

T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**PHILADELPHIA-NEGATİF KLASİK KRONİK  
MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİLERDE JAK2V617F  
GEN MUTASYONUNUN SIKLIĞI VE KLİNİK ÖNEMİ**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Ezgi Şahin**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. İpek Yönel Hindilerden**

**İSTANBUL-2020**

Bu tez çalışması İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurul tarafından  
onaylanmıştır.

Dosya No 1284-07/11/2019

## TEŞEKKÜR

*İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim sürecinde bilgi ve deneyimleriyle yetişmeme katkıda bulunan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Meliha Naıçacı'ya, Hematoloji Bilim Dalı'nda görevli tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. İpek Yönel Hindilerden'e ve tüm hocalarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.*

*Tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Hematoloji Bilim Dalı'ndan Aynur Dağlar Aday'a, Hematoloji servis ve poliklinik çalışanlarına teşekkür ederim.*

*Tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen deneyimleri ile çalışmama büyük katkıda bulunan Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi Hematoloji Kliniği'nde görevli Doç. Dr. Fehmi Hindilerden'e ve yine bu hastanede görevli servis ve poliklinik çalışanlarına teşekkür ederim.*

*Tanımaıktan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen tüm çalışma arkadaşlarıma ve hastane çalışanlarına teşekkür ederim.*

*Eğitimim ve tez çalışmam sırasında beni her zaman destekleyen annem ve abim başta olmak üzere tüm aileme ayrıca teşekkür ederim.*

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ .....	viii
KISALTMALAR .....	xii
ÖZET .....	1
SUMMARY .....	4
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>7</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>9</b>
2.1. Klasik Kronik Miyeloproliferatif Neoplaziler .....	9
2.2. Polistemia Vera .....	10
2.2.1. Tanım .....	10
2.2.2. Epidemiyoloji.....	11
2.2.3. Etyoloji ve Patogenez .....	11
2.2.4. JAK2V617F Mutasyonu .....	12
2.2.5. Klinik Özellikler .....	13
2.2.5.1. Bulgu ve Semptomlar .....	13
2.2.5.1.1. Tromboz ve Kanama.....	14
2.2.5.1.2. Kutanöz Bulgular .....	14
2.2.5.1.3. Pulmoner Hipertansiyon .....	15
2.2.5.1.4. Nörolojik Bulgular .....	15
2.2.5.1.5. Diğer Organ Sistemlerine Ait Bulgular .....	15
2.2.6. Laboratuvar Özellikleri.....	15
2.2.6.1. Kan Bulguları .....	15
2.2.6.2. JAKV617F ve JAK2 Ekzon 12 Mutasyonu .....	16
2.2.6.2.1. JAK2V617F Mutasyonu .....	16
2.2.6.2.2. JAK2 Ekzon 12 Mutasyonu.....	17
2.2.6.3. Eritropoietin Düzeyi .....	17
2.2.6.4. Kemik İliği Bulguları .....	17
2.2.7. Tanı .....	18
2.2.8. Tedavi .....	19
2.2.8.1. Miyelosüpresif Tedaviler.....	22
2.2.8.1.1. Hidroksiüre .....	22
2.2.8.1.2. Busulfan.....	22

2.2.8.1.3. Radyoaktif Fosfor .....	23
2.2.8.1.4. İnterferon .....	23
2.2.8.2. Flebotomi.....	24
2.2.8.3. Anagrelid .....	25
2.2.8.4. Kaşıntının Semptomatik Tedavisi .....	25
2.2.8.5. Aspirin .....	25
2.2.8.6. JAK2 İnhibitörleri .....	26
2.2.8.7. Epigenetik Modülasyon.....	27
2.2.8.8. Splenektomi.....	29
2.2.8.9. Hematopoietik Kök Hücre Transplantasyonu .....	29
2.2.9. Seyir ve Prognoz .....	29
2.3. Esansiyel Trombositemi.....	30
2.3.1. Tanım ve Epidemiyoloji .....	30
2.3.2. Etiyoloji.....	30
2.3.3. Patogenez .....	30
2.3.4. Klinik Özellikler .....	32
2.3.4.1. Semptom ve Bulgular .....	32
2.3.4.2. Tromboz .....	32
2.3.4.3. Kanama.....	33
2.3.4.4. Myelofibrotik Transformasyon .....	33
2.3.4.5. Lösemik Transformasyon.....	34
2.3.5. Laboratuar Bulguları .....	34
2.3.5.1. Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler.....	34
2.3.5.2. Biyokimyasal Testler.....	35
2.3.5.3. Moleküler Testler .....	35
2.3.5.4. Kemik İliği Bulguları .....	36
2.3.6. Tanı .....	37
2.3.7. Tedavi .....	39
2.3.7.1. Kardiyovasküler Risk Faktörlerinin Modifikasyonu.....	39
2.3.7.2. Antitrombositler Tedavi .....	39
2.3.7.3. Sitoredüktif Tedavi .....	39
2.3.7.3.1. Tedavi Endikasyonları .....	39
2.3.7.3.2. Sitoredüktif Tedavi Seçimi .....	40
2.3.8. Özel Durumlar .....	43
2.3.8.1. Konsepsiyon ve Hamilelik .....	43

2.3.8.2. Cerrahi .....	43
2.3.9. Seyir ve Prognoz .....	44
2.4. Primer Myelofibrozis .....	45
2.4.1. Tanım .....	46
2.4.2. Epidemiyoloji.....	46
2.4.3. Etiyoloji ve Patogenez .....	47
2.4.4. Klinik Özellikler .....	52
2.4.4.1. Semptomlar.....	52
2.4.4.2. Bulgular .....	53
2.4.4.3. Özel Klinik Durumlar.....	53
2.4.4.3.1. Prefibrotik Primer Myelofibroz .....	53
2.4.4.3.2. Ekstramedullar (Fibrohematopoetik) Tümörler.....	54
2.4.4.3.3. Portal Hipertansiyon, Varisler ve Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon.....	54
2.4.4.3.4. İmmun ve İnflamatuar Belirtiler.....	55
2.4.4.3.5. Kemik Değişiklikleri.....	55
2.4.4.3.6. Tromboz.....	56
2.4.5. Laboratuvar Bulguları .....	56
2.4.5.1. Kan Sayımı ve Morfoloji.....	56
2.4.5.2. Kan Hücrelerinin Fonksiyonel Anormallikleri.....	58
2.4.5.3. Kemik İliği Değerlendirilmesi.....	58
2.4.5.3.1. Morfoloji.....	58
2.4.5.3.2. Sitogenetik Bulgular .....	59
2.4.5.3.3. Magnetik Rezonans Görüntüleme .....	59
2.4.5.4. Plazma ve İdrarda Biyokimyasal Değişiklikler.....	60
2.4.6. Tanı .....	60
2.4.7. Tedavi .....	63
2.4.7.1. Eritrosit Transfüzyonu.....	64
2.4.7.2. Anemi İçin Rekombinant İnsan Eritropoietini .....	64
2.4.7.3. Anemide Glikokortikoid ve Androjenlerin Kullanımı .....	64
2.4.7.4. Miyeloproliferasyon, Splenomegali ve Sitopeni Tedavisi .....	64
2.4.7.4.1. JAK2V617F Kinaz İnhibitörleri .....	64
2.4.7.4.2. Hidroksiüre .....	66
2.4.7.4.3. Talidomid ve Lenalidomid.....	66
2.4.7.4.4. Siklosporin, Etanercept, Imatinib Mesilat ve Tipifarnib .....	67

2.4.7.4.5. İnterferon .....	67
2.4.7.4.6. Serozal İmplantlar .....	68
2.4.7.5. İmmün İlişkili Fibrozis .....	68
2.4.7.5.1. İntrevenöz İmmünoglobulin .....	68
2.4.7.6. Kemik Hastalıklarında Bifosfonatlar .....	68
2.4.7.7. Radyoterapi.....	68
2.4.7.8. Splenektomi.....	69
2.4.7.9. Portal Sistemik Vasküler Şant Cerrahisi .....	70
2.4.7.10. Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu .....	70
2.4.8. Seyir ve Prognoz .....	71
<b>3. MATERYAL VE METOD.....</b>	<b>75</b>
3.1. Olgular .....	75
3.2. Metod .....	76
3.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu .....	76
3.2.1.1. DNA İzolasyonu.....	76
3.2.1.2. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini .....	77
3.2.1.2.1. JAK2V617F Mutasyonunun Gerçek zamanlı Semi-Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Analizi.....	77
3.2.2. JAK2V617F Mutasyonunun Melting Curve Analizi ile Tayini .....	78
3.3. İstatistiksel Analiz.....	81
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>82</b>
4.1. Olgular .....	82
4.1.1. Tüm Olgularla İlgili Genel İstatistik Bilgileri .....	82
4.1.2. ET, PMF ve PV Olguları ile İlgili Ayrı Ayrı Genel İstatistik Bilgileri .....	89
4.1.3. Tüm Olgularda JAK2V617F Mutasyonu ile İlişkili Klinik Özellikler.....	94
4.1.4. Polisitemia Vera Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu ile İlgili Klinik Özellikler.....	101
4.1.5. Esansiyel Trombositemi Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik Özellikler .....	104
4.1.6. Primer Miyelofibrozis Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik Özellikler .....	108
4.1.7. Esansiyel Trombositemi Tanılı Olgularda JAK2V617F Allel Yüğü İlişkili Klinik Özellikler .....	114
4.1.8. Primer Miyelofibrozis Tanılı Olgularda JAK2V617F Allel Yüğü İlişkili Klinik Özellikler .....	118
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>122</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>135</b>

## TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

### TABLolar

Tablo I. Miyeloproliferatif neoplazilerin (MPN) 2016 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflandırma şeması.....	9
Tablo II. DSÖ 2016 PV tanı kriterleri.....	18
Tablo III. Polisitemia Vera'da Tedavi.....	20
Tablo IV. Polisitemia Vera'da Yanıt Kriterleri.....	21
Tablo V. PV'da risk kategorileri ve tedavi yönetimi .....	28
Tablo VI. Dünya Sağlık Örgütü 2016 ET Tanı Kriterleri .....	38
Tablo VII. Trombositoz Sebepleri .....	38
Tablo VIII. Esansiyel trombositemi'li Hastalarda Risk Sınıflandırılması .....	40
Tablo IX. Esansiyel trombositemi'de Sitoredüktif Ajan Seçimi.....	42
Tablo X. Esansiyel trombositemi'de Anagrelide karşı Hidroksiüre kullanımını karşılaştıran 'ANAHYDRET' ve 'PT-1' Randomize Kontrollü Çalışmaları .....	42
Tablo XI. Esansiyel Trombositemi Komplikasyonları Açısından Risk Faktörleri .....	45
Tablo XII. Primer Miyelofibrozis'de Fibroplazi .....	52
Tablo XIII. Osteoskleroza Yansıtan Serum, İdrar ve Kemik Değişiklikleri.....	55
Tablo XIV. DSÖ 2016 Prefibrotik/erken evre PMF tanı kriterleri .....	62
Tablo XV. DSÖ 2016 Aşık PMF sınıflandırma kriterleri.....	63
Tablo XVI. Primer Myelofibrozis'te Başlangıç Oral Ruxolitinib Dozları ile ilgili Öneriler ...	66
Tablo XVII. Primer Miyelofibrozis IPSS risk skorlaması .....	73
Tablo XVIII. Primer Miyelofibrozis DIPSS risk skorlaması.....	73
Tablo XIX. Primer Miyelofibrozis DIPSS-plus risk skorlaması.....	74
Tablo XX. JAK2V617F analizi için hazırlanan PZR karışımının bileşenleri.....	78
Tablo XXI. JAK2V617F analizinde kullanılan Gerçek zamanlı Semi-kantitatif PZR koşulları .....	78
Tablo XXII. JAK2V617F Melting Curve Analizi için hazırlanan PZR karışımının bileşenleri .....	79
Tablo XXIII. JAK2V617F Melting Curve Analizinde kullanılan PZR koşulları .....	80
Tablo XXIV. Tüm olgularda ortalama yaş ve cinsiyet analizi.....	82
Tablo XXV. BCR-ABL negatif Miyeloproliferatif Neoplazi gruplarında demografik ve klinik özellikler.....	89



Tablo XXVI. BCR-ABL negatif Miyeloproliferatif Neoplazi gruplarının klinik ve laboratuvar bulguları .....	92
Tablo XXVII. BCR-ABL negatif Miyeloproliferatif Neoplazi gruplarının lösemiye dönüşüm ve ölüm açısından karşılaştırılması .....	92
Tablo XXVIII. BCR-ABL negatif Miyeloproliferatif Neoplazi gruplarının JAK2V617F mutasyon sıklığı ve JAK2V617F allel yüküne göre karşılaştırılması.....	93
Tablo XXIX. Tüm Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik Özellikler.....	99
Tablo XXX. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan MPN tanılı olguların lösemiye dönüşüm ve ölüm açısından karşılaştırılması.....	100
Tablo XXXI. Polistemia Vera Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik ve Laboratuvar Özellikler .....	103
Tablo XXXII. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan PV tanılı olguların lösemiye dönüşüm ve ölüm açısından karşılaştırılması.....	104
Tablo XXXIII. Esansiyel Trombositemi Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik Özellikler.....	106
Tablo XXXIV. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan ET tanılı olguların lösemiye dönüşüm ve ölüm açısından karşılaştırılması.....	107
Tablo XXXV. Primer Miyelofibrozis Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik Özellikler.....	109
Tablo XXXVI. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan PMF tanılı olguların lösemiye dönüşüm ve ölüm açısından karşılaştırılması.....	110
Tablo XXXVII. JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip ve yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip ET tanılı olguların klinik ve laboratuvar bulguları .....	116
Tablo XXXVIII. JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip ve yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip ET tanılı olguların ölüm ve lösemiye dönüşüm açısından karşılaştırılması .....	117
Tablo XXXIX. JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip ve yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip PMF tanılı olguların klinik ve laboratuvar bulguları .....	119
Tablo XL. JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip ve yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip PMF tanılı olguların ölüm ve lösemiye dönüşüm açısından karşılaştırılması .....	120

## ŞEKİLLER

Şekil-I Miyeloid neoplazilerde somatik mutasyonların spektrumu ve sıklığı.....	32
Şekil II. Açıklanamayan ve Persistan Trombositozaya Yaklaşım .....	36
Şekil III. Real Time PZR yöntemiyle elde edilen örneklerle ait melting curve grafikleri .....	80
Şekil IV. ET, PMF, PV Olgularında Karyotip Analizi (n=410) .....	83
Şekil V. PV, ET, PMF Olgularının Tanı Sırasındaki Dalak Boyutlarının Dağılımı (n=410) ..	84
Şekil VI. ET, PMF, PV Olgularında Kanama Oranları (n=410).....	85
Şekil VII. ET, PMF, PV Olgularında Tromboz Grup Dağılımı (n=410).....	86
Şekil VIII. ET, PMF, PV Olgularında Venöz Tromboz Oranları (n=410) .....	87
Şekil IX. ET, PMF, PV Olgularında Arteriyel Tromboz Oranları (n=410).....	88
Şekil X. ET, PMF, PV Olgularında Trombosit Sayısı (n=410).....	90
Şekil XI. ET, PV ve PMF olgularında OS'nin 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü.....	93
Şekil XII. ET, PV ve PMF olgularında LFS'nin 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü.....	94
Şekil XIII. JAK2V617F Mutasyonunun ET, PMF, PV Olgularında Dağılımı (n=410) .....	95
Şekil XIV. JAK2V617F mutasyon Varlığına Göre Tromboz Dağılımı (n=410).....	97
Şekil XV. JAK2V617F Pozitif ve Negatif Olgularda Trombosit Dağılımı (n=410) .....	97
Şekil XVI. JAK2V617F Pozitif ve Negatif Olgularda Lökosit Dağılımı (n=410) .....	98
Şekil XVII. JAK2V617F Pozitif ve Negatif Olgularda Hemoglobin Düzeyi Dağılımı (n=410) .....	98
Şekil XVIII. JAK2V617F mutasyon varlığına göre tüm olgularda OS'nin 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü .....	100
Şekil XIX. JAK2V617F mutasyon varlığına göre tüm olgularda LFS'in 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü .....	101
Şekil XX. JAK2V617F mutasyon varlığına göre PV olgularında OS'nin 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü .....	104
Şekil XXI. ET Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonuna Göre OS'nin Kaplan Mayer Eğrisine Göre Görünümü (p=0.400). .....	107
Şekil XXII. JAK2V617F mutasyon varlığına göre PMF olgularında OS'nin 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü .....	111
Şekil XXIII. 'DIPSS-plus' kriterlerine göre PMF olgularında OS'nin 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü .....	112
Şekil XXIV. JAK2V617F mutasyon varlığına göre PMF olgularında LFS'in 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü .....	113

Şekil XXV. ‘DIPSS-plus’ kriterlerine göre PMF olgularında LFS’in ‘Kaplan-Meier’ analizindeki görünümü .....	114
Şekil XXVI. JAKV617F mutasyonunu taşımayan (n=54), JAK2V617F allel yükü düşük (n=59) ve JAK2V617F allel yükü yüksek (n=5) ET olgularında OS’nin karşılaştırılması .....	117
Şekil XXVII. JAKV617F mutasyonunu taşımayan (n=25), JAK2V617F allel yükü düşük (n=41) ve JAK2V617F allel yükü yüksek (n=18) PMF olgularında OS’nin karşılaştırılması .....	120
Şekil XXVIII. JAK2V617F allel yüküne göre PMF olgularında LFS’in ‘Kaplan-Meier’ analizindeki görünümü .....	121

## KISALTMALAR

<b>AHKHN</b>	: Allogeneik hematopoetik kök hücre nakli
<b>AML</b>	: Akut miyeloid lösemi
<b>Asx</b>	: Additional sex combs
<b>ASXH domaini</b>	: Amino-terminal homolog bölgesi
<b>ASXL1</b>	: Additional Sex Combs-Like 1
<b>Bcl-X<sub>L</sub></b>	: Çok büyük B hücre lenfoması
<b>CALR</b>	: Kalretikülin
<b>DIPSS</b>	: Dinamik uluslararası prognostik skorlama sistemi
<b>DNMT</b>	: DNA metil transferaz
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>DVT</b>	: Derin ven trombozu
<b>EEC</b>	: Eritropoetin bağımsız koloni
<b>EPO</b>	: Eritropoetin
<b>EPOR</b>	: EPO reseptörü
<b>ERK</b>	: Ekstraselüler sinyal ilişkili kinaz
<b>ET</b>	: Esansiyel trombositemi
<b>EZH2</b>	: Enhancer of Zeste Homolog 2
<b>FKBP51</b>	: FK506 bağlayıcı protein 51
<b>FRET</b>	: Floresans Rezonans Enerji Transferi
<b>G-CSF</b>	: Granülosit koloni-stimule edici faktör
<b>GM-CSF</b>	: Granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör
<b>G6PD</b>	: Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
<b>GTP</b>	: guanin trifosfat
<b>GVHH</b>	: Kronik graft versus host hastalığı
<b>HDAC</b>	: Histon deasetilaz
<b>2-HG</b>	: 2-hidroksiglutarat
<b>Hgb</b>	Hemoglobin
<b>5hmC</b>	: 5-hidroksimetilsitozin
<b>Htc</b>	: Hematokrit
<b>IDH</b>	: İzositrat dehidrojenaz
<b>IDH1</b>	: İzositrat dehidrojenaz 1
<b>IDH2</b>	: İzositrat dehidrojenaz 2
<b>IDH3</b>	: İzositrat dehidrojenaz 3
<b>IGF-1</b>	: İnsülin-benzeri büyüme faktörü

<b>IKZF1</b>	: Ikaros Family Zinc Finger Protein
<b>INF-alfa</b>	: İnterferon-alfa
<b>IPSS</b>	: Uluslararası prognostik skorlama sistemi
<b>İTF</b>	: İstanbul Tıp Fakültesi
<b>JAK2</b>	: Janus <b>Kinaz 2</b>
<b>JH2</b>	:JAK2 geninin psödokinaz domaini
<b>KML</b>	: Kronik miyeloid lösemi
<b>KMML</b>	: Kronik miyelomonositik lösemi
<b>KNL</b>	: Kronik nötrofilik lösemi
<b>LFS</b>	: Lösemi ilişkisiz sağkalım
<b>LNK</b>	: Lenfosit-spesifik adaptör protein
<b>MCV</b>	: Ortalama eritrosit hacmi
<b>MDS</b>	: Miyelodisplastik sendrom
<b>MDS-U</b>	: MDS, sınıflanmamış
<b>MEK1</b>	: Karşılıklı hassas mitojen aktive protein kinaz 1
<b>Missense</b>	: Yanlış anlamlı
<b>MI</b>	: miyokard infarktüsü
<b>MPL</b>	: Trombopoetin reseptörü
<b>MPN</b>	: Kronik myeloproliferatif neoplaziler
<b>mTOR inhibitörleri</b>	: Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefinin inhibitörleri
<b>NADP<sup>+</sup></b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
<b>NF</b>	: Nükleer faktör
<b>Nonsense</b>	: Anlamsız
<b>Ort</b>	: Ortalama
<b>OS</b>	: Tüm yaşam süresi
<b>P</b>	: Fosfat
<b>PAN</b>	: Poliarteritis nodosa
<b>PDGF</b>	: Trombosit kökenli büyüme faktörü
<b>PEG-IFN</b>	: Pegile interferon
<b>Ph</b>	: Philadelphia
<b>PHD domaini</b>	: C-terminal bitki homeodomaini
<b>PI3K</b>	: Fosfotidil 3-kinaz
<b>PIP2</b>	:Fosfotidil inositol bifosfat
<b>PIP3</b>	: Fosfotidil inositol trifosfat
<b>PMF</b>	: Primer miyelofibrozisis
<b>PRC1</b>	: Polycomb Repressive kompleks 1

<b>PRC2</b>	: Polycomb Repressive kompleks 2
<b>PR-DUB</b>	: Polycomb-baskılayıcı deubiquitinaz kompleksi
<b>PRV-1</b>	: Polisitemia rubra vera-1
<b>PT-1</b>	: Primer trombositemi-1
<b>PV</b>	: Polisitemia vera
<b>PVSG</b>	: Polisitemia Vera Çalışma Grubu
<b>PZR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RAEB-I</b>	: Artmış blastlı refrakter anemi I
<b>RAEB-II</b>	: Artmış blastlı refrakter anemi II
<b>RARS</b>	: Halka sideroblastlı refrakter anemi
<b>RARS-T</b>	: Halka sideroblastlı ve trombositozlu refrakter anemi
<b>RAS</b>	: Renin–angiotensin sistemi
<b>RTK</b>	: Reseptör tirozin kinaz
<b>SH2</b>	: Src homoloji 2
<b>SLE</b>	: Sistemik lupus eritematozus
<b>SNP</b>	: Tek nükleotid polimorfizmi
<b>SS</b>	: Standart sapma
<b>SVO</b>	: Serebrovasküler olay
<b>STAT3</b>	: Transkripsiyon 3 sinyal aracı molekülü ve aktivatörü
<b>STAT5</b>	: Transkripsiyon 5 sinyal aracı molekülü ve aktivatörü
<b>TET</b>	: Ten-Eleven Translocation
<b>TET1</b>	: TET onkogen ailesi üyesi 1
<b>TET2</b>	: TET onkogen ailesi üyesi 2
<b>TET3</b>	: TET onkogen ailesi üyesi
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$
<b>TIPS</b>	: Transjuguler intrahepatik portosistemik şant
<b>TPO</b>	: Trombopoetin
<b>TS</b>	: Takip süresi
<b>TXA<sub>2</sub></b>	: Tromboksan A <sub>2</sub>
<b>UPN</b>	: Uniparental dizomi
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
<b>vWF</b>	: Von Willebrand faktörü
<b>vWH</b>	: Von Willebrand hastalığı

## ÖZET

**Amaç:** Philadelphia-negatif (Ph-negatif) miyeloproliferatif neoplaziler (MPN), başlıca polisitemia vera (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve primer miyelofibrozisten (PMF) oluşan hematopoetik kök hücreden köken alan, bir veya daha fazla miyeloid serinin anormal proliferasyonu ile karakterize hematopoetik sistemin klonal bir grup hastalığıdır. PV, eritrosit kitlesinde mutlak artış ile karakterize olan ve sıklıkla granülosit ve trombositlerin aşırı üretiminin eşlik ettiği bir MPN'dir. ET, trombositlerin aşırı üretimi ve sıklıkla eşlik eden trombotik veya hemorajik semptomlarla karakterize bir hastalıktır. PMF, başlıca anormal sitokin ekspresyonu, kemik iliği fibrozisi, ekstramedüller hematopoez ve kısa yaşam süresi ile karakterizedir. 2005 yılında JAK2V617F mutasyonunun keşfi sonrasında PV'lı olguların %95'inden fazlasında ve ET veya PMF'li olguların yaklaşık %50-60'ından fazlasında temeldeki moleküler olay anlaşılmıştır. Bazı çalışmalarda, yüksek JAK2V617F allel yükünün ET olgularında agresif fenotipe işaret eden hematolojik ve klinik göstergelerle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Diğer yandan bazı çalışmalarda, PMF'de düşük allel yükünün kısa yaşam süresi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. JAK2V617F allel yükünü araştıran çalışmaların kısıtlayıcı özellikleri, çoğunluğunun retrospektif olmasıdır. Bu çalışmada İstanbul Tıp Fakültesi (İTF) İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı Polikliniği'nden ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi Hematoloji Kliniği'nden takipli toplam 410 Ph-negatif MPN (170 ET, 135 PV, 105 PMF) tanılı olguda JAK2V617F mutasyonunun laboratuvar bulguları ve klinik karakteristikler üzerine etkisi araştırılmıştır. Bunun yanında ET ve PMF tanılı olgularda JAK2V617F allel yükünün önemi araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamıza 2016 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterleri esas alınarak Ph-negatif MPN tanısı konmuş olan 410 olgu (170 ET, 135 PV, 105 PMF) dahil edilmiştir. Olguların demografik özellikleri, klinik ve laboratuvar bilgilerine ek olarak OS taranmıştır. 410 olgunun 228'inde (118 ET, 84 PMF, 26 PV) ticari diagnostik kit kullanılarak gerçek zamanlı semi-kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) metodu ile JAK2V617F mutasyon analizi gerçekleştirilmiş ve eş zamanlı olarak mutant allel yükü tespit edilmiştir ('JAK2 MutaScreen™ Kit Reference Scale' Ipsogen, Luminy Biotech, Marsilya, Fransa). Olguların 182'sinde (109 PV, 52 ET, 21 PMF) JAK2V617F mutasyonu Melting Curve Analizi ile tayin edildi. Genotiplendirme Floresans Rezonans Enerji Transferi (FRET) teknolojisinin kullanıldığı Melting Curve analizi ile gerçekleştirildi. Klinik ve laboratuvar verileri içeren

parametreler SPSS istatistik programına yüklenmiştir. p değeri <0.05 olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. PMF, ET ve PMF'de yaşam eğrileri, 'Kaplan-Meier' analizi kullanılarak OS'ni hesaplamak için oluşturulmuştur ve gruplar arası sağkalım oranlarının karşılaştırılması log rank testi ile yapılmıştır. Buna ek olarak PMF'de yaşam analizi, lösemi ilişkisiz sağkalımı (LFS) hesaplamak için yapılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmaya dahil olan 170 ET olgusunun 102'si kadın 68'i erkek; 135 PV olgusunun 47'si kadın, 88'i erkek; 105 PMF olgusunun 56'sı kadın, 49'u erkektir. ET için yaş ortalaması 57.93 (SS 15.65), PMF için yaş ortalaması 63.09 (SS 13.64) ve PV için yaş ortalaması 61.22 (SS 14.13) bulunmuştur. ET, PMF ve PV olgularının tanıdan itibaren ortalama takip süresi sırasıyla 87.01 ay (SS 67.82), 68.03 ay (SS 57.41) ve 70.42 ay (SS 56.39) olarak bulunmuştur. PV grubunda ET'ye göre JAK2V617F mutasyon sıklığı anlamlı yüksek saptanmıştır (sırasıyla %81.5; %63.5; p=0.001). Ayrıca PMF grubundaki JAK2V617F mutasyon sıklığı ET'ye göre yüksek bulunmuştur (sırasıyla %76.2; %63.5; p=0.029). PMF'de yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip olgu sıklığı (allel yükü>%50), ET grubuna göre belirgin yüksek saptanmıştır (sırasıyla %21.4; %4.2; p=0.001). Bunun yanında PV'de yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip olgu sıklığı, ET grubuna göre yüksek olma eğilimindedir (sırasıyla %15.4; %4.2; p=0.055). Çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu pozitif PV'da düşük erkek cinsiyet oranı saptanmıştır (p=0.008). PV'da tanı sırasındaki ortalama lökosit ve trombosit sayısı anlamlı derecede yüksek saptanırken, ortalama Hgb düzeyi düşük saptanmıştır (sırasıyla p=0.001; p=0.001; p=0.018). JAK2V617F mutasyonunu taşıyan PV'da total tromboz ve arteriyel tromboz sıklığı JAK2V617F mutasyonunu taşımayan gruba göre belirgin yüksek saptanmıştır (sırasıyla %42.7, %20; p=0.035; %26.4, %8; p=0.042). Çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu pozitif ET'de tanı sırasındaki Hgb ve Htc düzeyi anlamlı derecede yüksek ve trombosit sayısı anlamlı derecede düşük saptanmıştır (sırasıyla p=0.001; p=0.001; p=0.001). Çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu negatif PMF'de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek kadın cinsiyet oranı saptanmıştır (p=0.001). Ayrıca JAK2V617F mutasyonu pozitif PMF'de istatistiksel olarak anlamlı yüksek dalak boyutu ve lökosit sayısı saptanmıştır (sırasıyla p=0.042; 0.019). JAK2V617F mutasyonunu taşıyan PMF'de venöz tromboz insidensinde artış eğilimi vardır (sırasıyla %10; 0; p=0.051). ET tanılı olgular JAK2V617F mutasyonunu taşımayan (n=54), düşük JAK2V617F allel yüküne sahip (allel yükü ≤50%, n=59) ve yüksek allel yüküne sahip grup (allel yükü >%50, n=5) olarak üçe ayrılmıştır. ET'de yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip olgu grubunda, diğer iki grup ile karşılaştırıldığında Hgb ve Htc düzeyleri anlamlı derecede düşük ve LDH düzeyi yüksek saptanmıştır (sırasıyla p=0.001; p=0.001; p=0.008). Ayrıca yüksek JAK2 allel yüküne sahip ET olgularında artmış



dalak boyutu ve kanama insidensi saptanmıştır (sırasıyla  $p=0.034$ ;  $0.002$ ). Çalışmamızda yüksek JAK2 allel yüküne sahip ET olgularında artmış ölüm insidensi saptanmıştır ( $p=0.007$ ). Yüksek allel yükü olan ET'de venöz tromboz sıklığında artış eğilimi vardır ( $p=0.057$ ). Çalışmamızda yüksek JAK2 allel yüküne sahip PMF olgularında artmış lökosit sayısı ve dalak boyutu saptanmıştır (sırasıyla  $p=0.001$ ;  $p=0.018$ ). Düşük JAK2V617F allel yükü olan PMF grubunda venöz tromboz sıklığında anlamlı artış görülmüştür ( $p=0.035$ ). JAK2V617F mutasyonu taşımayan grupta diğer 2 gruba göre kadın cinsiyet oranı belirgin yüksek saptanmıştır ( $p=0.005$ ). JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan PV ve ET olguları arasında OS açısından anlamlı fark görülmemiştir (sırasıyla  $p=0.887$ ;  $p=0.879$ ). Bunun yanında ET'de JAK2V617F allel yükü ile OS arasında ilişki saptanmamıştır ( $p=0.266$ ). JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan PMF olguları arasında OS ve LFS açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla  $p=0.134$ ;  $p=0.354$ ). Bunun yanında PMF olgu grubunda JAK2V617F allel yükü ile OS ve LFS arasında ilişki saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.266$ ;  $p=0.538$ ). 'DIPSS-plus' kriterlerine göre yüksek riskli olan PMF grubunda OS ve LFS belirgin kısa saptanmıştır (sırasıyla  $p=0.001$ ;  $p=0.005$ ).

### **Tartışma:**

Ph-negatif MPN'de JAK2V617F mutasyonu tanımlandıktan sonra hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasında büyük gelişmeler olmuştur. Bu mutasyonun keşfinden sonra 'DSÖ' tarafından tanı kriterleri revize edilmiştir. JAK2V617F mutasyonunun prognostik önemi büyük olgu serilerinde yoğun araştırma konusudur. JAK2V617F allel yüküne göre MPN olgularını karşılaştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmalarla kesin bir sonuç elde edilmemesine rağmen yüksek JAK2V617F allel yükü varlığında intraselüler sinyal yollarının güçlü bir şekilde aktivasyonuna bağlı PV ilişkili klinik fenotipin ortaya çıktığı düşünülmektedir. Çalışmamız oldukça büyük olgu serisini içermekte olup Türk popülasyonunda JAK2V617F mutasyonu ve allel yükü ile ilişkili ayırt edici klinik fenotipi ve laboratuvar özelliklerini ortaya koymaktadır. Çalışmamızın diğer bir önemli özelliği uzun takip süresi ile bu popülasyonun gerçek yaşam verilerini sunmasıdır. Sonuç olarak çalışmamız JAK2V617F mutasyonunun ve allel yükünün MPN olgularındaki önemini ortaya koymuştur.

## SUMMARY

**Aim:** Philadelphia-negative (Ph-negative) myeloproliferative neoplasms (MPN) are a sub-category of MPN including polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF) and are clonal disorders of hematopoiesis resulting from the transformation of a hematopoietic stem cell, with abnormal proliferation of one or more of the myeloid lineages. PV is a MPN characterized by increased red blood cell mass and usually overproduction of granulocytes and platelets and increased spleen size. ET is characterized by an overproduction of platelets and usually accompanied by thrombotic or hemorrhagic symptoms. PMF is primarily characterized by abnormal cytokine expression, bone marrow fibrosis, extramedullary hematopoiesis and shortened survival. After discovery of the JAK2V617F mutation in 2005, molecular basis was unleashed in >95% of PV patients and >50-60% of PMF patients. Several studies reported that presence of higher V617F allele burden in ET is associated with defined haematological and clinical markers indicative of a more aggressive behavior while, in PMF, low allele burden was reported to be associated with shortened survival. Most studies examining V617F allele burden have limitations due to retrospective nature. The purpose of this study is to analyze the association of JAK2V617F mutation with laboratory characteristics and clinical phenotype in 410 Turkish patients (170 ET, 135 PV, 105 PMF) under follow up in Istanbul University Istanbul Medical Faculty, Department of Internal Medicine, Division of Hematology and Health Sciences University Medical Faculty İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Training and Research Hospital Division of Hematology. In addition, our study aimed at assessing the predictive value of burden of V617F allele on ET and PMF patients.

**Material and methods:** Our study group consisted of 410 patients (170 ET, 135 PV, 105 PMF) diagnosed as Ph-negative MPN according to the WHO criteria in 2016. Patients' demographic data, clinical, laboratory findings and OS were registered. In 228 of 410 patients (118 ET, 84 PMF, 26 PV) we used a real-time semiquantitative polymerase chain reaction (PCR) with 'JAK2 MutaScreen kit' to screen JAK2V617 mutation and the mutant allele burden. In 182 of 410 patients (109 PV, 52 ET, 21 PMF), the JAK2V617F mutation was detected by fluorescent resonance energy transfer (FFET) probes and LightCycler techniques. All statistical analysis including clinical and laboratory parameters was performed using SPSS. All p-values < 0.05 were considered statistically significant. OS curves of ET and PMF were prepared

by the 'Kaplan-Meier' method and compared by the long-rank test. In addition, leukemia free survival (LFS) in PMF patients was estimated using 'Kaplan-Meier' method.

**Results:** A total of 170 ET (102 female, 68 male), 135 PV (88 male, 47 female) and 105 PMF patients (56 female, 49 male) were included. The mean age for ET, PMF and PV was 57.93 (SD 15.65), 63.09 (SD 13.64) and 61.22 (SD 14.13), respectively. The mean follow-up time of ET, PMF and PV patients was 87.01 months (SD 67.82), 68.03 months (SD 57.41) and 70.42 months (SD 56.39), respectively. The frequency of JAK2V617F mutation was higher in PV compared to ET patients (81.5%, 63.5%; respectively;  $p=0.001$ ). Moreover, the frequency of JAK2V617F mutation was higher in PMF compared to ET patients (76.2%; 63.5%; respectively;  $p=0.0029$ ). JAK2V617F positive patients with mutant allele burden in upper quartile ranges (allele burden  $>50\%$ ) was higher in PMF with respect to ET (21.4%; 4.2%; respectively;  $p=0.001$ ). Moreover, there was a trend towards higher mutant allele burden in PV compared to ET (15.4%; 4.2%; respectively;  $p=0.055$ ). In our study, JAK2V617 mutation positive PV group consisted of a significantly lower number of male patients ( $p=0.008$ ). JAK2V617F mutation positive PV patients had significantly higher leukocyte and platelet counts and lower Hgb levels ( $p=0.001$ ;  $p=0.001$  and  $p=0.018$ , respectively). Rates of total thrombosis and arterial thrombosis were significantly higher in JAK2V617F mutation positive PV compared to JAK2V617F mutation negative PV (42.7%, 20%; respectively;  $p=0.035$  and 26.4%, 8%; respectively;  $p=0.042$ ). In our study, JAK2V617F mutation positive ET patients had significantly higher Hgb and Htc levels and lower platelet counts at initial diagnosis ( $p=0.001$ ;  $p=0.001$  and  $p=0.001$ , respectively). JAK2V617 mutation negative PMF group consisted of a significantly higher number of female patients ( $p=0.001$ ). In PMF patients, the presence of JAK2V617F mutation was significantly associated with increased spleen size ( $p=0.042$ ), and higher leukocyte count ( $p=0.019$ ). There was a trend towards higher incidence of venous thrombosis in JAK2V617F mutation positive PMF compared to JAK2V617F mutation negative PMF (10%; 0; respectively;  $p=0.051$ ). With regard to the JAK2V617F status, ET patients were divided into three groups: JAK2V617F mutation negative ( $n=54$ ), JAK2V617F positive with mutant allele burden in the lower quartile ( $n=59$ ) and upper quartile ranges ( $n=5$ ). ET patients with upper quartile JAK2V617F allele burden had significantly lower Hgb levels ( $p=0.001$ ), lower Htc levels ( $p=0.001$ ) and higher LDH levels ( $p=0.008$ ) as compared to the other two groups. Also, ET patients with upper quartile JAK2V617F allele burden had significantly increased spleen size and higher bleeding complications ( $p=0.034$ ; 0.002; respectively). We observed significant association between ET patients with high JAK2V617F allele burden and higher death rates ( $p=0.007$ ). There was a trend towards higher

incidence of venous thrombosis in ET patients with upper quartile JAK2V617F allele burden ( $p=0.057$ ). With regard to the JAK2V617F status, PMF patients were divided into three groups: JAK2V617F mutation negative ( $n=25$ ), JAK2V617F positive with mutant allele burden in the lower quartile ( $n=41$ ) and upper quartile ranges ( $n=18$ ). Comparison across all three groups revealed significant associations between upper quartile allele burden and higher leukocyte counts ( $p=0.001$ ). Also, PMF patients with upper quartile JAK2V617F allele burden had significantly increased spleen size compared to the other two groups ( $p=0.018$ ). We observed significant association between PMF patients with low JAK2V617F allele burden and higher incidence of venous thrombosis ( $p=0.035$ ). Comparison across all three groups revealed significant associations between JAK2 wild-type patients and higher number of female patients ( $p=0.005$ ). OS and LFS was significantly shorter in the high risk PMF group as defined by 'DIPSS-plus' criteria ( $p=0.001$ ;  $p=0.005$ ; respectively).

**Conclusion:** The field of Ph-negative MPNs has recently witnessed tremendous advances in the basic knowledge of disease pathophysiology that followed the identification of mutations in JAK2. These discoveries led to a revision of the criteria employed for diagnosis by the World Health Organization. The prognostic role of the JAK2V617F mutation has been the objective of intensive research. There are a limited number of studies that analyze and compare MPN patients according to their JAK2 allele burden. While a definitive position cannot yet been taken on all of the issues, there is a consensus that the presence of higher V617F allele burden, that is on the basis of a stronger activation of intracellular signalling pathways, is associated with the clinical phenotype of PV. Our study group includes a large series of patients and outlines the clinical phenotype and laboratory characteristics of the JAK2V617F mutation and allele burden in the Turkish population. Moreover, our study has a long period of follow-up and thus provides real life data for MPN patients. Our findings reconfirms the significance of JAK2V617F mutation and allele burden in MPNs.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik miyeloproliferatif neoplaziler (MPN), hematopoetik hücrelerden bir veya daha fazlasında çoğalma ve periferik kanda matür ve immatür hücrelerin sayısının artmasıyla karakterize klonal hematopoetik bozukluklardır. MPN; pluripotent kök hücreden gelişen miyeloid ve lenfoid öncüllerin klonal çoğalmasıyla gerçekleşmektedir. Bu hastalıkların klinik ve laboratuvar bulguları birbirine benzer özellikler göstermektedir. Bunlar arasında hipersellüler kemik iliği, koagülasyon bozukluğu ve lösemik forma dönüşüm vardır. Bu neoplazilerde hemostaz ve tromboz anormallikleri görülebilmektedir (1). Hastalarda halsizlik, kilo kaybı, iştahsızlık, karın şişliği, erken doyma hissi, kanama ve morarma, ağrılı eklem şişlikleri, kulakta çınlama, sol üst kadrandan sol omuza yayılan ağrı gibi çok çeşitli semptomlar görülebilir. Fizik muayenede solukluk, polisitemiye sekonder pletore, peteşi, ekimoz, hepatosplenomegali, lenfadenomegali gibi bulgular gözlenebilir. 2016 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) hematopoetik ve lenfoid doku tümör sınıflandırmasının yeni baskısı Eylül 2017 tarihinde yayınlanmıştır (2, 3). Güncel sınıflandırılmada MPN yedi alt grupta tanımlanmıştır: kronik miyeloid lösemi (KML), kronik nötrofilik lösemi (KNL), polisitemia vera (PV), primer miyelofibrozis (PMF), esansiyel trombositemi (ET), kronik eozinofilik lösemi-başka yerde sınıflandırılmamış ve MPN-sınıflandırılmayan (4). Yeni sınıflandırılmada mastositoz artık MPN kategorisinde yer almamaktadır. 2016 DSÖ sınıflandırılması'nda MPN kategorisi temel olarak JAK2 / CALR / MPL mutasyonu ile ilişkili neoplaziyi içeren klasik MPN (PV, ET, PMF) ve diğer 4 klinik antiteden oluşmaktadır (kronik eozinofilik lösemi-başka yerde sınıflandırılmamış, MPN-sınıflandırılmayan, KML, KNL). Bu kategoride yer alan KML, Philadelphia (Ph) kromozomu veya BCR-ABL1 füzyon geni varlığı ile diğerlerinden ayrılan ve tıpta bir prototip halini almış olan bir hastalık grubudur. Ph-negatif MPN, başlıca PV, ET ve PMF'den oluşmaktadır. Bu üç hastalık multipotansiyel hematopoetik kök hücre kaynağı, klonal proliferasyon özelliği ve kronik seyri ile biyolojik olarak birbirleriyle ilişkilidir. Buna rağmen birbirlerine dönüşüm oldukça nadir olduğu için birbirlerinden ayrı özellikleri olduğuna inanılmaktadır. Hastalığın erken döneminde henüz karakteristik özellikler gelişmediği için zor tanı konabilmektedir. Ph-negatif MPN'deki moleküler patogenezi araştıran çalışmalar, KML'ye benzer şekilde belirli derecelerde tirozin kinaz sinyalinde regülasyon kusurunu ortaya çıkarmıştır. Bu hastalarda tirozin kinazdaki mutasyon, Janus Kinaz 2 (JAK2) genindeki somatik tek nokta mutasyonu olan JAK2V617F mutasyonudur. Bu mutasyon Ph-negatif MPN olgularının %50-95'inde görülmektedir. JAK2 geni 9.kromozomda yer almakla beraber eritropoetin (EPO), trombopoetin (TPO) ve granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktörün (GM-CSF)

sinyallerinin iletilmesinde ve reseptörlerin sentezinde rol alır (5). Bu çalışmada İTF İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı Polikliniği'nden ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi Hematoloji Kliniği'nden takipli Ph-negatif MPN (PV, ET ve PMF) tanılı hastalarda JAK2V617F mutasyonunun sıklığının ve klinik öneminin araştırılması amaçlanmıştır. Bunun yanında ET ve PMF tanılı olgularda JAK2V617F allel yükünün önemi araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Klasik Kronik Miyeloproliferatif Neoplaziler

Kronik miyeloproliferatif neoplaziler (MPN), tipik olarak kemik iliği hücreliliğinde artış, bir veya daha fazla miyeloid serinin kontrolsüz ve aşırı proliferasyonu yanında organomegali ile karakterize klonal hematolojik hastalıklardır. Ayrıca değişken derecelerde kemik iliği fibrozisinin varlığı diğer ortak özelliklerdir (6). Yaklaşık 10 yıl önce MPN ‘klasik’ ve ‘atipik’ olarak sınıflandırılmıştır. Klasik MPN grubunda olan kronik miyeloid lösemi (KML), klasik morfolojik ve klinik bulguları yanında Philadelphia (Ph) kromozomu veya BCR-ABL1 füzyon geni varlığı ile diğerlerinden ayrılmaktadır. Klasik MPN grubundan olan polisitemia vera (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve primer miyelofibrozis (PMF), günümüzde Ph-negatif MPN olarak bilinmektedir. PMF ilk kez 1879 yılında ‘Heuck’ tarafından, PV, ilk kez 1892 yılında Fransız hekim ‘Vaquez’ tarafından ve ET ise 1934 yılında ‘Epstein ve Goedel’ tarafından tanımlanmıştır (7, 8). Atipik MPN grubunda ise, kronik eozinofilik lösemi-başka yerde sınıflandırılmamış, MPN-sınıflandırılmayan ve kronik nötrofilik lösemi (KNL) vardır.

**Tablo I. Miyeloproliferatif neoplazilerin (MPN) 2016 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflandırma şeması**

Kronik miyeloid lösemi (KML)
Kronik nötrofilik lösemi (KNL)
Polisitemia vera (PV)
Esansiyel trombositemi (ET)
Primer myelofibrozis (PMF)
-Prefibrotik/erken faz PMF
-Aşık fibrotik faz PMF
Kronik eozinofilik lösemi-başka şekilde sınıflandırılmamış
MPN-sınıflandırılmayan
Mast hücre hastalığı

## 2.2. Polistemia Vera

PV kazanılmış primer klonal polisitemik bozukluktur. Primer polisitemiler; eritroid öncüllerin anormal intrinsik özelliklerinden kaynaklanmakla beraber eritroid öncüller ekstrasik progenitörlere cevap olarak aşırı ve bağımsız olarak çoğalırlar. Düşük serum eritropoietin (EPO) düzeyi primer polisitemilerin ayırıcı özelliğidir. PV primer polisitemiler içinde en sık görülen ve pluripotent kök hücrelerin mutasyona uğramasından kaynaklanan myeloid bir neoplazidir. Bu mutasyon eritrositlerin ve değişen ölçüde granülositlerin ve trombositlerin aşırı çoğalmasına yol açar. Sıklıkla splenomegali ile beraberdir. PV'lı çoğu hasta kandaki myeloid hücrelerde saptanabilen Janus Kinaz 2 (JAK2) genine sahiptir. Bu mutasyon negatif regülatör domaindeki fonksiyon kaybından kaynaklanan JAK2 kinazın yapısal hiperaktivitesine yol açar. En sık görülen mutasyon JAK2V617F mutasyonudur ve PV'lı hastaların %95'inden fazlasında görülmektedir (9). PV'lı hastaların az bir kısmında JAK2 ekson 12 mutasyonu vardır. JAK2V617F mutasyonunun ET ve PMF tanılı hastalardaki sıklığı sırası ile %55 ve PMF'de %65'tir (9). Diğer klonal hematolojik hastalıklarda olduğu gibi PV da miyelofibrozis ya da akut lösemiye dönüşüm görülebilir. PV'da en önemli mortalite ve morbidite nedeni arter ve ven trombozlarıdır. Hastaların az bir kısmında sekonder miyelofibrozise ve akut lösemiye dönüşüm gerçekleşir. Kan hücre kökenlerinin proliferasyonunu kontrol altına alan radyoaktif fosfor, pipobroman, busulfan, hidroksiüre gibi miyelosüpresif tedaviler efektif tedavi seçenekleridir. Ancak miyelosüpresif tedaviler hücresel proliferasyonu kontrol etmesine ve trombotik komplikasyonların insidensini azaltmasına karşın birçoğunda lökomojenik potansiyel mevcuttur. Bunların tersine interferon-alfa lökomojenik komplikasyonlardan kaçınarak tam hematolojik remisyon ve poliklonal hematopoezde restorasyona neden olur (10). JAK2 kinaz inhibisyonunu hedefleyen tedaviler bu günlerde klinik çalışmalarda değerlendirilmektedir. Tedaviler flebotomi ihtiyacını ve lökosit sayısını azaltmakla beraber splenomegaliyi kontrol altına almakta ve hastanın yaşam kalitesini arttırmaktadır.

### 2.2.1. Tanım

Primer polisiteminin tek klonal formu olan PV ilk olarak 1892'de 'Vaquez' tarafından tanımlanmıştır (7). 1903'te 'Osler' kendisinin takip ettiği dört PV vakasını ve buna ek olarak literatürdeki beş vakayı gözden geçirerek yayınlamıştır. Bu hastalar kronik siyanoz, polisitemi ve ılımlı ölçüde dalak büyümesi ile karakterize olmakla beraber ana semptomlar halsizlik, yorgunluk, konstipasyon, baş ağrısı ve vertigodur (11). 1904'te PV'daki granülosit prekürsörleri ve megakaryositlerin proliferasyonundaki artış tanımlanmıştır (12).



### 2.2.2. Epidemiyoloji

Dünya genelinde PV yıllık insidensi 100.000'de 0,84 olarak bildirilmiştir (13, 14). Cinsiyete göre bir ayırım yoktur. Birçok vaka asemptomatik olduğu için gerçek insidensin daha yüksek olabileceği düşünülmektedir. PV insidensi Doğu Avrupa Yahudilerinde daha fazladır (15). Büyük bir İsveç araştırmasında MPN tanılı hasta insidensinin akrabalarda kontrollere göre 5-7 kat daha fazla olduğu görülmüştür (16). PV ailesel vakalarında genetik predispozanun germline bir mutasyon veya büyük olasılıkla hastalığın başlamasında gerekli bir kazanılmış somatik mutasyon olduğu düşünülmektedir.

### 2.2.3. Etyoloji ve Patogenez

Hematopoez normalde poliklonal olmasına rağmen, PV'da monoklonaldır. PV'da transforme olan pluripotent hematopoetik kök hücreleri, periferik kan hücrelerini üretir. PV'da multipotent hematopoetik progenitör hücrenin etkilenmesi karakteristik bir özelliktir. Pluripotent kök hücre yeterli büyüklüğe ulaştığında klonu baskılar ve normal poliklonal hematopoezle yer değiştirir. PV'da diğer eritrositoz nedenlerinden farklı olarak serum eritropoetin (EPO) düzeyleri oldukça düşüktür. Eritroid progenitörlerin değerlendirilmesi için saflaştırılmış EPO ve semisolid kültür tekniklerinin geliştirilmesinden sonra PV'da eritropoezin otonom olduğu gösterilmiştir (17). PV'da eritroid progenitör hücrelerinin multipl hematopoetik büyüme faktörlerine in vitro duyarlılığın gösterilmesi, hematopoetik büyüme faktörü reseptör fonksiyonunun araştırılmasına neden olmuştur. PV'da eritroid progenitörlerinde EPO reseptör ekspresyonu ve EPO bağlanması ile ilişkili çalışmalar, normal progenitör hücrelerden büyük farklılıklar ortaya çıkarmamıştır (18). PV'da IL-3 ve kök hücre faktörü reseptörleri ile ilgili çalışmalar, normal bireylerden farklılık göstermemiştir (19). PV'da EPO reseptörü patogenezle ilişkisiz kabul edilse de PV'da büyüme faktörü reseptör biyolojisindeki ileri incelemeler, MPL ve insülin-benzeri büyüme faktörü 1'e (IGF-1) dikkati çekmiştir. PV'da eritroid progenitör hücreleri, IGF-1'e aşırı duyarlıdır. Periferik kan mononükleer hücreleri üzerindeki IGF-1 reseptörleri, yapısal olarak tirozin fosforilize olup normal periferik kan mononükleer hücrelerine göre IGF-1'e daha hassastırlar (20, 21). Ayrıca, PV'da IGF-1 bağlayıcı protein-1'in serum konsantrasyonu artmıştır ve bu protein in vitro olarak 'eritroid burst' oluşumunu stimüle eder (22). Takip eden çalışmalarda, PV'da IGF-1 bağlayıcı proteininde artış gösterilmekle beraber fosforilizasyon kusuru veya IGF-1 reseptör geni sekansında anormallikler ortaya konmamıştır (23). MPL, pluripotent hematopoetik progenitörlerinde eksprese edilir ve onun ligandı olan trombopoetin (TPO), bu hücrelerin yaşam süresini artırır (24, 25). Farede fazla

TPO maruziyeti sonrasında granülositoz, trombositoz, osteomiyelofibroz ve ekstramedüller hematopoez gösterilmiştir (26). PV'da trombosit ve megakaryositlerde MPL protein ekspresyonu belirgin olarak azalır. Bunun sonucunda trombositlerde trombopoetin indüklenmiş sinyal iletiminde belirgin azalma gözlenir. MPL protein ekspresyon kaybı, PV'lı hastaların çoğunda görülmesine rağmen eritrositoz veya trombositozu neden olan sekonder durumlarda hiçbir zaman gözlenmez (27). MPL ekspresyon kaybının derecesi, hastalık süresi ve ekstramedüller hematopoezin derecesi ile ilişkili görünmektedir (28). MPL hücre yüzey ekspresyonunu hasarlayan MPL polimorfizmi, miyeloproliferatif bir fenotipe neden olmaktadır (29). Bu polimorfizm, MPL'nin distal N-terminal domaininde hasara neden olarak kontrolsüz miyeloproliferasyona neden olur (30, 31). Bazı miyeloproliferatif hastalıklarda bazal tirozin kinaz aktivitesinin keşfi, PV'da olası bir moleküler hasarın varlığını düşündürmüştür (32, 33). JAK2, PIK3 veya Src'nin inhibitörlerinin, PV'da eritropoetin bağımsız koloni (EEC) oluşumunu ortadan kaldırdığına dair yazılar, artmış kinaz aktivitesinin indirekt kanıtıdır (34). PV'da büyüme faktörüne aşırı duyarlılık göz önüne alındığında temel tirozin kinaz aktivitesi için kanıt yetersizdir. PV progenitörlerinde endojen eritroid koloni büyümesinin JAK2 kinaz inhibitörleri ile baskılandığının gösterilmesi, JAK2 geninde sekans yapılmasına neden olmuş ve JAK2 psödokinaz domaininde nokta mutasyonun (V617F) keşfedilmesine neden olmuştur (35, 36). Bu gözlemi takiben büyük ölçekli sekanslama projelerinin kapsamında büyük çalışmalar yayınlanmıştır (37-41).

#### **2.2.4. JAK2V617F Mutasyonu**

JAK2 kinaz tüm hematopoetik hücrelerde vardır ve çeşitli hematopoetik büyüme faktörlerine cevap olarak oluşan proliferatif intraselüller sinyaller için esastır. JAK2V617F mutasyonu ilk olarak PV'da 2004 yılında tanımlanmıştır (36). JAK2V617F mutasyonu, PV'lı hastaların hemen hemen hepsinde var olmakla beraber ET ve PMF tanılı hastaların yüzde 50'sinden fazlasında mevcuttur. Diğer MPN tanılı olgularda çok nadir olarak bulunur. Uniparental dizomi (UPN), PV'da ET'den farklı olarak homozigot JAK2V617F mutasyonuna neden olur. Homozigot JAK2V617F mutasyonunu taşıyan PV tanılı hastalar; daha uzun süreli hastalığa, daha yüksek hemoglobin (Hgb) seviyelerine ve daha fazla pruritis insidensine sahip olma eğilimindedir. Ayrıca bu hastalar daha çok post PV-MF'e transforme olmaktadır. PV'da JAK2V617F allel yükü; artmış dalak boyutu, artmış lökositoz ve miyelofibroz şiddeti ile koreledir. Bu durum önemli olmasına rağmen PV hastalarında anlamlı moleküler cevapmaksızın tam hematolojik yanıt elde edebilirler. Nadiren JAK2V617F negatif olan PV hastalarının bazılarında ekzon 12'de farklı bir JAK2 mutasyonu vardır (42). Yanlış anlamlı

mutasyonları, delesyonları ve insersiyonları içeren birkaç farklı JAK2 ekzon 12 mutasyonu açıklanmıştır (38). JAK2 ekzon 12 mutasyonu olan hastalarda klasik JAK2 mutasyonu olanlara göre daha yüksek Hgb düzeyleri ve kemik iliği morfolojisinde farklılıklar gibi farklı klinik durumlar bulunabilir ancak hastalık süreci ve klinik sonuçlar genel olarak aynıdır (42). Tek bir soy ağacında birkaç farklı MPN tanılı birey içeren hastaların ailesel çalışmaları JAK2'nin hastalığın başlangıcından tek başına sorumlu olmayabileceğine hatta hastalığı başlatan olayı temsil etmeyebileceğine işaret etmektedir (43). JAK2 mutasyonunun kazanımının geç bir klinik olay olabileceği düşünülmektedir. Sporadik ve klonal PV hastalarının bir kısmında JAK2V617F pozitifdir. PV'yı da içeren JAK2V617F pozitif MPN'lerde sıklıkla akut lösemik transformasyon sırasında JAK2 mutasyonu negatifleşmektedir. Bu gözlemler JAK2 genindeki somatik mutasyonun PV'nin patogenezinde tek başına rol oynamadığını gösterir. Ancak PV'nin klinik fenotipinin ortaya çıkmasında bu mutasyonun temel teşkil ettiği bilinmektedir. JAK2V617F homozigotluğu, kazanılmış JAK2V617F mutasyonu ve 9p bölgesindeki birçok diğer genetik mutasyon prognostik anlam taşıyabilir. JAK2 GGCC (46/1) haplotipi JAK2 pozitif bireylerde ve JAK2 ekzon 12 mutasyonu pozitif PV'da da saptanmıştır (44). Bu durumla ilgili çalışmalar, germline genetik olayların MPN'lerin erken patogenezinde önemli rol oynadığını göstermektedir.

## **2.2.5. Klinik Özellikler**

### **2.2.5.1. Bulgu ve Semptomlar**

PV'nin çeşitli klinik evreleri tanımlanmasına rağmen (gizli PV, pleotropik faz, stabil faz, transformasyon, tükenme fazı, akut lösemi) bu evrelerin hastalığın sıralı bir şekilde ilerleyişini temsil edip etmediği veya tüm hastalarda hastalığın bu evreler boyunca ilerleyip ilerlemediği bilinmemektedir. PV sinsi başlangıç gösterebilmektedir. Çocukluktan erişkin yaşa kadar her dönemde başlayabilmesine rağmen en sık hayatın 6.dekadında karşımıza çıkar. Başlangıç bulgu ve semptomları baş ağrısı, pletore, kaşıntı, tromboz ve gastrointestinal kanamalardır. Hastaların çoğuna semptomsuz dönemde periyodik değerlendirilmelerde Hgb yüksekliğinin saptanması sonucu yapılan araştırmalarda tanı konulur. Diğer vakalar kan kayıpları, demir eksikliği anemisi ya da tromboz etyolojisinin araştırılması sürecinde tanı alır. Tanı anında semptomlar hastaların %30'undan daha azında bildirilmiştir. En sık görülen semptomlar sıklık sırasına göre baş ağrısı, yorgunluk, güçsüzlük, kaşıntı, baş dönmesi ve gece terlemesidir. Ama bu semptomların PV'dan miyelofibroze transforme olan hastalarda var olma olasılığı daha fazladır. PV genellikle ileri

yaşlarda ortaya çıktığı için koroner arter hastalığı vb vasküler anormalliklerin gelişimi ile birliktelik gösterebilir.

#### **2.2.5.1.1. Tromboz ve Kanama**

Trombotik epizodlar hastaların yaklaşık 1/3'ünde meydana gelir. Trombozların 1/2-3/4'ü arteriyeldir. İskemik olaylar ve geçici iskemik ataklar arteriyel komplikasyonların çoğundan sorumludur. Bazı çalışmalarda hastaların %40-60'ında 10 yıllık periyod içinde en az bir trombotik olay raporlanmıştır. Yıllık tromboz insidensi yaklaşık olarak bu orana eşittir (45-47). Ancak prospektif çalışmalar trombozun tanıdan önceki ilk birkaç yıl içinde daha sık olduğunu göstermiştir. En sık gözlenen ciddi komplikasyon serebrovasküler olaylar olmakla beraber trombotik olayların 1/3'ünden sorumludur. Bunu sıklıkla miyokard infarktüsü (MI), derin ven trombozu (DVT) ve pulmoner emboli takip eder. Hepatik ven trombozu (Budd-Chiari sendromu) katastrofiktir ve genellikle PV'nın fatal bir komplikasyonudur. Asit, hepatosplenomegali ve sağ üst kadranda ağrısı ile karakterize olan Budd-Chiari sendromu PV'nın ilk klinik prezentasyonu olabilir. Ayrıca PV, Budd-Chiari sendromu ile ilgili en sık altta yatan hastalıktır. Uzmanlar, Budd-Chiari sendromu olan tüm hastalarda JAK2V617F mutasyonunun araştırılmasını önermektedir (48). JAK2V617F mutasyonunun allelik yükü PV hastalarda trombotik yolağın aktivasyonu ile ilişkilidir. Kanama PV'nın sık komplikasyonlarından biridir. Bazı serilerde hastaların yaklaşık 1/4'ünde meydana gelmiştir. Epizodlar genellikle minör olmasına rağmen ciddi GİS ve diğer fatal sonuçları olabilen hemorajik komplikasyonlar da oluşabilir (45).

#### **2.2.5.1.2. Kutanöz Bulgular**

PV hastaların yaklaşık %40'ında kaşıntı meydana gelir. PV'lı hastalarda 'akuajenik pruritis' denilen banyo sonrasında ortaya çıkan kaşıntı, hastalığın en spesifik semptomudur. Fakat başka hastalıklarda da görülebilmektedir (49). PV'da pruritisin mekanizması tartışma konusudur. Kutanöz mast hücre aktivitesindeki artışın rolünü destekleyen çalışmalar yanında ilişkisiz olduğunu vurgulayan çalışmalar da bulunmaktadır (50, 51). Bazı çalışmalarda histaminin, demir eksikliğinin ve trombositlerin rolü olduğu ileri sürülmektedir (52, 53). Ciddi PV hastalarında akut febril nötrofilik dermatozis (Sweet sendromu) gibi dermatolojik bozukluklar gelişebilir. Eritromelalji, ekstremitelerde sıcaklık artışı ile karakterize bir sendromdur. Ağrı, kırmızı parmaklar, yanma hissi ve parmaklarda, ellerde ve ayaklarda eritem mevcuttur (54). Trombositoz ile ilişkilidir. Karakteristik olarak düşük doz aspirin tedavisine hızlıca yanıt verir. Şiddetli olgularda parmaklarda iskemik nekrozla sonuçlanabilir ve

ampütasyona yol açabilir. Bu sendrom PV'lı hastaların %5'inden azında meydana gelir (55). Eritromelalji, MPN tanılı hastalara spesifik değildir ve eritromelaljisi olan 168 hastadan oluşan bir seride PV hasta oranı %10'dan daha azdır (56). Eritromelalji idiyopatik olabilmekle beraber periferik damarları etkileyen hastalıklarda da ortaya çıkabilir. Fakat eritromelalji, en sık PV ve ET'yi içeren MPN'de görülmektedir (57). Bu olayın gelişimine trombosit agregatları tarafından oluşturulan geçici mikrovasküler oklüzyonların sebep olduğu tahmin edilmektedir (58).

### **2.2.5.1.3. Pulmoner Hipertansiyon**

PV hastalarında pulmoner hipertansiyon tahmin edilenden daha fazla olmakla beraber aktive trombositler tarafından üretilen trombosit kökenli büyüme faktörünün (PDGF) salınımı sonucunda ortaya çıkan düz kas hiperplazisi, megakaryositler tarafından ortaya çıkan pulmoner dolaşımın tıkanması, ektramedüller hematopoez ve tekrarlayan trombotik olaylar sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir (59). Fakat etyoloji net değildir.

### **2.2.5.1.4. Nörolojik Bulgular**

Baş dönmesi ve baş ağrısı PV'nın sık nörolojik semptomlarıdır. Ekstramedüller hematopoeze sekonder spinal kord kompresyonu bildirilmiştir.

### **2.2.5.1.5. Diğer Organ Sistemlerine Ait Bulgular**

PV'da peptik ülserin genel popülasyona göre sıklığının arttığına dair gözlemler genellikle eski çalışmalara dayandırılmaktadır. PV'da peptik ülser gelişiminin spesifik bir kan grubu ile ilişkisi gösterilememiştir ve H. pylori, histamin veya sitokin salınımının rolü net bilinmemektedir (60, 61). Dolaşımdaki staz ve eritrosit kitlesindeki artışın kontrolsüz hale gelmesiyle Hgb tarafından nitrik oksid salınımına bağlı ortaya çıkan vazokonstriksiyonun peptik ülserle ilişkisi olabileceği düşünülmektedir (62). Kemik iliği hücrelerinin aşırı proliferasyonundan kaynaklanan artmış nükleik asit turnoveri kan ürik asit düzeyinin artışına yol açar (63). Bazı hastalarda gut ataklarına neden olabilir.

## **2.2.6. Laboratuvar Özellikleri**

### **2.2.6.1. Kan Bulguları**

Hgb düzeyi, eritrosit sayısı ve hematokrit (Htc) artmıştır; ortalama eritrosit hacmi (MCV) genellikle düşük veya normaldir (10). Flebotomi yapılan ya da gastrointestinal kanama epizodları geçiren hastalarda MCV azalabilir. Eritrositler demir eksikliği morfolojisiyle benzer şekilde hipokromik ve mikrositiktir. Artmış Hgb düzeyi PV'nın tanısasal bir özelliği

olmasına rağmen bazen Hgb düzeyleri düşük, normal ya da sınırda bir değer olabilir. Bu durumlar için ‘gizli ya da maskeli PV’ terimi kullanılır. Eritrositlerde bol miktarda anizositoz, poikilositoz ve göz yaşı hücresi varlığı postpolisitemik miyeloid metaplazi fazını (post-PV miyelofibroz) düşündürür. PV hastalarının yaklaşık 3’te 2’sinde mutlak nötrofili gözlenir (64). Kanda nadiren miyelositler ve metamyelositler bulunabilir. Uzun süreli, ilerlemiş hastalıkta önemli ölçüde immatür hücre bulunabilir. Bu anormallikler postpolisitemik miyeloid metaplazi fazının (tükenme fazının) varlığına işaret eder. Kontrolsüz hastalığı olan hastaların yaklaşık 2/3’sinde bazofili görülebilir (65). PV’lı hastalarda aktive nötrofil oranı artmıştır. Nötrofiller PV ile ilişkili trombozda önemli bir faktördür. Lökosit alkalin fosfataz düzeyi PV’lı hastaların yaklaşık %70’inde yüksektir (64). Tanı anında PV’lı hastaların yaklaşık %50’sinde trombosit sayısı artmıştır ve %10’undan fazlasında  $1.000.000/mm^3$  üzerindedir (64). PV tanılı olguların önemli bir kısmı Hgb seviyelerinde yükseklik olmadan izole trombositoz ile prezente olur. Özellikle demir eksikliği varlığında PV tanılı olgular ET tanısını alabilir. Kalitatif trombosit anormallikleri trombotik ve hemorajik olayların patogenezinde rol oynayabilir. İn vitro spontan trombosit agregasyonu artabilir. MPN tanılı olgularda epinefrinle uyarılan trombosit agregasyonunun temel basamağında patognomonik bir kusur gösterilmiştir. Bunlara ilave olarak PV ilişkili trombosit anormallikleri arasında trombosit tromboksan A2 üretiminin artışı ve tromboksan metabolitlerinin salgılanmasının artışı vardır (66). Trombosit faktör-4 seviyeleri artar. Trombosit yaşam süresi kısalabilir. Trombosit aktivasyon faktörünün uyarılmasından sonra fibrinojenin bağlanması ve TPO reseptörlerinin ekspresyonu azalır. Ancak bu değişikliklerin hiçbiri PV ya spesifik değildir.  $1.000.000-1.500.000/mm^3$ ’ten daha yüksek trombosit düzeyleri, azalmış von Willebrand faktör seviyeleri ile ilişkilidir (edinsel tip 2 von Willebrand hastalığı) (67). Bu durum trombozla değil kanama riskinde artış ile ilişkilidir.

## **2.2.6.2.JAKV617F ve JAK2 Ekzon 12 Mutasyonu**

### **2.2.6.2.1. JAK2V617F Mutasyonu**

JAK2 genini içeren mutasyonlar granülositler, eritrositler ya da lökositlerin ekspansiyonuna neden olarak hematopoezin bozulmasına neden olur. MPN tanılı olgularda ilk genetik bozukluk ekzon 14’te keşfedilmiştir: 1849. pozisyonunda yer alan guanin nükleotidinin timine (G1849T) değişmesiyle sentezlenen proteinin 617. pozisyonundaki valin amino asidinin yerine fenilalaninin kodlanmasına yol açan V617F mutasyonu. JAK2V617F mutasyonu Ph-negatif MPN’yi konjenital ve kazanılmış reaktif hematopoetik bozukluklardan ayırır. Genellikle JAK2V617F allel yükü ET hastalarında PV ve PMF olgularına göre daha düşüktür (68, 69).

Allel spesifik polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tek nükleotid polimorfizminin genotiplendirilmesinde yaygın bir şekilde kullanılır. JAK2V617F allel yükünün kantitatif ölçümünde çoğunlukla granüositler kullanılmakla beraber kantitatif olmayan analizlerde total lökositler, tam kan veya kemik iliği kullanılmaktadır. JAK2V617F negatif olan analizlerin bir kısmının sensitif kantitatif analizler kullanıldığında pozitif olduğu görülmektedir (70).

#### **2.2.6.2.2. JAK2 Ekzon 12 Mutasyonu**

PV'da nadiren ekzon 14'te JAK2V617F mutasyonu negatif saptanmıştır. Bu olguların bir kısmı ekzon 12'de bir dizi mutasyon taşıyabilir. Kodon 536 ile 547 arasında ekzon 12'de 40'tan fazla mutasyon tanımlanmıştır (71, 72). Bu mutasyonlar yer değiştirme, delesyon ve duplikasyonları içerir. Bu bölgede çeşitli mutasyonların gözlenmesinin yanında verilen örneklerde mutasyonların oranı küçük olabildiği için bu mutasyonları saptamak zor olabilmektedir. JAK2 ekzon 12 mutasyonu primer olarak genç hastalarda ve izole eritrositozu olan hastalarda görülür. Bu nedenle JAK2V617F mutasyonu taşıyan PV tanılı olgulardan farklı fenotiple prezente olabilir.

#### **2.2.6.3. Eritropoietin Düzeyi**

PV, normal EPO yokluğunda bile eritroid hücrelerinin proliferasyonu ile ayırt edilir. Sonuç olarak yüksek Htc düzeyi olan kişide EPO düzeyinin inhibe olması ve serum düzeyinin azalması beklenmektedir. Çalışmalarda PV'lı hastalarda serum EPO düzeyinin normal referans değerinin altına indiği bildirilmiştir (73, 74). Sekonder polisitemisi olan hastalar genellikle normalden yüksek EPO düzeyine sahiptir. Yüksek EPO düzeyinde genellikle PV tanısı dışlanmasına rağmen düşük EPO düzeyi PV hastaları için patognomonik değildir. Primer ailevi ve konjenital polisitemi hastalarında EPO düzeyi PV hastalardan daha düşük olabilir ve PV hastalarının bazıları normal EPO seviyesine sahip olabilir. Bu durum ekzon 12 JAK2 mutasyonuna sahip hastalarda daha olasıdır (42).

#### **2.2.6.4. Kemik İliği Bulguları**

PV'da kemik iliği karakteristik olarak hipersellülerdir. 2016 DSÖ sınıflandırmasında kemik iliği biyopsi bulguları majör kriterdir (3). Kemik iliğinde baskın olarak eritroid dizide olmakla beraber granülositik ve megakaryositik proliferasyonla karakterize üç dizide büyümeyi içeren hipersellüler kemik iliği bulguları vardır (panmiyelozis) (3, 75-78). Megakaryositler boyut farklılıkları olan pleomorfik ve olgun megakaryositlerdir. JAK2 ekzon 12 mutasyonu olan hastaların kemik iliği morfolojisindeki farklılık megakaryositik kümelenmenin ve

panmyelozisin yokluğudur. PV olgularında farklı sitogenetik bulgular bildirilmesine rağmen tanı için spesifik değildir.

### 2.2.7. Tanı

PV'lı olguların %95'inden fazlasında pozitif olan JAK2V617F mutasyonun keşfedilmesi PV tanısının konulmasını kolaylaştırmıştır. JAK2V617F mutasyonu, miyeloid neoplaziye spesifiktir ve diğer polisitemiye yol açan durumlarda saptanmaz (79). PV tanısında sensitif bir gösterge olmasına rağmen bu mutasyon PV için spesifik değildir, ET ve PMF olgularının yaklaşık %50'sinde bulunmaktadır (80, 81). Sonuç olarak JAK2V617F mutasyonu MPN'leri birbirinden ayırmaz. PV tanısı ve ayırıcı tanısında ek ihtiyaç duyulan testler arasında serum EPO düzeyi, arteriyel oksijen saturasyonunun ölçülmesi, abdominal BT (renal, hepatik ve serebral tümörleri dışlamak için), kraniyal MR (serebellar hemanjioblastom dışlamak için) ve detaylı aile araştırmaları vardır. JAK2V617F mutasyonu negatif olan olgularda JAK2 ekzon 12 mutasyonu araştırılmalıdır. PV tanısında revize edilmiş 2016 DSÖ kriterleri kullanılmaktadır (Tablo II) (3). 2008 DSÖ kriterlerine göre en önemli farklılıklar kemik iliği biyopsisinde panmyelozis görülmesinin majör kriter olması ve Hgb düzeyinin erkekte >18.5 g/dl yerine >16.5 g/dl ve kadında >16.5 g/dl yerine >16 g/dl olmasıdır (Tablo II) (3).

**Tablo II. DSÖ 2016 PV tanı kriterleri**

<p><b>Majör kriterler:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Erkekte hemoglobin (Hgb) &gt;16.5 g/dl, kadında &gt; 16 g/dl olması veya erkekte Htc &gt;%49, kadında &gt;%48 olması veya ortalama normal değerden %25'den fazla artmış kırmızı hücre kitlesi</li> <li>2- Kemik iliği biyopsisinde yaşa göre hiperselülarite, baskın olarak eritroid dizide olmak üzere granülositik ve megakaryositik dizide proliferasyon (pleomorfik ve matür farklı boyutlarda megakaryositler) ile karakterize her 3 dizide proliferasyon (panmyelozis)</li> <li>3- JAK2V617F mutasyonu veya JAK2 ekzon 12 mutasyonu varlığı</li> </ol> <p><b>Minör kriterler:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Serum EPO düzeyinin normalin altında olması</li> </ol>
<p><b>Tanı: PV tanısı için üç majör kriter veya ilk iki majör kriterle beraber bir minör kriter gereklidir†</b></p> <p>†Sürekli mutlak eritrositozu (erkeklerde Hgb &gt;18.5 g/dl (Htc &gt; %55) veya kadınlarda Hgb &gt; 16.5 g/dl (Htc &gt; %49.5) olan, 3. majör kriteri ve minör kriteri olan olgularda 2 numaralı kriterin uygulanması gerekmez. Ancak başlangıçta myelofibrozun varlığı sadece kemik iliği biyopsisi ile saptanabilir (hastaların yaklaşık %20'sinde). Bu bulguları olan hastalarda daha hızlı bir şekilde aşikar myelofibroza dönüşüm gerçekleşebilir (post-PV miyelofibrozis)</p>



### 2.2.8. Tedavi

PV'da mortalite ve morbiditenin temel sebebi vasküler komplikasyon insidensinde artış (trombozis ve/veya kanama) ve miyelofibrozis veya akut lösemi/miyelodisplaziye transformasyondur. PV hastalarında önceki tromboz hikayesi, yaş, flebotomi öyküsü ve flebotomi oranı tromboz riskinde artışa katkıda bulunan faktörlerdir. Günümüzde hastanın yaşı (>60 yaş) ve önceki trombotik olaylar PV'nin majör vasküler komplikasyonları için majör risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (82). 60 yaşından büyük olanlar ve daha önce trombotik olay geçirenler (geçici iskemik atak vb.) yüksek riskli kategoride yer almaktadır. Yüksek riskli hastalarda sitoredüktif tedavi endikasyonu vardır. Hipertansiyon, diyabet ve sigara yanında lökositoz ve JAK2V617F allel yükü tromboz patogenezinde rol oynayabileceği düşünülen diğer risk faktörleridir (83-85). Bu kriterlere göre hastaların sınıflandırılması için prospektif klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmasına rağmen yüksek lökosit seviyesi ve/veya yüksek JAK2V617F allel yükü olan hastalar konvansiyonel kriterlere göre tedavi edilmelidir. Yüksek trombosit sayısı tromboz riskini arttırmamasına rağmen kanama riskini arttırabilir. Trombosit sayısı >1500000/mm<sup>3</sup> olan hastalarda kanama daha sıktır (67). Bu durumun kazanılmış tip 2 von Willebrand hastalığı ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Tedavi tanı anında risk değerlendirilmesine ve hastalığın ilerleyen dönemdeki değişimine bağlıdır. Tedavi semptomları ortadan kaldırmak ve komplikasyonları önlemek için uygulanır. Pletorik ve tükenme fazına göre tedavileri ayrı ayrı düşünmek faydalı olur. Pletorik fazda ana tedavi spesifik olmayan miyelosüpresyonun flebotomilerle desteklenmesine dayanır (86, 87). Buna ek olarak trombotik olayların önlenmesi (aspirin kullanılması vb.) ve semptomların rahatlatılması hedeflenir. Umut verici tedaviler pegile interferon (PEG-IFN) ve JAK2 inhibitörlerini içerir. Hastaların küçük bir kısmı olan düşük riskli grup tek başına aspirin ve flebotomilerle izlenebilir. Tükenme fazındaki PV hastalarında hidroksiüre, transfüzyon, eritropoezi uyaran ilaçlar, JAK2 inhibitörleri, splenektomi veya allogeneik kök hücre nakli tedavi seçenekleri arasında yer alır. Sadece JAK2 inhibitörlerinin faydası prospektif çalışmalarda kanıtlanmıştır (88, 89).

#### **Polisitemia Vera Pletorik Fazda Tedavi**

Pletorik fazdaki PV hastalarında kemik iliği proliferasyonunun ve kan sayımının baskılanarak semptomların iyileştirilmesi ve tromboz ve kanama riskinin azaltılması hedeflenmektedir (87). Başlıca tedavi miyelosüpresif ilaçlar olmakla beraber bazı hastalarda miyelosüpresif tedavilerle birlikte flebotomi, trombosit düşüren ajanlar ve/veya IFN-alfa kombinasyon tedavileri kullanılır. Tablo III'te PV hastalarında değişik tedavi seçeneklerinin avantajları ve dezavantajları özetlenmiştir. Avrupa Lösemi Ağı (ELN), panel önerisi

doğrultusunda güncellenmiş konsensus bazlı tedavi rehberini yayınlamıştır (86). Miyeloproliferatif Neoplazilerin Araştırma ve Tedavisi için Uluslararası Çalışma Grubu (IWG-MRT) ve ELN iş birliği sonucunda klinik, hematolojik ve histolojik yanıt yanında semptomlar, hastalık progresyonu ve vasküler olayları içeren yanıt değerlendirilmesini kapsayan güncellenmiş rehber yayınlanmıştır (90). Tablo IV'te yanıt kriterleri özetlenmiştir.

**Tablo III. Polisitemia Vera'da Tedavi**

<b>TEDAVİ</b>	<b>AVANTAJ</b>	<b>DEZAVANTAJ</b>
<b>Flebotomi</b>	Düşük riskli, uygulanması kolay	Trombositoz ve lökositozu kontrol edemez
<b>Hidroksiüre</b>	Eritrositoza ek olarak trombositoz ve lökositozu da kontrol edebilir	Devamlı tedavi gereklidir. Uzun süreli lökomojenik etkisi tam olarak bilinmemektedir.
<b>Busulfan</b>	Uygulanması kolaydır. Uzun süreli remisyon sağlar	Yüksek dozlarda uzun süreli kemik iliği baskılanması yapar. Lökomojenik riski, uzun süreli pulmoner ve kutanöz toksisitesi mevcuttur.
<b><sup>32</sup>P</b>	Hasta kompliansına gerek yoktur. Trombositoz, eritrositoz ve lökositozu uzun süreli kontrol eder.	Pahalıdır ve göreceli olarak yönetimi zordur. Olası lökomojenik etkisi vardır.
<b>Klorambusil</b>	Uygulanması kolaydır. Trombositoz ve lökositozun kontrolünü iyi sağlar.	Lökomojenik etkisi yüksektir.
<b>İnterferon</b>	Lökomojenik potansiyeli düşüktür. Kaşıntıya faydalıdır. Polisitemik klonu derin baskılamada potansiyel etkisi vardır.	Uygulanması zordur, pahalıdır ve yan etkisi sıktır.
<b>Anagrelid</b>	Trombositler üzerine selektif etkilidir.	Trombositler üzerine selektif etkilidir.
<b>JAK2 inhibitörleri</b>	Flebotomi ihtiyacını azaltır ve yaşam kalitesini düzeltir.	Klinik çalışmalarda deneyim vardır. Uzun süreli etkisi bilinmemektedir.

**Tablo IV. Polisitemia Vera'da Yanıt Kriterleri**

<b>A. Klinik Yanıt</b>	
<b>Yanıt</b>	<b>Kriterler</b>
<b>Tam Yanıt (Aşağıda belirtilen A, B, C ve D kriterlerinin hepsinin birlikte olması gerekir)</b>	
<b>A</b>	Hastalıkla ilgili bulgularda uzun süreli iyileşme* (palpabl hepatosplenomegalide gerileme ve semptomlarda büyük oranda azalma†)
<b>B</b>	Kan sayımında uzun süreli remisyon* (flebotomi yapılmadan Htc<%45, trombosit $\leq 400000/\text{mm}^3$ , lökosit $< 10000/\text{mm}^3$ )
<b>C</b>	Progresif hastalığın yokluğu ve hemorajik ve trombotik herhangi bir olayın olmaması
<b>D</b>	Kemik iliğinde histolojik remisyonu (yaşa göre normoselüler ilik ve üç dizi hiperplazinin kaybolması ve >grade 1 retiküler fibrozisin yokluğu)
<b>Kısmi Yanıt (Aşağıda belirtilen A, B, C, D kriterlerinin birlikte olması gerekir)</b>	
<b>A</b>	Hastalıkla ilgili bulgularda uzun süreli iyileşme* (palpabl hepatosplenomegalide gerileme ve semptomlarda büyük oranda azalma†)
<b>B</b>	Kan sayımında uzun süreli remisyon* (flebotomi yapılmadan Htc<%45, trombosit $\leq 400000/\text{mm}^3$ , lökosit $< 10000/\text{mm}^3$ )
<b>C</b>	Progresif hastalığın yokluğu ve hemorajik ve trombotik herhangi bir olayın olmaması
<b>D</b>	Kemik iliğinde histolojik remisyon elde edilmemesi (üç dizi hiperplazinin devam etmesi)
<b>Yanıtsız</b>	Parsiyel remisyon kriterlerini karşılamamak
<b>Progresif Hastalık</b>	Post-PV miyelofibroza, miyelodisplastik sendroma (MDS) ya da akut lösemiye transformasyon
<b>B. Moleküler Yanıt ‡</b>	
<b>Yanıt</b>	<b>Kriterler</b>
<b>Tam Remisyon</b>	Var olan anormalliklerin eradikasyonu
<b>Parsiyel Remisyon</b>	Bazal $\geq 20\%$ allel yüküne sahip olan hastalarda allel yükünün $\geq 50\%$ azalması

\* En az 12 hafta süren

† MPN tanıli hastalarda 'Semptom Değerlendirme Formu'na' göre toplam değerlendirme skorunda  $\geq 10$  puan azalma

‡ Kanda granülositlerde değerlendirme yapılmalıdır. Moleküler yanıt; tam yanıt veya kısmi yanıtı değerlendirmek için gerekli değildir.

### **2.2.8.1. Miyelosüpresif Tedaviler**

Miyelosüpresyon kan sayımını azaltarak vasküler olayları azaltır ve semptomların iyileşmesine yardımcı olur. Bunun yanında uzun süreli sağkalımı arttırıcı etkisi de vardır.

#### **2.2.8.1.1. Hidroksiüre**

PV tedavisinde en sık kullanılan miyelosüpresif ajan hidroksiüredir (91, 92). Eritrosit, lökosit ve trombosit sayısını kontrol eden efektif bir ajandır. Tek başına flebotomi ile tedavi edilen hasta grubu ile karşılaştırıldığında tedavinin ilk birkaç yılında tromboz riskini azalttığı görülmüştür. Miyelosüpresyon etkisi kısa süreli olduğu için aralıklı tedaviden ziyade sürekli tedavi gereklidir. Ayrıca etkisi kısa süreli olduğu için göreceli olarak güvenlidir. Bu tedavi ile aşırı kemik iliği miyelosüpresyon olsa bile birkaç gün içinde ilacın dozu azaltıldığında ya da ilaç kesildiğinde miyelosüpresyon düzelmektedir. Hidroksiürenin JAK2 allel yükü üzerindeki etkisiyle ilgili çalışmaların sonuçları tartışmalıdır (93-96). Bir çalışmada JAK2 allel yükünün miktarının hidroksiüreye verilen cevabı etkileyebileceği gösterilmiştir ve hidroksiüre dozlarının JAK2 allel yüküne göre ayarlanması önerilmektedir (97). Hidroksiüre alkilleyici bir ajan olmadığı için diğer miyelosüpresif ajanlara kıyasla akut lösemik transformasyona yol açma etkisi daha azdır. Hidroksiüre güvenli ve etkili bir ajan olmasına rağmen PV hastalarının %10'unda ilaç direnci ve intoleransı gelişebilir (örneğin cilt ülseri ve gastrointestinal intolerans) (98-100). Hidroksiüre direnci, sağkalım oranını azaltır ve miyelofibroz/akut miyeloid lösemiye (AML) transformasyon oranlarını arttırır (98).

#### **2.2.8.1.2. Busulfan**

Hidroksiüre altında hastalığı kontrol alınamayan veya hidroksiüre yan etkileri gelişen hastalarda ikinci basamak tedavi olarak busulfan kullanılır. Busulfan PV için etkili ve uygun bir tedavidir. Uzun süreli kemik iliği baskılanması yaptığı için ilaç birkaç hastalık periyodu geçmeyecek şekilde günlük 2-8 mg dozda aralıklı olarak kullanılır. İlaç kesildikten sonra birkaç hafta daha kan sayımı düşmeye devam eder. Hastalık bazen aylarca hatta yıllarca kontrol altında tutulabilir. Büyük bir çalışmada busulfan tedavisiyle ilk remisyon süresi ortalama 4 yıl olarak bildirilmiştir (101). PV tedavisinde busulfanın uzun süreli miyelosüpresif etkisi uzun süreli pansitopeni riskini beraberinde getirir. Busulfan tedavisi ile akut lösemiye transformasyon riski de artmıştır. 1638 PV hastasıyla yapılan büyük bir çalışmada busulfanın AML/MDS transformasyon riskini arttıran ajanlardan biri olduğu gösterilmiştir (102). Busulfan ikinci basamak tedavide kullanıldığında JAK2 allel yükünü azaltır ve hastaların büyük çoğunluğunda

tam hematolojik remisyon sağlar ancak birinci basamak busulfan tedavisi ile karşılaştırıldığında akut lösemiye transformasyon riski daha fazladır (103).

#### 2.2.8.1.3. Radyoaktif Fosfor

PV tanılı hastalarda kullanılan ilk etkili tedavilerden biri  $^{32}\text{P}$ 'dur (104). 2-4 mCi başlangıç dozlarında yeterli hastalık kontrolü sağlanabilmektedir. Günümüzde nadir kullanılmakla beraber yaşlı hastalarda bir tedavi seçeneği olabilir (105).

#### 2.2.8.1.4. İnterferon

İnterferon-alfanın (IFN-alfa) PV hastalarında klinik ve hematolojik remisyon sağladığı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (106-110). Bu çalışmaların çoğunun çalışma taslağı benzer olmasına rağmen IFN'un değişik formülasyonları kullanıldığı (IFN-alfa2a ve -alfa2b, PEG-IFN-alfa2a ve -alfa2b, insan lökosit IFN) ve yanıtı ölçmek için heterojen kriterler uygulandığı için kesin metaanaliz sonuçlarını ortaya koyamamıştır. Buna rağmen bu çalışmalar, IFN-alfa'nın kaşıntı da dahil olmak üzere PV semptomlarını azalttığını, hastaların yaklaşık %80'inde hematolojik cevap sağladığını ve yaklaşık %60'ında flebotomi ihtiyacını azalttığını ortaya koymuştur (106-110). Çalışmalarda klinik ve hematolojik cevaba ek olarak IFN-alfa'nın kullanılmasının JAK2 allel yükünü azalttığı ve az hasta sayısı içeren bir çalışmada ayrıca bu tedavinin klonal hematopoezi poliklonal hematopoeze dönüştürdüğü gösterilmiştir (111-113). IFN-alfa2b ve hidroksiüre karşılaştırıldığında IFN-alfa2b'nin PV hastalarında hidroksiüre tedavisine göre daha iyi moleküler ve hematolojik yanıt oluşturduğu gösterilmiştir (114, 115). Ancak IFN-alfa önemli yan etkilere sahiptir. IFN-alfa verilen PV ve ET hastalarının yaklaşık %25'inde tedavi bu yan etkiler nedeniyle kesilmiştir. Tedavi kesilen hastaların yaklaşık yarısında ilk yılda tedavi kesilmiştir. Hematolojik toksisiteler arasında anemi, trombositopeni ve nötropeni bulunmaktadır. Diğer potansiyel istenmeyen yan etkileri cilt toksisitesi, saç dökülmesi, kusma, diare, kilo kaybı, karaciğer fonksiyon bozukluğu, kardiyak ve nörolojik toksisitelerdir. IFN-alfa tedavisi alan hastalarda hipotiroidi, otoimmün hemolitik anemi, poliartrit, glomerulonefrit, konnektif bağ doku hastalığı ve asemptomatik antinükleer antikorlar gibi otoimmün sürece bağlı immünolojik anormallikler görülebilir (116). IFN-alfa aracılı otoimmün sürecin, ilacın immünmodülatuar etkisiyle beraber anti-tümör etkisiyle de ilişkili olduğu düşünülmektedir. IFN-alfa'nın pegile formu (PEG-IFN-alfa) standart IFN-alfa'ya göre daha iyi tolere edilebilir ve daha az sıklıkla uygulama gerektirir (117). Faz 2 çalışmalarda PEG-IFN-alfa2a'nın hastaların büyük bir kısmında tam hematolojik remisyon sağladığı ve JAK2 allel yükünü azalttığı gösterilmiştir (118-122). Moleküler belirteç olarak JAK2V617F

kullanılan 40 PV hastasından oluşan bir Fransız grubunun çalışmasında PEG-IFN-alfa2b ile tedavi edilen hastaların %95'inde tam hematolojik remisyon sağlanmakla beraber %90'ında allel yükü azalmış ve %20'sinde allel yükü saptanamayacak düzeye gerilemiştir (115). IFN-alfa ve PEG-IFN-alfa PV'da birinci basamak tedavi olarak kullanılabilmesine rağmen genellikle ikinci basamak tedavi seçeneği olarak tercih edilirler (100). PEG-IFN-alfa ayrıca gebe hastalarda kullanılabilir.

### 2.2.8.2. Flebotomi

Genellikle komplike olmayan PV hastalarında başlangıç tedavisi flebotomidir (104). Düşük riskli PV'da aspirinle birlikte flebotomi tercih edilmektedir. Flebotomi yapıldığında her iki ile dört günde bir 450 ml boşaltılarak Hgb seviyesinin normale ya da normalin altına indirilmesi hedeflenir. 50 kilonun altındaki hastalarda daha düşük hacimlerde flebotomi yapılmalıdır. Kardiyovasküler fonksiyonları bozuk olan hastalarda daha düşük miktarda ve daha sık aralıklarla flebotomi yapılmalıdır. PV'da yükselmiş kan viskozitesini normale ya da normalin altına indirir. Hgb düzeyinin azalması baş ağrısı ve artmış basınç hissini azaltmasına rağmen lökosit ve trombosit sayısını azaltmamaktadır ve kaşıntının azaltılmasında ya da gutun önlenmesinde etkili değildir. Tekrarlayan flebotomilerin sonucu olarak demir eksikliği ve mikrositöz ortaya çıkabilir. Demir eksikliği uzun süreçte Hgb düzeyini kontrol altına almasına rağmen trombosit sayısının artmasına ve yorgunluk hissine neden olabilir. Oral demir preparatlarının kullanılması önemli derecede Htc artışına neden olmadan demir eksikliğini neden olduğu yorgunluğun azalmasına katkı sağlayabilir. Flebotomi ile diğer tedavileri karşılaştıran küçük bir PV hasta grubundan oluşan randomize bir çalışmada flebotominin klorambusilden daha iyi olduğu ve 32 P'den kötü olmadığı gösterilmiştir (123, 124). Flebotomi uygulanan hastalarda miyelosüpresif tedavi ile karşılaştırıldığında trombotik risk daha çok görülmesine rağmen bu risk ilk 3 yıla sınırlıdır. Flebotomi ile ilişkili dokümente edilmiş tromboz riskindeki artış, hastalığın geç döneminde flebotomi ile görülen daha düşük lösemi insidensi nedeni ile dengelenmiştir. Trombosit sayısı ve trombotik komplikasyonların gelişimi arasında bir ilişki bulunmamıştır. Flebotominin PV olgularında kullanılma nedeni PV'da tromboz riskinde artışın yüksek Htc düzeyi ile orantılı olduğuna dair çalışmalara dayanmaktadır (125). PV'da ortaya çıkan trombozun mekanizması tam olarak anlaşılmasına rağmen Htc düzeyinin tek başına majör risk faktörü olmadığı düşünülmektedir. Çünkü PV dışı polisitemilerde, Eisenmenger sendromunda veya diğer siyanotik kalp hastalıklarında tromboz riski artmamaktadır (126-128). Chuvaz polisitemisinde inme riski flebotomi yapılarak Htc düzeyi kontrol edilmesine rağmen azalmamaktadır. Avrupa Birliği'nin PV hastalarında düşük

doz aspirin kullanımı ile ilgili yaptığı 12 ülkeden ve 94 merkezden 1638 hastadan oluşan çalışmasında (ECLAP) Htc düzeyi %40-55 aralığında olan hastalarda trombotik komplikasyonlar açısından bir fark bulunamamıştır (129). PV'da Htc düzeyinin etkisini araştıran prospektif bir çalışmada tek değişkenli analizde flebotomi tedavisinin tromboz oranlarını azalttığı gösterilmiştir (130). Ancak yüksek Htc düzeyi olan grup düşük Htc düzeyi olan gruptan daha az hidroksiüre almış ve daha yüksek lökosit seviyesine sahip olmakla beraber her ikisinin de trombotik risk için bağımsız faktörler olduğu bilinmektedir.

### **2.2.8.3. Anagrelid**

Trombositozu olan PV'da anagrelid diğer tedavilerle birlikte kullanılabilir. Trombositozu olan 113 PV olgusunun 85'inde trombosit cevabı elde edilmiştir (%75) (131). Başlangıç dozu günde dört kez 0.5-1 mg'dır ve hastaların çoğunda bir hafta içinde yanıt bildirilmiştir. Trombosit sayısının kontrolü için gerekli ortalama doz 2,4 mg/gündür. Yan etkiler arasında baş ağrısı, çarpıntı, diare ve sıvı retansiyonu olmakla beraber bu yan etkiler bazen tedavinin kesilmesini gerektirecek kadar şiddetli olabilir. ET'de yapılan randomize kontrollü bir çalışmada aspirin+hidroksiüre tedavisi anagrelid+aspirin tedavisi ile karşılaştırıldığında hidroksiüre grubunda trombosit sayısının daha iyi kontrol altına alındığı, miyelofibroza dönüşümün azaldığı ve kanama komplikasyonlarının daha iyi kontrol edildiği gösterilmiştir (132). Ancak son randomize kontrollü çalışmalar anagrelidin hidroksiüre ile karşılaştırıldığında daha kötü sonuçları olmadığı gösterilmiştir (133).

### **2.2.8.4. Kaşıntının Semptomatik Tedavisi**

PV'da bazı semptomlar flebotomi kullanılarak kontrol edilebilmesine rağmen kaşıntının düzeltilmesi için miyelosüpresyon gereklidir. Kaşıntı bazı hastalarda hayat kalitesini oldukça olumsuz etkileyebilir. PV'da kaşıntı banyodan sonra arttığı için 'aquajenik pruritis' tanımı kullanılmaktadır. Cildin nemlendirilmesi, fotokemoterapi ve UV ışını faydalı olabilecek tedavi yöntemleridir. Antihistaminik tedavi ve aspirin kaşıntıda genellikle etkili değildir. IFN-alfa ve JAK2 inhibitörleri kaşıntının rahatlatılmasında etkili tedavi modaliteleridir (134-137).

### **2.2.8.5. Aspirin**

Polisitemi hastalarında tromboembolik epizodlar mortalite ve morbiditenin majör sebebi olduğu için aspirin PV tedavisinde önemli bir ilaçtır. Günlük 300 mg aspirin kullanımı ile ilgili erken çalışmaların sonuçları trombotik olayların insidensinde önemli bir azalmaya neden olmaksızın kanama insidensinde artışa neden olduğunu göstermiştir (138). Bunu takip eden

birkaç çalışmada PV'da aspirin kullanımının etkinliği gösterilmiştir. Pilot kontrollü bir çalışmada düşük doz aspirinin PV hastaları tarafından iyi tolere edilebildiği ve trombosit agregasyonuna neden olan tromboksanın sentezini tamamen inhibe ettiği gösterilmiştir (139). Bir ECLAP çalışmasında günlük düşük doz aspirin kullanımının arteriyel ve venöz trombozu azalttığı gösterilmiştir (140). Trombotik komplikasyonlar tamamen önlenmediği için bu çalışmada trombotik epizodların küçük bir kısmının trombosit ile ilişkilendirilebileceği ve PV hastalarında ek patojenik yolakların araştırılması gerektiği vurgulanmıştır. Yüksek trombosit sayılarında kanama riskinin artması kazanılmış von Willebrand hastalığı ile ilişkili bulunmuştur. Aspirin tedavisi, trombosit  $1.500.000/mm^3$  üzerine çıkan hastalarda kullanılmamalıdır.

### 2.2.8.6.JAK2 İnhibitörleri

JAK2 inhibitörleri, MPN hastalarında anormal JAK-STAT sinyalinin keşfedilmesi ile birlikte ortaya çıkmıştır. Günümüzde kullanılan JAK2 inhibitörleri, enzimin katalitik bölgesini hedef alır ve bu nedenle JAK2'nin mutant ve doğal tiplerinin ikisini birden inhibe eder. JAK1, JAK3 ve diğer kinazlar üzerinde de değişik inhibisyonlara sahiptir. FDA tarafından PMF hastalarında onaylanmış bir ilaç olan ruxolitinibi de içeren JAK2 inhibitörlerinin bir kısmı PV'da klinik olarak test edilmiştir. Ruxolitinib oral JAK1/JAK2 inhibitörüdür ve PV hastalarında prelinik çalışmalarda etkili olduğu gösterilmiştir (141). Hidroksiüre intoleransı veya refrakterliği olan PV olgularında Faz II çalışmalarda ruxolitinib tedavisinin gece terlemesi, kaşıntı ve kemik ağrısı gibi PV ilişkili semptomları etkin bir şekilde azalttığı gösterilmiştir (142-144). Ayrıca bu çalışmalarda 24 haftalık takipte olguların %44'ünde dalak boyutlarının nonpalpabl boyutlara azaldığı, %59'unda tam hematolojik remisyona sağlandığı ve %24'ünde 3 yıl içinde JAK2 allel yükünde %50 veya daha fazla bir azalma gözlemlendiği gösterilmiştir (142-144). Faz 3 çalışmasında hidroksiüre intoleransı olan ya da refrakter PV olgularında ruxolitinib tedavisi ile birlikte flebotomi ihtiyacının ve dalak boyutlarının azaldığı ve diğer PV ilişkili semptomların düzeldiği gösterilmiştir (137). JAK2 inhibitörleri ile tedavide ilerleme olmasına rağmen PV ve diğer MPN hastalarında JAK2 yolağının düzenlenmesinin tek optimal tedavi seçeneği olmadığı düşünülmüştür. JAK2V617F mutasyonunun MPN hastalarında hastalığı başlatıcı basamak olmadığı ve bu nedenle ek terapötik hedeflere ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir. Buna ek olarak hastalık progresyonu, klonal heterojenite ve genetik instabilite ile ilişkili bulunmuştur. PV patogenezini aydınlatmak için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.



### 2.2.8.7.Epigenetik Modülasyon

MPN hastalarında epigenetik modifikasyonda rol oynayan genlerdeki yüksek mutasyon insidensi (TET2, DNMT3A, IDH1/2, PRC2, ASXL1) tedavi için potansiyel bir hedef oluşturmaktadır. Histon asetilasyonunun DNA-protein ve protein-protein etkileşimini değiştirdiği bilinmektedir. Histon deasetilaz (HDAC) ekspresyon seviyesinin üç majör MPN hastasında değişmiş olduğu bulunduktan sonra HDAC inhibisyonunun PV olgularında yeni bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir. Bir HDAC inhibitörü olan givinostatın özellikle NFE2 ve c-MYB transkripsiyon faktörlerini inhibe ederek normal hücrelerle karşılaştırıldığında JAK2 pozitif hücrelerin proliferasyonunu baskıladığı ve PV'da faz 2 çalışmalarda splenomegaliyi ve pruritusu azalttığı gösterilmiştir (145, 146).

### Tedavi Yaklaşımların Özeti

PV olgularının (örn. yüksek riskli) çoğunluğunda uygulanan güncel tedavi yaklaşımı aşağıda özetlenmiştir:

- 1- Hidroksiüre başlangıç tedavisi sırasında (1500 mg/gün) ve uzun süreli tedavi seyrinde (500-2000 mg/gün) miyelosüpresyon ile hedeflenen nötrofil sayısı düşük-normal düzeydedir. Bazı olgularda Hgb ve trombosit düzeylerini normal aralıkta tutmak için ek olarak flebotomi ve/veya anagrelid gereklidir. IFN-alfa ve PEG-IFN-alfa kullanımı ile de miyelosüpresyon sağlanabilir. PEG-IFN-alfa, IFN-alfaya göre daha iyi tolere edilmesine ve en etkili interferon olmasına rağmen hidroksiüre kadar tolere edilmez.
- 2- 80 mg/gün ile düşük doz aspirin (Kuzey Amerika dışında günlük 100 mg) majör kanama hikayesi ve gastrik intoleransı olmayan veya trombosit sayısı 1000000-1500000/mm<sup>3</sup> olmayan hastalara önerilir. Tefferi A.ve arkadaşlarının yaptığı bir derlemede düşük riskli PV'da ( $\leq 60$  yaş, tromboz öyküsü olmayan) mikrovasküler semptomların kontrol altına alınmadığı durumlarda, kardiyovasküler risk faktörleri veya lökositoz varlığında, yüksek riskli PV'da (tromboz öyküsü veya yaş $>60$  yaş) arteriyel tromboz öyküsü varlığında aspirinin günde 2 kez kullanımı önerilmektedir (10).
- 3- Gerekli hallerde kaşıntı ve gut için tedavi eklenebilir.
- 4- Htc düzeyi $>45-55$  olan ve baş ağrısı, konsantrasyon güçlüğü ve halsizliği olan olgularda flebotomi dikkatli bir şekilde kullanılmalıdır.

PV'da tedavi yaklaşımı Tablo V'te özetlenmektedir.

**Tablo V. PV'da risk kategorileri ve tedavi yönetimi**

<b>Risk Kategorileri</b>	<b>Tedavi</b>	<b>Hamilelik sırasında tedavi</b>
<b>Düşük risk</b>	Düşük doz aspirin + Flebotomi	Düşük doz aspirin + Flebotomi
<b>Düşük risk ama trombosit sayısı 1.000.000/mm<sup>3</sup>'den fazla</b>	Düşük doz aspirin (ristosetin kofaktör aktivitesi %30'dan fazla ise) + Flebotomi	Düşük doz aspirin (ristosetin kofaktör aktivitesi %30'dan fazla ise) + Flebotomi
<b>Yüksek risk (60 yaş ve üstü hasta ve/veya tromboz öyküsü)</b>	Düşük doz aspirin + Flebotomi + Hidroksiüre	Düşük doz aspirin + Flebotomi + İnterferon alfa
<b>Hidroksiüreye dirençli veya intoleran yüksek risk hastalık</b>	Düşük doz aspirin + Flebotomi + İnterferon alfa (yaş < 65) veya busulfan (yaş ≥ 65 yaş)	Düşük doz aspirin + Flebotomi + İnterferon alfa

### **Polistemia Vera Tükenme Fazında (post-PV myelofibrozis) Tedavi**

PV'da genellikle 15 yıl veya daha sonraki dönemde, bazen birkaç yıl sonrasında demir eksikliği olmadığı durumda eritrositler dereceli olarak azalır ve flebotomi ihtiyacı azalarak takiben anemi gelişir. Hastalığın bu 'tükenme' fazında kemik iliği fibrozisi belirgin artış gösterir ve dalak dereceli olarak aşırı büyüme gösterir. Bu olgularda flebotomi yerine transfüzyon ihtiyacı veya EPO gereksinimi olur (147). Trombosit sayısı yüksek kalabilir veya belirgin trombositopeni gelişebilir. Belirgin lökopeni veya lökositoz yanında kanda immatür granülositler görülebilir. Bu bulgularla PMF'e benzer ve post-PV miyelofibrozis olarak isimlendirilir. Bu hastalık fazının tedavisi zordur ve hidroksiüre, EPO, kan transfüzyonu, JAK2 inhibitörleri ve/veya allogeneik kök hücre nakli gibi tedavi seçeneklerinin akılcı kombinasyonunu gerektirir.

### **2.2.8.8.Splenektomi**

Özellikle aşırı halsizliği ve sitopenisi olan hastalara ve masif dalak büyüklüğüne bağlı postprandiyal dolgunluk ve fiziksel rahatsızlık hissi olan hastalara splenektomi uygulanabilir (148). Ancak bir çalışmada bu evrede yapılan splenektominin önemli morbidite ve mortalite nedeni olduğu bildirilmiştir (149).

### **2.2.8.9.Hematopoietik Kök Hücre Transplantasyonu**

Tükenme fazındaki PV olgularında (post-PV miyelofibrozis), sağlıklı ve fit oldukları durumda 70 yaşına kadar nonmiyeloablative allogeneik kök hücre nakli uygulanabilir (147). Ayrıca kök hücre nakli, MDS/AML transformasyonunun erken bulguları olan hastalarda tedavi seçeneği ve olası tek kür seçeneğidir (150). Allogeneik kök hücre naklini takiben artmış relaps ve relaps dışı mortalite nedenleri arasında ileri yaş, unrelated donör varlığı ve AML tanısı vardır (150).

### **2.2.9. Seyir ve Prognoz**

PV, yıllar boyunca devam eden kronik bir hastalıktır. Trombotik komplikasyonlar en önemli mortalite ve morbidite sebebidir. Diğer polistemik hastalıklara kıyasla PV'da akut lösemiye transformasyondan kaynaklı artmış mortalite oranı vardır. 'PVSG' tek başına flebotomi ile tedavi edilenlerde ortalama sağkalımı 13.9 yıl, <sup>32</sup>P ile 11.8 yıl, klorambusil ile 8.9 yıl bildirmiştir. En sık ölüm nedeni olan tromboz, ölümlerin %31 nedenini oluşturmaktadır. Olguların %19'u akut lösemiden, %15'i diğer neoplazilerden, %5'i kanama ve %5'i tükenme fazının gelişiminden (post-PV miyelofibrozis) ex olmuştur (123). PV'nin direkt sonucu olan trombotik komplikasyonlar ve akut lösemiye transformasyon artmış mortaliteye neden olur (140). Akut lösemi sadece flebotomi ile tedavi edilenlerde görülebilmemesine rağmen sitotoksik tedaviler sonucunda insidensi artar. AML en sık lösemi tipi olmasına rağmen akut lenfoid lösemi ve kronik nötrofilik lösemi de gelişebilir (150-152). Akut lösemiye transformasyon 10 yıl içinde %2.3 ve 15 yılda %5.5 olarak bildirilmiştir (153-155). PV olgularının tüm yaşam süresi normal yaşam süresi ile benzer kabul edilmesine rağmen bazı çalışmalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yaşam süresinin azaldığını bildirmiştir (13, 156, 158). 1545 hastadan oluşan bir çalışmada PV'da sağkalımın olumsuz risk faktörleri arasında lökositoz, ileri yaş, venöz tromboz ve atipik karyotip varlığı bildirilmiştir (155). Farklı PV prognostik risk grupları için ortalama OS'ın 10.9-27.8 yıl aralığında olduğu bildirilmiştir (155).

### 2.3. Esansiyel Trombositemi

ET, trombositlerin sayısında persiste eden artış ve JAK2, CALR veya MPL genindeki mutasyonla karakterize klonal bir kök hücre hastalığıdır. Komplikasyonları arasında tromboz (başlıca arteriyel), kanama, miyelofibroza veya AML'ye dönüşüm vardır. Tanı reaktif trombositozun ve trombosit sayısında artışa neden olan diğer miyeloid malignitelerin dışlanması ile konulur. Tedavi hedefi trombotik komplikasyonları önlemek olmakla beraber kardiyovasküler risk faktörlerinin modifikasyonu önemlidir. Hastaların büyük çoğunluğunda antitrombositler tedaviler uygulanır. Tromboz riski yüksek olan hastalarda hidroksiüre, anagrelid ya da INF- $\alpha$  gibi ajanlarla sitoredüktif tedavi önemlidir. Hastaların çoğunda yaşam beklentisi uzun olmasına rağmen komplikasyonların sonucu olarak genel popülasyonla karşılaştırıldığında mortalite oranları artmıştır.

#### 2.3.1. Tanım ve Epidemiyoloji

ET; trombositoz, trombotik ve hemorajik komplikasyonlarla karakterize klonal bir kök hücre hastalığıdır. İlk olarak 1934'te spesifik bir hastalık olarak ve 1981'de klonal bir bozukluk olarak tanımlanmıştır (158,159). ET, PV ve PMF gibi diğer Ph-negatif MPN grubu ile benzer klinik ve patolojik özelliklere sahiptir. ET'nin yıllık insidensi 100.000'de 1-2.5 olmakla beraber kadınlarda hafifçe daha sık görülmektedir (160). ET, 50-70 yaş arasında pik yapmasına rağmen hayatın herhangi bir döneminde ortaya çıkabilir. Çocukluk çağında prezentasyonu nadir olmasına rağmen bilinen bir antitedir.

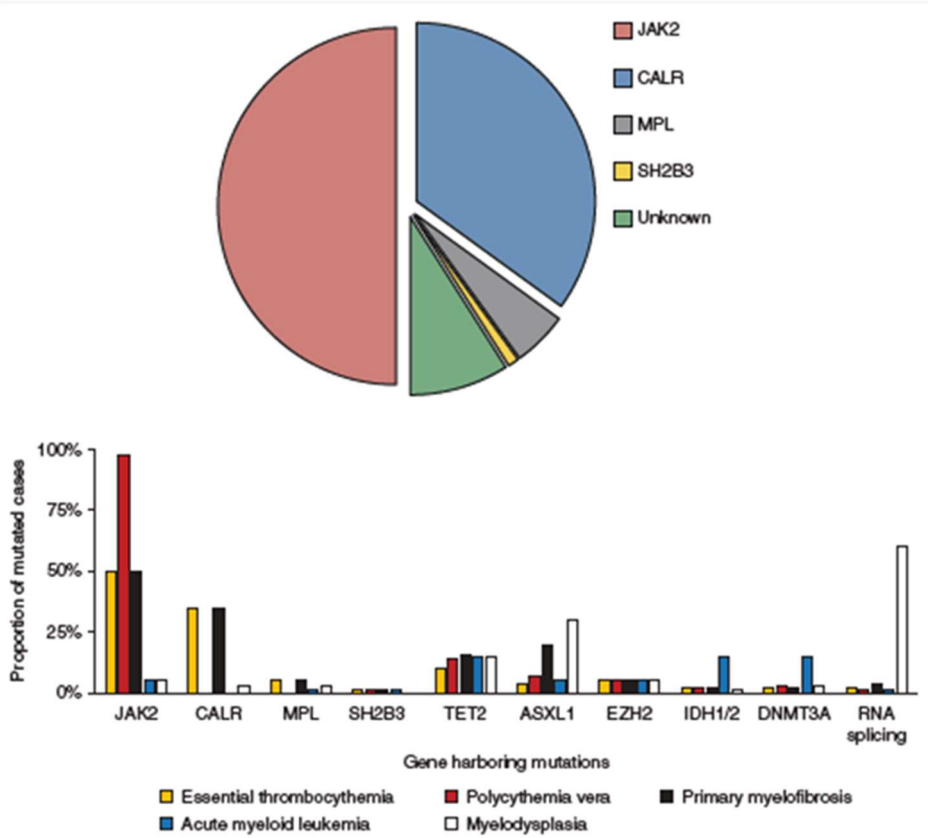
#### 2.3.2. Etyoloji

Bu hastalığın etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte radyasyon mazuritesi gibi çevresel faktörlerin diğer MPN grubunda etkili olduğu düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda ET olgularını da içeren MPN gelişiminde ailesel eğilimin olduğu gösterilmiştir (16, 161). Bu durum predispozan olarak JAK2 genini içeren spesifik haplotipin kalıtılması ile kısmen açıklanabilir (162).

#### 2.3.3. Patogenez

ET tanılı olguların %50-60'ında JAK2 geni ya da trombopoetin reseptör geni (MPL) gibi sinyal yollarını içeren somatik mutasyonların sonucu olarak hiperaktif sitokin sinyal salınımı görülür. Kalretikülin (CALR) geninde mutasyon, JAK2/MPL mutasyonu taşımayan hastaların çoğunda bulunmaktadır. ET'nin yaklaşık %10'unda bu genlerin hiçbirinde mutasyon saptanmamıştır. Bu gruba JAK2/MPL/CALR-wild tip ET (triple negatif ET) adı verilir. ET

hastalarının küçük bir kısmında transkripsiyon regülasyon yolağında saklı bir mutasyon bildirilmiştir (Şekil I). JAK2V617F mutasyonu, ET tanılı olguların yaklaşık %50'sinde bulunur (163). JAK2, sitoplazmik bir tirozin kinaz olmakla beraber EPO ve TPO reseptör sinyali için önemlidir ve bu reseptörlerle kompleks oluşturur (5, 164). JAK2, granülosit koloni-stimule edici faktör (G-CSF), granülosit-makrofaj koloni-stimule edici faktör (GM-CSF) ve INF-gama reseptörlerinin sinyalinde rol oynar (165). Sitokin bağlanması, JAK2 reseptör kompleksinde konformasyonel değişikliğe yol açarak JAK2 kinaz aktivitesinin aktivasyonunu sağlar ve aşağı sinyal yollarını uyarır (166, 167). Sonuç olarak JAK2V617F mutasyonu, otoinhibitör psödokinaz domainin içindeki kritik bir noktayı değiştirerek JAK2 bazal kinazını artırır ve aşağı sinyal yolağının aktivitesinin artışına yol açar (168). Mutant JAK2 ekspresyonu, proliferasyon, sitokin hipersensitivitesi, sitokinden bağımsız farklılaşma ve apoptoz inhibisyonunun artışına neden olur (163). MPL geninde kazanılmış mutasyon ET'de %4 oranında görülmektedir. MPL mutasyonunu taşıyan olguların çoğunluğunda JAK2 mutasyonu negatiftir. MPL mutasyonu, PMF'de aynı oranda görülmesine rağmen PV'da bu mutasyona rastlanmamıştır (16, 169). Bu mutasyon jukstamembran (MPL<sup>W515L</sup>) ya da transmembran (MPL<sup>S505N</sup>) bölgelerindeki kalıntıyı değiştirir ve reseptör kompleksinde yapısal aktivasyona yol açar (170, 171). Sinyal yolağında mutasyon olmayan ET olgularının çoğunda CALR mutasyonu vardır. CALR mutasyonu ET ve PMF'in %15-35'inde bulunmasına rağmen PV olgularında bu mutasyon yoktur. Kalretükilin, kalsiyum tamponlama ve protein şaperon aktivitesi olan bir endoplazmik retikulum proteindir (172). CALR mutasyonuna sahip olgularda genellikle JAK2 ya da MPL mutasyonu olmamasına rağmen sinyal yolak aktivasyonunun görülmesi CALR'nin sitokin sinyalindeki rolünün halen anlaşılmadığını desteklemektedir (173-175). Gen transkripsiyon kontrol noktalarını içeren yolağı hedefleyen mutasyonlar, PV, PMF ve diğer miyeloid neoplazilerle birlikte ET hastalarının az bir kısmında bulunur. Bu mutasyonlar JAK, MPL ya da CALR mutasyonu ile birlikte olabilir. Hedef genler, DNA metilasyonu (TET2, IDH1/2, DNMT3A), histon modifikasyonu (EZH2) veya RNA splicing (SF3B1) genlerini içermektedir (176). JAK2'nin sitokin sinyalindeki rolüne ek olarak histon proteinlerinin direkt modifikasyonu aracılığıyla gen transkripsiyonunda bir medyatör olarak rol oynadığı bilinmektedir.



### Şekil-I Miyeloid neoplazilerde somatik mutasyonların spektrumu ve sıklığı

**A.** Esansiyel trombositemide aktive sitokin sinyal yolağındaki mutasyonların sıklığı

**B.** Esansiyel trombositemi, diğer miyeloproliferatif neoplaziler ve diğer miyeloid malignitelerdeki mutasyon sıklığının karşılaştırılması

#### 2.3.4. Klinik Özellikler

##### 2.3.4.1. Semptom ve Bulgular

ET olgularının bir kısmında hemorajik ve trombotik komplikasyonlar olabilmesine karşın tanı sıklıkla yüksek trombosit sayısının insidental olarak farkedilmesiyle konulur. Reaktif trombositoz sebeplerinin dışlanması için detaylı bir klinik değerlendirme ve fizik muayene gereklidir. ET olgularının %10'unda hafif derecede palpabl splenomegali saptanır (177).

##### 2.3.4.2. Tromboz

Trombotik komplikasyonlar ET'de mortalite ve morbiditenin majör nedenidir. Prospektif bir çalışmada 27 ayın üzerinde takip edilen tedavi edilmemiş yüksek riskli hastalarda %24'lük kümülatif insidens saptanmıştır (178). Arteriyel tromboz baskın olmakla beraber başlıca santral

sinir sistemini (inme, geçici iskemik atak) ve kardiyovasküler sistemi (miyokard infarktüsü, unstabil anjina, periferik arter oklüzyonu) etkilemektedir (178). Eritromelalji, küçük kan damarlarının daralması sonucunda oluşan ayrı bir klinikopatolojik sendromdur (179). El ve ayak parmaklarında huzursuzluk ve yanma hissi ile kendini gösterir. Bazen ciltte renk değişikliğine neden olur. Venöz tromboz, başlıca DVT ve pulmoner tromboemboliden oluşmaktadır. Hepatik, portal veya mezenterik tromboz atipik bölge trombozları olmakla beraber klinik aşikar ET tanısı almadan önce ortaya çıkabilir. Bir seride hepatik ven trombozu gelişen normal kan sayımına sahip hastaların yarısında JAK2V617F mutasyonu pozitif saptanmıştır ve bu hastaların takibinde 4'te 3'ünde MPN ortaya çıkar. Bu olgular MPN grubu içinde en sık ET tanısını alır (180). ET'de trombotik komplikasyon gelişimi için en güçlü prediktif faktörler 60 yaşın üzerinde olmak ve tromboz öyküsüdür (181). Tanıdaki trombosit ve lökosit sayısı trombotik risk açısından kötü göstergelerdir. Meta-analizler JAK2 mutasyonunun varlığının arteriyel ve venöz tromboz için risk faktörü olduğunu doğrulamıştır (182, 183). Diğer bildirilen risk faktörleri tanı anında kemik iliğinde fibrozisin olması ve kardiyovasküler hastalık varlığıdır.

#### **2.3.4.3. Kanama**

Ciddi kanama tromboza göre daha nadir olmakla beraber kanama başlıca nazal, bukkal mukoza ve gastrointestinal mukozayı etkiler. Bazı olgularda santral sinir sistemi kanaması ortaya çıkabilir (180). ET'de genellikle kanama zamanı uzar ve anormal trombosit agregasyonu ve büyük von Willebrand faktör multimerlerinin kaybı gibi in vitro koagülasyon çalışmalarında değişik anormallikler gözlenir. Ancak klinik kanama epizodları ile bu bulgular arasındaki ilişki belirsizdir. Prospektif bir çalışmada ET'de majör kanama oranlarının tanı anında artmış kemik iliği fibrozisi olanlarda ve takibinde artmış trombosit ve lökosit sayısı olanlarda arttığı gösterilmiştir (184, 185).

#### **2.3.4.4. Myelofibrotik Transformasyon**

ET'de olguların bir kısmında miyelofibroza dönüşüm gözlenir. Retrospektif çalışmalar hastalık süresinin progresif hastalığın majör prediktörü olduğunu göstermektedir. Miyelofibroz oranları tanı sonrası ilk dekada %3-10 arasında iken ikinci dekada %6-30'a çıkmaktadır (186, 187). Tanıda kemik iliğinde fibrozisin varlığı miyelofibroza progresyonu öngördürmekle beraber megakaryosit displazisi gibi erken evre PMF'in diğer histolojik bulgularının prediktif değeri tartışmalıdır. JAK2, MPL ya da CALR mutasyonlarının prognostik önemi yoktur (16, 85, 169, 188, 189). Yüksek riskli ET hastaları ile yapılan prospektif bir çalışmada anagrelid

tedavisi ile miyelofibroza progresyonun arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada 5 yıllık kümülatif insidens anegralid+aspirin grubunda %7 iken hidroksiüre+aspirin grubunda %2 bulunmuştur (190). Post-ET miyelofibrozun klinik sonuçları de novo (primer) miyelofibroza aynıdır.

#### **2.3.4.5. Lösemik Transformasyon**

ET tanılı olguların küçük bir kısmında AML'ye transformasyon gerçekleşir. Retrospektif çalışmalarda prevelans tanıdan sonrasındaki ilk dekada %1-2.5, ikinci dekada %5-8'dir ve takibinde artmaya devam eder (181, 187, 191). Bu çalışmalarda terapötik heterojenite mevcuttur ve bulguları yorumlamak zordur. PV'daki çalışmalar radyoaktif fosfor, klorambusil ya da busulfan gibi genotoksik ajan alan olgularda AML riskinin arttığını göstermiştir (102, 192). Hidroksiürenin potansiyel lökomojenik etkisi tartışmalıdır. Herhangi bir sitoredüktif tedavi almayan olgularda da lösemiye transformasyon bildirildiği için AML'nin hastalığın doğasında var olduğu düşünülmektedir (193, 194). Post-ET AML çoğunlukla ileri yaşta ortaya çıktığı için tedavi genellikle palyatiftir. Sekonder AML'nin prognozu kötüdür. AML indüksiyon tedavisi ile başarılı şekilde remisyona giren genç hastalarda allogeneik kök hücre nakli yapılmalıdır. Post-ET AML'nin mutasyonel profili de novo AML ile bazı benzer özellikler paylaşır. Transkripsiyonel kontrol yolağındaki mutasyonlar (TET2, ASXL1, EZH2, IDH1) blastik fazda erken hastalık fazından daha sıktır. Buna ek olarak DNA tamir ve hücrel farklılaşma yolağı (TP53, RUNX1, IKZF1) mutasyonları erken evre MPN'lerde daha nadirdir. De novo AML'nin aksine dengeli kromozomal translokasyonlar post-MPN AML'de daha sıktır. JAK2V617F-pozitif olan ET'de JAK2 mutasyonu negatif AML'nin gelişebileceği bilinmektedir.

#### **2.3.5. Laboratuvar Bulguları**

Açıklanamayan ve persistan artmış trombosit sayısı genellikle ileri değerlendirme gerektirir (Şekil II). ET tanısının konulması için reaktif durumların ve izole trombositozla birlikte olabilen diğer miyelodisplastik ve miyeloproliferatif bozukların dışlanması gereklidir.

##### **2.3.5.1. Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler**

Yüksek trombosit sayısı hastalarda değişmez bir bulgu olmakla beraber trombosit sayısı hafif yüksek ( $\geq 450.000/\text{mm}^3$ ) ve oldukça yüksek değerde olabilir (milyon/ $\text{mm}^3$ ). Sonuç olarak trombositozun derecesi hastadan hastaya göre önemli oranda değişebilir. Lökosit sayısı hafif veya orta düzeyde yüksek olabilir ancak hiçbir zaman  $20.000/\text{mm}^3$  üzerine çıkmaz. Hgb konsantrasyonu normal ya da hafifçe düşük olabilir. Eğer gizli kanama varsa Hgb



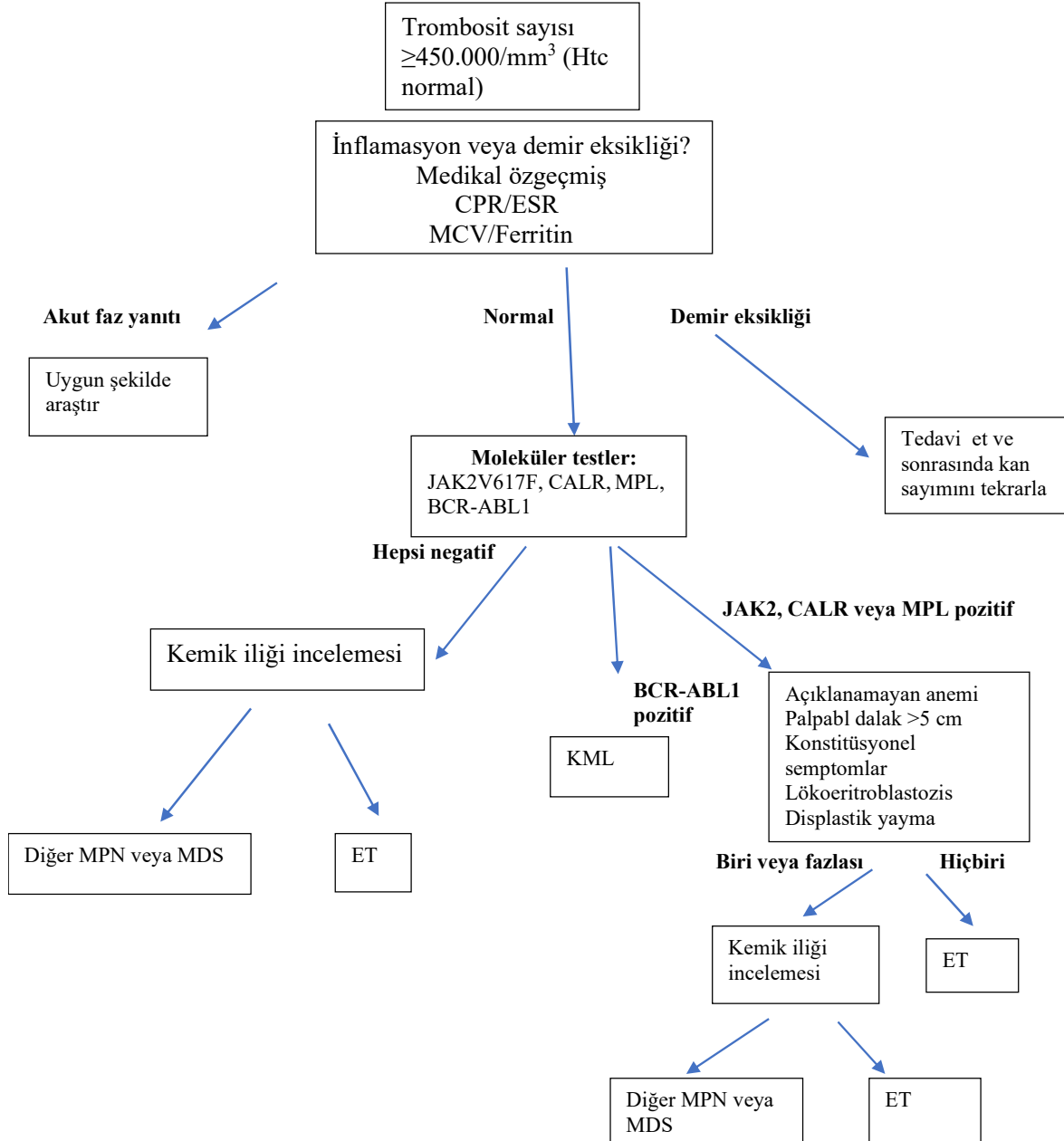
konsantrasyonu ileri derecede azalabilir ve demir eksikliği belirtileri olabilir (hipokromi ve mikrositoz gibi). Periferik yaymada sıklıkla zayıf boyanan büyük trombositler görülür. Periferik yayma gözyaşı hücresi (dakriyosit) ya da dolaşan immatür granülosit prekürsörleri gibi PMF düşündürecek bulguların dışlanmasını sağlar.

#### **2.3.5.2. Biyokimyasal Testler**

ET'de TPO seviyesi normaldir ya da hafifçe yüksek olmasına rağmen tanısal bir özelliği yoktur. ET'de in vitro trombositlerin ve lökositlerin aktivasyonuna bağlı olarak yalancı potasyum yüksekliği olabilir.

#### **2.3.5.3. Moleküler Testler**

Açıklanamayan ve persistan trombosit yüksekliği olan hastalarda genetik mutasyonlar için moleküler testler yapılmalıdır (Şekil II). En uygun yaklaşım ilk olarak JAK2V617F mutasyonu taranmasıdır. Bu mutasyonu taşımayan olgularda CALR ve MPL mutasyon taraması önerilmektedir. JAK2V617F mutasyon taraması için allel spesifik veya gerçek zamanlı PZR, MPL mutasyonu için pirosekans veya yüksek rezolüsyonlu erime eğrisi analizi, CALR ekzon 9 mutasyonu için fragman uzunluk analizleri kullanılır. Kemik iliği sitogenetik analizlerinin yokluğunda, KML'nin dışlanması için ayrıca BCR-ABL1 füzyon geni için moleküler testlerin yapılması önerilmektedir. Rutin klinik pratikte TET2 gibi ek mutasyon analiz yapılmasının gerekliliği net değildir.



**Şekil II. Açıklanamayan ve Persistan Trombositozaya Yaklaşım**

#### 2.3.5.4. Kemik İliği Bulguları

2016 yılında revize edilmiş ‘DSÖ’ sınıflamasında ET için tanımlanan majör kriterlerden biri 'kemik iliği biyopsisinde hiperlobüle nükleusu olan büyük, matür megakaryositlerin sayısında artış ile birlikte esas olarak megakaryositik dizide çoğalma olması, nötrofil granülopoezde anlamlı bir artış veya sola kayma olmaması ve eritropoezde belirgin artış olmaması ve çok nadiren minor (grade 1) retikülin lif artışı olmasıdır' (Tablo VI) (3). Atipik klinik ve laboratuvar bulguları (palpabl splenomegali, açıklanamayan anemi, periferik yayma

anormallikleri) olan olgularda da kemik iliği incelemesi faydalı olabilir. ET'de kemik iliği aspirasyonunda sıklıkla büyük hiperlobüle megakaryositler görülmesine rağmen demir boyaması demir eksikliği anemisini dışlamak veya halka sideroblast varlığını araştırmak için yararlı olabilir. ET'de kemik iliğinde hücresellik genellikle normal ya da hafifçe artmış olmakla birlikte nadiren hiposelülarite de görülebilir (Örneğin MPL mutasyonunu taşıyan olguların bir kısmında) (198, 199). G-bantlama ile karyotip analizi veya in situ floresan hibridizasyon gibi kromozom analizleri, ET ilişkili somatik mutasyonları olmayan şüpheli ET olgularında tanıya yardımcıdır. Bu tanı yöntemleri t(9;22)'yi taşıyan KML'nin, 5q kromozom delesyonunu taşıyan 5q-minus sendromunun dışlanması açısından önemlidir. Diğer karyotipik anormallikler olan 20q ve 13q kromozom delesyonu veya kromozom 8 ve 9'un ek kopyaları ET olgularının yaklaşık %5'inde bulunur ve klonal hematopoezin varlığını gösterir.

### 2.3.6. Tanı

JAK2V617F mutasyonu ET tanılı olguların yaklaşık %50'sinde bulunmaktadır (80). MPL mutasyonları %60 oranında W515L ve %40 oranında W515K mutasyonlarından oluşmaktadır (195, 197). ET'de MPL mutasyon sıklığı farklı serilerde %0-6 bildirilmiştir (198-200). CALR mutasyonu, JAK2V617F ve MPL ekzon 10 mutasyonu olmayan ET tanılı olguların yaklaşık %15-25'inde bulunmaktadır (173, 174). ET tanısında revize edilmiş 2016 DSÖ kriterleri kullanılmaktadır (Tablo VI) (3). ET için tanımlanan majör kriterlerden biri: 'kemik iliği biyopsisinde büyük ve matür megakaryositlerin sayısında artış ile birlikte esas olarak megakaryositik dizide çoğalma olması, nötrofil granülopoezde anlamlı bir artış veya sola kayma olmaması ve eritropoezde belirgin artış olmamasıdır' (Tablo VI) (3). Megakaryositlerin çekirdekleri hiperlobüle veya yoğun bir şekilde katlanmış, dağılmış veya gevşek olarak küme yapmış haldedir. Retikülin liflerinde artış yoktur veya çok az bir artış vardır. Tekrarlanan biyopsilerde retikülin lif artışı olması, miyelofibroza progresyonu düşündürür. ET tanısında diğer bir önemli kriter diğer MPN'leri ve geçici reaktif trombositoz nedenlerini dışlamaktır (Tablo VII).

**Tablo VI. Dünya Sağlık Örgütü 2016 ET Tanı Kriterleri**

<p><b>Majör Kriterler</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Trombosit sayısının <math>\geq 450.000/\text{mm}^3</math> olması</li> <li>2. Kemik iliği biyopsisinde hiperlobüle nükleusu olan büyük, matür megakaryositlerin sayısında artış ile birlikte esas olarak megakaryositik dizide çoğalma olması, nötrofil granülopoezde anlamlı bir artış veya sola kayma olmaması ve eritropoezde belirgin artış olmaması ve çok nadiren minor (grade 1) retikülin lif artışı olması</li> <li>3. BCR-ABL1(+) KML, PV, PMF, MDS veya diğer miyeloid neoplazmlar için DSÖ kriterlerini karşılamaması</li> <li>4. JAK2, CALR veya MPL mutasyonunun varlığı</li> </ol>
<p><b>Minör Kriterler</b></p> <p>Klonal belirteçlerin varlığı veya reaktif trombositozun yokluğu</p> <p><b>Dört majör kriterin varlığı ya da ilk üç majör kriterle birlikte minör kriterin varlığı tanı için gereklidir</b></p>

**Tablo VII. Trombositoz Sebepleri**

<b>KLONAL TROMBOSİTOZ</b>
Esansiyel trombositemi Polisitemia vera Primer Myelofibrozis Kronik myeloid lösemi Ring sideroblast ve trombositozla birlikte olan refrakter anemi 5q-minus sendromu
<b>REAKTİF TROMBOSİTOZ</b>
<b>Geçici Trombositoz</b>
Akut kan kaybı Trombositopeninin iyileşmesi (rebound trombositoz) Akut infeksiyon veya inflamasyon Egzersize cevap İlaçlara cevap (vinkristin, epinefrin, all-trans-retinoik asit)
<b>Devamlı Trombositoz</b>
Demir eksikliği Splenektomi veya konjenital dalak yokluğu Malignite Kronik infeksiyon veya inflamasyon Hemolitik anemi
<b>FAMİLYAL TROMBOSİTOZ</b>
<b>YALANCI TROMBOSİTOZ</b>
Kriyoglobulinemi Akut lösemide sitoplazmik fragmentasyon Eritrosit fragmentasyonu Bakteriyemi

### 2.3.7. Tedavi

#### 2.3.7.1. Kardiyovasküler Risk Faktörlerinin Modifikasyonu

Hipertansiyon, diyabet, sigara, hiperkolesterolemi ve obezite gibi kardiyovasküler risk faktörleri gözden geçirilip uygun şekilde tedavi edilmelidir. Aterosklerozda kolesterol düşürücü statin grubu ilaçların etkinliğinden yola çıkarak ET'de uygun bir tedavi olduğu düşünülmese de rağmen henüz prospektif bir çalışması yoktur.

#### 2.3.7.2. Antitrombotik Tedavi

PV'da yapılan büyük bir randomize kontrollü çalışmada günlük 100 mg düşük doz aspirin alımının beraberinde kanama riski oluşturmadan trombotik olayların gelişimini engellediği gösterilmiştir (140). ET'de ise retrospektif çalışmalarda aspirinin koruyucu etkisi gösterilmiştir (179). Bundan yola çıkarak kontrendikasyon yoksa ET'de aspirin kullanımı önerilmektedir. ET'de klopidogrel gibi yeni antiagreganlar ile ilgili az sayıda çalışma olmasına rağmen aterosklerotik hastalık komplikasyonlarını önleyici kanıtlanmış etkileri aspirini tolere edemeyen hastalarda kullanılabileceğini göstermektedir.

#### 2.3.7.3. Sitoredüktif Tedavi

##### 2.3.7.3.1. Tedavi Endikasyonları

Prospektif randomize bir çalışma hidroksiürenin yüksek riskli ET'de (>60 yaş veya önceki tromboz öyküsü) trombotik olayları azaltıcı etkisi olduğunu göstermiştir (178). Bu çalışmada olguların yaklaşık %70'i ek olarak antitrombotik tedaviler almaktaydı. Retrospektif çalışmalarda ek risk faktörü olmayan <60 yaş hastalarda trombotik komplikasyonların kontrol grubundan daha yüksek olmadığı gösterilmesine rağmen prospektif veri eksiktir. ET'li hastalar günümüzde trombotik komplikasyon riskleri temel alınarak risk gruplarına ayrılmaktadır (Tablo VIII). Yüksek riskli hastalar sitoredüktif tedaviden fayda görmektedir. Yüksek riskli olmayan hastalar düşük (örn. yaş<40 yaş) ve orta riskli grup (yaş:40-60 yaş) olarak ayrılır. Orta riskli grupta tedavi kararı ile ilgili kanıt azdır. 'PT-1' adlı randomize, açık uçlu, prospektif çalışmada 40-59 yaş arası ET'de tromboz veya çok yüksek trombosit sayısı gibi yüksek risk faktörlerin yokluğunda aspirine preemtif olarak hidroksiüre eklenmesinin vasküler olayları, miyelofibrotik dönüşümü veya lösemik transformasyonu önlemediğini ortaya koymuştur (202). Bundan yola çıkarak tedavi için diğer klinik endikasyonların yokluğunda (örn. önceki tromboz veya kanama öyküsü) 40-59 yaş arası olan ve trombosit sayısı <1.500.000/mm<sup>3</sup> olan olguların

sitoredüktif tedavi almaması önerilmektedir. Trombositozun derecesi tromboz açısından güvenilir bir risk indikatörü olmamasına rağmen çoğunlukla çok yüksek trombosit varlığında sitoredüktif tedavi verilmektedir (örneğin  $1.500.000/mm^3$ ). Sitoredüktif tedavi uygulandığında trombosit ve lökosit sayısı normal aralıkta tutulacak şekilde doz ayarlaması yapılır

**Tablo VIII. Esansiyel trombositemi’li Hastalarda Risk Sınıflandırılması**

Yüksek risk	Düşük risk	Orta risk
Yaş >60 yaş Tromboz öyküsü Trombosit >1.500.000/mm <sup>3</sup>	Yaş <40 yaş	Yaş 40-60 yaş

### 2.3.7.3.2. Sitoredüktif Tedavi Seçimi

ET’de ilk ve ikinci basamak tedavi seçimi Tablo IX’da özetlenmiştir. Hidroksiüre bir ribonükleotid redüktaz inhibitörü olmakla beraber hidrosikarbamid olarak da bilinir. İlk basamak tedavi olarak yaygın bir biçimde kullanılır ve randomize kontrollü çalışmalarda trombotik olayları azalttığı kanıtlanan tek ajandır (178). Bu ilacın majör komplikasyonları arasında reversibl kemik iliği baskılanması ve bukkal mukoza ve alt ekstremitede ülserasyon vardır. Hidroksiüre orak hücre hastalığında kullanıldığı zaman non-lökomojenik olarak gözükmese rağmen MPN’de potansiyel lökomojenik etkisi hakkında tartışmalar devam etmektedir. Bazı çalışmalar hidroksiüre ile tedavi edilen ET olgularında akut lösemi riskinin arttığını göstermiştir (202, 203). Ancak diğer çalışmalarda bu ilişki gösterilmemiştir (155, 203). Bu çalışmalardaki problemler; hasta gruplarının küçük olması, multipl sitotoksik ajan alan hastaları içermesi, retrospektif olarak verilerin toplanması ve göreceli olarak kısa süreli olmasıdır. Hidroksiüre alan orak hücreli anemi ve MPN tanılı hastalarda DNA mutasyon oranlarının normal kontrol grubuyla eşit oranda saptanmasından yola çıkarak hidroksiürenin mutajenik potansiyelinin düşük olduğu söylenebilir (205). Günümüzde tek başına hidroksiüre kullanımının akut lösemi riskinde artışla ilişkili olup olmadığı net olmamakla beraber herhangi bir risk artışı durumunda bile bu riskin düşük olduğu ve trombotik komplikasyonları önlediği düşünüldüğünde bu risk göz ardı edilebilir. Bir ‘quinazoline’ derivesi olarak bilinen anagrelid, megakaryosit farklılaşmasını inhibe ederek trombosit değerini azaltır. Bu ilaç, lökosit sayısını etkilememesine rağmen sıklıkla anemi gelişir ve çoğunlukla progresiftir (185). Hastaların yaklaşık üçte biri yan etkilerden dolayı anagrelid tedavisini tolere edememektedir. Yan etkiler arasında çoğunlukla çarpıntı ve aritmi, sıvı retansiyonu, kalp yetersizliği ve baş ağrısı gibi vazodilatatör ve pozitif inotropik yan etkiler bulunur. Bu ilacın kullanımı yaşlı hastalarda veya

önceden kalp hastalığı olan hastalarda özellikle dikkat gerektirir. Anagrelid sitotoksik ve lökomojenik olmamasına rağmen 'PT1' randomize çalışmasında yüksek riskli ET'de aspirin+hidroksiürenin aspirin+anagrelid tedavisine göre daha üstün olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada anagrelid tedavisi alan hastalarda olaysız sağkalım süresinin kısaldığı, arteriyel tromboz, majör kanama ve miyelofibroza progresyonunun daha yüksek olduğu gösterilmiştir (sırasıyla  $p=0.03$ ;  $p=0.004$ ;  $p=0.008$  ve  $p=0.01$ ). Bu çalışmada trombosit sayısını eşit oranda kontrol etmesine rağmen anagrelid grubunda venöz tromboz oranı daha düşük bulunmuştur ( $p=0.006$ ) (190). Hidroksiüre ile karşılaştırıldığında anagrelid tedavisi zamanla kemik iliğinde retikülin lif artışı ile ilişkili bulunmuştur (185). Hidroksiüre ve anagrelid tedavisinin karşılaştırıldığı 'PT-1' ve hidroksiüre ve sitoredüktif tedavinin karşılaştırıldığı İtalyan prospektif çalışmalarında anagrelidin tromboz açısından kısmi koruma sağladığı ve bu nedenle hidroksiüre tedavisinin yetersiz olduğu veya tolere edilmediği hasta grubunda ikinci basamak tedavi seçeneği olarak kullanımının uygun olabileceği önerilmektedir (206). Hidroksiüre ile anagrelidin karşılaştırıldığı 'ANAHYDRET çalışmasında' ise ET'de anagrelidin hidroksiüreden daha kötü sonuçları olmadığı gösterilmiştir (133). Ancak hasta sayısı, takip süresi, primer sonlanım noktasının rölatif olarak küçük olması nedeni ile bu çalışmanın 'PT-1' çalışmasındaki farklılıkların görülme gücüne sahip olmadığı düşünülmüştür (Tablo X). Rekombinant INF-alfa'nın trombozu önlediğine dair direkt kanıt az olmasına rağmen ET'de trombosit sayısını etkili bir şekilde kontrol ettiği bilinmektedir. Tedavi sonrasında grip benzeri semptomlar ve psikiyatrik bozukluklar gibi önemli yan etkiler sıklıkla ortaya çıkar ve bu yan etkiler nedeniyle tedavi kesilmek zorunda kalınabilir. Bu ajan lökomojenik ve teratojenik olmadığı için sıklıkla genç hastalarda veya konsepsiyon sürecinde ve hamilelikte kullanılabilir (207). Yan etki profili nedeniyle genellikle yaşlı insanlarda kullanımından kaçınılır. Pegile interferon-alfa daha az sıklıkla uygulanma gerektirdiği için kullanımı daha uygun olmasına rağmen yan etki profili doğal formu ile benzerdir. Radyoaktif fosfor ve busulfan gibi alkilleyici ajanlar trombosit sayısını kontrol etmek açısından faydalıdır ancak özellikle hidroksiüre tedavisinden sonra ardışık kullanıldığında artmış akut lösemi progresyonu ile ilişkilidir. Bundan yola çıkarak bu ajanların genç hastalarda kullanımından kaçınılımalıdır. Radyoaktif fosfor ve busulfanın her ikisi de dozlar arasında uzun aralar verilerek aralıklı olarak uygulandığı için düzenli olarak kliniğe gelemeyecek yaşlı hastaların tedavisinde faydalı olabilir. Pipobroman, bir 'piperazin' türevidir ve ET'de trombosit sayısını azaltmada etkilidir. Fakat ET'de trombozu önlediğine dair direkt kanıt azdır. Yapılan çalışmalar, PV'da bu ajanın uzun süre kullanılmasının artmış lösemi riskiyle ilişkili olduğunu göstermiştir (155, 208). JAK2 mutasyonunun tanımlanması ve MPN patogenezinde JAK2 aktivitesindeki artışın merkezi rolü olduğunu ortaya çıkaran çalışmalar,

JAK2 inhibitörlerinin hızlı gelişimini sağlamıştır (ruxolitinib vb). Randomize çalışmalar, PMF tanılı hastalarda bu ajanın semptomları rahatlatıcı etkisine ve sağkalım süresini olası uzatıcı etkisine işaret eder (209, 210). ET'de erken faz klinik çalışmalarda trombosit sayısını azaltıcı etkileri gösterilmesine rağmen rutin tedavideki yeri halen net değildir.

**Tablo IX. Esansiyel trombositemi'de Sitoredüktif Ajan Seçimi**

Yaş Grubu	İlk Basamak	İkinci Basamak
<40 yaş	İnterferon-alfa	Hidroksiüre Anagrelid
40-60 yaş	İnterferon-alfa Hidroksiüre	Anagrelid
>60 yaş	Hidroksiüre	Anagrelid Pipobroman* Busulfan* Radyoaktif fosfor*
*Bu ajanlar PV çalışmalarında akut lösemiye transformasyon sıklığını artırdığı için sadece >75 yaşındaki kişilerde dikkatli değerlendirme sonrasında olgu bazlı kullanımına karar verilmelidir		

**Tablo X. Esansiyel trombositemi'de Anagrelide karşı Hidroksiüre kullanımını karşılaştıran 'ANAHYDRET' ve 'PT-1' Randomize Kontrollü Çalışmaları**

	ANAHYDRET Çalışması <sup>64</sup>	PT-1 Çalışması <sup>50</sup>
Tanı	'DSÖ' Kriterleri (2001) Histolojilerin tek merkezde değerlendirilmesi*	'PVSG' kriterleri Tanıyı tedavi eden hekimler koymuştur
Hastalar	Yüksek riskli Tedavi naif	Yüksek riskli Tedavi edilmiş veya edilmemiş
Ortalama yaş: anagrelid/hidroksiüre	58/56	61/62
Ortalama hasta sayısı: anagrelid/hidroksiüre	122/131	405/404
Takip süresi	730 hasta/yıl	2653 hasta/yıl
Toplam olaylar:		
Arteriyel tromboz	15	54
Venöz tromboz	8	17
Hemoraji	7	30
MF transformasyon	3	21
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü, MF: Miyelofibroz *Hastaların %82.2'si DSÖ 2001 kriterlerini karşılamaktaydı		



### 2.3.8. Özel Durumlar

#### 2.3.8.1. Konsepsiyon ve Hamilelik

ET tanılı hamilelerin %50'sinde ilk trimesterde gebelik kaybı meydana gelir. Bunun dışında intrauterin gelişme geriliği, preeklampsi ve ölü doğum ortaya çıkabilir. Bu komplikasyonlar konsepsiyon öncesindeki trombosit sayısından bağımsız olarak ortaya çıkabilmesine rağmen JAK2V617F-pozitif grupta daha sık görülür. Aspirin ya da sitoredüktif ajanların kullanıp kullanılmamasının gebelik sonuçlarını iyileştirdiğine dair bilgi belirsiz olmakla beraber çalışma sonuçları çelişkilidir (211). ET tanısı olmayan preeklampsili hamileleri içeren büyük bir metaanalizde anne ve fetus için aspirinin güvenilir olduğu gösterilmiştir (211). Bundan yola çıkarak ET tanılı hamilelerin hepsinde aspirin kullanımının uygun olduğu düşünülmektedir. Hidroksiüre hamilelik süresince genellikle anne ve fetus için yan etki oluşturmamasına rağmen insan olmayan memelilerle yapılan çalışmalarda teratojenik olduğu gösterilmiştir. Bundan yola çıkarak hamilelikte kullanımından kaçınılmalıdır (212). Anagrelid presentadan geçmekle beraber fetusun gelişimi üzerindeki etkisi bilinmemektedir. Bu nedenle kullanımından kaçınılmalıdır. INF-alfa teratojenik olmadığı için hamilelik süresinde sitoredüktif tedavi ihtiyacı olan yüksek riskli hastalarda bir tedavi seçeneğidir (207). ET'de çalışması olmamasına rağmen hamilelerde tromboprofilaksinin güvenli olduğu bilinmektedir (düşük dozda düşük moleküler ağırlıklı heparin gibi) (213). Tromboz öyküsü ve gebelik kaybı olan hastalarda tromboprofilaksi düşünülmeli ve tromboz öyküsü olan hastalarda tedavi postpartum 6. haftaya kadar sürdürülmelidir. Hamilelik ET'de hastalığın doğal seyrini değiştirmemekle beraber gestasyon boyunca trombosit sayısı sıklıkla düşmektedir. Hayvan çalışmalarında hidroksiürenin spermatogenezde azalma ve spermatogonyada genetik hasar yaptığı gösterilmiştir (212). Bu yüzden sitoredüktif tedavi alan erkek hastalarda konsepsiyon öncesinde INF-alfa tedavisi düşünülmelidir.

#### 2.3.8.2. Cerrahi

Cerrahi prosedürün ET'de trombotik ve kanama komplikasyonlarını arttırdığı gösterilmesine rağmen spesifik tedavilerle bu riskin düzelişip düzelmeyeceği net değildir. Genellikle kritik bir alan için yapılacak cerrahi ya da majör cerrahi öncesinde antitrombositer ajanlar 7-10 gün öncesinde kesilmelidir. Postoperatif tromboprofilaksi lokal protokollere göre yönetilmelidir. Sitoredüktif tedavi alan hastalarda preoperatif dönemde kan sayımı kontrolü sağlanmalı ve tedavide mümkün olduğunca kesinti olmamalıdır. Tedavi almayan hastalarda olgu bazında geçici sitoredüktif tedavi düşünülmeli, bireyin trombotik risk profili, trombositoz

derecesi ve cerrahi işlem dikkate alınmalıdır. Splenektomi yapılan ET'li olgularda genellikle trombosit sayısında ve trombotik ve kanama komplikasyonlarda artış görülür. Bu nedenle elektif splenektomi öncesinde trombosit sayısının normale döndürülmesi tavsiye edilir. Postoperatif dönemde tromboprofilaksi ve günlük kan sayımı takibi önerilir.

### 2.3.9. Seyir ve Prognoz

ET'de uzun süreli sağkalım ile ilgili iyi kalitede prospektif bir çalışma yoktur. Kanser kayıt verileri ve retrospektif çalışmalarda normal popülasyonla karşılaştırıldığında yaşam süresinin daha kısa olduğu gösterilmiştir (214, 215). ET'de mortalite artışı; tromboz ve PMF veya AML'ye transformasyon gibi komplikasyonlardan kaynaklanmaktadır. Tedavi yaklaşımının son 10-20 yılda önemli ölçüde azaldığı bilinmektedir. Bu değişimler, trombozu önlemek için daha agresif müdahalelerin ortaya çıkmasını ve lökomojenik ajanların kullanımının azalmasını içermektedir. Tedavi yaklaşımındaki bu değişiklikler, son yıllarda hastalık sonuçlarını iyileştirmesine rağmen uzun süreli takip süresi olan çalışmaların yorumlanmasında güçlüğü neden olmaktadır. Trombotik komplikasyonlar için bazı prediktif faktörler tanımlanmıştır (Tablo XI). Tromboz için tanımlanmış en iyi risk faktörleri 60 yaşın üzerinde olmak ve tromboz öyküsü olmasıdır. Tromboz öyküsü, anemi ve lökositoz gibi ilerlemiş hastalık düşündürülen belirteçlerin varlığı ET'de azalmış sağkalım için bağımsız risk faktörleridir (214). Ateroskleroza yatkınlık oluşturan diyabet, hipertansiyon, hiperkolesterolemi ve sigara gibi risk faktörleri, JAK2V617F mutasyonunun varlığı veya tanıda kemik iliği fibrozis varlığı tromboz için ek risk faktörleri arasındadır. 60 yaşın üzerinde olan veya tromboz öyküsü olan hastalarda sitoredüktif tedavi önerilmektedir. JAK2 mutasyonu gibi ek faktörlerin varlığının hastalık stratifikasyonunu iyileştirmek için kullanılıp kullanılmayacağı klinik denemeler doğrultusunda belirlenebilir. Trombotik komplikasyonların aksine PMF veya akut lösemiye progresyon için prediktör olan az sayıda tanımlanabilen faktör vardır. Her iki komplikasyonun insidensi hastalığın süresi ile ilişkili progresif olarak artar. Tedavi seçimi de bu komplikasyonların gelişiminde rol oynar. Anagrelid hidroksiüre ile karşılaştırıldığında miyelofibrotik transformasyon riskini artırır ve genotoksik ajanlar özellikle hidroksiüreden sonra ardışık olarak kullanıldığında lösemi riskini artırır (190). Tanıda kemik iliği fibrozisi varlığı prospektif bir çalışmada takibinde PMF gelişiminde artmış riskle ilişkili bulunmuştur (185). Ancak farklı mutasyonların varlığının miyelofibrotik veya lökomiik transformasyonla ilişkisi gösterilmemiştir.

**Tablo XI. Esansiyel Trombositemi Komplikasyonları Açısından Risk Faktörleri**

<b>Tromboz</b>	<b>Kanama</b>	<b>Miyelofibrotik Transformasyon</b>	<b>AML</b>
>60 yaş	Tanıda kemik iliği fibrozisi	Hastalık süresi	Hastalık süresi
Tromboz öyküsü	Trombositoz‡	Anagrelid tedavisi†	Genotoksik tedavi
Kardiyovasküler Risk*	Lökositoz‡	Tanıda kemik iliği fibrozisi	>1 sitoredüktif ajan kullanımı
Lökositoz			
Tanıda kemik iliği fibrozisi			
JAK2V617F mutasyonu¶			
*Diyabet, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, sigara kullanımı			
‡Takip süresince			
¶Venöz veya arteriyel tromboz			
†Hidroksiüre ile karşılaştırılığında			

#### 2.4. Primer Myelofibrozis

PMF, bazı somatik mutasyonlar tarafından yeniden programlanan tek bir hematopoetik multipotent hücrenin klonal çoğalması ile ilişkili klonal miyeloid hastalıklar spektrumundaki birkaç malign hastalıktan biridir. PMF tanılı olguların yaklaşık %90'ında mutasyon bulunmaktadır. PMF'de JAK2 mutasyonu yaklaşık %50'sinde, CALR %35'inde ve MPL %4'ünde bulunur. Bu hastalık klasik olarak anemi, hafif nötrofil, trombositoz ve splenomegali ile karakterizedir. Nadiren (%15) bisitopeni veya pansitopeni ile prezente olabilir. Periferik yaymanın karakteristik özellikleri immatür miyeloid hücreler ve nükleuslu eritrositler, göz yaşı hücreleri ve büyük trombositlerdir (megakaryositik sitoplazmik fragmanlar). Kemik iliğinde neoplastik dismorfik megakaryositlerde artış ve retikülin lif artışı saptanır ve sıklıkla sonrasında kollajen fibrozis gelişir. Bu reaktif, poliklonal fibroplazi birçok neoplastik megakaryosit tarafından lokal olarak salınan sitokinlerden (örn. transforme edici büyüme faktörü-β) kaynaklanır. Osteosklerozis de ortaya çıkabilir. Bu hastalık çok büyük splenik kan akımının varlığı ve hepatik damarların kompliyans kaybının sonucu olarak portal hipertansiyon ve gastroözofageal varislerle, herhangi bir dokuda gelişebilen ekstremiteler fibrohematopoetik tümörlerle ve vital yapıların kompresyonuna bağlı semptomlarla ve abdominal ven trombozu

(Budd Chiari sendromu) ile komplike olabilir. JAK2 inhibitörleri günümüzde splenomegali ve konstitüsyonel semptomlar (ateş, gece terlemesi ve kilo kaybı) için birinci basamak tedavi seçeneğidir. Diğer tedavi seçenekleri arasında trombositoz ve masif splenomegali için hidroksiüre, ciddi anemi için androjenler, EPO veya eritrosit transfüzyonu, fibrohematopoetik tümörler veya masif semptomatik dalak için lokal radyoterapi, JAK2 inhibitörleri tarafından kontrol altına alınamayan dalak etkisinden kaynaklı ciddi sitopeniler için splenektomi vardır. Gastroözefageal varis kanamasında portosistemik şant cerrahisi gerekebilir. Genç hastalarda allogeneik hematopoetik kök hücre transplantasyonu küratif olabilir ve nonmiyeloblastif nakil en az 60 yaşına kadar başarılı olabilir. Bu hastalık yıllarca sessiz kalabileceği gibi hematopoezde hızlı bozulma, masif splenomegali veya AML'ye transformasyon şeklinde hızlı bir ilerleme gösterebilir.

#### **2.4.1. Tanım**

PMF, anemi, nötrofili ve trombositoz veya küçük bir kısmında trombositopeni ve lökopeni, splenomegali, periferik yaymada artmış immatür granülositler, eritroblastlar ve göz yaşı hücreleri, kemik iliğinde fibrozis ve osteosklerozis ile karakterize kronik miyeloid bir neoplazidir. Bu bozukluk ilk olarak 'Heuck' tarafından 1879'da tanımlanmıştır (216). 'Silverstein' bu hastalığın patogenezini tanımlayarak bu hastalığın kemik iliği kaynaklı olduğunu, bu hastalıkta ekstramedüller hematopoezin görüldüğünü ve hematopoetik değişikliklerin fibrozisle ilişkisini ortaya koymuştur (217). Bu hastalık sıklıkla de novo olarak ortaya çıkmasına rağmen bir kısmı PV ve ET, nadiren de KML veya atipik miyeloproliferatif hastalık sonrasında gelişir. Prefibrotik fazı takiben ortaya çıkabilir. PMF'de yaklaşık %50 oranında bulunan JAK2 gen mutasyonu ve çok daha az sıklıkla bulunan MPL gen mutasyonu bu hastalığın patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır (37, 218). JAK2 sinyal yolları ayrıca tedavi için yeni hedefler sunar. JAK2 veya MPL mutasyonu olmayan olguların yaklaşık %70'inde CALR mutasyonu görülmesi patogenezin daha iyi aydınlatılmasını sağlamıştır ve yeni terapötik yaklaşımlar için bir fırsat oluşturmuştur.

#### **2.4.2. Epidemiyoloji**

PMF karakteristik olarak 50 yaşından sonra ortaya çıkar (217, 219-226). Ortalama tanı yaşı yaklaşık 65-70 olmasına rağmen çocuklarda ve yenidoğanlarda görülebilir (16, 219, 222-224). İnfantlarda bu hastalık klasik hastalığa benzeyebilir veya farklı olarak hepatosplenomegalinin yokluğu gibi bazı özellikler gösterebilir (227). Ailevi infantil miyelofibroz yetişkin hastalığına benzemekle beraber bazen otozomal resesif kalıtımla aktarılır

(229, 230). PMF çocuklarda genellikle hayatın ilk 3 yılında ortaya çıkar (227, 228, 230, 231). Genç çocuklarda kızların etkilenme sıklığı erkeklere göre iki kat daha fazladır (227). Genç ve orta yaşlı erişkinlerde sessiz hastalık oranı daha yüksek olabilmesine rağmen yaşlılardaki hastalıkla benzer karakterdedir. Yetişkinlerde erkeklerde ve kadınlarda eşit oranda görülür (219, 222-226). PMF diğer klonal miyeloid hastalıklar gibi ailelelerde toplanabilir. Bundan yola çıkarak tanımlanmamış predispozan bir gen tarafından aktarıldığı ileri sürülebilir. Büyük bir İsveç çalışmasında miyeloproliferatif bir hastalık varlığında ailede diğer miyeloproliferatif hastalık riskinin yaklaşık 7-8 kat arttığı gösterilmiştir (16). Kuzey Avrupa Ülkeleri için hastalık insidensi her yıl için yaklaşık 100.000'de 0.5'tir. Minnesota'da yapılan bir anket çalışmasında yıllık insidens 100.000'de 1.5 ve ortalama başlangıç yaşı 67 olarak bildirilmiştir (155).

### 2.4.3. Etiyoloji ve Patogenez

PMF tek bir hematopoetik multipotent hücrenin neoplastik transformasyonundan kaynaklanan klonal bir hastalıktır. Bunu destekleyen ilk çalışma, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) geni heterozigot olan bireylerde G6PD'nin X-kromozomuna bağlı inaktivasyon patternlerinin ortaya çıkmasıdır (232). Fakat, genel popülasyonda G6PD heterozigot olguların düşük sıklıkta olması, birkaç grubun daha bilgi verici olduğunu düşündükleri X'e bağımlı genleri, hipoksantin fosforibozil transferaz ve fosfogliserat kinazı analiz etmesine neden olmuştur. PMF tanılı olgularda hematopoetik dışı dokularda G6PD A ve B izotipi (her iki izotip) bulunmasına rağmen kan hücrelerinde G6PD açısından tek bir izotip saptanmıştır. Bu çalışmaların sonucunda erken hücrel faz veya daha ileri miyelofibrozu fazında olan tüm hastalarda monoklonal hematopoez gösterilmiştir (232, 233). Ayrıca PMF'de hematopoetik progenitör hücrelerdeki kromozom çalışmalarında eritroblastlarda, nötrofillerde, makrofajlarda, bazofillerde ve megakaryositlerde aynı klonal sitogenetik anormallik saptanmıştır (234). Bu çalışmalar X kromozomuna bağlı genleri heterozigot taşıyan PMF tanılı kadınlarda X'e bağlı restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi ile ve bu hastalığı olan kişilerdeki kan dizilerinde N-RAS geninde kodon 12'deki mutasyonun varlığı ile konfirme edilmiştir (235-238). Floresan in situ hibridizasyon (FISH) analizi kullanılarak 13q veya 20q delesyonu olan PMF tanılı olguların 3/4'ünde T ve B lenfositler multipotansiyel hematopoetik hücrenin klonal ekspansiyonundan türetilmiştir (239). Klonalite çalışmaları sonucunda PMF sekonder myelofibrozu dan ayırt edilir. JAK2V617F, CALR ve MPL gen mutasyonları klonalite değerlendirilmesinde kullanılan önemli belirteçlerdir. JAK2 mutasyonu taşıyan hücreler PMF tanılı olguların tüm kan dizilerinde ve multipotent hematopoetik kök hücresinde saptanmıştır (240). PMF'de JAK2V617F mutasyonu içeren neoplastik hematopoetik kök hücrelerin obez

olmayan, diyabetik, şiddetli kombine immün yetersizlikli farelerde çalışıldığında aynı hücre popülasyonunda PV'dan farklı davranışlar sergilediği gösterilmiştir. Bu hayvan çalışmaları; PV, ET ve PMF'de JAK2V617F mutasyonunun varlığı ile fenotipik olarak 3 farklı miyeloproliferatif hastalığın ortaya çıkmasını desteklemektedir (241). Bir onkogen olan v-mpl genini taşıyan hayvanlarda mikst idiopatik miyelofibrotik-polisitemik hastalık özelliklerini taşıyan bir sendrom ortaya çıkmıştır. v-mpl fazla miktarda trombopoetin salgılanmasına yol açarak miyelofibrozis ve osteosklerozisi neden olur (26, 242). Eş zamanlı olarak transforme edici büyüme faktörü- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) ve PDGF'den oluşan fibroblast faktörlerin yüksek miktarda salınımı yoğun fibrozise neden olmuştur (243). Hayvan çalışmalarında osteoprotegerin artışının osteosklerozisin temel sebebi olabileceği düşünülmüştür. Bu hastalıkta mürin hematopoetik kök hücre transplantasyonu ile kür elde edilmiştir (242, 244). Bu bulgular, v-mpl'nin insan analogu olan human trombopoetin reseptörünü kodlayan c-MPL'nin keşfine neden olmuştur. İki fonksiyon kazandıran somatik mutasyon olan MPL<sup>W515L</sup> ve MPL<sup>W515K</sup>, PMF ve ET ile ilişkili bulunmuştur (245, 246). Bu fonksiyon kazandıran mutasyonlar germline olabilir ve böyle durumlarda ailevi (herediter) trombositoz ile ilişkilidir (247). Farelerde düşük GATA-1 mutasyonundan kaynaklanan bir sendrom, insan miyelofibrozisine benzeyen bir fenotipe yol açmaktadır. Bu farelerde dereceli olarak anemi, göz yaşı poikilositleri, miyeloid immatürite, kemik iliği fibrozisi, ekstramedullar hematopoez ve kemik iliğinde profibrotik sitokinlerin aşırı ekspresyonu gerçekleşir (248). GATA-1, normal megakaryosit gelişimi için gerekli olan bir transkripsiyon faktörüdür. Farelerde GATA-1 eksikliği, megakaryosit proliferasyonunu arttırarak takiben fibroblast indükleyen ve osteoblast uyarıcı faktörlerin aşırı artmasının sonucu olarak miyelofibrozis ve osteosklerozise neden olur (249, 250). 2005'te keşfedilen JAK2 geninin aktive edici G→T noktasındaki somatik mutasyon (V617F) üç temel miyeloproliferatif hastalıkla ilişkili bulunmuş ve bu mutasyonun keşfi bu üç hastalığın hızlı bir şekilde patogenezinin anlaşılmasına neden olmuştur (237, 251). Kromozom 9p24'te bulunan JAK2 tirozin kinazı kodlayan JAK2 geninin fonksiyon kazandıran mutasyonu, PMF'de %50, PV'da %95 ve ET'de %60 oranında bulunmaktadır (39, 252). Bu mutasyonlar sağlıklı bireylerde bulunmamaktadır. İnsan mutant JAK2 geni, transfer edilen farelerde insan hastalıklarının karakteristik özelliklerini taşıyan miyeloproliferatif hastalıkları indüklenmektedir. En sık mutasyon olan JAK2V617F mutasyonunun nasıl üç hastalıkla ilişkisi olduğu, nasıl farklı fenotipik özelliklere neden olduğu ve PV ve PMF olgularında nasıl farklı bir yaşam süresinin olduğu bilinmemektedir. PMF tanılı olguların büyük çoğunluğunda aşık bir mutasyonun yokluğunda farklı fenotiplerin ortaya çıkmasına neden olan dört farklı düzenleyici faktör öne sürülmüştür: gen dozu, germline düzenleyiciler, predispozan alleller ve ek somatik mutasyonlar

(251-253). ET, PV ve PMF'de sırasıyla JAK2V617F allel yükü artar (254). Homozigot PV olgularında heterozigot grup ile karşılaştırıldığında JAK2V617F allel yükü; anlamlı yüksek lökosit sayısı, yüksek CD34(+) hücre sayımı, düşük trombosit sayısı ve daha yüksek oranda splenomegali ile ilişkili miyeloproliferasyon ve miyeloid metaplazinin derecesi için belirleyici olabilir. MPN'ye predispozan oluşturan alleller, JAK2 sinyal yolağında mutasyonların gelişimi için selektif bir avantaj sağlamaktadır. Bir MPL gen mutasyonu olan MPL<sup>515L/K</sup>, bazı JAK2V617F-negatif PMF olgularında saptanır. PMF'deki JAK2 mutasyonu (%50 oranında) veya MPL gen mutasyonu (%4 oranında), sinyal iletimi için JAK2'yi kullanmaktadır. Bundan yola çıkarak PMF patogenezinde JAK-STAT sinyal yolağının kritik önemi olduğu söylenebilir (245, 254-256). Yeni nesil tüm ekzom dizileme ile JAK2 veya MPL gen mutasyonu taşımayan (%50 oranında) PMF tanılı olguların sadece az bir kısmında somatik mutasyon olduğu gösterilmiştir (257). PMF'de JAK2 mutasyonunun tanımlanmasından yaklaşık bir dekad sonrasında iki grup aynı anda CALR mutasyonunun varlığını bildirmiştir (JAK2 veya MPL mutasyonu taşımayan PMF'in yaklaşık %70'i ve tüm popülasyonun %35'i) (173, 174). CALR mutasyonları delesyon veya insersiyonlardan kaynaklanmakla beraber Sanger dizileme teknolojisi ile tanımlanamamıştır. En sık mutasyon tipleri olan 52-bp delesyonu (tip 1 mutasyon) ve 5-bp insersiyonu (tip 2 mutasyon), CALR mutasyonlarının yaklaşık %85'ini oluşturur. CALR mutasyonu, kalsiyum bağlayıcı bölgeyi kodlayan genin son domaini için yanlış anlamlı mutasyondur. PMF tanılı ve JAK2, CALR veya MPL mutasyonlarını taşıyan olgularda ek olarak 2 veya 4 somatik mutasyon bulunmaktadır. Bunlar arasında epigenetik düzenlemede önemli olan TET2, ASXL1, DNMT3A, EZH2 ve IDH1 genleri yanında TP53 ve CBL gen mutasyonları vardır (218). Yeni nesil tüm ekzom gen dizileme ile PMF tanılı olguların %3'ünde beşe kadar somatik mutasyon görülmekle beraber %12'sinde somatik bir mutasyon saptanmamıştır (218). PMF tanılı olguların yaklaşık 1/20'sinde 13q14 delesyonu, retinoblastoma geninin aşırı ekspresyonu veya mutasyonu, NF1 delesyonları (17q11 delesyonu) ve RAS mutasyonları, nadiren KİT mutasyonu bulunmaktadır (258-261).

Neoplastik megakaryopoez, bu klonal miyeloid hastalığın en önemli belirtisi olmakla beraber hastalığın majör belirtilerinin çoğundan sorumludur. Klonal ekspansiyonun en önemli göstergeleri CD34(+) hücrelerin mobilizasyonu ve sirkülasyonudur. Bu fenomen olasılıkla CXCR4 promotor bölgesinin epigenetik metilasyonu, CXCR4 mRNA'nın azalması ve CD34(+) hücreler üzerinde CXCR4'ün azalmış ekspresyonu ve kana artmış migrasyonunun sonucudur (262). PMF'de dolaşımdaki CD34(+) hücreler, normal kişilerdeki CD34 (+) hücrelere kıyasla 24 kat fazla megakaryosit ve artmış seviyede BCL-XL üretir ve sonuç olarak gecikmiş apoptoza

neden olur (263, 264). PMF'de dolaşımdaki CD34(+) hücrelerden kaynaklanan CD61(+) hücreler, normal kişilerdeki CD34(+) hücrelerden kaynaklanan CD61(+) hücrelere kıyasla daha yüksek miktarda TGF- $\beta$  ve metalloproteaz-9'u içeren büyüme faktörü ve proteaz üretir. PMF'de mikrodamar yoğunluğu ve kemik iliğinde kan akımı artmıştır. Bu değişikliklerin dolaşan endotelial hücre progenitörlerindeki artışla ilişkili olduğu düşünülmektedir (265). Granülositlerinde JAK2V617F mutasyonu taşıyan 18 olgunun 12'sinin endotelial hücrelerinde de JAK2V617F mutasyonu saptanmıştır. Bu bulgunun kesin açıklaması yapılamamıştır (266).

Neoplastik miyeloproliferasyon, genellikle yoğun hücreli kemik iliği ve hafif veya orta derecede kan granülositozu ve trombositozuna yol açan baskın olarak granülosit ve megakaryosit dizilerindeki kemik iliği anormalliyidir. Çok erken prekürsörlerin aşırı derecede artmış apoptozisinden kaynaklanan hiposelüler hematopoez hastalığının başlangıcında veya geç döneminde ortaya çıkarak granülositopeni ve/veya trombositopeniye yol açar. Anemi sık bir bulgudur ve azalmış eritropoez, kısalmış eritrosit yaşam süresi ve dolaşımdaki eritrositlerin dağılımında splenomegalinin etkisinden kaynaklanır. Bazı olgularda hemoliz en önemli bulgu olabilir. Neoplastik megakaryositlerin çoğalmasında ve megakaryositlerin yoğun dismorfogenezi bu hastalığın değişmez bir özelliğidir. Yoğun fibrotik ilik varlığında eritroid ve granülositik öncüllerde ciddi azalma görülmesine rağmen megakaryosit kümeleri kollajen demetler arasına dağılmış bir şekilde kolayca saptanır. 'Megakaryositik miyelozis' terimi bu bulguların değişmez bir şekilde varlığını temsil eder. Megakaryopoezdeki baskınlık, PMF'de megakaryositlerden FKBP51'in ekspresyonunda ortalama 5 kat artış olması ve CD34(+) hücrelerin megakaryositlere belirgin farklılaşmasından kaynaklanır. PMF'de artmış trombopoetin seviyelerine rağmen (IL-6 ve IL-11) insanlarda etyolojik rolü tam çözülmemiştir. PMF tanılı olguların bir kısmında TPO reseptörü olan MPL'de belirgin bir artış görülür. (267). PMF'de kollajen tip I, III, IV, V artmasına rağmen tip III kollajen istikrarlı olarak artış gösteren kollajen tipidir (268-270). Kemik iliği stromasında ve plazmada artan matriks bileşenleri Tablo XII'de özetlenmiştir. PMF'de kemik iliği fibrozisi, kemik iliğinde artmış neoplastik ve dismorfik megakaryositlerle yakından ilişkilidir.

Az miktarda rezidual granülopoez veya eritropoezle karakterize yoğun kemik iliği fibrozisinde de fibrotik bölgeler boyunca da çok sayıda megakaryositler dağılmış bulunmaktadır (169, 170, 271-293). PMF'de artmış patolojik emperipolezisin (megakaryositlerin kanaliküler sistemi içine nötrofil ve diğer kemik iliği hücrelerinin girişi)  $\alpha$ -granül hasarı ve TGF- $\beta$  ve PDGF'nin aşırı salınımdan kaynaklandığı düşünülmektedir (294). Kemik iliği monosit ve makrofajların fibrozisin indüksiyonunda yardımcı rol oynadığı hayvan



modellerinde gösterilmiştir (294-296). Monositlerden PDGF, bFGF ve TGF- $\beta$ 'nın sekresyonunun miyeloproliferatif büyüme faktörü ve profibrotik sitokin olarak etki etme potansiyeli vardır (294-296). Kemik iliğinde kollajen tip I ve tip III'ün artışı, PDGF, epidermal büyüme faktörü, endotelial hücre büyüme faktörü, TGF-beta ve bFGF gibi fibroblast büyüme faktörlerinin salınımından kaynaklanır (294, 297-299). Bu büyüme faktörleri megakaryositlerin alfa granüllerinde bulunmaktadır. Megakaryositler tarafından üretilen trombosit faktör 4 kollajenazı inhibe eder ve kollajen birikimine katkıda bulunur (293).

Fibroplazi, kemik iliğindeki sinüslerin sayı ve boyut artışı, endotelial hücre sayısındaki artış ve kemik iliğinde damar hacminin artışı ile ilişkilidir (278, 279, 284, 300, 301). Bu olaylar, hastaların kemik iliğindeki endotelial hücreler tarafından sentezlenen kollajen tip IV, V ve lamininin artışına neden olur (297). Fibroblast proliferasyonu ve artmış kollajen sentezi anormal hematopoezin sekonder bir sonucudur.

Ekstramedüller hematopoez hemen hemen her zaman karaciğerde ve dalakta bulunmakla beraber organ büyüklüğüne katkıda bulunur (219-221). Kemik iliğinden progenitör hücrelerin kaçıışı ve diğer organlara yerleşmesi ekstramedüller kan hücresinin oluşumuna neden olur. Karaciğer ve dalağın fetal hematopoetik fonksiyonlarına geri dönmesi (metaplazi) ekstramedüller hematopoezde majör bir faktör değildir ve kemik iliği dışında etkili bir hematopoez gerçekleşmemektedir.

**Tablo XII. Primer Miyelofibrozis'de Fibroplazi**

<p><b>I. Kemik iliği stroması</b></p> <p><b>A. Artanlar</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Total kollajen (hidroksiprolin)</li> <li>2. Tip I kollajen</li> <li>3. Tip III kollajen</li> <li>4. Tip III prokollajen</li> <li>5. Tip IV kollajen</li> <li>6. Matriks metalloproteinaz-14</li> <li>7. Laminin</li> <li>9. Fibronektin</li> <li>10. Tenaskin</li> <li>11. Vitronektin</li> <li>12. TGF-<math>\beta</math> ve substance P</li> </ol> <p><b>B. Azalanlar</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kollajenaz</li> </ol>
<p><b>II. Plazma</b></p> <p><b>A. Konsantrasyonu artanlar</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Polihidroksilaz</li> <li>2. Prokollajen tip I C terminal peptidi</li> <li>3. Prokollajen tip III N terminal peptidi</li> <li>4. Tip IV kollajen</li> <li>5. Laminin</li> <li>6. Fibronektin</li> <li>7. Hyalüronan</li> </ol>

#### 2.4.4. Klinik Özellikler

##### 2.4.4.1. Semptomlar

Bazı hastalar tanı anında asemptomatiktir. Semptomatik hastalarda halsizlik, güçsüzlük, nefes darlığı, kaşıntı ve çarpıntı nonspesifik ancak sık şikayetlerdir (220-223). Halsizlik, hastanın kendisi tarafından ifade edilen en sık şikayettir ve aneminin derecesi ile orantılı değildir. Kilo kaybı sıktır ancak anoreksia daha az sıklıkta görülür. Diğer semptomlar arasında ateş ve gece terlemesi vardır. Ateş, kilo kaybı, gece terlemesinden oluşan konstitüsyonel semptomlar PMF olgularında tedavi cevabının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılır (302). Sol üst kadranda şişkinlik hissi büyümüş dalaktan kaynaklanmakla beraber erken doyma hissi dalağın mide üzerine taşmasından kaynaklanır. Ciddi sol üst kadranda veya sol omuz ağrısı

splenik infarktın ve perisplenitten kaynaklanır. Hastalarda beklenmeyen kanama ortaya çıkabilir. Nadiren özellikle alt ekstremitelerde daha belirgin olan kemik ağrısı ortaya çıkar. Ateş, kilo kaybı, kaşeksi, gece terlemesi ve kemik ağrısı hastalığın son evresinde daha siktir ve hastalığın temel özelliği olan dolaşımdaki inflamatuvar sitokinlerin artışı ile ilişkilidir.

#### **2.4.4.2. Bulgular**

PMF'de tanı sırasında hemen hemen tüm hastalarda palpasyonda veya görüntüleme splenomegali saptanmakla beraber üçte ikisinde hepatomegali saptanır (219-222). Olguların yaklaşık dörtte birinde hafif, dörtte birinde masif ve yarısında orta derecede splenomegali saptanır. Kas yıkımı, periferik ödem ve purpura nadiren gözlenir. Kemik hassasiyeti görülebilir. Son bulgular hastaların büyük çoğunluğunda ileri evrede gözlenir. Nötrofilik dermatoz, PMF'de görülebilen bir sendromdur (303, 305). Prezantasyon bulgusu olabileceği gibi önemli bir komplikasyon bulgusu olarak da ortaya çıkabilir. Bunun yanında bül ve piyoderma gangrenozuma progrese olabilir (303, 306). Nötrofilik dermatozun baskın olan histolojik bulgusu yoğun polimorfonükleer nötrofilik infiltrasyondur. Hematolojik hücrelerle ilişkili cilt infiltrasyonu (leukemia cutis) nadirdir (307). Bu kutanöz lezyonlar megakaryositler için karakteristik CD61 belirtecini taşıyan dev hücrelerle miyeloid hücreleri içerir (308, 309). Kutanöz fibrohematopoetik tümörlerle kendini gösteren cilt lezyonları meydana gelebilir.

#### **2.4.4.3. Özel Klinik Durumlar**

##### **2.4.4.3.1. Prefibrotik Primer Myelofibroz**

PMF tanılı olguların yaklaşık yüzde 25'i kemik iliğinde aşırı retikülin fibrozis olmadan prezente olur (310, 311). Hgb düzeyi normal ve lökosit sayısı hafifçe yüksek olabilir. PMF'deki klasik bulgulardan olan periferik yaymadaki sık göz yaş hücreleri, miyelositler, çekirdekli eritrositler ve palpabl splenomegali çoğunlukla yoktur. Trombositoz değişmez bulgudur. ET ile yakından benzerlik göstermesine rağmen en önemli ayırım PMF'deki megakaryosit ekspansiyonun karakteristik özelliğidir (312). PMF'de çok küçükten dev boyutta megakaryositlere kadar geniş varyasyona sahip tuhaf megakaryosit değişiklikleri bulunur. Kemik iliğinde bulky multilobülasyon, hipolobülasyon ve serbest megakaryosit çekirdeği ile karakterize anormal nükleer lobülasyon bulunur. ET'de megakaryositler artış göstermesine rağmen miyelofibroza gözlenen dismorfizm görülmez. Prefibrotik hastalık genellikle yıllar süren bir sürecin sonunda tamamen miyelofibroza dönüşebilir. Histopatolojik olarak prefibrotik miyelofibrozu konfirme edildikten sonra bu anormalliğin aşık PMF'e progresyonu

öngördüğü bilinmektedir. Sonuç olarak akut lösemiye progresyon ve genel prognoz üzerine etkisi vardır (313).

#### **2.4.4.3.2. Ekstramedullar (Fibrohematopoetik) Tümörler**

Lokalizasyona bakılmaksızın görüntülemeye bir kitlenin tanımlanması, toraks veya abdomende efüzyon belirti veya semptomlarının varlığı, beklenmeyen nörolojik bulgular veya diğer bulguların varlığında aksi ispat edilene kadar fibrohematopoetik (ekstramedüller) tümörden şüphelenilmelidir. Adrenal glandlarda, renal parenkimde ve lenf nodlarında fibrohematopoetik tümörler görülebilir (314-321). Hematopoetik doku ve bazen yoğun fibrozisten oluşan tümörler barsak, meme, karaciğer, akciğer, mediasten, plevra, mezenter, cilt, sinovya, timus, tiroid, toraks, prostat, dalak veya üriner sistemde görülebilir (322-346). İntrakraniyal veya intraspinal epidural boşluktaki ekstramedüller hematopoez, subdural hemoraji, deliryum, artmış kafa içi basıncı, orbital apeks sendromu, papilödem, serebral tümör, koma, motor ve sensörinöral bozukluklar, spinal kord basısı ve ekstremitte paralizisi gibi ciddi nörolojik komplikasyonlara yol açabilir. Kitlenin lokasyonu ve natürünü tanımlamak için intraspinal miyelografi, BT, <sup>52</sup>Fe infüzyonu sonrası PET ve MR kullanılır (347-374). Serozal yüzeylerin üzerindeki hematopoetik odaklar, toraks, abdomen ve perikardiyal boşlukta bazen masif olabilen efüzyon üretir (334, 335, 340, 342, 364-368). Efüzyon sıvısı sıklıkla megakaryositler, immatür granülositler ve nadiren eritroblastları içerir (369-371). Splenektomi sonrasında dolaşımda hematopoetik progenitörlerin artışı ve dalağın filtrasyon özelliğini kaybetmesine bağlı olarak bazen yumuşak doku, vücut boşlukları veya serozal yüzeyler üzerinde ekstramedüller hematopoetik tümörler ortaya çıkar (371-373).

#### **2.4.4.3.3. Portal Hipertansiyon, Varisler ve Pulmoner Arteriye Hipertansiyon**

PMF'de ortaya çıkan masif artmış splenoportal kan akımı, azalmış hepatik vasküler kompliyans veya hepatik ven trombozu sonucunda şiddetli portal hipertansiyon, asit, özofageal ve gastrik varisler, intralüminal gastrointestinal kanama ve hepatik ensefalopati görülebilir (375-377). Perisinüzoidal fibrozis, Disse boşluğundaki kollajen demetler, perisinüzoidal fibroplazi ve hematopoetik hücrelerin birikimi sinüzoidal kompliyansın azalmasına katkıda bulunur (371-381). Portal ven trombozu PMF'in bir komplikasyonu olmakla beraber nadiren PMF tanısından önce ortaya çıkar (382). Portal hipertansiyon nadiren pulmoner hipertansiyonla birlikte olabilir ve bu durum pulmoner fibrozisten veya hidrodinamik faktörlerden kaynaklanabilir (339, 353). Pulmoner arteriyel hipertansiyon temel problem olabilir (384, 385). PMF'in üçte birinde artmış sistolik pulmoner arter basıncı vardır. Artmış vasküler endotelial

büyüme faktörü (VEGF), dolaşımda artmış endotelial hücreler ve artmış kemik iliği mikrodamar yoğunluğu, proanjiogenik faktörlerin hipertansiyona katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

#### 2.4.4.3.4. İmmün ve İnflamatuar Belirtiler

Hümmoral immün mekanizmalardaki anormallikler, PMF tanılı olguların yarısında gözlenir (386-391). İmmün bozukluklar arasında anti-eritrosit antikorları, anti-trombosit antikorları, anti-nükleer antikorlar, artmış plazma çözünür IL-2 reseptörleri, anti- $\gamma$ -globülinler, antifosfolipid antikorlar, anti-doku veya organ spesifik antikorlar ve dolaşan immünkompleksler, kompleman aktivasyonu, immün kompleks birikimi, intertisyel immünglobulin birikimi, kemik iliğinde artmış plazmasitoid lenfositler ve amiloidoz gelişimi vardır (386-404). IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , TNF reseptör II (TNFRII) ve C-reaktif proteinleri içeren inflammatuar sitokinler progresif hastalığı olan hastalarda önemli ölçüde yükselir ve konstitüsyonel semptomların oluşumunda önemli rol oynar (405). Dalak boyutu azalmadan önce JAK 2 inhibitörleri ile tedavi edilen hastalarda konstitüsyonel semptomların düzelmesi de bunu desteklemektedir. Sistemik lupus eritematozus (SLE), vaskülitler, poliarteritis nodoza (PAN), ülseratif kolit, skleroderma, biliyer siroz, Sjögren sendromu ve akut reversibl miyelofibroz glukokortikoidlere yanıt vermekle beraber kemik iliği fibrozisinde immün mekanizmaların rol oynayabileceğini düşündürmektedir (406-418).

#### 2.4.4.3.5. Kemik Değişiklikleri

Hastaların büyük bir kısmında tanı anında veya hastalık seyrinde osteoskleroz ortaya çıkar (219-223, 419-422). Osteoskleroz görüntülemelerde artmış kemik yoğunluğu ve kemik iliği biyopsisi ile tanı alır (420-425) (Tablo XIII).

**Tablo XIII. Osteosklerozu Yansıtan Serum, İdrar ve Kemik Değişiklikleri**

- Artmış serum alkalin fosfataz
- Artmış serum kemik GLA-proteini
- Artmış serum karboksitelopeptidaz
- Artmış idrar deoksipiridinolin
- Dual-enerji X-ray görüntülemelerde artmış kemik yoğunluğu
- Bilgisayarlı görüntülemelerde artmış kemik yoğunluğu

Proksimal femur, humerus, pelvis, vertebra, kosta, kafatası tutulabilir. MR yeni kemik formasyonunu ve periosteal kalınlaşmayı gösterebilir. Lumbar vertebra dual enerji X-ray absorpsiyometri ve BT'de artmış kemik oluşumu, kemik kalınlaşması ve artmış oranda süngerimsi kemik saptanır (425, 426). Osteolitik lezyonlar nadirdir ve miyeloid sarkomu yansıtabilir (427, 428). Periostit ortaya çıkarsa kemik ağrısına yol açabilir (429).

#### **2.4.4.3.6. Tromboz**

PV veya ET'ye kıyasla PMF'de arteriyel ve venöz tromboz riski daha düşüktür (430). Miyelofibrozu hastaların yaklaşık %10'unda hastalığın ilk dört yılında önemli bir trombotik olay gelişir. Trombotik olaylar açısından iki önemli risk faktörü yüksek lökosit sayısı ve yaştır (431). Trombosit sayısı trombozla ilişkili bulunmamıştır (431). 707 PMF tanılı olgudan oluşan büyük çok merkezli bir çalışmada gözlem süresince olguların %7.2'sinde veya her hasta yılı başına %1.8 oranında tromboz gelişmiştir. JAK2 mutasyonu, lökositoz ve yaşdan oluşan kombinasyon tromboz insidensini en çok arttıran faktörler arasındadır (432). Hipertansiyon, hiperkolesterolemi veya sigara gibi kardiyovasküler risk faktörleri tromboz gelişme riskini artırır. Multipl trombotik olay görülebilmekle beraber trombotik olaylar tanı sırasında veya tanıdan hemen önce ortaya çıkabilir. Budd-Chiari sendromu ve portal ven trombozunu içeren non-sirotik splanknik ven trombozu klonal miyeloproliferatif hastalıklarda görülebilir. Tromboz varlığında okült miyeloproliferatif hastalıktan şüphelenildiği zaman JAK2 mutasyonu analizi yanında kemik iliği analizi yapılmaktadır. İdiyopatik hepatik ven trombozu olan hastaların yüzde 35'inde ve idiyopatik portal ven trombozu olan hastaların yüzde 25'inde JAK2 mutasyonu pozitifdir (433). CALR gen mutasyon analizinin gelecekteki kullanımının, hepatik ven trombozlu olguların varlığında altta yatan gizli miyeloproliferatif hastalığı ortaya çıkarma oranını arttıracığı düşünülmektedir.

#### **2.4.5. Laboratuvar Bulguları**

##### **2.4.5.1. Kan Sayımı ve Morfoloji**

Tanı anında kan sayımı dağılımı oldukça geniş aralıktadır. En sık normokrom normositer anemi görülmekle beraber tüm hastalarda yoktur (219-221, 430-434, 436, 437). Olguların ortalama Hgb konsantrasyonu 9-12 g/dl'dir (aralık:4-20 g/dl) (219-227, 436, 437). Anizositoz ve poikilositoz değişmez bir bulgudur. Periferik yaymada her alanda gözyaşı hücreleri (dakriyosit) mevcuttur. Olguların çoğunda periferik yaymada çekirdekli eritrositler bulunmakla beraber tüm çekirdekli hücrelerin ortalama %2'sini oluşturur (aralık: %0-30). Retikülosit

yüzdesi genellikle hafifçe artmıştır. Azalmış kan Hgb konsantrasyonu büyümüş dalak varlığında eritrosit hacmine oranla plazma hacminin daha fazla ekspansiyon olmasından kaynaklanır. İnefektif eritropoez eritrosit kitlesinde bir azalmaya neden olabilir (434). Olguların çoğunda eritroid hipoplazi vardır (438, 439). Bazen hemoliz baskın olabilir ve polikromatofili ve çok yüksek retikülosit sayısı ortaya çıkar (435, 436). Coombs testi genellikle negatiftir ancak eritrositlere karşı otoantikolar gelişebilir ve immün ilişkili hemolize yol açabilir (391-393, 440). Hemoliz hastalığın nadir prezentasyon bulgusudur (393). Nadiren asit hemoliz testi ve sükröz testi pozitif olabilir (441). Edinilmiş Hgb H hastalığı, koincidental olarak PMF'deki lökosit ve trombositlerdeki tipik değişikliklerle beraber bulunabilir (442). Bunun sonucu olarak hemoliz, hipokrom mikrositer anemi, belirgin poikilositoz ve krezil mavi boyası ile boyanan Hgb H inklüzyonları meydana gelebilir. PMF ile ilişkili saf eritroid dizi aplazisi bildirilmiştir (437, 443). Lökosit sayısı genellikle orta derecede artış gösterir (219-227). Dört büyük çalışmada ortalama lökosit sayısı 10.000-14.000/mm<sup>3</sup> olarak saptanmıştır. Tanı anında olguların %20'sinde nötropeni vardır (219-227). Tanı anında bildirilen lökosit aralığı 400-237.000/mm<sup>3</sup>tür (219-226, 435, 436). Olguların çoğunda periferik yaymada az miktarda miyelosit ve promyelosit görülmekle beraber az oranda blastik hücreler (%0,5-2) görülebilir. Tanı anında periferik blastik hücreler %0-20 arasındadır. Prezentasyonda nadir olmakla beraber blast sayısı tanı anında en yüksek üst sınırdaki olan olgularda hızla AML'ye progresyon görülebilir. Hipersegmentasyon, hiposegmentasyon (edinsel Pelger-Huet anomalisi) ve nötrofillerin anormal granülasyonu olabilir (219-227). Nötrofil alkalen fosfataz skoru, %25 olguda yükselmekle beraber %25 olguda azalmıştır (446). Bazofil yüzdesi hafifçe artmıştır (436). Hasta serilerinde tanı anında ortalama trombosit sayısı 175.000-580.000/mm<sup>3</sup> olmakla beraber bireysel trombosit sayısı 15.000-3.215.000/mm<sup>3</sup> arasında seyretmektedir (219-227, 435, 436). Olguların yaklaşık %40'ında trombosit sayısı normal sınırların üzerindedir (436). Olguların yaklaşık üçte birinde özellikle masif splenomegalisi olanlarda hafif ve orta dereceli trombositopeni ortaya çıkar. Periferik yaymada görülen dev trombositler ve anormal trombosit granülasyonu hastalığın karakteristik özellikleridir. Olguların yaklaşık %10'unda masif splenomegalinin sekestrasyonu ile beraber tüm hücre dizilerini etkileyen hematopoezin ciddi bozukluğundan kaynaklı pansitopeni gerçekleşir. Pansitopeni genellikle yoğun kemik iliği fibrozisi ile ilişkilidir. Hastaların kanında artmış konsantrasyonda multipotansiyel, granülositik, monositik, eritroid ve megakaryositik progenitör hücreler bulunmaktadır (445-450). Kandaki hematopoetik progenitör hücrelerin sıklığı kemik iliğinde retiküler fibrillerin yoğunluğu ile koreledir (450). Megakaryositler ayrıca sistemik venöz kanda bulunmaktadır (451). PMF'de kanda CD34(+) hücre artışı oldukça karakteristiktir ve bu hücrelerin konsantrasyonu tanı

açısından yol göstericidir. CD34(+) hücre sayımı hastalığın yayılımı ve progresyonu ile korele bulunmuştur. PMF tanılı olguların kanında endotelial progenitör hücreler (CD34(+) CD133(+)) ve VEGF reseptör 2-pozitif hücreler) normale göre önemli ölçüde artmıştır (265). CD3(+) CD4(+) CD8(+) T hücre sayımının azalmasından kaynaklı hafif lenfopeni ortaya çıkar (452).

#### **2.4.5.2. Kan Hücrelerinin Fonksiyonel Anormallikleri**

Bazı olguların nötrofillerinde bozulmuş fagositoz, oksijen tüketimi, hidrojen peroksit üretimi, azalmış miyeloperoksidaz ve azalmış glutatyon redüktaz aktivitesi görülür (453, 454). CD34(+) hücrelerin, IL-5 kontrolünün regülasyon kusurundan kaynaklı olduğu düşünülen in vitro NK hücrelerine farklılaşması bozulmuştur (455). Kanama zamanı trombosit sayısı ile orantısız olarak uzayabilir (456, 457). Trombosit anormallikleri arasında epinefrine cevap olarak agregasyonda bozulma, dens granülün adenosin difosfat içeriğinde azalma, trombosit lipoksijenaz yolağında aktivasyonda azalma bulunmaktadır (458, 459). Trombosit fonksiyon anormallikleri ile tromboz ve kanama arasında korelasyon zayıftır (459, 460). Lupus antikoagülanı nadiren pozitif olabilir.

#### **2.4.5.3. Kemik İliği Değerlendirilmesi**

##### **2.4.5.3.1. Morfoloji**

Fibrotik fazda, fibrozisten kaynaklı olarak kemik iliği aspirasyonu sıklıkla başarısız olmaktadır (219-227, 271, 272). Kemik iliği biyopsisi genellikle hücrelidir ve granülositik ve megakaryositik hiperplazi gösterir (219-224, 445, 446). Eritroid seri hücreleri azalmış, normal ya da artmış olabilir. Gümüş boyama ile kemik iliğinde genellikle artmış retiküler lifler görülmekle beraber olguların yaklaşık yarısında retiküler liflerde aşırı bir artış olduğu görülmektedir (446). Kemik iliği biyopsi materyalinde Hematoksilen-Eozin boyası ile hafif fibrozis görülebilmemesine rağmen nadiren aşırı fibrozis ortaya çıkar. Yoğun fibrotik kemik iliğinde hücrelilik belirgin olarak azalmasına rağmen megakaryositler genellikle belirgindir (447). Kemik iliğinde dev megakaryositler, mikromegakaryositler, anormal nükleer lobülasyon ve megakaryosit çekirdekleri vardır (219-227, 461). Megakaryositler ve trombositlerin yüzeyindeki TPO reseptörleri azalmıştır (267). Granülositlerin çekirdeğinde hiperlobülasyon, hipolobülasyon, edinsel Pelger Huet anomalisi, nükleer blebler ve nükleositoplazmik asenkroni görülür (462). Ayrıca sıklıkla blast ve CD34(+) hücrelerden oluşan kümeler gözlenir. Kemik iliğinde dilate sinüzoidler sıktır. Kemik iliğinde intrasinüzoidal, immatür hematopoetik hücreler ve megakaryositler vardır (269). Kemik iliğini taşıyan kemiklere kan akışının artması ve dilate



sinüzoidal sistemin sonucu olarak olguların yaklaşık %70'inde mikrodamar yoğunluğu artar (462, 463). Kemik iliği biyopsisinde osteoskleroz görülür (420, 422, 423). 'Bauermeister' skalası kullanılarak fibrozis derece '0-4' ve Avrupa derecelendirme skalasına göre '0-3' olarak derecelendirilir (464, 465). Prefibrotik evrede kemik iliğinde genellikle fibrozis yoktur veya hafiftir. Kemik iliği hücreliliği artmıştır ve sıklıkla geç nötrofil prekürsörlerinde (miyelosit, metamiyelosit ve çomak) artış görülür. Miyeloblastlar ve CD34(+) hücrelerde anlamlı bir artış görülmez. Eritropoez hafifce azalabilir. Bu fazın en önemli özelliği artmış ve anormal megakaryopoezdir. Megakaryosit kümeleri görülür. Megakaryositler büyük olmakla beraber küçük megakaryositlerle birarada bulunabilir. Nükleuslar genellikle balon gibi şişmiştir ve kenarları taraklıdır. Megakaryosit çekirdekleri bulunur. Kemik iliğinde megakaryosit belirteci olan C61 ile megakaryositler boyanır.

#### **2.4.5.3.2. Sitogenetik Bulgular**

Hematopoetik hücrelerdeki kromozom anormallikleri tanı anında olguların %40'ında görülür (472-477). En sık bulgular arasında parsiyel trizomi 1q, kromozom 13'ün uzun kolunun bir segmentindeki intertisyel delesyon, del(13)(q12-22), del 20q ve trizomi 8'dir (468-470, 473, 474). Kromozom 5, 6, 7, 9, 13, 20 veya 21'deki anormallikler artan sıklıkta bulunmaktadır (474). 5q- anomalisi PMF'de diğer MPN'ye göre daha sık görülür. Olguların yaklaşık %3'ünde birkaç translokasyon, delesyon veya inversiyonlardan kaynaklı kromozom 12 anormallikleri görülür (458). Del(13) ve der(6) t(1;6)(q21-23;p21.3) PMF ile ilişkili olmasına rağmen bu hastalığa özgü değildir (476). Monozomi veya trizominin sonucu olan anöploidi siktir. Parsiyel delesyon ve translokasyon şeklinde belirti veren psödodiploidi ortaya çıkabilir. Tipik PMF tanılı olgularda kemik iliğinde Ph kromozomu çok nadir görülür (477). Olguların yaklaşık %15'inde üç veya daha fazla anormallikle karakterize kompleks karyotip, +9, -7/7q-, 5/5q-, i(17q), inv(3), 12p- veya 11q23'ü içeren kötü karyotip anormallikleri ortaya çıkar (478). Kötü karyotip anormalliği iyi karyotip anormalliğine göre akut lösemiye transformasyon riskinde 6 kat artışa neden olur (470). Yoğun kemik iliği fibrozisi nedeni ile kemik iliği aspirasyonunda yaşanan teknik sorunu kompanse etmek için sık etkilenen anormallikleri içeren FISH analizi periferik kanda yapılmaktadır.

#### **2.4.5.3.3. Magnetik Rezonans Görüntüleme**

Kemik iliği fibrozis, T1 ağırlıklı görüntülemelerde normalde kemik iliğinde yağ hücrelerinden kaynaklanan hiperintensiteyi değiştirir. Kemik iliğinde hücrelilik ve fibrozis ilerledikçe, T1 ve T2 ağırlıklı görüntülemelerde hipointensite gelişir. MR, PMF ile sekonder

miyelofibrozu birbirinden ayıramaz (421, 479, 480). Klinik ayırım, fizik muayene, kan ve kemik iliği incelemeleri ve JAK2, CALR veya MPL mutasyonlarından yararlanılarak yapılır. Yamalı veya diffüz osteoskleroz sıktır ve vertebranın üst ve alt kenarındaki belirgin radyodansiteden dolayı 'sandviç vertebra' olarak isimlendirilir. MR, distal femur, proksimal tibia ve ayak bileğindeki nadir periosteal reaksiyonu tanımlamaktadır. Sodyum floridle yapılan PET incelemesi PMF'in osteosklerozu için spesifik olabilir (481).

#### **2.4.5.4. Plazma ve İdrarda Biyokimyasal Değişiklikler**

Serum ürik asit, LDH, bilirubin, ALP ve HDL düzeyleri sıklıkla artış gösterir (219-227). Serum total kolesterol düzeyi genellikle azalmakla beraber negatif prognostik faktördür (482-484). Albümin düzeyi sıklıkla azalmıştır (485). Hipokalsemi ya da hiperkalsemi görülebilir (486, 487). TPO ve IL-6'nın plazma seviyesinde artış görülmesine rağmen trombosit sayısı veya megakaryosit kitlesi ile korelasyon göstermez (488, 489). Yüksek TPO düzeyi, kemik iliğinde hematopoetik ve stromal hücrenin üretimindeki artışla izah edilemez (490). Serum çözünür IL-2 reseptörleri ve serum VEGF düzeyi artmıştır (491, 492). Üriner kalmodulin atılımı normalin yaklaşık üç katıdır (494).

#### **2.4.6. Tanı**

Splenomegali ve anemi, lökositoz ve/veya trombositoz varlığında PMF'den şüphelenilmelidir. 2016 yılında PMF tanı kriterleri revize edilmiştir (Tablo XIV, XV) (3). Prefibrotik PMF, trombositoz, sınırda anemi, hafif splenomegali varlığı ve lökoeritroblastozisin yokluğu nedeni ile yanlışlıkla ET tanısı alabilmektedir. Prefibrotik/erken evre PMF'in prognostik önemi nedeni ile ET'den ayırımının önemli olduğu vurgulanmıştır (313, 494, 495). En önemli ayırım megakaryositlerdeki değişikliklerdir. Prefibrotik PMF'de megakaryositlerdeki değişiklikler arasında pleomorfizm, büyük, hiperkromatik nukleusa bağlı nukleus/sitoplazma oranında artış, nukleer lobülasyonda bozulma ve maturasyon duraklaması vardır (3). ET'de ise hiperlobüle çekirdek içeren artmış sayıda büyük ve matür megakaryositler vardır (3). 2016 DSÖ kriterlerinde prefibrotik PMF ve aşikar PMF tanı kriterleri ayrı olarak bildirilmiştir. Prefibrotik/erken evre PMF tanılı olgularda grade 1'den fazla retikülin fibrozis görülmemektedir (Tablo XIV) (3). Prefibrotik PMF'in akut lösemiye progresyon ve genel prognoz üzerine etkisi vardır (314). 2016 revize edilmiş 'DSÖ' sınıflamasında aşikar PMF için tanımlanan majör kriterlerden biri: 'kemik iliği biyopsisinde megakaryositik proliferasyon ve atipinin varlığı, buna grade 2 veya 3 retikülin ve/veya kollagen fibrozisin eşlik etmesidir' (Tablo XV) (3). PMF, kemik iliği fibrozisine neden olan enfeksiyon, otoimmün hastalık veya diğer

kronik inflamatuvar hastalıklar, saçlı hücreli lösemi ve diğer lenfoid neoplaziler, metastatik malignite veya toksik (kronik) miyelopatilerden ayırt edilmelidir.

PMF'den sorumlu ilk mutasyon bilinmemektedir. Olguların yaklaşık %50'sinde JAK2 mutasyonu, %35'inde CALR mutasyonu veya %4'ünde MPL gen mutasyonları bulunmaktadır. Diğer mutasyonlar arasında ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/IDH2, SRSF2, SF3B1 mutasyonları vardır (3). PMF'de klonal miyeloproliferasyon yanında kemik iliğinde stromal değişiklikler ve anormal sitokin ekspresyonu ile karakterize sekonder inflamatuvar bir durum vardır. PMF'de proinflamatuvar sitokinlerin plazmadaki seviyesi artar. Bunların patogenetik olarak hastalık ilişkili konstitüsyonel semptomlar ve kaşeksi ile ilişkili olabileceğine ve ayrıca tüm yaşam süresi (OS) ve lösemi ilişkisiz sağkalımda (LFS) kısalma ile ilişkili olabileceğine inanılmaktadır.

PMF'de tanı, fizik muayene, periferik kan bulguları, kemik iliği morfolojisi, sitogenetik inceleme, moleküler belirteçler ve diğer hastalıkların dışlanması dayalı olarak konulmaktadır (Tablo XV) (3). Aşık PMF'in periferik kan yaymasında tipik olarak lökoeritroblastozis ve 'tear drop' şeklinde eritrositlerin eşlik ettiği anizopoikilositoz görülür. Hastalık prefibrotik evre (erken evre) veya daha sık olarak fibrotik evrede tanı alır. PMF'li olguların yaklaşık %25'i retikülin lif artışı olmadan veya az retikülin lif artışı ile birlikte granülositik ve megakaryositik proliferasyon ile karakterizedir (prefibrotik PMF). Tanı için kemik iliği materyali dikkatli incelenmelidir. Tanı yoğun kümelenmiş hipolobüle ve hiperkromatik nükleusu içeren morfolojik olarak atipik megakaryositlerin varlığı ile konur.

**Tablo XIV. DSÖ 2016 Prefibrotik/erken evre PMF tanı kriterleri**

<p><b>Majör kriterler</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kemik iliği biyopsisinde megakaryositik proliferasyon ve atipinin varlığı, grade 1'den fazla retikülin fibrozis olmadan kemik iliğinde yaşa göre artmış hücresellik, granülosit proliferasyon ve sıklıkla azalmış eritropoez varlığı</li> <li>2. DSÖ kriterlerine göre ET, PV, BCR-ABL1(+) KML, MDS veya başka bir myeloid neoplazinin dışlanması</li> <li>3. JAK2, CALR veya MPL mutasyonlarının varlığı veya bu mutasyonların yokluğunda diğer klonal belirteçlerin** gösterilmesi veya reaktif kemik iliği fibrozunun*** dışlanması</li> </ol> <p><b>Minör kriterler</b></p> <p>İki ardışık değerlendirmede aşağıdakilerden en az birinin varlığı:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Komorbid bir hastalığa bağlı olmayan anemi</li> <li>2- Lökositoz &gt;11000/mm<sup>3</sup></li> <li>3- Palpabl splenomegali</li> <li>4- LDH düzeyinde artma</li> </ol>
<p><b>Tanı:</b> Tanı konması için üç majör kriterle beraber en az bir minör kriter gereklidir</p> <p>** Üç majör klonal mutasyon yokluğunda, klonaliteyi ispatlamak için en sık eşlik eden diğer mutasyonlar (örn. ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/IDH2, SRSF2, SF3B1) taranmalıdır</p> <p>*** Enfeksiyon, otoimmün hastalık veya diğer kronik inflamatuvar hastalıklar, saçlı hücreli lösemi ve diğer lenfoid neoplaziler, metastatik malignite veya toksik (kronik) miyelopatilere sekonder minör (grade 1) retikülin fibrozisi</p>

**Tablo XV. DSÖ 2016 Aşık PMF sınıflandırma kriterleri**

<p><b>Majör kriterler</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Kemik iliği biyopsisinde megakaryositik proliferasyon ve atipinin varlığı, buna grade 2 veya 3 retikülin ve/veya kollagen fibrozisin eşlik etmesi</li> <li>2- DSÖ kriterlerine göre ET, PV, BCR-ABL1(+) KML, MDS veya başka bir myeloid neoplazinin dışlanması</li> <li>3- JAK2, CALR veya MPL mutasyonlarının varlığı veya bu mutasyonların yokluğunda diğer klonal belirteçlerin** gösterilmesi veya reaktif kemik iliği fibrozunun*** dışlanması</li> </ol> <p><b>Minör kriterler</b></p> <p>İki ardışık değerlendirmede aşağıdakilerden en az birinin varlığı:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Komorbid bir hastalığa bağlı olmayan anemi</li> <li>2- Lökositoz &gt;11000/mm<sup>3</sup></li> <li>3- Palpabl splenomegali</li> <li>4- LDH düzeyinde artma</li> <li>5- Lökoeitroblastozis</li> </ol>
<p><b>Tanı:</b> Tanı konması için üç majör kriterle beraber en az bir minör kriter gereklidir</p> <p>** Üç majör klonal mutasyon yokluğunda, klonaliteyi ispatlamak için en sık eşlik eden diğer mutasyonlar (örn. ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/IDH2, SRSF2, SF3B1) taranmalıdır</p> <p>*** Enfeksiyon, otoimmün hastalık veya diğer kronik inflamatuvar hastalıklar, saçlı hücreli lösemi ve diğer lenfoid neoplaziler, metastatik malignite veya toksik (kronik) miyelopatlilere sekonder kemik iliği fibrozisi</p>

#### 2.4.7. Tedavi

Asemptomatik olguların bir kısmı yıllarca stabil kalabilir ve onlarda spesifik bir tedavi gerekmemektedir. Konstitüsyonel semptomlar, anemi, trombositopeni ve splenomegali tedavi başlanması için başlıca nedenlerdir. Hgb düzeyinin 10 g/dl'nin altında, lökosit sayısının 4.000/mm<sup>3</sup> altı veya 30.000/mm<sup>3</sup> üzerinde olması, trombosit sayısı 100.000/mm<sup>3</sup> altında olması ve periferik kandaki blastların total lökositin yüzde birinden daha fazla olması hastalığın hızlı progrese olacağını düşündürmektedir (222-224, 228, 496). Buna ek olarak hastalarda inflamatuvar sitokinlerin artışının bir sonucu olarak iyilik halinde azalma, yorgunluk, gece terlemesi, düşük dereceli ateş ve fonksiyon kaybı meydana gelebilir.

#### **2.4.7.1.Eritrosit Transfüzyonu**

Şiddetli anemisi veya orta derecede semptomatik anemisi olanlarda aralıklı eritrosit transfüzyonu gerekmektedir. Kanda Hgb düzeyini arttırmak için ek olarak rekombinant EPO ve androjen tedavisi kullanılır.

#### **2.4.7.2.Anemi İçin Rekombinant İnsan Eritropoietini**

Serum EPO düzeyi düşük olan (<125 U/L) hastalarda EPO tedavisinin faydalı olabileceği gösterilmiştir (497, 498).

#### **2.4.7.3.Anemide Glikokortikoid ve Androjenlerin Kullanımı**

Bazı olgularda androjen tedavisi şiddetli anemi tedavisinde kullanılır (499). Testosteron, oksimetolon ve fluksimesteron anemi tedavisinde kullanılabilmeyle beraber virilizan yan etkileri vardır. Buna ek olarak hepatik hasara neden olabilir. Danazol 600-800 mg/gün 6 aya kadar kullanılabilir. Bu ilaç minimum etkin doza azaltılmalı veya yanıt alınmadığı durumda kesilmelidir. Bu tedavi ile eritrosit transfüzyon sıklığı azalabilir. Androjenler, sıklıkla splenektomi sonrası aneminin yeniden geliştiği ve transfüzyon gerektirdiği durumlarda kullanılır. Androjenler, splenektomize hastalarda veya dalak büyümesi az olan hastalarda daha etkindir. Androjen tedavisi altındaki hastalarda fizik muayenede karaciğer muayenesi yapılmalı, karaciğer fonksiyon testleri ölçülmeli ve USG ile karaciğer hasarı (örn. peliozis) veya tümör varlığı araştırılmalıdır (500). Androjen tedavisi başlamadan önce erkek olgular prostat büyümesi veya kanser açısından değerlendirilmelidir. Klinik olarak anlamlı hemolitik anemisi olan hastalarda glikokortikoid tedavisi faydalıdır. Günlük oral 25 mg/m<sup>2</sup> prednizon denenebilir. Eğer tolere edilebilirse bu doza 1-2 ay devam edilebilir ve sonrasında kademeli olarak azaltılmalıdır. Çocuklarda yüksek doz glikokortikoid tedavisi, kemik iliği fibrozunu iyileştirip hematopoezi düzeltebilir (501, 502).

#### **2.4.7.4.Miyeloproliferasyon, Splenomegali ve Sitopeni Tedavisi**

Masif splenomegali, trombositoz veya konstitüsyonel semptomların tedavisi için kullanılan ilaçlar çok çeşitlidir.

##### **2.4.7.4.1. JAK2V617F Kinaz İnhibitörleri**

JAK2 mutasyonu ve JAK-STAT sinyali üzerindeki etkisinin PMF tanılı olguların en az %50'sinde klonal ekspansiyonda anahtar rol oynadığı düşünülür. Bundan yola çıkarak mutant JAK2 protein ürünü için inhibitörler sentez edilmeye başlamıştır (503). JAK2 kinaz

inhibitörünün erken çalışmaları, oral ilacın küçük bir molekül olduğunu ve JAK2 kinazın potent inhibitörü olduğunu göstermiştir. JAK2 kinaz inhibitörleri, STAT3 ve STAT5'in JAK2V617F bağımlı fosforilasyonunu ve JAK2 ve MPL mutasyonlarını taşıyan hücrelerin koloni büyüklüğünü inhibe eder (504). Bir fare modelinde JAK2V617F indükleyen miyeloproliferatif hastalığa karşı terapötik etkinlik göstermiştir (504). JAK2 inhibitörlerinin etki mekanizmaları farklı olsa da her biri dalak boyutunu azaltır ve konstitüsyonel semptomların iyileşmesini sağlar (505-507). Bu ilaçlar sıklıkla kan sayımını baskılamakla beraber trombositopeni doz kısıtlayan yan etkidir. JAK2 inhibitörleri ile tedavinin en azından başlangıç döneminde anemide geçici bir derinleşme olmaktadır. Bu yan etki birkaç ay sürebilir. Tipik olarak aneminin progresyonuna rağmen çoğunlukla halsizlikte azalma gözlenir. JAK2 mutasyonundan bağımsız olarak bu inhibitörler, dalak boyutunda azalma ve hayat kalitesinde dramatik toparlanmaya neden olur. Bu etkiler, ilaçların JAK1 ve JAK2 izoformlarını inhibe etme ve JAK1 izoformunun inhibisyonu sonucunda sitokin salınımında azalma ile ilişkilidir. Bu ajanlar mortalite ve morbiditeyi azaltarak yaşam süresini uzatırlar (508-512). 2011 yılında oral JAK2 inhibitörü olan ruxolitinib, orta ya da yüksek riskli miyelofibroзда FDA tarafından onaylanmıştır. Dalak büyümesi, halsizlik, gece terlemesi, kaşıntı ve eritrosit transfüzyon ihtiyacını azaltır ve hastaların büyük bir kısmında kilo artışını sağlar. Doz kısıtlayan yan etkisi trombosit sayısını azaltmasıdır. Bazı hastalarda anemi ve nötropeniye derinleştirmesine rağmen halsizlik ve diğer semptomlarda azalma sağlayarak faydalı olduğu gösterilmiştir. Baş ağrısı, baş dönmesi ve ishal gelişebilmesine rağmen bu yan etkiler ilacın kesilmesi ile genellikle ortadan kaldırılır. Tedaviden 6 ay sonra hastaların %40'ında dalak boyutunda ve konstitüsyonel semptomlarda önemli ölçüde azalma gözlenmiştir. Ruxolitinib tedavisi ile ilgili yapılan ilk çalışmalar trombosit sayısı  $>100.000/\text{mm}^3$  olan hastalara sınırlı iken sonraki çalışmalar trombosit sayısı  $50.000-100.000/\text{mm}^3$  olan hastalarda daha düşük dozlarda başlanıp ilacın kademeli olarak dozunun artırılması ile de benzer etkilerin elde edilebildiği gösterilmiştir. PMF'de oral ruxolitinib dozu ile ilgili önerilen yaklaşım Tablo XVI'da gösterilmiştir. PMF'de klinik denemelerde plaseboya göre etkinliği gösterilmiş tek ilaç ruxolitinib tedavisidir.

**Tablo XVI. Primer Myelofibrozis'te Başlangıç Oral Ruxolitinib Dozları ile ilgili Öneriler**

<b>Trombosit Sayısı</b>	<b>Doz</b>
>200.000/mm <sup>3</sup>	20 mg günde 2 kez
100.000-200.000/mm <sup>3</sup>	15 mg günde 2 kez
50.000-100.000/mm <sup>3</sup>	5 mg günde 2 kez olarak başlanıp trombosit sayısı 40.000/mm <sup>3</sup> üzerinde ise maksimum dalak boyutunda azalma elde edilene kadar her ay günlük doz 5 mg kadar arttırılabilir*
* Trombosit sayısı başlangıçta 50.000-100.000/mm <sup>3</sup> olan hastalarda bu ilacın FDA onayı yoktur. Ruxolitinib tedavisi sırasında trombosit sayısı düştüğü zaman trombosit sayısına göre doz azaltılması yapılmalıdır Trombosit sayısı 50.000/mm <sup>3</sup> altına düşerse ilaç uygulanmamalıdır	

#### 2.4.7.4.2. Hidroksiüre

Hidroksiüre, trombosit sayısının aşırı arttığı durumlarda, nadiren ortaya çıkan çok yüksek lökosit sayısında, sorunlu bölgelerdeki ekstramedüller hematopoez ve semptomatik splenomegali varlığında sıklıkla kullanılan ajandır (513-515). Hidroksiüre, tutarsız bir şekilde dalak ve karaciğer boyutunu azaltır, gece terlemesi ve kilo kaybı gibi konstitüsyonel semptomları azaltır, nadiren Hgb konsantrasyonunu arttırır ve trombosit sayısı ve kemik iliği fibrozisini azaltır. Diğer kronik MPN tanılı olgularla karşılaştırıldığında PMF'de sıklıkla kemoterapiye kemik iliği toleransı yoktur. Başlangıçtaki kan sayımına dayalı olarak hidroksiüre, 0.5-1 gram/gün veya 1-2 gram haftada 2-3 kez dozunda kullanılmalıdır. Hastalar doz ayarlaması açısından 1 ay boyunca en azından haftada bir değerlendirilmeli ve uygun olduğunda değerlendirme 3 ayda bir olarak azaltılmalıdır. Busulfan ve diğer sitotoksik ajanları içeren alkilleyici ajanlar başarılı bir şekilde kullanılmasına rağmen hidroksiüre büyük oranda bu ilaçların yerini almıştır (516, 517).

#### 2.4.7.4.3. Talidomid ve Lenalidomid

Thalidomid optimal dozunda kullanıldığı zaman (yaklaşık 800 mg/gün) genellikle tolere edilemez. Birçok hasta bu dozun yarısını almakla beraber en düşük etkin doza kademeli olarak azaltılır. 14 hastalık bir çalışmada ilacın faydalı olmadığı ve yüksek toksisite oranlarına sahip



olduğu bulunmuştur (518). Bazı çalışmalar, 600 mg/gün dozunda hidroksiürenin hastaların az bir kısmında dalak boyutunda bir miktar azalmaya ve kan Hgb ve trombosit sayısında bazı iyileşmelere neden olduğunu göstermiştir (519, 520). Daha sonraki çalışmalarda prednizon ile birlikte düşük doz talidomidin (50 mg/gün) birlikte kullanımının daha iyi tolere edildiği ve hastaların yarısında anemi ve trombositopenide düzelme olduğu ve tedavi sonlandırıldıktan sonrasında da bazı hastalarda istikrarlı yanıtın devam ettiği gösterilmiştir (521). Lenalidomid, talidomidin yerini almıştır. Lenalidomid ile hastaların az bir kısmında ciddi yanıt elde edilmiştir (522-525). Bu ilaç, Hgb düzeyinde belirgin düzelme, %22 olguda transfüzyon gereksiniminde azalma, %50 olguda trombosit sayısında iyileşme ve %33 olguda dalak boyutunda azalmaya neden olur. Nötropeni ve trombositopeni en ciddi yan etkileridir (522). Bu ilaç ayrıca 5q-sitogenetik anormalliği olan PMF tanılı olguların tedavisinde etkilidir (524, 525). Pomalidomid tedavisinin Faz III denemesi tamamlanmasına rağmen transfüzyon ihtiyacında azalma gösterilmemiştir (526).

#### **2.4.7.4.4. Siklosporin, Etanercept, Imatinib Mesilat ve Tipifarnib**

İmmün anormalliklerle birlikte olan (pozitif Coombs testi, ANA pozitifliği) ağır aneminin tedavisinde siklosporin tedavisi ile serum seviyesi 100-200 ng/ml arasında tutulmalıdır (527). Yapılan bir çalışmada altı hastanın üçünde Hgb düzeyi artmıştır. Siklosporinin PMF ile birlikte saf eritroid dizi aplazisi olan tek bir hastadaki başarısı bildirilmiştir (528). TNF-alfa, PMF'in patogenezinde rol oynar bildirilmiştir (529). Yapılan bir çalışmada, çözünür TNF- $\alpha$  reseptörü (etanercept) ile tedavi edilen 20 olgunun 12'sinde konstitüsyonel semptomlarda (ateş, gece terlemesi, halsizlik, kilo kaybı) düzelme ve 4'ünde kan sayımında düzelme ve dalak boyutunda azalma sağlanmıştır (530, 531). İmatinib mesilat ile ilgili çalışmalar, bu ilacın PMF tedavisinde etkili olmadığını göstermiştir (531, 532). Orta dozlar iyi tolere edilmemekle beraber kalıcı bir yanıt sağlamamıştır. Farnesyl transferaz inhibitörü olan tipifarnib iyi bir şekilde tolere edilememiştir. Bu ilaç dalak boyutunu azaltmasına rağmen hidroksiüreye üstünlüğü gösterilememiştir.

#### **2.4.7.4.5. İnterferon**

INF- $\alpha$  ve INF- $\gamma$ , miyeloproliferasyonun azaltılmasında sinerjistik bir etki sağlar (533). INF- $\alpha$ , tirozin kinaz (BCR-ABL) inhibitörlerinden önce KML tedavisinde çok yaygın bir şekilde kullanılmaktaydı. INF- $\alpha$ , PMF tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmamasına rağmen seçici olgularda dalak büyümesi, kemik ağrısı ve trombositozda etkili bulunmuştur (534). INF tedavisini hidroksiüre veya diğer ajanlarla doğrudan karşılaştıran çalışmalar yayınlanmamıştır

(535). Hidroksiüre özellikle yaşlılarda INF- $\alpha$  ile karşılaştırıldığında kullanımı daha kolay bulunmuştur ve daha az sıklıkta daha az ciddi yan etki görülmüştür. Polietilen glikolle konjuge INF- $\alpha$ 'nın PMF'de kullanımının daha pratik olduğu ve daha iyi tolere edildiği görülmüştür. PMF geç evresinde büyük oranda yanıtızsız olmasına rağmen hafif veya orta kemik iliği fibrozisi olan PMF tanılı olguların erken evresinde etkinliği gösterilmiştir (536-538).

#### **2.4.7.4.6. Serozal İmplantlar**

Peritoneal hematopoetik implantlardan kaynaklanan asit tedavisinde intraperitoneal sitarabin kullanılmıştır (409). Splenik arter kateteri kullanılarak intrasplenik sitarabin uygulanması sonucunda bir hastada önemli bir düzelme bildirilmiştir (410).

#### **2.4.7.5. İmmün İlişkili Fibrozis**

##### **2.4.7.5.1. İntravenöz İmmünoglobulin**

Otoimmün veya SLE ile ilişkili miyelofibroza glikokortikoid veya intravenöz immünglobuline yanıt alınmasına rağmen diğer fibrotik bozukluklarda bu tedavilere yanıt nadirdir (408, 411, 540). PMF'de bu tedaviye yanıt süregelen bir yanıt değildir. PMF hematopoetik multipotent kök hücre neoplazisi olması yanında neoplastik megakaryositozis, şiddetli megakaryositik dismorfizm ve sitokin salınımı, fibrogenesis ve osteogenesis ile ilişkili olduğu için bu tedavilere yanıt alınmaz.

#### **2.4.7.6. Kemik Hastalıklarında Bifosfonatlar**

Osteoskleroza ve periostiti olan olgularda ciddi kemik ağrısı ortaya çıkabilir. Alterne aylarda 6 mg/kg/gün etidronat kullanımı veya birkaç ay boyunca 30 mg/kg/gün klodrat kullanımı sonucunda kemik ağrısı ve hematopoezde dramatik iyileşme olmakla beraber kullanımından 33 ay sonrasında da halen belirgin iyileşmenin olduğu görülmüştür (541). Bundan yola çıkarak bu ilaçların, kemik semptomlarının düzeltilmesinde potansiyel etkisi olabileceği söylenebilir (542).

#### **2.4.7.7. Radyoterapi**

Radyoterapi, PMF tanılı olgularda birkaç durumda etkilidir. Örneğin, ciddi dalak ağrısının olduğu (splenik enfarkt) veya dalak büyümesinin masif olduğu ve splenektominin kontrendike olduğu (örn. trombositoz) olgularda, dalağa tekrarlanan dozlarda 0.5-2.0 Gy radyoterapi ağrıyı düzeltebilir (543). Splenik radyasyon, özellikle trombositopeni olmak üzere sitopenilere yol açabilir veya mevcut sitopeniyi ağırlaştırabilir. Radyasyonun etkili olduğu

diğer endikasyonlar arasında peritonun miyeloid metaplazisinden kaynaklı asit varlığı, ciddi kemik ağrısı ile beraber olan fokal alanlar (periostitis veya miyeloid sarkomun osteolizi), özellikle epidural boşluğu etkileyen ekstramedüller fibrohematopoetik tümörler vardır (319, 353, 429, 543-545). Semptomatik hepatomegali ve asitin tedavisinde karaciğere uygulanan düşük doz radyasyon, sadece kısa süreli rahatlama sağlar (543, 546). Akciğere uygulanan düşük doz radyoterapi, yaygın ekstramedüller hematopoezden kaynaklanan pulmoner hipertansiyonun palyatif tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Düşük doz radyoterapi özellikle hipoksemi olmak üzere solunum yetersizliği bulgularını düzeltebilmesine rağmen bazı çalışmalarda pulmoner fonksiyonları kötüleştirebileceği bilinmektedir (385).

#### **2.4.7.8.Splenektomi**

PMF tedavisinde splenektomi önemlidir (547). Splenektominin majör endikasyonları arasında olguların %50'sinde görülen ağrılı dalak büyümesi, %25'inde görülen artmış transfüzyon gereksinimi veya refrakter hemolitik anemi, %15'inde görülen portal hipertansiyon ve %10'unda görülen ağır trombositopeni vardır. Kanama zamanı uzun olan ve koagülasyon bozukluğu olan hastalarda cerrahi, yüksek kanama riski ile ilişkili olduğu için trombosit transfüzyonu ve faktör replasman tedavisi ile anormallikler düzeltilmedikçe hastalar işleme alınmamalıdır. Düşük dereceli intravasküler koagülasyon kanıtı olan durumlarda (yükselmiş D-dimer seviyesi gibi) profilaktik heparin tedavisi ve aşırı kanama varlığında trombosit transfüzyonu gerekebilir. PMF tanılı olgularda dalağın çıkarılması zor olabilir. Bunun nedeni dalağın komşu serozal yüzeylere ve yapılara (örn.sol hemidiafragmanın inferior yüzeyi) yapışık olması, çok sayıda kollateral damarının ve dilate splenoportal arter ve veninin olmasıdır. Perioperatif mortalite yaklaşık yüzde 10'dur. Olguların %30'unda kanama, subfrenik hematoma, subfrenik abse, pankreatik kuyruk yaralanması, pankreatik fistül, portal ven yaralanması veya mezenterik damar trombüsü gibi postoperatif morbiditeler ortaya çıkar. Olguların %10'unda özellikle pnömoni olmak üzere enfeksiyonlar görülür. Geç dönemdeki postoperatif değişiklikler arasında karaciğer büyümesi (bazen masif), ekstramedüller hematopoetik tümörler, trombositoz ve göz yaşı hücrelerinde azalma vardır. Splenektomi sonrası olguların %15'inde lösemik transformasyon ortaya çıkar. Hidroksiüre, aspirin ve anagrelid şiddetli trombositozda faydalı olabilir. Splenektomi sonrası morbidite ve mortalite nedeni ile bu tedavi yöntemine karşı tutucu davranılmaktadır. Fakat splenektominin olguların yaklaşık %50'sinde semptomlarda iyileşmeye neden olduğu bilinmektedir. Splenektomi sonrası ortalama yaşam süresi yaklaşık 18 aydır.

#### 2.4.7.9. Portal Sistemik Vasküler Şant Cerrahisi

Portal hipertansiyon, varis kanaması veya refrakter asit için operasyona giden olgularda cerrahi sırasında dinamik çalışmalar uygulanmaktadır. Dalaktan karaciğere doğru artmış kan akımından kaynaklı hepatik basınç artışı olan hastalarda portal hipertansiyon için uygun tedavi splenektomidir. İntrahepatik blok veya hepatik ven trombozundan kaynaklanan portal hipertansiyonu olan hastalarda hepatik venöz basınç gradienti normalin üzerindedir. Bu hastalara splenorenal şant yanında abdominal cerrahiden kaçınmak için transjuguler intrahepatik portosistemik şant da uygulanabilir (548-550). Portal hipertansiyondan kaynaklanan varis kanamasının tedavisinde varis skleroterapisi veya varis ligasyonu kullanılabilir.

#### 2.4.7.10. Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu

PMF'in tek küratif tedavisi kök hücre naklidir. Kök hücre nakli, HLA tam uyumlu kardeşi olan kötü prognozlu (örn. ağır anemi, lökopeni veya aşırı lökositoz) genç hastalarda artan bir şekilde kullanılmaktadır (551-558). Birçok çalışmada ortanca yaş 50 olmasına rağmen tüm hastaların ortanca yaşı 70'tir (478). Kemik iliği fibrozisi olmayan hematolojik hastalıklarla benzer engraftman süresine sahiptir. Miyeloablatif hazırlama rejimi için uygunluk kriterleri 50 yaşın altında olmak, periferik kan ve kemik iliğinde ciddi anormallik varlığıdır. Uzun süreli indolan seyri olma olasılığı yüksek olan olgularda nakilden kaçınılmalıdır. Genç hastalar, özellikle 50 yaşın altındaki HLA tam uyumlu kardeş vericisi olan olgularda progresif hastalık ve kötü prognostik bulguların varlığında (Hgb düzeyi <10 g/dl, kötü karyotip anormalliği (kromozom 5, 7 veya 17 anormalliği veya kompleks karyotip), periferik kandaki blast yüzdesi >1%) transplantasyon düşünülmelidir. Dalak büyümesi donör granülopoezinin ekspresyonunu hafif geciktirmesine rağmen öncesinde splenektomi öyküsü olanlarla dalağı olanlar arasındaki sonuçlar birbirine benzerdir (556, 559). Ayrıca splenektominin morbidite veya mortaliteyi arttırdığı bilinmektedir. 50 yaşından daha genç hastalarda HLA tam uyumlu kardeş donörlerle yapılan kök hücre nakli, 50 yaşın üzerindeki hastalara göre daha düşük nakil sonrası mortaliteye ve daha yüksek sağkalıma neden olur (545). 50 yaşından genç hastalarda miyeloablatif hazırlama rejimi ile transplant ilişkili mortalite yaklaşık %35-40 ve 5 yıllık sağkalım yaklaşık %50'dir. Donör hematopoezin baskınlığını kaybetmiş hastalar ve miyelofibrozu geri dönen hastalarda, donör lenfosit infüzyonu fibrozun gerilemesine ve normal hematopoezin en az 6-20 ay boyunca korunmasına neden olmuştur (560, 561). JAK2V617F-pozitif hastalarda real-time polimeraz zincir reaksiyon analizi, nakil sonrası rezidual JAK2V617F-pozitif hücrelerin saptanmasında hassas bir yöntemdir. Düşük yoğunlukta

hazırlama rejimi alan hastaların dahil olduğu bir çalışmada 21 olgunun 17'sinde JAK2V617-negatifliği gelişmekle beraber donör lenfosit infüzyonu alan bir olguda JAK2V617-pozitif hücreler elimine olmuştur (562). Yaşlı hastalarda nonmiyeloablatif nakil artan sıklıkta kullanılmaktadır (555, 556, 563-567). 50 yaşından büyük olgularda ve hatta daha genç olgularda düşük posttransplant mortalite ve etkin sonuçlar nedeni ile nonmiyeloablatif hazırlama rejimi ile allogeneik nakil uygulanması çalışmalarla desteklenmiştir. Bir çalışmada nonmiyeloablatif naklin sonuçlarının dramatik olarak miyeloablatif nakilden daha iyi olduğu gösterilmiştir (555). Bir çalışmada 17 nonmiyeloablatif tedavi alan ve 10 miyeloablatif tedavi alan hasta karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada ortalama yaş 50'dir (yaş aralığı:5-63). Ortanca takip süresi 55 ay olan bu çalışmada 20 olgu hayatta olarak bildirildi. Nonmiyeloablatif tedavi alan hastalar arasında transplantasyon ilişkili mortalite %10 olmakla beraber miyeloablatif tedavi alan hastalarda mortalite %30 saptanmıştır. Yüksek veya düşük riskli hastalık veya kardeş ve unrelated nakil sonuçları açısından fark bulunmamıştır. Bu çalışma önceki nonmiyeloablatif ve miyeloablatif tedaviyi karşılaştıran daha küçük çalışmaları doğrulamaktadır (147). İndirgenmiş hazırlama rejimi ile nakil yapılan hastaları kapsayan büyük bir çalışmada en iyi sonuçların orta evre hastalığı olan ve tam uyumlu kardeş donörden nakil yapılan hastalarda elde edildiği bildirilmiştir (567).

#### 2.4.8. Seyir ve Prognoz

Hastalık progresyon hızı tanı anındaki 16 değişken ile ilişkilidir: (1) ileri yaş, (2) derin anemi (3) aşırı lökositoz ( $>25.000/mm^3$ ) veya lökopeni ( $<4.000/mm^3$ ), (4) tanı anında ateş, kilo kaybı, gece terlemesi gibi konstitüsyonel semptomların varlığı, (5) kanda blastik hücre oranı  $\geq 1\%$ , (6) erkek cinsiyet, (7) trombositopeninin ciddiyeti, (8) kanda CD34(+) hücre oranı, (9) JAK2 geninde V617F mutasyonunun varlığı, (10) monositoz, (11) proliferatif hücre nükleer antijen indeksinde ve apoptotik indekste azalma, (12) karaciğer büyümesinin derecesi, (13) kemik iliği fibrozisinin derecesi, (14) postsplenektomi dalak histolojisi, (15) CD34(+) hücrelerde WT1 ekspresyonu, (16) kromozom 5, 7 veya 17'yi içeren veya üç veya daha fazla anormallik varlığı. 13q veya 20q anormalliği içeren olgular sitogenetik anormalliği olmayan grup ile karşılaştırıldığında sağkalım açısından fark bulunmamıştır. Retrospektif çalışmalarda bu faktörlerin farklı alt gruplarının prognostik önemi olduğu gösterilmiştir. Çalışmaların sonucunda en tutarlı bulunan kötü prognostik faktörler tanıda ileri yaş, ciddi anemi ve yüksek riskli klonal sitogenetik anormallik varlığıdır (81, 219, 222, 224, 226, 468, 470, 569-573). Yedi merkezin dahil olduğu 1000'den fazla ardışık vakadan oluşan bir çalışmada hastaları dört ayrı risk kategorisine ayırabilmek için en yararlı bileşenler ileri yaş, derin anemi, aşırı lökositoz

(>25.000/mm<sup>3</sup>) veya lökopeni (<4.000/mm<sup>3</sup>), kanda blastik hücre oranı  $\geq$ %1, tanı anında ateş, kilo kaybı, gece terlemesi gibi konstitüsyonel semptomların varlığı olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada ortanca sağkalım 69 ay'dır. En kısa yaşam süresi 65 yaşın üzerine, Hgb<10 g/dl, lökosit sayısı>25.000/mm<sup>3</sup>, kanda blast hücreleri $\geq$ %1 ve konstitüsyonel semptomları olan olgularda bulunmuştur. Risk faktörlerinin sayısına göre olgular risk gruplarına ayrılmıştır. Hiçbir risk faktörü olmayanlar düşük risk, bir risk faktörü olanlar düşük-orta, iki risk faktörü olanlar yüksek-orta, üç veya daha fazla risk faktörü olanlar yüksek risk olarak belirlenmiştir. Düşük riskli olgularda sağkalım 135 ay, düşük-orta riskli hastalarda 95 ay, yüksek-orta riskli hastalarda 48 ay ve yüksek riskli hastalarda 27 ay olarak bulunmuştur (496). Sonuç olarak, yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PMF'deki 5 yıllık sağkalım, kontrol grubunun yaklaşık %40'ı olarak bildirilmiştir (574). Bazı veriler PMF'de JAK2 inhibitörlerinin kullanımının sadece semptomatolojiyi ve dalak büyümesini azaltmadığı aynı zamanda sağkalımı uzatabileceğini göstermiştir (575, 576). Ruxolitinib tedavisi alan 100 hasta ile ruxolitinib tedavisi almayan 350 hastayı karşılaştıran bir çalışmada kötü prognozlu hastalar arasında ruxolitinib tedavisinin ortanca yaşam süresini 18 ay uzattığı gösterilmiştir. Bazı hastalarda ruxolitinib tedavisinin yaşam süresini 4-5 yıl kadar uzattığı gösterilmiştir (576). Buna ek olarak yaşam gücü ve fonksiyonelliğin iyileşmesinde dramatik rol oynar. Majör ölüm nedenleri enfeksiyon, kanama, splenektomi sonrası mortalite ve akut lösemiye transformasyondur (577-581). Splenektomili hastalarda lösemiye transformasyon riskinin arttığı gösterilmiştir (582). Akut lösemiye progresyon, tanı anında >%3 blast ve trombosit sayısı <100.000/mm<sup>3</sup> olan grupta en yüksektir. Buna ek olarak EPO veya androjen tedavisinin akut lösemiye progresyonla ilişkili olduğu bildirilmiştir (583). PMF'den dönüşümlü AML tedavisinde JAK2 inhibitörlerinin etkinliği olabileceği düşünülmektedir. PMF'de nadiren spontan remisyon bildirilmiştir (584, 585). PMF'de bazı gen mutasyonları, genel sağkalım ve AML'ye progresyonla ilişkili bulunmuştur. Bu gen mutasyonları arasında IDH, EZH, ASXL1 ve SRSF2 bulunmaktadır (586, 587). PMF tanılı olguların yaklaşık %5-10'unda JAK2, CALR veya MPL mutasyonu yoktur. Üçlü (JAK2, CALR, MPL) negatif PMF'in CALR (-) ASXL1 (+) grup ile karşılaştırıldığında daha kötü prognoza sahip olduğu gösterilmiştir (588).

PMF'de prognostik model, 2009 yılında uluslararası prognostik skorlama sisteminin (IPSS) gelişimi ile ortaya çıkmıştır (496). IPSS, tanı sırasında uygulanabilir. IPSS için beş bağımsız risk faktörü kötü seyir ile ilişkilidir (Tablo XVII) (496). 0, 1, 2,  $\geq$  3 risk faktörlerinin varlığına göre sırasıyla düşük, orta-1, orta-2 ve yüksek riskli hastalık olarak gruplandırılmaktadır. Dinamik uluslararası prognostik skorlama sistemi (DIPSS), aynı

bağımsız risk faktörlerini içermekle beraber hastalık seyrinde herhangi bir zamanda uygulanabilir (Tablo XVIII) (589). Düşük (0 risk puanı), orta-1 (1 veya 2 puan), orta-2 (3 veya 4 puan) ve yüksek (5 veya 6 puan) riskli olarak sınıflandırılmaktadır. Sonraki yıllarda PMF’de IPSS ve DIPSS’den bağımsız risk faktörleri tanımlanmıştır. Bunlar arasında kötü karyotip anormallikleri (kompleks karyotip veya trizomi 8, 7/7q, i(17q), inv (3), 5/5q, 12p veya 11q23 rearanjmanını içeren bir veya iki anormallik), eritrosit transfüzyon ihtiyacı ve trombosit sayısının  $100.000/\text{mm}^3$ ’ten az olması vardır (590-594). 2011 yılında DIPSS, trombosit değerinin  $<100.000/\text{mm}^3$  olması, eritrosit transfüzyon ihtiyacı ve kötü karyotip anormalliğini içeren üç bağımsız risk faktörünün eklenmesi sonucunda modifiye edilmiştir (595). ‘DIPSS-plus’ kriterleri olarak adlandırılan bu kriterlere göre düşük (hiç risk faktörü olmaması), orta-1 (1 risk faktörü), orta-2 (2 veya 3 risk faktörü) ve yüksek ( $\geq 4$  risk faktörü) riskli olarak sınıflandırılmıştır (Tablo XIX) (595).

**Tablo III. Primer Miyelofibrozis IPSS risk skorlaması**

<ol style="list-style-type: none"> <li>1- Yaş &gt; 65</li> <li>2- Hgb &lt; 10 g/dl</li> <li>3- Lökosit sayısı &gt; <math>25.000/\text{mm}^3</math></li> <li>4- Dolaşan blast sayısı <math>\geq \%1</math></li> <li>5- Konstitüsyonel semptomların varlığı</li> </ol>
<p><b>Skor:</b> Her biri 1 puan olmak üzere; düşük risk 0 puan, orta-1 risk 1 puan, orta-2 risk 2 puan ve yüksek risk <math>\geq 3</math> puan</p>

**Tablo IIII. Primer Miyelofibrozis DIPSS risk skorlaması**

<ol style="list-style-type: none"> <li>1- Yaş &gt; 65</li> <li>2- Hgb &lt;10 g/dl</li> <li>3- Lökosit sayısı &gt; <math>25.000/\text{mm}^3</math></li> <li>4- Dolaşan blast sayısı <math>\geq \%1</math></li> <li>5- Konstitüsyonel semptomların varlığı</li> </ol>
<p><b>Skor:</b> Hgb &lt;10 g/dl için 2 puan olmak üzere; diğerleri için 1 puan almaktadır; düşük risk 0 puan, orta-1 risk 1-2 puan, orta-2 risk 3-4 puan ve yüksek risk 5-6 puan</p>

**Tablo XIX. Primer Miyelofibrozis DIPSS-plus risk skorlaması**

<ol style="list-style-type: none"><li>1- Yaş &gt; 65</li><li>2- Hgb &lt;10 g/dl</li><li>3- Lökosit sayısı &gt; 25.000/mm<sup>3</sup></li><li>4- Dolaşan blast sayısı ≥ %1</li><li>5- Konstitüsyonel semptomların varlığı</li><li>6- Eritrosit transfüzyon ihtiyacı</li><li>7- Trombositopeni (trombosit sayısı &lt;100.000/mm<sup>3</sup>)</li><li>8- Kötü karyotip anormalliği (kompleks karyotip veya trizomi 8, 7/7q, i(17q), inv (3), 5/5q, 12p veya 11q23 rearanjmanını içeren bir veya iki anormallik)</li></ol>
<p><b>Skor:</b> Her biri 1 puan olmak üzere; düşük risk 0 puan, orta-1 risk 1 puan, orta-2 risk 2 veya 3 puan ve yüksek risk ≥ 4 puan</p>



### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Olgular

İstanbul Tıp Fakültesi (İTF) Etik Kurulu tarafından kabul edilen (1284-07/11/2019 dosya numaralı) bu çalışmada hasta grubu İTF İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı tarafından ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Bakırköy Dr.Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi Hematoloji Kliniği'nden takip edilen olgular arasından seçilmiştir. Olgulardan çalışma öncesi bilgilendirilmiş onay alınmıştır.

1995-2019 yılları arasında İTF İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı'nda (n=257) ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi Hematoloji Kliniği'nde (n=153) takip edilen 2016 'DSÖ' kriterlerini karşılayan Ph-negatif MPN tanılı toplam 410 olgu (170 ET, 135 PV, 105 PMF) çalışmaya dahil edilmiştir (3). Olguların demografik bilgilerine ek olarak, tanı sırasındaki yaş, örneğin elde edildiği sıradaki yaş, kemik iliği sitogenetik incelemeleri (Ph kromozomu), serum BCR-ABL, başlangıç lökosit, Hgb, Htc, trombosit, LDH düzeyleri, eritrosit transfüzyon ihtiyacı, kanama öyküsü ve lokalizasyonu, flebotomi öyküsü, kardiyovasküler risk faktörleri (sigara, hipertansiyon, dislipidemi, diabetes mellitus), tromboz öyküsü ve lokalizasyonu, kullanılan ilaçlar, AHKHN ve splenektomi öyküsü, lösemiye dönüşüm ve ölüm taranmıştır. Kemik iliği fibrozisi, retikülin 0, 1, 2, 3 olarak derecelendirilmiştir (3).

İTF ve İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi Biokimya Ana Bilim Dalı'nda bakılan LDH düzeyinin normal aralığı 135-250 U/L olup, >250 U/L olması yüksek LDH düzeyi olarak kabul edilmiştir. Olguların dalak boyutu USG ile incelenmiştir. USG incelemesinde dalağın longitudinal çapının 130 mm'nin altında olması normal kabul edilmiştir. Dalak boyutu 130 mm ile 160 mm arasında olanlar 'hafif' ve 160 mm ve üzerinde olanlar 'masif' splenomegali olarak gruplandırılmıştır. OS (ay), tanıdan ölüme kadar veya tanıdan takip edilen güne kadar geçen süre olarak tanımlanmıştır.

PMF olgularında 'kötü karyotip anormallikleri' arasında kompleks karyotip veya trizomi 8, 7/7q, i(17q), inv(3), 5/5q, 12p veya 11q23 reanjmanı vardır. Bunun dışındaki karyotip anormallikleri 'iyi karyotip anormallikleri' olarak sınıflandırılmıştır. Hiçbir karyotip anormalliği olmayanlar ise 'normal karyotip' olarak gruplandırılmıştır. PMF olgularında tanı sırasında risk skorlaması olarak 'DIPPS-plus' kriterleri kullanılmıştır (437). Bu kriterlere göre olgular düşük (hiç risk faktörü olmaması), orta-1 (1 risk faktörü), orta-2 (2 veya 3 risk faktörü)

ve yüksek ( $\geq 4$  risk faktörü) riskli olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen olguların venöz kan örneklerinden JAK2V617F mutasyonu çalışılmıştır.

### **3.2. Metod**

PV, ET ve PMF tanılı olgulardan kliniğe başvuruları sırasında rutin testler için alınan 2 cc EDTA'lı periferik kan örnekleri, çalışmada kullanılmak üzere saklanmıştır. Üç olgu grubu çalışmada araştırılan JAK2V617F mutasyonunu bulundurmaları açısından karşılaştırılmıştır.

#### **3.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu**

Alınan periferik kan örneklerinden kit manuelinde belirtilen şekilde genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir (High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche Diagnostic, Mannheim, Almanya).

##### **3.2.1.1. DNA İzolasyonu**

- 1- Mikrosantrifüj tüpüne 200 µl kan, 200 µl Binding buffer ve 40 µl Proteinaz K konularak karıştırılır ve 70°C'de 10 dakika inkübe edilir.
- 2- İnkübasyon sonrasında isopropanol (100 µl) alkol eklenerek kısa bir vorteks uygulanır.
- 3- Atık tüplerinin içine filtreli tüpler yerleştirilir.
- 4- Her bir örnek filtreli tüplere alınır.
- 5- 8000 g'de 1 dk santrifüj edilir.
- 6- Atık tüplerinde biriken sıvı uzaklaştırılır.
- 7- 500 µl inhibitör removal buffer eklenir.
- 8- 8000 g'de 1 dk santrifüj edilir.
- 9- Atık tüplerinde biriken sıvı uzaklaştırılır.
- 10- 500 µl wash buffer eklenir.
- 11- 8000 g'de 1 dk santrifüj edilir.
- 12- Basamak 7 ve 8 bir kez daha tekrar edilir.
- 13- 2 dk maksimum devirde santrifüj edilir.

- 14- Atık tüplerinde biriken sıvı uzaklaştırılır.
- 15- Filtreli tüpler 1.5ml'lik steril, kapaklı, Dnase/RNase free mikrosantrifüj tüplerine konur.
- 16- 100 µl Elution Buffer eklenir.
- 17- 1 dk 8000 g'de santrifüj edilir.
- 18- 16-Kolonlar atılır.

### **3.2.1.2. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini**

İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyon tayini Nanodrop 2000c spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir (Thermo Scientific, USA). Spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu belirlenmiştir. Elde edilen DNA çalışma yapılana kadar +4°C'de saklanmıştır.

#### **3.2.1.2.1. JAK2V617F Mutasyonunun Gerçek zamanlı Semi-Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Analizi**

Üreticinin önerdiği çalışma protokolü kullanılarak olguların 228'inde (118 ET, 84 PMF, 26 PV) semi-kantitatif olarak JAK2V617F tayini yapılmıştır ('JAK2 MutaScreen™ Kit Reference Scale' Ipsogen, Luminy Biotech, Marsilya, Fransa) (596). Kit TaqMan allelik ayırımını kullanarak genomik DNA'da doğal-tip JAK2 ve JAK2V617F allellerini tespit edilmekte ve yöntemin semi-kantitatif olması nedeniyle eş zamanlı olarak mutant allel yükü de tespit edilmektedir (597). Olguların PZR deneyleri, ince çeperli 0.2 ml hacimli polistiren tüpler içinde eş zamanlı olarak 2 spesifik TaqMan probu (Applied Biosystems) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gerekli PZR bileşenleri Tablo XX'de özetlenmiştir. Çalışma Rotor-Gene (Corbett Research, Australia) cihazında Tablo XXI'deki PZR protokolü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir alleli ayırt etmek için floresan ölçümü kullanılmıştır (JAK2V617F için FAM ve doğal tip için VIC) (597).

Allelik ayırımın değerlendirilmesinde iki TaqMan probu, multipleks ölçüm için kullanılmaktadır. Problemlerden biri allel 2 dizisine uyum sağlarken (örneğin doğal tip allel) diğeri allel 1 dizisine (mutasyonu taşıyan allel) uyum göstermektedir. Her bir prob 5' ucunda ayırt edici floresan boya (FAM veya VIC) ile işaretlenmiştir ve 3' ucunda floresan olmayan bir baskılayıcı içermektedir. Problemlerin içerdiği MGB (ikincil oluk bağlayıcı) sayesinde daha kısa problemlerle daha fazla stabilite sağlanır. Bunun sonucunda daha doğru bir allelik ayırım

yapılabilmektedir. PZR'nun çoğalma fazı sırasında tam uyum sağlayan prob, Taq DNA polimerazın 5'→3' ekzonükleaz aktivitesi tarafından kesilmektedir. Böylece indikatör boya, baskılayıcısından ayrılarak floresan ışığa yapmaktadır. Tam uyum sağlamayan prob, Taq DNA polimeraz tarafından kesilmez ancak yeri değiştirilir. Böylece indikatör boya salınmaz. PZR sonunda floresan sinyali (VIC veya FAM) toplanır ve hedef dizilerin varlığı (doğal-tip allel, mutant allel veya her ikisi) kontaminasyon riskini arttıran PZR sonrası uzun ve yorucu basamaklara gereksinim olmadan saptanır. JAK2V617F mutant allel yükünü tahmin etmek için altı ölçekli standard kullanılmıştır (%2, %5, %12.5, %31, %50 ve %78) (596). JAK2V617F allel yükü  $\leq$  %50 olan olgular düşük allel yükü,  $>$ %50 olan olgular yüksek allel yüküne sahip kabul edilmiştir.

**Tablo III. JAK2V617F analizi için hazırlanan PZR karışımının bileşenleri**

PZR BİLEŞENLERİ	Reaksiyon için gerekli miktar ( $\mu$ l)
TaqMan Universal Master Mix, 2x	12.5
Primer ve prob karışımı, 10x	1.5
Nükleaz içermeyen steril ultra saf su	5
DNA (50ng/ $\mu$ l)	5
Toplam hacim	25

**Tablo IVI. JAK2V617F analizinde kullanılan Gerçek zamanlı Semi-kantitatif PZR koşulları**

95°C	15 dk	İlk Denatürasyon	50 döngü
95°C	15 sn	Denatürasyon	
60°C	1 dk	Bağlanma	
60°C	20 sn	Uzama	

### 3.2.2. JAK2V617F Mutasyonunun Melting Curve Analizi ile Tayini

Olguların 182'sinde (109 PV, 52 ET, 21 PMF) JAK2V617F mutasyonu Melting Curve Analizi ile tayin edildi. Genotiplendirme Floresans Rezonans Enerji Transferi (FRET) teknolojisinin kullanıldığı Melting Curve analizi ile daha önce Murugesan ve arkadaşlarının tarif ettiği yöntem ile gerçekleştirildi (598).

Bu yöntemde kullanılan primer ve prob çiftleri (Roche Applied Sciences, Indianapolis, IN) aşağıda sıralanmıştır:

İleri Primer: 5'-TTCCTTAGTCTTTCTTTGAAGCA-3'

Geri Primer: 5'-GTGATCCTGAAACTGAATTTTCT-3'

Anchor prob: 5'-LCRed640-ACGAGAGTAAGTAAAACACTACAGGCT-Phosphate-3'

Sensor prob: 5'-ATGGAGTATGTGTCTGTGG-Fluorescein-3'

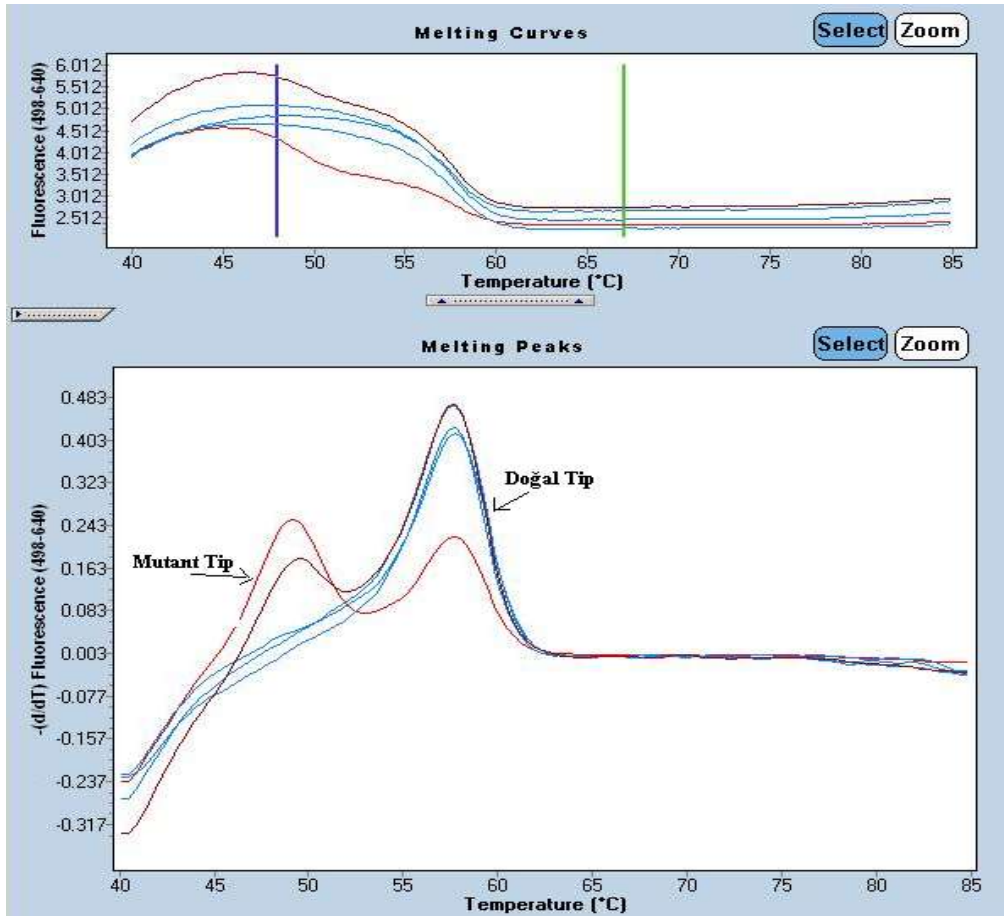
DNA örneklerinden JAK-2V617F gen bölgesinin çoğaltılması için 17 µl hacminde PZR karışımı (ddH<sub>2</sub>O, Fast Start DNA master HybProbe miksi, MgCl<sub>2</sub>, JAK-2V617F gen bölgesine özgü primer ve prop çifti) hazırlandı ve DNA örnekleri uygun konsantrasyonda PZR karışımlarına eklendi (Tablo XXII). Örneklerin amplifikasyonu Light Cycler 1.5 ve Light Cycler 480 Real Time PZR cihazlarında Tablo XXIII'te belirtilen protokol ile gerçekleştirildi. Her dsDNA kendine özgül Tm değerine sahiptir. Bu yöntemde amplifikasyondan sonra sıcaklık yavaş yavaş yükseltilerek belirli aralıklar ile tüpteki floresans miktarı kaydedilir. dsDNA denatüre olmaya başlayınca boya serbest kaldığı için ölçülen floresans miktarı düşmeye başlar böylece elde edilen erime eğrisinden yararlanılarak amplifikasyonun Tm derecesi saptanabilir. DNA amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresans sinyalinin ölçülmesi ile sonuçlar elde edildi. Gerçek DNA amplifikasyonunu ölçmek için amplifikasyon ürünlerinin "melting curve" (erime eğrisi) analizi yapıldı. Elde edilen Tm derecesine göre melting curve analizi ile genotiplendirme yapıldı (Şekil III).

**Tablo XXII. JAK2V617F Melting Curve Analizi için hazırlanan PZR karışımının bileşenleri**

<b>PZR BİLEŞENLERİ</b>	<b>Reaksiyon için gerekli miktar (µl)</b>
Fast Start DNA master HybProbe miksi	2
İleri Primer	0.5
Geri Primer	0.5
Anchor Prob	0.4
Sensor Prob	0.4
MgCl <sub>2</sub>	0.8
Nükleaz içermeyen steril ultra saf su	12.4
DNA (50ng/ µl)	5
Toplam hacim	22

Tablo XXIII. JAK2V617F Melting Curve Analizinde kullanılan PZR koşulları

Program	Denatürasyon	Amplifikasyon			Melting			Soğuma
Analiz mode	Yok	Kantifikasyon			Melting Eğrileri			Yok
Döngü	1	45			1			1
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Hedef (°C)	95	95	53	72	95	40	85	40
Süre	10 dk	15 sn	13 sn	15 sn	23 sn	23 sn	1 sn	30 sn
Rampa oranı (°C/sn)	4,4	4,4	2,2	4,4	4,4	2,2	4,4	2,2
Toplama modu	Yok	Yok	Tek	Yok	Yok	Yok	devamlı	Yok



Şekil III. Real Time PZR yöntemiyle elde edilen örneklere ait melting curve grafikleri

### 3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda PV, ET ve PMF tanılı bireylerden elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) programının 21.0 versiyonu (IBM, Armonk, NY, USA) kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler kesikli ve sürekli sayısal değişkenler için ortalama±standart sapma (Ort±SS) biçiminde kategorik değişkenler ise vaka sayısı ve (%) şeklinde ifade edildi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında çapraz tablo istatistikleri kullanıldı (Ki-kare, Fisher). Normal dağılım gösteren parametrik özellikteki veriler Student t-testi ve ANOVA ile, normal dağılıma uymayan non-parametrik verilerise Mann Whitney U ve Kruskal Wallis testleri ile karşılaştırıldı. Post Hoc Tukey analizi ile çoklu gruplar arası karşılaştırmalar yapılmıştır. Değişkenlerin dağılımı göz önünde bulundurularak ölçümler arası korelasyon Sperman's Rho Test ve Pearson test ile değerlendirildi. PV, ET ve PMF'de sağkalım verileri 'Kaplan-Meier' Analizi'nden elde edildi. Sonuçlar  $p<0.05$  istatistiksel anlamlılık olarak tanımlandı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Olgular

#### 4.1.1. Tüm Olgularla İlgili Genel İstatistik Bilgileri

Bu çalışmada 170 ET, 135 PV, 105 PMF olmak üzere toplam 410 Ph-negatif MPN olgusu incelenmiştir. Olguların %50'si (n=205) erkek ve %50'si (n=205) kadındır. Ortalama yaş 60.33 (SS 14.78) ve ortalama tanı yaşı 53.33 (SS 14.98) olarak saptanmıştır. Erkek olgularda, kadın olgulara göre ortalama yaş ve ortalama tanı yaşı anlamlı olacak düzeyde yüksektir (sırasıyla  $p=0.044$ ;  $p=0.008$ ) (Tablo XXIV).

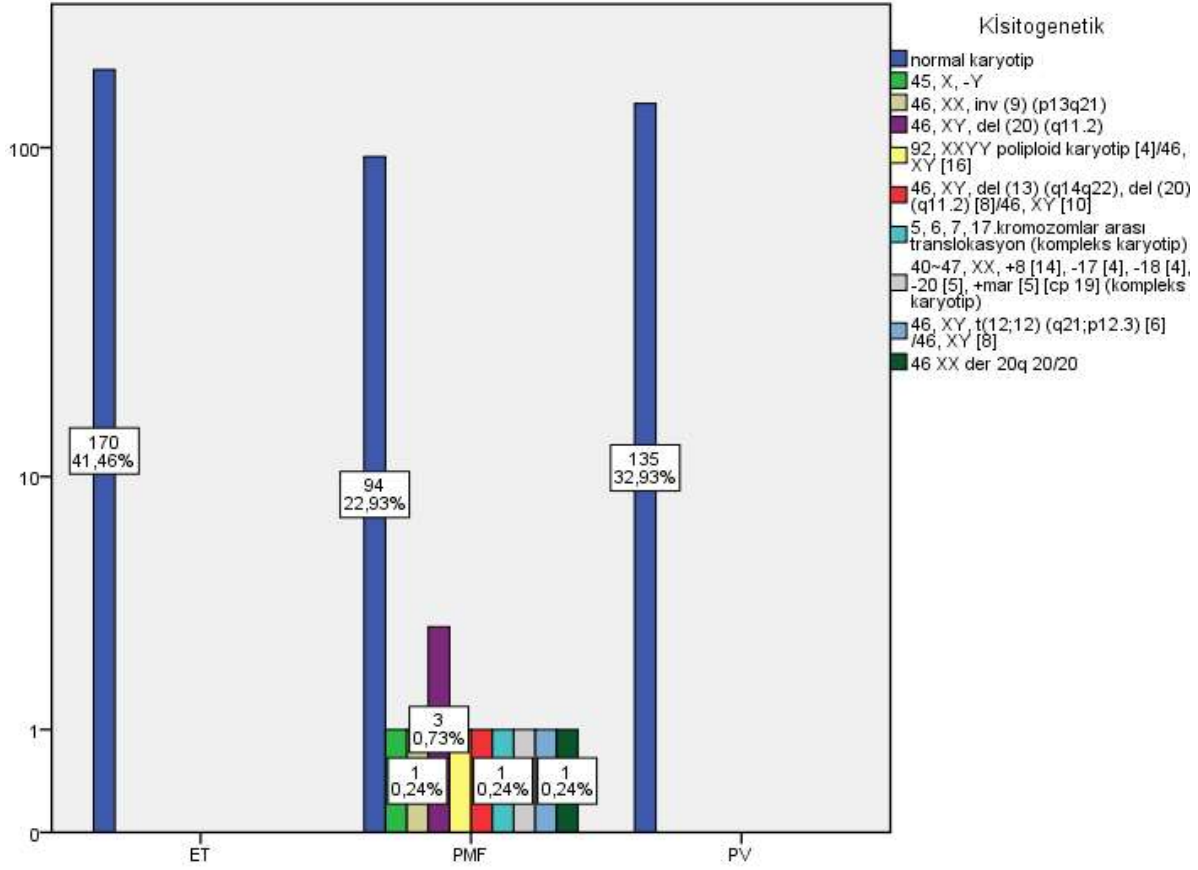
**Tablo XXIV. Tüm olgularda ortalama yaş ve cinsiyet analizi**

	n (%)	Yaş (Ort±SS)	P değeri
<b>Erkek</b>	205 (%50)	61.80±13.84	<b>0.044*</b>
<b>Kadın</b>	205 (%50)	58.86±15.56	
	n (%)	Tanı Yaş (Ort±SS)	P değeri
<b>Erkek</b>	205 (%50)	55.49±13.93	<b>0.008*</b>
<b>Kadın</b>	205 (%50)	51.58±15.75	

**NOT:** Erkek olgularda, kadın olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde artmış yaş ve tanı yaşı belirlenmiştir (sırasıyla  $p=0.044$ ;  $p=0.008$ ).

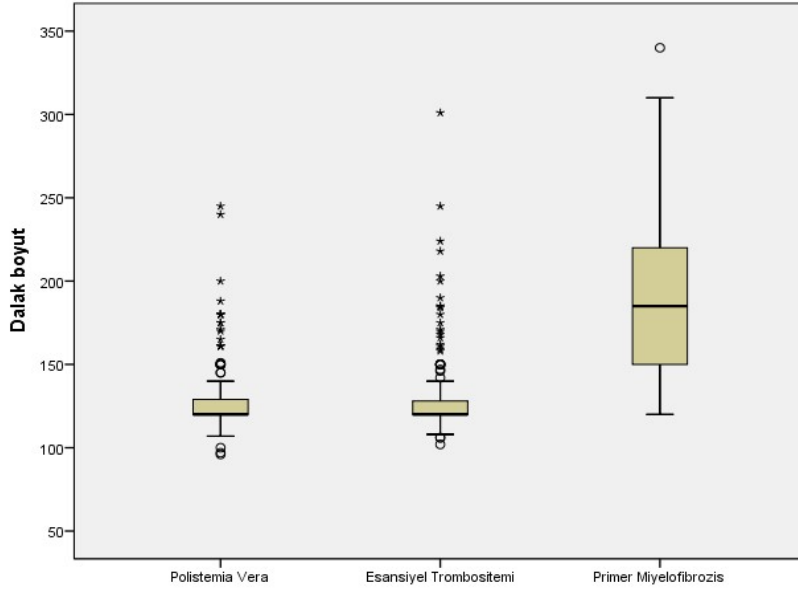
Olguların %13.9'unda (n=57) kemik iliği fibrozis derecesi 0, %51.5'inde (n=211) derece 1, %16.6'sında (n=68) derece 2 ve %18'inde (n=74) derece 3 olarak saptanmıştır. Olguların %97.3'ünde (n=399) sitogenetik analiz normaldir. %2'sinde (n=8) iyi karyotip anormalliği, %0.7'sinde (n=3) kötü karyotip anormalliği saptanmıştır. Karyotip anormalliği saptanan olguların hepsi PMF grubundadır. PMF grubunda en sık anormallik del(20)'dir. Diğer anormallikler eşit oranda saptanmıştır. Tüm olguların karyotip analizi Şekil IV'te tanımlanmıştır.





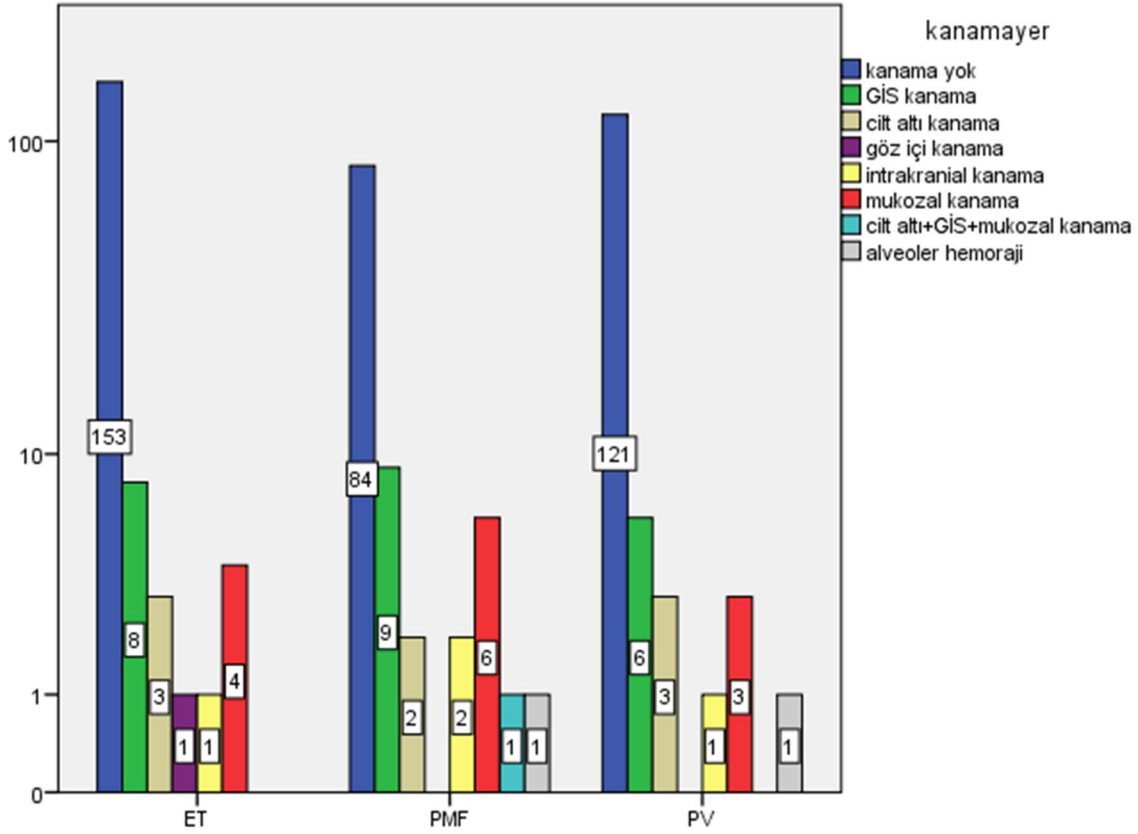
#### Şekil IV. ET, PMF, PV Olgularında Karyotip Analizi (n=410)

Olguların %14'ünde (n=58) trombosit sayısı 450.000-600.000/mm<sup>3</sup> arasında, %39.8'inde (n=163) 600.000-1.000.000/mm<sup>3</sup> arasında, %16.3'ünde (n=67) ise 1.000.000/mm<sup>3</sup> üzerindedir. Olguların %55.1'inin (n=226) LDH düzeyi yüksek, %44.9'unun (n=184) LDH düzeyi normaldir. Olguların tanı sırasında ortalama lökosit sayısı 12.042/mm<sup>3</sup> (SS 7.783), ortalama Hgb düzeyi 13.98 g/dl (SS 3.16) ve ortalama Htc değeri %42.45 (SS 9.73)'tir. Tanı konulmadan önce splenektomi yapılan olan 3 olgunun dalak boyutu ölçülemediği. Olguların tanı sırasında ortalama dalak boyutu 145.4 mm (SD 40,57)'dir. Olguların %14.6'sında (n=60) hafif, %25.9'unda (n=106) masif splenomegali tespit edilirken %58.8'inde (n=241) splenomegali saptanmamıştır.



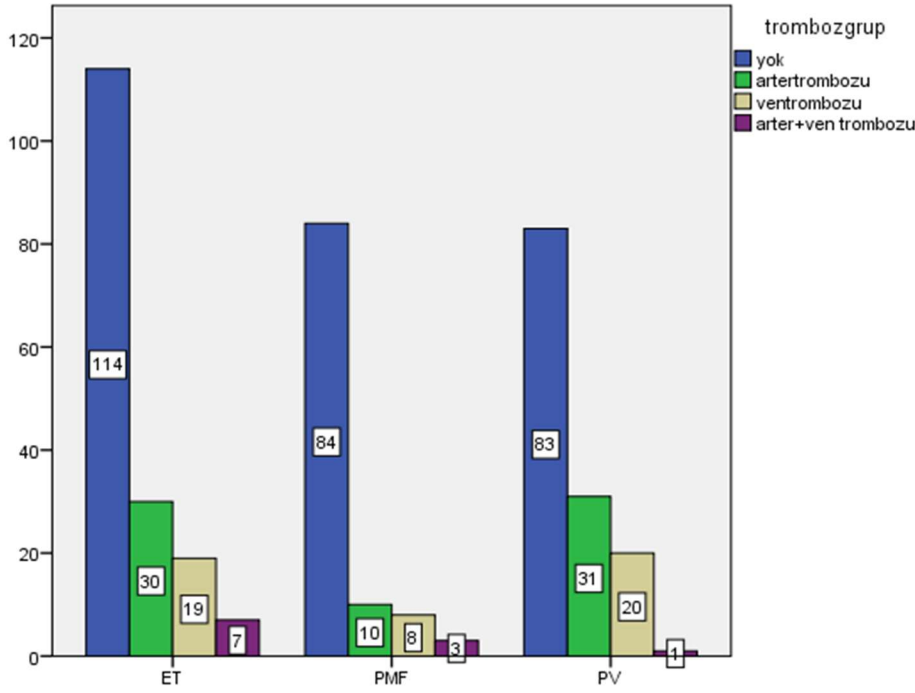
**Şekil V. PV, ET, PMF Olgularının Tanı Sırasındaki Dalak Boyutlarının Dağılımı (n=410)**

Olguların seyrinde %31.2'sine (n=128) flebotomi uygulanmıştır. Olguların %12.7'si (n=52) kanama ile komplike olmuştur. %5.6'sında (n=23) gastrointestinal kanama, %3.2'sinde (n=13) mukozal kanama, %2'sinde (n=8) cilt altı kanama, %1'inde (n=4) intrakraniyal kanama, %0.5'inde (n=2) alveolar hemoraji, %0.2'sinde (n=1) göz içi kanama, %0.2'sinde (n=1) kombine cilt altı+mukozal+gastrointestinal kanama gelişmiştir. Kanama ile komplike olan 17 ET tanılı olgunun 8'inde gastrointestinal kanama, 4'ünde mukozal kanama, 3'ünde cilt altı kanama, 1'inde göz içi kanama, 1'inde intrakraniyal kanama; 14 PV tanılı olgunun 6'sında gastrointestinal kanama, 3'ünde cilt altı kanama, 3'ünde mukozal kanama, 1'inde intrakraniyal kanama, 1'inde alveolar hemoraji; 21 PMF tanılı olgunun 9'unda gastrointestinal kanama, 6'sında mukozal kanama, 2'sinde cilt altı kanama, 2'sinde intrakraniyal kanama, 1'inde kombine cilt altı+mukozal+gastrointestinal kanama ve 1'inde alveolar hemoraji gelişmiştir (Şekil VI).



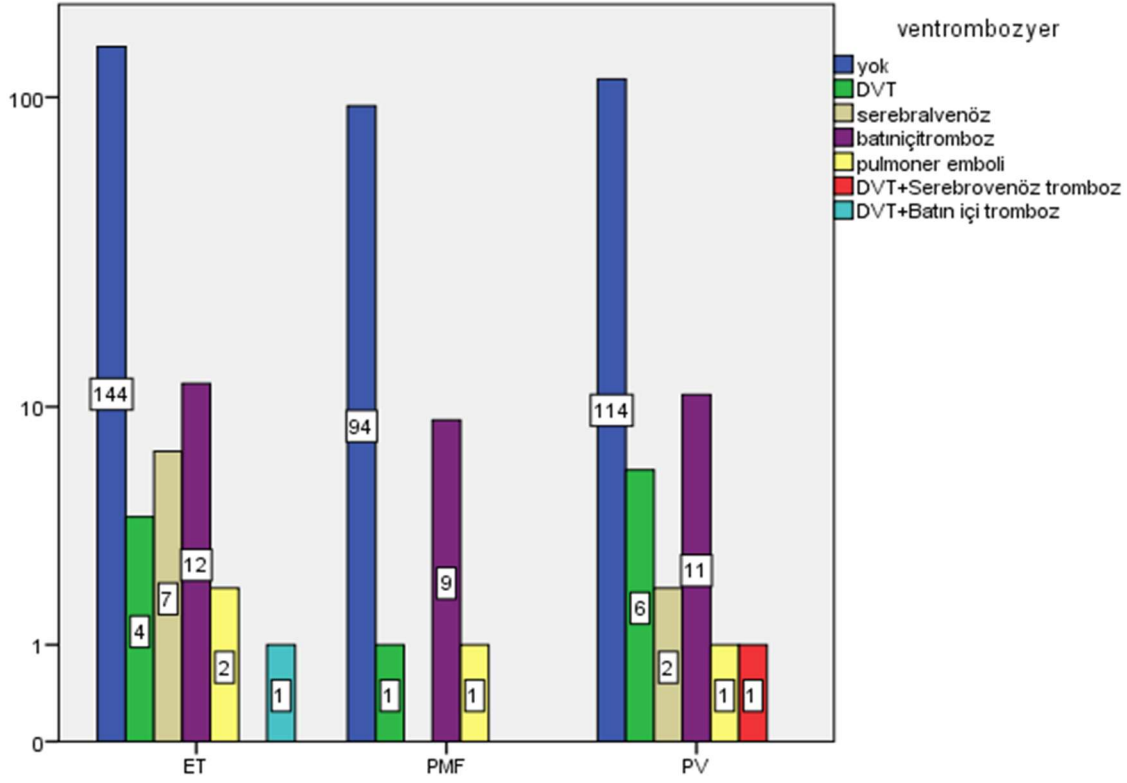
**Şekil VI. ET, PMF, PV Olgularında Kanama Oranları (n=410)**

Olguların %72.7'sinde (n=296) kardiyovasküler risk faktörleri mevcuttur. Olguların %31.5'i (n=129) tromboz ile komplike olmuştur. %17.3'ünde (n=71) arteriyel tromboz, %11.5'inde (n=47) venöz tromboz, %2.7'sinde (n=11) arteriyel+venöz tromboz saptanmıştır (Şekil VII). Arteriyel trombozu olanların %46.3'ünde (n=38) koroner arter hastalığı, %29.3'ünde (n=24) SVO, %11.1'inde (n=9) periferik arter hastalığı, %8.5'inde (n=7) koroner arter hastalığı ve SVO, %1.2'sinde (n=1) renal arter hastalığı ve koroner arter hastalığı, %1.2'sinde (n=1) SVO ve periferik arter hastalığı, %1.2'sinde (n=1) SVO ve renal arter hastalığı, %1.2'sinde (n=1) koroner arter hastalığı ve periferik arter hastalığı saptanmıştır. Venöz trombozu olanların %55.2'sinde (n=32) batin içi tromboz, %19'unda (n=11) DVT, %15.5'inde (n=9) serebral venöz tromboz, %6.9'unda (n=4) pulmoner emboli, %1.7'sinde (n=1) DVT ve serebrovenöz tromboz, %1.7'sinde (n=1) DVT ve batin içi tromboz saptanmıştır.



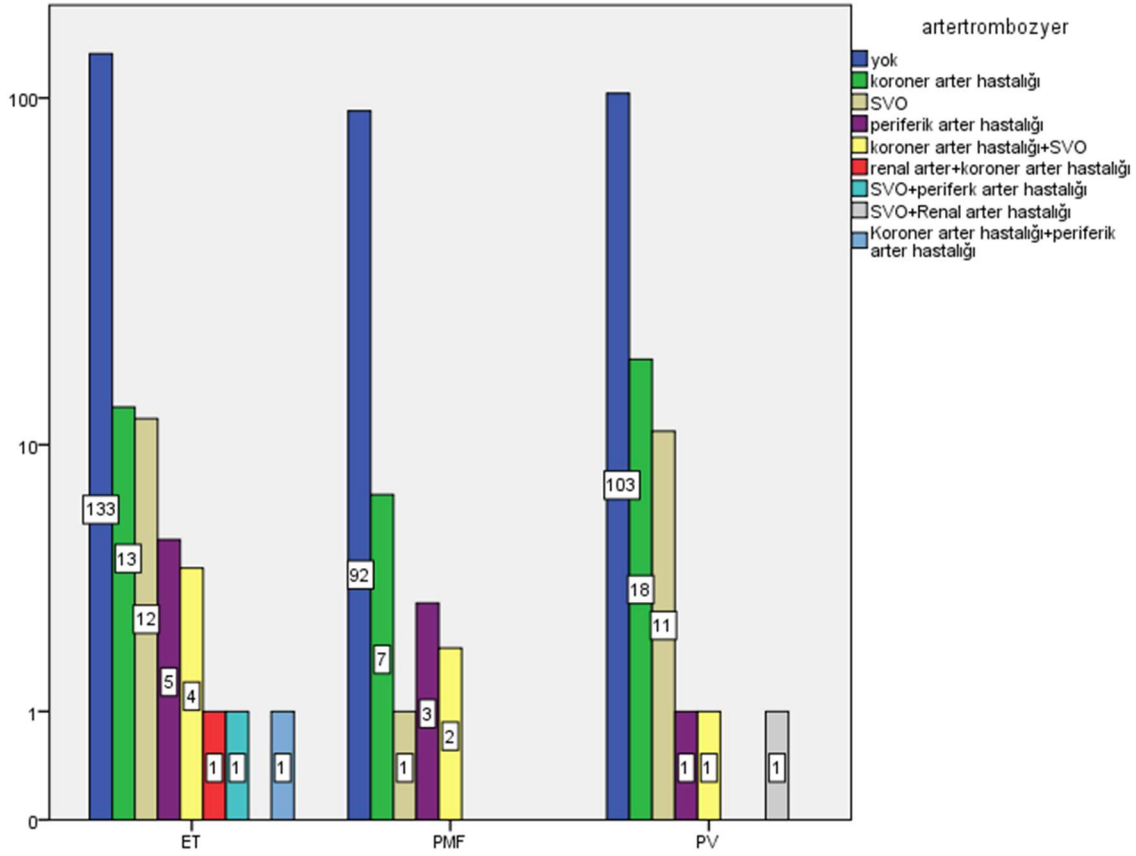
**Şekil VII. ET, PMF, PV Olgularında Tromboz Grup Dağılımı (n=410)**

ET'li olguların %15'inde (n=26), PMF'li olguların %10'unda (n=11), PV'lı olguların %15.5'inde (n=21) venöz tromboz saptanmıştır. ET'li venöz trombozu olan 26 olgunun 12'sinde batın içi tromboz, 7'sinde serebrovenöz tromboz, 4'ünde DVT, 2'sinde pulmoner emboli, 1'inde DVT ve batın içi tromboz saptanmıştır. PMF'li venöz trombozu olan 11 olgunun 9'unda batın içi tromboz, 1'inde DVT, 1'inde pulmoner emboli izlenmiştir. PV'lı venöz trombozu olan 21 olgunun ise 11'inde batın içi tromboz, 6'sında DVT, 2'sinde serebrovenöz tromboz, 1'inde pulmoner emboli, 1'inde DVT ve serebrovenöz tromboz gelişmiştir (Şekil VIII).



**Şekil VIII. ET, PMF, PV Olgularında Venöz Tromboz Oranları (n=410)**

ET'li olguların %22'sinde (n=37), PMF'li olguların %12'sinde (n=13), PV'lı olguların %24'ünde (n=32) arteriyel tromboz saptanmıştır. ET'li 37 olgunun 13'ünde koroner arter hastalığı, 12'sinde SVO, 5'inde periferik arter hastalığı, 4'ünde koroner arter hastalığı ve SVO, 1'inde renal arter hastalığı ve koroner arter hastalığı, 1'inde SVO ve periferik arter hastalığı, 1'inde koroner arter hastalığı ve periferik arter hastalığı mevcuttur. PMF'li arteriyel trombozu olan 13 olgunun 7'sinde koroner arter hastalığı, 3'ünde periferik arter hastalığı, 2'sinde koroner arter hastalığı ve SVO, 1'inde SVO gelişmiştir. Arteriyel trombozu olan 32 PV olgusunun 18'inde koroner arter hastalığı, 11'inde SVO, 1'inde periferik arter hastalığı, 1'inde koroner arter hastalığı ve SVO, 1'inde SVO ve renal arter hastalığı gelişmiştir (Şekil IX).



**Şekil IX. ET, PMF, PV Olgularında Arteriye Tromboz Oranları (n=410)**

Olguların %72.7'sinde (n=298) JAK2V617F mutasyonu pozitif ve %27.3'ünde (n=112) negatif saptanmıştır. Toplam 228 olguda (118 ET, 84 PMF ve 26 PV) JAK2V617F mutasyonu semi-kantitatif PZR yöntemi ile çalışılmıştır. 228 olgu arasında 135 JAK2V617F mutasyonu pozitif olan hastanın allel yük grubu belirlenmiş olup %80'i (n=108) düşük allel yüküne ( $\leq$ %50), %20'si (n=27) yüksek allel yüküne (>%50) sahiptir. Olguların %85.4'ü (n=350)'ü aspirin, %83.2'si (n=341) hidroksiüre, %11.7'si (n=48) warfarin, %9.3'ü (n=38) enoksaparin, %6.3'ü (n=26) klopidogrel, %5.9'u (n=24) anagrelid, %5.1'i (n=21) ruxolitininib, %3.2'si (n=13) PEG-INF, %2.7'si (n=11) INF, %1.2'si (n=5) oksimetolon, %1'i (n=4) azasitidin, %0.7'si (n=3) lenalidomid, %0.5'i (n=2) alkeran tedavisi almıştır. 3'üne tanı konulmadan önce olmak üzere toplam 11 olguya (%2.7) splenektomi uygulanmıştır. Olguların %1.5'i (n=6) allogeneik kök hücre nakli olmuştur. %2.9'unda (n=12) akut lösemiye dönüşüm gerçekleşmiştir ve %15.4'ü (n=63) ölmüştür. Olguların ortalama takip süresi 76.69 ay (SS 62.1) ve OS ise 81.76 ay (SS 63.89)'dir.

#### 4.1.2. ET, PMF ve PV Olguları ile İlgili Ayrı Ayrı Genel İstatistik Bilgileri

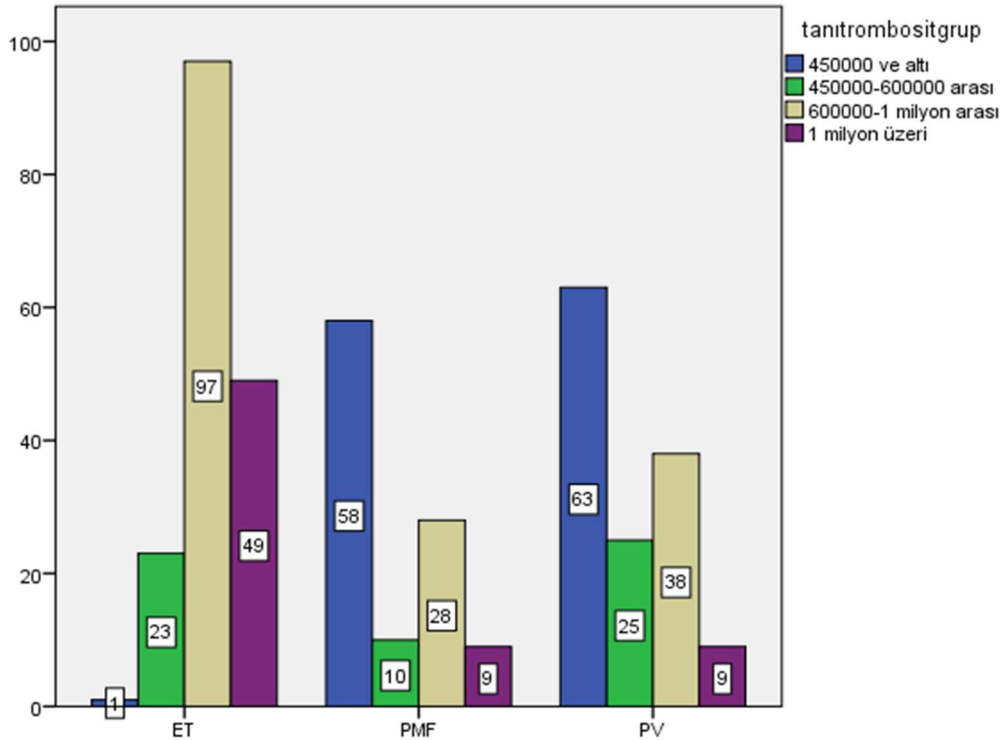
ET'li olguların %60'ı (n=102) kadın, %40'ı (n=68) erkek olup ET grubunda kadın cinsiyet oranı belirgin yüksektir (p=0.001). PV'lı olguların %65.2'si (n=88) erkek, %34.8'i (n=47) kadın olup erkek cinsiyet oranı belirgin yüksektir (p=0.001). PMF'li olguların %53.3'ü (n=56) kadın, %46.7'si (n=49) erkek olup cinsiyet açısından belirgin bir fark saptanmamıştır (Tablo XXV). PMF grubunda ortalama yaş anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (sırasıyla PMF için 63.09 (SS 13.64), ET için 57.93 (SS 15.65), PV için 61.22 (SS 14.13); p=0.016). PMF grubunda ortalama tanı yaşı da anlamlı olacak düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla PMF için 56.93 (SS 14.37), ET için 50.25 (SS 15.48), PV için 55.01 (SS 14.06); p=0.001).

**Tablo XXV. BCR-ABL negatif Miyeloproliferatif Neoplazi gruplarında demografik ve klinik özellikler**

Klinik Değişken		Esansiyel Trombositemi (n=170)	Primer Miyelofibrozis (n=105)	Polistemia Vera (n=135)	P değeri
<b>Cinsiyet n (%)</b>	Kadın	102 (%60)	56 (%53.3)	47 (%34.8)	<b>0.001*</b>
	Erkek	68 (%40)	49 (%46.7)	88 (%65.2)	
<b>Yaş (Ort±SS)</b>	-	57.93±15.65	63.09±13.64	61.22±14.13	<b>0.016*</b>
<b>Tanı yaşı (Ort±SS)</b>	-	50.25±15.48	56.93±14.37	55.01±14.06	<b>0.001*</b>
<b>Kanama n (%)</b>	Yok	153 (%90)	84 (%80)	121 (%89.6)	<b>0.033*</b>
	Var	17 (%10)	21 (%20)	14 (%10.4)	
<b>KVS risk n (%)</b>	Yok	58 (%34.1)	35 (%33.3)	21 (%15.6)	<b>0.001*</b>
	Var	112 (%65.9)	70 (%66.7)	114 (%84.4)	
<b>Tromboz n (%)</b>	Yok	114 (%67.1)	84 (%80)	83 (%61.5)	<b>0.008*</b>
	Var	56 (%32.9)	21 (%20)	52 (%38.5)	

**NOT:** Çalışmamızda PMF grubunun ortalama yaş ve ortalama tanı yaşı istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0.016; p=0.001). Bununla beraber kanama PMF grubunda, KVS risk faktörleri varlığı ve tromboz PV grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla p=0.033; p=0.001; p=0.008).

Tanı sırasında ortalama lökosit sayısı PMF’de ET ve PV’ya göre belirgin yüksek saptanmıştır (sırasıyla  $14.789/\text{mm}^3$  (SS 12.892),  $10.262/\text{mm}^3$  (SS 3.581),  $12.150/\text{mm}^3$  (SS 5.459);  $p=0.015$ ). Tanı sırasında ortalama trombosit sayısı ET grubunda PMF ve PV’ya göre belirgin yüksektir (sırasıyla  $932.700/\text{mm}^3$  (SS 385.270),  $482.600/\text{mm}^3$  (SS 369.400) ve  $524.730/\text{mm}^3$  (SS 293.000);  $p=0.001$ ). 63 (%46.7) PV, 58 (%55.2) PMF ve 1 (%0.6) ET tanılı olgunun trombosit sayısı  $<450.000/\text{mm}^3$ ; 25 (%18.5) PV, 10 (%9.5) PMF ve 23 (%13.5) ET tanılı olgunun trombosit sayısı  $450.000-600.000/\text{mm}^3$  arasında; 38 (%28.1) PV, 28 (%26.7) PMF ve 97 (%57.1) ET tanılı olgunun trombosit sayısı  $600.000-1.000.000/\text{mm}^3$  arasında; 9 (%6.7) PV, 9 (%8.6) PMF ve 49 (%28.8) ET tanılı olgunun trombosit sayısı  $>1.000.000/\text{mm}^3$  bulunmuştur.



**Şekil X. ET, PMF, PV Olgularında Trombosit Sayısı (n=410)**

PMF grubunda ET ve PV’ya göre Hgb ve Htc düzeyleri anlamlı derecede düşük saptanmıştır (sırasıyla  $11.31\text{ g/dl}$  (SS 2.70),  $13.38\text{ g/dl}$  (SS 1.82),  $16.81\text{ g/dl}$  (SS 2.53);  $p=0.001$  ve sırasıyla %34.3 (SS 8.56), %40.36 (SS 5.53), %51.41 (SS 7.4);  $p=0.001$ ). PMF grubunda PV ve ET grubuna göre dalak boyutları ve LDH düzeyleri belirgin yüksek saptanmıştır ( $p=0.001$ ;  $p=0.001$ ) (Tablo XXVI). ET’li olguların %32.9’unda ( $n=56$ ), PMF’li olguların



%20'sinde (n=21), PV'lı olguların %40.3'ünde (n=52) tromboz gelişmiştir. ET'li olguların %10'unda (n=17), PMF'li olguların %20'sinde (n=21), PV'lı olguların %10.4'ünde (n=14) kanama komplikasyonu ortaya çıkmıştır. Tromboz PV grubunda, kanama PMF grubunda anlamlı yüksek saptanmıştır (sırasıyla  $p=0.008$ ;  $p=0.033$ ). ET'li olguların %65.9'u (n=112), PMF'li olguların %66.7'si (n=70), PV'lı olguların %84.4'ü (n=114) KVS risk faktörlerine sahip olup; PV grubunda ET ve PMF grubuna göre KVS risk belirgin yüksektir ( $p=0.001$ ). ET grubunda PV ve PMF grubuna göre ortalama takip süresi daha yüksektir (sırasıyla 87.01 ay (SS 67.82), 70.42 ay (SS 56.39) ve 68.03 ay (SS 57.41);  $p=0.038$ ). Çalışmamızda PMF grubunda lösemiye dönüşüm ve ölüm oranı diğer 2 gruba göre yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p=0.004$ ;  $0.001$ ) (Tablo XXVII). 'Kaplan-Meier' analizi sonucunda PMF'de OS, PV ve ET'ye göre belirgin kısa bulunmuştur (sırasıyla ortalama 172 ay; %95 CI: 129-215, 218 ay; %95 CI: 198-238 ve 244 ay; %95 CI: 200-268;  $p=0.017$ ) (Şekil XI). PMF'de LFS, PV ve ET'ye göre belirgin kısa bulunmuştur (sırasıyla ortalama 188 ay; %95 CI: 140-235; 223 ay; %95 CI: 205-242; 248 ay; %95 CI: 224-272;  $p=0.002$ ) (Şekil XII).

Üç grup arasında karşılaştırma yapıldığı zaman PV grubunda JAK2V617F mutasyon sıklığı PMF ve ET grubuna göre anlamlı yüksek saptanmıştır ( $p=0.001$ ) (Tablo XVIII). Hangi gruplar arasında anlamlı fark olduğunu anlamak için Mann-Whitney testi yapılmıştır. PV grubunda ET'ye göre JAK2V617F mutasyon sıklığı anlamlı yüksek saptanırken PMF grubundaki JAK2V617F mutasyon sıklığı da ET'ye göre yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p=0.001$ ;  $p=0.029$ ). JAK2V617F mutasyon sıklığı açısından PV ile PMF arasında fark gözlenmemiştir ( $p=0.318$ ). Üç grup karşılaştırıldığı zaman PMF'de yüksek JAK2 allel yük insidensi PV ve ET'ye göre anlamlı yüksek saptanmıştır ( $p=0.003$ ) (Tablo XXVIII). İkili karşılaştırmada PMF'de yüksek allelik yük insidensi, ET'ye göre anlamlı yüksek saptanırken PV grubuna göre yüksek olma eğilimindedir (sırasıyla  $p=0.001$ ;  $p=0.055$ ). ET ile PV arasında JAK2 allel yüküne göre yapılan karşılaştırmada anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p=0.88$ ).

**Tablo XXVI. BCR-ABL negatif Miyeloproliferatif Neoplazi gruplarının klinik ve laboratuvar bulguları**

	Esansiyel Trombositemi (n=170) (Ort±SS)	Primer Miyelofibrozis (n=105) (Ort±SS)	Polistemia Vera (n=135) (Ort±SS)	P değeri
Lökosit (mm <sup>3</sup> )	10.262±3.581	14.789±12.892	12.150±5.459	<b>0.015*</b>
Hemoglobin (g/dL)	13.38±1.82	11.31±2.70	16.81±2.53	<b>0.001*</b>
Hematokrit (%)	40.36±5.53	34.30±8.56	51.41±7.4	<b>0.001*</b>
Trombosit (mm <sup>3</sup> )	932.700±385.200	482.600±369.400	524.730±293.000	<b>0.001*</b>
LDH (U/L)	374±172	721±400	360±206	<b>0.001*</b>
Dalak Boyut (mm)	131±26	188±47	130±23	<b>0.001*</b>
Takip Süresi (Ay)	87.01±67.82	68.03±57.41	70.42±56.39	<b>0.038*</b>
OS-Kaplan Meier (Ay) Ort (% 95 CI)	244 ay (200-268)	172 ay (129-215)	218 ay (198-238)	<b>0.017*</b>

**NOT:** Çalışmamızda ET grubunda tanıdaki ortalama lökosit sayısı anlamlı düşük ve ortalama trombosit sayısı, takip süresi ve yaşam süresi anlamlı yüksek gözlenirken; PMF grubunda tanıdaki ortalama Hgb, Htc düzeyi anlamlı düşük, ortalama dalak boyutu ve LDH değeri anlamlı yüksek saptanmıştır.

**Tablo XXVII. BCR-ABL negatif Miyeloproliferatif Neoplazi gruplarının lösemiye dönüşüm ve ölüm açısından karşılaştırılması**

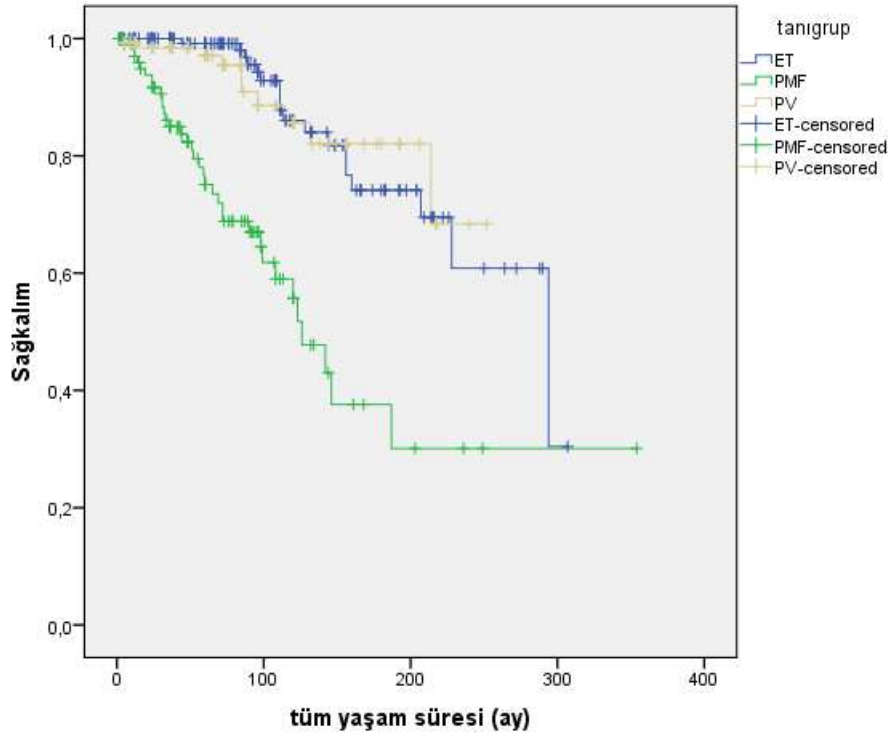
	Esansiyel Trombositemi (n=170)	Primer Miyelofibrozis (n=105)	Polistemia Vera (n=135)	P değeri
<b>Lösemiye dönüşüm</b>				
<b>Var</b>	2 (%1.2)	8 (%7.6)	2 (%1.5)	<b>0.004*</b>
<b>Yok</b>	168 (%98.8)	97 (%92.4)	133 (%98.5)	
<b>Ölüm</b>				
<b>Var</b>	18 (%10.6)	35 (%33.3)	10 (%7.4)	<b>0.001*</b>
<b>Yok</b>	152 (%89.4)	70 (%66.)	125 (%92.6)	

**NOT:** Çalışmamızda PMF grubunda lösemiye dönüşüm ve ölüm oranı diğer 2 gruba göre yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0.004; 0.001).

**Tablo XXVIII. BCR-ABL negatif Miyeloproliferatif Neoplazi gruplarının JAK2V617F mutasyon sıklığı ve JAK2V617F allel yüküne göre karşılaştırılması**

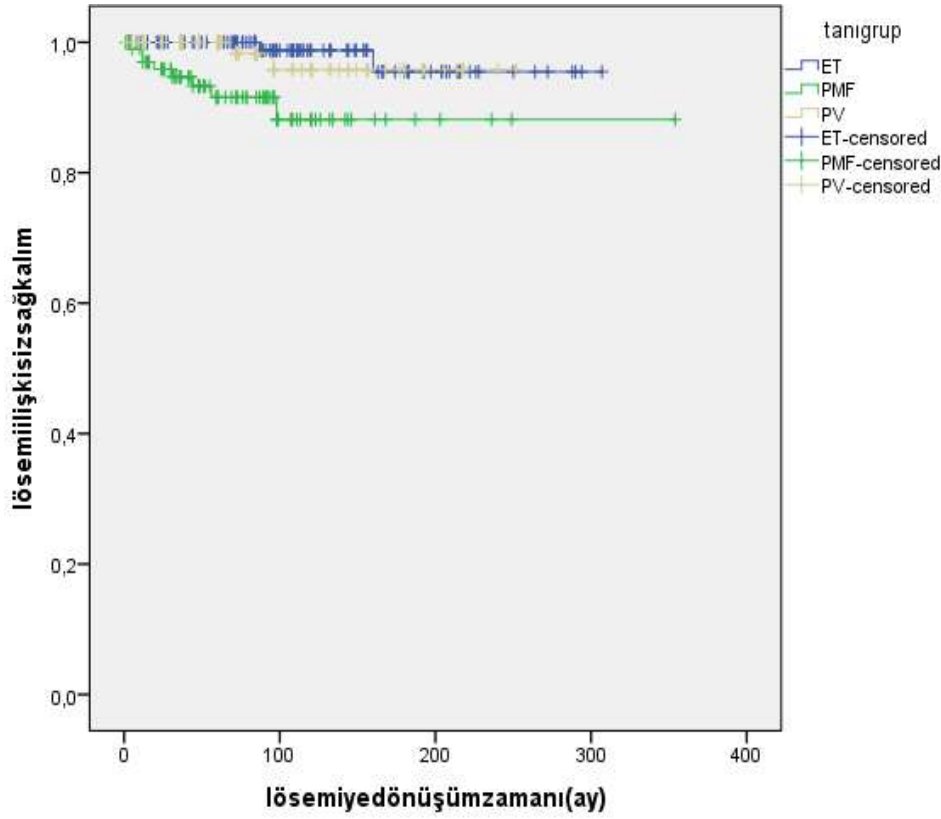
	Esansiyel Trombositemi n (%)	Primer Miyelofibrozis n (%)	Polistemia Vera n (%)	P değeri
JAK2V617F (+)	108 (%63.5)	80 (%76.2)	110 (%81.5)	<b>0.001*</b>
JAK2V617F (-)	62 (%36.5)	25 (%23.8)	25 (%18.5)	
	Esansiyel Trombositemi n (%)	Primer Miyelofibrozis n (%)	Polistemia Vera n (%)	P değeri
JAK2 wild tip	54 (%45.8)	25 (%29.8)	14 (%53.8)	<b>0.003*</b>
Düşük JAK2 allel yükü	59 (%50)	41 (%48.8)	8 (%30.8)	
Yüksek JAK2 allel yükü	5 (%4.2)	18 (%21.4)	4 (%15.4)	

**NOT:** Çalışmamızda PV grubunda JAK2V617F mutasyon sıklığı anlamlı yüksek ve PMF'de yüksek JAK2 allel yükü anlamlı yüksek saptanmıştır (sırasıyla p=0.001 ve p=0.003).



**Şekil XI. ET, PV ve PMF olgularında OS'nin 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü**

PMF'de OS, PV ve ET'ye göre belirgin kısa bulunmuştur (sırasıyla ortalama 172 ay; %95 CI: 129-215, 218 ay; %95 CI: 198-238 ve 244 ay; %95 CI: 200-268; p=0.017).

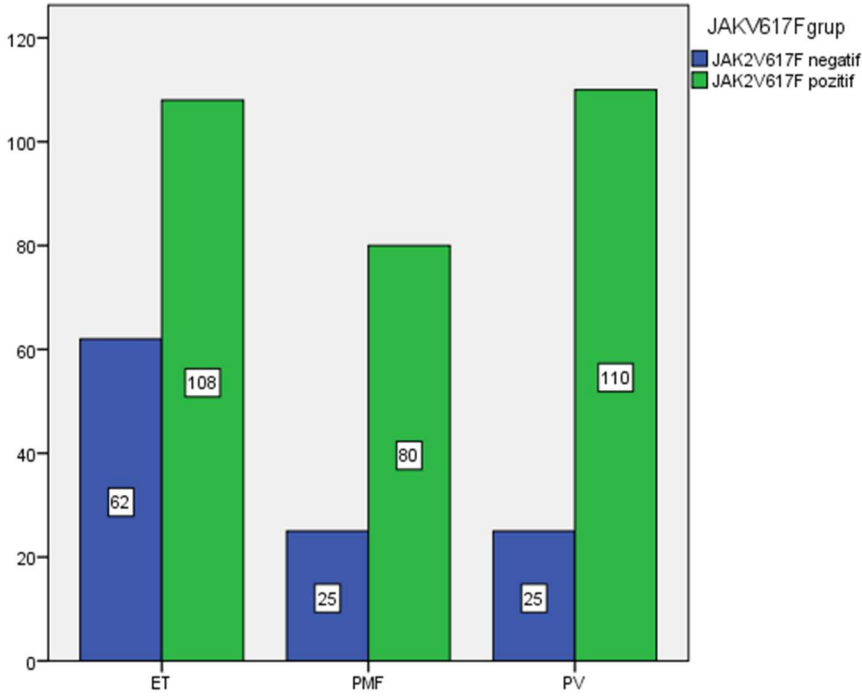


**Şekil XII. ET, PV ve PMF olgularında LFS'nin 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü**

PMF'de LFS, PV ve ET'ye göre belirgin kısa bulunmuştur. (sırasıyla ortalama 188 ay; %95 CI: 140-235; 223 ay; %95 CI: 205-242; 248 ay; %95 CI: 224-272; p=0.002)

#### 4.1.3. Tüm Olgularda JAK2V617F Mutasyonu ile İlişkili Klinik Özellikler

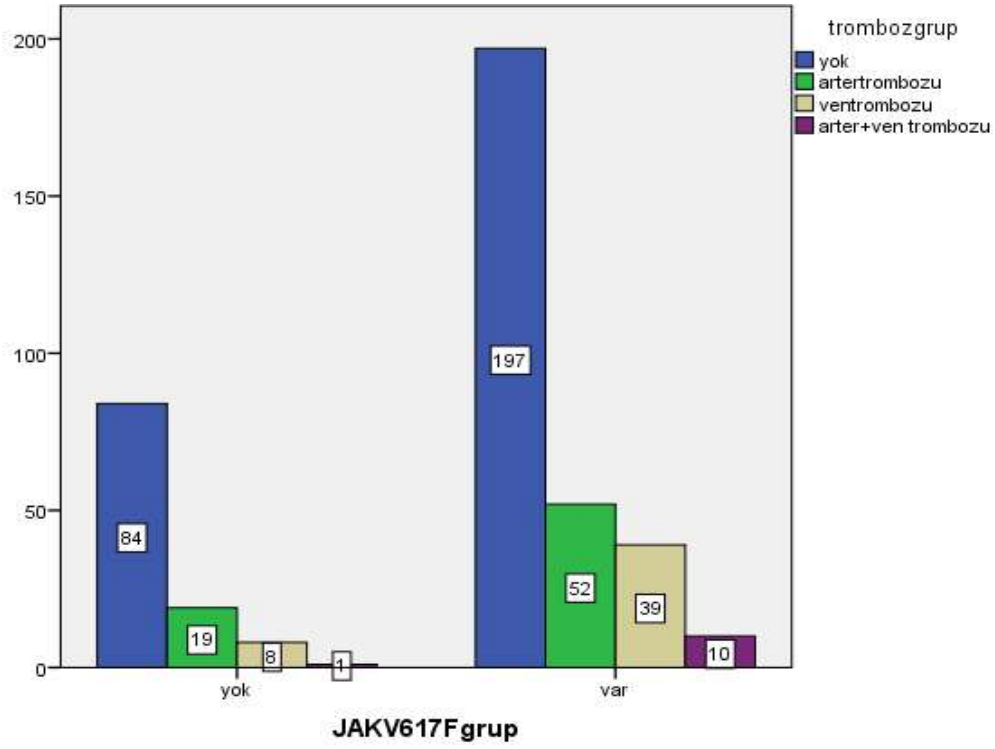
Olguların %27.3'ünde (n=112) JAK2V617F mutasyonu negatif, %72.7'sinde (n=298) JAK2V617F mutasyonu pozitifdir. JAK2V617F mutasyonu pozitif ve negatif olgular arasında cinsiyet oranları açısından fark saptanmamıştır (sırasıyla her iki grup için erkek cinsiyet oranı %50, kadın cinsiyet oranı %50; p=1) (Tablo XXIX).



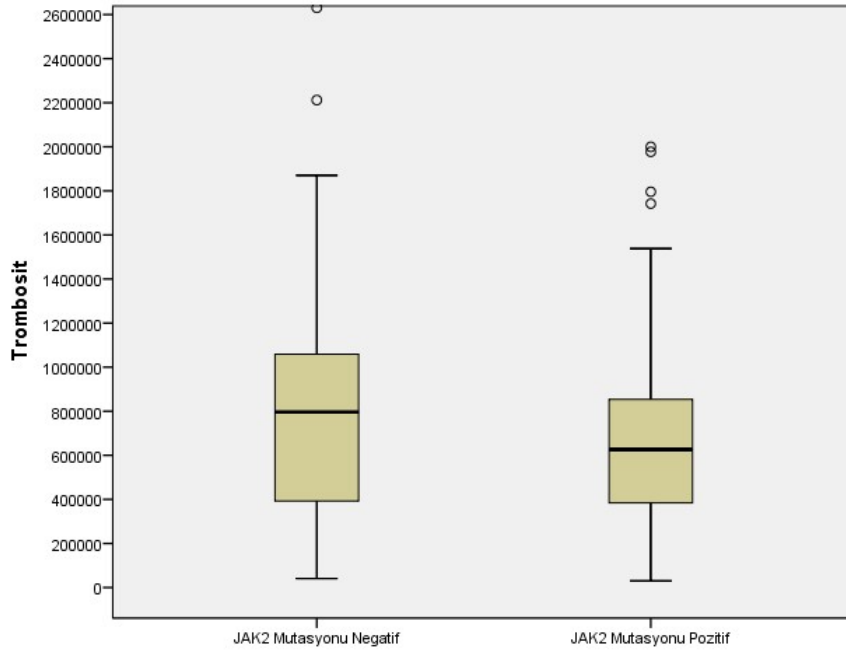
**Şekil XIII. JAK2V617F Mutasyonunun ET, PMF, PV Olgularında Dağılımı (n=410)**

JAK2V617F mutasyonu pozitif ve negatif olan olgular arasında ortalama yaş açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla 60.97 (SS 14.78), 58.63 (SS 14.71);  $p=0.117$ ). JAK2V617F-pozitif grupta JAK2V617F-negatif gruba göre tanı yaşı yüksek olma eğilimindedir (sırasıyla 54.34 (SS 15), 51.39 (SS 14.79);  $p=0.052$ ) (Tablo XXIX). JAK2V617F mutasyonunu taşıyan grupta tanı sırasındaki Hgb düzeyi ve Htc değeri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla 14.25 g/dl (SS 3.06), 13.26 g/dl (SS 3.3);  $p=0.005$  ve %43.46 (SS 9.66), %39.75 (SS 9.42);  $p=0.001$ ). JAK2V617F mutasyonu pozitif grupta negatif gruba göre tanıdaki ortalama lökosit sayısı belirgin yüksek bulunmuştur (sırasıyla 12.880/mm<sup>3</sup> (SS 8.541), 9.815/mm<sup>3</sup> (SS 4.602);  $p=0.001$ ). JAK2V617F mutasyonu pozitif grupta negatif gruba göre tanıdaki ortalama trombosit sayısı belirgin düşük saptanmıştır (sırasıyla 639.420/mm<sup>3</sup> (SS 351.700), 799.320/mm<sup>3</sup> (SS 521.100);  $p=0.003$ ). JAK2V617F-pozitif ve JAK2V617F-negatif grup arasında LDH düzeyi açısından fark saptanmamıştır ( $p=0.876$ ). JAK2V617F mutasyonunu taşıyan grupta tanıdaki dalak boyutu diğer gruba göre büyük olma eğilimindedir (sırasıyla 148.33 (SS 43.08), 137.74 (SS 31.87);  $p=0.056$ ). Her iki grup arasında LDH düzeyi açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0.876$ ) (Tablo XXIX). Tüm olguların %12.7'sinde (n=52) kanama, %31.5'inde (n=129) tromboz gelişmiştir. Total tromboz sıklığı JAK2V617F mutasyonu pozitif olan grupta %33.6 (n=100), JAK2V617F mutasyonu negatif grupta %25.9 (n=29) olup JAK2V617F mutasyonu pozitif olan grupta yüksek olma eğilimindedir ( $p=0.059$ ).

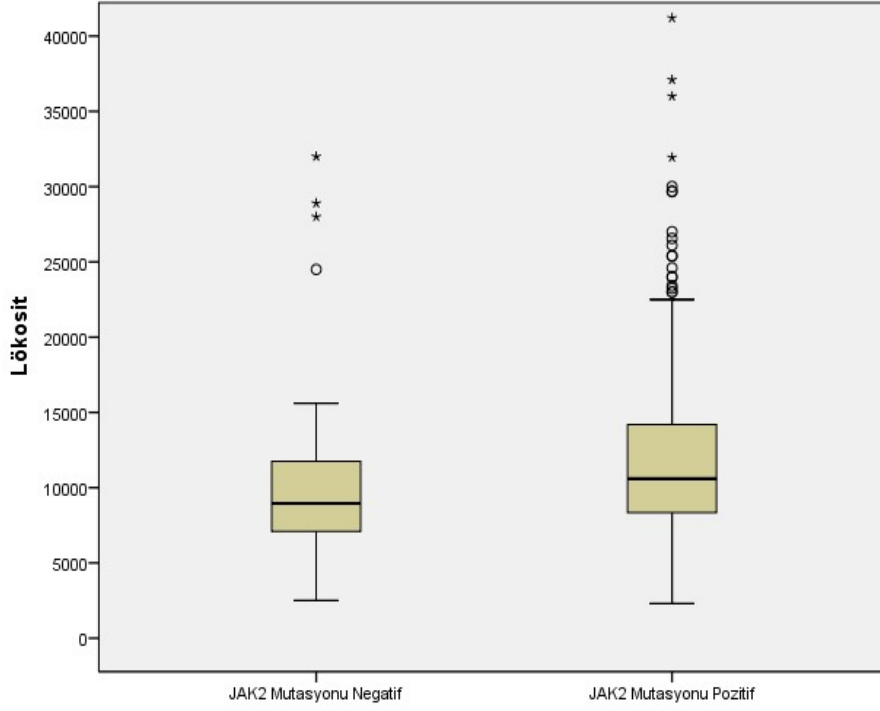
JAK2V617F mutasyonu pozitif olan grubun %17.4'ünde (n=52) arteriyel tromboz, %13.1'inde (n=39) venöz tromboz ve %3.4'ünde (n=10) kombine arteriyel+venöz tromboz gelişmiştir. JAK2V617F mutasyonu negatif olan grupta arteriyel tromboz oranı %17 (n=19), venöz tromboz oranı %7.1 (n=8) ve kombine arteriyel+venöz tromboz oranı %0.9 (n=1) saptanmıştır. Aynı ayrı bakıldığında JAK2V617F mutasyonunu taşıyan MPN'de venöz tromboz sıklığı JAK2V617F mutasyonunu taşımayan gruba göre anlamlı artış göstermiştir (sırasıyla %13.1; %7.1; p=0.036). Fakat arteriyel tromboz açısından mutasyonu olan ve olmayan grup arasında bir fark yoktur (sırasıyla %17.8; %17; p=0.498). JAK2V617F mutasyonu pozitif ve negatif grup arasında kanama açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla %14.4 (n=43), %8 (n=9) p=0.083). JAK2V617F mutasyonu taşıyan grupta KVS risk faktörleri yüksek olma eğilimindedir (sırasıyla %74.8, %65.2; p=0.052). JAK2V617F mutasyonu pozitif olan grupta negatif gruba göre flebotomi oranı anlamlı düzeyde daha yüksektir (sırasıyla %35.2, %20.5; p=0.004). JAK2V617F mutasyonu pozitif ve negatif olgular arasında takip süresi benzerdir (sırasıyla 74.67 ay (SS 61,73), 82.04 ay (SS 63.07); p=0.224). JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan MPN grubu arasında lösemiye dönüşüm ve ölüm oranları açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla p=0.855; p=0.11) (Tablo XXX). 'Kaplan-Meier' analizi sonucunda JAK2V617F mutasyonunu taşıyan (n=298) ve taşımayan (n=112) MPN olguları arasında OS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 234 ay; %95 CI: 204-264 ve 230 ay; %95 CI: 199-260; p=0.199) (Şekil XVIII). JAK2V617F mutasyonu olan (n=298) ve olmayan (n=112) MPN olguları arasında LFS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 338 ay; %95 CI: 328-349 ve 275 ay; %95 CI: 257-293; p=0.748) (Şekil XIX).



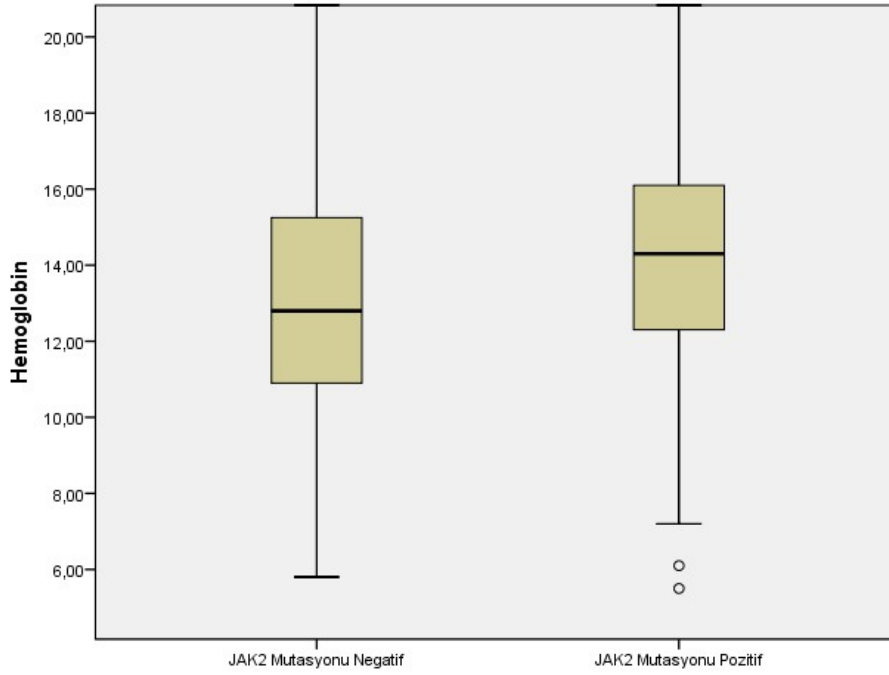
Şekil XIV. JAK2V617F mutasyon Varlığına Göre Tromboz Dağılımı (n=410)



Şekil XV. JAK2V617F Pozitif ve Negatif Olgularda Trombosit Dağılımı (n=410)



**Şekil XVI. JAK2V617F Pozitif ve Negatif Olgularda Lökosit Dağılımı (n=410)**



**Şekil XVII. JAK2V617F Pozitif ve Negatif Olgularda Hemoglobin Düzeyi Dağılımı (n=410)**



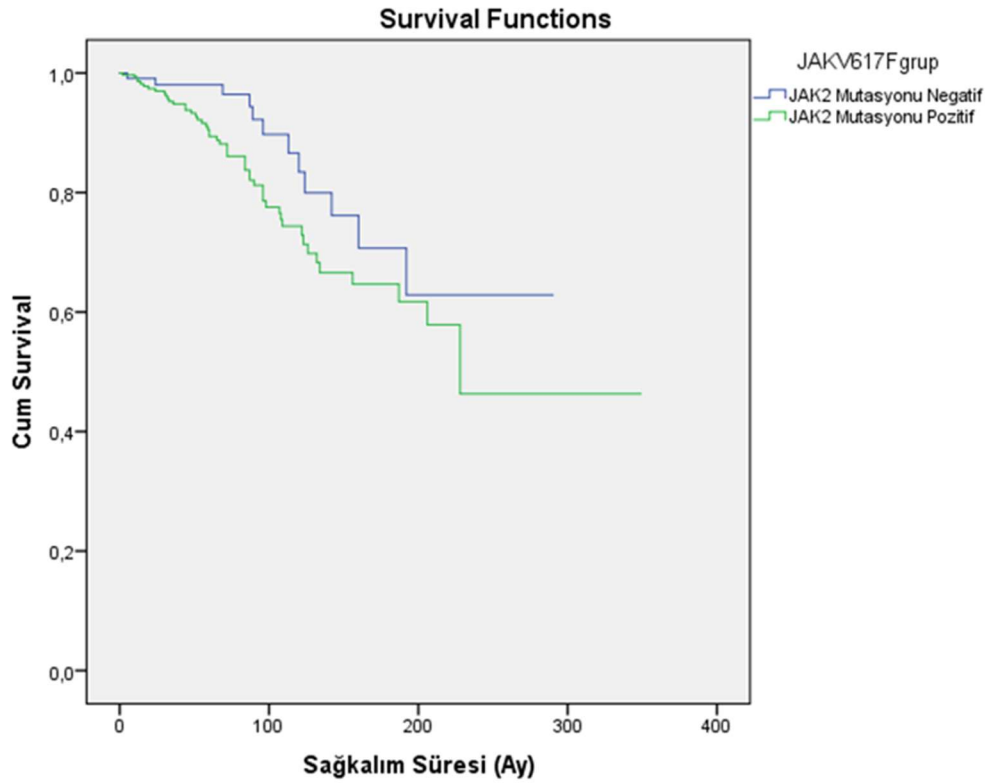
**Tablo XXIX. Tüm Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik Özellikler**

	Klinik Değişken	JAK2V617F	JAK2V617F	P değeri
		Mutasyonu Negatif (n=112)	Mutasyonu Pozitif (n=298)	
<b>Cinsiyet</b> n (%)	Kadın	56 (%50)	149 (%50)	1.000
	Erkek	56 (%50)	149 (%50)	
<b>Yaş</b> (Ort±SS)	-	58.63±14.71	60.97±14.78	0.117
<b>Tanı Yaşı</b> (Ort±SS)	-	51.39±14.79	54.34±15	0.052
<b>Kanama</b> n (%)	Yok	103 (%92)	255 (%85.6)	0.083
	Var	9 (%8)	43 (%14.4)	
<b>Flebotomi</b> n (%)	Yok	89 (%79.5)	193 (%64.8)	<b>0.004*</b>
	Var	23 (%20.5)	105 (%35.2)	
<b>KVS risk</b> n (%)	Yok	39 (%34.8)	75 (%25.2)	0.052
	Var	73 (%65.2)	223 (%74.8)	
<b>Tromboz</b> n (%)	Yok	83 (%74.1)	198 (%66.4)	0.059
	Var	29 (%25.9)	100 (%33.6)	
<b>Lökosit (mm<sup>3</sup>/L)</b>	-	9.815±4.602	12.880±8.541	<b>0.001*</b>
<b>Hemoglobin (g/dL)</b>	-	13.26±3.30	14.25±3.06	<b>0.005*</b>
<b>Hematokrit (%)</b>	-	39.75±9.42	43.46±9.66	<b>0.001*</b>
<b>Trombosit (mm<sup>3</sup>/L)</b>	-	799.320±521.100	639.420±351.700	<b>0.003*</b>
<b>LDH (U/L)</b>	-	438.11±260.33	465.96±315.30	0.876
<b>Dalak Boyut (mm)</b>	-	137.74±31.87	148.33±43.08	0.056
<b>Takip Süresi (Ay)</b>	-	82.04±63.07	74.67±61.73	0.224
<b>OS-Kaplan Meier</b> Ort (% 95 CI)	-	230 ay (199-260)	234 ay (204-264)	0.199

**NOT:** Çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu pozitif grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek flebotomi oranı, ortalama lökosit, Hgb, Htc düzeyi ve düşük trombosit sayısı gözlenmiştir.

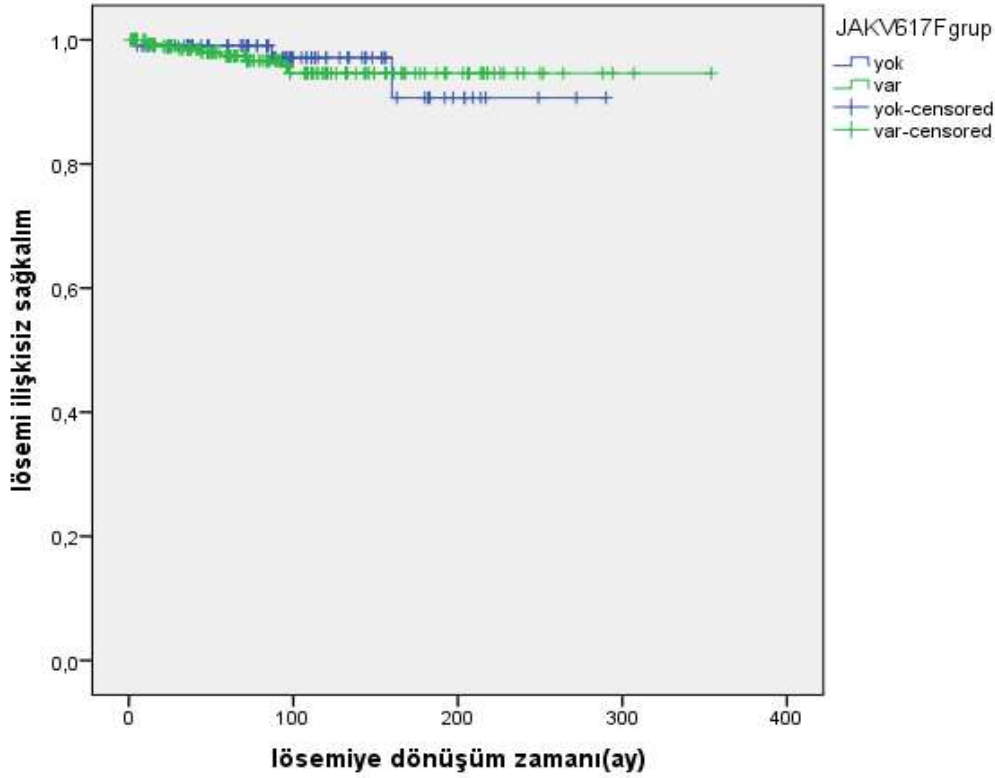
**Tablo XXX. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan MPN tanılı olguların lösemiye dönüşüm ve ölüm açısından karşılaştırılması**

	JAK2V617F Mutasyonu Negatif (n=112)	JAK2V617F Mutasyonu Pozitif (n=298)	P değeri
<b>Lösemiye dönüşüm</b>			
Var	3 (%2.7)	9 (%3)	0.855
Yok	109 (%97.3)	289 (%97)	
<b>Ölüm</b>			
Var	12 (%10.7)	51 (%17.1)	0.11
Yok	100 (%89.3)	247 (%82.8)	



**Şekil XVIII. JAK2V617F mutasyon varlığına göre tüm olgularda OS'nin 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü**

JAK2V617F mutasyonunu taşıyan (n=298) ve taşımayan (n=112) MPN olguları arasında OS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 234 ay; %95 CI: 204-264 ve 230 ay; %95 CI: 199-260; p=0.199)



**Şekil XIX. JAK2V617F mutasyon varlığına göre tüm olgularda LFS'in 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü**

JAK2V617F mutasyonunu taşıyan (n=298) ve taşımayan (n=112) MPN olguları arasında LFS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 338 ay; %95 CI: 328-349 ve 275 ay; %95 CI: 257-293; p=0.748)

#### 4.1.4. Polisitemia Vera Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu ile İlgili Klinik Özellikler

PV tanılı olguların %18.5'inde (n=25) JAK2V617F mutasyonu negatif, %81.5'inde (n=110) JAK2V617F mutasyonu pozitifdir. PV tanılı 135 olgunun 26'sında semi-kantitatif olarak JAK2V617F tayini yapılmıştır. 26 olgu JAK2 wild tip (n=14), düşük JAK2 allel yükü olanlar (n=8) ve yüksek allel yükü (n=4) olanlar olarak 3'e ayrılmıştır. Yani semi-kantitatif olarak JAK2V617F tayini yapılan 26 olgunun 8'inde (%30.7) allel yükü düşük, 4'ünde (%15.3) allel yükü yüksek saptanmıştır. JAK2V617F mutasyonu taşımayan PV grubunda JAK2V617F-pozitif PV grubuna göre erkek cinsiyet oranı belirgin yüksektir (sırasıyla %88, %60; p=0.008) (Tablo XXXI). JAK2V617F mutasyonu pozitif ve negatif olan PV'lı olgular arasında ortalama yaş ve tanı yaşı açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla p=0.071; p=0.082). (Tablo XXXI). JAK2V617F mutasyonu pozitif PV grubunda tanı sırasındaki ortalama trombosit değeri belirgin yüksektir (sırasıyla 557.090/mm<sup>3</sup> (SS 268.200), 382.300/mm<sup>3</sup> (SS 355.900); p=0.001).

JAK2V617F mutasyonunu taşıyan PV olgularında JAK2V617F mutasyonunu taşımayan grup ile karşılaştırıldığı zaman tanı sırasındaki ortalama lökosit sayısı belirgin yüksek saptanmıştır (sırasıyla  $12.970/\text{mm}^3$  (SS 5.590) ve  $8.538/\text{mm}^3$  (SS 2.797);  $p=0.001$ ). JAK2V617F mutasyonunu taşımayan PV grubunda tanı sırasındaki Hgb düzeyi anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $17.78 \text{ g/dl}$  (SS 1.94),  $16.59 \text{ g/dl}$  (SS 2.6);  $p=0.001$ ). JAK2V617F mutasyonu olan ve olmayan PV olguları arasında tanı sırasındaki Htc düzeyi, LDH düzeyi ve dalak boyutu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (sırasıyla  $p=0.622$ ;  $p=0.202$ ;  $p=0.351$ ) (Tablo XXXI). PV olgularının %10.3'ünde ( $n=14$ ) kanama, %38.5'inde ( $n=52$ ) tromboz gelişmiştir. JAK2V617F mutasyonu olan ile mutasyonu taşımayan olgular arasında kanama sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ( $p=0.499$ ). JAK2V617F mutasyonu pozitif PV grubunda total tromboz oranı JAK2V617F mutasyonu negatif olan gruba göre anlamlı yüksektir (sırasıyla %42.7, %20;  $p=0.035$ ) (Tablo XXXI). Aynı ayrı bakıldığında JAK2V617F mutasyonu taşıyan PV'de arteriyel tromboz sıklığı JAK2V617F mutasyonu taşımayan gruba göre anlamlı artış göstermiştir (%26.4; %8;  $p=0.042$ ). Fakat venöz tromboz açısından mutasyonu olan ve olmayan grup arasında bir fark yoktur (sırasıyla %15.4; %12;  $p=0.588$ ). Her iki grup arasında flebotomi oranları ve KVS risk faktörleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.782$ ;  $p=0.764$ ). Her iki grubun takip süresi benzerdir ( $p=0.883$ ). PV olgularının 2'sinde (%1.5) akut lösemiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Lösemiye transforme olan 2 olgu da JAK2V617F mutasyonu pozitif gruptadır ancak olguların allel yükü hesaplanmamıştır. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan PV grubu arasında lösemiye dönüşüm ve ölüm oranları açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.499$ ; 0.473) (Tablo XXXII). 'Kaplan-Meier' analizi sonucunda JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ( $n=110$ ) ve taşımayan ( $n=25$ ) PV olguları arasında OS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 217 ay; %95 CI: 196-238 ve 215 ay; %95 CI: 213-217;  $p=0.887$ ) (Tablo XXXI, Şekil XX).

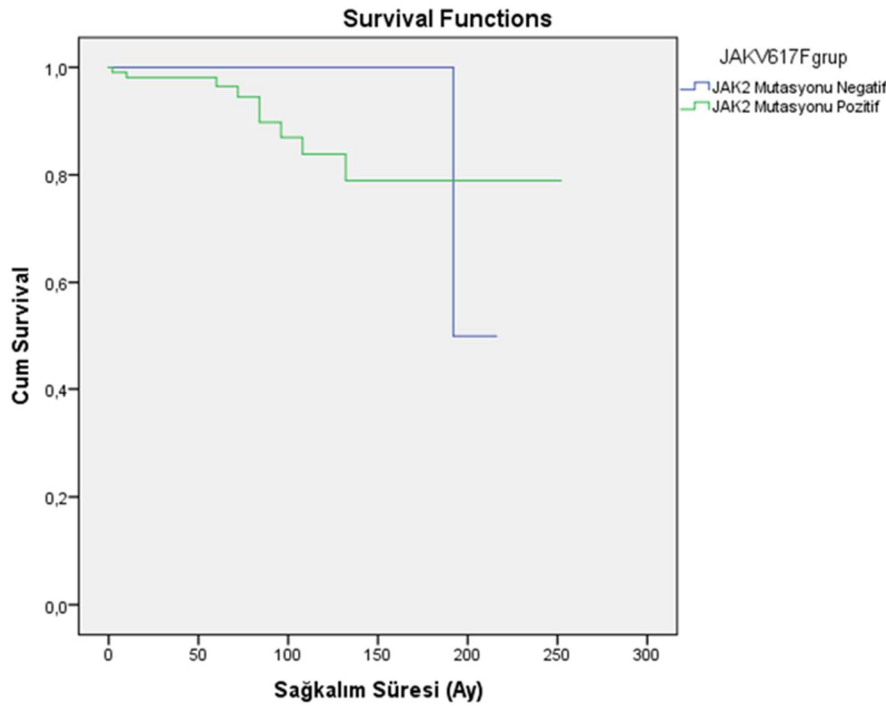
**Tablo XXXI. Polistemia Vera Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik ve Laboratuvar Özellikler**

	Klinik Değişken	JAK2V617F Mutasyonu Negatif (n=25)	JAK2V617F Mutasyonu Pozitif (n=110)	P değeri
<b>Cinsiyet n (%)</b>	Kadın	3 (%12)	44 (%40)	<b>0.008*</b>
	Erkek	22 (%88)	66 (%60)	
<b>Yaş (Ort±SS)</b>	-	56.68±14.51	62.25±13.91	0.071
<b>Tanı Yaşı (Ort±SS)</b>	-	50.52±14.15	56.04±13.90	0.082
<b>Kanama n (%)</b>	Yok	23 (%92)	98 (%89.1)	0.499
	Var	2 (%8)	12 (%10.9)	
<b>Flebotomi n (%)</b>	Yok	5 (%20)	20 (%18.2)	0.782
	Var	20 (%80)	90 (%81.8)	
<b>KVS risk n (%)</b>	Yok	3 (%12)	18 (%16.4)	0.764
	Var	22 (%88)	92 (%83.6)	
<b>Tromboz n (%)</b>	Yok	20 (%80)	63 (%57.3)	<b>0.035*</b>
	Var	5 (%20)	47 (%42.7)	
<b>Lökosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	-	8.538±2.797	12.970±5.590	<b>0.001*</b>
<b>Hemoglobin (g/dL)</b>	-	17.78±1.94	16.59±2.60	<b>0.018*</b>
<b>Hematokrit (%)</b>	-	52.33±6.12	51.2±7.67	0.622
<b>Trombosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	-	382.330±355.900	557.090±268.200	<b>0.001*</b>
<b>LDH (U/L)</b>	-	294±110	375±220	0.202
<b>Dalak Boyut (mm)</b>	-	127±21	131±24	0.351
<b>Takip Süresi (Ay)</b>	-	68.7±55.86	70.81±56.76	0.883
<b>OS-Kaplan Meier Ort (% 95 CI)</b>	-	215 ay (213-217)	217 ay (196-238)	0.887

**NOT:** Çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu pozitif PV'da istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ortalama lökosit, trombosit sayısı, tromboz oranı, düşük erkek cinsiyet oranı ve düşük ortalama Hgb düzeyi saptanmıştır.

**Tablo XXXII. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan PV tanılı olguların lösemiye dönüşüm ve ölüm açısından karşılaştırılması**

	JAK2V617F Mutasyonu Negatif (n=25)	JAK2V617F Mutasyonu Pozitif (n=110)	P değeri
<b>Lösemiye dönüşüm</b>			
Var	0 (%0)	2 (%1.8)	0.499
Yok	25 (%100)	108 (%98.2)	
<b>Ölüm</b>			
Var	1 (%4)	9 (%8.2)	0.473
Yok	24 (%96)	101 (%91.8)	



**Şekil XX. JAK2V617F mutasyon varlığına göre PV olgularında OS'nin 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü**

JAK2V617F mutasyonunu taşıyan (n=110) ve taşımayan (n=25) PV olguları arasında OS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 217 ay; %95 CI: 196-238 ve 215 ay; %95 CI: 213-217; p=0.887)

#### 4.1.5. Esansiyel Trombositemi Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik Özellikler

ET tanılı olguların %36.5'inde (n=62) JAK2V617F mutasyonu negatif, %63.5'inde (n=108) JAK2V617F mutasyonu pozitifdir. PV tanılı 170 olgunun 118'inde semi-kantitatif olarak JAK2V617F tayini yapılmıştır. 118 olgu JAK2 wild tip (n=54), düşük JAK2 allel yükü

olanlar (n=59) ve yüksek allel yükü (n=5) olanlar olarak 3'e ayrılmıştır. Yani semi-kantitatif olarak JAK2V617F tayini yapılan 118 olgunun 59'unda (%50) allel yükü düşük, 5'inde (%4.2) allel yükü yüksek saptanmıştır. JAK2V617F mutasyonu pozitif ve negatif olan ET'li olgular arasında ortalama yaş ve tanı yaşı açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.554$  ve  $p=0.506$ ) (Tablo XXXIII). ET'li hastalarda JAK2V617F mutasyonu pozitif ve negatif olan grup arasında cinsiyet açısından fark saptanmamıştır ( $p=0.091$ ) (Tablo XXXIII). JAK2V617F mutasyonunu taşıyan grupta tanı sırasındaki Hgb düzeyi ve Htc değeri anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p=0.001$ ;  $p=0.001$ ). JAK2V617F mutasyonunu taşımayan grupta ise tanı sırasındaki ortalama trombosit değeri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p=0.001$ ). Her iki grup arasında tanı sırasındaki ortalama lökosit sayısı ve serum LDH düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.819$ ;  $p=0.078$ ). ET'li hastalar arasında dalak boyutu, KVS risk ile JAK2V617F mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.495$ ;  $p=0.339$ ) (Tablo XXXIII). ET'li olguların %10'unda (n=17) kanama, %32.9'unda (n=56) tromboz gelişmiştir. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ET tanılı olguların %33.3'ünde (n=36), JAK2V617F mutasyonu negatif olanların ise %32.3'ünde (n=20) tromboz saptanmış olup; her iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0.886$ ). Ayrı ayrı bakıldığında her iki grup arasında arteriyel tromboz ve venöz tromboz açısından fark saptanmamıştır ( $p=0.846$ ;  $p=0.124$ ). Her iki grup arasında kanama sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ( $p=0.524$ ). Takip sürelerine bakıldığında ET'li olgularda JAK2V617F mutasyonu pozitif olanlarla negatif olanlar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla 85.23 ay (SS 67.87), 90.1 ay (SS 68.18);  $p=0.56$ ). ET olgularının 2'sinde (%1.2) akut lösemiye transformasyon gerçekleşmiştir. Akut lösemiye transforme olan iki olgunun da JAK2V617F mutasyonu negatiftir. JAK2V617F mutasyonunu taşımayan ET grubunda lösemiye dönüşüm diğer gruba göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (sırasıyla %3.2; 0;  $p=0.061$ ) (Tablo XXXIV). Her iki grup arasında ölüm oranları açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0.419$ ) (Tablo XXXIV). 'Kaplan-Meier' analizi sonucunda JAK2V617F mutasyonunu taşıyan (n=108) ve taşımayan (n=62) ET olguları arasında OS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 237 ay; %95 CI: 208-267 ve 251 ay; %95 CI: 221-282;  $p=0.879$ ) (Şekil XXI).

**Tablo XXXIII. Esansiyel Trombositemi Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik Özellikler**

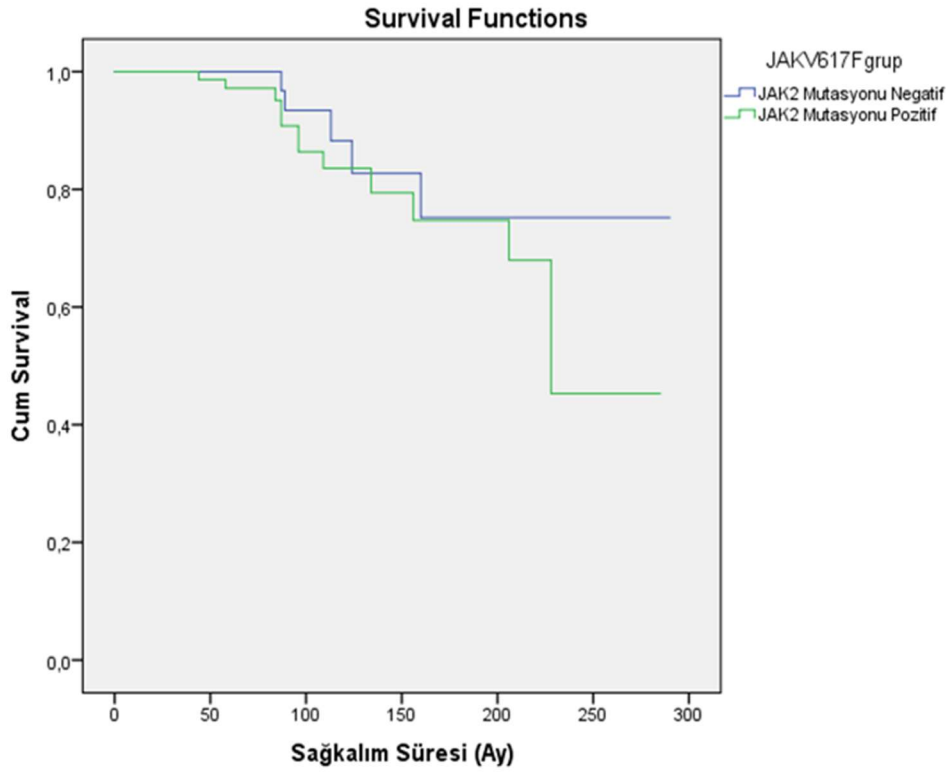
	Klinik Değişken	JAK2V617F Mutasyonu Negatif (n=62)	JAK2V617F Mutasyonu Pozitif (n=108)	P değeri
<b>Cinsiyet n (%)</b>	Kadın	32 (%51.6)	70 (%64.8)	0.091
	Erkek	30 (%48.4)	38 (%35.2)	
<b>Yaş (Ort±SS)</b>	-	58.87±14.87	57.39±16.12	0.554
<b>Tanı Yaşı (Ort±SS)</b>	-	51.15±14.87	49.74±15.86	0.506
<b>Kanama n (%)</b>	Yok	57 (%91.9)	96 (%88.9)	0.524
	Var	5 (%8.1)	12 (%11.1)	
<b>KVS risk n (%)</b>	Yok	24 (%38.7)	34 (%31.5)	0.339
	Var	38 (%61.3)	74 (%68.5)	
<b>Tromboz n (%)</b>	Yok	42 (%67.7)	72 (%66.7)	0.886
	Var	20 (%32.3)	36(%33.3)	
<b>Lökosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	-	10.119±3.288	10.344±3.751	0.819
<b>Hemoglobin (g/dL)</b>	-	12.55±1.96	13.86±1.56	<b>0.001*</b>
<b>Hematokrit (%)</b>	-	37.59±5.52	41.95±4.90	<b>0.001*</b>
<b>Trombosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	-	1.057.95±465.3	860.810±310.9	<b>0.001*</b>
<b>LDH (U/L)</b>	-	400.84±172.93	359.21±170.44	0.078
<b>Dalak Boyut (mm)</b>	-	128.51±20.72	132.49±28.80	0.495
<b>Takip Süresi (Ay)</b>	-	90.10±68.18	85.23±67.87	0.560
<b>OS-Kaplan Meier Ort (% 95 CI)</b>	-	251 ay (221-282)	237 ay (208-267)	0,879

**NOT:** Çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu pozitif ET'de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ortalama Hgb ve Htc düzeyi ve düşük ortalama trombosit sayısı saptanmıştır.



**Tablo XXXIV. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan ET tanılı olguların lösemiye dönüşüm ve ölüm açısından karşılaştırılması**

	JAK2V617F Mutasyonu Negatif (n=62)	JAK2V617F Mutasyonu Pozitif (n=108)	P değeri
<b>Lösemiye dönüşüm</b>			0.061
Var	2 (%3.2)	0 (%0)	
Yok	60 (%96.8)	108 (%100)	
<b>Ölüm</b>			0.419
Var	5 (%8.1)	13 (%12)	
Yok	57 (%91.9)	95 (%88)	



**Şekil XXI. ET Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonuna Göre OS'nin Kaplan Mayer Eğrisine Göre Görünümü (p=0.400).**

JAK2V617F mutasyonunu taşıyan (n=108) ve taşımayan (n=62) ET olguları arasında OS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 237 ay; %95 CI: 208-267 ve 251 ay; %95 CI: 221-282; p=0.879).

#### 4.1.6. Primer Miyelofibrozis Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik Özellikler

PMF tanılı olguların %23.8'inde (n=25) JAK2V617F mutasyonu negatif, %76.2'sinde (n=80) JAK2V617F mutasyonu pozitifdir. PMF tanılı 105 olgunun 84'ünde semi-kantitatif olarak JAK2V617F tayini yapılmıştır. 84 olgu JAK2 wild tip (n=25), düşük JAK2 allel yükü olanlar (n=41) ve yüksek allel yükü (n=18) olanlar olarak 3'e ayrılmıştır. Yani semi-kantitatif olarak JAK2V617F tayini yapılan 84 olgunun 41'inde (%48.8) allel yükü düşük, 18'inde (%21.4) allel yükü yüksek saptanmıştır. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan PMF grubunda taşımayan gruba göre erkek cinsiyet oranı belirgin yüksek bulunmuştur (sırasıyla %56.3, %16; p=0.001) (Tablo XXXV). JAK2V617F mutasyonu pozitif ve negatif olan PMF tanılı olgular arasında ortalama yaş ve tanı yaşı açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla; p=0.197 ve p=0.107) (Tablo XXXV). JAK2V617F mutasyonu pozitif PMF tanılı olgularda negatif olanlara göre ortalama lökosit sayısı belirgin yüksek saptanmıştır (sırasıyla 16.180/mm<sup>3</sup> (SS 13.865), 10.337/mm<sup>3</sup> (SS 7.771); p=0.019) (Tablo XXXV). JAK2V617F mutasyonu pozitif PMF'de tanı sırasında ortalama Hgb düzeyi yüksek olma eğilimindedir (p=0.056). Her iki grup arasında Htc düzeyi açısından anlamlı fark saptanmamıştır (p=0.162). JAK2V617F mutasyonu pozitif ve negatif PMF tanılı olgular arasında trombosit ve LDH düzeyi açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla p=0.224; p=0.606). PMF olgularında JAK2V617F mutasyonunu taşıyan grupta tanı sırasında ortalama dalak boyutu taşımayan gruba göre anlamlı yüksek saptanmıştır (sırasıyla 193 mm (SS 48), 171 mm (SS 40.5); p=0.042) (Tablo XXXV). PMF'li olguların %20'sinde (n=21) kanama, %20'sinde (n=21) tromboz gelişmiştir. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan PMF tanılı olguların %21.3'ünde (n=17), JAK2V617F mutasyonu negatif olanların ise %16'sında (n=4) tromboz saptanmış olup; her iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0.567). Aynı ayrı bakıldığında JAK2V617F mutasyonu taşıyan ile taşımayan PMF olguları arasında arteriyel tromboz sıklığı açısından bir fark gözlenmezken JAK2V617F-pozitif grupta venöz tromboz insidensinde artış eğilimi vardır (sırasıyla %7.5; %16; p=0.531 ve %10; 0; p=0.051). Her iki grup arasında kanama sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0.086) (Tablo XXXV). JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan PMF tanılı olgular arasında KVS risk faktörleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0.075). Takip sürelerine bakıldığında PMF'li olgularda JAK2V617F mutasyonu pozitif olanlarla negatif olanlar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla 65.74 ay (SS 58.19), 75.36 ay (SS 55.32); p=0.304). PMF olgularının 8'inde (%7.6) akut lösemiye transformasyon gerçekleşmiştir. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan

olgular arasında lösemiye dönüşüm açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla %8.7; %4; p=0.437) (Tablo XXXVI). Her iki grup arasında ölüm oranları açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.259) (Tablo XXXVI). ‘Kaplan-Meier’ analizi sonucunda JAK2V617F mutasyonunu taşıyan (n=80) ve taşımayan (n=25) PMF olguları arasında OS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 162 ay; %95 CI: 114-210 ve 161 ay; %95 CI: 110-212; p=0.134) (Şekil XXII).

**Tablo XXXV. Primer Miyelofibrozis Tanılı Olgularda JAK2V617F Mutasyonu İlişkili Klinik Özellikler**

	Klinik Değişken	JAK2V617F	JAK2V617F	P değeri
		Mutasyonu Negatif (n=25)	Mutasyonu Pozitif (n=80)	
<b>Cinsiyet</b> n (%)	Kadın	21 (%84)	35 (%43.8)	<b>0.001*</b>
	Erkek	4 (%16)	45 (%56.3)	
<b>Yaş</b> (Ort±SS)	-	60±14.91	64.05±13.17	0.197
<b>Tanı Yaşı</b> (Ort±SS)	-	52.88±15.68	58.2±13.8	0.107
<b>Kanama</b> n (%)	Yok	23 (%92)	61 (%76.3)	0.086
	Var	2 (%8)	19 (%23.8)	
<b>KVS risk</b> n (%)	Yok	12 (%48)	23 (%28.7)	0.075
	Var	13 (%52)	57 (%71.3)	
<b>Tromboz</b> n (%)	Yok	21 (%84)	63 (%78.8)	0.567
	Var	4 (%16)	17 (%21.3)	
<b>Lökosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	-	10.337±7.771	16.180±13.865	<b>0.019*</b>
<b>Hemoglobin (g/dL)</b>	-	10.54±2.59	11.55±2.7	0.056
<b>Hematokrit (%)</b>	-	32.53±8.01	34.85±8.7	0.162
<b>Trombosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	-	574.900±415.300	453.760±351.700	0.224
<b>LDH (U/L)</b>	-	674.72±376.39	735.73±408.5	0.606
<b>Dalak Boyut (mm)</b>	-	171±40.5	193±48	<b>0.042*</b>
<b>Takip Süresi (Ay)</b>	-	75.36±55.32	65.74±58.19	0.304
<b>OS-Kaplan Meier</b>	-	161 ay	162 ay	0.134
<b>Ort (% 95 CI)</b>		(110-212)	(114-210)	

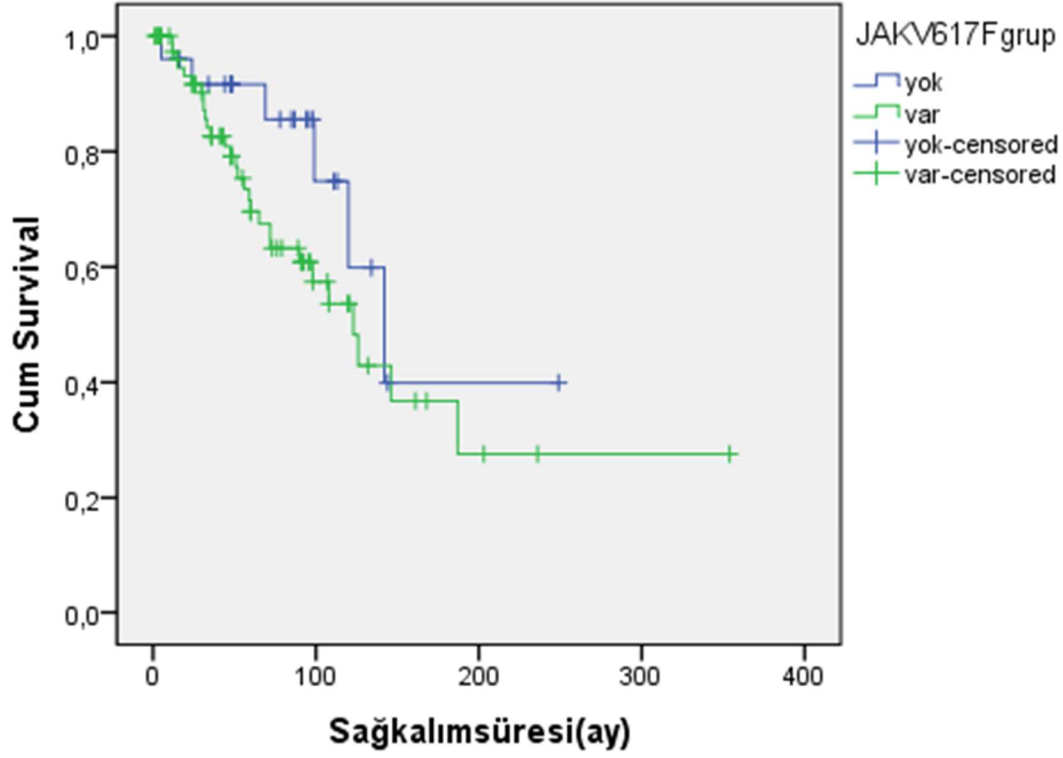
**NOT:** Çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu pozitif PMF'de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek erkek cinsiyet oranı, dalak boyutu ve ortalama lökosit sayısı saptanmıştır.

DIPSS-plus skorlarına bakıldığında olguların %19'u (n=20) düşük riskli, %37'si (n=39) orta-1 riskli, %33'ü (n=35) orta-2 riskli, %11'i (n=11) yüksek risklidir. 105 PMF olgusunun 8'inde (%7.6) lösemiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Bunların 2'si (%25) orta-1 risk, 3'ü (%37,5) orta-2 risk, geri kalan 3'ü (%37,5) yüksek risk grubundandır. Düşük risk grubundan hiç kimse lösemiye transforme olmamıştır. 'Kaplan-Meier' analizi sonucunda PMF olguları 'DIPSS-plus' kriterlerine göre düşük, orta-1, orta-2 ve yüksek riskli olarak gruplandırıldığı zaman yüksek riskli grupta diğerlerine göre OS anlamlı olarak kısa bulunmuştur (p=0.001) (Şekil XXIII).

Lösemi bağımsız sağ kalım analizleri incelendiğinde JAK2V617F mutasyonunu taşıyan (n=80) ve taşımayan (n=25) PMF olguları arasında LFS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 309 ay; %95 CI: 274-343 ve 239 ay; %95 CI: 221-258; p=0.354) (Şekil XXIV). PMF olguları 'DIPSS-plus' kriterlerine göre düşük, orta-1, orta-2 ve yüksek riskli olarak gruplandırıldığı zaman yüksek riskli grupta diğerlerine göre LFS anlamlı olarak kısa bulunmuştur (düşük risk için ortalama 236 ay; %95 CI:213-260; orta-1 için ortalama 327 ay; %95 CI:289-365; orta-2 için ortalama 167 ay; %95 CI:146-188 ve yüksek risk için 109 ay; %95 CI:73-145 ay; p=0.005) (Şekil XXV).

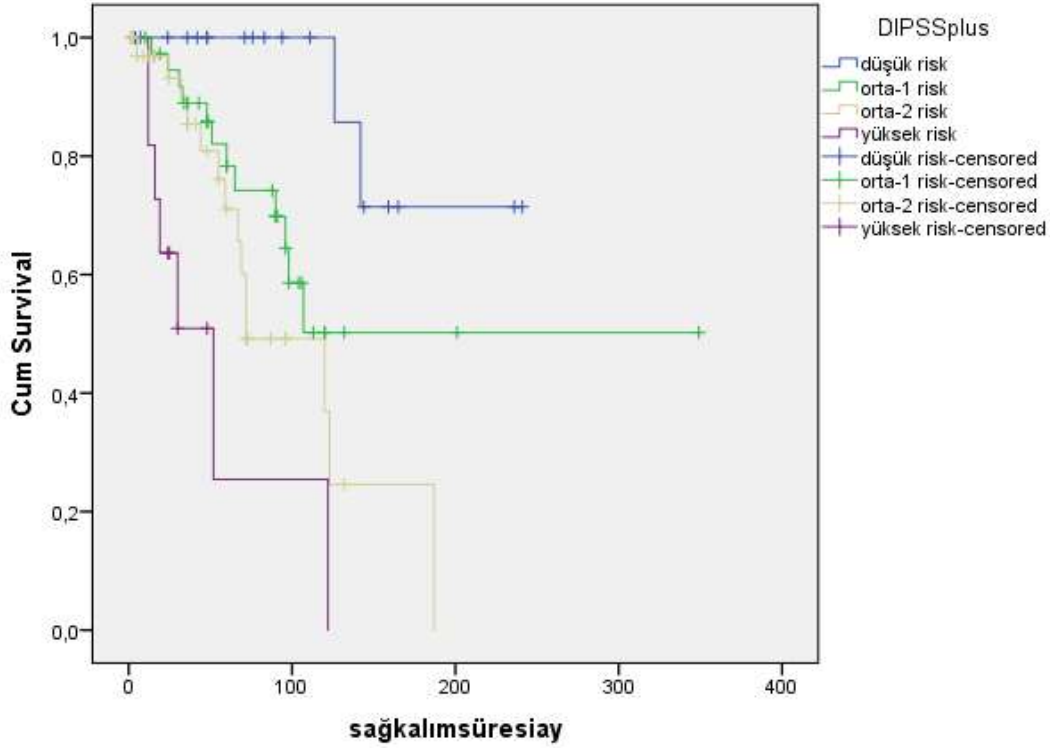
**Tablo XXXVI. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan PMF tanılı olguların lösemiye dönüşüm ve ölüm açısından karşılaştırılması**

	JAK2V617F Mutasyonu Negatif (n=25)	JAK2V617F Mutasyonu Pozitif (n=80)	P değeri
<b>Lösemiye dönüşüm</b>			
Var	1 (%4)	7 (%8.7)	0.437
Yok	24 (%96)	73 (%91.3)	
<b>Ölüm</b>			
Var	6 (%24)	29 (%36.25)	0.259
Yok	19 (%76)	51 (63.75)	



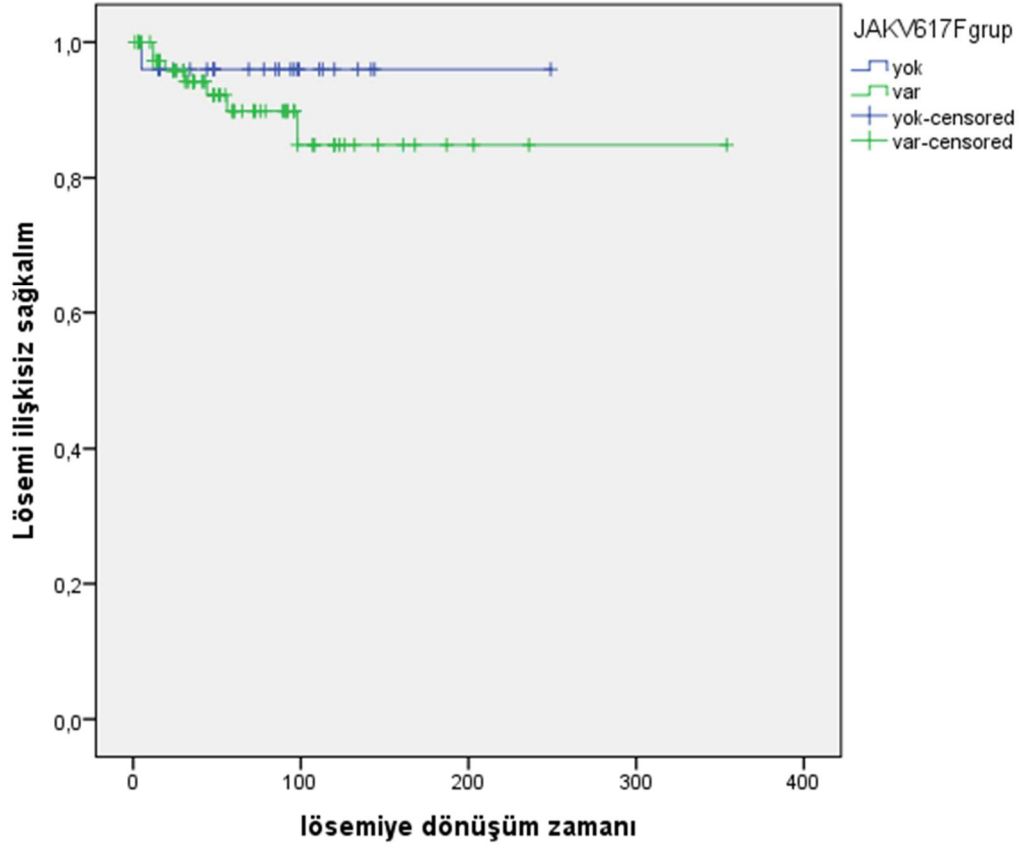
**Şekil XXII. JAK2V617F mutasyon varlığına göre PMF olgularında OS'nin 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü**

JAK2V617F mutasyonunu taşıyan (n=80) ve taşımayan (n=25) PMF olguları arasında OS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 162 ay; %95 CI: 114-210 ve 161 ay; %95 CI: 110-212; p=0.134).



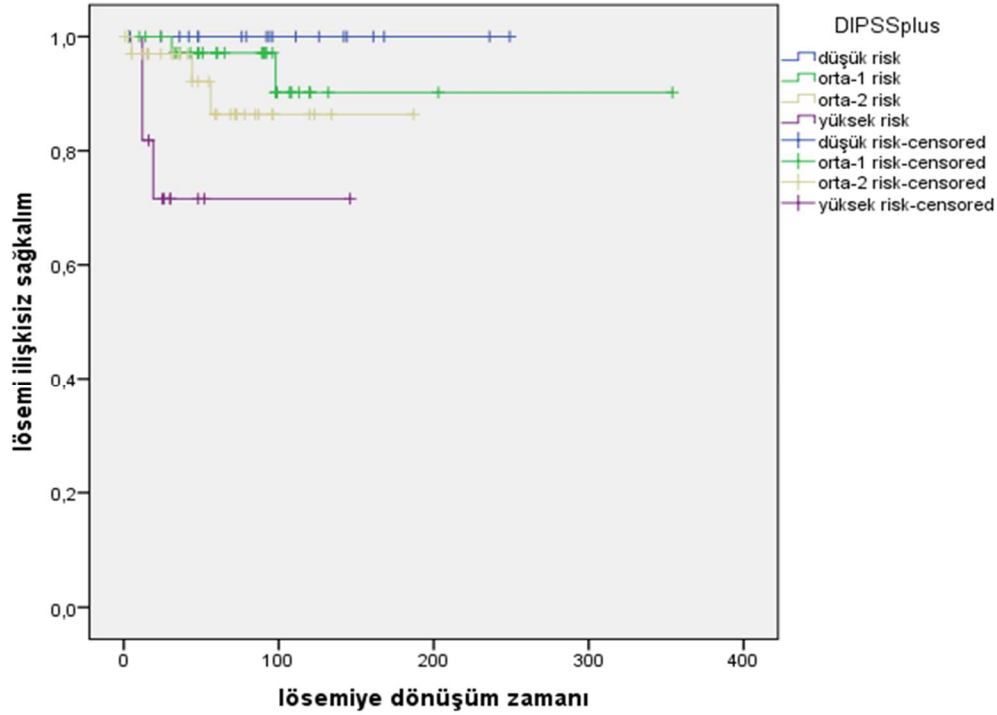
**Şekil XXIII. ‘DIPSS-plus’ kriterlerine göre PMF olgularında OS’nin ‘Kaplan-Meier’ analizindeki görünümü**

PMF olguları ‘DIPSS-plus’ kriterlerine göre düşük (n=20), orta-1 (n=39), orta-2 (n=35) ve yüksek riskli (n=11) olarak gruplandırıldığı zaman yüksek riskli grupta diğerlerine göre OS anlamlı olarak kısa bulunmuştur (düşük risk için ortalama 216 ay ; %95 CI:177-254; orta-1 için ortalama 222 ay; %95 CI:163-281; orta-2 için ortalama 104 ay; %95 CI:75-133 ve yüksek risk için 59 ay; %95 CI:14-104 ay; p=0.001)



**Şekil XXIV. JAK2V617F mutasyon varlığına göre PMF olgularında LFS'in 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü**

JAK2V617F mutasyonunu taşıyan (n=80) ve taşımayan (n=25) PMF olguları arasında LFS benzer bulunmuştur (sırasıyla ortalama 309 ay; %95 CI: 274-343 ve 239 ay; %95 CI: 221-258; p=0.354).



**Şekil XXV. ‘DIPSS-plus’ kriterlerine göre PMF olgularında LFS’in ‘Kaplan-Meier’ analizindeki görünümü**

PMF olguları ‘DIPSS-plus’ kriterlerine göre düşük (n=20), orta-1 (n=39), orta-2 (n=35) ve yüksek riskli (n=11) olarak gruplandırıldığı zaman yüksek riskli grupta diğerlerine göre LFS anlamlı olarak kısa bulunmuştur (düşük risk için ortalama 236 ay; %95 CI:213-260; orta-1 için ortalama 327 ay; %95 CI:289-365; orta-2 için ortalama 167 ay; %95 CI:146-188 ve yüksek risk için 109 ay; %95 CI:73-145 ay; p=0.005). Düşük risk grubunda olan 20 olgunun hiçbirinde lösemiye dönüşüm olmamıştır.

## JAK2V617F Allel Yüküne Göre Klinik Sonuçlar

### 4.1.7. Esansiyel Trombositemi Tanılı Olgularda JAK2V617F Allel Yükü İlişkili Klinik Özellikler

JAK2V617F allel yükü hesaplanan 118 ET olgusunun 59’u (%50) düşük allel yüküne, 5’i (%4.2) yüksek allel yüküne sahiptir. ET olgularının JAK2V617F allel yüküne göre klinik ve laboratuvar verileri Tablo XXXVII’de özetlenmiştir.

JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip ve yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip ET tanılı olgular karşılaştırıldığı zaman her 3 grup arasında yaş ortalaması ve tanı sırasındaki ortalama yaş açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla



$p=0.829$ ;  $p=0.679$ ). Her üç grup arasında cinsiyet açısından anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0.299$ ).

Üç grup arasında non-parametrik karşılaştırma yapıldığı zaman yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip grupta tanı sırasındaki ortalama Hgb ve Htc düzeyi diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır (sırasıyla  $p=0.001$ ;  $p=0.001$ ). Hangi gruplar arasında anlamlı fark olduğunu anlamak için Mann-Whitney testi yapılmıştır. JAK2V617F mutasyonunu taşımayan grupta Hgb ve Htc değeri, düşük JAK2V617F allel yükü olan gruba göre anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır (sırasıyla  $p=0.001$ ;  $p=0.001$ ). Yüksek JAK2V617F allel yükü olan grupta JAK2V617F negatif gruba göre Hgb düzeyi anlamlı düşükken; Htc düzeyi açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.048$ ;  $p=0.240$ ). Yüksek JAK2V617F allel yükü olan grupta düşük allel yükü olan gruba göre Hgb ve Htc düzeyleri anlamlı olarak düşük saptanmıştır (sırasıyla  $p=0.002$ ;  $p=0.008$ ).

Her üç grup arasında tanı sırasındaki ortalama lökosit ve trombosit değerleri açısından fark saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.317$ ;  $p=0.061$ ). Yüksek JAK2V617F allel yükü taşıyan grupta diğer 2 gruba göre serum LDH düzeyi anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ( $p=0.008$ ).

Her üç grup tanı sırasında ortalama dalak boyutu açısından karşılaştırıldığında yüksek JAK2V617F allel yükü olan grupta ortalama dalak boyutu iki gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur ( $p=0.034$ ).

Yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip grupta kanama sıklığı düşük allel yükü olan ve mutasyon taşımayan gruba göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (sırasıyla %60, %10.2, %8.6;  $p=0.002$ ). Her üç grup arasında kardiyovasküler risk faktörleri ve total tromboz sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ( $p=0.11$ ;  $p=0.735$ ). Aynı ayrı bakıldığında yüksek JAK2V617F allel yükü olan, düşük allel yükü olan ve mutasyon olmayan grup karşılaştırıldığında arteriyel tromboz açısından bir fark gözlenmezken yüksek allel yükü olan grupta venöz tromboz sıklığında artış eğilimi vardır (sırasıyla 0; %20.4; %24.1;  $p=0.429$  ve %40; %18.6; %7.4;  $p=0.057$ )

Her üç grup arasında lösemiye dönüşüm açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ( $p=0.303$ ). Fakat yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip grupta ölüm insidensi, düşük allel yükü olan ve mutasyon taşımayan gruba göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (sırasıyla %60, %13.6, %9.3;  $p=0.007$ ) (Tablo XXXVIII). Her üç grup arasında takip süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0.27$ ). ‘Kaplan-Meier’ analizi sonucunda JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, JAK2V617F allel yükü düşük ve JAK2V617F allel yükü yüksek olan gruplar OS açısından karşılaştırıldığı zaman anlamlı bir

fark saptanmamıştır (sırasıyla ortalama 252 ay; %95 CI: 221-282; 250 ay; %95 CI: 217-284 ve 187 ay; %95 CI: 79-295; p=0.266) (Tablo XXXVII, Şekil XXVI).

**Tablo XXXVII. JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip ve yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip ET tanılı olguların klinik ve laboratuvar bulguları**

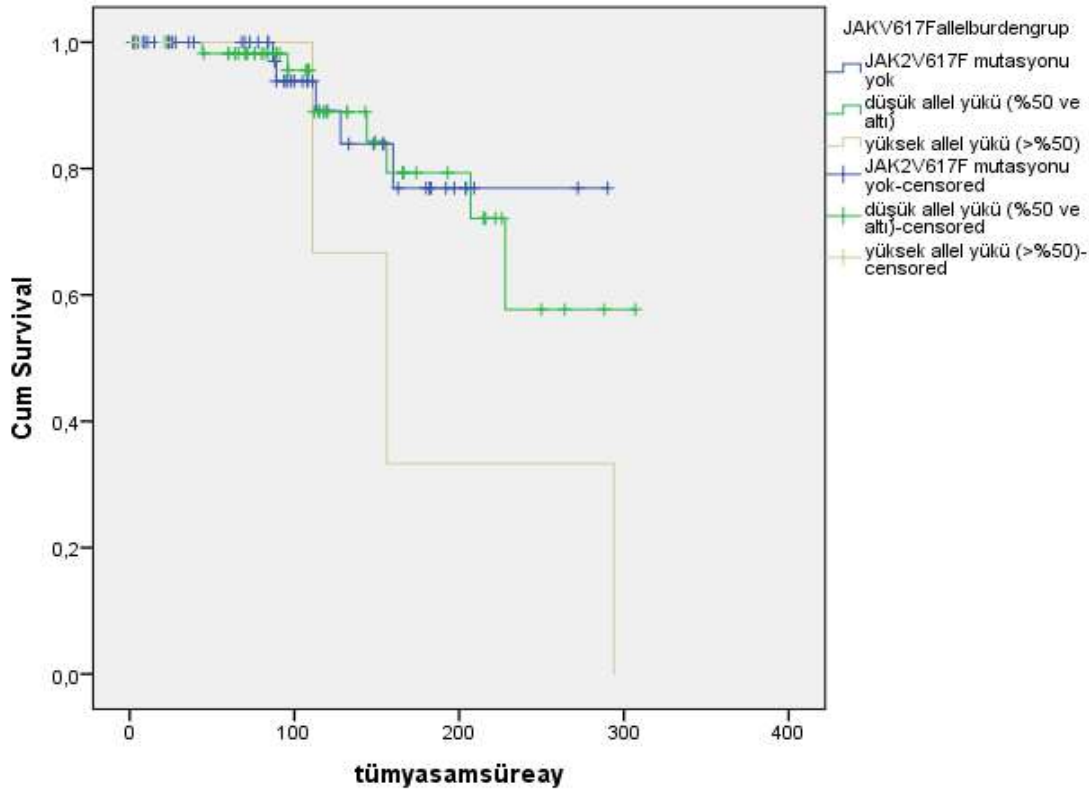
	Klinik Değişken	JAK2 wild tip n=54	Düşük JAK2 allel Yükü (<%50) n=59	Yüksek JAK2 allel yükü (>%50) n=5	P değeri
<b>Cinsiyet n (%)</b>	Kadın	26 (%48.1)	34 (%57.6)	4 (%80)	0.299
	Erkek	28 (%51.9)	25 (%42.4)	1 (%20)	
<b>Yaş (Ort±SS)</b>	-	60.48±14.99	59.9±14.54	63±19.85	0.829
<b>Tanı Yaşı (Ort±SS)</b>	-	52.13±15.47	49.71±14.63	53.2±19.07	0.679
<b>Kanama n (%)</b>	Yok	50 (%92.6)	53 (%89.8)	2 (%40)	<b>0.002*</b>
	Var	4 (%8.6)	6 (%10.2)	3 (%60)	
<b>KVS risk n (%)</b>	Yok	19 (%35.2)	13 (%22)	0 (%0)	0.110
	Var	35 (%64.8)	46 (%78)	5 (%100)	
<b>Tromboz n (%)</b>	Yok	35 (%64.8)	34 (%57.6)	3 (%60)	0.735
	Var	19 (%35.2)	25 (%42.4)	2 (%40)	
<b>Lökosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	-	9.897±3.355	9.848±3.666	14.240±7.279	0.317
<b>Hemoglobin (g/dL)</b>	-	12.46±1.97	13.95±1.60	11.16±0.93	<b>0.001</b>
<b>Hematokrit (%)</b>	-	37.2±5.44	41.49±4.85	34.8±4.76	<b>0.001</b>
<b>Trombosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	-	1.058.630±478690	883.951±320.372	798.600±312.966	0.061
<b>LDH (U/L)</b>	-	423.69±171.34	426.58±128.84	718.20±178.60	<b>0.008*</b>
<b>Dalak Boyut (mm)</b>	-	129.79±21.97	136.78±28.10	181±74.04	<b>0.034*</b>
<b>Takip Süresi (Ay)</b>	-	97.54±69.52	116.32±67.64	83.60±89.92	0.270
<b>OS-Kaplan Meier Ort (% 95 CI)</b>	-	252 ay (221-282)	250 ay (217-284)	187 ay (79-295)	0.266

**NOT:** Çalışmamızda yüksek JAK2 allel yüküne sahip ET olgularında düşük Hgb ve Htc düzeyi, yüksek LDH düzeyi, dalak boyutu ve artmış kanama insidensi saptanmıştır.

**Tablo XXXVIII. JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip ve yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip ET tanılı olguların ölüm ve lösemiye dönüşüm açısından karşılaştırılması**

	JAK2 wild tip n=54	Düşük JAK2 allel Yükü (<%50) n=59	Yüksek JAK2 allel yükü (>%50) n=5	P değeri
<b>Lösemiye dönüşüm</b>				
<b>Var</b>	2 (%3.7)	0 (%0)	0 (%0)	0.303
<b>Yok</b>	52 (%96.3)	59 (%100)	5 (%100)	
<b>Ölüm</b>				
<b>Var</b>	5 (%9.3)	8 (%13.6)	3 (%60)	<b>0.007*</b>
<b>Yok</b>	49 (%90.7)	51 (%86.4)	2 (%40)	

**NOT:** Çalışmamızda yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip ET olgularında artmış ölüm insidensi saptanmıştır.



**Şekil XXVI. JAKV617F mutasyonunu taşımayan (n=54), JAK2V617F allel yükü düşük (n=59) ve JAK2V617F allel yükü yüksek (n=5) ET olgularında OS'nin karşılaştırılması**

OS açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla ortalama 252 ay; %95 CI: 221-282; 250 ay; %95 CI: 217-284 ve 187 ay; %95 CI: 79-295; p=0.266).

#### 4.1.8. Primer Miyelofibrozis Tanılı Olgularda JAK2V617F Allel Yüğü İlişkili Klinik Özellikler

JAK2V617F allel yüğü hesaplanan 84 PMF olgusunun 41'i (%48.8) düşük allel yüküne, 18'i (%21.4) yüksek allel yüküne sahip olarak bulunmuştur. ET olgularının JAK2V617F allel yüküne göre klinik ve laboratuvar verileri Tablo XXXIX'da özetlenmiştir.

JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip ve yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip PMF tanılı olgular karşılaştırıldığı zaman her 3 grup arasında ortalama yaş ve ortalama tanı yaşı açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.136$ ;  $p=0.168$ ). JAK2V617F mutasyonu taşımayan grupta kadın cinsiyet oranı belirgin yüksek saptanmıştır ( $p=0.005$ ).

Üç grup arasında non-parametrik karşılaştırma yapıldığı zaman ortalama Hgb, Htc düzeyi ve trombosit sayısı açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.241$ ;  $p=0.289$ ;  $p=0.089$ ). Yüksek JAK2V617F allel yüğü taşıyan grupta diğer 2 gruba göre ortalama lökosit değeri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p=0.001$ ). Ortalama LDH düzeyi açısından bakıldığında üç grup arasında anlamlı bir fark yoktur ( $p=0.222$ ).

Her üç grup tanı sırasında ortalama dalak boyutu açısından karşılaştırıldığında yüksek JAK2V617F allel yüğü olan grupta ortalama dalak boyutu diğer iki gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur ( $p=0.018$ ). JAK2V617F mutasyonu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip ve yüksek allel yüküne sahip gruplar kanama sıklığı açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla %8; %26.8; %27.8;  $p=0.152$ ). Her üç grup arasında kardiyovasküler risk faktörleri ve total tromboz sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ( $p=0.556$ ;  $p=0.726$ ). Aynı ayrı bakıldığında düşük JAK2V617F allel yüğü olan, yüksek allel yüğü olan ve mutasyon olmayan grup karşılaştırıldığında arteriyel tromboz açısından bir fark gözlenmezken düşük allel yüğü olan grupta venöz tromboz sıklığında anlamlı artış görülmüştür (sırasıyla 4.9; %11.1; %16;  $p=0.747$  ve %9.7; 0; 0;  $p=0.035$ ).

Her üç grup arasında lösemiye dönüşüm ve ölüm insidensi açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.162$ ;  $p=0.653$ ) (Tablo XL). Her üç grup arasında takip süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0.408$ ). 'Kaplan-Meier' analizi sonucunda JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, JAK2V617F allel yüğü düşük ve JAK2V617F allel yüğü yüksek olan gruplar OS açısından karşılaştırıldığı zaman anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla ortalama 162 ay; %95 CI: 111-213; 132 ay; %95 CI: 76-190; 117 ay; %95 CI: 81-153;  $p=0.266$ ) (Tablo XXXIX, Şekil XXVII). JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, JAK2V617F allel yüğü düşük ve JAK2V617F allel yüğü yüksek olan gruplar LFS

açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır (ortalama 239 ay; %95 CI: 221-258; 308 ay; %95 CI: 265-351 ve 192 ay; %95 CI: 172-213; p=0.538) (Şekil XXVIII).

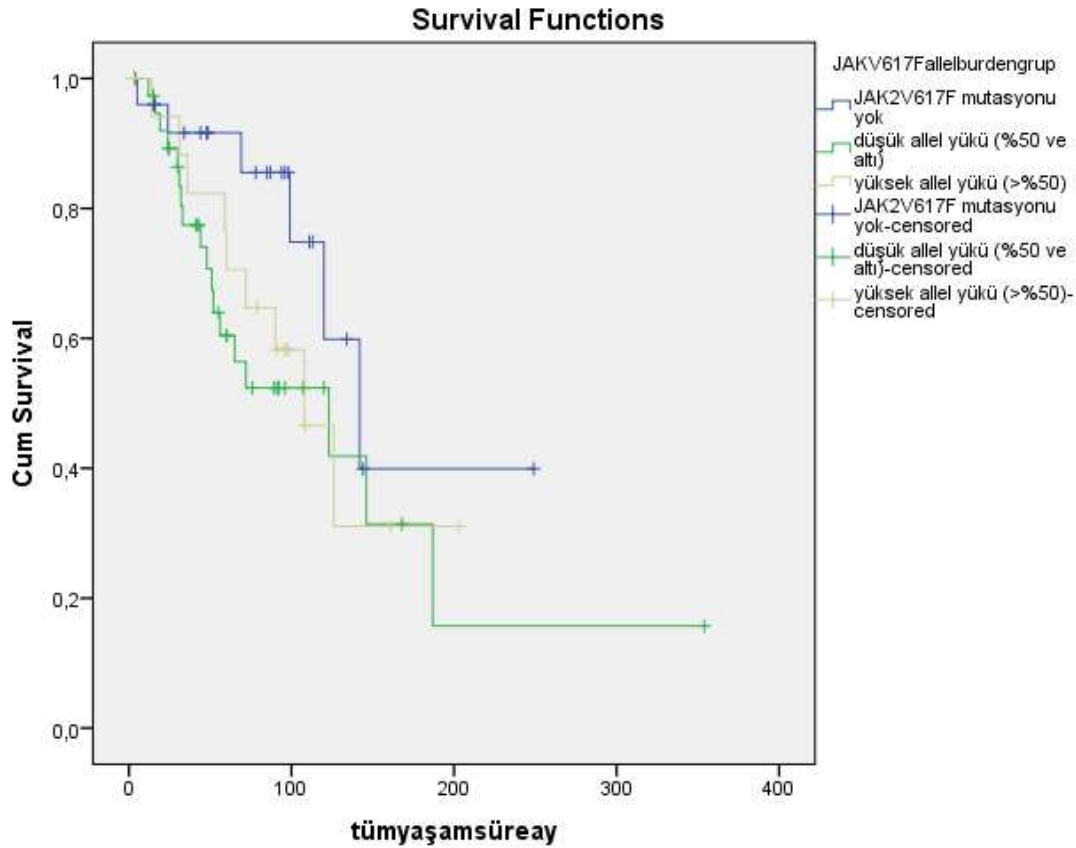
**Tablo XXXIX. JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip ve yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip PMF tanılı olguların klinik ve laboratuvar bulguları**

	Klinik Değişken	JAK2 wild tip n=25	Düşük JAK2 allel Yükü (<%50) n=41	Yüksek JAK2 allel yükü (>%50) n=18	P değeri
<b>Cinsiyet n (%)</b>	Kadın	21 (%84)	19 (%46.3)	8 (%44.4)	<b>0.005*</b>
	Erkek	4 (%16)	22 (%53.7)	10 (%55.6)	
<b>Yaş (Ort±SS)</b>	-	60±14.91	62.61±15.32	68.39±7.7	0.136
<b>Tanı Yaşı (Ort±SS)</b>	-	52.88±15.69	56.76±15.01	61.22±9.5	0.168
<b>Kanama n (%)</b>	Yok	23 (%92)	30 (%73.2)	13 (%72.2)	0.152
	Var	2 (%8)	11 (%26.8)	5 (%27.8)	
<b>KVS risk n (%)</b>	Yok	12 (%48)	15 (%36.6)	6 (%33.3)	0.556
	Var	13 (%52)	26 (%63.4)	12 (%66.7)	
<b>Tromboz n (%)</b>	Yok	21 (%84)	33 (80.5)	16 (%88.9)	0.726
	Var	4 (%16)	8 (%19.5)	2 (%11.1)	
<b>Lökosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	-	10.337±7.771	11.572±8.906	26.216±19.374	<b>0.001*</b>
<b>Hemoglobin (g/dL)</b>	-	10.54±2.59	10.82±2.46	11.76±1.93	0.241
<b>Hematokrit (%)</b>	-	32.53±8.01	32.18±7.9	35.5±6.11	0.289
<b>Trombosit (/mm<sup>3</sup>)</b>	-	574.904±415.328	385.368±341.131	526.778±367.514	0.089
<b>LDH (U/L)</b>	-	674.7±376.4	798.3±352.9	921.5±508.8	0.222
<b>Dalak Boyut (mm)</b>	-	171±40.5	195.1±44	213.9±46.3	<b>0.018*</b>
<b>Takip Süresi (Ay)</b>	-	75.36±55.33	65.1±61.98	76.28±52.26	0.408
<b>OS-Kaplan Meier Ort (%95 CI)</b>	-	162 (111-213)	132 (76-190)	117 (81-153)	0.266

**NOT:** Çalışmamızda yüksek JAK2 allel yüküne sahip PMF olgularında artmış lökosit sayısı ve dalak boyutu saptanmıştır. JAK2V617F mutasyonu taşımayan grupta diğer 2 gruba göre kadın cinsiyet oranı belirgin yüksek saptanmıştır.

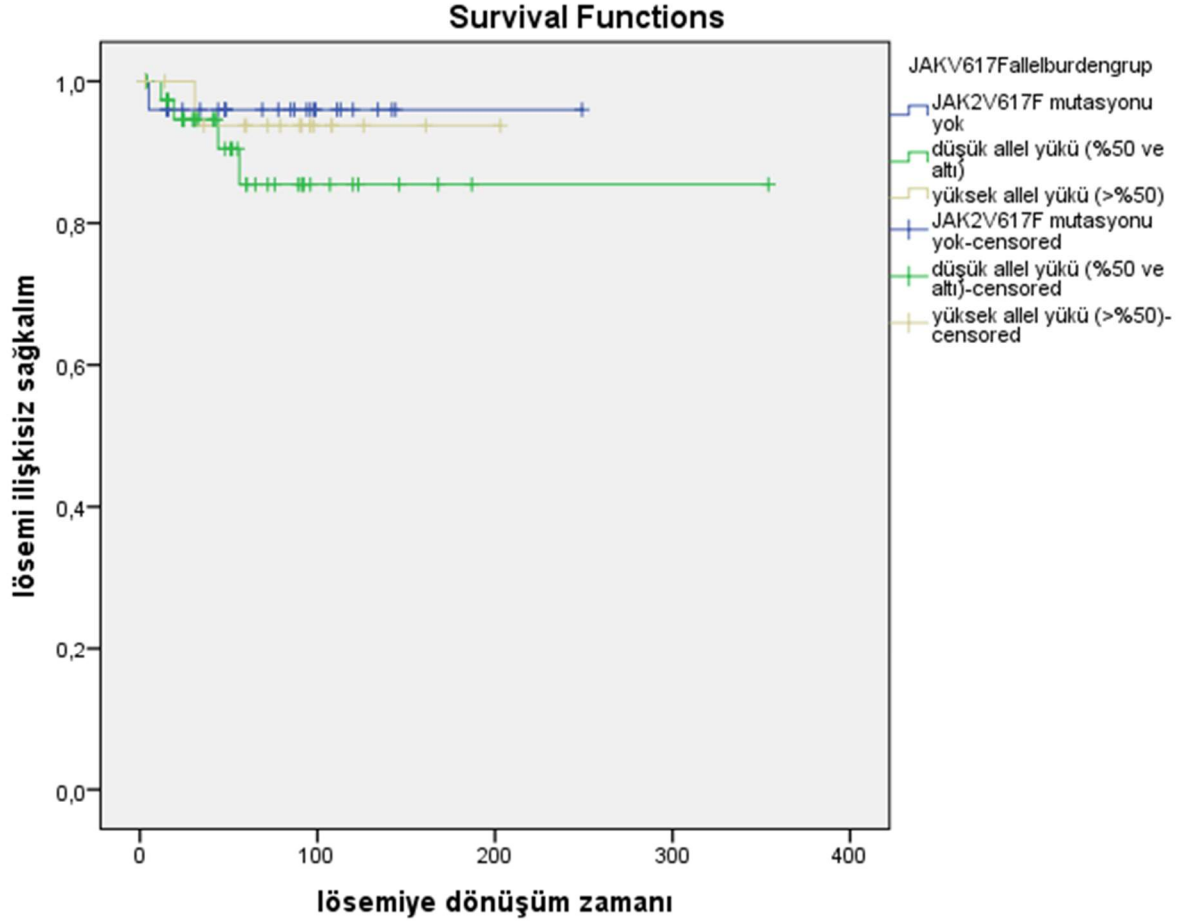
**Tablo XL. JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip ve yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip PMF tanılı olguların ölüm ve lösemiye dönüşüm açısından karşılaştırılması**

	JAK2 wild tip n=25	Düşük JAK2 allel Yükü (<%50) n=41	Yüksek JAK2 allel yükü (>%50) n=18	P değeri
<b>Lösemiye dönüşüm</b>				
<b>Var</b>	1 (%4)	4 (%9.8)	1 (%5.6)	0.653
<b>Yok</b>	24 (%96)	37 (%90.2)	17 (%94.4)	
<b>Ölüm</b>				
<b>Var</b>	6 (%24)	18 (%43.9)	9 (%50)	0.162
<b>Yok</b>	19 (%76)	23 (%56.1)	9 (%50)	



**Şekil XXVII. JAKV617F mutasyonunu taşımayan (n=25), JAK2V617F allel yükü düşük (n=41) ve JAK2V617F allel yükü yüksek (n=18) PMF olgularında OS'nin karşılaştırılması**

OS açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla ortalama 162 ay; %95 CI: 111-213; 132 ay; %95 CI: 76-190; 117 ay; %95 CI: 81-153; p=0.266).



**Şekil XXVIII. JAK2V617F allel yüküne göre PMF olgularında LFS'in 'Kaplan-Meier' analizindeki görünümü**

JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, JAK2V617F allel yükü düşük ve JAK2V617F allel yükü yüksek olan gruplar LFS açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır (ortalama 239 ay; %95 CI: 221-258; 308 ay; %95 CI: 265-351 ve 192 ay; %95 CI: 172-213;  $p=0.538$ )

## 5. TARTIŞMA

2005 yılında JAK2V617F mutasyonunun keşfinden sonra geride kalan 15 yıl boyunca Ph-negatif MPN'lerin moleküler patogenezinin anlaşılmasında önemli ve hızlı gelişmeler yaşanmıştır. Bu geçen yıllar süresince hastalıkların patogenezinde etkili olabilecek birçok yeni gen tanımlanmış olsa da JAK2V617F mutasyonu halen klinik önemini korumaktadır. Moleküler gelişmelere paralel olarak son yıllarda tedavide gelişmeler sağlanmış ve 10'dan fazla JAK2 kinaz inhibitörü klinik çalışmalara dahil edilmiştir. Birçok JAK kinaz inhibitörünün PMF'da splenomegalide gerileme, konstitüsyonel semptomlar ve sitopenilerde iyileşmeye neden olduğu bilinmekle birlikte kötü prognostik PMF grubunda kullanıldığında sağkalmı arttırdığı belirtilmektedir (576). Fakat JAK2 inhibitörlerinin kemik iliğindeki histolojik özellikleri (örneğin fibrozis) geriletip geriletmediği veya JAK2 allel yükünü önemli bir şekilde etkileyip etkilemediği henüz bilinmemektedir. Son yayınlanan bir derlemede PV veya ET'de JAK2 inhibitörleri (örn. ruxolitinib) ile uzun dönem etkilerin bilinmediği ve ilk basamak tedavide hidroksiüre ile karşılaştırılmalı çalışmasının bulunmadığı vurgulanmıştır (10). Bundan yola çıkarak hidroksiüre dirençli PV'nın büyük çoğunluğunda JAK2 inhibitörlerinin kullanımını destekleyen güçlü bir kanıt yoktur. PV'de JAK2 inhibitörlerinin kullanımının önerildiği durumlar arasında hidroksiüre, busulfan ve INF- $\alpha$  tedavilerine dirençli olgular, kontrol altına alınamayan kaşıntı, ciddi konstitüsyonel semptomlar, belirgin splenomegali veya post-PV miyelofibroza dönüşüm vardır.

Çalışmamıza DSÖ 2016 kriterlerine göre tanı almış olan İTF İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı'nda takip edilen 63 PV, 112 ET ve 82 PMF tanılı olmak üzere 257 olgu ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Bakırköy Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hematoloji Polikliniği'nde takip edilen 72 PV, 58 ET ve 23 PMF tanılı olmak üzere 153 olgu dahil edilmiş olup toplam 410 olguda (170 ET, 135 PV, 105 PMF) JAK2V617F mutasyonunun klinik seyir, prognoz üzerine etkisi ve yaşam süresi ile ilişkisi araştırılmıştır. Tüm MPN grubumuzun 228'inde (118 ET, 84 PMF, 26 PV) semi-kantitatif olarak JAK2V617F tayini yapılmıştır. Bu olgularda JAK2V617F mutant allel yükü, 'JAK2 MutaScreen kit'i ile altı ölçekli standarda dayalı olarak (tespit etme eşiği %2) tespit edilmiştir. JAK2V617F allel yüküne bakıldığı zaman 26 PV olgusunun %30.7'si düşük allel yükü (allel yükü  $\leq$  %50), %15.3'ü yüksek allel yükü (allel yükü  $>$  %50) taşımaktadır. 118 ET olgusunun %50'si düşük allel yükü, %4.23'ü yüksek allel yükü taşımaktadır. 84 PMF tanılı olgunun %48.8'i düşük allel yükü, %21.4'ü yüksek allel yükü taşımaktadır. Oldukça büyük olgu sayısı içeren ve uzun takip süresi olan çalışmamızda JAK2V617F mutasyonunun PV, ET ve PMF'de hastalık fenotipi üzerine



etkileri, JAK2V617F allel yükünün ET ve PMF tanılı Türk popülasyonundaki laboratuvar bulguları ve klinik karakteristikler üzerine etkisi araştırılmıştır. Bunun yanında JAK2V617F mutasyonunun PV, ET ve PMF olgularında OS üzerine etkileri, JAK2V617F allel yükünün ET ve PMF olgularında OS üzerine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca JAK2V617F mutasyonu ve allel yükünün PMF olgularında LFS üzerine etkileri de araştırılmıştır.

Çalışmaya dahil olan 170 ET hastasının 102'si kadın 68'i erkek; 105 PMF hastasının 56'sı kadın, 49'u erkek; 135 PV hastasının 47'si kadın, 88'i erkektir. PV'da 20 çalışmayı içeren bir analizde bu hastalık grubunda kadın ve erkek cinsiyeti açısından bir fark gözlenmemiştir (13,14). Bizim çalışmamızda ise PV'da erkek cinsiyet oranı daha yüksek saptanmıştır (erkek/kadın 1.87). Popülasyon çalışmalarında ET'li olgular kadınlarda hafifçe daha yüksek sıklıkta bildirilmiştir (160, 599). Çalışmamızda bu çalışma ile paralel olarak ET'de kadın/cinsiyet oranı 1.5 saptanmıştır. Erişkin PMF'de yapılan çalışmalarda kadın ve erkeklerde yaklaşık olarak eşit sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir (219, 222-226). Bizim çalışmamızda bununla benzer şekilde PMF'de kadın/erkek oranı 1.1'dir.

ET için yaş ortalaması 57.93 (SS 15.65), PMF için 63.09 (SS 13.64) ve PV için 61.22 (SS 14.13) bulunmuştur. Ortalama tanı yaşlarına baktığımızda ise ET grubunda 50.25 (SS 15.48), PMF grubunda 56.93 (SD 14.37), PV grubunda 55.01 (SS 14,06)'dir. İpek Yönel'in 2013'teki hematoloji yan dal uzmanlık tezinde PMF (n=77) ve ET grubu (n=107) karşılaştırılmış ve ortalama yaş ve tanı yaşı PMF grubunda daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (600) Literatürde ET'de pik insidens yaşı 50-70, PV'da ortalama tanı yaşı 57 ve PMF'de pik insidens yaşı 69-79 olarak bildirilmiştir (601, 602, 603). Çalışmamızda PMF grubunda tanıdaki ortalama yaş literatürde bildirilen yaştan daha küçük olmasına rağmen literatürle uyumlu olarak PMF grubunda ortalama tanı yaşı anlamlı yüksek saptanmıştır.

Literatürde PV'da ortalama Hgb 18.4 g/dl (15.1-26.5), Htc %55 (%36-78), ET'de ortalama Hgb 13.7 g/dl (4,1-25,2) saptanmıştır (155, 604). PMF'da Hgb düzeyi çeşitlilik göstermekle birlikte yapılan bir çalışmada hastaların %50'sinde Hgb<10 g/dl ve %20'sinde <8 g/dl saptanmıştır (569) Bizim çalışmamızda literatürdeki çalışmalarla benzer şekilde PV'lı olgularda Hgb ve Htc düzeylerinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu ve PMF grubunda anlamlı olarak düşük olduğu gözlenmiştir. Çalışmalarda PMF'de orta derecede lökositoz bildirilmiştir (219-226). Dört büyük çalışmada PMF'de ortalama lökosit sayısı 10.000-14.000/mm<sup>3</sup> arasındadır. Çalışmalarda ET'de lökosit sayısının hafif dereceli artış gösterdiği ve PV'da olguların 2/3'ünde mutlak nötrofili olduğu bildirilmiştir (64). Çalışmamızda literatürle

uyumlu şekilde ET'de tanıdaki ortalama lökosit sayısı belirgin düşük saptanmıştır. PMF grubumuzda tanıdaki LDH düzeyi ve dalak boyutları diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu bulgular yapılan diğer çalışmalarla benzerdir (155, 224, 569, 604).

Çalışmamızda ET'li olguların %32.9'unda (n=56), PMF'li olguların %20'sinde (n=21), PV'lı olguların %40.3'ünde (n=52) tromboz saptanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında tanı sırasında bildirilen tromboz sıklığı PV için %12-39 arasında ve ET için %11-25 arasında değişmektedir (605). Türk popülasyonunda yapılan bir çalışmada PV'da tromboz %20.6, ET'de %15.1 ve PMF'de %9.5 oranında bildirilmiştir (606). Devendra KC. ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptığı çalışmayla benzer şekilde bizim çalışmamızda PV'lı olgularda tromboz, PMF'li olgularda ise kanama gelişme oranı diğer hasta gruplarına göre anlamlı olacak düzeyde daha yüksek bulunmuştur (607). ET'li olgularımızın %65.9'u (n=112), PMF'li olgularımızın %66.7'si (n=70), PV'lı olgularımızın %84.4'ü (n=114) KVS risk faktörlerine sahiptir. Sonuç olarak PV'lı olgu grubumuzun diğer olgu gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olacak düzeyde daha yüksek oranda KVS risk faktörlerine sahip olduğu görülmüştür. Bu durum yüksek KVS risk faktörlerine sahip olma oranlarının tromboz gelişmesi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Tefferi A.'nın yaptığı bir derlemede PV ve ET'de tromboz riskinin %20'nin üzerinde olduğu bildirilmiştir (517). Arteriyel tromboz, MPN'lerdeki trombozların %60-70'inden sorumludur. 494 PV ve ET tanılı olguyu içeren bir çalışmada olguların %39'unda SVO, %22'sinde akut koroner sendrom, %22'sinde DVT ve %9'unda diğer bölgelerde DVT bildirilmiştir (608). ET ve PV'da majör trombotik olaylar arasında inme, geçici iskemik atak, miyokard infarktüsü, angina pectoris, periferik arter hastalığı, pulmoner emboli ve kombine DVT+ET olarak bildirilmiştir (82,187,190). Başka bir çalışmada PV'da DVT ve pulmoner emboli sık görülürken SVO, splenik ven trombozu ve hepatik ven trombozunun nadir görüldüğü bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda PV'lı olguların %24'ünde arteriyel; %15.5'inde venöz tromboz, ET'li olguların %22'sinde arteriyel; %15'inde venöz tromboz, PMF'li olguların %12'sinde arteriyel tromboz ve %10'unda venöz tromboz saptanmıştır. Çalışmamızda literatürle uyumlu şekilde tüm MPN grubunda arteriyel tromboz daha yüksek oranda görülmüştür. Çalışmamızda tüm MPN grubunda arteriyel tromboz içinde en sık koroner arter hastalığı, takiben SVO ve venöz tromboz içinde en sık batın içi tromboz ve takiben DVT gözlenmiştir. Literatürden farklı olarak batın içinde venöz tromboz olgu grubumuzda yüksek oranda görülmüştür. Bundan yola çıkarak batın içi trombozu olan olgularda Ph-negatif klasik MPN'lerin araştırılmasının büyük önem arz ettiği söylenebilir.

Bir çalışmada PMF'de kanama oranı %57, PV'da %23 ve ET'de %16 olarak bildirilmiştir (45) Kander EM. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise kanama oranları PMF'da %30, PV'da %15.3 ve ET'de %10 bulunmuştur (609). Bizim çalışmamızda PMF olgularının %20'sinde, PV olgularının %10.4 ve ET olgularının %10'unda kanama gelişmiştir. PMF olgu grubumuzda kanama insidensi literatürle uyumlu şekilde ET'li ve PV'lı olgulara göre anlamlı yüksek saptanmıştır. Ph-negatif klasik MPN tanılı olgularda yapılan çalışmalarda kanama bölgesi olarak en sık mukozal ve cilt altı kanamalar, majör kanama olarak da en sık gastrointestinal kanama bildirilmiştir (67, 460). Çalışmamızda kanama ile komplike olan 52 olgunun en sık kanama bölgeleri sırasıyla gastrointestinal kanama, mukozal kanama ve cilt altı kanamadır (sırasıyla %44.2, %25, %15.4). Tüm olgu grubumuzda gastrointestinal kanama oranları diğer bölge kanamalarına göre daha yüksektir. PMF olgularında başta gastrointestinal kanama olmak üzere kanama oranlarının fazla olmasında artan dalak boyutuyla birlikte portal hipertansiyon ve varis kanamasının neden olduğu görülmektedir.

PMF, MPN'ler içinde ortalama 5 yıldan kısa yaşam süresi ile yaşam beklentisi en kısa olanıdır. Morbidite ve mortalitenin ana nedenleri arasında lösemik transformasyon, enfeksiyon, kanama, portal hipertansiyon yanında vasküler komplikasyonlar vardır (496). Tefferi A. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ortalama yaşam süresi ET'de 20 yıl, PV'da 14 yıl, PMF'da 6 yıl olarak bildirilmiş ve ET grubunda OS PV ve PMF grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (610). Bu çalışmada 60 yaşın altındaki olgularda ise ortalama yaşam süresi sırasıyla 33, 24 ve 15 yıl olarak bulunmuştur (610). Bizim çalışmamızda literatürle benzer şekilde 'Kaplan-Meier' analizi sonucunda PMF'de OS, PV ve ET'ye göre belirgin kısa bulunmuştur (sırasıyla ortalama 172 ay; %95 CI: 129-215, 218 ay; %95 CI: 198-238 ve 244 ay; %95 CI: 200-268). 20 yıl içerisinde PV'da tahmin edilen lösemik transformasyon oranı %10'un altında ve ET'de %5'dir (10). Başka çalışmalarda 10 yıl içerisinde beklenen lösemik transformasyon oranı ET için %0.7-3, PV için %2.3-14.4 ve PMF'de %10-20 bildirilmiştir (155, 313, 610, 611). Ortalama takip süresi 70.4 ay olan PV olgu grubumuzda lösemik transformasyon oranı %1.5, ortalama takip süresi 87,01 ay olan ET grubumuzda %1.2 ve ortalama takip süresi 68.03 ay olan PMF grubumuzda %7.6 olarak saptanmıştır. 'Kaplan-Meier' analizi sonucunda PMF'de LFS, PV ve ET'ye göre belirgin kısa bulunmuştur. Buna ek olarak PMF grubu ET ile karşılaştırıldığı zaman ölüm ve lösemiye dönüşüm oranında artış saptanmıştır. Sonuç olarak uzun takip süresi olan çalışmamızda tüm MPN grubunda lösemiye transformasyon oranımız %2.9'dur (n=12). 410 kişilik MPN grubumuzda hidroksiüre kullanım oranımız %83.2'dir (n=341). Literatürle uyumlu lösemiye dönüşüm oranlarımızdan yola çıkarak hidroksiüre kullanımının lösemik

transformasyonla ilişkisi olmadığı söylenebilir. Tüm MPN kohortunda literatür bulguları ile benzer şekilde PMF grubunda lösemiye dönüşüm oranı diğer iki gruba göre yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda PMF'li olguların %33.3'ü (n=35), ET'li olguların %10.6'sı (n=18), PV'lı olguların %7.4'ünde (n=10) ölüm gerçekleşmiştir. PMF'li olgularda literatürle benzer şekilde ölüm oranları daha fazladır. PMF grubunda ölüm oranının yüksek olmasının nedenlerinden birinin de lösemiye dönüşüm oranının diğer 2 gruba göre yüksek olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Revathi Suppiah ve arkadaşlarının yaptığı bir derlemede PV tanılı olgularda tanı sırasında %10-20 oranında karyotip anormalliği olduğu bildirilmiştir (612). PV'da en sık genetik anormallikler arasında trizomi 8, trizomi 9 ve delesyon 20q bildirilmiştir (612). Aynı makalede ET'de karyotip anormalliği sıklığı %5-10 olarak bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda tanı sırasında PV ve ET tanılı olgularda karyotip anormalliği saptanmamıştır. Reilly JT ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 106 PMF tanılı olgunun 37'sinde (%34.9) tanı sırasında sitogenetik anormallik saptanmıştır (470). Bu çalışmada en sık gözlenen sitogenetik anormallikler delesyon 13q-, delesyon 20q- ve parsiyel trizomi 1q'dur (470). Başka bir PMF serisini içeren çalışmada (n=47) %32 oranında karyotip anormalliği bildirilmiştir (613). Bu çalışmada en sık gözlenen karyotip anormallikleri 20q delesyonu, 13q delesyonu, edinsel +21 veya 21p+ anormalliğidir. 105 PMF olgusunu içeren çalışmamızda olguların 11'inde (%10.5) karyotip anormalliği gözlenmiş olup literatürde rastlanan orandan daha düşüktür. Karyotip anormallikleri içinde önceki çalışmalarla benzer şekilde en sık gözlediğimiz anormallik 20q delesyonudur.

JAK2V617F mutasyonu, JAK2 ekzon 14'te 617. kodonda valin fenilalanin değişimi sonucunda ortaya çıkar (251). MPN'lerde JAK2V617F mutasyonu ile ilişkili çalışmalar, bu mutasyonun PV'da yaklaşık %95, ET'de %55 ve PMF'da %65 oranında görüldüğünü bildirmiştir (614,615,616). Bizim çalışmamızda olguların toplamda %27.3'ünde (n=112) JAK2V617F mutasyonu negatif, %72.7'sinde (n=298) JAK2V617F mutasyonu pozitifdir. ET olgularının %63.5'inde (108/170), PMF olgularının %76.2'sinde (80/105), PV olgularının %81.5'inde (110/135) JAK2V617F mutasyonu saptanmıştır. Türk popülasyonunu içeren çok merkezli bir çalışmada PV'lı olguların %86'sında, ET tanılı olguların %51.5'inde ve PMF tanılı olguların %50.4'ünde JAK2V617F mutasyonu pozitif bulunmuştur (606). Çalışmamızda ET ve PMF grubunda literatüre göre daha yüksek mutasyon oranlarına rastlanmıştır. Bizim çalışmamızda 'JAK2 MutaScreen kit'i kullanılarak JAK2V617F mutasyon taraması yapılmış ve kantitatif olarak mutant allel yükü belirlenmiştir (596). Bu yöntem oldukça duyarlı olup

%2'ye kadar olan JAK2V617F mutant allel yükünü tespit edebilmektedir. ET ve PMF tanılı olguların çoğunluğunda (170 ET'nin 118'inde ve 105 PMF'in 84'ünde) bu yöntem kullanılmış olup literatüre göre JAK2V617F mutasyonunun daha yüksek oranda bulunmasının nedenini oldukça duyarlı yöntemle mutasyonu taramamıza bağlayabiliriz. 135 kişilik PV olgu grubumuzun ise 26'sında 'JAK2 MutaScreen kit'i kullanılarak mutasyon taraması yapılmış olup geri kalan olgularda tarama 'Melting Curve Analizi' ile non-kantitatif olarak yapılmıştır (598). PV olgu grubumuzda JAK2V617F mutasyon sıklığımız literatürden düşüktür.

Çalışmalarda ET ve PMF'de JAK2V617F mutasyonunun cinsiyetle ilişkisiz olduğu bildirilmiştir (186, 604, 617). Bazı çalışmalarda JAK2V617F mutasyonu pozitif PV olgularında erkek cinsiyet, JAK2V617F mutasyonu pozitif ET olgularında ise kadın cinsiyet oranı daha yüksek saptanmıştır (82, 618). 184 Türk popülasyonunu içeren bir çalışmada (107 ET, 77 PMF) ET'de JAK2V617F mutasyonu cinsiyet ile ilişkisiz bulunurken literatürden farklı olarak JAK2V617F mutasyonunu taşıyan PMF olgularında erkek cinsiyet sıklığı daha yüksek saptanmıştır (619). Oldukça büyük olgu grubunu içeren çalışmamızda (n=410), JAK2V617F mutasyonu pozitif PV'da erkek cinsiyet sıklığı mutasyon taşımayan gruba göre anlamlı derecede düşük ve JAK2V617F mutasyonu pozitif PMF'de mutasyon taşımayan PMF grubuna göre erkek cinsiyet sıklığı anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Çalışmamızda ET grubunda JAK2V617F mutasyonu cinsiyet ile ilişkisiz bulunmuştur.

JAK2V617F mutasyonu ile ET, PV ve PMF'daki klinik ve laboratuvar özelliklerin ilişkisini araştıran çalışmalar yapılmıştır (85, 616, 620). Bir çalışmada ET ve PMF'da JAK2V617F mutasyonu; tanı sırasında yaştan ileri olması, yüksek Hgb düzeyi ve lökositöz ile ilişkili bulunmuştur (616). Yine aynı çalışmada JAK2V617F mutasyonu taşıyan ET olgularında negatif olanlara göre trombosit sayılarının daha düşük olduğu gösterilmiştir (616). Bir çalışmada JAK2V617F negatif PV'da trombosit ve lökosit değerleri JAK2V617F pozitif PV olgularına göre daha düşük bulunmuştur (620). Campbell ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada JAK2V617F mutasyonu pozitif ET olgularının çoğu özelliği ile PV'lı olgulara benzediği mutasyonu taşımayan ET olgularına göre Hgb ve lökosit düzeylerinin daha yüksek olduğu ayrıca venöz trombozun da daha yüksek oranda saptandığı belirtilmiştir (186). Yönel İ. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ET grubu JAK2V617F mutasyonunu taşımayan grup ile karşılaştırıldığında tanı sırasındaki Hgb ve Htc düzeyi anlamlı olarak yüksek saptanırken, trombosit değeri anlamlı olarak düşük saptanmıştır (619). Çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu pozitif ET'de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ortalama Hgb ve Htc düzeyi ve düşük ortalama trombosit sayısı saptanmıştır. Bu

bulgular literatürle benzerdir. JAK2V617F mutasyonu olan ve olmayan ET olgularımız arasında serum LDH düzeyi açısından fark saptanmamıştır. Her iki grup arasında ortalama lökosit değeri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bir çalışmada PMF'de JAK2V617F mutasyonu yokluğunda daha derin anemi saptanmıştır (612). 152 PMF'li olguyu içeren çok merkezli bir çalışmada da JAK2V617F mutasyonunu taşıyan olgularda eritrosit transfüzyon ihtiyacı daha az olmuştur (81). Türkiye'de yapılan 77 PMF olgusunu içeren bir çalışmada JAK2V617F mutasyonunu taşıyan olgularda mutasyonu taşımayan gruba göre ortalama lökosit sayısı, Hgb ve Htc düzeyi anlamlı olarak yüksek saptanırken trombosit değeri ve LDH düzeyi açısından fark saptanmamıştır (619). Tefferi A. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PMF'de JAK2V617F mutasyonu ile LDH düzeyi açısından bir ilişki bulunmamıştır (621). 105 PMF olgusunu içeren çalışmamızda literatür bulguları ile benzer şekilde JAK2V617F mutasyonu pozitif grupta tanıdaki ortalama lökosit sayısı yüksek saptanırken her iki grup arasında LDH düzeyi açısından fark saptanmamıştır. Çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu pozitif PMF'de tanı sırasında ortalama Hgb düzeyi yüksek olma eğiliminde olmasına rağmen her iki grup arasında Htc düzeyi açısından anlamlı fark saptanmamıştır. PV'lı olgular arasında yapılan çalışmalarda JAK2V617F mutasyonu pozitif olanlarda daha yüksek trombosit ve lökosit değerlerinin saptandığı belirtilmiştir (186, 620, 622, 623). Leonardo Cairesdos Santos. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada JAK2V617F mutasyonu pozitif ve negatif PV'de Hg düzeyi açısından istatistiksel bir fark saptanmamıştır (620). Tefferi A. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada JAK2V617F homozigot olgularda heterozigot olgularla kıyaslandığında tanıda daha yüksek Hgb düzeyi bildirilmiştir (623). Bizim çalışmamızda literatürdeki çalışmalarla benzer şekilde PV'lı olgularda JAK2V617F pozitif grupta lökosit ve trombosit değerleri daha yüksek saptanmıştır. JAK2V617F pozitif PV grubumuzda ortalama Hgb düzeyi mutasyon negatif gruba göre anlamlı olarak daha düşük saptanırken Htc düzeyi daha düşük olmasına rağmen istatistiksel bir fark saptanmamıştır. Her iki grup arasında LDH düzeyi açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Tefferi A. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PMF'de JAK2V617F mutasyonu ile kanama öyküsü açısından bir ilişki bulunmamıştır (621). Yönel İ. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada JAK2V617F mutasyonunu taşıyan PMF grubunda kanama insidensi bu taşımayan gruba göre daha yüksek saptanmasına rağmen (sırasıyla %24.1; %5.3) istatistiksel bir fark saptanmamıştır (619). Daha yüksek sayıda olgu içeren ve daha uzun takip süresi olan çalışmamızda yukarıdaki çalışma ile benzer şekilde JAKV617F mutasyonu pozitif grupta kanama sıklığı daha yüksek olmakla beraber (sırasıyla %23.8; %8) her iki grup arasında anlamlı

bir fark bulunmamıştır. 107 ET olgusunu içeren bir çalışmada JAK2V617F mutasyonu taşıyan ve taşımayan grup arasında kanama insidensi açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (619). 170 ET olgusu içeren çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu ile kanama insidensi açısından bir ilişki bulunmamıştır. Tefferi A. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada JAK2V617F mutasyonu taşımayan, homozigot mutasyon taşıyan ve heterozigot mutasyon taşıyan PV tanılı olgular arasında kanama komplikasyonu açısından bir fark gözlenmemiştir (623). Çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu pozitif ve mutasyon negatif PV'da kanama insidensi açısından anlamlı bir fark yoktur.

MPN olgularında JAK2V617F mutasyonu ile dalak boyutu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Campbell PJ. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan ET grubunda splenomegali sıklığı açısından bir fark gözlenmemiştir (186). Moo-Kon Song. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada JAK2V617F mutasyonu pozitif PMF olgularında daha yüksek dalak boyutları bildirilmiştir (624). PV olgularında yapılan çalışmalarda JAK2V617F mutasyonu pozitif olanlarda daha yüksek dalak boyutlarının izlendiği belirtilmiştir (186, 622, 623). Bizim çalışmamızda tüm klasik Ph-negatif MPN olgularına bakıldığında JAK2V617F mutasyonunu taşıyan grupta tanıdaki dalak boyutu diğer gruba göre büyük olma eğilimindedir. Aynı analizlerde PV ve ET olgularında JAK2V617F mutasyonu ile dalak boyutu arasında bir ilişki saptanmazken PMF olgularında literatürle benzer şekilde JAK2V617F mutasyonu pozitif olanlarda dalak boyutu daha yüksek bulunmuştur.

Kralovics R. ve arkadaşlarının çalışmasında 244 Ph-negatif MPN grubunda JAK2V617F mutasyonu ile tromboz arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (38). Çalışmamızda tüm MPN kohortunda JAK2V617F mutasyonunu taşıyan olgularda total tromboz insidensinde artış eğilimi görülmüştür. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan MPN'de venöz tromboz sıklığı JAK2V617F mutasyonunu taşımayan gruba göre anlamlı artış göstermesine rağmen arteriyel tromboz sıklığı açısından bir fark görülmemiştir. Campbell PJ. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ET grubunda venöz tromboz sıklığı artış göstermekle beraber arteriyel tromboz açısından mutasyonu taşıyan ve taşımayan grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (186). ET'de JAK2V617F mutasyonu ile tromboz arasındaki ilişkiyi destekleyen çalışmalar bulunmakla birlikte bu mutasyonun tromboz riskini arttırmadığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (69, 80, 604, 625, 626). Sonuç olarak güncel veriler, ET'de JAK2V617F mutasyonu ile tromboz arasındaki ilişkiyi net ortaya koymamıştır. Buna rağmen üç bağımsız meta-analizde ET'de JAK2V617F mutasyon varlığının arteriyel ve venöz tromboz riskini arttırdığı gösterilmiştir (182, 183, 627). Yönel İ. ve

arkadaşlarının 107 ET olgusunu içeren çalışmasında JAK2V617F mutasyonu ile total tromboz, arteriyel tromboz ve venöz tromboz arasında bir ilişki saptanmamıştır (619). Bizim çalışmamızda da yukarıdaki çalışma ile paralel olarak ET'de total tromboz, arteriyel tromboz ve venöz tromboz sıklığı ile JAK2V617F mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Tefferi A. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PMF'de JAK2V617F mutasyonu trombozla ilişkili bulunmuştur (621). Başka bir çalışmada ise PMF'de mutasyon varlığında majör trombotik olayların artmadığı bildirilmiştir (617). Altı PMF çalışmasını içeren bir meta-analizde JAK2V617F mutasyonunun trombozla ilişkisinin net olmadığı bildirilmiştir (183). 77 PMF olgusunu içeren bir çalışmada JAK2V617F mutasyonunu taşıyan PMF grubunda total tromboz, arteriyel tromboz ve venöz tromboz ile ilişki gösterilmemiştir (619). 105 PMF olgusunu içeren çalışmamızda JAK2V617F mutasyonunu taşıyan PMF grubu ile taşımayan grup karşılaştırıldığında total tromboz insidensi açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Aynı ayrı bakıldığında JAK2V617F mutasyonu taşıyan ile taşımayan PMF olguları arasında arteriyel tromboz sıklığı açısından bir fark gözlenmezken JAK2V617F-pozitif grupta venöz tromboz insidensinde artış eğilimi vardır. Tefferi A. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada JAK2V617F mutasyonu taşımayan, homozigot mutasyon taşıyan ve heterozigot mutasyon taşıyan PV tanı olgular arasında tromboz insidensi açısından bir fark gözlenmemiştir (623). Ohyashiki K. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PV grubunda homozigot ve heterozigot JAK2V617F mutasyonu taşıyan olgular arasında tromboz sıklığı açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (159). 135 PV olgusunu içeren çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu pozitif grupta total tromboz insidensi JAK2V617F mutasyonu negatif gruba göre anlamlı yüksek saptanmıştır (sırasıyla %42.7; %20). Aynı ayrı bakıldığında JAK2V617F mutasyonu taşıyan PV'de arteriyel tromboz sıklığı artış gösterirken venöz tromboz açısından bir fark saptanmamıştır.

JAK2V617F allel yükünün PV'da en yüksek, ET'de en düşük ve PMF'li olguların çoğunda orta-yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir (85, 628). Passamonti F. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada JAK2V617F allel yükü, PV ve ET'den miyelofibroza dönüşümle ilişkili bulunmuştur (629). Yonal-Hindilerden I ve arkadaşlarının yaptığı 107 ET ve 77 PMF olgusunu içeren çalışmada PMF'de ET'ye göre yüksek JAK2V617F allel yükü sıklığı anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (630). Bizim çalışmamızda 118 ET, 84 PMF ve 26 PV olgusunda JAK2 allel yükü değerlendirilmiştir. Çalışmamızda PMF'de yüksek JAK2 allel yükü insidensi, ET'ye göre anlamlı yüksek saptanırken PV grubuna göre yüksek olma eğilimindedir. Çalışmamızda ET ile PV arasında JAK2 allel yüküne göre yapılan karşılaştırmada anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bugüne kadar MPN'lerde JAK2V617F mutasyonunun allel yükünün hastalık



fenotipi üzerine etkilerini araştıran çalışmalar yapılmıştır (69, 617, 621, 631-633). Yüksek JAK2V617F allel yükü, PV ve PMF'de pruritis, PV'da yüksek Hgb seviyesi, PV, ET ve PMF'de lökositoz ve dalak boyutunda artış ile ilişkili bulunmuştur. Başka bir çalışmada ET'de JAK2V617F allel yükünün %50'den fazla olması splenomegali ile ilişkili bulunmuştur (69). Çalışmamızda ET ve PMF olgu grupları, JAK2V617F mutasyonunu taşımayan, düşük JAK2V617F allel yüküne sahip (allel yükü  $\leq$  %50) ve yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip grup (allel yükü  $>$  %50) olarak e bölünerek ileri analiz yapılmıştır. JAK2 allel yükü değerlendirilen PV olguları az sayıda olduğu için PV olgu grubunda mutasyon yüküne göre değerlendirme yapılmamıştır. İstanbul Tıp Fakültesi Hematoloji Polikliniği'nden takipli olgular üzerinde önceden yapılan bir çalışmada yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip ET'de anlamlı derecede düşük Hgb ve Htc düzeyi, yüksek LDH düzeyi bildirilmiştir (630). Bu çalışmada gruplar arasında ortalama dalak boyutu açısından fark görülmemesine rağmen yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip ET'de artmış masif splenomegali sıklığı gözlenmiştir (630). Ayrıca yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip grupta diğer iki grup ile kıyaslandığında eritrosit transfüzyon ihtiyacı ve kanama komplikasyonunda belirgin artış saptanmıştır (630). ET'de JAK2V617F allel yükü ile lökosit, trombosit sayısı ve ölüm insidensi arasında bir ilişki gösterilememiştir (630). Çalışmamızda yüksek JAK2 allel yüküne sahip ET olgularında düşük Hgb ve Htc düzeyi, yüksek LDH düzeyi, dalak boyutu ve artmış kanama insidensi saptanmıştır. Çalışmamızda ET'de JAK2V617F allel yükü ile yaş, cinsiyet, tromboz insidensi, lökosit ve trombosit sayısı arasında bir ilişki saptanmamıştır. ET'de JAK2V617F allel yükü ile total tromboz ve arteriyel tromboz arasında bir ilişki saptanmamasına rağmen yüksek allel yükü olan grupta venöz tromboz sıklığında artış eğilimi görülmüştür.

Çalışmamızda yüksek JAK2 allel yüküne sahip ET olgularında ölüm insidensinde artış gözlenmiştir. Bu bulgu önceki çalışmanın sonucundan farklıdır (630). Çalışma grubumuzda ET'de JAK2 allel yükü ile lösemiye dönüşüm arasında ilişki görülmediği için yüksek JAK2 allel yüküne sahip ET olgularında ölüm insidensinde artışın nedeninin bu grupta artmış kanama sıklığına bağlı olduğunu düşünüyoruz. 77 PMF olgusunu içeren bir çalışmada yüksek JAK2V617F allel yükü ile artmış Hgb, Htc ve lökosit sayısı arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (630). Ayrıca JAK2V617F mutasyonu taşımayan PMF'de kadın cinsiyet oranı, düşük allel yükü olan ve yüksek allel yükü olan gruba göre belirgin yüksek bulunmuştur. Aynı alışmada JAK2V617F allel yüküne göre PMF olguları 3 gruba ayrıldığında gruplar arasında dalak boyutu açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (630). Çalışmamızda nceki bazı çalışmalarla benzer şekilde yüksek JAK2 allel yüküne sahip PMF olgularında artmış lökosit

sayısı ve dalak boyutu saptanmıştır (617, 621). Yonal-Hindilerden I. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak çalışmamızda allel yükü ile Hgb ve Htc arasında bir ilişki saptanmamıştır (630). Çalışmamızda ayrıca JAK2V617F mutasyonu taşımayan grupta diğer 2 gruba göre kadın cinsiyet oranı belirgin yüksek saptanmıştır. Çalışmamızda PMF'de JAK2V617F allel yükü ile yaş, kanama, trombosit sayısı ve LDH düzeyi arasında bir ilişki saptanmamıştır. JAK2 allel yükü ile total tromboz ve arteriyel tromboz açısından bir ilişki görülmemesine rağmen düşük allel yükü olan grupta venöz tromboz sıklığında anlamlı artış görülmüştür. Ayrıca çalışma grubumuzda PMF'de JAK2 allel yükü ile lösemiye dönüşüm ve ölüm arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

MPN'lerde JAK2V617F mutasyonu varlığı veya artmış mutant allel yükünün yaşam veya lösemiye dönüşüm üzerine etkisiyle ilişkili karışık görüşler olmasına rağmen çalışmaların çoğunda mutasyon varlığı veya yüksek allel yükünün yaşamı veya lösemik dönüşümü etkilemediği gösterilmiştir (81, 186, 496, 617, 631, 634-636). Çalışmalarda JAK2V617F mutasyon varlığının ET'de OS veya LFS üzerine etkisi olmadığı vurgulanmaktadır (186, 604, 631). Kurtovic-Kozaric A. ve arkadaşlarının son dönemde yayınladığı 18 yıllık takip süresini içeren bir makalede PV ve ET'de JAK2V617F mutasyonu ile OS arasında ilişki bulunmamıştır (637). 1545 PV tanılı olgu serisini içeren bir çalışmada JAK2V617F mutasyonu olan ve olmayan grup arasında sağkalım açısından bir fark görülmemiştir (155). Tefferi A. ve Barbui T.'nin 2019'daki derlemesinde PV veya ET'de JAK2V617F mutasyonunun ve artmış allel yükünün sağkalım veya lösemik transformasyon üzerine etkisi olmadığı belirtilmiştir (10). Yonal-Hindilerden I. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ve taşımayan ET olguları arasında OS benzer bulunmuştur. Ayrıca ET'de JAK2V617F allel yükünün OS'ni etkilemediği gösterilmiştir (638). Çalışmamızda ET ve PV'da JAK2V617F mutasyon varlığının OS üzerine bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Çalışmamızda ET'de yüksek JAK2 allel yükü olan olgularda ölüm oranı mutasyon taşımayan ve düşük allel yükü olan gruba göre anlamlı artmış bulunmasına rağmen her 3 grup arasında OS açısından fark saptanmamıştır. JAK2V617F mutasyon varlığının PMF'de prognoz üzerine etkisi tartışmalıdır. Guglielmelli P.ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada JAK2V617F mutasyon varlığının PMF'de lösemik dönüşüm veya OS üzerine etkisi olmadığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada düşük allel yükü olan olgularda yüksek allel yükü olanlara ve mutasyon taşımayanlara göre OS daha düşük bulunmakla beraber anemiye progresyon zamanı daha kısa bulunmuştur (634). Tefferi A. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada JAK2V617F mutasyon varlığının PMF'de yaşam üzerine etkisi olmadığı bildirilmiştir. PMF'de düşük mutant yükü olan olgularda yüksek allel yükü olan

veya mutasyon olmayanlara göre OS daha düşük bulunmuştur (635). Bu çalışmalara göre tanıda düşük JAK2V617F allel yükünün PMF’de kısa yaşam süresi ile ilişkili olduğu söylenebilir. Bir çalışmada JAK2V617F mutasyon varlığı PMF’de prognoz ile ilişkisiz bulunurken başka bir çalışmada yaşam üzerine olumsuz etkisi olduğu bildirilmiştir (81, 621). Yonal-Hindilerden I. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PMF’de JAK2V617F mutasyonu ve allel yükü ile OS ve LFS arasında bir ilişki saptanmamıştır (638). Bizim çalışmamızda yukarıdaki çalışma ile benzer şekilde fakat Tefferi A. ve arkadaşlarının, ardından Guglielmelli P.ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak PMF’de JAK2V617F allel yükü ile OS arasında bir ilişki görülmemiştir.

PMF’de günümüzde prognoz ve yaşam için kullanılan risk skorları ‘IPSS’, ‘DIPSS’ ve ‘DIPSS-plus’tır (496, 592 595). Bizim çalışmamızda PMF olguları ‘DIPSS-plus’ kriterlerine göre düşük (n=20), orta-1 (n=39), orta-2 (n=35) ve yüksek riskli (n=11) olarak gruplandırıldığı zaman yüksek riskli grupta diğerlerine göre OS ve LFS anlamlı olarak kısa bulunmuştur.

Sonuç olarak çalışmamızda, ET’de PV ve PMF ile kıyaslandığında tanıdaki ortalama lökosit sayısı belirgin düşük, ortalama trombosit sayısı belirgin yüksek, PMF’de ise diğer gruplarla kıyaslandığında tanıdaki ortalama Hgb, Htc düzeyi anlamlı düşük, ortalama dalak boyutu ve LDH değeri anlamlı yüksek saptanmıştır. PMF grubunda lösemiye dönüşüm ve ölüm oranı diğer 2 gruba göre yüksek bulunmuştur. Bununla paralel olarak PMF grubunda OS ve LFS belirgin kısa saptanmıştır. PV’da ET’ye göre JAK2V617F mutasyon sıklığı anlamlı yüksek saptanırken PMF grubundaki JAK2V617F mutasyon sıklığı da ET’ye göre yüksek bulunmuştur. PMF’de yüksek JAK2 allel yükü insidensi (allel yükü > %50), ET’ye göre anlamlı yüksek saptanırken PV grubuna göre yüksek olma eğilimindedir. Tüm MPN kohortunda (n=410) yapılan çalışmada JAK2V617F mutasyonunu taşıyan olgularda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek flebotomi oranı, ortalama lökosit, Hgb, Htc düzeyi ve düşük trombosit sayısı gözlenmiştir. JAK2V617F mutasyonu pozitif PV’da tanı sırasındaki ortalama lökosit, trombosit sayısı ve tromboz oranı anlamlı olarak yüksek saptanırken, Hgb düzeyi ve erkek cinsiyet oranı anlamlı düşük saptanmıştır. JAK2V617F mutasyonu-pozitif PV’da total tromboz ve arteriyel tromboz sıklığında artış görülmüştür. JAK2V617F mutasyonunu taşıyan ET grubunda tanı sırasındaki Hgb ve Htc düzeyi anlamlı derecede yüksek ve ortalama trombosit sayısı düşük saptanmıştır. ET’de yüksek JAK2V617F allel yükü varlığında Hgb ve Htc düzeyi belirgin düşük, LDH düzeyi ve ortalama dalak boyutu belirgin yüksek saptanmıştır. Bunun yanında yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip ET grubunda kanama sıklığında ve ölüm insidensinde artış saptanmıştır. Ayrıca yüksek JAK2V617F allel yüküne sahip ET’de venöz tromboz

sıklığında artış eğilimi görülmüştür JAK2V617F mutasyonu pozitif PMF'de erkek cinsiyet oranı, dalak boyutu ve ortalama lökosit sayısı belirgin yüksek saptanmıştır. Ayrıca JAK2V617F-pozitif PMF'de venöz tromboz insidensinde artış eğilimi vardır. PMF'de yüksek JAK2V617F allel yükü varlığında lökosit sayısı ve dalak boyutu belirgin yüksek saptanmıştır. PMF'de düşük allel yükü olan grupta venöz tromboz sıklığında anlamlı artış görülmüştür.

Ph-negatif MPN'de JAK2V617F mutasyonu tanımlandıktan sonra hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasında büyük gelişmeler olmuştur. Bu mutasyonun keşfinden sonra 'DSÖ' tarafından tanı kriterleri revize edilmiştir. JAK2V617F mutasyonu, 'DSÖ 2016' tanı kriterlerinde majör kriterlerden biri olmaya devam etmektedir. JAK2V617F mutasyonunun prognostik önemi büyük olgu serilerinde yoğun araştırma konusudur. JAK2V617F allel yüküne göre MPN olgularını karşılaştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmalarla kesin bir sonuç elde edilmemesine rağmen yüksek JAK2V617F allel yükü varlığında intraselüler sinyal yollarının güçlü bir şekilde aktivasyonuna bağlı PV ilişkili klinik fenotipin ortaya çıktığı düşünülmektedir. Çalışmamız oldukça büyük olgu serisini içermekte olup Türk popülasyonunda JAK2V617F mutasyonu ve allel yükü ile ilişkili ayırt edici klinik fenotipi ve laboratuvar özelliklerini ortaya koymaktadır. Çalışmamızın diğer bir önemli özelliği uzun takip süresi ile bu popülasyonun gerçek yaşam verilerini sunmasıdır. Sonuç olarak çalışmamız JAK2V617F mutasyonunun ve allel yükünün MPN olgularındaki önemini ortaya koymuştur.

## 6. KAYNAKLAR

1. Anastasi J. The myeloproliferative and overlap, myeloproliferative/myelodysplastic neoplasms. In= Hsi ED, ed. In Hematopathology, ed 2. St. Louis: Elsevier; 2012: 479.
2. Swerdlow SH, editor. WHO classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th edn. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2017.
3. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M, Vardiman JW. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391-405.
4. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Kvasnicka HM, Vannucchi AM, Guglielmelli P, Orazi A, Tefferi A. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. *Blood Cancer J* 2018 Feb;8(2):15.
5. Witthuhn BA1, Quelle FW, Silvennoinen O, Yi T, Tang B, Miura O, Ihle JN. JAK2 associates with the erythropoietin receptor and is tyrosine phosphorylated and activated following stimulation with erythropoietin. *Cell* 1993 Jul 30;74(2):227-36.
6. İpek Yönel Hindilerden, Fehmi Hindilerden, Deniz Sargın. "Miyeloproliferatif neoplazilerde moleküler olayların önemi (The impact of molecular events on myeloproliferative neoplasms).", İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi, Cilt 78, Sayı 4, 125-136 pp., 2015
7. Vaquez H (1892) Sur une forme speciale de cyanose s'accompagnant d'hyperglobulie excessive et peristante. *C R Soc Biol (Paris)* 44:384-388.
8. Epstein E, Goedel A (1934) Hamorrhagische Thrombozythamie bei vascularer Schrumpfmilz (Hemorrhagic thrombocytopenia with a vascular, sclerotic spleen). *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 293:233.
9. Levine RL, Wernig G. Role of JAK-STAT signaling in the pathogenesis of myeloproliferative disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006:233-9, 510.
10. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2019 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2019 Jan;94(1):133-143.

11. Osler W. Chronic cyanosis, with polycythemia and enlarged spleen= A new clinical entity. *Am J Med Sci.* 1903; 126:187.
12. Türk W. Beiträge zur Kenntnis des Symptomenbildes Polycythämie mit Milztumor und Zyanose. *Wien Klin Wochenschr.* 1904; 17:153-160
13. Anderson LA, McMullin MF. Epidemiology of MPN= What do we know? *Curr Hematol Malig Rep.* *Curr Hematol Malig Rep.* 2014 Dec; 9(4): 340-9.
14. Titmarsh GJ, Duncombe AS, McMullin MF, O'Rourke M, Mesa R, De Vocht F, Horan S, Fritschi L, Clarke M, Anderson LA. How common are myeloproliferative neoplasms? A systematic review and meta-analysis. *Am J Hematol* 2014; 89(6):581–7.
15. Modan B, Kallner H, Zemer D, Yoran C. A note on the increased risk of polycythemia vera in Jews. *Blood.* 1971 Feb;37(2):172-6.
16. Landgren O, Goldin LR, Kristinsson SY, Helgadóttir EA, Samuelsson J, Björkholm M. Increased risks of polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myelofibrosis among 24,577 first-degree relatives of 11,039 patients with myeloproliferative neoplasms in Sweden. *Blood* 2008 Sep;112(6):2199–2204.
17. Prchal JF, Axelrad AA. Letter: Bone-marrow responses in polycythemia vera. *N Engl J Med.* 1974 Jun 13;290(24):1382.
18. Eaves CJ, Eaves AC. Erythropoietin (Ep) dose-response curves for three classes of erythroid progenitors in normal human marrow and in patients with polycythemia vera. *Blood.* 1978 Dec;52(6):1196-210.
19. Dai CH, Krantz SB, Green WF, Gilbert HS. Polycythaemia vera. III. Burst-forming units-erythroid (BFU-E) response to stem cell factor and c-kit receptor expression. *Br J Haematol.* 1994 Jan;86(1):12-21.
20. Correa PN, Eskinazi D, Axelrad AA. Circulating erythroid progenitors in polycythemia vera are hypersensitive to insulin-like growth factor-1 in vitro: studies in an improved serum-free medium. *Blood.* 1994 Jan 1;83(1):99-112.
21. Mirza AM, Correa PN, Axelrad AA. Increased basal and induced tyrosine phosphorylation of the insulin-like growth factor I receptor beta subunit in circulating mononuclear cells of patients with polycythemia vera. *Blood.* 1995 Aug 1;86(3):877-82.

22. Mirza AM, Ezzat S, Axelrad AA. Insulin-like growth factor binding protein-1 is elevated in patients with polycythemia vera and stimulates erythroid burst formation in vitro. *Blood*. 1997 Mar 15;89(6):1862-9.
23. Michl P, Spoettl G, Engelhardt D, Weber MM. Alterations of the insulin-like growth factor system in patients with polycythemia vera. *Mol Cell Endocrinol*. 2001 Jul 5;181(1-2):189-97.
24. Ratajczak MZ, Ratajczak J, Marlicz W, Pletcher CH Jr, Machalinski B, Moore J, Hung H, Gewirtz AM. Recombinant human thrombopoietin (TPO) stimulates erythropoiesis by inhibiting erythroid progenitor cell apoptosis. *Br J Haematol*. 1997 Jul;98(1):8-17.
25. Solar GP, Kerr WG, Zeigler FC, Hess D, Donahue C, de Sauvage FJ, Eaton DL. Role of c-mpl in early hematopoiesis. *Blood*. 1998 Jul 1;92(1):4-10.
26. Villeval JL, Cohen-Solal K, Tulliez M, Giraudier S, Guichard J, Burstein SA, Cramer EM, Vainchenker W, Wendling F. High thrombopoietin production by hematopoietic cells induces a fatal myeloproliferative syndrome in mice. *Blood*. 1997 Dec 1;90(11):4369-83.
27. Elliot MA, Yoon SY, Kao P, Li CY, Tefferi A. Simultaneous measurement of serum thrombopoietin and expression of megakaryocyte c-Mpl with clinical and laboratory correlates for myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Eur J Haematol*. 2002 Mar;68(3):175-9.
28. Moliterno AR, Spivak JL. Posttranslational processing of the thrombopoietin receptor is impaired in polycythemia vera. *Blood*. 1999 Oct 15;94(8):2555-61.
29. Moliterno AR, Williams DM, Gutierrez-Alamillo LI, Salvatori R, Ingersoll RG, Spivak JL. Mpl Baltimore: a thrombopoietin receptor polymorphism associated with thrombocytosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Aug 3;101(31):11444-7. Epub 2004 Jul 21
30. Carpinelli MR, Hilton DJ, Metcalf D, Antonchuk JL, Hyland CD, Mifsud SL, Di Rago L, Hilton AA, Willson TA, Roberts AW, Ramsay RG, Nicola NA, Alexander WS. Suppressor screen in Mpl<sup>-/-</sup> mice: c-Myb mutation causes supraphysiological production of platelets in the absence of thrombopoietin signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Apr 27;101(17):6553-8. Epub 2004 Apr 7.
31. Metcalf D, Carpinelli MR, Hyland C, Mifsud S, Dirago L, Nicola NA, Hilton DJ, Alexander WS. Anomalous megakaryocytopoiesis in mice with mutations in the c-Myb gene. *Blood*. 2005 May 1;105(9):3480-7. Epub 2005 Jan 21.

32. Cools J, DeAngelo DJ, Gotlib J, Stover EH, Legare RD, Cortes J, Kutok J, Clark J, Galinsky I, Griffin JD, Cross NC, Tefferi A, Malone J, Alam R, Schrier SL, Schmid J, Rose M, Vandenberghe P, Verhoef G, Boogaerts M, Wlodarska I, Kantarjian H, Marynen P, Coutre SE, Stone R, Gilliland DG. A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. *N Engl J Med.* 2003 Mar 27;348(13):1201-14.
33. Cross NC, Reiter A. Tyrosine kinase fusion genes in chronic myeloproliferative diseases. *Leukemia.* 2002 Jul;16(7):1207-12. Review.
34. Röder S, Steimle C, Meinhardt G, Pahl HL. STAT3 is constitutively active in some patients with Polycythemia rubra vera. *Exp Hematol.* 2001 Jun;29(6):694-702.
35. Ugo V, Marzac C, Teyssandier I, Larbret F, Lécluse Y, Debili N, Vainchenker W, Casadevall N. Multiple signaling pathways are involved in erythropoietin-independent differentiation of erythroid progenitors in polycythemia vera. *Exp Hematol.* 2004 Feb;32(2):179-87.
36. James C, Ugo V, Le Couédic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, Garçon L, Raslova H, Berger R, Bennaceur-Griscelli A, Villeval JL, Constantinescu SN, Casadevall N, Vainchenker W. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature.* 2005 Apr 28;434(7037):1144-8.
37. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, Vassiliou GS, Bench AJ, Boyd EM, Curtin N, Scott MA, Erber WN, Green AR; Cancer Genome Project. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet.* 2005 Mar 19-25;365(9464):1054-61.
38. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, Tichelli A, Cazzola M, Skoda RC. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med.* 2005 Apr 28;352(17):1779-90.
39. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, Boggon TJ, Wlodarska I, Clark JJ, Moore S, Adelsperger J, Koo S, Lee JC, Gabriel S, Mercher T, D'Andrea A, Fröhling S, Döhner K, Marynen P, Vandenberghe P, Mesa RA, Tefferi A, Griffin JD, Eck MJ, Sellers WR, Meyerson M, Golub TR, Lee SJ, Gilliland DG. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell.* 2005 Apr;7(4):387-97.



40. Jones AV, Kreil S, Zoi K, Waghorn K, Curtis C, Zhang L, Score J, Seear R, Chase AJ, Grand FH, White H, Zoi C, Loukopoulos D, Terpos E, Vervessou EC, Schultheis B, Emig M, Ernst T, Lengfelder E, Hehlmann R, Hochhaus A, Oscier D, Silver RT, Reiter A, Cross NC. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood*. 2005 Sep 15;106(6):2162-8. Epub 2005 May 26.
41. Zhao R, Xing S, Li Z, Fu X, Li Q, Krantz SB, Zhao ZJ. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem*. 2005 Jun 17;280(24):22788-92.
42. Scott LM, Tong W, Levine RL, Scott MA, Beer PA, Stratton MR, Futreal PA, Erber WN, McMullin MF, Harrison CN, Warren AJ, Gilliland DG, Lodish HF, Green AR. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med*. 2007 Feb 1;356(5):459-68.
43. Skoda R, Prchal JT. Lessons from familial myeloproliferative disorders. *Semin Hematol* 2005; 42(4):266–273.
44. The JAK2 GGCC (46/1) Haplotype in Myeloproliferative Neoplasms: Causal or Random? Luisa Anelli, Antonella Zagaria, Giorgina Specchia, Francesco Albano *Int J Mol Sci*. 2018 Apr; 19(4): 1152.
45. Wehmeier A, Daum I, Jamin H, Schneider W. Incidence and clinical risk factors for bleeding and thrombotic complications in myeloproliferative disorders. A retrospective analysis of 260 patients. *Ann Hematol* 1991 Aug;63(2):101-6.
46. Polycythemia vera: The natural history of 1213 patients followed for 20 years. Gruppo Italiano Studio Policitemia. *Ann Intern Med*. 1995 Nov 1;123(9):656-64.
47. Berk P, Wasserman L, Fruchtman S. Treatment of polycythemia vera. A summary of clinical trials conducted by the Polycythemia Study Group, in *Polycythemia Vera and the Myeloproliferative Disorders*, edited by Wasserman L, Berk P, Berlin N. WB Saunders, Philadelphia.1995: 166-194
48. Yonal I, Pinarbası B, Hindilerden F, Hancer VS, Nalcaci M, Kaymakoglu S, Diz-Kucukkaya R. The clinical significance of JAK2V617F mutation for Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms in patients with splanchnic vein thrombosis. *J Thromb Thrombolysis*. 2012 Oct;34(3):388-96.
49. Steinman HK, Greaves MW. Aquagenic pruritus. *J Am Acad Dermatol*. 1985 Jul;13(1):91-6.

50. Jackson N, Burt D, Crocker J, Boughton B. Skin mast cells in polycythaemia vera: relationship to the pathogenesis and treatment of pruritus. *Br J Dermatol*. 1987 Jan;116(1):21-9.
51. Buchanan JG, Ameratunga RV, Hawkins RC. Polycythemia vera and water-induced pruritus: evidence against mast cell involvement. *Pathology*. 1994 Jan;26(1):43-5.
52. Westin J, Granerus G, Weinfeld A, Wetterquist H. Histamine metabolism in polycythaemia vera. *Scand J Haematol*. 1975 Aug;15(1):45-57.
53. Salem HH, Van der Weyden MB, Young IF, Wiley JS. Pruritus and severe iron deficiency in polycythaemia vera. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1982 Jul 10;285(6335):91-2.
54. Kurzrock R, Cohen PR. Erythromelalgia and myeloproliferative disorders. *Arch Intern Med*. 1989 Jan;149(1):105-9.
55. Michiels JJ. Erythromelalgia and vascular complications in polycythemia vera. *Semin Thromb Hemost*. 1997;23(5):441-54.
56. Davis MD, O'Fallon WM, Rogers RS 3rd, Rooke TW. Natural history of erythromelalgia  
Presentation and outcome in 168 patients. *Arch Dermatol* 2000 Mar;136(3):330-6
57. Kalgaard OM, Seem E, Kvernebo K. Erythromelalgia: a clinical study of 87 cases. *J Intern Med*. 1997 Sep;242(3):191-7.
58. Michiels JJ, Abels J, Steketee J, van Vliet HH, Vuzevski VD. Erythromelalgia caused by thrombotic-mediated arteriolar inflammation and thrombosis in thrombocytopenia. *Ann Intern Med*. 1985 Apr;102(4):466-71.
59. Brabrand M1, Hansen KN2, Laursen CB3, Larsen TS1, Vestergaard H1, Abildgaard N1. Frequency and etiology of pulmonary hypertension in patients with myeloproliferative neoplasms. *Eur J Haematol*. 2019 Mar;102(3):227-234.
60. Perkins J, Israuels MC, Wilkinson JF. Polycythaemia vera: clinical studies on a series of 127 patients managed without radiation therapy. *Q J Med*. 1964 Oct; 33:499-518.
61. Gilbert HS, Warner RR, Wasserman LR. A study of histamine in myeloproliferative disease. *Blood*. 1966 Dec;28(6):795-806.
62. Huang Z, Shiva S, Kim-Shapiro DB, Patel RP, Ringwood LA, Irby CE, Huang KT, Ho C, Hogg N, Schechter AN, Gladwin MT. Enzymatic function of hemoglobin as a nitrite

- reductase that produces NO under allosteric control. *J Clin Invest.* 2005 Aug;115(8):2099-107.
63. Gutman AB, Kupfer S, Sharney L, Weissmann B, Yu TF. On the biosynthesis of uric acid from glycine-N<sup>15</sup> in primary and secondary polycythemia. *Am J Med.* 1956 Dec;21(6):901-17.
64. Berlin NI. Diagnosis and classification of the polycythemias. *Semin Hematol* 12(4):339-351, 1975
65. Spivak JL. Polycythemia vera: Myths, mechanisms, and management. *Blood* 100(13):4272-4290, 2002
66. Mehta P, Mehta J, Ross M, Ostrowski N, Player D. Decreased platelet aggregation but increased thromboxane A<sub>2</sub> generation in polycythemia vera. *Arch Intern Med.* 1985 Jul;145(7):1225-7.
67. Landolfi R, Cipriani MC, Novarese L. Thrombosis and bleeding in polycythemia vera and essential thrombocythemia: pathogenetic mechanisms and prevention. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2006;19(3):617-33.
68. Moliterno AR1, Williams DM, Rogers O, Spivak JL. Molecular mimicry in the chronic myeloproliferative disorders: reciprocity between quantitative JAK2 V617F and Mpl expression. *Blood* 2006 Dec 1;108(12):3913-5.
69. Antonioli E, Guglielmelli P, Poli G, Bogani C, Pancrazzi A, Longo G, Ponziani V, Tozzi L, Pieri L, Santini V, Bosi A, Vannucchi AM; Myeloproliferative Disorders Research Consortium (MPD-RC). Influence of JAK2V617F allele burden on phenotype in essential thrombocythemia. *Haematologica.* 2008 Jan;93(1):41-8.
70. Lippert E1, Girodon F, Hammond E, Jelinek J, Reading NS, Fehse B, Hanlon K, Hermans M, Richard C, Swierczek S, Ugo V, Carillo S, Harnivel V, Marzac C, Pietra D, Sobas M, Mounier M, Migeon M, Ellard S, Kröger N, Herrmann R, Prchal JT, Skoda RC, Hermouet S. Concordance of assays designed for the quantification of JAK2V617F: a multicenter study. *Haematologica* 2009 Jan;94(1):38-45.
71. Pietra D1, Li S, Brisci A, Passamonti F, Rumi E, Theocharides A, Ferrari M, Gisslinger H, Kralovics R, Cremonesi L, Skoda R, Cazzola M. Somatic mutations of JAK2 exon 12 in patients with JAK2 (V617F)-negative myeloproliferative disorders. *Blood.* 2008 Feb 1;111(3):1686-9.

72. Rapado I, Grande S, Albizua E, Ayala R, Hernández JA, Gallardo M, Gilsanz F, Martínez-Lopez J. High resolution melting analysis for JAK2 Exon 14 and Exon 12 mutations: a diagnostic tool for myeloproliferative neoplasms. *J Mol Diagn* 2009 Mar;11(2):155-61.
73. Birgegård G, Wide L. Serum erythropoietin in the diagnosis of polycythaemia and after phlebotomy treatment. *Br J Haematol* 1992 Aug;81(4):603-6.
74. Mossuz P, Girodon F, Donnard M, Latger-Cannard V, Dobo I, Boiret N, Lecron JC, Binquet C, Barro C, Hermouet S, Praloran V. Diagnostic value of serum erythropoietin level in patients with absolute erythrocytosis. *Haematologica* 2004 Oct;89(10):1194-8.
75. Tefferi A, Thiele J, Vannucchi AM, Barbui T. An overview on CALR and CSF3R mutations and a proposal for revision of WHO diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. 2014;28(7):1407-13.
76. Maxson JE, Gotlib J, Pollyea DA, Fleischman AG, Agarwal A, Eide CA, Bottomly D, Wilmot B, McWeeney SK, Tognon CE, Pond JB, Collins RH, Goueli B, Oh ST, Deininger MW, Chang BH, Loriaux MM, Druker BJ, Tyner JW. Oncogenic CSF3R mutations in chronic neutrophilic leukemia and atypical CML. *N Engl J Med*. 2013;368(19):1781-90.
77. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Finazzi G, Carobbio A, Rumi E, Luigia Randi M, Bertozzi I, Vannucchi AM, Pieri L, Carrai V, Gisslinger B, Müllauer L, Ruggeri M, Rambaldi A, Tefferi A. Masked polycythemia vera (mPV): results of an international study. *Am J Hematol*. 2014;89(1): 52-4
78. Barbui T, Thiele J, Vannucchi AM, Tefferi A. Myeloproliferative neoplasms: Morphology and clinical practice. *Am J Hematol*. 2016;91(4): 430-3.
79. McClure RF, Hoyer JD, Mai M. The JAK2 V617F mutation is absent in patients with erythrocytosis due to high oxygen affinity hemoglobin variants. *Hemoglobin* 2006; 30: 487-9.
80. Heller PG, Lev PR, Salim JP, Kornblihtt LI, Goette NP, Chazarreta CD, Glembotsky AC, Vassallu PS, Marta RF, Molinas FC. JAK2V617F mutation in platelets from essential thrombocythemia patients: correlation with clinical features and analysis of STAT5 phosphorylation status. *Eur J Haematol* 2006; 77: 210-6.
81. Campbell PJ, Griesshammer M, Döhner K, Döhner H, Kusec R, Hasselbalch HC, Larsen TS, Pallisgaard N, Giraudier S, Le Bousse-Kerdilès MC, Desterke C, Guerton B, Dupriez B, Bordessoule D, Fenaux P, Kiladjian JJ, Viallard JF, Brière J, Harrison CN, Green AR,

- Reilly JT. V617F mutation in JAK2 is associated with poorer survival in idiopathic myelofibrosis. *Blood* 2006; 107: 2098–100.
82. Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, Kutti J, Gisslinger H, Patrono C, Marilus R, Villegas A, Tognoni G, Barbui T. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J Clin Oncol*. 2005 Apr 1;23(10):2224-32.
83. Finazzi G, Barbui T. Evidence and expertise in the management of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Leukemia*. 2008 Aug;22(8):1494-502.
84. Barbui T, Carobbio A, Rambaldi A, Finazzi G. Perspectives on thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: is leukocytosis a causative factor? *Blood* 2009 Jul 23;114(4):759-63.
85. 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 Jul;22(7):1299-307.
86. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, Cervantes F, Finazzi G, Griesshammer M, Harrison C, Hasselbalch HC, Hehlmann R, Hoffman R, Kiladjian JJ, Kröger N, Mesa R, McMullin MF, Pardanani A, Passamonti F, Vannucchi AM, Reiter A, Silver RT, Verstovsek S, Tefferi A; European LeukemiaNet. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol*. 2011 Feb 20;29(6):761-70.
87. Harrison C. Rethinking disease definitions and therapeutic strategies in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010; 2010:129-34.
88. Landolfi R, Marchioli R. European Collaboration on Low-dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP): a randomized trial. *Semin Thromb Hemost* 1997;23(5):473-8.
89. Mascarenhas JO, Cross NC, Mesa RA. The future of JAK inhibition in myelofibrosis and beyond. *Blood Rev*. 2014 Sep;28(5):189-96.
90. Barosi G, Mesa R, Finazzi G, Harrison C, Kiladjian JJ, Lengfelder E, McMullin MF, Passamonti F, Vannucchi AM, Besses C, Gisslinger H, Samuelsson J, Verstovsek S, Hoffman R, Pardanani A, Cervantes F, Tefferi A, Barbui T. Revised response criteria for polycythemia vera and essential thrombocythemia: an ELN and IWG-MRT consensus project. *Blood* 2013 Jun 6;121(23):4778-81.

91. Dingli D1, Tefferi A. Hydroxyurea: The drug of choice for polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Curr Hematol Malig Rep*. 2006 Jun;1(2):69-74.
92. Barbui T1, Finazzi G. Evidence-based management of polycythemia vera. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2006;19(3):483-93.
93. Antonioli E, Carobbio A, Pieri L, Pancrazzi A, Guglielmelli P, Delaini F, Ponziani V, Bartalucci N, Tozzi L, Bosi A, Rambaldi A, Barbui T, Vannucchi AM. Hydroxyurea does not appreciably reduce JAK2 V617F allele burden in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2010 Aug;95(8):1435-8.
94. Ricksten A, Palmqvist L, Johansson P, Andreasson B. Rapid decline of JAK2V617F levels during hydroxyurea treatment in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Haematologica* 2008 Aug;93(8):1260-1.
95. Spanoudakis E1, Bazdiara I, Kotsianidis I, Margaritis D, Goutzouvelidis A, Christoforidou A, Tsatalas C, Bourikas G. Hydroxyurea (HU) is effective in reducing JAK2V617F mutated clone size in the peripheral blood of essential thrombocythemia (ET) and polycythemia vera (PV) patients. *Ann Hematol* 2009 Jul;88(7):629-32.
96. Zalcberg IR, Ayres-Silva J, de Azevedo AM, Solza C, Daumas A, Bonamino M. Hydroxyurea dose impacts hematologic parameters in polycythemia vera and essential thrombocythemia but does not appreciably affect JAK2-V617F allele burden. *Haematologica*. 2011 Mar;96(3):e18-20.
97. Sirhan S1, Lasho TL, Hanson CA, Mesa RA, Pardanani A, Tefferi A. The presence of JAK2V617F in primary myelofibrosis or its allele burden in polycythemia vera predicts chemosensitivity to hydroxyurea. *Am J Hematol* 2008 May;83(5):363-5.
98. Alvarez-Larrán A1, Pereira A, Cervantes F, Arellano-Rodrigo E, Hernández-Boluda JC, Ferrer-Marín F, Angona A, Gómez M, Muiña B, Guillén H, Teruel A, Bellosillo B, Burgaleta C, Vicente V, Besses C. Assessment and prognostic value of the European LeukemiaNet criteria for clinicohematologic response, resistance, and intolerance to hydroxyurea in polycythemia vera. *Blood* 2012 Feb 9;119(6):1363-9.
99. Barosi G, Birgegard G, Finazzi G, Griesshammer M, Harrison C, Hasselbalch H, Kiladijan JJ, Lengfelder E, Mesa R, Mc Mullin MF, Passamonti F, Reilly JT, Vannucchi AM, Barbui T. A unified definition of clinical resistance and intolerance to hydroxycarbamide in

- polycythaemia vera and primary myelofibrosis: results of a European LeukemiaNet (ELN) consensus process. *Br J Haematol.* 2010 Mar;148(6):961-3.
100. Sever M1, Newberry KJ, Verstovsek S. Therapeutic options for patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia refractory/resistant to hydroxyurea. *Leuk Lymphoma* 2014 Dec;55(12):2685-90.
101. Treatment of polycythaemia vera by radiophosphorus or busulphan= a randomized trial. "Leukemia and Hematosarcoma" Cooperative Group, European Organization for Research on Treatment of Cancer (E.O.R.T.C.). *Br J Cancer.* 1981 Jul;44(1):75-80.
102. Finazzi G, Caruso V, Marchioli R, Capnist G, Chisesi T, Finelli C, Gugliotta L, Landolfi R, Kutti J, Gisslinger H, Marilus R, Patrono C, Pogliani EM, Randi ML, Villegas A, Tognoni G, Barbui T; ECLAP Investigators. Acute leukemia in polycythemia vera: An analysis of 1638 patients enrolled in a prospective observational study. *Blood.* 2005 Apr 1;105(7):2664-70.
103. Alvarez-Larrán A1, Martínez-Avilés L, Hernández-Boluda JC, Ferrer-Marín F, Antelo ML, Burgaleta C, Mata MI, Xicoy B, Martínez-Trillos A, Gómez-Casares MT, Durán MA, Marcote B, Ancochea A, Senín A, Angona A, Gómez M, Vicente V, Cervantes F, Bellosillo B, Besses C. Busulfan in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia refractory or intolerant to hydroxyurea. *Ann Hematol.* 2014 Dec;93(12):2037-43.
104. Tefferi A1. Polycythemia vera: a comprehensive review and clinical recommendations. *Mayo Clin Proc.* 2003 Feb;78(2):174-94.
105. Balan KK, Critchley M. Outcome of 259 patients with primary proliferative polycythaemia (PPP) and idiopathic thrombocythaemia (IT) treated in a regional nuclear medicine department with phosphorus<sup>32</sup> a 15 year review. *Br J Radiol* 1997 Nov;70(839):1169-73.
106. Silver RT. Recombinant interferon-alpha for treatment of polycythaemia vera. *Lancet.* 1988 Aug 13;2(8607):403.
107. Hasselbalch HC: A new era for IFN-alpha in the treatment of Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms. *Expert Rev Hematol* 2011;4(6):637–55.

108. Hasselbalch HC, Larsen TS, Riley CH, et al: Interferon-alpha in the treatment of Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms. Status and perspectives. *Curr Drug Targets* 2011;12(3):392–419.
109. Silver RT, Kiladjian JJ, Hasselbalch HC: Interferon and the treatment of polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. *Expert Rev Hematol* 2013; 6(1):49–58.
110. Kiladjian JJ, Mesa RA, Hoffman R: The renaissance of interferon therapy for the treatment of myeloid malignancies. *Blood* 2011;117(18):4706–15.
111. Jones AV, Silver RT, Waghorn K, et al: Minimal molecular response in polycythemia vera patients treated with imatinib or interferon alpha. *Blood* 2006;107(8):3339–41
112. Larsen TS, Moller MB, de Stricker K, et al: Minimal residual disease and normalization of the bone marrow after long-term treatment with alpha-interferon2b in polycythemia vera. A report on molecular response patterns in seven patients in sustained complete hematological remission. *Hematology* 2009; 14(6):331–4
113. Liu E, Jelinek J, Pastore YD, Guan Y, Prchal JF, Prchal JT. Discrimination of polycythemias and thrombocytoses by novel, simple, accurate clonality assays and comparison with PRV-1 expression and  
BFU-E response to erythropoietin. *Blood* 2003;101(8):3294–3301.
114. Huang BT, Zeng QC, Zhao WH, Li BS4, Chen RL5. Interferon alpha-2b gains high sustained response therapy for advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera with JAK2V617F positive mutation. *Leuk Res* 2014 Oct;38(10):1177-83.
115. Kiladjian JJ, Cassinat B, Chevret S, Turlure P, Cambier N, Roussel M, Bellucci S, Grandchamp B, Chomienne C, Fenaux P. Pegylated interferon-alfa-2a induces complete hematologic and molecular responses with low toxicity in polycythemia vera. *Blood* 2008 Oct 15;112(8):3065-72.
116. Steegmann JL, Requena MJ, Martin-Regueira P, et al: High incidence of autoimmune alterations in chronic myeloid leukemia patients treated with interferon-alpha. *Am J Hematol* 2003;72(3):170–6.
117. Quintas-Cardama A, Kantarjian HM, Giles F, et al: Pegylated interferon therapy for patients with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative disorders. *Semin Thromb Hemost* 2006;32(4 Pt 2):409–16.



118. Jabbour E, Kantarjian H, Cortes J, et al: PEG-IFN-alpha-2b therapy in BCR-ABL negative myeloproliferative disorders: Final result of a phase 2 study. *Cancer* 2007;110(9):2012–8
119. Samuelsson J, Hasselbalch H, Bruserud O, et al: 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(11):2397–405.
120. Samuelsson J, Mutschler M, Birgegard G, et al: Limited effects on JAK2 mutational status after pegylated interferon alpha-2b therapy in polycythemia vera and essential Thrombocythemia. *Haematologica* 2006;91(9):1281–2.
121. Kiladjian JJ, Cassinat B, Chevret S, et al: Pegylated interferon-alfa-2a induces complete hematologic and molecular responses with low toxicity in polycythemia vera. *Blood* 2008;112(8):3065–72.
122. Kiladjian JJ, Cassinat B, Turlure P, et al: High molecular response rate of polycythemia vera patients treated with pegylated interferon alpha-2a. *Blood* 2006;108(6):2037–40
123. Berk PD, Goldberg JD, Donovan PB, Fruchtman SM, Berlin NI, Wasserman LR. Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols. *Semin Hematol* 1986 Apr;23(2):132–43.
124. Berlin NI, Wasserman LR. Polycythemia vera: A retrospective and reprise. *J Lab Clin Med* 1997;130(4):365–73.
125. Pearson TC, Wetherley-Mein G. Vascular occlusive episodes and venous haematocrit in primary proliferative polycythaemia. *Lancet* 1978;2(8102):1219–22.
126. Vongpatanasin W, Brickner ME, Hillis LD, et al: The Eisenmenger syndrome in adults. *Ann Intern Med* 1998;128(9):745–55.
127. Thorne SA: Management of polycythaemia in adults with cyanotic congenital heart disease. *Heart* 1998;79(4):315–6.
128. Perloff JK, Marelli AJ, Miner PD: Risk of stroke in adults with cyanotic congenital heart disease. *Circulation* 1993;87(6):1954–9.
129. Di Nisio M, Barbui T, Di Gennaro L, Borrelli G, Finazzi G, Landolfi R, Leone G, Marfisi R, Porreca E, Ruggeri M, Rutjes AW, Tognoni G, Vannucchi AM, Marchioli R. European

- Collaboration on Low-dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP) Investigators. The haematocrit and platelet target in polycythemia vera. *Br J Haematol* 2007 Jan;136(2):249-59.
130. Marchioli R, Finazzi G, Specchia G, Cacciola R, Cavazzina R, Cilloni D, De Stefano V, Elli E, Iurlo A, Latagliata R, Lunghi F, Lunghi M, Marfisi RM, Musto P, Masciulli A, Musolino C, Cascavilla N, Quarta G, Randi ML, Rapezzi D, Ruggeri M, Rumi E, Scortechini AR, Santini S, Scarano M, Siragusa S, Spadea A, Tieghi A, Angelucci E, Visani G, Vannucchi AM, Barbui T; CYTO-PV Collaborative Group. Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N Engl J Med* 2013 Jan 3;368(1):22-33.
131. Petitt RM, Silverstein MN, Petrone ME. Anagrelide for control of thrombocytopenia in polycythemia and other myeloproliferative disorders. *Semin Hematol* 1997;34(1):51-4.
132. Green A, Campbell P, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D, Wilkins BS, van der Walt JD, Reilly JT, Grigg AP, Revell P, Woodcock BE, Green AR; United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocytopenia 1 Study. The Medical Research Council PT1 Trial in Essential Thrombocytopenia. *Blood* 2005 Jul 7;353(1):33-45.
133. Gisslinger H1, Gotic M, Holowiecki J, Penka M, Thiele J, Kvasnicka HM, Kralovics R, Petrides PE; ANAHYDRET Study Group. Anagrelide compared with hydroxyurea in WHO-classified essential thrombocytopenia: the ANAHYDRET Study, a randomized controlled trial. *Blood*. 2013 Mar 7;121(10):1720-8.
134. De Wolf JT, Hendriks DW, Egger RC, Wijermans PW, Huijgens PC, Halie MR, Vellenga E. Alpha-interferon for intractable pruritus in polycythaemia vera. *Lancet* 1991;337(8735):241.
135. Foa P, Massaro P, Caldiera S, LaTargia M L, Iurlo A, Clerici C, Fornier M, Bertoni F, Maiolo A T. Long-term therapeutic efficacy and toxicity of recombinant interferon-alpha2a in polycythaemia vera. *Eur J Haematol* 1998;60(5):273-7.
136. Ozturk A, Gunay A, Uskent N. Therapeutic efficacy of recombinant interferon-alpha in polycythaemia vera. *Acta Haematol* 1998;99(2):89-91.
137. Verstovsek S, Kiladjan JJ, Grieshammer M, Victor Sandor, Jacek Lukawy, Jingjin Li, Shui HeWilliam M. Garrett, Kamel Malek, Ulrich Pirron, Bijoyesh Mookerjee, Alessandro M. Vannucchi. Results of a Prospective, Randomized, Open-Label Phase 3

- Study of Ruxolitinib (RUX) in Polycythemia Vera (PV) Patients Resistant to or Intolerant of Hydroxyurea (HU): The RESPONSE. abstract American Society of Clinical Oncology 2014.
138. Tartaglia AP, Goldberg JD, Berk PD, Wasserman LR. Adverse effects of antiaggregating platelet therapy in the treatment of polycythemia vera. *Semin Hematol* 1986;23(3):172–6
139. Landolfi R, Marchioli R: European Collaboration on Low-dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP): A randomized trial. *Semin Thromb Hemost* 1997;23(5):473–8
140. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, Gisslinger H, Tognoni G, Patrono C, Barbui T; European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera Investigators. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med* 2004 Jan 8;350(2):114–24.
141. Quintas-Cardama A, Vaddi K, Liu P, Manshouri T, Li J, Scherle PA, Caulder E, Wen X, Li Y, Waeltz P, Rupar M, Burn T, Lo Y, Kelley J, Covington M, Shepard S, Rodgers JD, Haley P, Kantarjian H, Fridman JS, Verstovsek S. Preclinical characterization of the selective JAK1/2 inhibitor INCB018424: Therapeutic implications for the treatment of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2010 Apr 15;115(15):3109–17.
142. Verstovsek S, Passamonti F, Rambaldi A, Barosi G, Rosen PJ, Rumi E, Gattoni E, Pieri L, Guglielmelli P, Elena C, He S, Contel N, Mookerjee B, Sandor V, Cazzola M, Kantarjian HM, Barbui T, Vannucchi AM. A phase 2 study of ruxolitinib, an oral JAK1 and JAK2 Inhibitor, in patients with advanced polycythemia vera who are refractory or intolerant to hydroxyurea. *Cancer* 2014;120(4):513–20.
143. Garber K. JAK2 inhibitors: Not the next imatinib but researchers see other possibilities. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(14):980–2.
144. Mesa RA, Tefferi A. Emerging drugs for the therapy of primary and post essential thrombocythemia, post polycythemia vera myelofibrosis. *Expert Opin Emerg Drugs* 2009;14(3):471–9.
145. Andersen CL, McMullin MF, Ejerblad E, Zweegman S, Harrison C, Fernandes S, Bareford D, Knapper S, Samuelsson J, Löfvenberg E, Linder O, Andreasson B, Ahlstrand E, Jensen MK, Bjerrum OW, Vestergaard H, Larsen H, Klausen TW, Mourits-Andersen T, Hasselbalch HC. A phase II study of vorinostat (MK-0683) in patients with

- polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2013;162(4):498–508.
- 146.Rambaldi A, Dellacasa CM, Finazzi G, Carobbio A, Ferrari ML, Guglielmelli P, Gattoni E, Salmoiraghi S, Finazzi MC, Di Tollo S, D'Urzo C, Vannucchi AM, Barosi G, Barbui T. A pilot study of the histone-deacetylase inhibitor Givinostat in patients with JAK2V617F positive chronic myeloproliferative neoplasms. *Br J Haematol* 2010;150(4):446–55
- 147.Hoffman R, Prchal JT, Samuelson S, Ciurea SO, Rondelli D. Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative disorders: Biology and treatment. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007;13(1Suppl 1):64–72.
- 148.Rosenthal DS. Clinical aspects of chronic myeloproliferative diseases. *Am J Med Sci* 1992;304(2):109–24.
- 149.Tefferi A, Mesa RA, Nagorney DM, Schroeder G, Silverstein MN. Splenectomy in myelofibrosis with myeloid metaplasia: A single-institution experience with 223 patients. *Blood* 2000;95(7):2226–33.
- 150.Lussana F, Rambaldi A, Finazzi MC, Van Biezen A, Scholten M, Oldani E, Carobbio A, Iacobelli S, Finke J, Nagler A, Volin L, Lamy T, Arnold R, Mohty M, Michallet M, de Witte T, Olavarria E, Kröger N. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia transformed to myelofibrosis or acute myeloid leukemia: a report from the MPN Subcommittee of the Chronic Malignancies Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2014 May;99(5):916-21.
- 151.Camós M, Cervantes F, Montoto S, Hernández-Boluda JC, Villamor N, Montserrat E. Acute lymphoid leukemia following polycythemia vera. *Leuk Lymphoma* 1999 Jan;32(3-4):395-8.
- 152.Higuchi T, Oba R, Endo M, Harada H, Mori H, Niikura H, Omine M, Fujita K. Transition of polycythemia vera to chronic neutrophilic leukemia. *Leuk Lymphoma* 1999 Mar;33(1-2):203-6.
- 153.Shariff F, Harrison C. Polycythemia vera: Can we do better? *Expert Opin Pharmacother* 2013;14(6):687–9.

- 154.Hensley B, Geyer H, Mesa R. Polycythemia vera: Current pharmacotherapy and future directions. *Expert Opin Pharmacother* 2013;14(5):609–17.
- 155.Tefferi A, Rumi E, Finazzi G, Gisslinger H, Vannucchi AM, Rodeghiero F, Randi ML, Vaidya R, Cazzola M, Rambaldi A, Gisslinger B, Pieri L, Ruggeri M, Bertozzi I, Sulai NH, Casetti I, Carobbio A, Jeryczynski G, Larson DR, Müllauer L, Pardanani A, Thiele J, Passamonti F, Barbui T. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study. *Leukemia* 2013 Sep;27(9):1874-81.
- 156.Rozman C, Giralt M, Feliu E, Rubio D, Cortés MT. Life expectancy of patients with chronic nonleukemic myeloproliferative disorders. *Cancer* 1991 May 15;67(10):2658-63.
- 157.Passamonti F, Malabarba L, Orlandi E, et al: Polycythemia vera in young patients: A study on the long-term risk of thrombosis, myelofibrosis and leukemia. *Haematologica* 88(1):13–18, 2003.
- 158.Epstein E, Geoedel A. Hemorrhagic thrombocytopenia with cascular, sclerotic spleen. *Virchows Archiv A Pathol Anat Histopathol* 1934; 293:233-48
- 159.Fialkow PJ, Faguet GB, Jacobson RJ, Vaidya K, Murphy S. Evidence that essential thrombocytopenia is a clonal disorder with origin in a multipotent stem cell. *Blood* 1981 Nov;58(5):916-9.
- 160.Mesa RA, Silverstein MN, Jacobsen SJ, Wollan PC, Tefferi A. Population-based incidence and survival figures in essential thrombocytopenia and agnogenic myeloid metaplasia: An Olmsted County Study, 1976-1995. *Am J Hematol* 1999 May;61(1):10-5.
- 161.Kralovics R, Stockton DW, Prchal JT. Clonal hematopoiesis in familial polycythemia vera suggests the involvement of multiple mutational events in the early pathogenesis of the disease. *Blood* 2003 Nov 15;102(10):3793-6
- 162.Cross NCP= Genetic and epigenetic complexity in myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011:208, 2011.
- 163.Levine RL, Pardanani A, Tefferi A, Gilliland DG. Role of JAK2 in the pathogenesis and therapy of myeloproliferative disorders. *Nat Rev Cancer* 2007 Sep;7(9):673-83.
- 164.Drachman JG, Millett KM, Kaushansky K. Thrombopoietin signal transduction requires functional JAK2, not TYK2. *J Biol Chem* 1999; 274:13480

165. Parganas E, Wang D, Stravopodis D, Topham DJ, Marine JC, Teglund S, Vanin EF, Bodner S, Colamonici OR, van Deursen JM, Grosveld G, Ihle JN. Jak2 is essential for signaling through a variety of cytokine receptors. *Cell* 1998 May 1;93(3):385-95.
166. Remy I, Wilson IA, Michnick SW. Erythropoietin receptor activation by a ligand-induced conformation change. *Science* 1999; 283:990.
167. Brooks AJ, Dai W, O'Mara ML, Abankwa D, Chhabra Y, Pelekanos RA, Gardon O, Tunny KA, Blucher KM, Morton CJ, Parker MW, Sierrecki E, Gambin Y, Gomez GA, Alexandrov K, Wilson IA, Doxastakis M2, Mark AE8, Waters MJ1. Mechanism of activation of protein kinase JAK2 by the growth hormone receptor. *Science* 2014 May 16;344(6185):1249783.
168. Bandaranayake RM, Ungureanu D, Shan Y, Shaw DE, Silvennoinen O, Hubbard SR. Crystal structures of the JAK2 pseudokinase domain and the pathogenic mutant V617F. *Nat Struct Mol Biol* 2012 Aug;19(8):754-9.
169. Shalev O, Goldfarb A, Ariel I, Rachmilewitz E. Myelofibrosis in young adults. *Myelofibrosis in young adults. Acta Haematol* 1983;70(6):396-9.
170. Staerk J, Lacout C, Sato T, Smith SO, Vainchenker W, Constantinescu SN. An amphipathic motif at the transmembrane-cytoplasmic junction prevents autonomous activation of the thrombopoietin receptor. *Blood* 2006 Mar 1;107(5):1864-71.
171. Ding J, Komatsu H, Iida S, Yano H, Kusumoto S, Inagaki A, Mori F, Ri M, Ito A, Wakita A, Ishida T, Nitta M, Ueda R. The Asn505 mutation of c-MPL gene, which causes familial essential thrombocythemia, induces autonomous homodimerization of the c-Mpl protein due to strong amino acid polarity. *Blood* 2009 Oct 8;114(15):3325-8.
172. Wang WA, Groenendyk J, Michalak M. Calreticulin signaling in health and disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44:842, 2012.
173. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, Avezov E, Li J, Kollmann K, Kent DG, Aziz A, Godfrey AL, Hinton J, Martincorena I, Van Loo P, Jones AV, Guglielmelli P, Tarpey P, Harding HP, Fitzpatrick JD, Goudie CT, Ortmann CA, Loughran SJ, Raine K, Jones DR, Butler AP, Teague JW, O'Meara S, McLaren S, Bianchi M, Silber Y, Dimitropoulou D, Bloxham D, Mudie L, Maddison M, Robinson B, Keohane C, Maclean C, Hill K, Orchard K, Tauro S, Du MQ, Greaves M, Bowen D, Huntly BJP, Harrison CN, Cross NCP, Ron D, Vannucchi AM, Papaemmanuil E, Campbell PJ, Green

- AR. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med* 2013 Dec 19;369(25):2391-2405.
174. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, Them NC, Berg T, Gisslinger B, Pietra D, Chen D, Vladimer GI, Bagienski K, Milanesi C, Casetti IC, Sant'Antonio E, Ferretti V, Elena C, Schischlik F, Cleary C, Six M, Schalling M, Schönegger A, Bock C, Malcovati L, Pascutto C, Superti-Furga G, Cazzola M, Kralovics R. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* 2013 Dec 19;369(25):2379-90.
175. Rampal R, Al-Shahrour F, Abdel-Wahab O, Patel JP, Brunel JP, Mermel CH, Bass AJ, Pretz J, Ahn J, Hricik T, Kilpivaara O, Wadleigh M, Busque L, Gilliland DG, Golub TR, Ebert BL, Levine RL. Integrated genomic analysis illustrates the central role of JAK-STAT pathway activation in myeloproliferative neoplasm pathogenesis. *Blood* 2014 May 29;123(22):e123-33.
176. Kim E, Abdel-Wahab O. Focus on the epigenome in the myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013; 2013:538.
177. Dawson MA, Bannister AJ, Gottgens B, Foster SD, Bartke T, Green AR, Kouzarides T. JAK2 phosphorylates histone H3Y41 and excludes HP1alpha from chromatin. *Nature* 2009 Oct 8;461(7265):819-22.
178. Kutty J, Ridell B. Epidemiology of the myeloproliferative disorders: Essential thrombocythaemia, polycythemia vera, and idiopathic myelofibrosis. *Pathol Biol* 2001; 49:164.
179. Michiels JJ, van Genderen PJ, Lindemans J, van Vliet HH: Erythromelalgic, thrombotic and hemorrhagic manifestations in 50 cases of thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* 22 Suppl 1996; 1:47.
180. Patel RK, Lea NC, Heneghan MA, Westwood NB, Milojkovic D, Thanigaikumar M, Yallop D, Arya R, Pagliuca A, Gäken J, Wendon J, Heaton ND, Mufti GJ. Prevalence of the activating JAK2 tyrosine kinase mutation V617F in the Budd-Chiari syndrome. *Gastroenterology* 2006 Jun;130(7):2031-8.
181. Passamonti F, Rumi E, Arcaini L, Elena C, Pietra D, Boggi S, Astori C, Bernasconi P, Varettoni M, Brusamolino E, Pascutto C, Lazzarino M. Prognostic factors for thrombosis,

- myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: A study of 605 patients. *Haematologica* 2008 Nov;93(11):1645-51.
182. Dahabreh IJ, Zoi K, Giannouli S, Zoi C, Loukopoulos D, Voulgarelis M. Is JAK2 V617F mutation more than a diagnostic index? A meta-analysis of clinical outcomes in essential thrombocythemia. *Leuk Res* 2009 Jan;33(1):67-73.
183. Lussana F, Caberlon S, Pagani C, Kamphuisen PW, Büller HR, Cattaneo M. Association of V617F Jak2 mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythaemia or idiopathic myelofibrosis: A systematic review. *Thromb Res* 2009 Sep;124(4):409-17.
184. Campbell PJ, MacLean C, Beer PA, Buck G, Wheatley K, Kiladjian JJ, Forsyth C, Harrison CN, Green AR. Correlation of blood counts with vascular complications in essential thrombocythemia: Analysis of the prospective PT1 cohort. *Blood* 2012 Aug 16;120(7):1409-11.
185. Campbell PJ, Bareford D, Erber WN, Wilkins BS, Wright P, Buck G, Wheatley K, Harrison CN, Green AR. Reticulin accumulation in essential thrombocythemia: prognostic significance and relationship to therapy. *J Clin Oncol* 2009 Jun 20;27(18):2991-9.
186. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, Wheatley K, East CL, Marsden JT, Duffy A, Boyd EM, Bench AJ, Scott MA, Vassiliou GS, Milligan DW, Smith SR, Erber WN, Bareford D, Wilkins BS, Reilly JT, Harrison CN, Green AR; United Kingdom Myeloproliferative Disorders Study Group; Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party; Australasian Leukaemia and Lymphoma Group. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: A prospective study. *Lancet* 2005 Dec 3;366(9501):1945-53.
187. Wolanskyj AP, Schwager SM, McClure RF, Larson DR, Tefferi A. Essential thrombocythemia beyond the first decade: Life expectancy, long-term complication rates, and prognostic factors. *Mayo Clin Proc* 2006 Feb;81(2):159-66.
188. Pacilli A, Pancrazzi A, Pieri L, Fanelli T, Bosi A, Vannucchi AM; Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Investigators. Impact of calreticulin mutations on clinical and hematological phenotype and outcome in essential thrombocythemia. *Blood* 2014 Mar 6;123(10):1552-5.



189. Rumi E, Pietra D, Ferretti V, Klampfl T, Harutyunyan AS, Milosevic JD, Them NC, Berg T, Elena C, Casetti IC, Milanese C, Sant'antonio E, Bellini M, Fugazza E, Renna MC, Boveri E, Astori C, Pascutto C, Kralovics R, Cazzola M; Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Investigators. JAK2 or CALR mutation status defines subtypes of essential thrombocythemia with substantially different clinical course and outcomes. *Blood* 2014 Mar 6;123(10):1544-51.
190. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D, Wilkins BS, van der Walt JD, Reilly JT, Grigg AP, Revell P, Woodcock BE, Green AR; United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocythemia 1 Study. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med* 2005 Jul 7;353(1):33-45.
191. Kiladjian JJ, Rain JD, Bernard JF, Briere J, Chomienne C, Fenaux P. Long-term incidence of hematological evolution in three French prospective studies of hydroxyurea and pipobroman in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost* 2006 Jun;32(4 Pt 2):417-21.
192. Berk PD, Goldberg JD, Silverstein MN, Weinfeld A, Donovan PB, Ellis JT, Landaw SA, Laszlo J, Najean Y, Pisciotta AV, Wasserman LR. Increased incidence of acute leukemia in polycythemia vera associated with chlorambucil therapy. *N Engl J Med* 1981 Feb 19;304(8):441-7.
193. Theocharides A, Boissinot M, Girodon F, Garand R, Teo SS, Lippert E, Talmant P, Tichelli A, Hermouet S, Skoda RC. Leukemic blasts in transformed JAK2-V617F-positive myeloproliferative disorders are frequently negative for the JAK2-V617F mutation. *Blood* 2007 Jul 1;110(1):375-9.
194. Andersson PO, Ridell B, Wadenvik H, Kutti J. Leukemic transformation of essential thrombocythemia without previous cytoreductive treatment. *Ann Hematol* 2000; 79:40, 2000.
195. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, Bench AJ, Erber WN, Bareford D, Wilkins BS, Reilly JT, Hasselbalch HC, Bowman R, Wheatley K, Buck G, Harrison CN, Green AR. MPL mutations in myeloproliferative disorders: Analysis of the PT-1 cohort. *Blood* 2008 Jul 1;112(1):141-9.
196. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Guerini V, Barosi G, Ruggeri M, Specchia G, Lo-Coco F, Delaini F, Villani L, Finotto S, Ammatuna E, Alterini R,

- Carraï V, Capaccioli G, Di Lollo S, Liso V, Rambaldi A, Bosi A, Barbui T. Characteristics and clinical correlates of MPL 515W>L/K mutation in essential thrombocythemia. *Blood* 2008 Aug 1;112(3):844-7.
197. İpek Yönel Hindilerden, Fehmi Hindilerden, Deniz Sargın. Miyeloproliferatif neoplazilerde moleküler olayların önemi (The impact of molecular events on myeloproliferative neoplasms), *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, Cilt 78, Sayı 4, 125-136 pp., 2015.
198. Lieu CH1, Shen YJ, Lai WC, Tsai WH, Hsu HC. Prevalence of MPL W515L/K mutations in Taiwanese patients with Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms. *J Chin Med Assoc* 2010 Oct;73(10):530-2.
199. Ruan GR, Jiang B, Li LD, Niu JH, Li JL, Xie M, Qin YZ, Liu YR, Huang XJ, Chen SS. MPL W515L/K mutations in 343 Chinese adults with JAK2V617F mutation-negative chronic myeloproliferative disorders detected by a newly developed RQ-PCR based on TaqMan MGB probes. *Hematol Oncol* 2010 Mar;28(1):33-9.
200. Ma W, Zhang X, Wang X, Zhang Z, Yeh CH, Uyeji J, Albitar M. MPL mutation profile in JAK2 mutation-negative patients with myeloproliferative disorders. *Diagn Mol Pathol*. 2011 Mar;20(1):34-9.
201. Anna L. Godfrey, Peter J. Campbell, Cathy MacLean, Georgina Buck, Julia Cook, Julie Temple, Bridget S. Wilkins, Keith Wheatley, Jyoti Nangalia, Jacob Grinfeld, Mary Frances McMullin, Cecily Forsyth, Jean-Jacques Kiladjian, Anthony R. Green, Claire N. Harrison, on behalf of the United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocythemia-1 Study, the United Kingdom National Cancer Research Institute Myeloproliferative Neoplasms Subgroup, the French Intergroup of Myeloproliferative Neoplasms, and the Australasian Leukaemia and Lymphoma Group. Hydroxycarbamide Plus Aspirin Versus Aspirin Alone in Patients With Essential Thrombocythemia Age 40 to 59 Years Without High-Risk Features. *J Clin Oncol*. 2018 Dec 1; 36(34): 3361–3369.
202. Sterkers Y, Preudhomme C, Lai JL, Demory JL, Caulier MT, Wattel E, Bordessoule D, Bauters F, Fenaux P. Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes following essential thrombocythemia treated with hydroxyurea: High proportion of cases with 17p deletion. *Blood* 1998 Jan 15;91(2):616-22.

203. Weinfeld A, Swolin B, Westin J. Acute leukaemia after hydroxyurea therapy in polycythaemia vera and allied disorders: Prospective study of efficacy and leukaemogenicity with therapeutic implications. *Eur J Haematol* 1994 ;52:134.
204. Bjorkholm M, Derolf AR, Hultcrantz M, Kristinsson SY, Ekstrand C, Goldin LR, Andreasson B, Birgegård G, Linder O, Malm C, Markevörn B, Nilsson L, Samuelsson J, Granath F, Landgren O. Treatment-related risk factors for transformation to acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in myeloproliferative neoplasms. *J Clin Oncol* 2011 Jun 10;29(17):2410-5.
205. Hanft VN, Fruchtman SR, Pickens CV, Rosse WF, Howard TA, Ware RE. Acquired DNA mutations associated with in vivo hydroxyurea exposure. *Blood* 2000 Jun 1;95(11):3589-93.
206. Campbell PJ, Green AR. Management of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005:201-8.
207. Yazdani Brojeni P, Matok I, Garcia Bournissen F, Koren G. A systematic review of the fetal safety of interferon alpha. *Reprod Toxicol* 2012; 33:265
208. Kiladjian JJ, Chevret S, Dosquet C, Chomienne C, Rain JD. Treatment of polycythemia vera with hydroxyurea and pipobroman= Final results of a randomized trial initiated in 1980. *J Clin Oncol* 2011 Oct 10;29(29):3907-13.
209. Verstovsek S, Kantarjian H, Mesa RA, Pardanani AD, Cortes-Franco J, Thomas D A, Estrov Z, Fridman JS, Bradley EC, Erickson-Viitanen S, Vaddi K, Levy R, Tefferi A. Safety and efficacy of INCB018424, a JAK1 and JAK2 inhibitor, in myelofibrosis. *N Engl J Med* 2010 Sep 16;363(12):1117-27
210. Cervantes F, Vannucchi AM, Kiladjian JJ, Al-Ali HK, Sirulnik A, Stalbovskaya V, McQuitty M, Hunter DS, Levy RS, Passamonti F, Barbui T, Barosi G, Harrison CN, Knoops L, Gisslinger H; COMFORT-II investigators. Three-year efficacy, safety, and survival findings from COMFORT-II, a phase 3 study comparing ruxolitinib with best available therapy for myelofibrosis. *Blood* 2013 Dec 12;122(25):4047-53.
211. Harrison C. Pregnancy and its management in the Philadelphia negative myeloproliferative diseases. *Br J Haematol* 2005 May;129(3):293-306.
212. Liebelt EL, Balk SJ, Faber W, Fisher JW, Hughes CL, Lanzkron SM, Lewis KM, Marchetti F, Mehendale HM, Rogers JM, Shad AT, Skalko RG, Stanek EJ. NTP-CERHR

- expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of hydroxyurea. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2007 Aug;80(4):259-366.
213. Patel JP, Hunt BJ. Where do we go now with low molecular weight heparin use in obstetric care? *J Thromb Haemost* 2008; 6:1461.
214. Montanaro M, Latagliata R, Cedrone M, Spadea A, Rago A, Di Giandomenico J, Spirito F, Porrini R, De Muro M, Leonetti SC, Villivà N, De Gregoris C, Breccia M, Montefusco E, Santoro C, Cimino G, Majolino I, Mazzucconi MG, Alimena G, Andriani A. Thrombosis and survival in essential thrombocythemia: A regional study of 1,144 patients. *Am J Hematol* 2014 May;89(5):542-6.
215. Price GL, Davis KL, Karve S, Pohl G, Walgren RA. Survival patterns in United States (US) medicare enrollees with non-CML myeloproliferative neoplasms (MPN). *PLoS One* 2014 Mar 11;9(3): e90299.
216. Heuck G. Zwei Fälle von Leukämie mit eigenthümlichem Blut- resp Knochenmarksbefund. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol Klin Med* 1879; 78:475.
217. Silverstein MN. *Agnogenic Myeloid Metaplasia*. Publishing Science. Boston 1975.
218. Lundberg P, Karow A, Nienhold R, Looser R, Hao-Shen H, Nissen I, Girsberger S, Lehmann T, Passweg J, Stern M, Beisel C, Kralovics R, Skoda RC. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2014 Apr 3;123(14):2220-8.
219. Barosi G. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2003; 17:1211.
220. Ward HP, Block MH. The natural history of agnogenic myeloid metaplasia (AMM) and a critical evaluation of its relationship with myeloproliferative syndrome. *Medicine (Baltimore)* 1971; 50:357.
221. Varki A, Lottenberg R, Griffith R, Reinhard E. The syndrome of idiopathic myelofibrosis. *Medicine (Baltimore)* 1983 Nov;62(6):353-71.
222. Okamura T, Kinukawa N, Niho Y, Mizoguchi H. Primary chronic myelofibrosis: Clinical and prognostic evaluation in 336 Japanese patients. *Int J Hematol* 2001; 73:194.

223. Cervantes F, Pereira A, Esteve J, Cobo F, Rozman C, Montserrat E. Idiopathic myelofibrosis: Initial features, evolutionary pattern and survival in a series of 106 patients. *Med Clin North Am* 1997 Nov 15;109(17):651-5.
224. Dupriez B, Morel P, Demory JL, Lai JL, Simon M, Plantier I, Bauters F. Prognostic factors in agnogenic myeloid metaplasia: A report on 195 cases with a new scoring system. *Blood* 1996 Aug 1;88(3):1013-8.
225. Rupoli S, DaLio L, Sisti S, et al. Primary myelofibrosis: A detailed analysis of the clinicopathologic variables influencing survival. *Ann Hematol* 1994; 68:205.
226. Ozen S, Ferhanoglu B, Senocak M, Tüzüner N. Idiopathic myelofibrosis (agnogenic myeloid metaplasia). *Leuk Res* 1997; 21:125.
227. Sekhar M, Prentice HG, Poyat U, et al. Idiopathic myelofibrosis in children. *Br J Haematol* 1996; 93:394.
228. Cervantes F, Barosi G, Demory JL, Reilly J, Guarnone R, Dupriez B, Pereira A, Montserrat E. Myelofibrosis with myeloid metaplasia in young individuals: Disease characteristics, prognostic factors and identification of risk groups. *Br J Haematol* 1998 Aug;102(3):684-90.
229. Rossbach HC. Familial infantile myelofibrosis as an autosomal recessive disorder: Preponderance among children from Saudi Arabia. *Pediatr Hematol Oncol* 2006; 23:453.
230. Cohn SL, Cohn RA, Chou P, et al: Infantile myelofibrosis with nephromegaly secondary to myeloid metaplasia. *Clin Pediatr (Phila)* 1991; 30:59.
231. Mallouh AA, Sa'di AR. Agnogenic myeloid metaplasia in children. *Am J Dis Child* 1992; 146:965.
232. Kahn A, Bernard JF, Cottreau D, Marie J & Boivin P. A deficient G-6-PD variant with hemizygous expression in blood cells of a woman with primary myelofibrosis. *Humangenetik* 1975; 30:41-6.
233. Jacobson RS, Salo A, Fialkow PS. Agnogenic myeloid metaplasia: A clonal proliferation of hematopoietic stem cells with secondary myelofibrosis. *Blood* 1978; 51:189.
234. Sato Y, Suda T, Suda J, Ohsaka A, Kubota K, Saito M, Miura Y. Multilineage expression of haemopoietic precursors with an abnormal clone in idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 1986 Dec;64(4):657-67.

235. Kreipe H, Jaquet K, Falgner J, Radzun H J., Parwaresh R M. Clonal granulocytes and bone marrow cells in the cellular phase of agnogenic myeloid metaplasia. 1991; *Blood* 78:1814-17
236. Tsukamoto N, Morita K, Maehara T, Okamoto K, Sakai H, Karasawa M, Naruse T, Omine M. Clonality in chronic myeloproliferative disorders defined by X-chromosome linked probes. *Br J Haematol* 1994 Feb;86(2):253-8.
237. Buschle M, Janssen JWG, Drexler H, Lyons J, van den Berghe H, Heimpel H, Kubanek B, Kleihauer E, Mufti GJ. Evidence for pluripotent stem cell origin of idiopathic myelofibrosis: Clonal analysis of a case characterized by a N-ras gene mutation. *Leukemia* 1989 Jan;73(1):248-54.
238. Lebowitz P, Papac R, Ghosh PK. Impaired retinoblastoma susceptibility (Rb) gene expression in agnogenic myeloid metaplasia. *Blood* 1990; 76(Suppl 1):236A.
239. Reeder TL, Bailey RJ, Dewald GW, Tefferi A. Both B and T lymphocytes may be clonally involved in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 2003; 101:1981.
240. Delhommeau F, Dupont S, Tonetti C, Massé A, Godin I, Le Couedic JP, Debili N, Saulnier P, Casadevall N, Vainchenker W, Giraudier S. Evidence that the JAK2 G1849T (V617F) mutation occurs in a lymphomyeloid progenitor in polycythemia vera and idiopathic myelofibrosis. *Blood* 2007 Jan 1;109(1):71-7.
241. James C, Mazurier F, Dupont S, Chaligne R, Lamrissi-Garcia I, Tulliez M, Lippert E, Mahon FX, Pasquet JM, Etienne G, Delhommeau F, Giraudier S, Vainchenker W, de Verneuil H. The hematopoietic stem cell compartment of JAK2V617F-positive myeloproliferative disorders is a reflection of disease heterogeneity. *Blood* 2008 Sep 15;112(6):2429-38.
242. Yan X-Q, Lacey D, Hill D, Chen Y, Fletcher F, Hawley RG, McNiece IK. A model of myelofibrosis and osteosclerosis in mice induced by overexpressing thrombopoietin (mpl ligand). *Blood* 1996 Jul 15;88(2):402-9.
243. Chagraoui H, Komura E, Tulliez M, Giraudier S, Vainchenker W, Wendling F. Prominent role of TGF-beta 1 in thrombopoietin-induced myelofibrosis in mice. *Blood* 2002 Nov 15;100(10):3495-503.

244. Chagraoui H, Tulliez M, Smayra T, Komura E, Giraudier S, Yun T, Lassau N, Vainchenker W, Wendling F. Stimulation of osteoprotegerin production is responsible for osteosclerosis in mice overexpressing TPO. *Blood* 2003 Apr 15;101(8):2983-9.
245. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, Cuker A, Wernig G, Moore S, Galinsky I, DeAngelo DJ, Clark JJ, Lee SJ, Golub TR, Wadleigh M, Gilliland DG, Levine RL. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med* 2006 Jul;3(7):e270
246. Vannucchi AM, Lasho TL, Guglielmelli P, Biamonte F, Pardanani A, Pereira A, Finke C, Score J, Gangat N, Mannarelli C, Ketterling RP, Rotunno G, Knudson RA, Susini MC, Laborde RR, Spolverini A, Pancrazzi A, Pieri L, Manfredini R, Tagliafico E, Zini R, Jones A, Zoi K, Reiter A, Duncombe A, Pietra D, Rumi E, Cervantes F, Barosi G, Cazzola M, Cross NC, Tefferi A. Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia* 2013 Sep;27(9):1861-9.
247. Cazzola M, Kralovics R. From Janus kinase 2 to calreticulin= The clinically relevant genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2014; 123:3714.
248. Vannucchi AM, Bianchi L, Cellai C, Paoletti F, Rana RA, Lorenzini R, Migliaccio G, Migliaccio AR. Development of myelofibrosis in mice genetically impaired for GATA-1 expression (GATA-1(low) mice). *Blood* 2002 Aug 15;100(4):1123-32.
249. Vannucchi AM, Migliaccio AR, Paoletti F, Chagraoui H, Wendling F. Pathogenesis of myelofibrosis with myeloid metaplasia: Lessons from mouse models of the diseases. *Semin Oncol.* 2005 Aug;32(4):365-72.
250. Garimella R, Kacena MA, Tague SE, Wang J, Horowitz MC, Anderson HC. Expression of bone morphogenetic proteins and their receptors in the bone marrow megakaryocytes of GATA-1(low) mice: A possible role in osteosclerosis. *J Histochem Cytochem* 2007 Jul;55(7):745-52.
251. Levine RL, Gilliland DG. Myeloproliferative disorders. *Blood* 2008; 112:2190.
252. Kilpivaara O, Levine RL. JAK2 and MPL mutations in myeloproliferative neoplasms: Discovery and science. *Leukemia* 2008; 22:1813.
253. Tiedt R, Hao-Shen H, Sobas MA, Looser R, Dirnhofer S, Schwaller J, Skoda RC. Ratio of mutant JAK2-V617F to wild-type Jak2 determines the MPD phenotypes in transgenic mice. *Blood* 2008 Apr 15;111(8):3931-40.

254. Larsen TS, Pallisgaard N, Moller MB, Hasselbalch HC. The JAK2 V617F allele burden in essential thrombocythemia, polycythemia vera and primary myelofibrosis—Impact on disease phenotype. *Eur J Haematol* 2007; 79:508.
255. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M, Steensma DP, Elliott MA, Wolanskyj AP, Hogan WJ, McClure RF, Litzow MR, Gilliland DG, Tefferi A. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: A study of 1182 patients. *Blood* 2006 Nov 15;108(10):3472-6.
256. Tefferi A. JAK and MPL mutations in myeloid malignancies. *Leuk Lymphoma* 2008; 49:388.
257. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2013; 88:141.
258. Zaleskas VM, Krause DS, Lazarides K, Patel N, Hu Y, Li S, Van Etten RA. Molecular pathogenesis and therapy of polycythemia induced in mice by JAK2 V617F. *PLoS One* 2006 Dec 20;1:e18.
259. Abu-Duhier FM, Goodeve AC, Care RS, Gari M, Wilson G A., Peake I R., Reilly J T. Mutational analysis of class III receptor tyrosine kinases (C-KIT, C-FMS, FLT3) in idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 2003; 120:464–70
260. Kawamata N, Ogawa S, Yamamoto G, Lehmann S, Levine RL, Pikman Y, Nannya Y, Sanada M, Miller CW, Gilliland DG, Koeffler HP. Genetic profiling of myeloproliferative disorders by single-nucleotide polymorphism oligonucleotide microarray. *Exp Hematol* 2008 Nov;36(11):1471-9.
261. Andrieux J, Demory JL, Dupriez B, Quief S, Plantier I, Roumier C, Bauters F, Lai JL, Kerckaert JP. Dysregulation and overexpression of HMGA2 in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Genes Chromosomes Cancer* 2004 Jan;39(1):82-7.
262. Bogani C, Ponziani V, Guglielmelli P, Desterke C, Rosti V, Bosi A, Le Bousse-Kerdilès MC, Barosi G, Vannucchi AM; Myeloproliferative Disorders Research Consortium. Hypermethylation of CXCR4 promoter in CD34+ cells from patients with primary myelofibrosis. *Stem Cells* 2008 Aug;26(8):1920-30.
263. Rosti V, Massa M, Vannucchi AM, Bergamaschi G, Campanelli R, Pecci A, Viarengo G, Meli V, Marchetti M, Guglielmelli P, Bruno E, Xu M, Hoffman R, Barosi G; Italian Registry of Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia; Myeloproliferative Disorders



- Research Consortium. The expression of CXCR4 is down-regulated on the CD34+ cells of patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood Cells Mol Dis* 2007 May-Jun;38(3):280-6.
264. Ciurea SO, Merchant D, Mahmud N, Ishii T, Zhao Y, Hu W, Bruno E, Barosi G, Xu M, Hoffman R. Pivotal contributions of megakaryocytes to the biology of idiopathic myelofibrosis. *Blood* 2007 Aug 1;110(3):986-93.
265. Massa M, Rosti V, Ramajoli I, Campanelli R, Pecci A, Meli VV G, Marchetti M, Hoffman R, Barosi G. Circulating CD34+, CD133+, and vascular endothelial growth factor receptor 2-positive endothelial progenitor cells in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *J Clin Oncol* 2005 Aug;23(24):5688-95.
266. Rosti V, Villani L, Riboni R, Poletto V, Bonetti E, Tozzi L, Bergamaschi G, Catarsi P, Dalleria E, Novara F, Massa M, Campanelli R, Fois G, Peruzzi B, Lucioni M, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Fiandrino G, Zuffardi O, Magrini U, Paulli M, Vannucchi AM, Barosi G; Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative (AGIMM) investigators. Spleen endothelial cells from patients with myelofibrosis harbor the JAK2V617F mutation. *Blood* 2013 Jan 10;121(2):360-8.
267. Moliterno AR, Hankins WD, Spivak JL. Impaired expression of the thrombopoietin receptor by patients with polycythemia vera. *N Engl J Med* 1998; 338:572.
268. McCarthy DM. Annotation= Fibrosis of the bone marrow: Content and causes. *Br J Haematol* 1985; 59:1.
269. Apaja-Sarkkinen M, Autio-Harmainen H, Alavaikko M, Karttunen T, Autio-Harmainen H. Immunohistochemical study of basement membrane proteins and type III procollagen in myelofibrosis. *Br J Haematol* 1986 Mar;10(3):295-302.
270. Hasselbalch H, Junker P, Lisse I, Bentsen K.D, Risteli L, Risteli J. Serum markers for type IV collagen and type III procollagen in the myelofibrosis-osteomyelosclerosis syndrome and other chronic myeloproliferative disorders. *Am J Hematol* 1986 Oct;23(2):101-11.
271. Iványi JL, Mahunka M, Papp A, Telek B. Prognostic significance of bone marrow reticulum fibers in idiopathic myelofibrosis: Evolution of clinicopathological parameters in a scoring system. *Haematologica* 1994; 26:75.

272. McCarthy DM. Annotation= Fibrosis of the bone marrow: Content and causes. *Br J Haematol* 1985; 59:1.
273. Reilly JT. Pathogenesis of idiopathic myelofibrosis: Role of growth factors. *J Clin Pathol* 1992; 45:461.
274. Charron D, Robert L, Couty MC, Binet JL. Biochemical and histological analysis of bone marrow collagen in myelofibrosis. *Br J Haematol* 1979; 41:151.
275. Podolak-Dawidziak M, Wróbel T, Jelen M. Serum concentration of the amino terminal peptide of type III procollagen (PIIINP) in patients with myeloproliferative disorders (MPD). *Pol Arch Med Wewn* 1998; 99:24.
276. Gay S, Gay RE, Prohal JT. Immunohistological studies of bone marrow collagen, in *Myelofibrosis and the Biology of Connective Tissue*. *Prog Clin Biol Res*. 1984; 154:291-306.
277. Hasselbalch H, Junker P, Horslev-Petersen K, Lisse I, Bentsen KD. Procollagen type III amino-terminal peptide in serum in idiopathic myelofibrosis and allied conditions. *Am J Hematol* 1990 Jan;33(1):18-26.
278. Reilly JT, Nash JRG, Mackie MJ, McVerry BA. Endothelial cell proliferation in myelofibrosis. *Br J Haematol* 1985; 60:625.
279. Baglin TP, Crocker MA, Timmins A, Chandler S, Boughton BJ. Bone marrow hypervascularity in patients with myelofibrosis identified by infrared thermography. *Clin Lab Haematol* 1991;13(4):341-8.
280. Bock O, Neuse J, Hussein K, Brakensiek K, Buesche G, Buhr T, Wiese B, Kreipe H. Aberrant collagenase expression in chronic idiopathic myelofibrosis is related to the stage of disease but not to the JAK2 mutation status. *Am J Pathol* 2006 Aug;169(2):471-81.
281. Bock O, Höftmann J, Theophile K, Hussein K, Wiese B, Schlué J, Kreipe H. Bone morphogenetic proteins are overexpressed in the bone marrow of primary myelofibrosis and are apparently induced by fibrogenic cytokines. *Am J Pathol* 2008 Apr;172(4):951-60.
282. Dolan G, Forrest P, Eastham J, et al. Serum laminin, procollagen terminal peptide III and thrombocyte platelet derived growth factor concentrations in idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 1991; 77(Suppl 1):73.

283. Reilly JT, Nash JRG, Mackie MJ, McVerry BA. Immunoenzymatic detection of fibronectin in normal and pathological haemopoietic tissue. *Br J Haematol* 1985; 59:497.
284. Hasselbalch H, Clemmensen I. Plasma fibronectin in idiopathic myelofibrosis and related chronic myeloproliferative disorders. *Scand J Clin Lab Invest* 1987; 47:429.
285. Soini Y, Kamel D, Apaja-Sarkkinen M, Virtanen I, Lehto VP. Tenascin immunoreactivity in normal and pathological bone marrow. *J Clin Pathol* 1993 Mar;46(3):218-21.
286. Reilly JT, Nash JRG. Vitronectin (serum spreading factor): Its localization in normal and fibrotic tissue. *J Clin Pathol* 1988; 41:1269.
287. Le Bousse-Kerdilès MC, Martyré MC, French INSERM research network on Idiopathic Myelofibrosis. Involvement of the fibrogenic cytokines, TGF- $\beta$  and bFGF, in the pathogenesis of idiopathic myelofibrosis. *Pathol Biol* 2001 Mar;49(2):153-7.
288. Rameshwar P, Oh HS, Yook C, Chang VT. Substance P-fibronectin cytokine interactions in myeloproliferative disorders with bone marrow fibrosis. *Acta Haematol* 2003; 109:1.
289. Wang JC, Wong C, Kao WW. Immunoreactive prolylhydroxylase in patients with primary and secondary myelofibrosis. *Br J Haematol* 1987; 65:171.
290. Barosi G, Costa A, Liberato LN, Polino G, Spriano P, Magrini U. Serum procollagen III peptide level correlates with disease activity in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 1989 May;72(1):16-20.
291. Hochweiss S, Fruchtman S, Hahn EG, Gilbert H, Donovan PB, Johnson J, Goldberg JD, Berk PD. Increased serum procollagen III aminoterminal peptide in myelofibrosis. *Am J Hematol* 1983 Dec;15(4):343-51.
292. Hasselbalch H, Junker P, Lisse I, Lindqvist U, Engström Laurent A. Circulating hyaluronan in the myelofibrosis/osteomyelosclerosis syndrome and other myeloproliferative disorders. *Am J Hematol* 1991 Jan;36(1):1-8.
293. Thiele J, Kvasnicka HM, Fischer R, Diehl V. Clinicopathological impact of the interactivity between megakaryocytes and myeloid stroma in chronic myeloproliferative disorders: A concise update. *Leuk Lymphoma* 1997; 24:463.
294. Schmitt A, Drouin A, Masse J-M, Guichard J, Shagraoui H, Cramer EM. Polymorphonuclear neutrophil and megakaryocyte mutual involvement in myelofibrosis pathogenesis. *Leuk Lymphoma* 2002 Apr;43(4):719-24.

295. Frey BM, Rafii S, Teterson M, Eaton D, Crystal RG, Moore MA. Adenovector-mediated expression of human thrombopoietin cDNA in immune-compromised mice: Insights into the pathophysiology of osteomyelofibrosis. *J Immunol* 1998 Jan 15;160(2):691-9.
296. Rameshwar P, Chang VT, Thacker UF, Gascón P. Systemic transforming growth factor-beta in patients with bone marrow fibrosis-pathophysiological implications. *Am J Hematol* 1998 Oct;59(2):133-42.
297. Thiele J, Rompik V, Wagner S, Fischer R. Vascular architecture and collagen type IV in primary myelofibrosis and polycythemia vera. *Br J Haematol* 1992 Feb;80(2):227-34.
298. Johnston JB, Dalal BI, Israels SJ, Oh S, McMillan E, Begleiter A, Michaud G, Israels LG, Greenberg AH. Deposition of transforming growth factor- $\beta$  in the marrow in myelofibrosis, and the intracellular localization and secretion of TGF- $\beta$  by leukemic cells. *Am J Clin Pathol* 1995 May;103(5):574-82.
299. Martré M-C, LeBousse-Kerdiles M-C, Romquin N, Chevillard S, Praloran V, Demory JL, Dupriez B. Elevated levels of basic fibroblast growth factor in megakaryocytes and platelets from patients with idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 1997 May;97(2):441-8.
300. Charbord P. Increased vascularity of bone marrow in myelofibrosis. *Br J Haematol* 1986 Mar;62(3):595-6.
301. VanDyke D, Parker H, Anger HO, McRae J, Dobson EL, Yano Y, Naets JP, Linfoot J. Markedly increased bone blood flow in myelofibrosis. *J Nucl Med* 1971 Jul;12(7):506-12.
302. Mesa RA, Shields A, Hare T, Erickson-Viitanen S, Sun W, Sarlis NJ, Sandor V, Levy RS, Verstovsek S. Progressive burden of myelofibrosis in untreated patients: Assessment of patient-reported outcomes in patients randomized to placebo in the COMFORT-I study. *Leuk Res* 2013 Aug;37(8):911-6.
303. Caughman W, Stern R, Haynes H. Neutrophilic dermatosis of myeloproliferative disorders: Atypical forms of pyoderma gangrenosum and Sweet's syndrome associated with myeloproliferative disorders. *J Am Acad Dermatol* 1983 Nov;9(5):751-8
304. Gibson LE, Dicken CH, Flach DB. Neutrophilic dermatoses and myeloproliferative disease: Report of two cases. *Mayo Clin Proc* 1985 Nov;60(11):735-40.

- 305.Su WPD, Alegre VA, White WL. Myelofibrosis discovered after diagnosis of Sweet's syndrome. *Int J Dermatol* 1990 Apr;29(3):201-4.
- 306.Kanel KT, Kroboth FJ, Swartz WM. Pyoderma gangrenosum with myelofibrosis. *Am J Med* 1987 May;82(5):1031-4.
- 307.Loewy G, Matthew A, Distenfeld A. Skin manifestations of agnogenic myeloid metaplasia. *Am J Hematol* 1994 Feb;45(2):167-70.
- 308.Patel BM, Perniciaro C, Gertz MA: Cutaneous extramedullary hematopoiesis. *J Am Acad Dermatol* 1995 May;32(5 Pt 1):805-7.
- 309.Rogalski C, Paasch U, Friedrich T, Haustein UF, Sticherling M. Cutaneous extramedullary hematopoiesis in idiopathic myelofibrosis. *Int J Dermatol* 2002 Dec;41(12):883-4.
- 310.Thiele J, Kvasnicka HM, Zankovich R, Diehl V. Early-stage idiopathic (primary) myelofibrosis—Current issues of diagnostic features. *Leuk Lymphoma* 2002 May;43(5):1035-41.
- 311.Buhr T, Büsche G, Choritz H, Länger F, Kreipe H. Evolution of myelofibrosis in chronic idiopathic myelofibrosis as evidenced in sequential bone marrow biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 2003 Jan;119(1):152-8.
- 312.Thiele J, Kvasnicka HM. Chronic myeloproliferative disorders with thrombocythemia comparative study of two classification systems (PSSG, WHO) on 839 patients. *Ann Hematol* 2003 Mar;82(3):148-52.
- 313.Barbui T, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Boveri E, Ruggeri M, Rodeghiero F, d'Amore ES, Randi ML, Bertozzi I, Marino F, Vannucchi AM, Antonioli E, Carrai V, Gisslinger H, Buxhofer-Ausch V, Müllauer L, Carobbio A, Gianatti A, Gangat N, Hanson CA, Tefferi A. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: An international study. *J Clin Oncol* 2011 Aug 10;29(23):3179-84.
- 314.King BF, Kopecky KK, Baker MK, Clark SA. Extramedullary hematopoiesis in the adrenal glands: CT characteristics. *J Comput Assist Tomogr* 1987 Mar-Apr;11(2):342-3.
- 315.Wat NM, Tse KK, Chan FL, Lam KS: Adrenal extramedullary hematopoiesis. *Br J Haematol* 1998 Mar;100(4):725-7.

316. Gibbins J, Pankhurst T, Murray J, McCafferty I, Baiden-Amissahk K, Shafeek S, Lipkin GW. Extramedullary haematopoiesis in the kidney: A case report and review of literature. *Clin Lab Haematol* 2005 Dec;27(6):391-4.
317. Schunuelle P, Waldherr R, Lehmann KJ, Woenckhaus J, Back W, Niemir Z, van der Woude FJ. Idiopathic myelofibrosis with extramedullary hematopoiesis in the kidneys. *Clin Nephrol* 1999 Oct;52(4):256-62.
318. Ablett MJ, Vosylius P. Perirenal extramedullary haematopoiesis in myelofibrosis demonstrated on computed tomography. *Br J Haematol* 2004 Feb;124(4):406.
319. Shaver RW, Clore FC. Extramedullary hemopoiesis in myeloid metaplasia. *AJR Am J Roentgenol* 1981 Oct;137(4):874-6.
320. Williams ME, Innes DJ, Hutchison WT, Hess CE. Extramedullary hematopoiesis: A cause of severe generalized lymphadenopathy in agnogenic myeloid metaplasia. *Arch Intern Med* 1985 Jul;145(7):1308-9.
321. La Fianza A, Alberici E, Toretta L. The irreplaceable image: Rapidly growing extramedullary hematopoiesis in lymph nodes: Unusual findings of long-standing idiopathic myelofibrosis. *Haematologica* 2001 Jul;86(7):784.
322. Sharma BK, Pounder RE, Cruse JP, Knowles SM, Lewis AA. Extramedullary haemopoiesis in the small bowel. *Gut* 1986 Jul;27(7):873-5.
323. MacKinnon S, McNicol AM, Lee FD, McDonald GA. Myelofibrosis complicated by intestinal extramedullary haemopoiesis and acute small bowel obstruction. *J Clin Pathol* 1986 Jun;39(6):677-9.
324. Soloman D, Goodman H, Jacobs P. Rectal stenosis due to extramedullary hematopoiesis. *Clin Radiol* 1994; 49:726, 1994.
325. Sunderland K, Barratt J, Pidcock M. Extramedullary hemopoiesis arising in the gut mimicking carcinoma of the cecum. *Pathology* 1994; 26:62.
326. Brooks JJ, Krugman DT, Danjanor I. Myeloid metaplasia presenting as a breast mass. *Am J Surg Pathol* 1980; 4:281.
327. Martinelli G, Santini D, Bazzocchi F, Pileri S, Casanova S. Myeloid metaplasia of the breast: A lesion which clinically mimics carcinoma. *Virchows Arch* 1983;401(2):203-7.

- 328.Zonderland HM, Michiels JJ, Ten Kate FJW. Mammographic and sonographic demonstration of extramedullary hematopoiesis of the breast. *Clin Radiol* 1991; 44:64,
- 329.Navarro M, Crespo C, Pérez L, Martínez C, Galant J, González I. Massive intrahepatic extramedullary hematopoiesis in myelofibrosis. *Abdom Imaging* 2000 Mar-Apr;25(2):184-6.
- 330.Lee IJ, Kim SH, Kim DS, Lee JM, Han JK, Choi BI. Intrahepatic extramedullary hematopoiesis mimicking a hypervascular hepatic neoplasm on dynamic- and SPIO-enhanced MRI. *Korean J Radiol* 2008 Jul;9 Suppl:S34-8.
- 331.Yusen RD, Kollef MH. Acute respiratory failure due to extramedullary hematopoiesis. *Chest* 1995; 108:1170.
- 332.Schwarz C, Bittner R, Kirsch A, Loddenkemper C, Mairinger T, Schonfeld N, Serke M, Loddenkemper R. A 62-year-old woman with bilateral pleural effusions and pulmonary infiltrates caused by extramedullary hematopoiesis. *Respiration* 2009;78(1):110-3.
- 333.García-Manero G, Schuster S, Patrick H, Martinez J. Pulmonary hypertension in patients with myelofibrosis secondary to myeloproliferative diseases. *Am J Hematol* 1999; 60:130.
- 334.Yang X, Bhuiya T, Esposito M. Sclerosing extramedullary tumor. *Ann Diagn Pathol* 2002; 6:183.
- 335.Oren I, Goldman A, Haddad N, Azzam Z, Krivoy N, Alroy G. Ascites and pleural effusion a secondary to extramedullary hematopoiesis. *Am J Med Sci* 1999 Oct;318(4):286-8.
- 336.Miyata T, Masuzawa M, Katsuoka K, Higashihara M. Cutaneous extramedullary hematopoiesis in a patient with idiopathic myelofibrosis. *J Dermatol* 2008; 35:456.
- 337.Mizoguchi M, Kawa Y, Minami T, Nakayama H, Mizoguchi H. Cutaneous extramedullary hematopoiesis in myelofibrosis. *J Am Acad Dermatol* 1990 Feb;22(2 Pt 2):351-5.
338. Heinicke MH, Zarrabi MH, Gorevic PD. Arthritis due to synovial involvement by extramedullary haematopoiesis in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Ann Rheum* 1983; Dis 42:196.

339. Leoni F, Fabbri R, Pascarella A, Marrani C, Nozzoli C, Ciolli S, Marchetti G, Rossi Ferrini P. Extramedullary hematopoiesis in thyroid multinodular goiter preceding clinical evidence of agnogenic myeloid metaplasia. *Histopathology* 1996 Jun;28(6):559-61.
340. Kwak H-S, Lee J-M. CT findings of extramedullary hematopoiesis in the thorax, liver, and kidneys in a patient with myelofibrosis. *J Korean Med Sci* 2000; 15:460.
341. Humphrey PA, Vollmer RT. Extramedullary hematopoiesis in the prostate. *Am J Surg Pathol* 1991; 15:486.
342. Macumber C, Young GAR, Selby WS. Myelofibrosis presenting as splenic tumor. *Dig Dis Sci* 1999; 44:1817.
343. Balogh K, O'Hara CJ. Myeloid metaplasia masquerading as a urethral caruncle. *J Urol* 1986; 135:789.
344. Oesterling JE, Keating JP, Leroy AJ, Earle JD, Farrow GM, McCarthy JT, Silverstein MN. Idiopathic myelofibrosis with myeloid metaplasia involving the renal pelvis, ureters and bladder. *J Urol* 1992 May;147(5):1360-2.
345. La Fianza A, Torretta L, Spinazzola A. Extramedullary hematopoiesis in chronic myelofibrosis encasing the pelvicaliceal system and perirenal spaces: CT findings. *Urol Int* 2005; 75:281.
346. Perazella MA, Buller GK. Nephrotic syndrome associated with agnogenic myeloid metaplasia. *Am J Nephrol* 1994; 14:223.
347. Brown JA, Gomez-Leon G. Subdural hemorrhage secondary to extramedullary hematopoiesis in postpolycythemic myeloid metaplasia. *Neurosurgery* 1984; 14:588.
348. Cornfield DB, Shipkin P, Alluvia A, Becker J, Peyster R. Intracranial myeloid metaplasia: Diagnosis by CT and Fe52 scans and treatment by cranial irradiation. *Am J Hematol* 1983 Nov;15(3):273-8.
349. Lundh B, Brandt L, Cronqvist S, Eyrich R. Intracranial myeloid metaplasia in myelofibrosis. *Scand J Haematol* 1982;28(1):91-4.
350. Pless M, Rizzo JF III, Shang J. Orbital apex syndrome: A rare presentation of extramedullary hematopoiesis. *J Neurooncol* 2002; 57:37.
351. Cameron WR, Ronnert M, Brun A. Extramedullary hematopoiesis of CNS in postpolycythemic myeloid metaplasia. *N Engl J Med* 1981; 305:765.



- 352.Chan SW, Datta NN, Thomas TM, Chan KW. Intracranial chloroma in myelofibrosis. *Surg Neurol* 2003; 59:55.
- 353.Haidar S, Ortiz-Neira C, Shroff M, Gilday D, Blaser S. Intracranial involvement in extramedullary hematopoiesis: Case report and review of the literature. *Pediatr Radiol* 2005 Jun;35(6):630-4.
- 354.Goh DH, Lee SH, Cho DC, Park SH, Hwang JH, Sung JK. Chronic idiopathic myelofibrosis presenting as cauda equina compression due to extramedullary hematopoiesis: A case report. *J Korean Med Sci.* 2007 Dec;22(6):1090-3.
- 355.Cook G, Sharp RA. Spinal cord compression due to extramedullary haemopoiesis in myelofibrosis. *J Clin Pathol* 1994; 47:464.
- 356.Horwood E, Dowson H, Gupta R, Kaczmarek R, Williamson M. Myelofibrosis presenting as spinal cord compression. *J Clin Pathol* 2003 Feb;56(2):154-6
- 357.Scott IC, Poynton CH. Polycythaemia rubra vera and myelofibrosis with spinal cord compression. *J Clin Pathol* 2008; 61:681.
- 358.Ohtsubo M, Hayashi K, Fukushima T, Chiyoda S, Takahara O. Intracranial extramedullary haematopoiesis in postpolycythemia myelofibrosis. *Br J Radiol* 1994 Mar;67(795):299-302.
- 359.Urman M, O'Sullivan RA, Nugent RA, Lentle BC. Intracranial extramedullary hematopoiesis. *Clin Nucl Med* 1991; 16:431.
- 360.Lanir A, Aghai E, Simon JS, Lee RG, Clouse ME. MR imaging in myelofibrosis. *J Comput Assist Tomogr* 1986 Jul-Aug;10(4):634-6.
- 361.Koch BL, Bisset GS, Bisset RR, Zimmer MB. Intracranial extramedullary hematopoiesis: MR findings with pathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol* 1994 Jun;162(6):1419-20.
- 362.Bartlett RP, Greipp PR, Tefferi A, Cupps RE, Mullan BP, Trastek VF. Extramedullary hematopoiesis manifesting as a symptomatic pleural effusion. *Mayo Clin Proc* 1995 Dec;70(12):1161-4.
- 363.Oren I, Goldman A, Haddad N, Azzam Z, Krivoy N, Alroy G. Ascites and pleural effusion secondary to extramedullary hematopoiesis. *Am J Med Sci* 1999 Oct;318(4):286-8.

364. Lioté F, Yeni P, Teillet-Thiebaud F, Barge J, Devars Du Mayne JF, Flamant Y, Molas G, Carbon C. Ascites revealing peritoneal and hepatic extramedullary hematopoiesis with peliosis in agnogenic myeloid metaplasia. *Am J Med* 1991 Jan;90(1):111-7.
365. Vilaseca J, Arnau JM, Tallada N, Bernado L, Lopez-Vivancos J, Guardia J. Agnogenic myeloid metaplasia presenting as massive pericardial effusion due to extramedullary hematopoiesis. *Acta Haematol* 1985;73(4):239-40.
366. Haedersdal C, Hasselbalch H, Devantier A, Saunamäki K. Pericardial haematopoiesis with tamponade in myelofibrosis. *Scand J Haematol* 1985 Mar;34(3):270-3.
367. Imam TH, Doll DC. Acute cardiac tamponade associated with pericardial extramedullary hematopoieses in agnogenic myeloid metaplasia. *Acta Haematol* 1997; 98:42.
368. Nagler A, Brenner B, Argov S, Tatarsky I. Postsplenectomy pericardial effusion in two patients with myeloid metaplasia. *Arch Intern Med* 1986 Mar;146(3):600-1.
369. Pedio G, Krause M, Jansova I. Megakaryocytes in ascitic fluid in a case of agnogenic myeloid metaplasia [letter]. *Acta Cytol* 1985; 29:89.
370. Silverman JF. Extramedullary hematopoietic ascitic fluid cytology in myelofibrosis. *Am J Clin Pathol* 1985; 84:125.
371. Stephenson RW, Britt DA, Schumann GB. Primary cytodiagnosis of peritoneal extramedullary hematopoiesis. *Diagn Cytopathol* 1986; 2:241.
372. Hocking WG, Lazar GS, Lipsett JA, Busuttill RW. Cutaneous extramedullary hematopoiesis following splenectomy for idiopathic myelofibrosis. *Am J Med* 1984 May;76(5):956-8.
373. Partanen S, Ruutu T, Jubonen E, Pantzar P. Effect of splenectomy on circulating haematopoietic progenitors in myelofibrosis. *Scand J Haematol* 1986 Aug;37(2):87-90.
374. Hirose Y, Masaki Y, Shimoyama K, Sugai S, Nojima T. Granulocytic sarcoma of megakaryoblastic differentiation in the lymph nodes terminating as acute megakaryocytic leukemia in a case of chronic idiopathic myelofibrosis persisting 16 years. *Eur J Haematol* 2001 Sep;67(3):194-8.
375. Oishi N, Swisher SN, Stormont JM, Schwartz SI. Portal hypertension in myeloid metaplasia. *Arch Surg* 1960 Jul; 81:80-6.

376. Rosenbaum DL, Murphy GW, Swisher SN. Hemodynamic studies of the portal circulation in myeloid metaplasia. *Am J Med* 1966 Sep;41(3):360-8.
377. Jacobs P, Maze S, Tayob F, Harries-Jones EP. Myelofibrosis, splenomegaly, and portal hypertension. *Acta Haematol* 1985;74(1):45-8.
378. Degott C, Carpon JP, Bettan L, Molas G, Bernuau D, Potet F, Feldmann G, Benhamou JP. Myeloid metaplasia, perisinusoidal fibrosis, and nodular regenerative hyperplasia of the liver. *Liver* 1985 Oct;5(5):276-81.
379. Bioulac-Sage P, Roux D, Quinton A, Lamouliatte H, Balabaud C. Ultrastructure of sinusoids in patients with agnogenic myeloid metaplasia. *J Submicrosc Cytol* 1986 Oct;18(4):815-21.
380. Roux D, Merlio JP, Quinton A, Lamouliatte H, Balabaud C, Bioulac-Sage P. Agnogenic myeloid metaplasia, portal hypertension and sinusoidal abnormalities. *Gastroenterology* 1987 Apr;92(4):1067-72.
381. Tsao MS. Hepatic sinusoidal fibrosis in agnogenic myeloid metaplasia. *Am J Clin Pathol* 1989 Mar;91(3):302-5.
382. Valla D, Casadevall N, Huisse MG, Tulliez M, Grange JD, Muller O, Binda T, Varet B, Rueff B, Benhamou JP. Etiology of portal vein thrombosis in adults. *Gastroenterology* 1988 Apr;94(4):1063-9.
383. Lee W-C, Lin H-C, Tsay S-H, Yang YY, Hou MC, Lee FY, Chang FY, Lee SD. Esophageal variceal ligation for esophageal variceal hemorrhage in a patient with portal and primary pulmonary hypertension complicating myelofibrosis. *Dig Dis Sci* 2001 Apr;46(4):915-9.
384. Yusef RD, Kollef MH. Acute respiratory failure due to extramedullary hematopoiesis. *Chest* 1995; 108:1170.
385. Steensma DP, Hook CC, Stafford SL, Tefferi A. Low-dose, single fraction, whole-lung radiotherapy for pulmonary hypertension associated with myelofibrosis and myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 2002; 118:813.
386. Boivin P, Bernard JF, Hakim J, Woroclans M. Anomalies immunitaires au cours de splénomégalies myéloïdes myélosclérose. *Acta Haematol* 1974; 51:91.

- 387.Lang JM, Oberling F, Mayer S, Heid E. Autoimmunity in primary myelofibrosis. *Biomedicine* 1976 Feb 10;25(1):39.
- 388.Barge J, Slabodshy-Brousse N, Bernard JF. Histoimmunology of myelofibrosis: A study of 100 cases. *Biomedicine* 1978 Apr;29(2):73-5.
- 389.Vellenga E, Mulder NH, The TH, Nieweg HO. A study of the cellular and humoral immune response in patients with myelofibrosis. *Clin Lab Haematol* 1982; 4:239.
- 390.Rondeau E, Solal-Celigny P, Dhermy D, Vroclans M, Brousse N, Bernard JF, Boivin P. Immune disorders in agnogenic myeloid metaplasia: Relations to myelofibrosis. *Br J Haematol* 1983 Mar;53(3):467-75.
- 391.Gordon B. Immunological abnormalities in myelofibrosis. *Prog Clin Biol Res* 1984; 154:455
- 392.Khumbanonda M, Horowitz HI, Eyster ME. Coombs' positive hemolytic anemia in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Am J Med Sci* 1969; 258:89.
- 393.Mohite U, Pathare A, Al Kindi S, Hiwase D, Vadakkepat N, Knox-Macaulay H. Autoimmune haemolytic anemia as the presenting manifestation of agnogenic myeloid metaplasia. *Haematologica* 2002;32(4):495-9.
- 394.Kornbliht LI, Vassallu PS, Heller PG, Lago NR, Alvarez CL, Molinas FC. Primary myelofibrosis in a patient who developed primary biliary cirrhosis, autoimmune hemolytic anemia and fibrillary glomerulonephritis. *Ann Hematol* 2008 Dec;87(12):1019-20
- 395.Schreiber ZA. Immune thrombocytopenia in postpolythemic myelofibrosis. *Am J Hematol* 1997; 54:146.
- 396.Seelen MA, de Meijer PH, Posthuma EF, Meinders AE. Myelofibrosis and thrombocytopenic purpura. *Ann Hematol* 1997; 75:129.
- 397.Wang JC, Wang A. Plasma soluble interleukin-2 receptor in patients with primary myelofibrosis. *Br J Haematol* 1994; 86:380.
- 398.Leoni P, Rupoli S, Salvi A, Sambo P, Cinciripini A, Gabrielli A. Antibodies against terminal galactosyl alpha(1-3) galactose epitopes in patients with idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 1993 Oct;85(2):313-9.

399. Bernhardt B, Valleta M. Lupus anticoagulant in myelofibrosis. *Am J Med Sci* 1976; 272:229.
400. Cappio FC, Vigliani R, Novarino A, Camussi G, Campana D, Gavosto F. Idiopathic myelofibrosis: A possible role for immune-complexes in the pathogenesis of bone marrow fibrosis. *Br J Haematol* 1981 Sep;49(1):17-21.
401. Akikusa B, Komatsu T, Kondo Y, Yokota T, Uchino F, Yonemitsu H. Amyloidosis complicating idiopathic myelofibrosis. *Arch Pathol Lab Med* 1987 Jun;111(6):525-9.
402. Hasselbalch H, Nielsen H, Berild D, Kappelgaard E. Circulating immune complexes in myelofibrosis. *Scand J Haematol* 1985 Feb;34(2):177-80.
403. Gordon BR, Coleman M, Kohen P, Day NK. Immunologic abnormalities in myelofibrosis with activation of the complement system. *Blood* 1981 Nov;58(5):904-10.
404. Ferhanoğlu B, Erzin Y, Başlar Z, Tüzüner HA. Secondary amyloidosis in the course of idiopathic myelofibrosis. *Leuk Res* 1997; 21:897.
405. Tefferi A, Kantarjian HM, Pardanani AD. The clinical phenotype of myelofibrosis encompasses a chronic inflammatory state that is favorably altered by INCB018424, a selective inhibitor of JAK1/2. *Blood* 2008; 112:968.
406. El Mouzan MI, Ahmad MA, al Fadel Saleh M, al Sohaibani MO, al Gindan YM. Myelofibrosis and pancytopenia in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1988;80(4):219-21
407. Matsouka CH, Liouris J, Andrianokis A, Papademetriou C, Karvountzis G. Systemic lupus erythematosus and myelofibrosis. *Clin Rheumatol*. 1989 Sep;8(3):402-7.
408. Paquette RL, Meshkinpour A, Rosen PJ. Autoimmune myelofibrosis. A steroidresponsive cause of bone marrow fibrosis associated with systemic lupus erythematosus. *Medicine (Baltimore)* 1994; 73:145.
409. Ramakrishna R, Kyle PW, Day PJ, Manshara A. Evan's syndrome, myelofibrosis and systemic lupus erythematosus: Role of procollagens in myelofibrosis. *Pathology* 1995; 27:255.
410. Kiss E, Gál I, Simkovics E, Bányai A, Szakáll S, Szegedi G. Myelofibrosis in systemic lupus erythematosus. *Leuk Lymphoma* 2000 Nov;39(5-6):661-5.

411. Aharon A, Levy Y, Bar-Dayan Y, Afek A, Zandman-Goddard G, Skurnik Y, Fabrrizzi F, Shoenfeld Y. Successful treatment of early secondary myelofibrosis in SLE with IVIG. *Lupus* 1997;6(4):408-11.
412. Von Knorring J, Selroos O, Wasastjerna C, Wegelius O. Myeloid metaplasia in disseminated vascular disease. *Acta Med Scand* 1974; 195:137.
413. Connelly TJ, Abruzzo JL, Schwab RH. Agnogenic myeloid metaplasia with polyarteritis. *J Rheumatol* 1982; 9:954.
414. Arellano-Rodrigo E, Esteve J, Giné E, Panés J, Cervantes F. Idiopathic myelofibrosis associated with ulcerative colitis. *Leuk Lymphoma* 2002 Jul;43(7):1481-3.
415. Ben-Chetrit E, Gross DJ, Ikon E, Levo Y. The association between auto-immunity and agnogenic myeloid metaplasia. *Scand J Haematol* 1983 Nov;31(5):410-2.
416. Hernández-Beluda JC, Jiménez M, Rosiñol L, Cervantes F. Idiopathic myelofibrosis associated with primary biliary cirrhosis. *Leuk Lymphoma* 2002; 43:673.
417. Marie I, Levesque H, Cailleux N, Lepretre S, Duval C, Tilly H, Courtois H. An uncommon association= Sjögren syndrome and autoimmune myelofibrosis. *Rheumatology* 1999 Apr;38(4):370-1.
418. Hasselbalch H, Jans H, Nielsen PL. A distinct subtype of idiopathic myelofibrosis with bone marrow features mimicking hairy cell leukemia: Evidence of an autoimmune pathogenesis. *Am J Hematol* 1987; 25:225.
419. Thiele J, Chen Y-S, Kvasnicka H-M, Diehl V, Fischer R. Evolution of fibro-osteosclerotic bone marrow lesions in primary (idiopathic) osteomyelofibrosis—A histomorphometric study on sequential trephine biopsies. *Leuk Lymphoma* 1994 Jun;14(1-2):163-9.
420. Thiele J, Hoepfner B, Zankovich R, Fischer R. Histomorphometry of bone marrow biopsies in primary osteomyelofibrosis-sclerosis (agnogenic myeloid metaplasia): Correlation between clinical and morphological features. *Virchows Arch* 1989; 415:191,
421. Guermazi A, de Kerviler E, Cazals-Hatem D, Zagdanski AM, Frija J. Imaging findings in myelofibrosis. *Eur J Radiol* 1999;9(7):1366-75.
422. Thiele J, Kvasnicka HM, Fischer R. Histochemistry and morphometry on bone marrow biopsies in chronic myeloproliferative disorders: Aids to diagnosis and classification. *Ann Hematol* 1999 Nov;78(11):495-506.

423. Poulsen LW, Melsen F, Bendix K. Histomorphometric study of haematologic disorders with respect to marrow fibrosis and osteosclerosis. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1998; 106:495.
424. Coindre JM, Reiffers J, Goussot JF, De Mascarel A, Broustet A. Histomorphometric analysis of sclerotic bone from idiopathic myeloid metaplasia. *J Pathol* 1984 Nov;144(3):163-9.
425. Diamond T, Smith A, Schnier R, Manoharan A. Syndrome of myelofibrosis and osteosclerosis: A series of case reports and review of the literature. *Bone* 2002; 3:498.
426. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR. Bone histomorphometry: Standardization of nomenclature, symbols, and units. *J Bone Miner Res* 1987 Dec;2(6):595-610.
427. Cassi E, DePaoli A, Tosi A, Turri C. Pure osteolytic lesions in myelofibrosis: Report of 2 cases. *Haematologica* 1985 Mar-Apr;70(2):178-83.
428. Fayemi AO, Gerber MA, Cohen I, Davis S, Rubin AD. Myeloid sarcoma. *Cancer* 1973 Jul;32(1):253-8.
429. Yu JS, Greenway G, Resnick D. Myelofibrosis associated with prominent periosteal bone apposition. *Clin Imaging* 1994; 18:89.
430. Cervantes F, Alvarez-Larrán A, Arellano-Rodrigo E, Granell M, Domingo A, Montserrat E. Frequency and risk factors for thrombosis in idiopathic myelofibrosis: Analysis in a series of 155 patients from a single institution. *Leukemia* 2006 Jan;20(1):55-60.
431. Buxhofer-Ausch V, Gisslinger H, Thiele J, Gisslinger B, Kvasnicka HM, Müllauer L, Frantal S, Carobbio A, Passamonti F, Rumi E, Ruggeri M, Rodeghiero F, Randi ML, Bertozzi I, Vannucchi AM, Antonioli E, Finazzi G, Gangat N, Tefferi A, Barbui T. Leukocytosis as an important risk factor for arterial thrombosis in WHO-defined early/prefibrotic myelofibrosis: An international study of 264 patients. *Am J Hematol* 2012 Jul;87(7):669-72.
432. Barbui T, Carobbio A, Cervantes F, Vannucchi AM, Guglielmelli P, Antonioli E, Alvarez-Larrán A, Rambaldi A, Finazzi G, Barosi G. Thrombosis in primary myelofibrosis: Incidence and risk factors. *Blood* 2010 Jan 28;115(4):778-82.

433. Smalberg JH, Arends LR, Valla DC, Kiladjian JJ, Janssen HL, Leebeek FW. Myeloproliferative neoplasms in Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: A meta-analysis. *Blood* 2012 Dec 13;120(25):4921-8.
434. Barosi G, Cazzoli M, Frassoni F. Erythropoiesis in myelofibrosis with myeloid metaplasia: Recognition of different classes of patients by erythrokinetics. *Br J Haematol* 1981; 48:263.
435. Barosi G, Berzuinic C, Liberato LN, Costa A, Polino G, Ascari E. A prognostic classification of myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 1988 Dec;70(4):397-401.
436. Thiele J, Kvasnicka H-M, Werden C, Zankovich R, Diehl V, Fischer R. Idiopathic primary osteomyelofibrosis. *Leuk Lymphoma* 1996 Jul;22(3-4):303-17.
437. Njoku OS, Lewis SM, Catovsky D, Gordon-Smith EC. Anaemia in myelofibrosis: Its value in prognosis. *Br J Haematol* 1983 May;54(1):79-89.
438. Howarth JE, Waters HM, Hyde K, Geary CG. Detection of erythroid hypoplasia in myelofibrosis using erythrokinetic studies. *J Clin Pathol* 1989; 42:1250.
439. Thiele J, Windecker R, Kvasnicka HM, Titius BR, Zankovich R, Fischer R. Erythropoiesis in primary (idiopathic) osteomyelofibrosis. *Am J Hematol* 1994 May;46(1):36-42.
440. Bird GW, Wingham J, Richardson SG. Myelofibrosis, autoimmune haemolytic anaemia and Tn-polyagglutinability. *Haematologica* 1985; 18:99.
441. Kuo CY, VanVoolen GA, Morrison AN. Primary and secondary myelofibrosis: Its relationship to the PNH-like defect. *Blood* 1972; 40:875.
442. Veer A, Kosciolk BA, Bauman AW, Rowley PT. Acquired hemoglobin H disease in idiopathic myelofibrosis. *Am J Hematol* 1979;6(3):199-206.
443. Barosi G, Baraldi A, Cassola M, Spriano P, Magrini U. Red cell aplasia in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Cancer* 1983 Oct 1;52(7):1290-6.
444. Silverstein MN, Elveback LR. Leukocyte alkaline phosphatase in agnogenic myeloid metaplasia. *Am J Clin Pathol* 1974; 61:307.
445. Douer D, Fabian I, Cline MJ. Circulation pluripotent haemopoietic cells in patients with myeloproliferative disorders. *Br J Haematol* 1983; 54:373.



446. Barosi G, Viarengo G, Pecci A, Rosti V, Piaggio G, Marchetti M, Frassoni F. Diagnostic and clinical relevance of the number of circulating CD34+ cells in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 2001 Dec 1;98(12):3249-55.
447. Partanen S, Ruutu T, Vuopio P. Circulating haematopoietic progenitors in myelofibrosis. *Scand J Haematol* 1982; 29:325.
448. Wang JC, Cheung CP, Ahmed F, Steier W, Tobin MS. Circulating granulocyte and macrophage progenitor cells in primary and secondary myelofibrosis. *Br J Haematol* 1983 Jun;54(2):301-7.
449. Kornberg A, Fibach E, Treves A, Goldfarb A, Rachmilewitz EA. Circulating erythroid progenitors in patients with "spent" polycythaemia vera and myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 1982 Dec;52(4):573-8.
450. Colovi MD, Wiernik PH, Jankovi GM, Vidović AD, Janosević S, Basara NM. Circulating haematopoietic progenitor cells in primary and secondary myelofibrosis: Relation to collagen and reticulin fibrosis. *Eur J Haematol* 1999 Mar;62(3):155-9.
451. Tinggaard-Pedersen N, Laursen B. Megakaryocytes in cubital venous blood in patients with chronic myeloproliferative diseases. *Scand J Haematol* 1983; 30:50.
452. Cervantes F, Hernandez-Boluda JC, Villamor N, Serra A, Montserrat E. Assessment of peripheral blood lymphocyte subsets in idiopathic myelofibrosis. *Eur J Haematol* 2000 Aug;65(2):104-8.
453. Marquetty C, Labro-Bryskier MT, Perianin A, Hakim J. Impaired metabolic activity of phagocytosis neutrophils in agnogenic osteomyelofibrosis with splenomegaly. *Am J Med* 1984 Apr;16(3):243-54.
454. Perianin A, Labro-Bryskier MT, Marquetty C, Hakim J. Glutathione reductase and nitroblue tetrazolium reduction deficiencies in neutrophils of patients with primary idiopathic myelofibrosis. *Clin Exp Immunol* 1984 Jul;57(1):244-8.
455. Briard D, Brouty-Boyé D, Giron-Michel J, Azzarone B, Jasmin C, Le Bousse-Kerdilès C. Impaired NK cell differentiation of blood-derived CD34+ progenitors from patients with myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Clin Immunol* 2003 Mar;106(3):201-12.
456. Murphy S, Davis JL, Walsh PN, Gardner FH. Template bleeding time and clinical hemorrhage in myeloproliferative disease. *Arch Intern Med* 1978 Aug;138(8):1251-3.

457. Malpass TW, Savage B, Hanson SR, Slichter SJ, Harker LA. Correlation between bleeding time and depletion of platelet dense granule ADP in patients with myelodysplastic and myeloproliferative disorders. *J Lab Clin Med* 1984 Jun;103(6):894-904.
458. Cunietti E, Gandini R, Marcaro G, Ferrari M, Pappalepore V, Scapellato L. Defective platelet aggregation and increased platelet turnover in patients with myelofibrosis and other myeloproliferative diseases. *Scand J Haematol* 1981 Apr;26(4):339-44.
459. Schafer AL. Deficiency of platelet lipoxygenase activity in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 1982; 306:381.
460. Shafer AL. Bleeding and thrombosis in the myeloproliferative disorders. *Blood*
461. Barbui T, Cortelazzo S, Viero P, Bassan R, Dini E, Semeraro N. Thrombohaemorrhagic complications in 101 cases of myeloproliferative disorders: Relationship to platelet number and function. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1983 Nov;19(11):1593-9.
462. Thiele J, Lorenzen J, Manich B, Kvasnicka HM, Zirbes TK, Fischer R. Apoptosis (programmed cell death) in idiopathic (primary) osteo-/myelofibrosis. *Acta Haematol* 1997;97(3):137-43.
463. Mesa RA, Hanson CA, Rajkumar SV, Schroeder G, Tefferi A. Evaluation and clinical correlations of bone marrow angiogenesis in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 2000 Nov 15;96(10):3374-80.
464. Bauermeister DE. Quantitation of bone marrow reticulin—a normal range. *Am J Clin Pathol* 1971 Jul;56(1):24-31.
465. Thiele J, Kvasnicka HM. Myelofibrosis—What's in a name? Consensus on definition and EUMNET grading. *Pathobiology* 2007;74(2):89-96.
466. Teman CJ, Wilson AR, Perkins SL, Hickman K, Prechal JT, Salama ME. Quantification of fibrosis and osteosclerosis in myeloproliferative neoplasms: A computer-assisted image study. *Leuk Res* 2010 Jul;34(7):871-6.
467. Hussein K, Van Dyke DL, Tefferi A. Conventional cytogenetics in myelofibrosis: Literature review and discussion. *Eur J Haematol* 2009 May;82(5):329-38.
468. Tam CS, Abruzzo LV, Lin KI, Cortes J, Lynn A, Keating MJ, Thomas DA, Pierce S, Kantarjian H, Verstovsek S. The role of cytogenetic abnormalities as a prognostic marker

- in primary myelofibrosis: Applicability at the time of diagnosis and later during disease course. *Blood* 2009 Apr 30;113(18):4171-8.
469. Nakamura H, Sadamori N, Mine M, Kawachi T, Itoyama T, Sasagawa I, Moriuchi Y, Momita S, Nonaka H, Matsuo T, et al. Effects of short-term liquid culture of peripheral blood mononuclear cells with recombinant human granulocyte or granulocytemacrophage colony-stimulating factor in cytogenetic studies of myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Leukemia*. 1992 Aug;6(8):853-5.
470. Reilly JT, Snowden JA, Spearing RL, Fitzgerald PM, Jones N, Watmore A, Potter A. Cytogenetic abnormalities and their prognostic significance in idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 1997 Jul;98(1):96-102.
471. Tefferi A, Mesa RA, Schroeder G, Hanson CA, Li CY, Dewald GW. Cytogenetic findings and their clinical relevance in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 2001 Jun;113(3):763-71.
472. Tefferi A, Meyer RG, Wyatt WA, Dewald GW. Comparison of peripheral blood interphase cytogenetics with bone marrow karyotype analysis in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 2001 Nov;115(2):316-9.
473. Sinclair EJ, Forrest EC, Reilly JT, Watmore AE, Potter AM. Fluorescence in situ hybridization analysis of 25 cases of idiopathic myelofibrosis and two cases of secondary idiopathic: Monoallelic loss of RB1, D13S319 and D13S25 loci associated with cytogenetic deletion and translocation involving 13q14. *Br J Haematol* 2001 May;113(2):365-8.
474. Reilly JT. Cytogenetic and molecular genetic aspects of idiopathic myelofibrosis. *Acta Haematol* 2002;108(3):113-9.
475. Andrieux J, Demory JL, Morel P, Agape P, Wetterwald M, Bauters F, Lai JL. Frequency of structural abnormalities of the long arm of chromosome 12 in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Cancer Genet Cytogenet* 2003 Jan 15;140(2):118-23.
476. Dingli D, Grand FH, Mahaffey V, Spurbeck J, Ross FM, Watmore AE, Reilly JT, Cross NC, Dewald GW, Tefferi A. Der(6)t(1;6)(q21-23;p21.3): A specific cytogenetic abnormality in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 2005 Jul;130(2):229-32.

477. Forrester RH, Louro JM. Philadelphia chromosome abnormality in agnogenic myeloid metaplasia. *Ann Intern Med* 1966 Mar;64(3):622-7.
478. Gupta V, Hari P, Hoffman R. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelofibrosis in the era of JAK inhibitors. *Blood* 2012 Aug 16;120(7):1367-79.
479. Weda F, Takashima T, Suzuki M, Kadoya M. MR diagnosis of myelofibrosis. *Radiat Med* 1994 May-Jun;12(3):135-7.
480. Amano Y, Onda M, Amano M, Kumazaki T. Magnetic resonance imaging of myelofibrosis. STIR and gadolinium-enhanced MR images. *Clin Imaging* 1997 Jul-Aug;21(4):264-8.
481. Schirrmester H, Bommer M, Buck A, Reske SN. The bone scan ion osteosclerosis. *J Bone Miner Res* 2001 Dec;16(12):2361.
482. Spanos G, Narasimhan P, Rosner F. Hypocholesterolemia in myelofibrosis. *JAMA* 1981 Jan 16;245(3):235.
483. Cervantes F, Pereira A, Esteve J, Rafel M, Cobo F, Rozman C, Montserrat E. Identification of "short-lived" and "long-lived" patients at presentation of idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 1997 Jun;97(3):635-40.
484. Barosi G, Rosti V, Bonetti E, Campanelli R, Carolei A, Catarsi P, Isgrò AM, Lupo L, Massa M, Poletto V, Viarengo G, Villani L, Magrini U. Evidence that prefibrotic myelofibrosis is aligned along a clinical and biological continuum featuring primary myelofibrosis. *PLoS One* 2012;7(4):e35631.
485. Gilbert HS, Ginsberg H, Fagerstrom R, Brown WV. Characterization of hypocholesterolemia in myeloproliferative diseases. *Am J Med* 1981; 71:595.
486. Naggar L, Jaeger P, Burckhardt P, Zwahlen A. Hypocalcemia and myelofibrosis: An unrecognized association. *Schweiz Med Wochenschr* 1986 Dec 13;116(50):1771-3.
487. Voss A, Schmidt K, Hasselbalch H, Junker P. Hypercalcemia in idiopathic myelofibrosis. *Am J Hematol* 1992 Mar;39(3):231-3.
488. Wang JC, Chen C, Lou LH, Mora M. Blood thrombopoietin, IL-6 and IL-11 levels in patients with agnogenic myeloid metaplasia. *Leukemia* 1997 Nov;11(11):1827-32.
489. Elliott MA, Yoon SY, Kao P, Li CY, Tefferi A. Simultaneous measurement of serum thrombopoietin and expression of megakaryocyte c-MPL with clinical and laboratory

- correlates for myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Eur J Haematol* 2002 Mar;68(3):175-9.
490. Wang JC, Hashmi G. Elevated thrombopoietin levels in patients with myelofibrosis may not be due to enhanced production of thrombopoietin by bone marrow. *Leuk Res* 2003 Jan;27(1):13-7.
491. Wang J, Wang A. Plasma soluble interleukin-2 receptor in patients with primary myelofibrosis. *Br J Haematol* 1994 Feb;86(2):380-2.
492. Di Raimondo F, Azzaro MP, Palumbo GA, Bagnato S, Stagno F, Giustolisi GM, Cacciola E, Sortino G, Guglielmo P, Giustolisi R. Elevated vascular endothelial growth factor (VEGF) serum levels in idiopathic myelofibrosis. *Leukemia* 2001 Jun;15(6):976-80.
493. Dalley A, Smith JM, Reilly JT, Neil SM. Investigation of calmodulin and basic fibroblast growth factor (bFGF) in idiopathic myelofibrosis: Evidence for a role of extracellular calmodulin in fibroblast proliferation. *Br J Haematol* 1996 Jun;93(4):856-62.
494. Thiele J, Kvasnicka HM, Müllauer L, Buxhofer-Ausch V, Gisslinger B, Gisslinger H. Essential thrombocythemia versus early primary myelofibrosis: a multicenter study to validate the WHO classification. *Blood*. 2011;117(21): 5710-18
495. Gisslinger H, Jeryczynski G, Gisslinger B, Wölfler A, Burgstaller S, Buxhofer-Ausch V, Schalling M, Krauth MT, Schiefer AI, Kornauth C, Simonitsch-Klupp I, Beham-Schmid C, Müllauer L, Thiele J. Clinical impact of bone marrow morphology for the diagnosis of essential thrombocythemia: comparison between the BCSH and the WHO criteria [published online ahead of print December 29, 2015]. *Leukemia* 2016 May;30(5):1126-32.
496. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, Passamonti F, Reilly JT, Morra E, Vannucchi AM, Mesa RA, Demory JL, Barosi G, Rumi E, Tefferi A. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2009 Mar 26;113(13):2895-901.
497. Cervantes F, Alvarez-Larrán A, Hernández-Boluda JC, Sureda A, Torreadell M, Montserrat E. Erythropoietin treatment of the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia: Results in 20 patients and review of the literature. *Br J Haematol* 2004 Nov;127(4):399-403.

498. Cervantes F, Alvarez-Larrán A, Hernández-Boluda JC, Sureda A, Granell M, Vallansot R, Besses C, Montserrat E. Darbepoetin-alpha for the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 2006 Jul;134(2):184-6.
499. Cervantes F, Alvarez-Larrán A, Domingo A, Arellano-Rodrigo E, Montserrat E. Efficacy and tolerability of danazol as a treatment for the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia: Long-term results in 30 patients. *Br J Haematol* 2005 Jun;129(6):771-5.
500. Makdisi WJ, Cherian R, Vanveldhuizen PJ, Talley RL, Stark SP, Dixon AY. Fatal peliosis of the liver and spleen in a patient with agnogenic myeloid metaplasia treated with danazol. *Am J Gastroenterol* 1995 Feb;90(2):317-8.
501. Ozsoylu S, Ruacan S: High-dose intravenous corticosteroid treatment in childhood idiopathic myelofibrosis. *Acta Haematol* 1986;75(1):49-51.
502. Cetingül N, Yener E, Oztop S, Nisli G, Soydan S. Agnogenic myeloid metaplasia in childhood: A report of two cases and efficiency of intravenous high dose methylprednisolone treatment. *Acta Paediatr Jpn* 1994 Dec;36(6):697-700.
503. Wilks AF. The JAK kinases: Not just another kinase drug discovery target. *Semin Cell Dev Biol* 2008 Aug;19(4):319-28.
504. Pardanani A, Hood J, Lasho T, Levine RL, Martin MB, Noronha G, Finke C, Mak CC, Mesa R, Zhu H, Soll R, Gilliland DG, Tefferi A. TG101209, a small molecule JAK2-selective kinase inhibitor potently inhibits myeloproliferative disorder-associated JAK2V617F and MPLW515L/K mutations. *Leukemia* 2007 Aug;21(8):1658-68.
505. Verstovsek S, Kantarjian HM, Pardanani AD, D Thomas, J. Cortes, R. A. Mesa, W. J. Hogan, J. R. Redman, S. Erickson-Viitanen, R. Levy, K. Vaddi, E. Bradley, J. Fridman, A. Tefferi. The JAK inhibitor, INCB018424, demonstrates durable and marked clinical responses in primary myelofibrosis (PMF) and post-polycythemia/essential thrombocythemia myelofibrosis (PV/ET-MF). *Blood* 2008; 112:622.
506. Pardanani AD, Gotlib J, Jamieson C, Cortes J, Talpaz M, Stone R M, Silverman M H, Shorr J, Gilliland D. G, Tefferi A. A phase I study of TG101348, an orally bioavailable JAK-2 selective inhibitor, in patients with myelofibrosis. *Blood* 2008; 112 (11): 97.
507. Shah, NP, Olszynski P, Sokol, L, Hoffman R, List AF. A phase I study of XL019, a selective JAK2 inhibitor, in patients with primary myelofibrosis polycythemia vera, or post-essential thrombocythemia myelofibrosis. *Blood* 2008; 112:98.

508. Harrison C, Kiladjian JJ, Al-Ali HK, Gisslinger H, Waltzman R, Stalbovskaya V, McQuitty M, Hunter DS, Levy R, Knoops L, Cervantes F, Vannucchi AM, Barbui T, Barosi G. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med* 2012 Mar 1;366(9):787-98.
509. Verstovsek S, Mesa RA, Gotlib J, Levy RS, Gupta V, DiPersio JF, Catalano JV, Deininger M, Miller C, Silver RT, Talpaz M, Winton EF, Harvey JH Jr, Arcasoy MO, Hexner E, Lyons RM, Paquette R, Raza A, Vaddi K, Erickson-Viitanen S, Sun W, Sandor V, Kantarjian HM. The clinical benefit of ruxolitinib across patient subgroups: Analysis of a placebo-controlled, phase III study in patients with myelofibrosis. *Br J Haematol* 2013 May;161(4):508-16.
510. Mesa RA, Gotlib J, Gupta V, Catalano JV, Deininger MW, Shields AL, Miller CB, Silver RT, Talpaz M, Winton EF, Harvey JH, Hare T, Erickson-Viitanen S, Sun W, Sandor V, Levy RS, Kantarjian HM, Verstovsek S. Effect of ruxolitinib therapy on myelofibrosis-related symptoms and other patient-reported outcomes in COMFORT-I: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Oncol* 2013 Apr 1;31(10):1285-92.
511. Mesa RA, Kiladjian JJ, Verstovsek S, Al-Ali HK, Gotlib J, Gisslinger H, Levy R, Siulnik A, Gupta V, Khan M, DiPersio JF, McQuitty M, Catalano JV, Hunter DS, Knoops L, Deininger M, Cervantes F, Miller C, Vannucchi AM, Silver RT, Barbui T, Talpaz M, Barosi G, Winton EF, Mendeson E, Harvey JH Jr, Arcasoy MO, Hexner E, Lyons RM, Paquette R, Raza A, Sun W, Sandor V, Kantarjian HM, Harrison C. Comparison of placebo and best available therapy for the treatment of myelofibrosis in the phase 3 COMFORT studies. *Haematologica* 2014 Feb;99(2):292-8.
512. Talpaz M, Paquette R, Afrin L, Hamburg SI, Prchal JT, Jamieson K, Terebelo HR, Ortega GL, Lyons RM, Tiu RV, Winton EF, Natrajan K, Odenike O, Claxton D, Peng W, O'Neill P, Erickson-Viitanen S, Leopold L, Sandor V, Levy RS, Kantarjian HM, Verstovsek S. Interim analysis of safety and efficacy of ruxolitinib in patients with myelofibrosis and low platelet counts. *J Hematol Oncol* 2013 Oct 29;6(1):81.
513. Lofvenberg E, Wahlin A. Management of polycythaemia vera, essential thrombocythaemia and myelofibrosis with hydroxyurea. *Eur J Haematol* 1988 Oct;41(4):375-81.

514. Lofvenberg E, Wahlin A, Roos G, Ost A. Reversal of myelofibrosis by hydroxyurea. *Eur J Haematol* 1990 Jan;44(1):33-8.
515. Manoharan A. Management of myelofibrosis with intermittent hydroxyurea. *Br J Haematol* 1991 Feb;77(2):252-4.
516. Petti MC, Latagliata R, Spadea T, Spadea A, Montefusco E, Aloe Spiriti MA, Avvisati G, Breccia M, Pescarmona E, Mandelli F. Melphalan treatment in patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 2002 Mar;116(3):576-81.
517. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2013 Update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2013 Jun;88(6):507-16.
518. Merup M, Kutti J, Birgerård G, Mauritzson N, Björkholm M, Markevörn B, Maim C, Westin J, Palmblad J; Swedish National Study Group on Chronic Myeloproliferative Disorders. Negligible clinical effects of thalidomide in patient with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Med Oncol* 2002;19(2):79-86.
519. Piccaluga PP, Visani G, Pileri SA, Ascani S, Grafone T, Isidori A, Malagola M, Finelli C, Martinelli G, Ricci P, Baccarani M, Tura S. Clinical efficacy and antiangiogenic activity of thalidomide in myelofibrosis with myeloid metaplasia. A pilot study. *Leukemia* 2002 Sep;16(9):1609-14.
520. Strupp C, Germing U, Scherer A, Kündgen A, Mödder U, Gattermann N, Haas R. Thalidomide for treatment of idiopathic myelofibrosis. *Eur J Haematol* 2004 Jan;72(1):52-7.
521. Mesa RA, Lliott MA, Schroeder G, Tefferi A. Durable responses to thalidomide-based drug therapy for myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Mayo Clin Proc* 2004 Jul;79(7):883-9.
522. Tefferi A, Cortes J, Verstovsek S, Mesa RA, Thomas D, Lasho TL, Hogan WJ, Litzow MR, Allred JB, Jones D, Byrne C, Zeldis JB, Ketterling RP, McClure RF, Giles F, Kantarjian HM. Lenalidomide therapy in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 2006 Aug 15;108(4):1158-64.
523. Santana-Davila R, Tefferi A, Holtan SG, Ketterling RP, Dewald GW, Knudson RA, Steensma DP, Chen D, Hoyer JD, Hanson CA. Primary myelofibrosis is the most frequent myeloproliferative neoplasm associated with del(5q): Clinicopathologic comparison of del(5q)-positive and -negative cases. *Leuk Res* 2008 Dec;32(12):1927-30.



524. Tefferi A, Lasho TL, Mesa RA, Pardanani A, Ketterling RP, Hanson CA. Lenalidomide therapy in del(5)(q31)-associated myelofibrosis: Cytogenetic and JAK2V617F molecular remissions. *Leukemia* 2007 Aug;21(8):1827-8.
525. Cervantes F, Mesa R, Barosi G. New and old treatment modalities in primary myelofibrosis. *Cancer J* 2007 Nov-Dec;13(6):377-83.
526. Begna KH, Pardanani A, Mesa R, Litzow MR, Hogan WJ, Hanson CA, Tefferi A. Long-term outcome of pomalidomide therapy in myelofibrosis. *Am J Hematol* 2012 Jan;87(1):66-8.
527. Centanara E, Guarone R, Ippoliti G, Barosi G. Cyclosporine-A in severe refractory anemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia: A preliminary report. *Haematologica* 1998 Jul;83(7):622-6.
528. Nemoto Y, Tsutani H, Imamura S, Ishizaka T, Urasaki Y, Fukushima T, Ueda T. Successful treatment of acquired myelofibrosis with pure red cell aplasia. *Br J Haematol* 1999 Feb;104(2):422-4.
529. Tsimberidou AM, Giles FJ. TNF- $\alpha$  targeted therapeutic approaches in patients with hematologic malignancies. *Expert Rev Anticancer Ther* 2002 Jun;2(3):277-86.
530. Steensma DP, Mesa RA, Li CY, Gray L, Tefferi A. Etanercept, a soluble tumor necrosis factor receptor, palliates constitutional symptoms in patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia: Results of a pilot study. *Blood* 2002 Mar 15;99(6):2252-4.
531. Mesa RA. The therapy of myelofibrosis: Targeting pathogenesis. *Int J Hematol* 2002 Aug;76 Suppl 2:296-304.
532. Tefferi A, Mesa RA, Gray LA, Steensma DP, Camoriano JK, Elliott MA, Pardanani A, Ansell SM, Call TG, Colon-Otero G, Schroeder G, Hanson CA, Dewald GW, Kaufmann SH. Phase 2 trial of imatinib mesylate in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 2002 May 15;99(10):3854-6.
533. Carlo-Stella C, Cazzola M, Gasner A, Barosi G, Dezza L, Meloni F, Pedrazzoli P, Hoelzer D, Ascari E. Effects of recombinant alpha and gamma interferons on the in vitro growth of circulating hematopoietic progenitors from patients with myelofibrosis and myeloid metaplasia. *Blood* 1987 Oct;70(4):1014-9.

534. Sacchi S. The role of alpha-interferon in essential thrombocythaemia, polycythaemia vera and myelofibrosis with myeloid metaplasia (MMM): A concise update. *Leuk Lymphoma* 1995 Sep;19(1-2):13-20.
535. Bachleitner-Hofmann T, Gisslinger H. The role of interferon-alpha in the treatment of idiopathic myelofibrosis. *Ann Hematol* 1999 Dec;78(12):533-8.
536. Heis-Vahidi-Fard N, Forberg E, Eichinger S, Eichinger S, Chott A, Lechner K, Gisslinger H. Ineffectiveness of interferon-gamma in the treatment of idiopathic myelofibrosis: A pilot study. *Ann Hematol* 2001 Feb;80(2):79-82.
537. Gowin K, Thapaliya P, Samuelson J, Harrison C, Radia D, Andreasson B, Mascarenhas J, Rambaldi A, Barbui T, Rea CJ, Camoriano J, Gentry A, Kiladjian JJ, O'Connell C, Mesa R. Experience with pegylated interferon  $\alpha$ -2a in advanced myeloproliferative neoplasms in an international cohort of 118 patients. *Haematologica* 2012 Oct;97(10):1570-3.
538. Ianotto JC, Boyer-Perrard F, Gyan E, Laribi K, Cony-Makhoul P, Demory JL, De Renzis B, Dosquet C, Rey J, Roy L, Dupriez B, Knoops L, Legros L, Malou M, Hutin P, Ranta D, Schoenwald M, Andreoli A, Abgrall JF, Kiladjian JJ. Efficacy and safety of pegylated-interferon  $\alpha$ -2a in myelofibrosis: A study by the FIM and GEM French cooperative groups. *Br J Haematol* 2013 Sep;162(6):783-91
539. Silver RT, Vandris K, Goldman JJ. Recombinant interferon- $\alpha$  may retard progression of early primary myelofibrosis: A preliminary report. *Blood* 2011 Jun 16;117(24):6669-72.
540. Amital H, Rewald E, Levy Y, Bar-Dayyan Y, Manthorpe R, Engervall P, Sherer Y, Langevitz P, Shoenfeld Y. Fibrosis regression induced by intravenous gammaglobulin treatment. *Ann Rheum Dis* 2003 Feb;62(2):175-7.
541. Froom P, Elmalah I, Braester A, Aghai E, Quitt M. Clodronate in myelofibrosis: A case report. *Am J Med Sci* 2002 Feb;323(2):115-6.
542. Assous N, Foltz V, Fautrel B, Rozenberg S, Etchepare F, Bourgeois P. Bone involvement in myelofibrosis: Effectiveness of bisphosphonates. *Joint Bone Spine* 2005 Dec;72(6):591-2.
543. Elliott MA, Tefferi A. Splenic irradiation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: A review. *Blood Rev* 1999 Sep;13(3):163-70.

544. Jacobs P, Wood L, Robson S. Refractory ascites in the chronic myeloproliferative syndrome. *Am J Hematol* 1991 Jun;37(2):128-9.
545. Jacobs P, Sellars S. Granulocytic sarcoma preceding leukaemic transformation in myelofibrosis. *Postgrad Med J* 1985; 61:1069.
546. Teffari A, Jimenez T, Gray LA, Mesa RA, Chen MG. Radiation therapy for symptomatic hepatomegaly in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Eur J Haematol* 2001 Jan;66(1):37-42.
547. Mesa RA, Nagorney DS, Schwager S, Allred J, Tefferi A. Palliative goals, patient selection, and perioperative platelet management: Outcomes and lessons from 3 decades of splenectomy for myelofibrosis with myeloid metaplasia at the Mayo Clinic. *Cancer* 2006 Jul 15;107(2):361-70.
548. Tefferi A, Barrett SM, Silverstein NM, Nagorney DM. Outcome of portal-systemic shunt surgery for portal hypertension associated with intrahepatic obstruction in patients with agnogenic myeloid metaplasia. *Am J Hematol* 1994 Aug;46(4):325-8.
549. Angermayr B, Cejna M, Schoder M, Wrba F, Valent P, Gangl A, Peck-Radosavljevic M. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt for treatment of portal hypertension due to extramedullary hematopoiesis in idiopathic myelofibrosis. *Blood* 2002 Jun 1;99(11):4246-7.
550. Belohlavek J, Schwarz J, Jirásek A, Krajina A, Polák F, Hrubý M. Idiopathic myelofibrosis complicated by portal hypertension treated with a transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS). *Wien Klin Wochenschr* 2001 Mar 15;113(5-6):208-11.
551. Guardiola P, Anderson JE, Bandini G, Cervantes F, Runde V, Arcese W, Bacigalupo A, Przepiorka D, O'Donnell MR, Polchi P, Buzyn A, Sutton L, Cazals-Hatem D, Sale G, de Witte T, Deeg HJ, Gluckman E. Allogeneic stem cell transplantation for agnogenic myeloid metaplasia: A European Group for Blood and Marrow Transplantation, Société Française de Greffe de Moelle, Gruppo Italiano per il Trapianto Midollo Osseo, and Fred Hutchinson Cancer Center Collaborative Study. *Blood* 1999 May 1;93(9):2831-8.
552. Deeg HJ, Appelbaum FR. Stem-cell transplantation for myelofibrosis. *N Engl J Med* 2001; 334:775.
553. McCarty JM. Transplant strategies for idiopathic myelofibrosis. *Semin Hematol* 2004; 41(Suppl 3):23.

554. Mittal P, Saliba RM, Giralt SA, Shahjahan M, Cohen AI, Karandish S, Onida F, Beran M, Champlin RE, de Lima M. Allogeneic transplantation= A therapeutic option for myelofibrosis, chronic myelomonocytic leukemia, and Philadelphia-negative BCR-ABLnegative chronic myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2004 May;33(10):1005-9
555. Papageorgiou SG, Castleton A, Bloor A, Kottaridis PD. Allogeneic stem cell transplantation as treatment for myelofibrosis. *Bone Marrow Transplant* 2006; 38:721.
556. Barosi G, Bacigalupo A. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelofibrosis. *Curr Opin Hematol* 2006; 13:74.
557. Kerbauy DM, Gooley TA, Sale GE, Flowers ME, Doney KC, Georges GE, Greene JE, Linenberger M, Petersdorf E, Sandmaier BM, Scott BL, Sorrow M, Stirewalt DL, Stewart FM, Witherspoon RP, Storb R, Appelbaum FR, Deeg HJ. Hematopoietic cell transplantation as curative therapy for idiopathic myelofibrosis, advanced polycythemia vera, and essential thrombocythemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007 Mar;13(3):355-65.
558. Rondelli D. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelofibrosis. *Haematologica* 2008 Oct;93(10):1449-50.
559. Li Z, Deeg HJ. Pros and cons of splenectomy in patients with myelofibrosis undergoing stem cell transplantation. *Leukemia* 2001 Mar;15(3):465-7.
560. Byrne JL, Beshti H, Clark D, Ellis I, Haynes AP, Das-Gupta E, Russell NH. Induction of remission after donor leucocyte infusion for the treatment of relapsed chronic idiopathic myelofibrosis following allogeneic transplantation= Evidence for a “graft vs. myelofibrosis” effect. *Br J Haematol* 2000 Feb;108(2):430-3.
561. Cervantes F, Rovira M, Urbano-Ispizua A, Rozman M, Carreras E, Montserrat E. Complete remission of idiopathic myelofibrosis following donor lymphocyte infusion after failure of allogeneic transplantation= Demonstration of a graft-versus-myelofibrosis effect. *Bone Marrow Transplant* 2000 Sep;26(6):697-9.
562. Kröger N, Badbaran A, Holler E, Hahn J, Kobbe G, Bornhäuser M, Reiter A, Zabelina T, Zander AR, Fehse B. Monitoring of the JAK2-V617F mutation by highly sensitive quantitative real-time PCR after allogeneic stem cell transplantation in patients with myelofibrosis. *Blood* 2007 Feb 1;109(3):1316-21.

- 563.Devine SM, Hoffman R, Verma A, Shah R, Bradlow BA, Stock W, Maynard V, Jessop E, Peace D, Huml M, Thomason D, Chen YH, van Besien K. Allogeneic blood cell transplantation following reduced-intensity conditioning is effective therapy for older patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 2002 Mar 15;99(6):2255-8.
- 564.Hessling J, Kroger N, Werner M, Zabelina T, Hansen A, Kordes U, Ayuk FA, Renges H, Panse J, Erttmann R, Zander AR. Dose-reduced conditioning regimen followed by allogeneic stem cell transplantation in patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 2002 Dec;119(3):769-72.
- 565.Merup M, Lazarevic V, Nahi H, Andreasson B, Malm C, Nilsson L, Brune M, LeBlanc K, Kutti J, Birgegård G; Swedish Group for Myeloproliferative Disorders. Different outcome of allogeneic transplantation in myelofibrosis using conventional or reduced-intensity conditioning regimens. *Br J Haematol* 2006 Nov;135(3):367-73.
- 566.Greyz N, Miller WE, Andrey J, Masson J. Long-term remission of myelofibrosis following nonmyeloablative allogenic peripheral blood progenitor cell transplantation in older age. *Bone Marrow Transplant* 2004; 34:833.
- 567.Gupta V, Malone AK, Hari PN, Ahn KW, Hu ZH, Gale RP, Ballen KK, Hamadani M, Olavarria E, Gerds AT, Waller E, Costa LJ, Antin JH, Kamble RT, van Besien KM, Savani BN, Schouten HC, Szer J, Cahn JY, de Lima MJ, Wirk B, Aljurf MD, Popat U, Bejanyan N, Litzow MR, Norkin M, Lewis ID, Hale GA, Woolfrey AE, Miller AM, Ustun C, Jagasia M, Lill M, Maziarz RT, Cortes J, Kalaycio M, Saber W. Reduced-intensity hematopoietic cell transplantation for patients with primary myelofibrosis: A cohort analysis from the center for international blood and marrow transplant research. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014 Jan;20(1):89-97.
- 568.Anderson JE, Tefferi A, Craig F, Holmberg L, Chauncey T, Appelbaum FR, Guardiola P, Callander N, Freytes C, Gazitt Y, Razvillas B, Deeg HJ. Myeloablation and autologous peripheral blood stem cell rescue results in hematologic and clinical responses in patients with myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Blood* 2001 Aug 1;98(3):586-93.
- 569.Visini G, Finelli C, Castelli U, Petti M C, Ricci P, Vianelli N, Gianni L, Zuffa E, Aloe Spiriti M.A, Latagliata R, Pileri S, Magrini U, Gugliotta L, Morra E, Bernasconi C, Mandelli F, Tura S. Myelofibrosis with myeloid metaplasia: Clinical and haematological parameters predicting survival in a series of 133 patients. *Br J Haematol* 1990 May;75(1):4-9.

570. Cervantes F. Prognostic and current practice in treatment of myelofibrosis and myeloid metaplasia: An update anno 2000. *Pathol Biol (Paris)* 2001 Mar;49(2):148-52.
571. Mesa RA, Li C-Y, Schroeder G, Tefferi A. Clinical correlates of splenic histology and splenic karyotype in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 2001 Jun 1;97(11):3665-7.
572. Kvasnicka HM, Thiele J, Regn C, Zankovich R, Diehl V, Fischer R. Prognostic impact of apoptosis and proliferation in idiopathic (primary) myelofibrosis. *Ann Hematol* 1999 Feb;78(2):65-72.
573. Elliott MA, Verstovsek S, Dingli D, Schwager SM, Mesa RA, Li CY, Tefferi A. Monocytosis is an adverse prognostic factor for survival in younger patients with primary myelofibrosis. *Leuk Res* 2007 Nov;31(11):1503-9.
574. Rozman C, Giralt M, Feliu E, Rubio D, Cortés MT. Life expectancy of patients with chronic nonleukemic myeloproliferative disorders. *Cancer* 1991 May 15;67(10):2658-63.
575. Mascarenhas J, Hoffman R. A comprehensive review and analysis of the effect of ruxolitinib therapy on the survival of patients with myelofibrosis. *Blood* 2013 Jun 13;121(24):4832-7.
576. Passamonti F, Maffioli M, Cervantes F, Vannucchi AM, Morra E, Barbui T, Caramazza D, Pieri L, Rumi E, Gisslinger H, Knoops L, Kiladjian JJ, Mora B, Hollaender N, Pascutto C, Harrison C, Cazzola M. Impact of ruxolitinib on the natural history of primary myelofibrosis: A comparison of the DIPSS and the COMFORT-2 cohorts. *Blood* 2014 Mar 20;123(12):1833-5.
577. Silverstein MN, Brown AL, Linman JW. Idiopathic myeloid metaplasia, its evolution into acute leukemia. *Arch Intern Med* 1973 Nov;132(5):709-12.
578. Marcus RE, Hibbin JA, Matutes E, Whittle N, Waterfield M D, Goldman J M. Megakaryoblastic transformation of myelofibrosis with expression of the c-sis oncogene. *Am J Hematol* 1986; 36:186-93
579. Hernandez JM, SanMiguel JF, Gonzalez M, Orfao A, Cañizo MC, Bascones C, Hernández J, López Borrascas A. Development of acute leukaemia after idiopathic myelofibrosis. *J Clin Pathol* 1992 May;45(5):427-30.
580. Palfilon DH, Creamer P, Keeling DH, Prentice AG. Restoration of active haemopoiesis in a patient with myelofibrosis and subsequent termination in acute myeloblastic

- leukaemia: Case report and review of the literature. *Eur J Haematol* 1987 Mar;38(3):279-83.
- 581.Chan ACL, Kwong Y-L, Lam CCK. Granulocytic sarcoma of megakaryoblastic differentiation complicating chronic idiopathic myelofibrosis. *Hum Pathol* 1996 Apr;27(4):417-20. 499
- 582.Barosi G, Ambrosetti A, Centra A: Splenectomy and risk of blast transformation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 91:3630, 1998. 503
- 583.Huang J, Li CY, Mesa RA, Wu W, Hanson CA, Pardanani A, Tefferi A. Risk factors for leukemic transformation in patients with primary myelofibrosis. *Cancer* 2008 Jun 15;112(12):2726-32.
- 584.Shreiner DP. Spontaneous hematologic remission in agnogenic myeloid metaplasia. *Am J Med* 1976 Jun;60(7):1014-8.
- 585.Rani MV, Shreiner DP. Spontaneous “remission” of agnogenic myeloid metaplasia and termination in acute myeloid leukemia. *Arch Intern Med* 1981 Oct;141(11):1481-4.
- 586.Vannucchi AM, Lasho TL, Guglielmelli P, Biamonte F, Pardanani A, Pereira A, Finke C, Score J, Gangat N, Mannarelli C, Ketterling RP, Rotunno G, Knudson RA, Susini MC, Laborde RR, Spolverini A, Pancrazzi A, Pieri L, Manfredini R, Tagliafico E, Zini R, Jones A, Zoi K, Reiter A, Duncombe A, Pietra D, Rumi E, Cervantes F, Barosi G, Cazzola M, Cross NC, Tefferi A. Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia* 2013 Sep;27(9):1861-9.
- 587.Guglielmelli P, Lasho TL, Rotunno G, Score J, Mannarelli C, Pancrazzi A, Biamonte F1, Pardanani A, Zoi K, Reiter A, Duncombe A, Fanelli T, Pietra D, Rumi E, Finke C, Gangat N, Ketterling RP, Knudson RA, Hanson CA, Bosi A, Pereira A, Manfredini R, Cervantes F, Barosi G, Cazzola M, Cross NC, Vannucchi AM, Tefferi A. The number of prognostically detrimental mutations and prognosis in primary myelofibrosis: An international study of 797 patients. *Leukemia* 2014 Sep;28(9):1804-10.
- 588.Tefferi A, Lasho TL, Finke CM, Knudson RA, Ketterling R, Hanson CH, Maffioli M, Caramazza D, Passamonti F4, Pardanani A. CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: clinical, cytogenetic and molecular comparisons. *Leukemia* 2014 Jul;28(7):1472-7.

589. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, Morra E, Rumi E, Pereira A, Guglielmelli P, Pungolino E, Caramella M, Maffioli M, Pascutto C, Lazzarino M, Cazzola M, Tefferi A. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood*. 2010 Mar 4;115(9):1703-8.
590. Caramazza D, Begna KH, Gangat N, Vaidya R, Siragusa S, Van Dyke DL, Hanson C, Pardanani A, Tefferi A. Refined cytogenetic-risk categorization for overall and leukemia-free survival in primary myelofibrosis: a single center study of 433 patients. *Leukemia*. 2011 Jan;25(1):82-8.
591. Hussein K, Pardanani AD, Van Dyke DL, Hanson CA, Tefferi A. International Prognostic Scoring System-independent cytogenetic risk categorization in primary myelofibrosis. *Blood*. 2010 Jan 21;115(3):496-9.
592. Tefferi A, Siragusa S, Hussein K, Schwager SM, Hanson CA, Pardanani A, Cervantes F, Passamonti F. Transfusion-dependency at presentation and its acquisition in the first year of diagnosis are both equally detrimental for survival in primary myelofibrosis--prognostic relevance is independent of IPSS or karyotype. *Am J Hematol*. 2010 Jan;85(1):14-7.
593. Elena C, Passamonti F, Rumi E, Malcovati L, Arcaini L, Boveri E, Merli M, Pietra D, Pascutto C, Lazzarino M. Red blood cell transfusion-dependency implies a poor survival in primary myelofibrosis irrespective of IPSS and DIPSS. *Haematologica*. 2011 Jan;96(1):167-70.
594. Patnaik MM, Caramazza D, Gangat N, Hanson CA, Pardanani A, Tefferi A. Age and platelet count are IPSS-independent prognostic factors in young patients with primary myelofibrosis and complement IPSS in predicting very long or very short survival. *Eur J Haematol*. 2010 Feb 1;84(2):105-8.
595. Gangat N, Caramazza D, Vaidya R, George G, Begna K, Schwager S, Van Dyke D, Hanson C, Wu W, Pardanani A, Cervantes F, Passamonti F, Tefferi A. DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol*. 2011 Feb 1;29(4):392-7.



596. Chae H, Lee JH, Lim J, Jung SW, Kim M, Kim Y, Han K, Cho BS, Cho SG, Lee JW, Min WS. Usefulness of real-time semi-quantitative PCR, JAK2 MutaScreen kit for JAK2 V617F screening. *Korean J Lab Med.* 2009 Jun;29(3):243-8.
597. Cankovic M, Whiteley L, Hawley RC, Zarbo RJ, Chitale D. Clinical performance of JAK2 V617F mutation detection assays in a molecular diagnostics laboratory: evaluation of screening and quantitation methods. *Am J Clin Pathol.* 2009 Nov;132(5):713-21.
598. Murugesan G, Aboudola S, Szpurka H, Verbic MA, Maciejewski JP, Tubbs RR, Hsi ED. Identification of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders using FRET probes and melting curve analysis. *Am J Clin Pathol.* 2006; 125:625–633.
599. McNally RJ, Rowland D, Roman E, Cartwright RA. Age and sex distributions of hematological malignancies in the U.K. *Hematol Oncol* 1997 Nov;15(4):173-89.
600. Esansiyel Trombositemi ve Primer Miyelofibrozis olgularında ASXL1, IDH1, IDH2 gen mutasyonları ve JAK2V617F allel yükü ile klinik seyir arasındaki ilişki. İpek Yönel. Hematoloji Yan dal uzmanlık tezi. Tez Danışmanı: Prof Dr. Deniz Sargın. 2013
601. Jean B Brière. Essential thrombocythemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2007 Jan;2(1):3
602. Edwin E. Osgood. Polycythemia vera: Age Relationships and Survival. 1965 Sep;26(3):243-56
603. Katsuto Takenaka, Kazuya Shimodo, Koichi Akashi. Recent advances in the diagnosis and management of primary myelofibrosis. *Korean J Intern Med* 2018 Jul;33(4):679-90.
604. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, McClure RF, Wadleigh M, Lee SJ, Gilliland DG, Tefferi A. JAK2 mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* 2005 Oct;131(2):208-13.
605. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2012 Mar;87(3):285-93
606. Soyer N, Haznedaroğlu İC, Cömert M, Çekdemir D, Yılmaz M, Ünal A, Çağlıyan G, Bilgir O, İlhan O, Özdemirkıran F, Kaya E, Şahin F, Vural F, Saydam G. Multicenter Retrospective Analysis of Turkish Patients with Chronic Myeloproliferative Neoplasms. *Turk J Haematol.* 2017 Mar 1;34(1):27-33.

- 607.Devendra KC, Falchi L, Verstovsek S. The underappreciated risk of thrombosis and bleeding in patients with myelofibrosis: A review. *Ann Hematol* 2017 Oct;96(10):1595–1604.
- 608.De Stefano V, Za T, Rossi E, Vannucchi AM, Ruggeri M, Elli E, Micò C, Tieghi A, Cacciola RR, Santoro C, Gerli G, Vianelli N, Guglielmelli P, Pieri L, Scognamiglio F, Rodeghiero F, Pogliani EM, Finazzi G, Gugliotta L, Marchioli R, Leone G, Barbui T; GIMEMA CMD-Working Party. Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. *Haematologica*. 2008 Mar;93(3):372-80.
- 609.Kander EM, Raza S, Zhou Z, Gao J, Zakarija A, McMahon BJ, Stein BL. Bleeding complications in BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms: prevalence, type, and risk factors in a single-center cohort. *Int J Hematol* 2015;102(5):587–93.
- 610.Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, Finke C, Wassie EA, Pieri L, Gangat N, Fjerza R, Belachew AA, Lasho TL, Ketterling RP, Hanson CA, Rambaldi A, Finazzi G, Thiele J7, Barbui T, Pardanani A, Vannucchi AM. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood*. 2014 Oct 16;124(16):2507-13
- 611.Cervantes, F. Tassies D, Salgado C, Rovira M, Pereira A, Rozman C. Acute transformation in nonleukemic chronic myeloproliferative disorders: actuarial probability and main characteristics in a series of 218 patients. *Acta Haematol*. 1991;85(3):124-7.
- 612.Revathi Suppiah, Jigar Shah, Matt Kalaycio. Clinical Significance of Cytogenetics in Myeloproliferative Disorders. *Laboratory Medicine* 2007 Feb;38(2):109-15.
- 613.Demory JL, Dupriez B, Fenaux P, Lai JL, Beuscart R, Jouet JP, Deminatti M, Bauters F. Cytogenetic studies and their prognostic significance in agnogenic myeloid metaplasia: a report on 47 cases. *Blood*. 1988 Sep;72(3):855-9.
- 614.Delhommeau F, Pisani DF, James C, Casadevall N, Constantinescu S, Vainchenker W. Oncogenic mechanisms in myeloproliferative disorders. *Cell Mol Life Sci* 2006 Dec;63(24):2939-53.
- 615.Tefferi A. Molecular drug targets in myeloproliferative neoplasms: mutant ABL1, JAK2, MPL, KIT, PDGFRA, PDGFRB and FGFR1. *J Cell Mol Med* 2009 Feb;13(2):215-37.

616. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia* 2010 Jun;24(6):1128-38
617. Barosi G, Bergamaschi G, Marchetti M, Vannucchi AM, Guglielmelli P, Antonioli E, Massa M, Rosti V, Campanelli R, Villani L, Viarengo G, Gattoni E, Gerli G, Specchia G, Tinelli C, Rambaldi A, Barbui T; Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Italian Regastrointestinalry of Myelofibrosis. JAK2 V617F mutational status predicts progression to large splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis. *Blood* 2007 Dec 1;110(12):4030-6.
618. Passamonti F, Rumi E, Pungolino E, Malabarba L, Bertazzoni P, Valentini M, Orlandi E, Arcaini L, Brusamolino E, Pascutto C, Cazzola M, Morra E, Lazzarino. Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Med* 2004 Nov 15;117(10):755-61.
619. Yönel İ, Dağlar-Aday A, Akadam-Teker B, Yılmaz C, Nalçacı M, Yavuz AS, Sargın FD. Impact of JAK2V617F Mutational Status on Phenotypic Features in Essential Thrombocythemia and Primary Myelofibrosis. *Turk J Haematol.* 2016 Jun 5;33(2):94-101.
620. Leonardo Caires dos Santos, Juliana Corrêa da Costa Ribeiro, Neusa Pereira Silva, Janete Cerutti, Maria Regina Regastrointestinal da Silva, Maria de Lourdes Lopes Ferrari Chauffaille. Cytogenetics, JAK2 and MPL mutations in polycythemia vera, primary myelofibrosis and essential thrombocythemia. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter* 2011 Dec;33(6):417-24
621. Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM, Steensma DP, Mesa RA, Li CY, Wadleigh M, Gary Gilliland D. The JAK2(V617F) tyrosine kinase mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: lineage specificity and clinical correlates. *Br J Haematol* 2005 Nov;131(3):320-8.
622. Ohyashiki K, Aota Y, Akahane D, Gotoh A, Ohyashiki JH. JAK2V617F mutational status as determined by semiquantitative sequence-specific primer-single molecule fluorescence detection assay is linked to clinical features in chronic myeloproliferative disorders. *Leukemia* 2007; 21:1097–9.
623. Tefferi A, Lasho T, Schwager SM, Strand JS, Elliot M, Mesa R, Strand JS, Elliott M, Mesa R, Li CY, Wadleigh M, Lee SJ, Gilliland DG. The clinical phenotype of wild-type,

- heterozygous, and homozygous JAK2V617F in polycythemia vera. *Cancer* 2006 Feb;106(3):631–5.
624. Moo-Kon Song, Byeong-Bae Park, Ji-Eun Uhm. Understanding Splenomegaly in Myelofibrosis: Association with Molecular Pathogenesis. *Int J Mol Sci* 2018 Mar;19(3):898.
625. Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bogani C, Verrucci M, Ponziani V, Longo G, Bosi A, Vannucchi AM. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2005 Oct;19(10):1847-9
626. Finazzi G, Rambaldi A, Guerini V, Carobbo A, Barbui T. Risk of thrombosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera according to JAK2 V617F mutation status. *Haematologica*. 2007 Jan;92(1):135-6.
627. Ziakas PD. Effect of JAK2 V617F on thrombotic risk in patients with essential thrombocythemia: measuring the uncertain. *Haematologica*. 2008 Sep;93(9):1412-4.
628. Passamonti F, Rumi E, Pietra D, Della Porta MG, Boveri E, Pascutto C, Vanelli L, Arcaini L, Burcheri S, Malcovati L, Lazzarino M, Cazzola M. Relation between JAK2 (V617F) mutation status, granulocyte activation, and constitutive mobilization of CD34+ cells into peripheral blood in myeloproliferative disorders. *Blood*. 2006 May 1;107(9):3676-82. Epub 2005 Dec 22.
629. F Passamonti, E Rumi, D Pietra, C Elena, E Boveri, L Arcaini, E Roncoroni, C Astori, M Merli, S Boggi, C Pascutto, M Lazzarino, M Cazzola. A prospective study of 338 patients with polycythemia vera: the impact of JAK2 (V617F) allele burden and leukocytosis on fibrotic or leukemic disease transformation and vascular. *Leukemia* 2010 Sep;24(9):1574-9.
630. Yonal-Hindilerden I, Daglar-Aday A, Akadam-Teker B, Yilmaz C, Nalcaci M, Yavuz AS, Sargin D. The Burden of JAK2V617F Mutated Allele in Turkish Patients With Myeloproliferative Neoplasms. *J Clin Med Res*. 2015 Mar;7(3):161-70.
631. Kittur J, Knudson RA, Lasho TL, Finke CM, Gangat N, Wolanskyj AP, Li CY, Wu W, Ketterling RP, Pardanani A, Tefferi A. Clinical correlates of JAK2V617F allele burden in essential thrombocythemia. *Cancer* 2007 Jun 1;109(11):2279-84.
632. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Longo G, Pancrazzi A, Ponziani V, Bogani C, Ferrini PR, Rambaldi A, Guerini V, Bosi A, Barbui T; MPD Research Consortium.

- Prospective identification of high-risk polycythemia vera patients based on JAK2(V617F) allele burden. *Leukemia*. 2007 Sep;21(9):1952-9.
633. Tefferi A, Strand JJ, Lasho TL, Knudson RA, Finke CM, Gangat N, Pardanani A, Hanson CA, Ketterling RP. Bone marrow JAK2V617F allele burden and clinical correlates in polycythemia vera. *Leukemia* 2007 Sep;21(9):2074-5.
634. Guglielmelli P, Barosi G, Specchia G, Rambaldi A, Lo Coco F, Antonioli E, Pieri L, Pancrazzi A, Ponziani V, Delaini F, Longo G, Ammatuna E, Liso V, Bosi A, Barbui T, Vannucchi AM. Identification of patients with poorer survival in primary myelofibrosis based on the burden of JAK2V617F mutated allele. *Blood* 2009 Aug 20;114(8):1477-83.
635. Tefferi A, Lasho TL, Huang J, Finke C, Mesa RA, Li CY, Wu W, Hanson CA, Pardanani A. Low JAK2V617F allele burden in primary myelofibrosis, compared to either a higher allele burden or unmutated status, is associated with inferior overall and leukemia-free survival. *Leukemia*. 2008 Apr;22(4):756-61.
636. Palandri F, Ottaviani E, Salmi F, Catani L, Polverelli N, Fiacchini M, Martinelli G, Baccarani M, Vianelli N. JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia: correlation with clinical characteristics, response to therapy and long-term outcome in a cohort of 275 patients. *Leuk Lymphoma* 2009 Feb;50(2):247-53.
637. Kurtovic-Kozaric A, Islamagic E, Komic H, Bilalovic N, Eminovic I, Burekovic A, Uzunovic A, Kurtovic S. The effects of mutational profiles on phenotypic presentation of myeloproliferative neoplasm subtypes in Bosnia: 18 year follow-up: Clinical outcomes in MPN mutational profiles. *Bosn J of Basic Med Sci [Internet]*. 2019 Oct; 30 [cited 2020 Jan. 14]:00.
638. Yonal-Hindilerden I, Daglar-Aday A, Akadam-Teker B, Yilmaz C, Nalcaci M, Yavuz AS, Sargin D. Prognostic significance of ASXL1, JAK2V617F mutations and JAK2V617F allele burden in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *J Blood Med*. 2015 Jun 1; 6:157-75.