

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

MYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİLERDE
GÖRÜLEBİLECEK GENETİK MUTASYONLARIN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Ece ÖZOĞUL

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA
2018

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİLERDE
GÖRÜLEBİLECEK GENETİK MUTASYONLARIN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Ece ÖZOĞUL

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ayşegül ÜNER**

**ANKARA
2018**

TEŞEKKÜR

Bu araştırma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından THD-2018-16691 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

Asistanlığımın ilk zamanlarından beri hematopatolojiye olan ilgimin başlamasına, daha sonra da gelişmesine yardımcı olan, asistanlığım süresince her türlü sıkıntıda destek veren danışmanlığında tezimi yaptığım Prof Dr Ayşegül Üner'e

Hem hematopatoloji alanında, hem de günlük patoloji rutininde her zaman, her konuda büyük desteğini hissettiğim Doç Dr Emine Arzu Sağlam Ayhan'a

Hekimlik eğitiminin en önemli noktalarından olan multidisipliner çalışma öğretisini uygulayabilmemizi sağlayan, hastaların klinik-moleküler bulguları ve prognozları hakkında bizimle verilerini paylaşan Prof Dr İbrahim Haznedaroğlu, Prof Dr Dicle Güç ve Dr Müfide Okay'a,

Çalışmanın moleküler metodlarının uygulama sürecinde ve verilerinin yorumlanmasında çok büyük yeri olan Doç Dr Ayça Ergül Aslan'a,

Arşivden preparatların teminini gerçekleştiren Lokman Kale'ye,

Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na adım attığım ilk günden beri iyi bir patoloji eğitimi almamı önemseyen ve akademik hayatta kendimi geliştirmemi teşvik edip destekleyen sunan tüm hocalarıma,

Asistanlık eğitimim boyunca her türlü sıkıntımı paylaşan, güzel anılar biriktirdiğim kader ortağı olarak gördüğüm asistan arkadaşlarıma,

Sevgi dolu bir aile ortamında yetişmemi sağlayan, beni yetiştirmede özen, hassasiyet ve fedakarlık gösteren canım annem, babam ve tüm aileme,

Son olarak hayatımda bu zorlu süreçte her zaman yanımda olan sıkıntılarıma paylaştıran, omuz veren bütün arkadaşlarıma,

Tüm kalbimle teşekkür ederim.

ÖZET

Myeloproliferatif neoplaziler (MPN) birden fazla myeloid seride klonal proliferasyon ile karakterize hematopoetik kök hücre hastalıklarıdır. MPN'lerin doğru sınıflandırılması tanı, prognoz ve risk durumunu belirlemek için önemlidir. Bu sınıflandırmada genetik değerlendirme mutlaka gerekmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2016 sınıflandırmasında JAK2 yanısıra myeloproliferatif lösemi virüs onkogen (MPL) ve Calretikülin (CALR) gen mutasyonları da tanı algoritması içine dahil edilmiştir. Hastalık prognozu ile ilişkiler de yapılan klinik gözlemlerle aydınlanmaya başlamıştır ki, örneğin JAK2 ve/veya CALR mutasyonu olanlara göre hiçbir mutasyonun mevcut olmadığı MPN hastalarında daha düşük genel sağkalım ve daha yüksek lösemik transformasyon oranları bildirilmektedir. Biz de kendi serimizde JAK2V617F mutasyonu, kemik iliği biyopsilerindeki histomorfolojik özellikler ve klinik verileri karşılaştırdık. Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda BCR-ABL1 negatif Klasik Myeloproliferatif Neoplazi (Polistemi Vera, Esansiyel Trombositoz veya Primer Myelofibrozis) tanısıyla takip edilmekte olan ve hastanemizde periferik kan örneği alınmış 87 hasta dahil edildi. Hastaların 19 tanesinin Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda kemik iliği biyopsi örneği mevcuttur. JAK2 geninde literatürde özgül mutasyonların yoğunlaştığı belirtilen ekzon 14 bölgesi için primerler kullanılarak sekanslandı. Seksen yedi hastanın 62'si (%72) asemptomatikken, 25'i (%28) bir veya daha fazla klinik semptoma sahiptir. Semptomatik 25 olgunun 22'sinde (%88) tromboembolik olay izlenmiştir. Olguların 17/87'sinde (%20) JAK2 ekzon 14'te V617F mutasyonu saptandı. JAK2 V617F mutasyonu saptanan olguların 8/17'sinde (%47) klinik bulgu mevcut olup, klinik bulgu olarak hepsinde tromboembolik olay izlenmiştir. Mutasyon saptanan vakaların 7/17'sine (%41) ait kemik iliği biyopsisi mevcuttur. Histopatolojik değerlendirmede JAK2 mutasyone olguların 6/7'sinde (%85.7) megakaryositlerde displazi izlenmiştir. Olguların 5/7'sinde (%71.5) megakaryositler morfolojik olarak değişkenlik gösterirken, 2/7 (%28.5) olguda dev formlar hakimdir. Mutasyone olguların kemik iliği ortanca myelofibrozis skoru 2/3'tür. Dünya Sağlık Örgütü 2016'ya göre bu hastalıkların tanı, progresyon, prognoz ve tedavi takibi süreçlerinde, hem histopatolojik, hem klinik/laboratuvar hem de genetik verilerin kullanılması gerekmektedir. JAK2V617F mutasyon analizi genetik mutasyonların araştırılmasında ilk basamak olarak kullanılmaktadır. Ancak genetik veriler, her zaman kemik iliği morfolojisi ve laboratuvar bulgular ışığında değerlendirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Hematopatoloji, Myeloproliferatif Neoplazi, JAK2

ABSTRACT

Myeloproliferative neoplasms (MPN) are hematopoietic stem cell diseases characterised with clonal proliferation in more than one myeloid lineage. Accurate classification of MPN's is essential in determining the diagnosis, prognosis and risk category of disease. Genetic evaluation is fundamental in this course. In World Health Organisation (WHO) 2016 classification myeloproliferative leukemia virus oncogene (MPL) and Calreticulin (CALR) mutations are included in diagnostic algorithms along with Janus Kinase 2 (JAK2). Also prognostic implications started to come in sight with clinical observations. For example patients with no mutations have overall worse survival and higher leukemic transformation rates, compared to patients with JAK2 and/or CALR mutations. We compared JAK2V617F mutation status, histomorphological features of bone marrow biopsies and clinical data in our series. Eighty-seven patients who have been followed-up as BCR-ABL1 negatif Classical Myeloproliferative Neoplasm (Polycythemia Vera, Essential Thrombocytosis or Primary Myelofibrosis) by Hacettepe University Department of Internal Medicine are included in our study. Only 19 of patients had a bone marrow biopsy sample in the Hacettepe University Pathology Department archive. Forward and reverse primers for the most commonly mutated domain of exon 14 of JAK2 gene were used. Of 87 patients 62 (%72) were asymptomatic, 25 (%28) has one or more symptoms. Thromboembolic events were observed in 22/25 (%88) of symptomatic patients. JAK2V617F exon 14 mutation was detected in 17/87 (%20) of the cases. Within mutated cases 8/17 (%47) of them had clinical symptoms, which was a thromboembolic event in all. The number of mutated patients who had a bone marrow sample was 7/17 (%41). Megakaryocytic dysplasia was detected in 6/7 (%85.7) of these cases. While 5/7(%71,5) had variable megakaryocytic morphology and 2/7 (%28,5) showed predominantly giant megakaryocytes. Median myelofibrosis score in mutated cases was 2/3. According to WHO 2016 genetic data beside histomorphologic, clinical and laboratory findings should be evaluated to determine diagnosis, progression, prognosis and treatment outcome. JAK2V617F mutation analysis is the first step in genetic evaluation, but all genetic data should be assessed in correlation with bone marrow morphology and laboratory findings.

Key words: Hematopathology, Myeloproliferative Neoplasm, JAK2

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Polistemi Vera	2
2.2. Primer Myelofibrozis	3
2.3. Esansiyel Trombositoz	5
2.4. JAK2 (Janus Kinaz 2)	6
3. GEREÇ VE YÖNTEMİ	8
3.1. Etik Kurul Onamı	8
3.2. Olgı Seçimi ve Yöntem	8
3.3 Klinik Bulgular	8
3.4. Histopatolojik değerlendirme	8
3.5. Moleküler Yöntemlerle JAK2 Ekzon 14 Mutasyon Analizi	10
3.6. İstatistiksel Analiz	10
4. BULGULAR	11
4.1. Demografik ve Klinik Bulgular	11
4.2. Histopatolojik Bulgular	12
4.3. JAK2 Ekzon 14 Mutasyon Bulguları	15
5. TARTIŞMA	17
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	21
7. KAYNAKLAR	22
8. EKLER	25
Ek 1. Etik Kurul Onayı	25

KISALTMALAR

CALR	: KALRETİKÜLİN
DSÖ	: DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜ
ET	: ESANSİYEL TROMBOSİTOZ
JAK	: JANUS KİNAZ
MF	: MYELOFİBROZİS
MPL	: MYELOPROLİFERATİF LÖSEMİK VİRÜS ONKOGEN
MPN	: MYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİ
PMF	: PRİMER MYELOFİBROZİS
PV	: POLİSTEMİ VERA
WHO	: WORLD HEALTH ORGANISATION

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
3.1. Myelofibrozis skorlaması	9
3.2. Megakaryositlerde nükleer lobülasyon.	9
3.3. Megakaryosit dağılım ve kümelenme özellikleri.	10
4.1. Çalışmaya dahil edilen olguların cinsiyet dağılımı	11
4.2. Çalışmaya dahil edilen olguların klinik durumları	11
4.3. Kemik iliği biyopsisi olan olgularda myelofibrozis skoru dağılımı	12
4.4. Myelofibrozis skoru 0/3, 1/3, 2/3 ve 3/3 olarak değerlendirilen hastalar	13
4.5. Bir kısmı hiperkromatik, bir kısmı “bulut benzeri” özellikler gösteren nükleuslara sahip sıkı gruplar oluşturan displastik megakaryositler	13
4.6. Değişken morfolojide megakaryositler	14
4.6. Gevşek gruplar oluşturan hiperlobüle nükleuslara sahip dev megakaryositler	14
4.7. JAK2 ekzon 14 V617F mutasyonu dağılımı	15

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
4.1. JAK2 V617F mutasyonu olan olgularda klinik semptomlar ve histopatoloji	16



1. GİRİŞ

Myeloproliferatif neoplaziler (MPN) birden fazla myeloid seride klonal proliferasyon ile karakterize hematopoetik kök hücre hastalıklarıdır. Bu neoplazilerde etyolojide çoğunlukla bir tirozin kinaz aktivasyonu izlenmektedir. Bu etyolojik mekanizma dışında matürasyon defekti olmayan hücrelerden oluşan neoplastik popülasyonların varlığı, tam kan sayımında en az bir hematopoetik seride artış, sinsi klinik gidiş ve splenomegali gibi ortak bazı özellikler mevcuttur ⁽¹⁾. MPN'lerin doğru sınıflandırılması prognoz, tanı ve risk durumunu belirlemek için önemlidir. Bu sınıflandırmada genetik değerlendirme mutlaka gerekmektedir. İlk basamak olarak kronik myeloid lösemi (KML) tanısı doğrulanmalı veya dışlanmalıdır. KML tanısında ise Philadelphia kromozomu/BCR-ABL1 füzyonunun varlığı gösterilmelidir (2). KML dışındaki myeloproliferatif neoplaziler içinde klasik BCR-ABL1 negatif olanlar (polistemi vera, esansiyel trombositoz ve primer myelofibrozis) ve daha nadir olarak görülen kronik nötrofilik lösemi, mast hücre hastalıkları, PDGFRA/B,FGFR1 mutasyonu gösteren myeloid neoplaziler, kronik eozinofilik lösemi ile MPN-NOS (başka türlü sınıflandırılmayan) yer almaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2008 sınıflandırmasına kadar klasik BCR-ABL1 negatif antitelerde tanıda klinik, laboratuvar ve histomorfolojik kriterler kullanılmaktaydı. DSÖ 2008 sınıflandırmasında Janus kinaz 2 (JAK2), myeloproliferatif lösemi virüs onkogen (MPL) ve KIT gibi moleküler belirteçlerinin tanımlanması; polistemi Vera (PV), esansiyel trombositoz (ET) ve primer myelofibrozis (PMF) tanısında yardımcı olmuştur (3). Ayrıca son yıllarda bu hastalıklarda calretikülin (CALR) ve CSF3R gibi mutasyonların tanımlanması myeloproliferatif hastalıkların tanısında moleküler biyobelirteçlerin bakılmasının önemini arttırmaktadır (4).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Polistemi Vera

Polistemi vera belirgin eritrositoz ile karakterize, myeloid hücrelerin klonal proliferasyonu ile giden bir MPN'dir. Genellikle orta yaşta görülen PV vakalarının çoğu tanı anında asemptomatiktir. Bir kısmında ise tromboz bulguları ortaya çıkabilmektedir. PV'nin tipik olarak 3 fazı bulunmaktadır: Prepolistemik faz, belirgin polistemi evresi ve postpolistemik myelofibrozis. Hastalarda hemoglobin/hematokrit (Hb/Hct) düzeyleri ve eritrosit kitlesinde artış yanı sıra, %60 vakada trombosit ve lökosit sayılarında artış izlenmektedir. Serum EPO düzeyleri düşüktür. Kemik iliği biyopsisinde orta-ileri derecede hiperselüler görünüm ve panmyelozis görülmektedir. Megakaryositler sinüzoidler ve/veya kemik trabekülleri komşuluğunda yerleşmekte olup, değişken boyutlarda ve hiperlobüle formlar dikkati çekmektedir ⁽⁵⁾. PV hastalarının tümünde JAK2V617F mutasyonu veya fonksiyonel olarak benzer bir mutasyon izlenmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2016 revize edilmiş haline göre polistemi vera tanısında kullanılan majör kriterler artmış Hb-Hct düzeyleri (erkeklerde >16,5g/dL-%49, kadınlarda 16.0 g/dL->%48), artmış eritrosit kitlesi (ortalama beklenen eritrosit kitlesinden %25 daha fazla), kemik iliği bulguları (hiperselülerite/panmyelozis/değişken boyutlarda matür megakaryosit proliferasyonu), JAK2V617F veya ekzon 12 mutasyonu'dur. Düşük serum eritropoietin (EPO) düzeyi ise minör bir kriterdir. Tanı için iki majör kriter veya ilk iki majör kriter ve minör kriter varlığı gerekmektedir ⁽¹⁾. Hastaların %96'sında JAK2V617F fonksiyon kazanımı mutasyonu izlenmekte olup, bu mutasyon PV için spesifik değildir ⁽⁶⁾. Olguların geri kalanında büyük oranda ekzon 12 JAK2 mutasyonu mevcuttur ⁽⁷⁾. PV ayırıcı tanısında Hb/Hct düzeylerinde ve eritrosit kitlesinde artışa neden olan diğer durumlar ekarte edilmelidir. Hipoksi, yüksek oksijen afiniteli Hb, eritropoietin reseptör eksikliği veya eritropoietin salgılayan bir tümör varlığı gibi sekonder polistemi sebeplerinde eritropoietin seviyesi artışı yanı sıra JAK2 mutasyonunun izlenmemesi önemlidir. Prepolistemik faz PV kriterlerini her zaman karşılamasa da; belirgin polistemi PV'yi diğer MPN'lerden ayıran en önemli özelliştir. Kemik iliği biyopsisinde panmyelozis oluşu PV'yi de ET'den ayırmada yardımcıken, PMF'de izlenen atipik megakaryosit morfolojisinin PV'de

bulunmayışı iki antitenin ayırıcı tanısında önemlidir ⁽⁵⁾. Ayrıca CALR ve MPL mutasyonlarının varlığı PV dışlayan birer faktördür ⁽⁸⁾. Risk belirlemede genellikle yaş, tromboz öyküsü, ve lökositoz varlığı kullanılmaktadır ⁽⁹⁾. JAK2 alel yükü trombotik olaylar ve myelofibrozis için bir risk faktörü olduğu bildirilmektedir ⁽¹⁰⁾. Günümüzde polistemi vera tedavisinde ana hedefler trombozu engellemek ve eritrosit kitlesini azaltmaktır. Bu amaçla terapötik flebetomi ve hidroksiüre gibi sitoredüktif metodlar kullanılmaktadır. JAK2 inhibitörleri ve diğer hedefe yönelik tedaviler mevcut olmakla birlikte, şu anda sadece klinik çalışma düzeyinde denenmektedir ⁽¹¹⁾. Polistemi vera'da 5 yıllık sağkalım %90'ın üzerindedir.

2.2. Primer Myelofibrozis

Primer myelofibrozis granülositik ve megakaryositik proliferasyon, reaktif kemik iliği fibrozis ve ekstramedüller hematopoez ile karakterize klonal kök hücre hastalığıdır ⁽¹⁾. Fibrozisin çok hafif düzeyde olduğu veya hiç izlenmediği hiperselüler evreden , belirgin fibrozis hatta osteoskleroza kadar ilerleyen bir hastalıktır. Fibrotik evrede periferik kanda lökoeritroblastik tablo ve gözyaşı şeklinde eritrositler izlenir. PMF orta-ileri yaşta izlenen nadir bir hastalıktır. Tanı anında hastaların 1/3'ü asemptomatiktir. Vakaların %30'u prefibrotik/selüler evrede yakalanır. Klinik bulgular genellikle kemik iliği fibrozisi ile birlikte çıkar. Splenomegali de ekstramedüller hematopoezin izlendiği bu evrede ortaya çıkar ve 10 cm'i geçebilir. Fibrozis sekonderdir ve klonal değildir. Neoplastik megakaryositlerden salınan başta transforme edici büyüme faktörü - $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) gibi faktörlerin etkisiyle oluşur. PMF etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, JAK2, CALR ve MPL mutasyonlarının patogeneizde rol oynadığı tanımlanmıştır. Olguların %50-60'ında JAK2V617F, %20-25'inde CALR ve %5-10'unda MPL mutasyonu izlenmektedir ⁽⁸⁾. Trombositoz- özellikle evren evrede- en belirgin hematolojik bulgu olup, hastaların %86'sında izlenmektedir. Bunun dışında anemi ve lökositoz da izlenebilen hematolojik bulgulardır. Periferik kanda lökoeritroblastik tablo, gözyaşı eritrositler haricinde ekstramedüller hematopoezin bir bulgusu olarak mikromegakaryositler de izlenebilir. Fibrotik evrede kanda blastlar da saptanabilmekle birlikte %10'unda altında olmalıdır. *Dünya sağlık örgütü 2016 sınıflamasındaki majör kriterler:* megakaryosit proliferasyonu ve atipisi, sıklıkla eşlik eden retikülin ve/veya kolajen

fibrozisi veya fibrozis yokluğunda megakaryosit proliferasyona eşlik eden megakaryosit değişiklikleri; granülositik seride artış ve eritroid seride azalma içeren selüler kemik iliği; PV, KML, MDS veya myeloid bir neoplazinin dışlanması; JAK2V617F, CALR, MPL mutasyonu gösterilmesi ve klonal bir belirtecin varlığının gösterilmesi. Minör kriterler ise; anemi, lökositoz ($>11.0 \times 10^9 /L$), splenomegali, serum laktat dehidrogenaz düzeylerinde artış, lökoeritroblastozistir ⁽¹⁾. Prefibrotik evre belirgin megakaryositik proliferasyon ile karakterizedir. Granülositik seride artış ve eritroid seride ise azalma izlenebilirken, her iki seri de immatüriteye kayma saptanabilir. Megakaryositler paratrabeküler alanda sıkı kümeler oluşturur ve boyut değişkenliği sergiler. Hiperkromatik, bulböz (bulut-benzeri) nükleuslar, hiposegmentasyon, düzensiz lobülasyon ve “çıplak” nükleus varlığı gibi belirgin morfolojik atipiye sahiptirler. Bu megakaryosit morfolojisini tanımak selüler PMF’i özellikle ET’den ayırmada önemlidir. PMF’in ayırıcı tanısındaki en önemli antiteler kemik iliğinde belirgin fibrozis ile giden hematolojik veya non-hematolojik neoplazmlar, toksik süreçler, böbrek hastalıkları, otoimmün hastalıklar, hiperparatiroidizm ve osteopetrozis gibi diğer durumlardır. Prognoz 3.5 ile 10 yıl arasında değişiklik göstermektedir. PMF’de risk sınıflaması yapmak gereklidir. Kötü prognoz ile ilişkili faktörler, ileri yaş ($<65y$), $>10g/dL$ Hb, $>30 \times 10^9/L$ lökosit, $<100 \times 10^9/L$, %1-3 blast düzeyi veya immatür nötrofillerin en az %10 olması ve konstitüsyonel semptomlardır. Kompleks sitogenetik anomalilerdir de kötü prognozla ilişkilidir ⁽¹²⁾. PMF’de JAK2 mutasyon varlığı tromboz riskinde artış ile ilişkiliyken, CALR mutasyonu varlığı daha genç yaş, yavaş seyirli hastalık ve JAK2 pozitif vakalara göre daha iyi prognoz ile karakterizedir ⁽¹³⁾. Her üç mutasyonunun da negatif (triple negatif) olduğu vakaların ise daha kötü prognoz ve daha yüksek akut lösemik transformasyonu sahip olduğu bildirilmektedir ^{(13), (14)}. Ayrıca PMF’de bazı epigenetik genlerdeki mutasyonların (ASXL1, TET2, SRSF2, IDH1/2) ve sitogenetik anomalilerin ($12p-$, $+8$, $-7/7q-$) de prognoz ve tedavide yönlendirici oldukları bildirilmektedir ^{(15), (16)}. Düşük riskli hastalarda tedavi gerekli olmazken, seçilmiş yüksek riskli hastalarda kök hücre nakli yapılabilir. Yeni ortaya çıkan JAK2 inhibitör tedaviler klinik çalışma aşamasındadır. Kök hücre nakli ve JAK2 inhibitör tedavileri ile fibroziste düzelme bildirilmektedir ⁽¹⁷⁾.

2.3. Esansiyel Trombositoz

Esansiyel trombositoz devam eden trombositoz ve iri, matür megakaryosit proliferasyonu ile karakterize BCR-ABL1 negatif bir myeloproliferatif neoplazidir ⁽³⁾. Hastalığın ortalama görülme yaşı 55 olup, hafif derecede kadın baskınlığı izlenmektedir. Hastaların yarısı tanı anında asemptomatiktir. Semptomatik hastalarda mikrovasküler dolaşım bozukluklarına bağlı baş ağrısı, baygınlık hissi, eritromelalji ve akral paresteziler bildirilmektedir. Tromboz ve hemoraji de ET’de sık görülen komplikasyonlardır ⁽¹⁸⁾. Etiyoloji bilinmemekle birlikte JAK2, CALR ve MPL mutasyonları patogeneizde anahtar rol oynamaktadır. Laboratuvar bulguları belirgin trombositoz ($>450 \times 10^9 /L$) ve Hb/Hct değerlerinin PV’yi karşılamamasıdır. Lökosit düzeyleri genellikle normaldir. Periferik kan yaymasında trombosit sayısında artış ve kümelenme görülür. İri trombositler izlense de atipik veya displastik trombositler mevcut değildir. Kemik iliği normoselüler veya hafif derecede hiperselüler olup, megakaryositlerde belirgin artış mevcuttur. Megakaryositler kemik iliğine serpiştirilmiş olabilir veya gevşek kümeler yapabilir. Geniş matür sitoplazmalı, belirgin lobülasyon gösteren iri hatta dev megakaryositler izlenir. Atipi veya displastik değişiklikler göstermezler. Granülositik proliferasyon belirgin değildir. Eritroid hiperplazi hasta yakın zamanda kanama geçirdiyse izlenebilir. Retikülün fibrozis genellikle yoktur. Vakaların %60’ı JAK2V617F mutasyonu, %25’i CALR mutasyonu ve %5’i ise MPL mutasyonu gösterirken, %10’u ise triple negatiftir. Dünya Sağlık Örgütü’ne göre majör kriterler: trombosit düzeyinin sürekli $>450 \times 10^9 /L$ olması; kemik iliğinde sayıca artmış, iri, hiperlobe, matür megakaryositler olması, artmış veya sola kaymış granülpoez ve eritropoez bulunmaması; PV, PMF, KML veya MDS kriterlerinin karşılanmaması; JAK2V617F, CALR veya MPL mutasyonu gösterilmesi. Minör kriter klonal bir belirteç varlığı ve veya reaktif trombositoz varlığını kanıtlayacak bir bulgu olmaması. Tüm majör kriterlerin karşılanması veya ilk üç majör kriter ve minör kriterin varlığı tanı koydurucudur ⁽¹⁾. Demir eksikliği anemisi, aspleni, travma, kanama, hemoliz, inflamatuvar süreçler gibi reaktif trombositoz etkenlerinin ekarte edilmesi ayırıcı tanıda önemlidir ⁽¹⁹⁾. Klonal sitogenetik bir anomalinin veya kazanılmış bir mutasyonun gösterilmesi reaktif bir trombositozu neoplastik bir süreçten ayırır. ET’yi diğer BCR-ABL1 negatif MPN’lerden ayırmada kemik iliği biyopsisinde megakaryosit morfolojisi ve kan

değerleri yardımcıdır. ET prognozu alan hastalarda ilk 10 yılda sağkalım süreleri hasta olmayan bireylerle aynıdır. Bundan sonraki zamanda tromboz mortalitenin ana sebebidir. Tromboz için risk faktörleri; 60 yaş üstünde olmak, tromboz hikayesi, JAK2 pozitifliği ve altta yatan kardiyovasküler risk faktörleridir ^{(20), (21)}.

2.4. JAK2 (Janus Kinaz 2)

JAK2 (Janus Kinaz 2); bir non-reseptör tirozin kinaz olup, transkripsiyonun *sinial ileticileri* ve aktivatörlerini (STAT) fosforile eden Janus Kinaz (JAK) ailesinin bir üyesidir. JAK-STAT yolu proliferasyon, differansiasyon, migrasyon, apoptoz ve hücre sağkalımında rol oynamaktadır ⁽²²⁾. JAK2 geni 9. Kromozomun kısa kolunda yerleşmektedir.

JAK2 geninde ekzon 14'ün 1849. nükleotidinde guanin yerine timin geçmesi sonucu, 617. kodonda valin yerine fenilalanin oluşmaktadır (JAK2V167F). Bu mutasyon JH2 otoinhibitör bölgesinde yer almaktadır. Bu mutasyon otofosforilasyona ve bunun sonucunda JAK-STAT yolağının sitokinlerden bağımsız olarak aktivasyonuna neden olmaktadır. Multipotent hematopoetik progenitor hücrede oluşan JAK2V167F mutasyonu; myeloid serinin tüm hücrelerinde mevcuttur; ayrıca özellikle B ve NK hücreleri olmak üzere lenfoid hücrelerde de izlenebilir. Hematopoetik olmayan hücrelerde bu mutasyonu beklemeyiz. JAK2V617F mutasyonu, ring sideroblast ve trombositoz ile giden refrakter anemi (RARS-T) hariç, genellikle klasik MPN'lere sınırlıdır ⁽²³⁾. Nadiren diğer bazı malign hematolojik hastalıklarda izlenebilir.

JAK2V617F mutasyonu PV olgularının %96'sında, ET ve PMF olgularının %50-60'ında görülmektedir ⁽⁶⁾. PV olgularının geri kalan kısmında büyük oranda ekzon 12 mutasyonu izlenmektedir (7). JAK2 genindeki mutasyonlar PV tanısı vermekte yararlı olmakla birlikte, PV'yi ET veya PMF'den ayırmada yardımcı değildir. Yüksek JAK2 allel yükünün artmış trombovasküler olay riski, daha yüksek Hb, trombosit ve lökosit düzeyleri, daha belirgin splenomegali ve myelofibroze ilerleme riskinde artış ile ilişkilidir ⁽²⁴⁾.

JAK2 inhibitör tedavileri semptomları kötüleşen, vasküler olaylar yaşayan veya hidroksi direnci veya intoleransı olan hastalarda kullanılabileceği bildirilmektedir ⁽¹¹⁾.

Hematolenfoid tümörlerin DSÖ 2016 sınıflandırmasında JAK2 yanısıra MPL ve Calretikülin gen mutasyonları da tanı algoritması içine dahil edilmiştir. Yaklaşık son on yıl içindeki çalışmalar bu genlerdeki mutasyonların patogeneizde rol oynadığını ortaya koymuştur. Ayrıca hastalık prognozu ile ilişkiler yapılan klinik gözlemlerle aydınlanmaya başlamıştır ki, JAK2 ve/veya CALR mutasyonu olanlara göre hiçbir mutasyonun mevcut olmadığı MPN hastalarında daha düşük genel sağkalım ve daha yüksek lösemik transformasyon oranları bildirilmektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEMİ

3.1. Etik Kurul Onamı

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nda çalışma için etik izin alındıktan sonra (karar no: GO 17/730-24), Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından THD-2018-16691 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak desteklendi.

3.2. Olgu Seçimi ve Yöntem

Bu çalışmaya Hacettepe Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda BCR-ABL1 negatif Klasik Myeloproliferatif Neoplazi (Polistemi Vera, Esansiyel Trombositoz veya Primer Myelofibrozis) tanısıyla takip edilmekte olan ve hastanemizde periferik kan örneği alınmış olan hastalar dahil edildi. Bu şekilde 87 hastaya ulaşıldı. Veri tabanından hastaların yaş, cinsiyet, klinik bulgularına ulaşılmıştır. Hastaların 19 tanesinin Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda kemik iliği biyopsi örnekleri mevcut olduğu kaydedilmiştir. Bu olgulara ait H&E boyalı kesitler ve MGG boyalı yayma preparatlar tekrar değerlendirilmiştir.

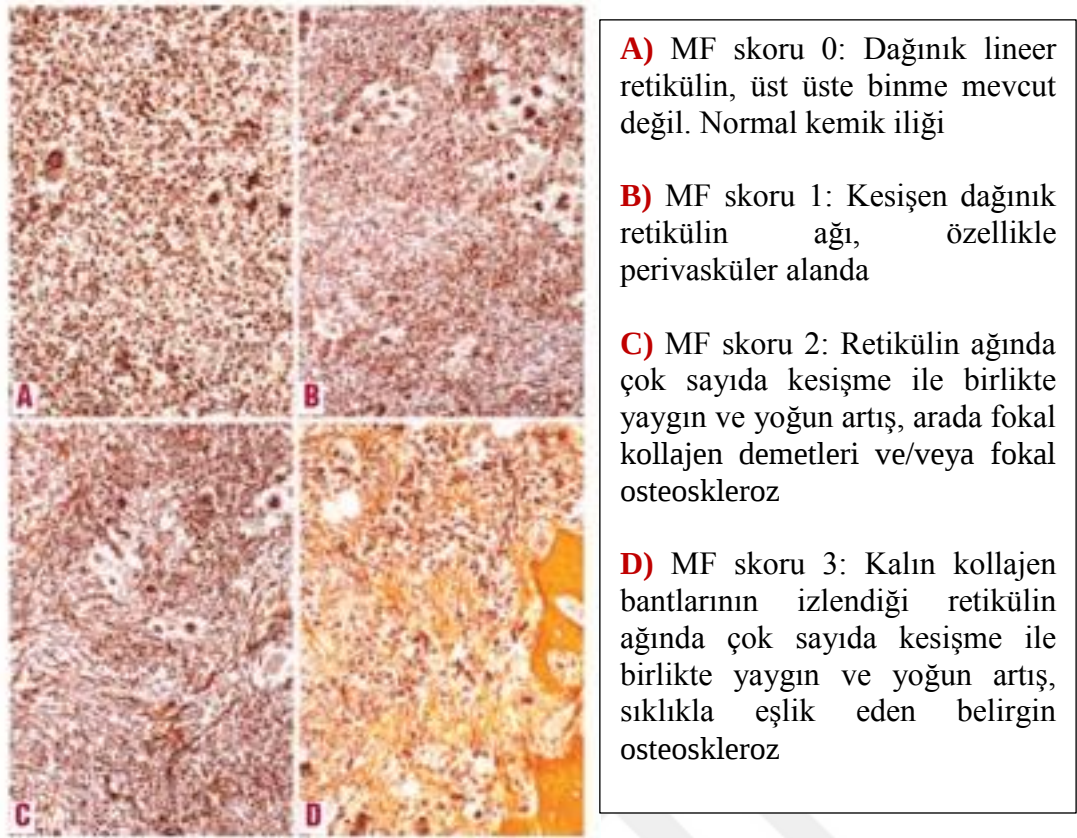
3.3 Klinik Bulgular

Olguların klinik semptomlarına ait veriler Hacettepe Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı arşivinden elde edilmiştir. Klinik semptom veren hastalarda konstitusyonel bulgular, trombovasküler olaylar ve/veya hemorajik olayların varlığı kaydedilmiştir.

3.4. Histopatolojik değerlendirme

Bölümümüze kemik iliği biyopsi örneği gelen ve myeloproliferatif neoplazi tanısı almış 19 olguya ait H&E boyalı kesitler ve MGG boyalı yayma preparatlar arşivden çıkarılarak tekrar değerlendirildi. Tekrar değerlendirme sırasında megakaryosit morfolojisi, displazi ve retikülin fibrozisi göz önüne alındı.

Retikülin fibrozis skorlamasında semikantitatif kemik iliği myelofibrozis (MF) skorlaması kullanıldı (Şekil 3.1) (25):



Şekil 3.1. Myelofibrozis skorlaması ⁽²⁵⁾

Megakaryosit morfolojisi değerlendirilirken hücre boyutu, nükleus morfolojisi, sayısı, yerleşimi ve kümelenme özellikleri göz önüne alındı (Şekil 3.2), (Şekil 3.3) ⁽⁵⁾.



Şekil 3.2. Megakaryositlerde nükleer lobülasyon. A) Polistemi Vera B) Esansiyel Trombositoz C) Primer Myelofibrozis ⁽⁵⁾



Şekil 3.3. Megakaryosit dağılım ve kümelenme özellikleri. A) Polistemi Vera B) Esansiyel Trombositoz C) Primer Myelofibrozis ⁽⁵⁾

3.5. Moleküler Yöntemlerle JAK2 Ekzon 14 Mutasyon Analizi

Çalışmada Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji Laboratuvarı arşivinde mevcut daha önceden periferik kandan elde edilerek saklanmış DNA örnekleri kullanıldı. JAK2 geninde literatürde özgül mutasyonların yoğunlaştığı belirtilen ekzon 14 bölgesi için dizayn edilmiş *forward* ve *reverse* primerler kullanıldı. Primerlerin her birinin 5' ucunda M13 primer dizileri bulunmaktadır. PCR ile çoğaltılan gen örnekleri PCR temizleme kiti ile pürifiye edildi. Jelde görüntülendikten sonra, dideoksi PCR ile dizileme için örnekler oluşturuldu. AB3500 cihazının ilgili kit ve solüsyonları kullanılarak, AB3500 dizileme cihazında her bir ekzon için dizileme yapıldı. Dizi analizi yine AB3500 software kullanılarak yapıldı.

Primer dizileri.

jak2_14_F	TGTAAAACGACGGCCAGTgggttcctcagaacgttga
jak2_14_R	CAGGAAACAGCTATGACtcattgcttccttttcacaa

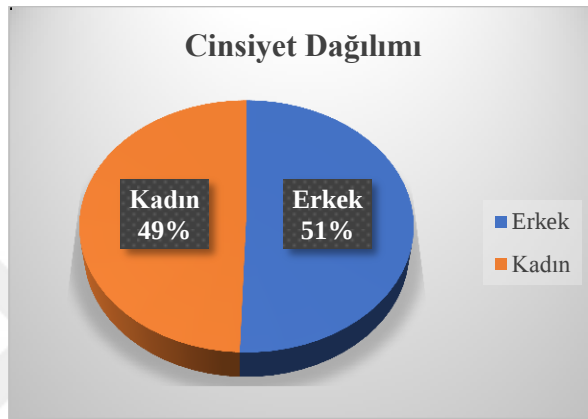
3.6 İstatistiksel Analiz

Tanımlayıcı değişkenler için sayı ve yüzde değerleri ile sayısal değişkenler için ortanca ve ortalama değerleri kullanılmıştır. İstatistiksel analiz IBM SPSS 20 paket programında yapılmıştır.

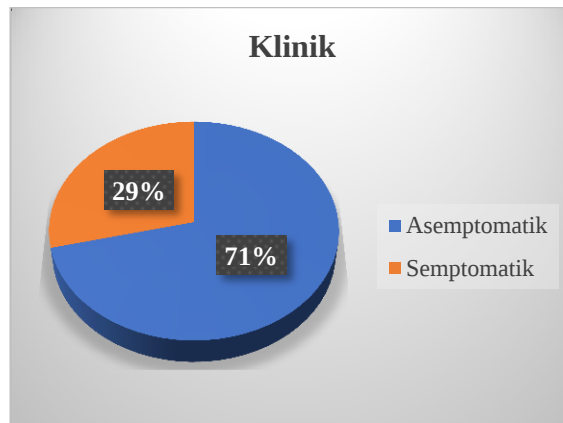
4. BULGULAR

4.1. Demografik ve Klinik Bulgular

Olguların 44'ü (%51) erkek , 43'ü (%49) kadındır (Şekil 4.1) (Tablo 4.1-1). Ortalama yaş 49'dur. Seksen yedi hastanın 62'ü (%72) asemptomatikken, 25'i (%28) bir veya daha fazla klinik semptoma sahiptir (Şekil 4.2), (Tablo 4.1).



Şekil 4.1. Çalışmaya dahil edilen olguların cinsiyet dağılımı



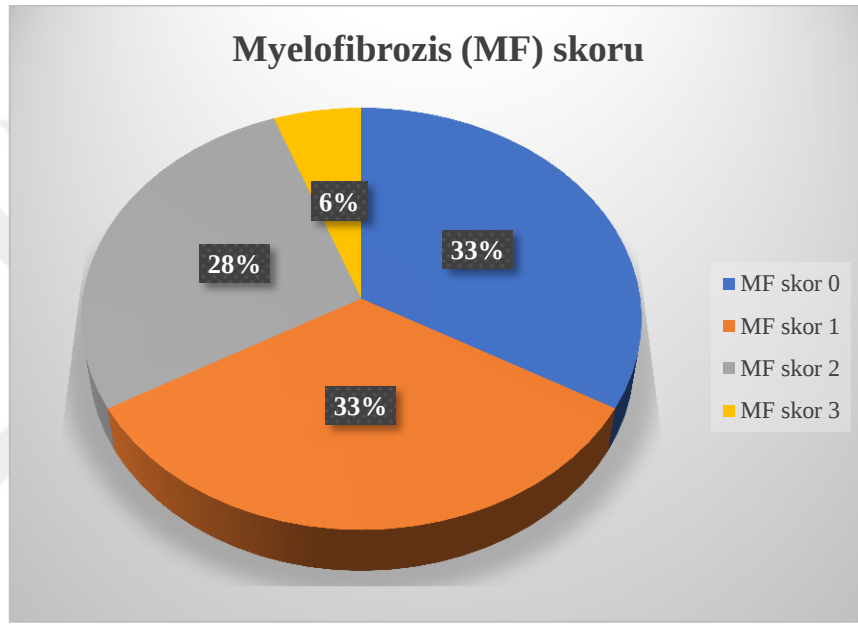
Şekil 4.2. Çalışmaya dahil edilen olguların klinik durumları

Semptomatik 25 olgunun 22'sinde (%88) tromboembolik olay izlenmiştir. Konstitusyonel semptomlara sahip 7 olgu bulunmakta olup, 5'inde eşlik eden tromboembolik olay mevcuttur. Sadece 4 semptomatik vakada hemorajik bir komplikasyon izlenmiş olup, bu olguların üçünde eşlik eden tromboembolik olay izlenmiştir.

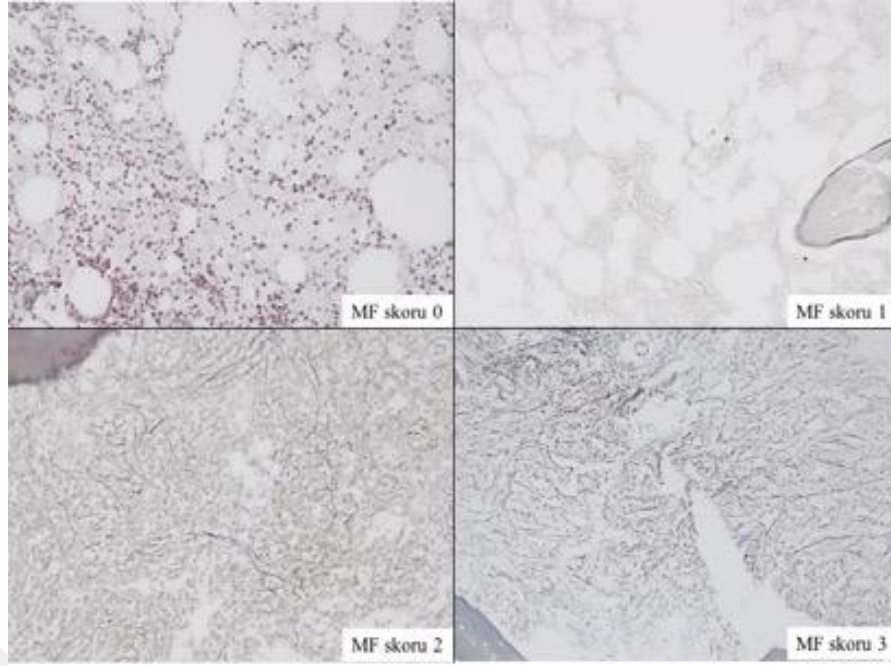
4.2. Histopatolojik Bulgular

Olgulardan 19 tanesinde Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na kemik iliği biyopsi örneği gönderilmiş olup, bu biyopsilerden bir tanesi histopatolojik değerlendirme için yetersiz niteliktedir.

Ortanca myelofibrozis skoru 1/3 'tür. Yeterli biyopsi örneği bulunan 18 olgunun 6'sı (%33) skor 0/3, 6'sı (%33) skor 1/3, 5'i (%28) skor 2/3 ve 1'i (%6) skor 3/3 (total fibrozis) myelofibrozis skoruna sahiptir (Şekil 4.3), (Şekil 4.4).

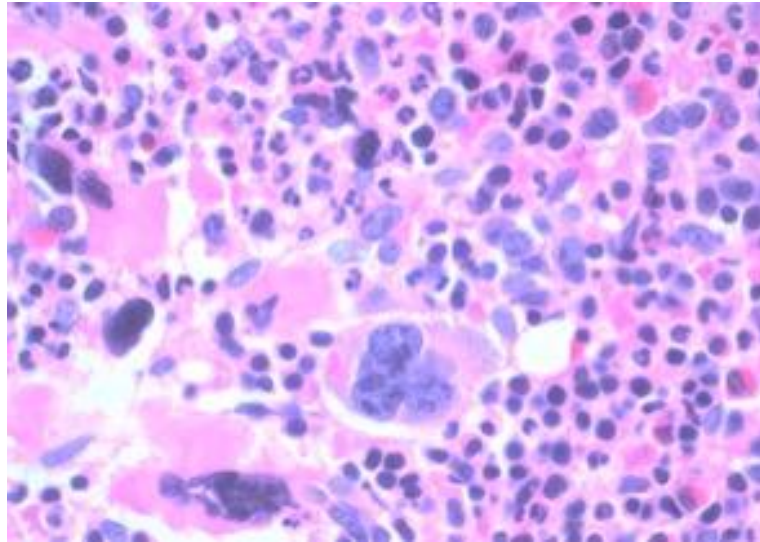


Şekil 4.3. Kemik iliği biyopsisi olan olgularda myelofibrozis skoru dağılımı



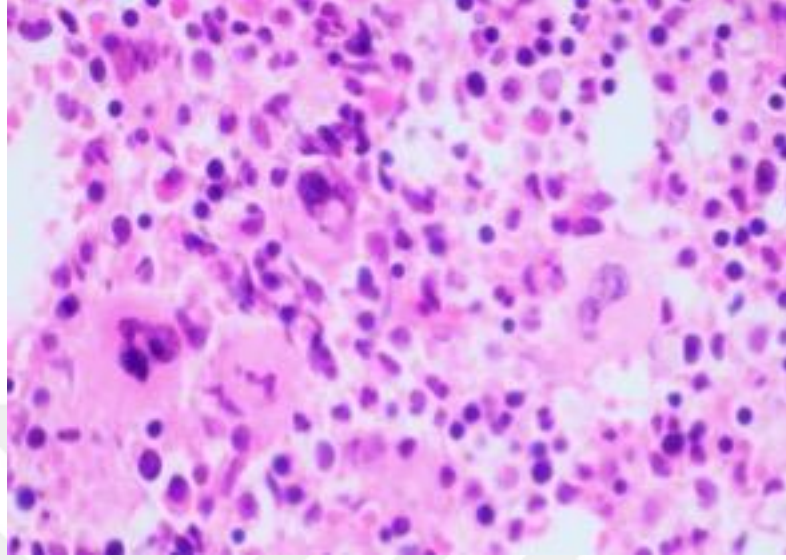
Şekil 4.4. Myelofibrozis skoru 0/3, 1/3, 2/3 ve 3/3 olarak değerlendirilen hastalar

Histopatolojik değerlendirme olguların 10/18'sinde (%52.6) megakaryositlerde displazi izlendi (Şekil 4.5).



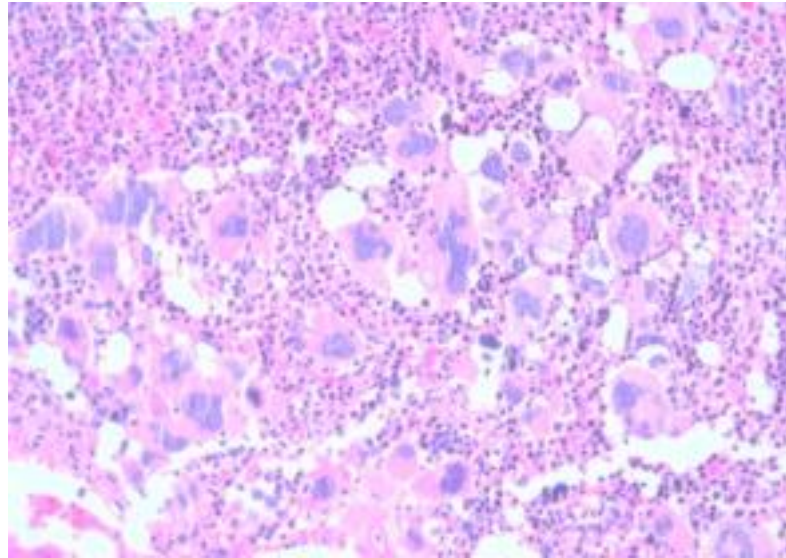
Şekil 4.5. Bir kısmı hiperkromatik, bir kısmı “bulut benzeri” özellikler gösteren nükleuslara sahip sıkı gruplar oluşturan displastik megakaryositler (400x HE)

Olguların 9/18'sinde (%50) megakaryosit boyut, nükleer lobülasyon ve şekillerinde değişkenlik mevcuttur (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Değişken morfolojide megakaryositler (400x HE)

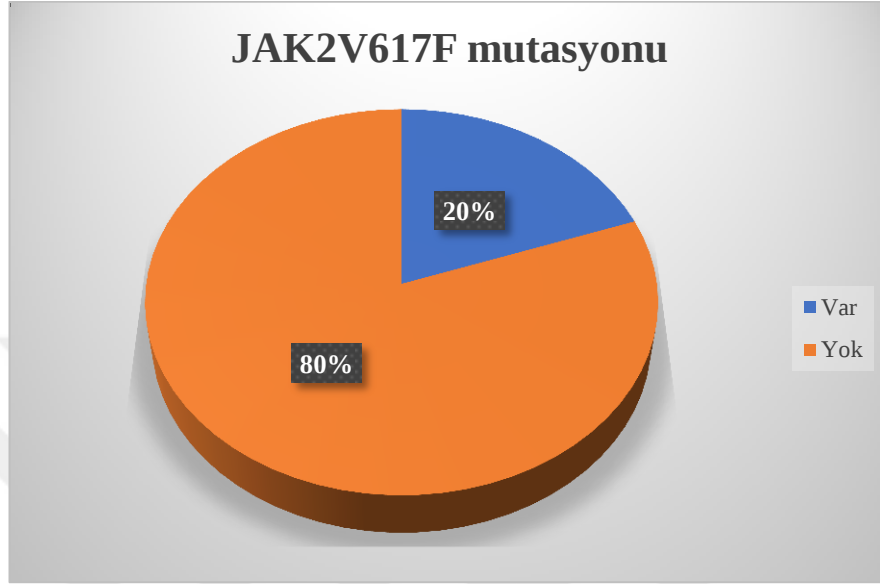
Dev formda megakaryositler olguların 6/18'sinde (%33,3) izlendi (Şekil 4.2-5).



Şekil 4.6. Gevşek gruplar oluşturan hiperlobüle nükleuslara sahip dev megakaryositler (200x HE)

4.3. JAK2 Ekzon 14 Mutasyon Bulguları

Olguların 17/87'sinde (%20) JAK2 ekzon 14'te V617F mutasyonu saptandı (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. JAK2 ekzon 14 V617F mutasyonu dağılımı

JAK2 V617F mutasyonu saptanan olguların 8/17'sinde (%47) klinik bulgu mevcut olup, klinik bulgu olarak hepsinde tromboembolik olaylar izlenmiştir (Tablo 4.3-1). Trombovasküler olay izlenen toplam 22 vaka mevcut olup 8'inde (%36) JAK2V617F mutasyonu mevcuttur.

Mutasyon saptanan vakaların 7/17'sine (%41) ait kemik iliği biyopsisi mevcuttur. Bu olgularda kemik iliği ortanca myelofibrozis skoru 2/3'tür. Histopatolojik değerlendirmede JAK2 mutasyone olguların 6/7'sinde (%85.7) megakaryositlerde displazi izlenmiştir. Olguların 5/7'sinde (%71.5) megakaryosit morfolojik olarak değişkenlik gösterirken, 2/7 (%28.5) olguda dev formlar hakimdir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. JAK2 V617F mutasyonu olan olgularda klinik semptomlar ve histopatoloji

Konstitisyonel semptomlar	Tromboembolik Olay	Hemorajik Olay	Retikülin Fibrozis	Megakaryosit Morfolojisi
(-)	(+)	(-)	Ø	Ø
(-)	(-)	(-)	Ø	Ø
(-)	(-)	(-)	Ø	Ø
(-)	(-)	(-)	Ø	Ø
(-)	(+)	(-)	Ø	Ø
(-)	(+)	(-)	2	Displazi var. Değişken boyut
(-)	(-)	(-)	Ø	Ø
(-)	(+)	(-)	Ø	Ø
(-)	(-)	(-)	0	Displazi var. Değişken boyut
(-)	(+)	(-)	2	Displazi var. Değişken boyut
(-)	(+)	(-)	2	Displazi var. Değişken boyut
(-)	(-)	(-)	Ø	Ø
(-)	(-)	(-)	2	Displazi var. Değişken boyut
(-)	(-)	(-)	1	Displazi var. Dev formlar hakim
(-)	(+)	(-)	Ø	Ø
(-)	(-)	(-)	1	Displazi var. Dev formlar hakim
(-)	(+)	(-)	Ø	Ø

Ø: Kemik iliği biyopsisi yok

5. TARTIŞMA

Myeloproliferatif neoplaziler, hematopoetik kök hücrelerin klonal proliferatif hastalıklarıdır. BCR-ABL1 negatif klasik MPN'lerde (ET, PV ve PMF) örtüşen morfolojik, moleküler özellikler ve kompleks kriterler nedeniyle tanı süreci zorlayıcı olabilir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2016 sınıflamasında bu tanı kategorisi için klinik, laboratuvar, histopatolojik ve moleküler veriler bir arada kullanılmaktadır ⁽¹⁾.

MPN'lerde JAK2V617F mutasyonu ilk defa 2004 yılında tanımlanmış olup, literatürde ilk yazılar 2005 yılında çıkmıştır. Böylece bu hastalık grubu ile ilişkili genetik değişiklikler anlaşılmaya başlandı ⁽²⁶⁾. JAK2 geni 9. kromozomun kısa kolunda (9p24) yerleşim göstermektedir, 25 ekzon içermektedir ve kodladığı protein 1132 aminoasitten oluşmaktadır. JAK2, Janus ailesinin non-reseptör protein kinazlarından biridir. Janus kinaz/transkripsiyonun *sinyal ileticileri* ve aktivatörleri (JAK-STAT) yolağı hücrede çok çeşitli süreçlerde rol oynamaktadır. Hematopoetik, immün, kardiyak ve diğer birçok hücre grubunda proliferasyon, sağkalım ve normal fonksiyonları için önemlidir.

JAK2V617F mutasyonu ekzon 14'te, guanin yerine timin geçmesi ile 1849. nükleotidin değişmesi sonucunda, 617. kodonda valin yerine fenilalanin kodlanması ile karakterizedir. Bu mutasyon sonucu JAK2 proteinin psödo-kinaz bölgesini etkilenmekte ve kinaz-düzenleyici aktivitesinin bozulmaktadır ⁽²⁶⁾. JAK2V617F *knock-in* fare modelinde, hem heterozigotik hem de homozigotik mutasyon ekspresyonları PV-benzeri hastalık ve sonrasında myelofibrozisle giden daha agresif bir fenotip izlenmiştir. Literatürde yer alan bu ve benzeri verilerin beraberinde, PV hastalarının hemen tümünde bu mutasyonun izlenmesi JAK2 mutasyonu ile eritrositoz arasında bir neden sonuç ilişkisinin olduğunu düşündürmektedir ^{(6), (8), (26)}.

PV hastalarının hemen tümünde bir JAK2 (9p24) mutasyonu izlenmektedir; %96 hastada ekzon 14 (JAK2V617F), %3 hastada ise ekzon 12 mutasyonu saptanmıştır ⁽²⁶⁾. JAK2V617F, ET (%55) ve PMF'de (%65) gözlenirken; ekzon 12 mutasyonu bu hastalarda nadirdir. JAK2V617F mutasyonu BCR-ABL1 negatif MPN olgularında bildirilen en sık mutasyondur. Bazı MDS/MPN sendromları (ring sideroblast ve trombositozla giden myelodisplastik sendrom) ve nadiren de primer akut lösemi, MDS ve KML olgularında da bildirilmiştir. Ancak bu mutasyonun

sağlıklı gönüllüler, reaktif myeloproliferasyon durumları veya lenfoid neoplazmlarda izlenmemesi, myeloid neoplazmlar için spesifik olduğunu desteklemektedir.

JAK2(V617F) mutasyonunun tanımlanmasından hemen sonra, myelofibrozis olgularında myeloproliferatif lösemi virüs onkogeninin (MPL) W515L özgün somatik mutasyonu tanımlanmıştır ⁽²⁷⁾. Daha sonra ET veya PMF hastalarının %5'inde MPL ekzon 10 bölgesinde mutasyonlar bildirilmiştir ⁽²⁸⁾. MPL mutasyonu ET hastalarının %4'ünde, PMF hastalarının ise %8'inde saptanmıştır; PV'de nadirdir. JAK2 veya MPL mutasyonu saptanmayan MPN olgularında, son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda kalretikülin (CALR) ekzon 9 mutasyonları saptanmıştır ^{(4), (29)}. CALR mutasyonu PV hastalarında nadirdir; ET veya PMF hastalarının %20-25'inde izlenmekte olup, varlığı JAK2 ve MPL mutasyonları için dışlayıcıdır ^{(4), (29)}. Çalışmamızda klinik tarafından MPN tanısı ile izlenen hastaların %20'sinde JAK2V617F mutasyonu izlenmiştir.

JAK2V617F pozitifliğinin ET ve PMF'de tanı anında ileri yaş, daha yüksek Hb düzeyleri, lökositoz ve düşük trombosit düzeyleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (30). Yüksek allel yükü PV, PMF ve ET'de lökositoz, PV ve PMF'te kaşıntı, PV'de daha yüksek Hb düzeyleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir .PMF'de düşük allel yükünün kötü prognoz ile ilişkili olduğunu saptanmıştır ^{(13), (31)}. Literatürde PV'de, JAK2 allel yükünün, trombotik olaylar, artmış Hb düzeyleri, artmış lökosit ve platelet düzeyleri, daha büyük dalak boyutları ve belirgin myelofibrozise dönüşme ile ilişkisi bildirilmiştir ⁽²⁴⁾. Çalışmamızda rastlanılan en sık klinik bulgu trombovasküler olaydır (%86). JAK2 pozitif vakaların yarıya yakınında (%47) trombovasküler olay izlenmiştir.

JAK2, MPL ve CALR mutasyonlarının tümünde ortak fizyopatolojinin JAK-STAT yolağının aktive olması olduğu saptanmıştır ⁽⁸⁾. JAK2 ve MPL mutasyonları sonucu sitokin bağımsız ve hipersensitif myelopoez gerçekleşirken, CALR'ın daha ziyade hücre içi kalsiyum düzeylerine etkisiyle bu yolağa etki ettiği düşünülmektedir ⁽³²⁾. Ancak bu mutasyonların klinik seyir ve sonuçlar üzerinde farklı etkileri olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle JAK2, MPL ve CALR mutasyonlarının varlığını araştırmak sadece tanısal değil prognostik açıdan önemlidir, ve Dünya Sağlık Örgütü 2016 sınıflamasında da yer almaktadır.

Periferal kan örneğinde mutasyon analizi hiyerarşisinde ilk basamak JAK2V617F'tir; negatif olgularda öncelikle CALR, CALR negatif olgularda ise MPL bakılmaktadır ⁽³¹⁾. Her üç mutasyonun negatif olduğu (triple negatif) olgularda da, mutasyon izlenen olgularda da kesin ayırıcı tanıda kemik iliği morfolojisini değerlendirmek gereklidir. Kemik iliği biyopsilerinin histopatolojik değerlendirilmesi; tanı süreci yanı sıra, progresyonun takibi, tedavi yanıtının değerlendirilmesi, risk sınıflaması yapılması ve prognozun öngörülmesinde gereklidir. Çalışmamıza klinik tarafından myeloproliferatif neoplazi ile takip edilen vakalar dahil edilmiştir. Bu nedenle kemik iliği biyopsisi değerlendirilmiş ve BCR-ABL1 negatif klasik MPN tanısı desteklenmiş vaka sayısı azdır. Bu da çalışmamızdaki en önemli kısıtlılık olup, JAK2V617F mutasyonu olan olgu sayısını literatürden farklı olarak, daha düşük (%20) bulmamıza sebep olmuş olabilir. Bu olguların sadece laboratuvar ve klinik verilerle değerlendirilmiş olması, reaktif süreçler veya diğer MPN'lerin vaka grubumuzda yer almış olma olasılığını ortaya çıkarmaktadır.

PV'de kemik iliğinde her üç seride myeloproliferasyon ve pleomorfik megakaryositler, ET'de iri ve matür megakaryositler, PMF'te ise megakaryosit proliferasyon ve atipi (küçükten büyüğe değişken boyut, aberan nükleo/sitoplazmik oran, hiperkromatik ve düzensiz katlantılı nucleus ve sıkı kümeler), eşlik eden retikülin ve/veya kollajen fibrozisi ile karakterizedir. Prefibrotik PMF'te megakaryosit morfolojisi PMF için tipikken, artmış ilik selülaritesi, granulositik proliferasyon ve sıklıkla azalmış eritropoez eşlik etmektedir. Çalışmamıza dahil olan kemik iliği biyopsi örneği buluna hasta sayısı azdır (%20), bu hastalara ait biyopsilerde megakaryositlerde gözlenen en sık bulgu displazidir (%52,6). Hastaların yarısında (%50) değişken boyutlarda nükleuslara sahip megakaryositler izlenmiştir. ET'yi düşündüren iri matür görünümde megakaryositlere sahip hastaların yaklaşık üçte birinde (%33) izlenmiştir. Bu morfolojik bulgulardan JAK2 pozitifliğine eşlik eden en sık bulgu displazidir. Tüm kemik iliği biyopsilerinde izlediğimiz ortalanca myelofibrosis skoru 1/3 iken, JAK2 mutasyone olgularda 2/3 olarak bulunmuştur.

Dünya Sağlık Örgütü'nün tanı kriterlerinde laboratuvar bulgular da yer almaktadır. Eritrositoz PV'yi, trombositoz ET'yi akla getirirken, lökoeritroblastik tablo PMF için önemlidir. Bunun dışında splenomegali, anemi, akuajenik kaşıntı,

portal veya hepatik ven trombozu ve ekstramedüller hematopoez MPN'lerde karşılaşılabilen bulgulardır. Ayrıca MPN'nin ayırıcı tanısına giren demir eksikliği anemisi, postsplenektomi, post-operatif durum, enfeksiyonlar, inflamatuvar hastalıklar, hemoliz, travma gibi reaktif süreçlerin de olduğu akılda tutulmalıdır. Özellikle PV tanısında serum eritropoetin düzeylerinin düşüklüğü yardımcı olabilir. Ayrıca JAK2V617F negative hastalarda, literatürde tanımlanmış JAK2 ekzon 12 mutasyonu ⁽³³⁾ araştırılması, eğer klinik ve histopatolojik şüphe kuvvetli ise akla gelmelidir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Polistemi vera (PV), esansiyel trombositoz (ET) ve primer myelofibrosis (PMF) BCR-ABL1 negatif klasik myeloproliferatif neoplazileri oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü 2016 tanı kriterlerinde bu hastalıkların tanı, progresyon, prognoz ve tedavi takibi süreçlerinde, hem histopatolojik, hem klinik/laboratuvar hem de genetik verilerin kullanılması gerekmektedir. JAK2V617F mutasyon analizi genetik mutasyonların araştırılmasında ilk basamak olarak kullanılmaktadır. Ancak genetik veriler, her zaman kemik iliği morfolojisi ve laboratuvar bulgular ışığında değerlendirilmelidir.



7. KAYNAKLAR

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-405.
2. Vardiman JW. Chronic myelogenous leukemia, BCR-ABL1+. *Am J Clin Pathol*. 2009;132(2):250-60.
3. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114(5):937-51.
4. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2391-405.
5. Kvasnicka HM, Thiele J. Classification of Ph-negative chronic myeloproliferative disorders--morphology as the yardstick of classification. *Pathobiology*. 2007;74(2):63-71.
6. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2005;352(17):1779-90.
7. Pardanani A, Lasho TL, Finke C, Hanson CA, Tefferi A. Prevalence and clinicopathologic correlates of JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythemia vera. *Leukemia*. 2007;21(9):1960-3.
8. Cazzola M, Kralovics R. From Janus kinase 2 to calreticulin: the clinically relevant genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2014;123(24):3714-9.
9. Passamonti F, Maffioli M, Merli M, Ferrario A, Caramazza D. Clinical predictors of outcome in MPN. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2012;26(5):1101-16.
10. Alvarez-Larran A, Bellosillo B, Pereira A, Kerguelen A, Hernandez-Boluda JC, Martinez-Aviles L, et al. JAK2V617F monitoring in polycythemia vera and essential thrombocythemia: clinical usefulness for predicting myelofibrotic transformation and thrombotic events. *Am J Hematol*. 2014;89(5):517-23.
11. Geyer HL, Mesa RA. Therapy for myeloproliferative neoplasms: when, which agent, and how? *Blood*. 2014;124(24):3529-37.
12. Caramazza D, Begna KH, Gangat N, Vaidya R, Siragusa S, Van Dyke DL, et al. Refined cytogenetic-risk categorization for overall and leukemia-free survival in primary myelofibrosis: a single center study of 433 patients. *Leukemia*. 2011;25(1):82-8.
13. Rumi E, Pietra D, Pascutto C, Guglielmelli P, Martinez-Trillos A, Casetti I, et al. Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis. *Blood*. 2014;124(7):1062-9.

14. Tefferi A, Lasho TL, Finke CM, Knudson RA, Ketterling R, Hanson CH, et al. CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: clinical, cytogenetic and molecular comparisons. *Leukemia*. 2014;28(7):1472-7.
15. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2014 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2014;89(9):915-25.
16. Tefferi A. New insights into the pathogenesis and drug treatment of myelofibrosis. *Curr Opin Hematol*. 2006;13(2):87-92.
17. Wilkins BS, Radia D, Woodley C, El Farhi S, Keohane C. Resolution of bone marrow fibrosis in a patient receiving JAK1/JAK2 inhibitor treatment with ruxolitinib. *Haematologica*. 2013;98(12):1872-6.
18. Elliott MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol*. 2005;128(3):275-90.
19. Schafer AI. Thrombocytosis. *N Engl J Med*. 2004;350(12):1211-9.
20. Tefferi A, Barbui T. Personalized management of essential thrombocythemia-application of recent evidence to clinical practice. *Leukemia*. 2013;27(8):1617-20.
21. Montanaro M, Latagliata R, Cedrone M, Spadea A, Rago A, Di Giandomenico J, et al. Thrombosis and survival in essential thrombocythemia: A regional study of 1,144 patients. *American Journal of Hematology*. 2014;89(5):542-6.
22. Patel U, Luthra R, Medeiros LJ, Patel KP. Diagnostic, Prognostic, and Predictive Utility of Recurrent Somatic Mutations in Myeloid Neoplasms. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017;17S:S62-S74.
23. Szpurka H, Tiu R, Murugesan G, Aboudola S, Hsi ED, Theil KS, et al. Refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis (RARS-T), another myeloproliferative condition characterized by JAK2 V617F mutation. *Blood*. 2006;108(7):2173-81.
24. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Rambaldi A, Barosi G, Marchioli R, et al. Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood*. 2007;110(3):840-6.
25. Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, Franco V, van der Walt J, Orazi A. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica*. 2005;90(8):1128-32.
26. James C, Ugo V, Le Couedic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature*. 2005;434(7037):1144-8.
27. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med*. 2006;3(7):e270.
28. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood*. 2006;108(10):3472-6.

29. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2379-90.
30. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Pardanani A, Tefferi A. Clinical correlates of JAK2V617F presence or allele burden in myeloproliferative neoplasms: a critical reappraisal. *Leukemia*. 2008;22(7):1299-307.
31. Tefferi A, Pardanani A. Myeloproliferative Neoplasms: A Contemporary Review. *Jama Oncol*. 2015;1(1):97-105.
32. Imai M, Araki M, Komatsu N. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *Int J Hematol*. 2017;105(6):743-7.
33. Tefferi A, Vannucchi AM, Barbui T. Polycythemia vera treatment algorithm 2018. *Blood Cancer J*. 2018;8(1):3.



8. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 -1320

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 27 EYLÜL 2017 ÇARŞAMBA
Toplantı No : 2017/21
Proje No : GO 17/730 (Değerlendirme Tarihi: 12.09.2017)
Karar No : GO 17/730- 24

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Aysegül ÜNER' in sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. İbrahim HAZNEDAROĞLU, Prof. Dr. Diele GÜÇ, Arş. Gör. Müfide OKAY ve Arş. Gör. Ece ÖZOĞUL ile birlikte çalışacakları, GO 17/730 kayıt numaralı, **"Myeloproliferatif Neoplazilerde Görülebilecek Genetik Mutasyonların Araştırılması"** başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

1. Prof. Dr. Nurten AKARSU (Başkan)	10 Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye)
2. Prof. Dr. Sevdâ F. MÜFTÜOĞLU (Üye)	11 Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ (Üye)
3. Prof. Dr. M. Yıldırım SABA (Üye)	İZİNLİ 12. Doç. Dr. Gözde GİRGİN (Üye)
4. Prof. Dr. Necdet SAGLAM (Üye)	İZİNLİ 13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye)
5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye)	14. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye)
6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye)	15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL (Üye)
7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye)	16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR (Üye)
İZİNLİ 8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALÇIN (Üye)	İZİNLİ 17. Öğr. Gör. Dr. Meltem ŞENGELEN (Üye)
9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye)	18. Av. Meltem ONURLU (Üye)

Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
06100 Sıhhiye-Ankara
Telefon: 0 (312) 305 1082 • Faks: 0 (312) 310 0580 • E-posta: goetik@hacettepe.edu.tr

Ayrıntılı Bilgi için: