

Miyeloproliferatif neoplazmlarda JAK2V617F mutasyonu ile trombosit fonksiyonları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

Evaluation of the relationship between JAK2V617F mutation and platelet functions in myeloproliferative neoplasms

Gülsüm AKGÜN ÇAğLIYAN, Sibel KABUKÇU HACIOğLU

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, Denizli, Türkiye

ÖZ

Amaç: Miyeloproliferatif neoplazm (MPN), hemostaz ve tromboz anomalileri ve akut lösemiye ilerleyebilen klonal bir durumdur. PV (polisitemi vera), ET (esansiyel trombositoz) ve IMF (idiyopatik myelofibrozis) ber- abl negatif miyeloproliferatif neoplazm (MPN)'dir. WHO (Dünya Sağlık Örgütü)'y göre PV, ET ve IMF'nin tanısında JAK2V617F mutasyonu varlığı tam kriterlerinden biridir. Bu çalışmada, 60 MPN tanı hastada JAK2V617F mutasyonu ile trombosit fonksiyonları arasındaki ilişki araştırılması amaçlandı.

Yöntem: Çalışma, Pamukkale Üniversitesi Hematoloji Polikliniğine başvuran ve yapılan incelemelerde WHO'nun revize edilen kriterlerine göre MPN tanısı alan hastalarda yapılmıştır. Çalışma 30'u PV, 28'i ET ve 2'si IMF olmak üzere toplam 60 hastayı içermektedir. Hastaların ADP, ristocetin, epinefrin ve kollajen ile trombosit agregasyon testleri yapıldı.

Bulgular: Çalışmaya katılan 60 hastanın 30'unda PV, 28'inde ET ve 2'sinde IMF vardı. Yirmi sekiz hasta kadın (%46,6) ve 32 erkek (%53,3) idi. JAK2 mutasyonu 39 hastada (%65) saptanmıştır. JAK2 mutasyonunun sıklığı PV için %83,3, ET için %42,9 ve IMF için %100 olarak belirlendi. Trombosit fonksiyon bozukluğu hastaların %80'inde bulundu. Bu oran, JAK2 mutasyonu pozitif olan hastalarda %76,9 ve JAK2 mutasyonu negatif olan hastalarda %85,7 idi. JAK2V617F mutasyonu pozitif hastalar ile JAK2V617F mutasyonu negatif olan hastalar arasında epinefrin, ristocetin, kollajen ve ADP değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Sonuç: Çalışmamızda, JAK2 mutasyonu ile trombosit fonksiyonları arasında ilişki bulunamadı. Sonuç olarak, MPN' larda görülen trombosit disfonksiyonu JAK2 mutasyonundan bağımsızdır.

Anahtar kelimeler: Miyeloproliferatif neoplazmlar, JAK2 mutasyon, trombosit fonksiyon testleri

ABSTRACT

Objective: Myeloproliferative neoplasm (MPN) is a clonal condition that may progress to hemostasis and thrombotic anomalies and acute leukemia. Polycythemia vera (PV), essential thrombocytosis (ET) and idiopathic myelofibrosis (IMF) are among ber-abl negative myeloproliferative neoplasms (MPNs). According to WHO (World Health Organization), presence of the JAK2V617F mutation is one of the diagnostic criteria of PV, ET and IMF. In this study, it was aimed to investigate the relationship between JAK2V617F mutation and platelet function in a patient with the diagnosis of 60 MPN.

Method: The study was conducted in Pamukkale University hematology polyclinic patients and in patients who were diagnosed with MPN according to WHO revised criteria. The study population had 60 participants including 30 PV, 28 ET and 2 IMF patients. Platelet aggregation tests were performed for ADP, ristocetin, epinephrine and collagen, using an aggregometer device.

Results: Among the 60 patients participating in the study, 30 had PV, 28 had ET and 2 had IMF. Twenty-eight patients were women (46.6%) and 32 were men (53.3%). The presence of JAK2 mutation was detected in 39 patients (65%). The frequency of the JAK2 mutation was detected to be 83.3% for PV, 42.9% for ET, and 100% for IMF. Platelet function disorder was found in 80% of the patients. While it was detected in 76.9% and 85.7% of patients with positive, and negative JAK2 mutation, respectively. No statistically significant relationship was found in terms of epinephrine, ristocetin, collagen and ADP values between patients with positive, and negative JAK2V617F mutations.

Conclusion: In our study, no correlation was found between JAK2 mutation and platelet function. In conclusion, the platelet dysfunction seen in MPNs is independent of the JAK2 mutation.

Keywords: Myeloproliferative neoplasms, JAK2V617F mutation, platelet function tests

Alındığı tarih: 22.01.2018

Kabul tarihi: 24.05.2018

Yazışma adresi: Yrd. Doç. Dr. Gülsüm Akgün Çağlıyan, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fahri Gökşin Onkoloji Merkezi, Hematoloji Bilim Dalı, Denizli - Türkiye

e-mail: drgulsumakgun@yahoo.com

"Akgün Çağlıyan, G. (2011) Myeloproliferatif Hastalıklarda JAK2V617F Mutasyonu ile Trombosit Fonksiyonları Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Tıpta Uzmanlık tezi" sorumlu yazar Gülsüm Akgün Çağlıyan'a ait uzmanlık tezidir⁽⁴⁾. Tez çalışmasından üretilmiş olan poster bildiri ise "Çağlıyan, G.A., Keskir, A. (2015). JAK2V617F and Platelet Functions. Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia, 15, S56-S57" şeklindedir.

GİRİŐ

Miyeloproliferatif neoplazm (MPN)'ler, bir ya da daha fazla miyeloeritroid hücrenin kemik iliğindeki kontrolsüz proliferasyonu ve periferik kanda matur ve immatur hücrelerin sayısının artmasıyla karakterize, hemostaz ve trombozis anomalileri ve akut lösemiye ilerleme gösterebilen klonal hastalıklardır. Polisitemi vera (PV), esansiyel trombositoz (ET) ve idiyopatik myelofibrozis (İMF) bu hastalık grubundandır ⁽¹⁾. JAK2 mutasyonu yapısal bir tirozin kinaz olup, Vainchenker ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları araştırma sonucunda, psödokinaz domaininin 617. pozisyonundaki valinin fenilalanine yer değişimi sonucu olduğu saptanmıştır ⁽²⁾. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün yeniden revize edilen kriterlerinde PV, ET ve İMF'nin tanısında JAK2V617F mutasyonu varlığı tanı kriterleri içine girmiştir. Tahmini olarak bu mutasyon PV'de %95 ve ET ve İMF'de %50-60 oranında bulunmaktadır ^(3,4).

Myeloproliferatif neoplazmlarda trombosit fonksiyon bozukluğu hem hemostatik hem de trombotik sistemi etkilemektedir. Myeloproliferatif neoplazmlarda görülen trombosit fonksiyon bozuklukları ile ilgili bazı özelliklerin vurgulanması önemlidir. İlk olarak, hiçbir bozukluk daimi olarak kanama veya tromboz riskini öngöremez. İkincisi, hiçbir bozukluk tek başına değildir ve bu nedenle myeloproliferatif neoplazma özel değildir. Üçüncüsü, trombosit fonksiyon bozukluğu sıklığı farklı serilerde geniş varyasyonlar göstermektedir. Bu nedenle myeloproliferatif neoplazmlarda trombosit fonksiyon bozukluklarının klinik önemi net olarak bilinmemektedir ⁽⁵⁾.

Myeloproliferatif neoplazmlardaki trombosit fonksiyon bozukluğu ile ilgili major komplikasyonlar kanama ve trombozdur. Trombosit fonksiyon bozukluğuna ait birçok mekanizma tanımlanmışsa da, her bir hasta için riskin önceden tahmin edilebilmesi zordur. Trombosit agregasyon testlerinin bu hastalığa ait tipik bir özelliği yoktur. Sıklıkla epinefrine agregasyon yanıtında bozukluk görülür. Myeloproliferatif neoplazmlarda trombositler çeşitli morfolojik anormallikler gösterebilir. Bunlar sekretuar granül sayısı-

nın azalması, boyut ve Şekil değişkenliğini içerir. En sık görülen anormallik sekresyon ve agregasyona agonist (özellikle epinefrin, ADP, kollagen) yanıtının azalmasıdır. Bu anormalliklerin nedeni trombosit sayısının yüksek olması değildir. Çünkü reaktif trombositozu olan hastaların trombosit fonksiyonları normaldir. Lenfoproliferatif ve myeloproliferatif malignitelerdeki edinsel von willebrand hastalığı (VWH)'nin nedeni de çoğunlukla antikor gelişmesidir ve daha çok tip 2 VWH belirtisi vardır ⁽⁵⁻⁷⁾.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Pamukkale Üniversitesi Hematoloji Polikliniğine başvuran ve yapılan incelemelerde MPN tanısı olan 60 gönüllü hasta dahil edilmiştir. Bilinen kanama veya pıhtılaşma bozukluğuna neden olabilecek, hormon bozuklukları, karaciğer ve böbrek yetmezliği olan hastalar çalışmaya alınmadı. Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, aspirin ve trombosit fonksiyon bozukluğu yapabilecek tüm ilaç ve bitkisel ajanlar en az 14 gün öncesinden kesilmiştir.

Çalışmaya alınmasına karar verilen bireylerde, tam kan sayımı ve trombosit fonksiyonlarını değerlendirmek için ADP, kollagen, epinefrin ve ristosetin ile trombosit agregasyon testleri yapıldı. Rutin olarak hematoloji kliniğinde takip edilen tüm MPN tanılı hastalarda başlangıçta tanı aşamasında genetik laboratuvarında JAK2V617F mutasyonlarına bakılmıştır, bu bilgiler hastaların dosyalarından alınarak kaydedildi.

Trombosit agregasyon testleri için gereken kan örnekleri venöz yoldan %3,8 sodyum sitrat içeren tüplere sabah a karnına alınarak bekletilmeden agregometre cihazında çalışıldı. Agregometre cihazı trombositten fakir plazma (PPP) ile trombositten zengin plazma (PRP)'nin yoğunluklarının optik yolla karşılaştırılması prensibine dayanmaktadır. Trombositten zengin plazma içerisinde henüz santrifüj edilerek öktürölmemiş trombositler bulunmaktadır. Bunlar test sırasında eklenen reaktifler ile (ADP, kollajen, epinefrin, ristosetin) hızla agreg olmaya başlar ve plazma içerisinde gittikçe büyüyen parti-

küller (agregatlar) oluşur. Reaktifler için çalışmamızda normal referans aralıkları; kollajen için %70-94, ADP için %69-88, epinefrin için %78-88, ristosetin için %87-102 olarak kabul edildi.

Çalışmaya ait, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesinden alınmış Etik Kurul onayı bulunmaktadır. (09.12.2009 tarih ve 2009-61 sayılı nolu)

İSTATİKSEL ANALİZ

Veriler, Statistical Package for Social Sciences Version 16.0 (SPSS-16.0) istatistik paket programında değerlendirildi. Verilerin analizinde Oneway anova, student T testi ve Chi-Square Test kullanıldı. $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Pamukkale Üniversitesi Hematoloji Polikliniğinde takipli 30'u PV, 28'i ET ve iki hasta İMF hastası olmak üzere toplam 60 olgu değerlendirdi. Altmış hastanın 28'i (%46,6) kadın, 32'si erkek (%53,3) idi. Çalışmamızda, 60 MPN tanılı hastanın 39'unda (%65) JAK2 mutasyonu varlığı saptandı. JAK2 mutasyon sıklığı PV'de %83,3, ET'de %42,9 ve İMF'de %100 olarak saptandı. JAK2 mutasyonu görülme sıklığı PV tanılı hastalarda daha fazla bulundu. PV ve ET tanılı hastalarda JAK2 mutasyonu görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu ($p=0,003$). İMF hastalarında ise hasta sayısı yetersiz olması nedeniyle istatistiksel değerlendirme yapılamadı.

Çalışmamızda, 60 MPN tanılı hastanın %20'sinin trombosit fonksiyonları tamamen normal olarak değerlendirilirken, tüm hastaların %80'inde ise trombosit fonksiyon bozukluğu bulundu. Bunlar içinde en sık %23,3'ünde yalnızca ristosetine bozulmuş agregasyon yanıtı şeklinde iken, ikinci olarak %11,7'sinde hem ristosetin hem de epinefrine yanıt azalması gözlemlendi. Hastalardaki tüm trombosit fonksiyon bozuklukları Tablo 1'de gösterildi.

Tüm MPN tanılı hastaların %80'inde (48/60) trombosit fonksiyon bozukluğu bulundu. JAK2 mutasyonu pozitif olan hastaların %76,9'unda

(30/39), JAK2 mutasyonu negatif olan hastaların ise %85,7'sinde (18/21) trombosit fonksiyon testlerinde bozukluk saptandı.

Çalışmaya alınan MPN tanılı hastaların epinefrin, ristosetin, ADP ve kollajen değerleri ile JAK2 mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. Tablo 1'de ayrıntılı olarak gösterildi.

Tablo 1.

Reaktif	JAK2 Pozitif (n=39)			JAK2 Negatif (n=21)			p value
	Yanıt yok	Azalmış yanıt	Total	Yanıt yok	Azalmış yanıt	Total	
ADP	0	9	9	0	10	10	0,051
Kollajen	1	6	7	1	6	7	0,179
Epinefrin	5	14	19	0	8	8	0,430
Ristosetin	5	21	26	0	16	16	0,442

TARTIŞMA

JAK2V617F mutasyonu, bcr - abl negatif myeloproliferatif neoplazmlardan PV'de %95 ve ET ve İMF'de %50-60 oranında bulunmaktadır^(3,4). Çalışmamızda, 60 MPN tanısı olan hasta çalışmaya alınmış olup, tüm hastalarda JAK2 mutasyonu sıklığı %65 olarak saptandı. Literatürle uyumlu olarak JAK2 mutasyon sıklığı PV'de %83,3, ET'de %42,9 olarak saptandı. Çalışmamızda, JAK2 mutasyonu görülme sıklığı PV tanılı hastalarda daha fazla bulundu. PV ve ET tanılı hastalarda JAK2 mutasyonu görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu ($p=0,003$). İki İMF hastasında da JAK2 mutasyonu pozitif olması literatürle uyumlu değildi. Bu durum hasta sayısının az olmasına bağlandı.

Myeloproliferatif neoplazmlarda trombositler çeşitli morfolojik anormallikler gösterebilir. Bunlar sekretuar granül sayısının azalması, boyut ve şekil değişkenliğini içerir. En sık görülen anormallik sekresyon ve agregasyona agonist (özellikle epinefrin, ADP, kollajen) yanıtının azalmasıdır^(7,8). Literatür bilgisinin aksine çalışmamızda en sık yalnızca ristosetine bozulmuş agregasyon yanıtı, ikinci olarak hem ristosetin hem de epinefrine yanıt azalması gözlemlendi. JAK2 mutasyonu MPN hastalarında edinilmiş von Willebrand sendromuna neden olup, ristosetine agre-

gasyon yanıtını azaltabilir ⁽⁹⁾. Çalışmamızda da risto- setine bozulmuş agregasyon yanıtı bu durum ile iliş- kili olabilir.

Myeloproliferatif neoplazm tanılı hastalar JAK2 mutasyon varlığı ile trombosit fonksiyon bozukluğu ilişkisi değerlendirilendiğinde literatürde bu ilişki- yi değerlendiren kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Robertson ve ark. ⁽¹⁰⁾ MPN tanılı hastalarda yaptık- ları bir çalışmada, p selektin düzeylerinin JAK2 wild tip ile karşılaştırıldığında, JAK2V617F mutasyonuna sahip hastalarda belirgin derecede yükseldiğini belirle- mişlerdir. Diğer koagulasyon aktivasyon parametreleri değerlendirildiğinde JAK2 pozitif ve negatif grup ara- sında önemli bir fark bulunamamıştır ⁽¹¹⁾.

Anna Falanga ve ark.'nın ⁽¹³⁾ yaptığı ET tanılı top- lam 75 hastayı kapsayan çalışmada, 37'si JAK2V617F mutasyonlu ve 38'i JAK2 wild tip hastalar arteriyel ve venöz trombotik olayların varlığı açısından karşılaştı- rılmış ve bu hastalarda PFA-100 ile, ADP-kollagen ve epinefrin-kollagen çalışıldığında cihaz kapatma zama- nının sağlıklı kontrol grubuna göre ET tanılı hastalarda daha çok uzadığı görülmüştür. ADP-kollagen ve epinefrin-kollagen sonuçları değerlendirildiğinde, JAK2V617F mutasyonu taşıyan hastalarla wild tip mutasyonu olan hastalar karşılaştırıldığında ise istatik- sel açıdan önemli bir farklılık saptanamamıştır ⁽¹²⁾. Hattori ve ark.'nın ⁽¹⁴⁾ PV ve ET tanılı 53 hastada yap- tıkları çalışmada, JAK2 mutasyonu varlığı ile trombo- sit fonksiyonları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bu hastalardaki trombosit adezyonu ve agonist (ADP, kollagen) ile trombosit agregasyonunun JAK2 mutas- yonu varlığından etkilenmediği belirlenmiştir.

Literatürde bu konuda yapılmış sınırlı çalışma olmakla birlikte, JAK2V617F mutasyonu ile trombo- sit fonksiyonları arasında ilişki net olarak gösterilme- miştir. Yaptığımız alışmada, 60 MPN tanılı hastalar- da epinefrin, kollagen, ristosetin ve ADP değerleri ile JAK2 mutasyonu arasında istatikselsel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. JAK2 mutasyon varlığı ile trom- bosit fonksiyonları arasında net bir ilişki saptanma- ması, MPN'larda görülen trombosit fonksiyon bozuk- luğunun JAK2 mutasyonundan bağımsız olduğunu düşündürmektedir .

KAYNAKLAR

1. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet*. 2005;365:1054-61. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)74230-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)74230-6)
2. James C, Ugo V, Le Couedic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature*. 2005;434(7037):1144-8. <https://doi.org/10.1038/nature03546>
3. Campbell PJ, Gren AR. The myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2006;355(23):2452-66. <https://doi.org/10.1056/NEJMra063728>
4. Akgün ağlıyan, G. (2011) Myeloproliferatif Hastalıklarda JAK2V617F Mutasyonu ile Trombosit Fonksiyonları Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Tıpta Uzmanlık tezi.
5. Tefferi A, Barbui T . Polycythemia vera and essential throm- bocythemia: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2017 Jan;92(1):94-108. <https://doi.org/10.1002/ajh.24607>
6. Van Genderen PJ, Budde U, Michiels JJ, Budde U. The reduction of large von Willebrand factor multimers in plasma in essential thrombocythaemia is related to the platelet count. *Br J Haematol*. 1996;93(4):962-5. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1996.d01-1729.x>
7. Hacıoğlu Kabuku, S. (2009). Menorajili hastalarda Von Willebrand Hastalığı ve Trombosit Fonksiyon Bozukluklarının Araştırılması. Tıpta uzmanlık tezi.
8. Michiels JJ, Budde U, van der Planken M. Acquired von Willebrand syndromes: clinical features, aetiology, pathoph- ysiology, classification and management. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2001;14(2):401-36. <https://doi.org/10.1053/beha.2001.0141>
9. Etheridge SL, Roh ME, Cosgrove ME, Sangkhae V, Fox NE, Chen J et al. JAK2V617F-Positive endothelial cells contribu- te to clotting abnormalities in myeloproliferative neoplasms. *2014 Feb 11;111(6):2295-300*.
10. Robertson B, Urquhart C, Ford I, Townend J, Watson HG, Vickers MA et al. Platelet and coagulation activation markers in myeloproliferative diseases:relationships with JAK2 V617F status, clonality, and antiphospholipid antibodies. *J Tromb Haemost*. 2007;5(8):1679-85. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02626.x>
11. Marchetti M, Falanga A. Leukocytosis, JAK2V617F mutation, and hemostasis in myeloproliferative disorders. *Pathophysiology of hemostasis and Trombosis* 2007-08;36(3-4):148-59.
12. Almedal H, Vorland M, Aarsand AK, Grønningsæter IS, Bruserud Ø, Reikvam H. Myeloproliferative neoplasms and JAK2 mutations. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2016 Dec 6;136(22):1889-1894. eCollection 2016 Dec.
13. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, Balducci D, Russo L, Guerini V, et al. V617F JAK-2 mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules. *Experimental Hematology*. 2007;35(5):702-11. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2007.01.053>
14. Hattori N, Fukuchi K, Nakashima H, Maeda T, Adachi D, Saito B, et al. Megakaryopoiesis and platelet function in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients with JAK2. *The Japanese Society of Hematology*. 2008;88(2):181-8. <https://doi.org/10.1007/s12185-008-0129-9>