$). Lökosit sınırı $15.000/\mu\text{L}$ 'nin üzerinde olan 14 hastanın 12'sinde (% 13.3) mutasyon varken 2'sinde (% 2.22) mutasyon yoktu ($p=0.023$). Ancak trombosit sayıları arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.058$). Tüm hastaların tanı anındaki trombositoz mevcudiyeti ile ($\geq 1.000.000/\mu\text{L}$) JAK2 V617F mutasyonu arasında anlamlı ilişki yoktu ($p=0.957$).

90 ET'li hastanın 33'ünde (% 36.6) splenomegali, 21'inde (% 23.3) hepatomegali mevcuttu. JAK2 pozitif olan 58 hastanın 28'inde (% 48.2) splenomegali, 16'sında (% 27.5) hepatomegali varken; JAK2 negatif olan 32 hastanın sadece 8'inde (% 25) splenomegali, 6'sında (% 21.4) hepatomegali vardı. Ancak gruplar arasında fark saptanmadı ($P=0.140/p=0.306$). Splenomegalisi olan 33 hastanın 14'ü tromboz geçirmiş olup ortalama dalak vertikal boyutu 170.64 mm iken kalan 19 hasta tromboz geçirmeyip dalak vertikal boyutu 144.35 mm'idi ($p=0.010$). Splenomegalisi olan ve vertikal boyutu daha büyük olan hastalarda anlamlı derecede tromboz sıklığı JAK2 mutasyonu varlığı ile hastaların lipid parametreleri arasında (LDL, HDL, TG) fark yoktu ($p=0.742/p=0.633/p=0.859$). JAK2 pozitif grupta hipertansiyon belirgin olarak fazlayken ($p=0.037$); sigara kullanımı açısından gruplar arasında fark yoktu ($p=0.922$). ET'li olguların laboratuvar bulguların JAK2 mutasyonu varlığı ile ilişkisi Tablo 11'de özetlendi.

Tablo 11: JAK2 pozitif/negatif grubun kıyaslanması			
	JAK2 V617F (+) (N=58)	JAK2 V617F (-) (N=32)	P değeri
Yaş (Yıl)	55.7±15.5	49.1±14.3	p =0.049
Cinsiyet (E/K)	19/39	12/20	p =0.825
Hastalık süresi (ay)	39.8±28.9	55.9±36.8	p =0.024
Lökosit (/mm3)	12.317±4935	9737±5452	p =0.025
Hemoglobin (gr/dl)	14.05±1.58	13.05±1.57	p =0.005
Hematokrit (%)	42.12±4.89	38.22±4.71	p <0.001
Trombosit (/mm3)	880.431±415.144	937.187±308.837	p =0.058
MCV (fL)	81±8	86±8	p =0.019
MPV (fL)	7.8	7.0	p <0.001
Splenomegali	28/58	8/32	p =0.140
Hepatomegali	16/58	6/28	p =0.306
LDL (mg/dl)	111±34	108±29	p=0.742
HDL (mg/dl)	45±10	46±14	p=0.633
TG (mg/dl)	148±70	151±76	p=0.859
Sigara kullanımı	9/58 (%15.5)	6/32 (% 18.75)	p=0.922
Hipertansiyon	29/58 (% 50)	8/32 (%25)	p=0.037

ET'li hastaların kemik iliği bulguları arasında en önemlilerinden biri megakaryosit sayısında artış olmasıdır. Bizim hastalarımızın hepsinde kemik iliğinde megakaryosit sayısı artmış olup % 54'ü JAK2 pozitifdi. Sellülarite % 44.5 vakada artmış iken % 55.5 vakada sellülarite normal olarak değerlendirilmiştir. Myeloid eritroid seri oranı vakaların % 65,1'i normal, % 28,6'sında hafif artmış, % 6,3'ünde artmıştı, JAK2 mutasyonuna göre myeloid/eritroid seri oranı grupları arasında fark yoktu (p=0.349). Retikulin içeriği % 30.1 vakada hafif artmış olarak tespit edildi. Bazı patoloji raporlarında multilobule nükleuslu ve matür sitoplazmalı büyümüş megakaryositler ve sinüsler boyunca uzanan küçük gruplar halinde kümeler oluşturma eğiliminde

olan megakaryositler gibi tipik ET'yi tanımlayan biyopsi değerlendirmesi yapılmadığı görüldü. Tablo 12'de kemik iliği bulguları özetlendi.

Tablo 12: Kemik iliği bulguları			
PARAMETRELER	NORMAL	HAFİF ARTMIŞ	ARTMIŞ
Sellülarite	55.5(31.7/23.8)	3.2(1.6/1.6)	41.3(28.6/12.7)
Megakaryosit sayısı	0	0	100(54/46)
Miyeloid/eritroid seri oranı	65.1(39.7/25.4)	28.6 (19/9.6)	6.3(3.15/3.15)
Retikulin içeriği	69.9 (41.3/28.6)	30.1(20.6/9.5)	0
(Tüm değerler yüzde olarak bildirildi.Parantez içindekiler sırasıyla JAK2 +/- grup içindeki yüzdeleri belirtildi.)			

ET tanısı ile takip edilen 90 hastanın 23'ünde (% 25.5) arteriyel tromboz gelişmişti. JAK2 pozitif olan 58 hastadan 17'sinde (% 29.3); JAK2 negatif olan hastaların 32 hastanın 6'sında (% 18.8) arteriyel tromboz gelişmişti. Ancak JAK2 V617F mutasyonu varlığı ile arteriyel tromboz arasında anlamlı ilişki bulunmadı (P=0,397). JAK2 pozitif hastaların 8'inde geçici iskemik atak (TİA) (% 13.8), 2'sinde iskemik SVO (% 3.4); 5 hasta koroner sendrom(stabil anjina pektoris, unstabil anjina pektoris, non-Q MI, ST elevasyonlu MI) (% 8.6); 1 hastada periferik arteriyel hastalık (% 1.7); 1 hastada splenik enfarkt (% 1.7) vardı. JAK2 negatif olan hastaların 2'si geçici iskemik atak(TİA) (% 6.3), 1'inde iskemik SVO (% 3.1); 2 hastada koroner sendrom(stabil anjina pektoris, unstabil anjina pektoris, non-Q MI, ST elevasyonlu MI) (% 6.3); 1 hasta ise splenik enfarkt (% 3.1) geçirmişti.

ET'li hastaların arteriyel tromboz geçirme zamanlarına göre hastalar 3 grupta incelendi. JAK2 pozitif olan hastaların 7'si TİA ve iskemik SVO'yu, 1'i koroner sendromu tanıdan önce geçirmişti. TİA ve SVO geçiren hastalar atağı tanıdan ortalama 34(9-84) ay önce geçirmişti. Koroner sendrom ise tanıdan 1 ay önce geçirmişti. JAK2 negatif olan grupta ise 1 kişi tanıdan önce (7 ay önce) koroner

sendrom geçirmişti. JAK2 pozitif olan grupta 1 kişi iskemik SVO, 1 kişi AMI, 1 kişi periferik arteriyel hastalık, 1 kişi de splenik enfarkt tanı anında geçirmişti. JAK2 negatif olan grupta ise sadece 1 kişi tanı anında TİA geçirmişti. Tanı konulduktan sonra JAK2 mutasyonu olanlarda 2 hastada SVO, TİA; 2 kişide ise koroner sendrom görülmüştü. Takip sürecinde JAK2 negatif olan 2 hasta SVO, TİA; 1 hasta koroner sendrom, 1 hasta splenik enfarkt geçirmişti. Zaman açısından gruplar arasında fark yoktu (P=0.242/P=0.431). Bu bulgular Tablo 13'te özetlenmiştir.

Tablo 13: JAK2 mutasyonuna göre arteriyel trombozların zamanlaması					
JAK2 MUTASYONU	ARTERYEL TROMBOZ YERİ	ARTERYEL TROMBOZ ZAMANI			N
		TANIDAN ÖNCE	TANI ANINDA	TANIDAN SONRA	
POZİTİF	SVO, TİA	7	1	2	10
	KORONER SENDROM	1	1	3	5
	PERİFERİK ARTERYEL HASTALIK	0	1	0	1
	SPLENİK ENFARKT	0	1	0	1
NEGATİF	SVO, TİA	0	1	2	3
	KORONER SENDROM	1	0	1	2
	SPLENİK ENFARKT	0	0	1	1

Arteriyel trombozu etkileyebilecek diğer nedenlere bakıldığında JAK2 pozitif olan grupta esansiyel hipertansiyon TİA ve iskemik SVO geçiren 10 hastanın 8'inde vardı. Koroner sendrom geçiren 5 hastanın 3'ünde hipertansiyon vardı. Periferik arteriyel hastalık geçiren hastada da hipertansiyon mevcuttu. JAK2 pozitif arteriyel olay geçiren hastalarda; hipertansiyon varlığı ile arteriyel tromboz arasında anlamlı ilişki mevcuttu (P=0.031). JAK2 negatif olan grupta esansiyel hipertansiyon TİA ve iskemik SVO geçiren 3 hastanın 2'inde vardı. Koroner sendrom geçiren 2 hastanın 2'sinde hipertansiyon vardı. JAK2 negatif arteriyel olay geçiren hastalarda; hipertansiyon varlığı ile arteriyel tromboz arasında anlamlı ilişki mevcuttu (P=0.020). Diabetes mellitus'un varlığı ile JAK2 pozitif ve negatif grupta arteriyel tromboz meydana gelmesi arasında anlamlı bir ilişki yoktu (P=0.951/ P=0.835). Sigara

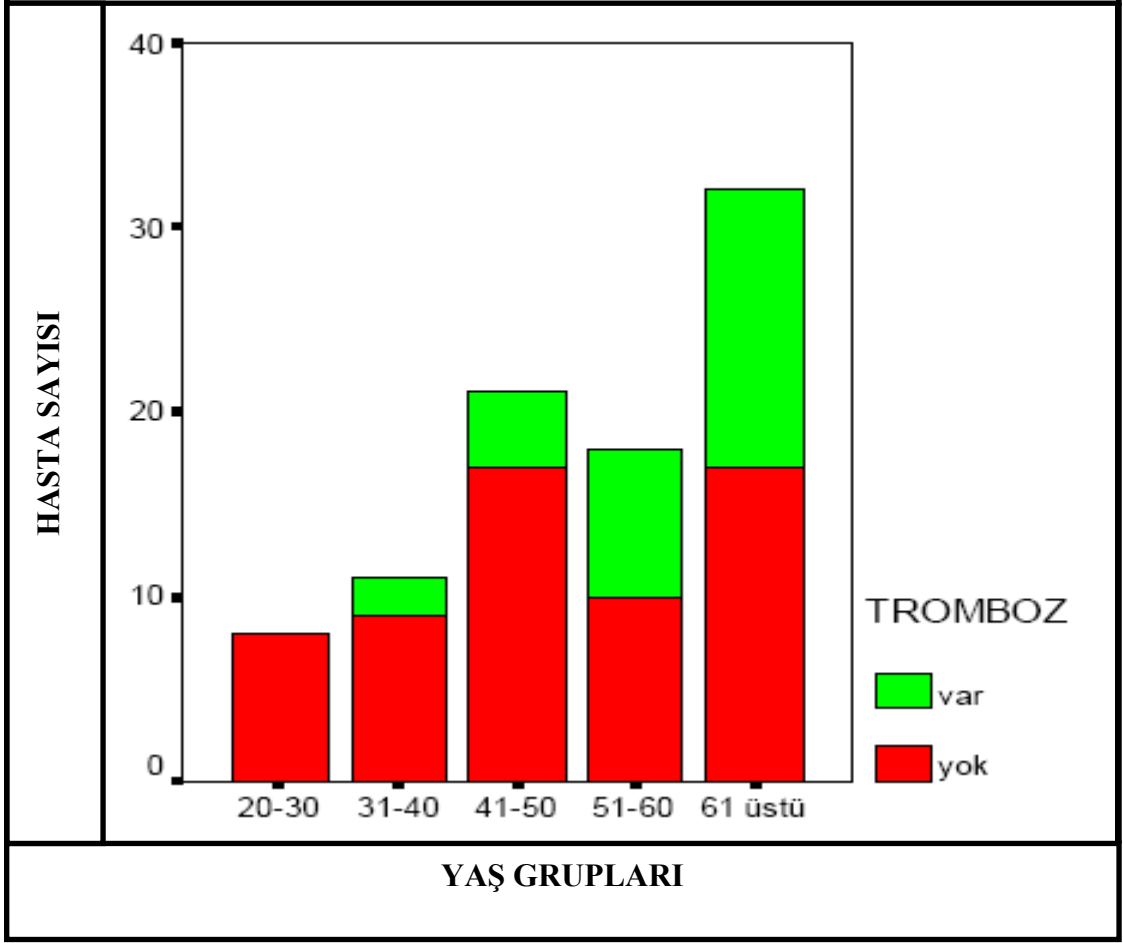
kullanımının JAK2 pozitif ve negatif grupta arteriyel tromboz meydana gelmesi ile olan ilişkisi incelendiğinde sadece JAK2 pozitif koroner sendrom grubunda 5 hastadan 3'ünün sigara kullandığı; TİA ve iskemik SVO geçiren 10 hastanın 2'sinin sigara kullandığı; periferik arter hastalığı olan 1 kişinin de sigara içtiği tespit edildi. JAK2 negatif grupta iskemik SVO ve TİA geçiren 3 hastanın hiçbirinin sigara kullanmadığı; koroner sendrom geçiren 2 hastanın sadece 1'inin sigara kullandığı tespit edildi. JAK2 mutasyonu olan hastalarda arteriyel tromboz ile sigara kullanımı arasında anlamlı ilişki varken mutasyonu olmayan grupta yoktu ($p=0.018/p=0.122$). Alkol kullanımı sadece bir hastada olduğu için çalışmada değerlendirilmedi. 60 yaş ve üzerinde olan JAK2 pozitif olan 26 hastanın 11'inde (% 42.3) arteriyel olay varken; 60 yaş altında olup JAK2 pozitif olan 32 hastanın 6'sında (% 18.75) arteriyel olay vardı. JAK2 mutasyonu olanlarda 60 yaş ve üzeri grupla 60 yaş altı grup arasında arteriyel olaylarda farklılık yoktu ($p=0.113$). 60 yaş ve üzerinde olan JAK2 negatif olan 10 hastanın 4'ünde (% 40) arteriyel olay varken; 60 yaş altında olup JAK2 negatif olan 22 hastanın 2'sinde (% 9.09) arteriyel olay vardı. JAK2 mutasyonu olmayanlarda 60 yaş ve üzeri grupta arteriyel olaylar belirgin fazlaydı ($p=0.049$).

Venöz trombozu 90 kişiden sadece 8 kişi (% 8.9) geçirmişti. Bu 8 kişinin JAK2 mutasyonu 5'inde (% 8.6) pozitifken, 3'ünde (% 9.3) negatifti. JAK2 pozitif ve negatif gruplar arasında venöz tromboz varlığı açısından anlamlı fark yoktu ($p=1.000$). JAK2 mutasyonu olan 2 kişide ET tanısı konmadan önce derin ven trombozu öyküsü varken; JAK2 mutasyonu olmayan 2 kişide ET tanısı konmadan önce derin ven trombozu, 1 kişide portal splenik tromboz vardı. JAK2 negatif olan grupta ET tanısı anında ve tanı sonrasında venöz tromboz yoktu. JAK2 pozitif olanlarda ise tanı anında 1 kişide portal splenik tromboz varken; takip sürecinde 1 kişide derin ven trombozu, 1 kişide de Budd-chiari sendromu gelişmişti. Hipertansiyon, Diabetes mellitus ve yaş (≥ 60 ve ≤ 59 diye ikiye gruplandırıldığında) varlığı ile JAK2 pozitif ve negatif grupta venöz tromboz meydana gelmesi arasında anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0.160/p=0.298$; $p=0.980/p=0.939$; $p=0.065/p=0.281$). Venöz tromboz geçiren JAK2 pozitif ve negatif hastaların hiçbirinin sigara kullanmadığı tespit edildi. JAK2 mutasyonuna göre venöz tromboz olaylarının zamanlaması Tablo 14'de gösterilmiştir.

Tablo 14: JAK2 mutasyonuna göre venöz trombozların zamanlaması					
JAK2 MUTASYONU	VENÖZ TROMBOZ YERİ	VENÖZ TROMBOZ ZAMANI			N
		TANIDAN ÖNCE	TANI ANINDA	TANIDAN SONRA	
POZİTİF	DVT, PTE	2	0	1	3
	PORTAL TROMBOZ	0	1	0	1
	BUDD- CHİARİ SENDROM	0	0	1	1
	DİĞER	0	0	0	0
NEGATİF	DVT, PTE	2	0	0	2
	PORTAL TROMBOZ	1	0	0	1
	DİĞER	0	0	0	0

Toplam tromboz (arteryel+venöz) geçiren 29 hasta (% 32.2) mevcuttu (2 hasta hem venöz hemde arteryel tromboz geçirmişti). Tanı konulmadan önce tromboz öyküsü olan 13 hasta (% 14.4) vardı. Tanı anında ve tanıdan sonraki süreçte 16 hastada (% 17.8) tromboz meydana gelmişti. Tanı anında 5 kişi (% 5.6) trombotik olay geçirmekteydi (bu 5 kişiden birinde lupus antikoagülanı mevcut olup tanı anında hem iskemik inme hem de portal trombüsü mevcuttu). Hastalık takip sürecinde 11 kişi (% 12.2) tromboembolik olay geçirmişti. JAK2 V617F mutasyonu olan 58 kişinin 21'inde (% 36.2); mutasyonu olmayan 32 kişinin 8'inde (% 25) tromboz meydana gelmişti ancak gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.393$). Hastalar 60 yaş altı ve 60 yaş ve üstü diye ikiye gruplandırıldığında; ileri yaş grubunda toplam trombotik olay geçiren hasta [60 yaş ve üstü grupta 36 hastanın 18'inde (%50); 60 yaş altı grupta ise 54 hastadan 11'inde (% 20.3)] sayısının anlamlı derecede fazla olduğu gösterilmiştir ($p=0.007$). İleri yaş trombotik olaylar için risk faktörüdür. Yaş gruplarına bölünerek bakıldığında tromboz görülen hastaların ileri yaş grubunda olduğu Şekil 4'de gösterildi.

Şekil 4: Yaş gruplarında tromboz geçiren hasta sayısı (hastaların yaşı arttıkça tromboz geçiren hasta sayısı artmaktadır)



Lökositöz eşik değeri 9700/mm³ kabul edildiğinde lökositozu olan hastalarda toplam tromboz geçiren hasta sayısı anlamlı derecede artmıştır (p=0.046). Tablo 15’de özetlenmiştir.

Tablo 15: Trombozu olan ve olmayan grubun kıyaslanması			
	Tromboz (+) (N=29)	Tromboz (-) (N=61)	P değeri
Yaş (Yıl)	61.52±11.8	49.52±15.47	<i>p</i> <0.001
Cinsiyet (E/K)	12/17	19/42	<i>p</i> =0.473
Hastalık süresi(ay)	57.8±38.7	39.7±27.9	<i>p</i> =0.014
JAK2(+/-)	21/8	37/24	<i>p</i> =0.393
Lökosit (/mm3)	12.872±6.243	10.700±4.587	<i>p</i> =0.066
Lökosit(>9700/mm3)	21/29	29/61	<i>p</i> =0.046
Hemoglobin (gr/dl)	13.72±1.71	13.68±1.62	<i>p</i> =0.917
Hematokrit (%)	40.73±5.63	40.74±4.96	<i>p</i> =0.993
Trombosit(/mm3)	890.827±403.502	905.262±371.572	<i>p</i> =0.867
MCV (fL)	83±8	83±9	<i>p</i> =0.675
MPV (fL)	7.4	7.6	<i>p</i> =0.345
Splenomegali	170.64±36.08	144.35±19.34	<i>p</i> =0.01
Hepatomegali	168.67±18.80	170.63±22.85	<i>p</i> =0.854
LDL (mg/dl)	111±25	109±35	<i>p</i> =0.829
HDL (mg/dl)	44±12	46±11	<i>p</i> =0.433
TG (mg/dl)	144±58	151±77	<i>p</i> =0.732
Sigara kullanımı	8/29 (% 27.6)	7/61 (%11.4)	<i>p</i> =0.107
Hipertansiyon	16/29 (% 55.1)	21/61 (% 34.4)	<i>p</i> =0.101

Hemorajik olayların sıklığına bakıldığında: 90 ET’li hastanın 22’si (% 24.4) hemorajik olay geçirmişti. 10 hasta (% 11.1) tanı öncesinde; 5 hasta (% 5.55) tanı anında; 7 hasta (% 7.77) takip sürecinde hemorajik olay geçirmişti. JAK2 pozitif olan 9 hastada ET tanısı konulmadan önce hemorajik olay tarif ediyordu. Bunlardan 1’si hematüri, 5’i gastrointestinal kanama, 1’i hemorajik SVO, 1’i cilt kanaması,

1’ide aşırı vajinal kanama şeklindeydi. JAK2 negatif olan grupta ET tanısı konulmadan önce sadece 1 hastada gastrointestinal kanama olmuştu. JAK2 pozitif olanlarda tanı anında 2 hastada epistaksis vardı; mutasyonu olmayan hastalarda ise tanı anında 1 hastada epistaksis, 1 hastada GİS kanama, 1 hastada hemoptizi vardı. Takip sürecinde ise JAK2 mutasyonu olanlarda 1 hastada epistaksis, 2 hastada gastrointestinal kanama, 1 hastada hemorajik inme, 1 hastada cilt kanaması, 1 hastada ise cerrahi sonrası kanama olduğu tespit edildi. Mutasyonu olmayan grupta ise takipte 1 hastada hemorajik inme olduğu görüldü. JAK2 pozitif olan 58 hastanın 17’sinde (%29.3), JAK2 negatif olan 32 hastanın 5’inde (% 15,6) hemorajik olay vardı ve gruplar arasında fark yoktu ($p=0.234$). Tablo 16’da hemorajik olay geçiren ve geçirmeyen grubun mukayesesi gösterildi.

Tablo 16: Hemorajik olay olan ve olmayan grubun kıyaslanması			
	Hemoraji (+) (N=22)	Hemoraji (-) (N=68)	P değeri
Yaş (Yıl)	58.09±16.75	51.87±14.73	P=0.100
Cinsiyet (E/K)	12/17	19/42	P=0.473
Hastalık süresi (ay)	41.36±24.37	46.91±35.04	P=0.492
JAK2 (+/-)	17/22	41/68	P=0.234
Lökosit (/mm3)	12.750±6.771	10.963±4.621	P=0.166
Hemoglobin (gr/dl)	13.58±1.86	13.73±1.58	P=0.709
Trombosit (/mm3)	1.030.045±562.271	858.735±292.185	P=0.066
Splenomegali	8/22	25/68	P=0.973
Hepatomegali	6/22	16/68	P=0.428
LDL (mg/dl)	119±29	107±32	p=0.200
HDL (mg/dl)	45±10	45±11	p=0.968
TG (mg/dl)	166±62	143±73	p=0.276
Sigara kullanımı	2/22	13/68	p=0.443
Hipertansiyon	12/22	25/68	p=0.221
Tromboz	8/22	21/68	p=0.829

Hastalarda diğer komplikasyonlar açısından bakıldığında: sekonder myelofibrozis gelişimi 90 hastanın sadece 5'inde (% 5.5) meydana gelmişti. Bu 5 kişinin 3'ünde JAK2 mutasyonu varken; 2'sinde mutasyon yoktu. Hastaların sekonder myelofibrozis tanısı ortalama 64 ay (22-130) sonra konmuştu. JAK2 pozitif olan sekonder myelofibrozis gelişen 1 hastada derin ven trombozu gelişmişti; JAK2 mutasyonu olmayan 1 hastada ise portal splenik tromboz mevcuttu. Myelofibrozis gelişen hiçbir hastada arteriyel tromboz gelişmemişti. Sekonder myelofibrozis gelişen hastaların hepsinde splenomegali vardı. Ortalama dalak vertikal boyutu 176 mm ölçülmüştü. ET'li hastalarda başlangıçta ölçülen hemoglobin, trombosit ve beyaz

küre sayısı ile Sekonder miyelofibrozis gelişimi arasında ilişki incelendiğinde hemoglobin ve trombosit sayısı arasında fark yokken beyaz küre sayısı myelofibrozis gelişenlerde gelişmeyenlere göre artmış olduğu ve bunun istatistiksel anlamlı olduğu gösterildi ($p=0.650/p=0.595/p=0.025$). Myelofibrozis gelişen 5 kişinin ortalama 78.6 ay hidroksiüre kullandığı, gelişmeyenlerin ise ortalama 25.4 ay hidroksiüre kullandıkları; kısaca miyelofibrozis gelişen hastaların anlamlı derecede daha uzun hidroksiüre kullandıkları gösterildi ($p=0.001$). Hastaların genel özellikleri tablo 17’de gösterildi.

ET’li 90 hastanın takibinde sadece 2 (% 2.2) hastada akut myeloid lösemi gelişmişti. JAK2 mutasyonu pozitif olan hasta; 76 yaşında erkek olup ET tanısından 30 ay sonra akut lösemi gelişmişti. Mutasyonu olmayan hasta ise; 69 yaşında bayan olup tanıdan 65 ay sonra akut lösemi tablosu ortaya çıkmıştı. Her iki hastada akut lösemi tanı anında intrakraniyel kanama geçirmişti. Her iki hastada intrakraniyel kanamaya bağlı mortalite meydana gelmişti (% 2.2). Hastaların ET tanısı anında hemoglobin, lökosit, trombosit sayılarına bakıldığında; hemoglobin düzeyinin anlamlı derecede düşük olması dışında herhangi bir fark yoktu ($p=0.032 /0.705 /0.343$). Hastaların genel özellikleri Tablo 17’de gösterildi.

Tablo17: ET Hastalarında AML/MMM gelişenlerin özellikleri								
	Yaş Seks	Hb (gr/dl)	Lökosit (X109/L)	Trombosit (X109/L)	JAK2 Durumu	Tedavi Tipi/ süresi	MMM AML	M
1	66/E	12.3	16.9	579	Poz	HU/22	MMM	-
2	55/E	13.9	15.4	719	Poz	HU/33	MMM	-
3	32/E	13.8	5.7	1774	Neg	HU/60	MMM	-
4	62/E	15.0	12.0	932	Poz	HU/98	MMM	-
5	68/K	14.8	13.9	896	Neg	HU/180	MMM	-
6	69/K	12.0	10.4	603	Neg	AN+IF→HU 65(24/41)	AML	+
7	76/E	10.5	9.6	691	Poz	HU→AN 30(25/5)	AML	+
M: Mortalite (+: var/ -: yok) MMM: Myeloid metaplazili myelofibrozis, AML: Akut myeloid lösemi								

Hastaların tedavi rejimlerine bakıldığı zaman: ET tanısı konduğunda 90 hastadan 15'ine (% 16,6) sadece aspirin önerilmişti. 71 (% 78.4) hasta 100 mg/gün po dozunda aspirinle beraber sitoreduktif tedavi almaktaydı. 4 hastanın (% 4.94) aspirin kullanmadığı: tanı konulmadan önce 1'inin ciddi GİS kanaması, birinin hemorajik inme öyküsünün olduğu; tanıda ve tanıdan sonra 1'inin hemorajik inme, 1'inin de hemoptizi nedeniyle aspirin kullanmadığı kayıtlardan elde edildi. Tanı anında 56 hastaya (% 62.2) hidroksiüre, 8 hastaya (% 8.8) anagrelid, 5 hastaya (% 5.5) interferon-alfa, 4 hastaya (% 4.4) aynı anda hidroksiüre ve anagrelid, 1 hastaya da (% 1.1) aynı anda anagrelid ve interferon önerilmişti. 1 hastada (% 1.1) tanı anında ST elevasyonlu miyokard enfarktüsü geçirdiği ve trombosit sayısının >1 milyon/mikroL olduğu için trombosit aferezi ile beraber hidroksiüre başlanmıştı. Hidroksiüre kullanan 56 hastanın 1'inde (% 1.8) sadece anemi, 6'sında (% 10.7) lökopeni, 3 hastada (% 5.4) bisitopeni (anemi+lökopeni), 2'sinde (% 3.6) pansitopeni, 2 kişide (% 3.6) ilaç erupsiyonu, 5'inde (% 9) gastrointestinal şikayetler, 1'inde (% 1.8) ayakta yara şeklinde yan etkileri vardı. Başlangıçta anagrelid kullanan 8 hastanın sadece 1'inde (% 12.5) çarpıntı gelişmişti. Başlangıçta İnterferon-alfa başlanan 5 hastanın 4'ünde (% 80) gribal semptomlar vardı. Ancak interferon devam edildiğinde gribal semptom etkisi kayboldu. İnterferon kullanan 1 hastada (%20) ise tirotoksikoz yan etkisi görüldü. Başlangıç tedavisi olarak hidroksiüre+anagrelid kullanan 4 hastanın sadece 1'inde (% 25) gastrointestinal yan etkiler görüldü. İnterferonla beraber anagrelid kullanan hastada yan etki görülmedi. Hastaların son almakta oldukları tedaviler değerlendirildiğinde: başlangıçta hidroksiüre başlanan 56 hastanın 36'sı hidroksiüre tedavisine devam ediyordu, 7'si anagrelid'e, 8'i interferon'a, 1 kişide anagrelid+interferon tedavisine geçilmişti. 4 kişiye hidroksiüre'nin yanına anagrelid; 1 kişiye de hidroksiüre'nin yanına interferon eklendi. Başlangıçta anagrelid kullanan 8 hastanın 3'ü tedaviye devam ediyordu. Anagrelid kullanan 3 hasta hidroksiüre'ye, 1 hasta interferon'a geçilmişti. 1 hastaya ise anagrelid yanına hidroksiüre eklenmişti. Başlangıçta interferon kullanan 5 hastadan 4'ü interferon'a devam ederken 1'ine ise interferon+anagrelid şeklinde devam edilmişti. Çalışma sürecinde hastaların almış oldukları son tedaviler 40 kişi sadece hidroksiüre; 10 kişi sadece anagrelid; 13 kişi sadece interferon; 8 kişi hidroksiüre+anagrelid; 2 kişi hidroksiüre+interferon; 2 kişide anagrelid+ interferon

kullanılmaktaydı. Aldıkları son tedaviyle JAK2 mutasyonu olan grupta 58 hastadan sadece 23’ünde (% 48); JAK2 negatif olan grupta ise 32 hastadan 6’sinde (% 22.2) tam remisyona (trombosit sayısı<400.000/mikroL) ulaşıldığı, JAK2 pozitif grupta negatif gruba göre tedaviyle remisyonun anlamlı derecede daha iyi olduğu gösterilmiştir (p=0.040). Parsiyel yanıt trombosit değeri 400.000-600.000/mikroL tanımlandığında JAK2 olanlarda % 45.8 olmayanlarda ise % 51.8 oranında parsiyel remisyona ulaşıldığı görüldü. Hastaların tedavi bilgileri ve remisyon oranları Tablo 18’de sunuldu.

Tablo 18: ET’li hastalarda tedavi/yanıt analizi				
	Tüm hastalar (N=90)	JAK2V617F (+)’ler (N=58)	JAK2V617F (-)’ler (N=32)	P
Aspirin alanlar (%)	86 (%95.6)	56 (% 96.5)	30 (%93.75)	p=0.874
Sitoreduktif tedavi alanlar (%)	75 (% 83.3)	48 (% 82.8)	27 (% 84.3)	p=0.457
MONOTERAPİ (%)	63 (% 84)	43 (% 89.6)	20 (% 74)	p=0.632
Hidroksiüre (%)	40 (% 63.5)	28 (% 65.1)	12 (% 60)	p=0.869
Anagrelid (%)	10 (% 15.9)	6 (% 13.9)	4 (% 20)	p=0.232
İnterferon-alfa (%)	13 (% 20.6)	9 (% 21)	4 (% 20)	p=0.895
KOMBİNASYON(%) (H+AN,H+IF,AN+IF)	12 (% 16) (8/2/2)	5 (% 10.4) (3/2/0)	7 (% 26) (5/0/2)	p=0.169
TEDAVİYE YANIT				
Tam yanıt (%)	29 (% 38.7)	23 (% 48)	6 (% 22.2)	p=0.040
Parsiyel yanıt (%)	36 (% 48)	22 (% 45.8)	14 (% 51.8)	p=0.813
Tam+parsiyel (%)	65 (% 86.7)	45 (% 93.8)	20 (% 74)	p=0.171
Yanıtsız (%)	10 (% 23.3)	3 (% 6.2)	7 (% 26)	p=0.077

ET hastalarında tromboz öyküsü, tanı yaşı ve trombosit sayısı baz alınarak yapılan risk sınıflaması sağ kalımın önemli bir göstergesidir (88). ET vakalarında risk sınıflaması ve JAK2 V617F mutasyonu ile ilişkisi tablo 19’da görülmektedir. Venöz ve arteriyel tromboz vakalarının hepsi yüksek risk grubuna girmektedir. Risk gruplarının kanama üzerine etkisine bakıldığında: JAK2 pozitif olan yüksek riskli

hastalarda; 2'sinde epistaksis, 1'inde hematürü, 4'ünde GİS kanama, 2'sinde hemorajik inme, 1'inde cerrahi sonrası kanama olmak üzere 10 hastada kanama görülmüştü. JAK2 negatif grupta ise 1 hastada epistaksis, 1 hastada hemorajik inme, 1 hastada hemoptizi, 1 hastada GİS kanama olmak üzere 4 kişide kanama izlenmişti. Yüksek riskli 14 hastada kanama görülmüştü. Orta risk grubunda JAK2 negatif hastalarda kanama olayı görülmezken, pozitiflerde 1 hastada epistaksis, 1 hastada GİS kanama, 1 hastada ciltte kanama olmak üzere orta riskli 3 hastada kanama görüldü. Düşük riskli hastalarda negatif olan 1 kişide GİS kanama, pozitif olan 2 kişide GİS kanama, 1 kişide menoraji, 1 kişide ciltte kanama ile beraber toplam 5 hastada kanama vardı. Yüksek riskli hastalarda kanama daha sıkı ancak gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.496$). Akut myeloid lösemi gelişen 2 hastada yüksek risk grubundaydı. Sekonder myelofibrozis gelişen 5 hastanın 3'ü JAK2 pozitif yüksek riskli; JAK2 negatif 2 hastanın 1'i orta riskli, diğeri yüksek riskliydi. Gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.743$ / $p=0.275$). Tablo 19'da risk gruplarının JAK2 durumuna göre kıyaslanması gösterilmiştir.

Tablo 19: JAK2'ye göre risk gruplarındaki hasta sayısı		
	JAK2 Mutasyonu	
	Pozitif (N=58)	Negatif (N=32)
Düşük risk	17/29	12/29
Orta risk	8/14	6/14
Yüksek risk	33/47	14/47

5. TARTIŞMA:

PV, ET ve PM birbirleri ile fenotipik olarak bağlantılı, BCR/ABL negatif kronik myeloproliferatif hastalıklar (MPH) olarak tanımlanmıştır (219). Bu grupta ET bir dışlama tanısıdır.

Kronik myeloproliferatif hastalıkları olan hastalarda JAK2 V617F mutasyonu 2005 yılında tanımlanmasından sonra, bu hastalıkların genetiğine ait bilgilerde ciddi oranda artış meydana gelmiştir (220). Trombopoietin reseptör mutasyonu (MPLW515L) ET ve PM hastalarının çok az bir kısmında keşfedilmesiyle beraber, JAK2 V617F negatif PV hastalarında 2006 yılında JAK2 exon 12 mutasyonu keşfedilmiştir (86). Yeni keşfedilen her üç mutasyonun da fare deneyleri ile yapılan çalışmalarda JAK-STAT sinyalleme sisteminin aktivasyonuna ve myeloproliferatif hastalıkların ortaya çıkmasını indükledikleri gösterilmiştir (221). Sekonder polisitemi ve reaktif trombositozu olan kişilerde JAK2 mutasyonları bulunmamaktadır (221).

ET hastalarında yapılan çalışmalara bakıldığında JAK2 V617F mutasyonunun frekansının % 23.0 ile % 75.0 aralığında değiştiği gösterilmiştir (73-77, 197-199, 222-224). Çalışmamız kapsamında JAK2 V617F mutasyonu sıklığı ET'li hastalarda % 64.4 oranında saptandı.

Cinsiyetler arasında JAK2 mutasyonu açısından fark saptanmamış olup yapılan çalışmalarda da cinsiyet ile mutasyon arasında bir ilişki bulunmamıştır (76-77, 222-224).

JAK2 mutasyonu olan hastaların daha ileri yaşta olduğu bunun anlamlı olduğu tespit edilmiştir ve diğer çalışmalarda benzer sonuç elde edilmiştir (71, 75, 77). MPH'lar ileri yaş hastalığı olup, bu nedenle ileri yaş grubunda mutasyona daha fazla rastlanması muhtemeldir.

JAK2 V617F mutasyonu olan ET'lerde daha yüksek hemoglobin ve hematokrit seviyesi olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (71, 75-76, 225). Bizim çalışmamızda da mutasyonu pozitif olan grupta hemoglobin ve hematokrit seviyesi anlamlı derecede yüksek bulundu. Wolanskyj ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı

çalışmada JAK2 pozitif olan grupta lökosit sayısının ve hemoglobin değerinin belirgin yüksek olduğu; aynı grupta trombosit sayısının düşük olduğu gösterilmiştir (75). Campbell ve arkadaşlarının 2005'te Esansiyel trombositoz'un subtiplerini tanımlamışlar ve JAK2 pozitif olan ET grubunun Polisitemia vera ile fenotipik benzerliklerini tanımlamışlar (71). Bizim çalışmamızda ise JAK2 V617F mutasyonu olanlarda lökosit sayılarının belirgin olarak yüksek olduğu ($p=0.025$) ancak trombosit sayıları açısından belirgin fark olmadığı ($p=0.058$) gösterildi. JAK2 (+) grup PV'ye benzer bir fenotip sergilemektedir. Bu bulgular mutasyonu olan grubun klonal kök hücre hastalığı olduğuna işaret etmektedir.

Bizim çalışmamızda ET'li hastaların % 36.6'sında splenomegali varken, % 23.3'ünde hepatomegali vardı. Hastaların % 13.3'ünde ise hem hepatomegali hemde splenomegali vardı. Yapılan çalışmalara bakıldığında ET'de splenomegali hastaların yaklaşık % 40 ile % 50 sinde varken hepatomegali hastaların yaklaşık % 20'sinde bildirilmiştir (26-28, 36, 56-58). Lieu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (226) 108 miyeloproliferatif hastalık incelenmiş, JAK2 pozitif olan grupta belirgin splenomegali olduğu görülmüş ($p=0.019$). Vannucchi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PV'li hastalarda JAK2 allel yükü > % 75 üstünde olan hastalarda daha büyük dalak (RR 4.7; $P<0.001$) olduğu tespit edilmiştir (227). Bizim çalışmamızda ise JAK2 ile splenomegali arasında bağlantı gösterilemedi ($p=0.140$). Bunun sebebi muhtemelen JAK2 allel yükünü ölçemediğimiz için olabilir (Kullanılan kit sadece mutasyonu taramak için kullanılmakta olup allel yükü ölçülememektedir). Ayrıca splenomegalisi olan hastalarda JAK2 pozitif ve negatif gruplara ayrıldığında gruplar arasında dalak vertikal boyutları arasında da fark yoktu ($p=0.931$). Literatürde bağlantılı olan çalışmalara bakıldığında Lieu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (226) ET, PV ve PM hastalarının 3'ü de dahil edilmişti ve bu PV ile PM'nin yanıltıcı bir sonucu gibi gözükmekteydi. Diğer Vannucchi ve arkadaşlarının çalışması (227) ise PV'li hastalarda yapılmıştı. Palandri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (228) ise ET'de JAK2 mutasyonu olan grupta splenomegalinin anlamlı ($p=0.01$) olarak fazla olduğu gösterilmişti. Cho (229), Kittur (76) ve Antonioli'nin (230) yaptığı çalışmalarda JAK2 ile splenomegali arasında bağlantı gösterilememiştir. Zhang ve arkadaşlarının 2008'de 523 MPH'lı hastada yaptıkları çalışmada (231) JAK2 mutasyonu ile MPH'lar arasında bağlantı incelenmiş. JAK2 mutasyon allel yükü yüksek olanlarda tanı anındaki hepatomegalinin varlığı arasındaki ilişki PM'lerde

anlamli iken ET ve PV hastalarında anlamli ilişki bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda ise JAK2 mutasyonu olan hastalarda hepatomegali varlığı açısından fark yoktu ($p=0.306$).

Vannucchi ve arkadaşlarının (232) çok merkezli retrospektif çalışmalarında 323 PV ve 639 ET hastası incelenmiş. Tanı anında total kardiyovasküler olaylarda JAK2 V617F mutasyonuna göre PV’de fark yokken; ET’de mutasyon olan grupta total kardiyovasküler olayların anlamli olarak arttığını göstermişlerdir. Takip sürecinde mutasyonu olan grupta hem arteryel hem venöz olayların belirgin olarak arttığını göstermişlerdir. 2008’de Larsen ve arkadaşlarının (233) yaptığı çalışmada ise JAK2 mutasyonu olan ET’lerde yüksek prevalansta arteryel tromboz olduğunu göstermişlerdir. Lussana ve arkadaşlarının yaptığı sistematik gözden geçirmede ET ve PM’de JAK2 ile tromboz riski değerlendirilmiş bu çalışmada PM’de bu bağlantı kesinleşmemiş ancak ET’de JAK2 pozitif olanlarda tromboz riskinin yaklaşık 2 kat arttığı gösterilmiştir (234). Farklı çalışmalarda ET’li hastalarda toplam tromboz gelişimi % 21 ile % 40 arasında olduğu gösterilmiştir (76, 228-230). Bizim çalışmamızda ise % 32.2 bulunmuştur. Arteryel trombozlar % 10 ile % 34 (76, 226, 228-230) arasında değişmekle beraber bizim çalışmamızda % 25.5’tir. Bizim çalışmamızda venöz olaylar % 8.9 iken literatürde % 0.9 ile % 14 (76, 228-230) arasında değişmektedir. Ancak Vannucchi ve Larsen’nin aksine mutasyonu olan grupta anlamli tromboz artışı bizim çalışmamızda görülmemiştir ($p=0.393$). Ayrıca bizim çalışmamızda JAK2 mutasyonu olan grubun takip süresinde anlamli olarak kısaydı ($p=0.024$). Hastaların takip süresi uzadıkça ve hasta sayısı artırıldıkça JAK2 mutasyonu olan grupta tromboz riskinin artışının tespit edilmesi muhtemeldir. Ancak JAK2 mutasyonu ile tromboz risk artışının gösterilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bizim çalışmamızda hemorajik olaylar % 24 oranında görülmüş olup literatürde ise % 4.6 ile % 10 (76, 226, 228-230) arasında değişmektedir. Çalışmamızda hemorajik olayların görülme sıklığı literatürde beklenenin üstünde çıkmıştır. Bunun nedenlerini incelediğimizde bir çok çalışmada (76, 228-229) tanı öncesindeki kanama olaylarının çalışma kapsamı dışında bırakıldığı görülmüştür; Palandri’nin çalışmasında (228) bu grup dahil edilmiştir. Diğer bir başka sebep ise kanama olaylarının sadece major (hayatı tehdit eden) kanamalar çalışmaya alınmış

olup cilt, mukoza ve burun kanamaları ve bazı GİS kanamaları (hemoglobin $\geq$ 2gr/dl fazla düşecek ve/veya eritrosit replasmanı gerektiren hastalar haricindeki GİS kanamaları) dahil edilmemiştir. Eğer bu dışlamaları yaparsak sadece major kanama geçiren hastalarımız % 10' dur. Tanıda ve tanıdan sonraki dönemde major kanama % 8.8'dir. Çalışmamızın literatür'deki bazı çalışmalar ile mukayesesi tablo 20'de sunulmuştur.

Tablo 20: Çalışmamızın Kanama / Tromboz açısından literatürde bazı çalışmalarla mukayesesi						
		Kittur ve ark (76)	Palandri ve ark. (228)	Cho ve ark. (229)	Antonio li ve ark. (230)	Çalışmamız
Hasta sayısı (N)-MPH tipi		176-ET	275-ET	108-ET	260-ET	90-ET
Toplam tromboz (%)† (%+/%-)‡		70 (40) (44/35)	86 (31) (35/24)	35 (32.4) (30/34)	56 (21) (24/17)	29 (32.2) (36/25)
Arteriyel tromboz (%)† (%+/%-)‡	Toplam	59 (34) (38/29)		34 (31) (27/34)	26 (10) (11/8)	23 (25.5) (29/18.8)
	Tanıdan önce	Belirtilmemiş				9 (10) (13.8/3.1)
	Tanıda	27 (15) (17/14)				5 (5.55) (6.9/3.1)
	Tanıdan sonra	39 (22) (25/19)				9 (10) (8.6/12.5)
Venöz tromboz (%)† (%+/%-)‡	Toplam	24 (14) (18/9)		1 (0.9) (2/0)	26 (10) (11/8)	8 (8.9) (8.6/9.3)
	Tanıdan önce	belirtilmemiş				5 (5.55) (3.4/9.3)
	Tanıda	16 (9) (11/6)				1 (1.11) (1.7/0)
	Tanıdan sonra	13 (7) (11/3)				2 (2.22) (3.4/0)
Hemoraji (%)† (%+/%-)‡	Toplam		28 (10) (8/14)	5 (4.6) (2/6.6)	15 (6) (6/4)	22 (24) (29/15)
	Tanıdan önce		6 (2) (0.5/5)			10 (11.1) (15.5/3)
	Tanıda		8 (3) (3.5/2)			5 (5.55) (3.4/9.3)
	Tanıdan sonra		14 (5) (4/7)			7 (7.77) (10/3.1)
†=Trombotik olay geçirenlerin yüzdesi ‡=Trombotik olay geçirenlerin sırasıyla tüm JAK2(+) ve (-)'ler içindeki yüzdesi						

Landolfi ve arkadaşlarının 2007’de polisitemia vera’lı hastalarda lökositozun tromboz için major bir risk faktörü olduğu gösteren çalışmasından (235) sonra Carrobio ve arkadaşları tarafından 2007’de başlayan çalışmada ET hastaları için lökositozun tromboz için risk faktörü olduğu ve risk değerlendirilmesindeki önemi tespit edilmiştir (225, 236). Ohyashiki ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (237) lökositoz ($>12.000/\text{mikroL}$) ve JAK2 mutasyonu aynı anda olan grupta tromboz olaylarının anlamlı derecede ($p=0.0381$) artmış olduğunu göstermişlerdir. Bizde lökositoz için sınır değeri olarak ($>9.700/\text{mikroL}$) aldığımızda lökositozu olan grupta belirgin artmış trombotik olaylar mevcuttu ($p=0.046$). Ancak JAK2 ile beraber lökositoz beraber değerlendirildiğinde gruplar arasında tromboz gelişimi arasında fark yoktu ($p=0.317/0.206$). Bu bulgular neticesinde JAK2 mutasyonunun tromboz için bir risk faktörü olup olmadığı netlik kazanmamıştır. Ancak bizim çalışmamızda da olduğu gibi bir çok çalışmada değişik lökositoz ($>9700/\mu\text{L}$) eşik değerlerinde tromboz riskinin arttığı gösterildi (225, 235, 236).

ECLAP çalışmasında (238) PV’li 518 düşük riskli hastada yapılan çift kör placebo kontrollü çalışmada düşük doz aspirin kullanımının etkisi incelenmiştir. Primer sonlanım noktalarında (kardiyovasküler ölüm, non-fatal miyokard enfarktüsü, non-fatal inme, ve major venöz tromboembolik) aspirin kullanan grupta önemli oranda azalma meydana gelirken total ve kardiyovasküler mortalite de azalma saptanmıştır. Major kanamalarda önemi olmayan küçük bir artış görülmüştür. Düşük riskli ET hastalarına da düşük doz aspirin tedavisi önerilmektedir (124). Bizim çalışmamızda hastaların %95.6’sı düşük doz aspirin almaktaydı. Aspirin almayan hastalarımızın öyküsünde 2’sinde Gastrointestinal kanama, 2’sinde ise hemorajik inme mevcuttu. ‘Bergamo’ çalışmasında (98) 114 yüksek riskli hasta tedavisiz izlenen ve Hidroksiüre alan grup olarak 2’ye ayrılmış: Hidroksiüre alan grupta tromboz gelişen hastaların yüzdesi %24’ten %3.6’ya düşmüştür. 806 yüksek riskli hastanın değerlendirildiği başka bir çalışmada (PT-1) ise arteriyel trombozu önlemede hidroksiüre anagrelid’e üstün bulunmuş ancak venöz tromboz da ise anagrelid kolunda ciddi düşüş olduğu tespit edilmiştir (99). Aynı çalışmada JAK2 mutasyonu olan hastaların daha düşük dozlarda hidroksiüre tedavisine daha iyi yanıt verdikleri, trombositozun mutasyon olmayan gruba göre daha iyi kontrol edildiği gösterilmiştir (99). Bizim çalışmamızda JAK2 pozitif grupta daha yüksek tam yanıt elde edildi ($p=0.040$). JAK2 (+) grupta sitoreduktif tedavinin daha etkili olduğu söylenebilir.

ET'ye bağı myelofibrozis nadiren gelişebilir. Tefferi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (d10): 95 genç bayan hastanın ortalama 9 yıl takipleri % 4'ünde; Cervantes ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (81) ise 195 hastanın ortalama 8 yıl takibinde % 6.66'sında myelofibrozis gelişmiştir. Chim ve arkadaşlarının 231 ET'li hastanın 8 yıl takibinde hastaların %3.03'ünde miyelofibrozis geliştiğı gösterilmiştir (239). Bizim çalışmamızda ise hastaların ortalama 64 ay takibinde % 5.55'inde myelofibrozis geliştiğı görülmektedir. Myelofibrozis gelişen hastaların ortalama 78.6 ay hidroksiüre kullandıkları; myelofibrozis gelişmeyen grupta ise ortalama 25.6 ay hidroksiüre aldıkları; kısaca hidroksiüre tedavisi uzun süren grupta anlamlı oranda myelofibrozis geliştiğı gösterildi ($p=0.001$). Hidroksiüre'nin iki çalışmada kemik iliğinde fibrozisi azalttiğı gösterilmiştir (240,241). Ohyashiki ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hidroksiüre uzun süreli kullanan JAK2 mutant ET'li hastalarda post-ET miyelofibrozis gelişiminde artış saptamıştır (242). Ancak hasta sayısının ve takip süresinin artırılması durumunda bu yönde yeni bir değerlendirme yapılabilir.

Çalışmamızda ET takibinde % 2.2 hastada akut lösemi geliştiğı görülmektedir. Gangat ve arkadaşlarının 2007'de yaptığı çalışmada (82) ortalama 84 ay takip edilen 605 ET'li hastanın %3.3'ünde lösemik transformasyon tespit edilmiştir. Değişik çalışmalarda 3 ile 7 yıl arasında değişen takip sürelerinde lösemik dönüşüm hastaların % 0.5 ile % 6'sı arasında değişmektedir (35-38, 83, 239). Gangat'ın çalışmasında lösemik dönüşüm için risk faktörlerinden biride tanıdaki düşük hemoglobin düzeyi (kadınlarda $<12\text{gr/dl}$, erkeklerde $<13.5\text{ gr/dl}$) olup bizim lösemik dönüşüm meydana gelen 2 hastamızda da düşük hemoglobin düzeylerinin olduğu tespit edildi.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER:

1-JAK2 V617F mutasyonu ET'li hastaların % 64.4'ünde tespit edildi. JAK2 mutasyonu olanların daha ileri yaşta olduğu ($p=0.049$) gösterildi. JAK2 V617F olanlarda daha yüksek hemoglobin ($p=0.005$) ve lökosit sayısı ($p=0.025$) bulundu.

2-Toplam tromboz sıklığı JAK2 pozitif grupta % 36.2, negatif grupta % 25'ti. Arteriyel tromboz JAK2 pozitif olan hastaların % 29.3'ünde ; JAK2 negatif olan hastaların % 18.8'inde vardı. Venöz trombozu JAK2 mutasyonu olanların % 8.6'sında, olmayanların % 9.3'ünde vardı. JAK2 mutasyonu ile toplam tromboz, arteriyel tromboz ve venöz tromboz arasında istatistiksel anlam gösterilemedi. Mutasyonu olan ve olmayan gruplar arasında hematolojik komplikasyon gelişmesi açısından fark yoktu. Ama bunun sebebi JAK2 (+)'lerde izlem süresinin kısa olmasının olabileceği düşünüldü.

3-Trombozu olan hastaların daha ileri yaşta olduğu ($P<0.001$), daha uzun süre takipte oldukları ($p=0.014$) ve dalak vertikal boyutunun anlamlı derecede artmış olduğu ($p=0.01$) gösterildi.

4-Lökositozu (arteriyel trombozların ortaya çıkmasında ET hastalarında bağımsız bir risk faktörüdür) olan (eşik değeri 9700/mm³ 'ün üzerinde) ET hastalarında trombotik olaylar anlamlı derecede artmıştı ($p=0.046$). Diğer çalışmalarda olduğu gibi lökositozun arteriyel trombozların ortaya çıkmasında bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterildi.

5-JAK2 mutasyonu olan grupta tedavi ile tam remisyonu negatif gruba göre anlamlı olarak fazla sağlandı ($p=0.040$). Yanıtsız hastalar JAK2 pozitif grupta % 6.2 iken negatif grupta % 26 olarak bulundu.

6-ET olan hastaların uzun süreli takibinde bizim çalışmamızda % 2.2'sinde akut lösemi ve % 5.55'inde sekonder myelofibrozis gelişmişti. İzlemde lösemi ve sekonder myelofibrozis gelişimi açısından hastalar takip edilmelidir.

7-Sonuç olarak bizim çalışmamız ve benzer çalışmalarla JAK2 olan ve olmayan ET'li hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri daha iyi ortaya

konulmaktadır. JAK2 mutasyonunun tanıdaki önemi kesinleşmiştir. Prognoz ve komplikasyonlar üzerine etkisi halen araştırılmaktadır. Yeni geliştirilen JAK2 inhibitörleri myeloproliferatif hastalıkların tedavisinde moleküler hedefli ajanlar olup mutasyonu olan grupta kullanıma girmesi beklenmektedir. Bu ajanların kullanıma girmesinde sonra JAK2 kopya sayısının hastalık takibindeki önemi ortaya çıkacaktır.

EK-1: HASTA KAYIT FORMU

İsim				Eritropoetin	
Dosya no				Eritrosit kitle	
d. tarihi				Spo2	
Jak-2				Hipertansiyon	
T(9:22)				Tip 2 dm	
BK				Sigara	
Hb				Alkol	
Hct				Tanı tarihi	
Plt				LDL	
Mcv				HDL	
Mpv				TG	
Rdw					
Fe				Tedavi-1	
Tıcb				Tedavi-2	
Ferritin				Tedavi 3	
Vit b12				Tedavi-4	
Folat				Tedavi-5	
Sedim				Tedavi-6	
Crp				Tedavi-7	
Ldh				Tedavi-8	
hepatomegali				Tedavi-9	
splenomegali				Tedavi-10	
Kemik iliği				Tedavi-11	
Sellülarite				Tedavi-12	
Fibrozis				Tedavi-13	
Retikulin				Hemoraji-1	
Eritropoez				Hemoraji-2	
granülopoez				Hemoraji-3	
megakaryopoez				Hemoraji-4	
Sayı				Tromboz-1	
Clusters				Tromboz-2	
nukleus				Thromboz-3	
displazi				Thromboz -4	

KAYNAKÇA

1. Greer JP, Foerster J, Lukens J, ve ark. Wintrobe's Clinical Hematology Eds. 11 th edition. Lippincott, Williams & Wilkins Co. Philadelphia 2004.
2. Mesa RA, Silverstein MN, Jacobsen SJ, ve ark. Population-based incidence and survival figures in essential thrombocythemia and agnogenic myeloid metaplasia: an Olmsted County Study, 1976-1995. Am J Hematol 1999 May; 61(1):10-15.
3. Ma X, Vanasse G, Cartmel B, ve ark. Prevalence of polycythemia vera and essential thrombocythemia. Am J Hematol. 2008 May; 83(5):359-362.
4. Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G, ve ark. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. J Clin Oncol 1990; 8(3):556-562.
5. Fenaux P; Simon M; Caulier MT, ve ark. Clinical course of essential thrombocythemia in 147 cases. Cancer 1990; 66(3):549-556.
6. Bellucci S, Janvier M, Tobelem G, ve ark. Essential thrombocythemias. Clinical evolutionary and biological data. Cancer 1986; 58(11):2440-2447.
7. Gugliotta L, ve ark. Epidemiological, diagnostic, therapeutic, and prognostic aspects of essential thrombocythemia in a retrospective study of the GIMMC group in two thousand patients. Blood 1997; 90:348a.
8. Van Genderen PJ, Mulder PG, Waleboer M, ve ark. Prevention and treatment of thrombotic complications in essential thrombocythaemia: efficacy and safety of aspirin. Br J Haematol 1997; 97(1):179-184.
9. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, ve ark. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. Blood 2006; 108:3472-3476.
10. Kiladjian JJ, Elkassar N, Hetet G, ve ark. Study of the thrombopoietin receptor in essential thrombocythemia. Leukemia 1997; 11:1821-1826.

11. Taksin AL, Couedic JPL, Dusanter-Fourt I, ve ark. Autonomous megakaryocyte growth in essential thrombocythemia and idiopathic myelofibrosis is not related to a c-mpl mutation or to an autocrine stimulation by Mpl-L. *Blood* 1999; 93:125-139.
12. El-Kassar N, Hetet G, Briere J, ve ark. Clonality analysis of hematopoiesis and thrombopoietin levels in patients with essential thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* 1998; 30:181-188.
13. Griesshammer M, Hornkohl A, Nichol JL, ve ark. High levels of thrombopoietin in sera of patients with essential thrombocythemia: cause or consequence of abnormal platelet production?. *Ann Hematol* 1998; 77:211-215.
14. Hirayama Y, Sakamaki S, Matsunaga T, ve ark. Concentrations of thrombopoietin in bone marrow in normal subjects and in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura, aplastic anemia, and essential thrombocythemia correlate with its mRNA expression of bone marrow stromal cells. *Blood* 1998; 92:46-52.
15. Horikawa Y, Matsumura I, Hashimoto K, ve ark. Markedly reduced expression of platelet c-mpl receptor in essential thrombocythemia. *Blood* 1997; 90: 4031-4038.
16. Gewirtz AM, Bruno E, Elwell J, ve ark. In vitro studies of megakaryocytopoiesis in thrombocytic disorders of man. *Blood* 1983; 61:384-389.
17. Kamatsu N, Suda T, Sakata Y, ve ark. Megakaryocytopoiesis in vitro of patients with essential thrombocythemia: Effect of plasma and serum on megakaryocytic colony formation. *Br J Haematol* 1986; 64:241-252.
18. Juvonen E, Partenen S, Ruutu T, ve ark. Colony formation by megakaryocytic progenitors in essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 1987; 66:161-164.
19. Kobayashi S, Teramura M, Hoshino S, ve ark. Circulating megakaryocyte progenitors in myeloproliferative disorders are hypersensitive to interleukin-3. *Br J Haematol* 1993; 83:539-544.

20. El-Kassar LYN, Gardin C, Briere J, ve ark. Clonality assays and megakaryocyte culture techniques in essential thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* 1996; 22(suppl 1):31.
21. Kawasaki H, Nakano T, Kohdera U, ve ark. Hyersensitivity of megakaryocyte progenitors to trombopoietin in essential thrombocythemia. *Am J Haematol* 2001; 68:194-197.
22. Zauli G, Visani G, Catani L, ve ark. Reduced responsiveness of bone marrow megakaryocyte progenitors to platelet-derived transforming growth factor beta-1, produced in normal amount, in patients with essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 1993; 83:14-20.
23. Beer AP, Green AR. Pathogenesis and management of essential thrombocythemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009; 621-628.
24. Gunz FW. Hemorrhagic trombocythemia: A critical review. *Blood* 1960; 15:706-723.
25. Harrison CN. Current trends in essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2002; 117:796-808.
26. Pearson TC. Primary trombocythemia: Diagnosis and management. *Br J Haematol* 1991; 78:145-148.
27. Schafer AI. Trombocytosis and trombocythemia: *Blood Rev* 2001; 15:159-166.
28. Tefferi A, Murphy S. Current opinion in essential thrombocythemia: Pathogenesis diagnosis and management. *Blood Rev* 2001; 15:121-131.
29. Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G, ve ark. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 1990; 8:556-562 .
30. Kwong YL, Liang RHS, Chiu EKW, ve ark. Essential thrombocythemia.A retrospective analysis of 39 cases. *Am J Haematol* 1995; 49:39.
31. Schafer, AI. Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood* 2006; 107:4214-4222.

32. Elliott MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2005; 128:275-290.
33. Meisel S, Shpilberg O, Ramor B, ve ark. Essential thrombocythaemia: A relatively benign long-term course. *Isr J Med Sci* 1993; 29:190.
34. Tefferi A, Fonseca R, Pereira DL, ve ark. A long-term retrospective study of young women with essential thrombocythemia. *Mayo Clin Proc* 2001; 76:22-28.
35. Fenaux P, Simon M, Caulier MT, ve ark. Clinical course of essential thrombocythemia in 147 cases. *Cancer* 1990; 66:549-556.
36. Bellucci S, Janvier M, Tobelem G, ve ark. Essential thrombocythemas. Clinical evolutionary and biological data. *Cancer* 1986; 58:2440-2447.
37. Chistolini A, Mazzucconi MG, Ferrari A, ve ark. Essential thrombocythemia: A retrospective study on the clinical course of 100 patients. *Haematologica* 1990; 75:537-540.
38. Colombi M, Radaelli F, Zocchi L, ve ark. Thrombotic and hemorrhagic complications in essential thrombocythemia. A retrospective study of 103 patients. *Cancer* 1991; 67:2926-2930.
39. Wehmeier A, Daum I, Jamin H, ve ark. Incidence and clinical risk factors for bleeding and thrombotic complications in myeloproliferative disorders. *Ann Hematol* 1991; 63:101-106.
40. Polycythemia vera: the natural history of 1213 patients followed for 20 years. Gruppo Italiano Studio Policitemia. *Ann Intern Med* 1995; 123:656-664.
41. Michiels JJ, van Genderen PJ, Jansen PH, ve ark. Atypical transient ischemic attacks in thrombocythemia of various myeloproliferative disorders. *Leuk Lymphoma* 1996; 22 Suppl 1:65-70.
42. Michiels JJ, van Genderen PJ, Lindemans J, ve ark. Erythromelalgia, thrombotic, and hemorrhagic manifestations of 50 cases of thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* 1996; 28 Suppl 1: 47-56.
43. Michiels JJ, Abels J, Steketee J, ve ark. Erythromelalgia caused by platelet-mediated arteriolar inflammation and thrombosis in thrombocythemia. *Ann Intern Med* 1985; 102:466-471.

44. Kurzrock R, Cohen PR. Erythromelalgia and myeloproliferative disorders. Review. Arch Intern Med. 1989; 149(1):105-109.
45. Hehlmann R, Jahn M, Baumann B, ve ark. Essential thrombocythemia. Clinical characteristics and course of 61 cases. Cancer. 1988; 61(12):2487-2496.
46. Johnson M, Gernsheimer T, Johansen K. Essential thrombocytosis: underemphasized cause of large-vessel thrombosis. J Vasc Surg. 1995 Oct;22(4):443-7; discussion 448-449.
47. Welford C, Spies SM, Green D. Priapism in primary thrombocythemia. Arch Intern Med. 1981; 141(6):807-808.
48. Barr I, Cohen P, Berken A, Lown B. Thrombocythemia and myocardial ischemia with normal coronary angiogram. Arch Intern Med. 1974; 134(3):528-533.
49. Virmani R, Popovsky MA, Roberts WC ve ark. Thrombocytosis, coronary thrombosis and acute myocardial infarction. Am J Med. 1979; 67(3):498-506.
50. Reisner SA, Rinkevich D, Markiewicz W, ve ark. Cardiac involvement in patients with myeloproliferative disorders. Am J Med. 1992; 93(5):498-504.
51. Marvin KS, Spellberg RD. Pulmonary hypertension secondary to thrombocytosis in a patient with myeloid metaplasia. Chest. 1993; 103(2):642-644.
52. Dingli D, Utz JP, Krowka MJ, ve ark. Unexplained pulmonary hypertension in chronic myeloproliferative disorders. Chest. 2001; 120(3):801-808.
53. Budde U, Schaefer G, Mueller N, ve ark. Acquired von Willebrand's disease in the myeloproliferative syndrome. Blood 1984; 64:981-985.
54. Van Genderen PJ, Budde U, Michiels JJ, ve ark. The reduction of large von Willebrand factor multimers in plasma in essential thrombocythaemia is related to the platelet count. Br J Haematol 1996; 93:962-965.
55. Fabris F, Casonato A, Del Ben MG, ve ark. Abnormalities of von Willebrand factor in myeloproliferative disease: A relationship with bleeding diathesis. Br J Haematol 1986; 63:75-83.
56. Den Genderen PJJ, Michiels JJ. Primary thrombocythaemia: Diagnosis, clinical manifestations and management. Ann Hematol 1993; 67:57-62.

57. Iland HJ, Laszlo J, Peterson P, ve ark. Essential thrombocythaemi: Clinical and laboratory characteristics at presentation. *Trans Assoc Am Physicians* 1983; 96:165-174.
58. Preston EE. Primary thrombocythaemia. *Lancet* 1982; 1:1021.
59. Murphy S, Iland H, Rosenthal D, ve ark. Essential thrombocythaemi: An interim report from Polycythemia Vera Study Group. *Semin Hematol* 1986; 23:177-182.
60. Iland H, Lazlo J, Murphy S. Essential thrombocythaemi. In Wasserman LR, Berk PD, Berlin NI (eds): *Polycythemia Vera and the Myeloproliferative disorders*. WB Saunders, Philadelphia, 1995; 292.
61. Imbert M, Pierre R, Thiele J, ve ark. Essential thrombocythaemi. In Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (eds): *Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. IARC Press, 2001; 39.
62. Buhr GT, Buesche G, Kreft A, Choritz H. Classification of Ph-negative myeloproliferative disorders by histopathology and staging from bone marrow biopsies. *Leuk Lymphoma* 1996; 22(suppl):15-29.
63. Sacchi S, Vinci G, Gugliotta L, ve ark. Diagnosis of Essential thrombocythaemi at platelet counts between 400 and 600x10⁹/L. Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Croniche (GIMMC). *Haematologica* 2000; 85:492-495.
64. Finazzi G, Budde U, Michiels JJ, ve ark. Bleeding time and platelet function in Essential thrombocythaemi and other myeloproliferative syndromes. *Leuk Lymphoma* 1996; 28(suppl):71-78.
65. Lutonski DM, Bower RH. The effect of thrombocytosis on serum potassium and phosphorous concentrations. *Am J Med Sci* 1994; 307:255-258.
66. Michiels JJ, Budde U, van der Planken M, ve ark. Acquired von Willebrand syndromes: Clinical features, aetiology, pathophysiology, classification and management. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001; 14:401-436.
67. Ruggeri M, Gisslinger H, Tosetto A, ve ark. Factor V Leiden mutation carriership and venous thromboembolism in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Hematol* 2002; 71:1-6.

68. Bucalossi A, Marotta G, Bigazzi C, ve ark. Reduction of antithrombin III, protein C, protein S levels and activated protein C resistance in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients with thrombosis. *Am J Hematol* 1996; 52:14-20.
69. Hess CE, Nichols AB, Suratt PM, ve ark. Pseudohypoxemia secondary to leukemia and thrombocytosis. *Med Intell* 1979; 301:361-363.
70. Schafer, AI. Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood* 2006; 107:4214.
71. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, ve ark. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005; 366:1945-1953.
72. Gangat N, Wolanskyj AP, McClure RF, ve ark. Risk stratification for survival and leukemic transformation in essential thrombocythemia: a single institutional study of 605 patients. *Leukemia* 2007; 21:270-276.
73. Levine RL, Belisle C, Wadleigh M, ve ark. 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; 107:4139-4141.
74. Gale RE, Allen AJ, Nash MJ, ve ark. Long-term serial analysis of X-chromosome inactivation patterns and JAK2 V617F mutant levels in patients with essential thrombocythemia show that minor mutant-positive clones can remain stable for many years. *Blood* 2007; 109:1241-1243.
75. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, ve ark. JAK2 mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* 2005; 131:208-213.
76. Kittur J, Knudson RA, Lasho TL, ve ark. Clinical correlates of JAK2V617F allele burden in essential thrombocythemia. *Cancer* 2007; 109:2279-2284.
77. Cheung B, Radia D, Pantelidis P, ve ark. The presence of the JAK2 V617F mutation is associated with a higher haemoglobin and increased risk of thrombosis in essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2006; 132:244-245.

78. Zhang S, Qiu H, Fischer BS, ve ark. JAK2 V617F patients with essential thrombocythemia present with clinical features of polycythemia vera. *Leuk Lymphoma* 2008; 49:696.
79. Toyama K, Karasawa M, Yamane A, ve ark. JAK2-V617F mutation analysis of granulocytes and platelets from patients with chronic myeloproliferative disorders: advantage of studying platelets. *Br J Haematol* 2007; 139:64-69.
80. Wong RS, Cheng CK, Chan NP, ve ark. JAK2 V617F mutation is associated with increased risk of thrombosis in Chinese patients with essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2008; 141:902-904.
81. Cervantes F, Alvarez-Larran A, Talam C, ve ark. Myelofibrosis with myeloid metaplasia following essential thrombocythaemia: actuarial probability, presenting characteristics and evolution in a series of 195 patients. *Br J Haematol* 2002; 118:786-790.
82. Gangat N, Wolanskyj AP, McClure RF, ve ark. Risk stratification for survival and leukemic transformation in essential thrombocythemia: a single institutional study of 605 patients. *Leukemia* 2007; 21:270-276.
83. Cervantes F, Tassies D, Salgado C, ve ark. Acute transformation in nonleukemic chronic myeloproliferative disorders: actuarial probability and main characteristics in a series of 218 patients. *Acta Haematol* 1991; 85:124-127.
84. Sterkers Y, Preudhomme C, Lai JL, ve ark. Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes following essential thrombocythemia treated with hydroxyurea: High proportion of cases with 17p deletion. *Blood* 1998; 91:616-622.
85. Murphy S, Iland H, Rosenthal D, ve ark. Essential thrombocythemia: an interim report from the Polycythemia Vera Study Group. *Semin Hematol* 1986; 23:177-182.
86. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, ve ark. 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; 110:1092-1097.

87. 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.
88. Tefferi A. Risk-based management in essential thrombocythemia. *ASH Education Program Book. Hematology* 1999; 172.
89. Schafer, AI. Thrombocytosis. *N Engl J Med* 2004; 350:1211-1219.
90. Tefferi A, Solberg LA, Silverstein MN ve ark. A clinical update in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Med* 2000; 109:141-149.
91. Finazzi G, Barbui T ve ark. Evidence and expertise in the management of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Leukemia* 2008; 22:1494-1502.
92. Michiels JJ, Koudstaal PJ, Mulder AH, ve ark. Transient neurologic and ocular manifestations in primary thrombocythemia. *Neurology* 1993; 43:1107-1110.
93. Randi ML, Fabris F, Cella G, ve ark. Cerebral vascular accidents in young patients with essential thrombocythemia: relation with other known cardiovascular risk factors. *Angiology* 1998; 49:477-481.
94. Ruggeri M, Finazzi G, Tosi A, ve ark. No treatment for low-risk thrombocythemia: Results from a prospective study. *Br J Haematol* 1998; 103:772-777.
95. Watson KV, Key N ve ark. Vascular complications of essential thrombocythaemia: A link to cardiovascular risk factors. *Br J Haematol* 1993; 83:198-203.
96. Buss DH, Stuart JJ, Lipscomb GE ve ark. The incidence of thrombotic and hemorrhagic disorders in association with extreme thrombocytosis: An analysis of 129 cases. *Am J Hematol* 1985; 20:365-372.
97. Barosi G, Birgegard G, Finazzi G, ve ark. Response criteria for essential thrombocythemia and polycythemia vera: result of a European LeukemiaNet consensus conference. *Blood* 2009; 113: 4829-4833.
98. Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M, ve ark. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med* 1995; 332:1132-1136.

99. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, ve ark. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med* 2005; 353:33-45.
100. Regev A, Stark P, Blickstein D, ve ark. Thrombotic complications in essential thrombocythemia with relatively low platelet counts. *Am J Hematol* 1997; 56:168-172.
101. Sterkers Y, Preudhomme C, Lai JL, ve ark. Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes following essential thrombocythemia treated with hydroxyurea: High proportion of cases with 17p deletion. *Blood* 1998; 91:616-622.
102. Nand S, Stock W, Godwin J, ve ark. Leukemogenic risk of hydroxyurea therapy in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Am J Hematol* 1996; 52:42-46.
103. Liozon E, Brigaudeau C, Trimoreau F, ve ark. Is treatment with hydroxyurea leukemogenic in patients with essential thrombocythemia? An analysis of three new cases of leukaemic transformation and review of the literature. *Hematol Cell Ther* 1997; 39:11-18.
104. Randi ML, Fabris F, Girolami A. Second malignancies in patients with essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2002; 116:923-924.
105. Tang SS, Frojmovic MM. Inhibition of platelet function by antithrombotic agents which selectively inhibit low-Km cyclic 3',5'-adenosine monophosphate phosphodiesterase. *J Lab Clin Med* 1980; 95:241-257.
106. Mazur EM, Rosmarin AG, Sohl PA, ve ark. Analysis of the mechanism of anagrelide-induced thrombocytopenia in humans. *Blood* 1992; 79:1931-1937.
107. Tomer A. Effects of anagrelide on in vivo megakaryocyte proliferation and maturation in essential thrombocythemia. *Blood* 2002; 99:1602-1609.
108. Anagrelide, a therapy for thrombocythemic states: experience in 577 patients. Anagrelide Study Group. *Am J Med* 1992; 92:69-76.
109. Mazzucconi MG, De Sanctis V, Chistolini A, ve ark. Therapy with Anagrelide in patients affected by essential thrombocythemia: preliminary results. *Haematologica* 1992; 77:315-317.

110. Petitt RM, Silverstein MN, Petrone ME. Anagrelide for control of thrombocythemia in polycythemia and other myeloproliferative disorders. *Semin Hematol* 1997; 34:51-54.
111. Fruchtman SM, Petitt RM, Gilbert HS. Anagrelide therapy significantly reduces disease related symptoms in patients with myeloproliferative disorders (abstract). *Blood* 2003; 102:32a.
112. Storen EC, Tefferi A. Long-term use of anagrelide in young patients with essential thrombocythemia. *Blood* 2001; 97:863-866.
113. Steurer M, Gastl G, Jedrzejczak WW, ve ark. Anagrelide for thrombocytosis in myeloproliferative disorders. *Cancer* 2004; 101:2239-2246.
114. Chintagumpala MM, Kennedy LL, Steuber CP. Treatment of essential thrombocythemia with anagrelide. *J Pediatr* 1995; 127:495-498.
115. Balduini CL, Bertolino G, Noris P, ve ark. Effect of anagrelide on platelet count and function in patients with thrombocytosis and myeloproliferative disorders. *Haematologica* 1992; 77:40-43.
116. Jurgens DJ, Moreno-Aspitia A, Tefferi A ve ark. Anagrelide-associated cardiomyopathy in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Haematologica* 2004; 89:1394-1395.
117. Amabile CM, Spencer AP. Keeping your patient with heart failure safe: a review of potentially dangerous medications. *Arch Intern Med* 2004; 164:709-720.
118. Elliott MA, Tefferi A. Interferon-alpha therapy in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost* 1997; 23:463-472.
119. Gilbert HS. Long term treatment of myeloproliferative disease with interferon-alpha-2b: feasibility and efficacy. *Cancer* 1998; 83:1205-1213.
120. Radin AI, Kim HT, Grant BW, ve ark. Phase II study of alpha2 interferon in the treatment of the chronic myeloproliferative disorders (E5487): a trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Cancer* 2003; 98:100-109.
121. Saba R, Jabbour E, Giles F, ve ark. Interferon alpha therapy for patients with essential thrombocythemia. *Cancer* 2005; 103:2551-2557.

122. Kiladjian JJ, Chomienne C, Fenaux P. Interferon-alpha therapy in bcr-abl-negative myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2008; 22:1990-1998.
123. Sacchi S, Gugliotta L, Papineschi F, ve ark. Alfa-interferon in the treatment of essential thrombocythemia: clinical results and evaluation of its biological effects on the hematopoietic neoplastic clone. Italian Cooperative Group on ET. *Leukemia* 1998; 12:289-294.
124. Barbui T, Barosi G, Grossi A, ve ark. Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. A statement from the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica* 2004; 89:215-232.
125. Seewann HL. Interferon therapy in essential thrombocythemia. *Wien Med Wochenschr* 1993; 143:420-424.
126. Samuelsson J, Hasselbalch H, Bruserud O, ve ark. A phase II trial of pegylated interferon alpha-2b therapy for polycythemia vera and essential thrombocythemia: feasibility, clinical and biologic effects, and impact on quality of life. *Cancer* 2006; 106:2397-2405.
127. Lengfelder E, Griesshammer M, Hehlmann R, ve ark. Interferon alpha in the treatment of essential thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* 1996; 22(Suppl 1):135-142.
128. Gilbert HS. Other secondary sequelae of treatments for myeloproliferative disorders. *Semin Oncol* 2002; 29:22-27.
129. Gisslinger H, Chott A, Scheithauer W, ve ark. Interferon in essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 1991; 79(Suppl 1): 42-47.
130. Çabuk M, Pirildar T, Ceylan C, ve ark. Arthritis induced by interferon-alpha therapy in a patient with essential thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* 2003; 44:377-378.
131. De Salvo L, Plumacher Z, Gomez O, ve ark. Hypertriglyceridemia following treatment with interferon alpha in essential thrombocythemia. *Invest Clin* 1996; 37:177-181.

132. Vardizer Y, Linhart Y, Loewenstein A, ve ark. Interferon-alpha-associated bilateral simultaneous ischemic optic neuropathy. *J Neuroophthalmol* 2003; 23:256–259.
133. Merup M, Aberg W, Lofvenberg E, ve ark. Symptoms, symptom distress and health related quality of life in patients with polycythaemia vera or essential thrombocythaemia during treatment with interferonalpha. *Acta Oncol* 2002; 41:50–55.
134. Malek-Ahmadi P, Hilsabeck RC. Neuropsychiatric complications of interferons: classification, neurochemical bases, and management. *Ann Clin Psychiatry* 2007; 19:113–123.
135. Malek-Ahmadi P. Mood disorders associated with interferon treatment: theoretical and practical considerations. *Ann Pharmacother* 2001; 35:489–495.
136. Quintas-Cardama A, Kantarjian HM, Giles F, ve ark. Pegylated interferon therapy for patients with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative disorders. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32:409–416.
137. Alvarado Y, Cortes J, Verstovsek S, ve ark. Pilot study of pegylated interferon-alpha 2b in patients with essential thrombocythemia. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003; 51:81–86.
138. Langer C, Lengfelder E, Thiele J, ve ark. Pegylated interferon for the treatment of high risk essential thrombocythemia: results of a phase II study. *Haematologica* 2005; 90:1333–1338.
139. Jabbour E, Kantarjian H, Cortes J, ve ark. PEG-IFN-alpha-2b therapy in BCRABL-negative myeloproliferative disorders: final result of a Phase 2 study. *Cancer* 2007; 110:2012–2018.
140. Evaluation of two antineoplastic agents, PIPOBROMAN (vercyte) and thioguanine. *JAMA* 1967; 200:619-620.
141. Mazzucconi MG, Francesconi M, Chistolini A, ve ark. Pipobroman therapy of essential thrombocythemia. *Scand J Haematol* 1986; 37:306-309.
142. De Sanctis V, Mazzucconi MG, Spadea A, ve ark. Long-term evaluation of 164 patients with essential thrombocythaemia treated with pipobroman: occurrence of leukaemic evolution. *Br J Haematol* 2003; 123:517-521.

143. Passamonti F, Malabarba L, Orlandi E, ve ark. Pipobroman is safe and effective treatment for patients with essential thrombocythaemia at high risk of thrombosis. *Br J Haematol* 2002; 116:855-861.
144. Brandt L, Anderson H. Survival and risk of leukaemia in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia treated with oral radiophosphorus: are safer drugs available?. *Eur J Haematol* 1995; 54:21-26.
145. Pardanani A. JAK2 inhibitor therapy in myeloproliferative disorders: rationale, preclinical studies and ongoing clinical trials. *Leukemia* 2008; 22: 23–30.
146. Barosi G. and Rosti V. Novel strategies for patients with chronic myeloproliferative disorders. *Current Opinion in Hematology* 2009, 16:129–134.
147. Modan B. An epidemiological study of polycythemia vera. *Blood* 1965; 26:657-667.
148. Silverstein MN, Lanier AP. Polycythemia vera, 1935-1969: An epidemiologic survey in Rochester, Minnesota. *Mayo Clin Proc* 1971; 46:751-753.
149. Prochazka AV, Markowe HLG. The epidemiology of polycythemia rubra vera in England and Wales 1968-1982. *Br J Cancer* 1986; 53:59-64.
150. Ania BJ, Suman VJ, Sobell JL, ve ark. Trends in the incidence of polycythemia vera among Olmsted County, Minnesota residents, 1935-1989. *Am J Hematol* 1994; 47:89-93.
151. Berk PD, Goldberg JD, Donovan PB ve ark. Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols. *Semin Hematol* 1986; 23:132-143.
152. Prechal JT, Beutler E. Primary and Secondary Polycythémias (Erythrocytosis). In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligshon U, Kaushansky K, Prechal JT, Eds. *Williams Hematology*, New York: McGraw-Hill, 2006; 779-802.
153. Berlin, NI. Diagnosis and classification of polycythémias. *Semin Hematol* 1975; 12:339-351.
154. Silverstein MN. *Agnogenic Myeloid Metaplasia*. Publishing Science, Boston, 1975.

155. Barosi G. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Hematol Clin North Am* 2003; 17:1211-1226.
156. Ward HP, Block MH. The natural history of agnogenic myeloid metaplasia (AMM) and a critical evaluation of its relationship with myeloproliferative syndrome. *Medicine* 1971; 50:357-420.
157. Varki A, Lottenberg R, Griffith R, ve ark. The syndrome of idiopathic myelofibrosis. *Medicine* 1983; 62:353-371.
158. Barosi G, Bacigalupo A. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelofibrosis. *Curr Opin Hematol*. 2006 Mar;13(2):74-78.
159. Okamura T, Kinukawa N, Niho Y, ve ark. Primary chronic myelofibrosis: Clinical and prognostic evaluation in 336 Japanese patients. *Int J Hematol* 2001; 73:194-198.
160. Cervantes F, Pereira A, Esteve J, ve ark. Idiopathic myelofibrosis: Initial features, evolutionary pattern and survival in a series of 106 patients. *Med Clin North Am* 1997; 109:651-655.
161. Dupriez B, Morel P, Demory JL, ve ark. Prognostic factors in agnogenic myeloid metaplasia: A report on 195 cases with a new scoring system. *Blood* 1996; 88:1013-1018.
162. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, ve ark. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2009; 113:2895-2901.
163. Rupoli S, DaLio L, Sisti S, ve ark. Primary myelofibrosis: A detailed analysis of the clinicopathologic variables influencing survival. *Ann Hematol* 1994; 68:205.
164. Ozen S, Ferhanoglu B, Senocak M, ve ark. Idiopathic myelofibrosis (agnogenic myeloid metaplasia). *Leuk Res* 1997; 21:125-131.
165. Kutty J, Ridell B. Epidemiology of the myeloproliferative disorders: Essential thrombocythaemia, polycythemia vera, and idiopathic myelofibrosis. *Pathol Biol* 2001; 49:164-166.

166. McNally RJ, Rowland D, Roman E, ve ark. Age and sex distributions of haematological malignancies in the U.K. *Hematol Oncol* 1997; 15:173-189.
167. Ridell B, Carneskog J, Wedel H, ve ark. Incidence of chronic myeloproliferative disorders in the city of Gotesborg, Sweden 1983–1992. *Eur J Haematol* 2000; 65:267-271.
168. Mesa RA, Silverstein MN, Jacobsen SJ, ve ark. Population-based incidence and survival figures in essential thrombocythemia and agnogenic myeloid metaplasia: An Olmstead County Study 1976–1995. *Am J Hematol* 1999; 61:10-15.
169. Barosi G, Ambrosetti A, Finelli C, ve ark. The Italian Consensus Conference on Diagnostic Criteria for Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia: *Br J Haematol* 1999; 104:730-737.
170. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, ve ark. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999; 341:164-172.
171. Moloney WC. Radiogenic leukemia revisited. *Blood* 1987; 70:905-908.
172. Sawyers CL. Chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999; 340:1330-1340.
173. Jemal A, Siegel R, Ward E, ve ark. Cancer Statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58:71-96.
174. Savage DG, Szydlo RM, Goldman JM. Clinical features at diagnosis in 430 patients with chronic myeloid leukaemia seen at a referral centre over a 16-year period. *Br J Haematol* 1997; 96:111-116.
175. Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M. Chronic myelogenous leukemia: update on biology and treatment. *Oncology (Williston Park)*. 1999; 13:169-180.
176. Leonard WJ, O'Shea JJ, ve ark. Jaks and STATs: Biological implications. *Annu. Rev. Immunol* 1998; 16:293-322.
177. Copeland NG, Gilbert DJ, Schindler C, ve ark. Distribution of the mammalian Stat gene family in mouse chromosomes. *Genomics* 1995; 29:225-228.
178. Rodig SJ, Meraz MA, White JM, ve ark. "Disruption of the Jak1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the Jaks in cytokine-induced biologic responses". *Cell* 1998; 93:373-383.

179. Stoiber D, Kovacic B, Schuster C, ve ark. TYK2 is a key regulator of the surveillance of B lymphoid tumors. *J. Clin. Invest.* 2004; 114:1650-1658.
180. Wilks AF. Two putative protein-tyrosine kinases identified by application of the polymerase chain reaction. *PNAS* 1989; 86:1603-1607.
181. Kisseleva A, ve ark. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene* 2002; 285:1-24.
182. J Kota, N Caceres, SN Constantinescu ve ark. Aberrant signal transduction pathways in myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2008; 22:1828–1840.
183. Hebenstreit D, Horejs-Hoeck J ve Duschl A. JAK/STAT-dependent gene regulation by cytokines. *Drug News Perspect* 2005; 18:243-249.
184. Krebs DL ve Hilton D J. SOCS proteins: negative regulators of cytokine signaling. *Stem Cells.* 2001; 19:378-387.
185. Shuai K. Regulation of cytokine signaling pathways by PIAS proteins" *Cell Research* 2006; 16:196-202.
186. James C, Ugo V, Le Couedic JP, ve ark. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005; 434:1144-1148.
187. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, ve ark. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005; 365:1054-1061.
188. Kaushansky K. On the Molecular Origins of the Chronic Myeloproliferative Disorders: It All Makes Sense. *Blood* 2005; 105:4187-4190.
189. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, ve ark. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005; 7:387-397.
190. Levine RL, Pardanani A, Tefferi A, ve ark. Role of JAK2 in the pathogenesis and therapy of myeloproliferative disorders. *Nat Rev Cancer* 2007; 7:673-683.
191. Ishii T, Bruno E, Hoffman R, ve ark. Involvement of various hematopoietic cell lineages by the JAK2V617F mutation in polycythemia vera. *Blood* 2006; 108:3128-3124.

192. Delhommeau F, Dupont S, Tonetti C, ve ark. Evidence that the JAK2 G1849T (V617F) mutation occurs in a lympho-myeloid progenitor in polycythemia vera and idiopathic myelofibrosis. *Blood* 2006; 109:71-77.
193. Larsen TS, Christensen JH, Hasselbalch HC, ve ark. The JAK2 V617F mutation involves B- and T-lymphocyte lineages in a subgroup of patients with Philadelphia-chromosome negative chronic myeloproliferative disorders. *Br J Haematol* 2007; 136:745-751.
194. Pardanani A, Lasho TL, Finke C, ve ark. Extending JAK2V617F and MPLW515 Mutation Analysis to Single Hematopoietic Colonies and B- and T-lymphocytes. *Stem Cells* 2007; 29:2358-2362.
195. Toyama K, Karasawa M, Yamane A, ve ark. JAK2-V617F mutation analysis of granulocytes and platelets from patients with chronic myeloproliferative disorders: advantage of studying platelets. *Br J Haematol* 2007; 139:64-69.
196. Campbell PJ, Green AR. The myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2006; 355:2452-2466.
197. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, ve ark. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005; 352:1779-1790.
198. Jones AV, Kreil S, Zoi K, ve ark. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood* 2005; 106:2162-2168.
199. Lippert E, Boissinot M, Kralovics R, ve ark. The JAK2-V617F mutation is frequently present at diagnosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood* 2006; 108:1865-1867.
200. Goerttler PS, Steimle C, Marz E, ve ark. The Jak2V617F mutation, PRV-1 overexpression, and EEC formation define a similar cohort of MPD patients. *Blood* 2005; 106:2862-2864.
201. Steensma DP, Dewald GW, Lasho TL, ve ark. The JAK2 V617F activating tyrosine kinase mutation is an infrequent event in both "atypical" myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndromes. *Blood* 2005; 106:1207-1209.

202. Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V, ve ark. JAK2 mutation 1849G>T is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Philadelphia chromosome-negative CML, and megakaryocytic leukemia. *Blood* 2005; 106:3370-3373.
203. Levine RL, Loriaux M, Huntly BJ, ve ark. The JAK2V617F activating mutation occurs in chronic myelomonocytic leukemia and acute myeloid leukemia, but not in acute lymphoblastic leukemia or chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2005; 106:3377-3379.
204. Frohling S, Lipka DB, Kayser S, ve ark. Rare occurrence of the JAK2 V617F mutation in AML subtypes M5, M6, and M7. *Blood* 2006; 107:1242-1243.
205. Xing S, Wanting TH, Zhao W, ve ark. Transgenic expression of JAK2V617F causes myeloproliferative disorders in mice. *Blood* 2008; 111:5109-5117.
206. Tefferi A, Sirhan S, Lasho TL, ve ark. Concomitant neutrophil JAK2 mutation screening and PRV-1 expression analysis in myeloproliferative disorders and secondary polycythaemia. *Br J Haematol* 2005; 131:166-171.
207. Kiladjian JJ, Cassinat B, Turlure P, ve ark. High molecular response rate of polycythemia vera patients treated with pegylated interferon {alpha}-2a. *Blood* 2006; 108:2037-2040.
208. Austin, SK, Lambert, JR. The JAK2 V617F mutation and thrombosis. *Br J Haematol* 2008; 143:307-320.
209. Lucet IS, Fantino E, Styles M, ve ark. The structural basis of Janus kinase 2 inhibition by a potent and specific pan-Janus kinase inhibitor. *Blood* 2006; 107:176-183.
210. Grandage VL, Everington T, Linch DC, ve ark. Go6976 is a potent inhibitor of the JAK 2 and FLT3 tyrosine kinases with significant activity in primary acute myeloid leukaemia cells. *Br J Haematol* 2006; 135:303-316.
211. Verstovsek S, Manshouri T, Quintas-Cardama A, ve ark. WP1066, a Novel JAK2 Inhibitor, Suppresses Proliferation and Induces Apoptosis in Erythroid Human Cells Carrying the JAK2 V617F Mutation. *Clin Cancer Res* 2008; 14:788-796.
212. Wernig G, Kharas MG, Okabe R, ve ark. Efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in treatment of a murine model of JAK2V617F-induced polycythemia vera. *Cancer Cell* 2008; 13:311-320.

213. Pardanani A. JAK2 inhibitor therapy in myeloproliferative disorders: rationale, preclinical studies and ongoing clinical trials. *Leukemia* 2008; 22:23-30.
214. Hexner EO, Serdikoff C, Jan M, ve ark. 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; 111:5663-5671.
215. Levine RL, Gilliland DG ve ark. Myeloproliferative disorders. *Blood* 2008; 112: 2190-2198.
216. Dick R, Watkinson A. The liver and spleen. In: Sutton D, Ed. *Textbook of Radiology and Imaging*, London: Churchill Livingstone 2003; 737-786.
217. Head D. Proposed changes in the definitions of acute myeloid and myelodysplastic syndrome: Are they helpful?. *Curr Opin Oncol* 2002; 14:19-23.
218. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms. *Blood* 2002; 100:2292-2302.
219. Mesa RA. Navigating the evolving paradigms in the diagnosis and treatment of myeloproliferative disorders. *Hematology* 2007; 355-362
220. Hsu HC. Pathogenetic role of JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *J Chin Med Assoc.* 2007; 70:89-93.
221. Tefferi A, Pardanani A. Evaluation of "increased" hemoglobin in the JAK2 mutations era: A diagnostic algorithm based on genetic tests. *Mayo Clin Proc* 2007; 82:599-604.
222. Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, ve ark. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia.* 2005; 19:1847–1849.
223. Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larran A, Reverter JC, ve ark. Increased platelet and leukocyte activation as contributing mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status. *Haematologica.* 2006; 91:169–175.

224. Speletas M, Katodritou E, Daiou C, ve ark. Correlations of JAK2–V617F mutation with clinical and laboratory findings in patients with myeloproliferative disorders. *Leuk Res.* 2007; 31:1053–1062.
225. Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, ve ark. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and JAK2 mutation status. *Blood* 2007; 109:2310–2313.
226. Lieu CH, Wu HS, Hon YC, ve ark. Prevalence of the JAK2-V617F mutation in Taiwanese patients with chronic myeloproliferative disorders. *Intern Med J.* 2008; 38:422-426.
227. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, ve ark. MPD Research Consortium. Prospective identification of high-risk polycythemia vera patients based on JAK2(V617F) allele burden. *Leukemia.* 2007; 21:1952-1959.
228. Palandri F, Ottaviani E, Salmi F, ve ark. JAK2V617F mutation in essential thrombocythemia: correlation with clinical characteristics, response to therapy and long-term outcome in a cohort of 275 patients. *Leukemia & Lymphoma*, February 2009; 50(2): 247–253.
229. Cho YU, Chi HS, Lee EH, ve ark. Comparison of clinicopathologic findings according to JAK2 V617F mutation in patients with essential thrombocythemia. *Int J Hematol* 2009; 89:39–44.
230. Antonioli E, Guglielmelli P, Poli G, ve ark. Influence of JAK2V617F allele burden on phenotype in essential thrombocythemia. *Haematologica.* 2008; 93(1):41-48.
231. Zhang Y, Li L, Nie L, ve ark. Clinical study on relationship between JAK2 V617F mutation and chronic myeloproliferative disorders *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2008; 29:105-109.
232. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, ve ark. Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood* 2007; 110:840-846.
233. Larsen TS, Pallisgaard N, Møller MB, ve ark. High prevalence of arterial thrombosis in JAK2 mutated essential thrombocythaemia: independence of the V617F allele burden. *Hematology* 2008; 13:71-76.

234. Lussana F, Caberlon S, Pagani C, ve ark. Association of V617F Jak2 mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythaemia or idiopathic myelofibrosis: a systematic review. *Thromb Res.* 2009; 124(4):409-417.
235. Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, ve ark. Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood* 2007; 109:2446-2452.
236. Carobbio A, Antonioli E, Guglielmelli P, ve ark. Leukocytosis and risk stratification assessment in essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2732–2736.
237. Ohyashiki K, Ito Y, Hori K, ve ark. Thrombosis can occur at any phase of essential thrombocythemia with JAK2V617F mutation: a single institutional study in Japan. *Leukemia.* 2007; 21:1570–1571.
238. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, ve ark. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med* 2004; 350:114-124.
239. Chim CS, Kwong YL, Lie AK, ve ark. Long-term outcome of 231 patients with essential thrombocythemia: prognostic factors for thrombosis, bleeding, myelofibrosis, and leukemia. *Arch Intern Med.* 2005; 165(22):2651-2658.
240. Lofvenberg E, Wahlin A, Roos G, Ost A. Reversal of myelofibrosis by hydroxyurea. *Eur J Haematol* 1990;44:33-38.
241. Thiele J, Kvasnicka HM, Schmitt-Graeff A, ve ark. Effects of interferon and hydroxyurea on bone marrow fibrosis in chronic myelogenous leukaemia: a comparative retrospective multicentre histological and clinical study. *Br J Haematol* 2000; 108:64-71.
242. Ohyashiki K, Kodama A, Ohyashiki JH. Recurrent der(9;18) in essential thrombocythemia with JAK2 V617F is highly linked to myelofibrosis development. *Cancer Genet Cytogenet* 2008; 186:6-11.