Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2015;7 (3): 180-187
Orijinal Makale **Erken ve ark.**

Çukurova Bölgesinde Miyeloproliferatif Hastalıklarda JAK2 Mutasyonu ve Klinik Özellikler

JAK2 Mutation in Myeloproliferative Disorders and Clinical Features in Cukurova Region

[1,2]Ertuğrul Erken, [3]Emel Gürkan

[1]Çukurova Üniversitesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Adana.

[2]Gaziosmanpaşa Üniversitesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı, Tokat.

[3]Çukurova Üniversitesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, Adana.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul Erken

İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı, Tokat.
Tel: 05425361320

e-mail:

ertugrulerken@hotmail.com

Özet

Giriş: JAK2 V617F yerdeğişimi sonrası ortaya çıkan bu somatik mutasyon miyeloproliferatif bozukluklarda hematopoetik öncül hücrelerde büyüme faktörlerine karşı aşırı bir hassasiyete neden olmaktadır. Bizde çalışmamızda miyeloproliferatif bozukluğu olan hastalarımızda JAK2 mutasyonu sıklığını ve klinik prognostik faktörlerle ilişkisini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Buna göre çalışmaya polisitemia vera (PV) tanısı olan 27 (13E, 14K) esansiyel trombositemili (ET) 14 (8E, 6K), primer miyelofibrozis (PMF) tanısı ile izlenen 5 (4E, 1K), kronik miyeloid lösemili (KML) 17 (7E, 10K), mast hücre lösemili (MHL) bir hasta (E) ve 32 sağlıklı kontrol (12E, 20K) dahil edildi.

Bulgular: Yaş ortalaması (ortalama±SS) sırası ile hasta gruplarının toplamında (toplam 46 hasta) 56,1±14,0 yıl, sağlıklı kontrol grubunda 55,7±7,5 yıl; hastalıklı kontrol grubunda (KML) 48,3±13,1 yıl idi. Mutasyon sıklıkları sırasıyla PV grubunda %92,6; ET %42,9; PMF %80; KML %12 ve tek MHL'li hastada pozitif; sağlıklı kontrol grubunun tamamında ise negatif olarak bulunmuştur.

Sonuç:JAK2 mutasyonu taraması miyeloproliferatif hastalıkların tanısında standart bir test olarak yerini almış olup anti-neoplastik tedavide potansiyel bir hedef oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: JAK2, mutasyon, myeloproliferatif hastalık, etiology

Abstract

In this study, we tried to point out the prevalence of JAK2 V617F in our patients with myeloproliferative disorders and its significance for clinical and prognostic factors. Twenty seven polycythemia vera (PV), 14 essential thombocytosis (ET) and 5 primary myelofibrosis (PMF) patients (total 46) were included in this study. The number of heathy controls were 32. 17 patients with chronic myelogenous leukemia (CML) an one patient with mast cell leukemia (MHL) were chosen as diseased control group (total 18). JAK2 V617F mutation analysis was performed by Real Time-PCR with the DNA samples extracted from periferal blood. JAK2 V617F positivity was 92.6% in PV, 42.9% in ET and 80% in PMF. When all patients with MPD were taken to consideration, patients that are positive for JAK2 mutation were older (p=0.022) and had higher platelet levels (p=0.042). JAK2 mutant PV and ET patients also showed higher leucocyte levels which was close to significance (p=0.06). JAK2 mutation has taken its place as a standard marker for MPD and has a potential role in anti-neoplastic treatement. Our study about JAK2 mutation in MPD is to be one of the first in our region. Prevalance of this mutation in our study was correlated with the literature findings.

Giriş

JAK2 V617F mutasyonunun keşfi ile, BCR/ABL negatif kronik miyeloproliferatif bozukluklarda [polisitemiavera (PV), esansiyeltrombositemi (ET) ve primermiyelofibrozis (PMF)] patogenezle ilgili bilgiler artmış, tanı algoritmaları gelişmiş ve tedavi için yeni seçenekler ortaya çıkmıştır (1,2). Yapılan çalışmalarda mutasyon sıklığı PV hastaları için % 90-95, ET hastaları için % 50-70 ve PMF hastaları için % 40-50 oranında saptanmıştır. Çeşitli çalışmalar, tanı yaşı, tromboz öyküsü ve lökositoz varlığı gibi risk faktörlerinin, kaşıntı ve organomegali gibi bazı semptom ve bulguların mutasyon mevcudiyeti ile ilişkisine değinmektedir (3-5). Çalışmamızda kronik miyeloproliferatif bozukluklar nedeniyle izlediğimiz hastalarda JAK2 V617F mutasyon sıklığı ve klinik prognostik faktörlerle ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı Polikliniğinde 1/2007 ile 7/2008 tarihleri arasında takip edilen 27 PV, 14 ET ve 5 PMF hastası (toplam 46 hasta) dahil edildi. Ayrıca, 32 sağlıklı kontrol ve 17 KML ve 1 de MHL olgusu olmak üzere, toplam 18 hastalıklı kontrol eklendi. Tüm grupların demografik özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hastalar, Hastalıklı Kontroller ve Sağlıklı Kontrollerin Demografik Özellikleri

	Hasta Grupları			Hastalıklı Kontrol		Sağlıklı Kontrol (n=32)
	PV (n=27)	ET (n=14)	PMF (n=5)	KML (n=17)	MHL (n=1)	
Yaş (yıl)*	55,4±10,1 (29-76)	54,7±17,7 (25-83)	63,8±21,1 (28-80)	48,3±13,1 (25-75)	48	55,7±7,5
Cinsiyet (E/K)	13/14	8/6	4/1	7/10	1/0	12/20
Hastalık süresi (ay)*	57,7±45,7 (2-181)	31,5±21,4 (6-70)	19,2±20,2 (2-49)			

*Ortalama±SS, (Alt Değer-Üst Değer) olarak gösterilmiştir.

Tüm hastaların trombotik ve hemorajik olay öyküsü sorgulandı. Trombotik olaylara katkıda bulunabilecek risk faktörleri (hipertansiyon, diyabetes mellitus, sigara kullanımı, hiperlipidemi) araştırıldı. Kaşıntı ve eritromelalji gibi spesifik semptom ve bulguların varlığı incelendi. Tanı anında hepatomegali, miyelofibrozis mevcudiyetine bakıldı. Hastaların tanı anındaki kan sayımı değerleri kaydedildi.

Bütün hasta ve kontrollerin periferik kan granülositlerinde JAK2 V617F mutasyon analizi allele özgü Real Time (RT)-PCR (gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi ile yapıldı. Çalışmada DNA izolasyonu için Miller ve arkadaşlarının tuzla çöktürme (saltingout) yöntemi kullanıldı. LightMix kiti (Light Cycler Red 640 probları) kullanılarak periferik kan lökositlerinin DNA ekstrelerinede JAK2 V617F nokta mutasyonunun araştırıldı. Çalışma, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı laboratuarında gerçekleştirildi. İstatistik değellendirme için, SPSS 15.0 programı kullanıldı.

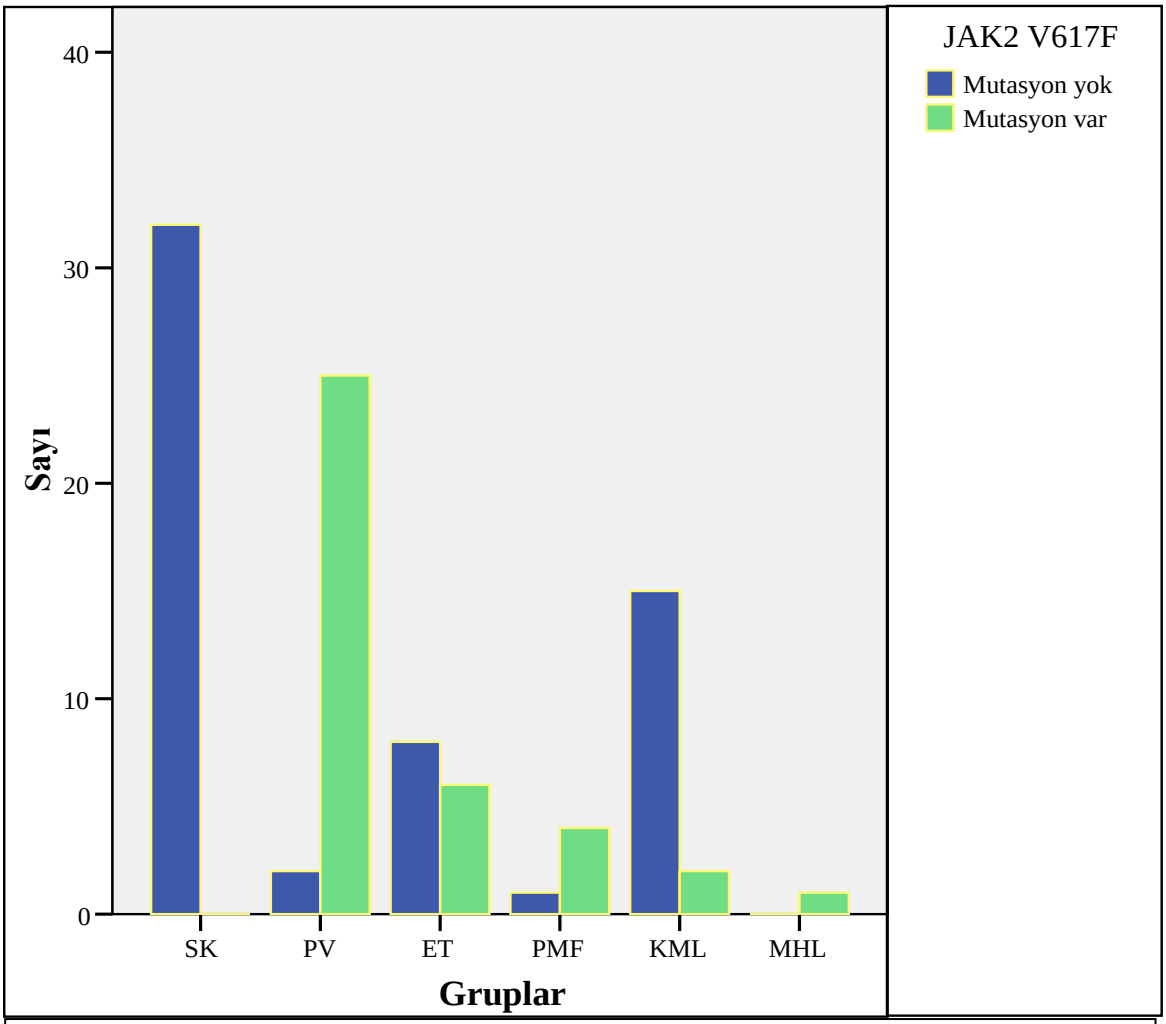
Hasta gruplarında; tanı anında 60 yaş ve üzerinde olma, tromboz öyküsü, tanı anında lökositoz (>15x10^3/ µL) ve trombositoz (>1x10^6/µL) varlığı, miyelofibrozis, hepatomegali ve splenomegali mevcudiyeti ve kaşıntı yakınması ile JAK2 V617F mutasyonu varlığı arasında ilişki araştırıldı.

Bulgular

JAK2 V617F mutasyonu pozitif olan hastaların yaş ortalaması ile mutasyon negatif olanların yaş ortalaması arasında anlamlı fark gözledik (p=0,022) (Tablo 1).

PV ve ET hastalarını, JAK2 mutasyonu ve tanı anındaki lökositoz varlığı (> 15 x103/µL) açısından incelendiğimizde anlamlılık sınırında bir ilişkiye rastladık (p=0,06).

JAK2 V617F mutasyonu PV grubunda %92,6, ET grubunda %42,9 ve PMF grubunda %80 oranında pozitif bulunmuştur. Sağlıklı kontrollerde mutasyon görülmezken, hastalıklı kontrol olarak çalışmaya dahil edilen 1 MHL olgusunda ve 17 KML olgusunun da ikisinde (%11,8) mutasyona rastlanmıştır (Şekil 1). Tüm gruplardaki mutasyon sıklıkları ve karşılaştırmaları Tablo 2'de özetlenmiştir.



Şekil 1. Sağlıklı Kontroller (SK), Hasta Grupları (PV, ET, PMF) ve Hastalıklı Kontrollerin (KML, MHL) Periferik Kan Lökositlerinde JAK2 V617F Mutasyonu; Bar Grafiği.

Tablo 2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Periferik Kan Lökositlerindeki JAK2 V617F Mutasyon Sıklığı Açısından Birbirleri ile Karşılaştırılması

	Hasta Grupları			Hastalıklı Kontrol		Sağlıklı Kontrol
	PV n (%) *	ET n (%) **	PMF n (%) ***	KML n (%)	MHL n (%)	n (%)
Mutasyon Pozitif	25 (92,6)	6 (42,9)	4 (80)	2 (11,8)	1 (100)	0 (0)
Mutasyon Negatif	2 (7,4)	8 (57,1)	1 (20)	15 (88,2)	0 (0)	32 (100)
Toplam	27 (100)	14 (100)	5 (100)	17 (100)	1 (100)	32 (100)

*Sağlıklı kontrole göre p<0,001, KML grubuna göre p<0,001
**Sağlıklı kontrole göre p<0,001, KML grubuna göre p=0,06
*** Sağlıklı kontrole göre p<0,001, KML grubuna göre p=0,009

Hastalarda tanı anındaki trombositoz mevcudiyeti ile (> 1000 x103/µL) JAK2 V617F mutasyonu arasında anlamlı ilişki izlendi (p=0,042).

Tartışma

PV, ET ve PMF birbirleri ile fenotipik olarak bağlantılı, BCR/ABL negatif kronik miyeloproliferatif bozukluklar olarak tarif edilmiştir (1,6). JAK2, yapısal olarak aktif bir tirozinkinazdır ve eritropoietin reseptörü (EpoR), trombopoietin reseptörü (MPL) ya da granülosit koloni stimülan faktör reseptörüyle (GCSFR) birlikte eksprese olduğunda JAK-STAT sinyal ileti sistemini aktive eder (2). 2005 yılında, kronik miyeloproliferatif bozuklukları olan hastalarda JAK2 V617F mutasyonu tanımladıktan sonra, bu hastalıkların genetik temeline ait bilgilerde büyük oranda artış gözlendi (7).

JAK2 V617F mutasyonu, JAK2'nin psödokinaz domaini (JH2) içinde kodon 617'de valinle fenilalaninin yer değiştirmesi ile ortaya çıkar. Germline DNA analizi JAK2 V617F'nin hematopoietik progenitörlerdeki somatik bir mutasyon olduğunu (exon 14 1849G→T) ortaya koymuştur. Mutasyon JAK-STAT ileti yolağının sürekli aktivasyonuna yol açmaktadır (2,4). Allele özgü PCR, pirosekanslama ve RT-PCR gibi duyarlı yöntemlerin kullanımı ile, JAK2 V617F PV'li hastaların yaklaşık % 90-95'inde, ET'li hastaların % 50-70'inde ve PMF'li hastaların % 40-50'sinde saptanabilmektedir (4,7).

PV için, JAK2 V617F mutasyonunun (exon 14 kazanılmış somatik mutasyon) beklenen sıklığı ~% 95 iken, JAK2 exon 12 mutasyonu ise JAK2 V617F negatif PV olgularında gösterilmiştir. Buna göre hemen hemen tüm PV olgularında bir JAK2 mutasyonu mevcttur ve PV için tanısal bir belirteçtir. Mutasyonun ET ve PMF'dekiinsidansı ise tanı için yeterli olmayıp, histolojik özelliklere yardımcı niteliğe sahiptir (7).

Miyeloproliferatif bozuklukları olan olgularımızın tanı anındaki trombositoz varlığı ile (> 1000 x10^3/µL) JAK2 V617F mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptadık (p=0,042). Aynı ilişki 176 ET olgusunun değerlendirdiği bir çalışmada da gösterilmiştir (8).

Çalışmamızda, JAK2 V617F mutasyonu sıklığı PV'li hastalarda %92,6, ET'li hastalarda %42,9 oranında saptanmış olup, bulgularımızın literatür verileri ile uyumlu olduğu görülmüştür (Tablo 2) (3,4). JAK2

mutasyonu çalışmaya dahil edilmiş olan 5 PMF olgusunun 4'ünde (%80) pozitif bulunmuştur. Bu grupta olgu sayısı istatistiksel yorumlama için yeterli değildir. Ancak PMF grubunda da mutasyonun varlığı gösterilebilmiştir. Önceki çalışmalarda ise PMF hastalarında JAK2 V617F mutasyonu sıklığı % 40-50 oranında bildirilmiştir (3,7).

Kronik miyeloproliferatif bozuklukarı değerlendiren 166 hastanın dahil olduğu kapsamlı bir çalışmada JAK2 V617F mutasyonu ile klinik ve laboratuar bulgular arasınaki ilişkiyi incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre JAK2 V617F mutasyonu pozitif olgularda tanı yaşı (≥ 60 yıl) anlamlı olarak yükselmiştir (p = 0.02). Aynı çalışmada JAK2 V617F mutasyonu olan miyeloproliferatif bozukluk hastalarında tanı anındaki lökositoz varlığının üç kat, tromboz sıklığının iki kat arttığı gözlenmiştir (9). Bizim çalışmamızda, 60 yaş üzerinde tanı konan olgulardaki mutasyon sıklığında anlamlı bir artış görülmemiştir. Tanı anında löksitoz varlığı ve tromboz öyküsü ile JAK2 V617F mutasyonu arasında ilişki bulunamamıştır.
Başka bir çalışmada ET hastaları için lökositoz ve risk belirlenmesi değerlendirmesi yapılmıştır. Çalışma sonuçları lökositozun tromboz gelişmi açısından risk faktörü oluşturduğu bilgisini destekler niteliktedir. Ancak bu çalışmada JAK2 V617F allel yükü ile lökositozlökositoz arasında bir ilişki görülmemiştir (10). Çalışmamızdaki ET hastaları için de böyle bir ilişki saptanmadı. (p=0,571).
Akut miyeloid lösemilerin nadir ve agresif bir formu olan MHL tanısı ile izlenen bir olguda JAK2 V617F mutasyonuna rastladık. Literatür taramasında JAK2 V617F mutasyonu pozitif MHL olgusu görülmedi. Ancak, sistemik mastositozamast hücre dışı klonal hematolojik hastalıkların eşlik edebildiği bildirilmiştir (11).

Sonuç

Allele özgü PCR, pirosekanslama ve kantitatif gerçek zamanlı PCR gibi allele özgü incelemeler kantitatif JAK2 V617F mutasyonal yükü tam olarak ölçebilir. Kantitatif incelemeler JAK2 inhibitörü çalışmalarında tedaviye yanıtın izlenmesinde kullanılmalıdır (2).
JAK2 V617F mutasyonu pozitif olan hastaların yaş ortalaması ile mutasyon negatif olanların yaş ortalaması arasında anlamlı fark gözlendi (p=0,022).PV ve ET hastalarını, JAK2 mutasyonu ve tanı anındaki lökositoz varlığı (>15 x103/μL) açısından incelendiğimizde anlamlılık sınırında bir ilişkiye rastlandı (p=0,06).
JAK2 V617F mutasyonuna PV grubunda % 92,6, ET grubunda %42,9 ve PMF grubunda %80 oranında rastlandı. Hastalarda tanı anındaki trombositoz mevcudiyeti ile (>1000 x10^3/μL) JAK2 V617F mutasyonu arasında anlamlı ilişki izlendi (p=0,042).

JAK2 V617F mutasyonu PV için güncel tanısal algoritmalarda yerini almıştır. ET ve PMF için ise ayırıcı tanıda ve tedaviye yanıtın takibinde faydalıdır (2,3,6). Mutasyonun patogenezdeki rolü ve klinik yansımalarına yönelik çalışmalarda büyük yol alınmıştır ve JAK2 inhibitörleri ile moleküler tedavi uygulamaları umut vaat edicidir.

Teşekkür

Çalışmaya katkılardan ötürü biyolog Sabahattin Aslan ve Prof. Dr. Z. Nazan Alparslan'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Lichtman MA, Liesveld JL. Chronic myelogenous leukemia and related disorders. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligshon U, Kaushansky K, Prchal JT, Eds. Williams Hematology, New York: McGraw-Hill; 2006:1237-94.
2. Levine RL, Pardanani A, Tefferi A, et al. Role of JAK2 in the pathogenesis and therapy of myeloproliferative disorders. Nat Rev Cancer. 2007;7:673-83.
3. Scott LM, Beer PA, Bench AJ, et al. Prevalance of JAK2 V617F andexon 12 mutations in polycythaemiavera. Br J Haematol. 2007;139:511-2.
4. Pietra D, Li S, Brisci A, et al. Somatic mutations of JAK2 exon 12 in patientswith JAK2 (V617F)-negative myeloproliferative disorders. Blood. 2008;111:1686-9.
5. Mesa RA, Verstovsek S, Cervantes F et al. Primary myelofibrosis (PMF), post polycythemia vera myelofibrosis (post-PV MF), post essential thrombocythemia myelofibrosis (post-ET MF), blastphase PMF (PMF-BP): Consensus on terminology by the international working group for myelofibrosis research and treatment (IWG-MRT). Leuk Res. 2007;31:737-40.
6. Rumi E, Passamonti F, Della Porta MG et al. Familial chronic myeloproliferative disorders: clinical phenotype and evidence of disease anticipation. J Clin Oncol. 2007;25:5630-5.
7. Tefferi A, Thiele J, Orazi A et al. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. Blood. 2007;110:1092-7.
8. Kittur J, Knudson RA, Lasho TL, Finke CM, Gangat N, Wolanskyj AP, Li CY, Wu W, Ketterling RP, Pardanani A, Tefferi A. Clinicalcorrelates of JAK2V617F alleleburden in essential thrombocythemia. Cancer. 2007;109:2279-84.
9. Speletas M, Katodritou E, Daiou C, et al. Correlations of JAK2-V617F mutation with clinical and laboratory findings in patients with myeloproliferative disorders. Leuk Res. 2007;31(8):1053-62.
10. Carobbio, A, Finazzi, G, Guerini, V, et al. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. Blood. 2007;109:2310-3.
11. Jordan JH, Jäger E, Sperr WR, Schwarzinger I, Födinger M, Fritsche-Polanz R, Ohler L, Geissler K, Valent P. Numbers of colony-forming progenitors in patients with systemic mastocytosis: potential diagnostic implications and comparison with myeloproliferative disorders. Eur J ClinInvest. 2003;33:611-8.