

PRİMER MİYELOFİBROZİS: PATOGENEZ, TEŞHİS VE TEDAVİDE GÜNCEL BİLGİLER

PRIMARY MYELOFIBROSIS: UPDATE ON PATHOGENESIS, DIAGNOSIS AND MANAGEMENT

İpek YÖNAL, Fatma Deniz SARGIN*

ÖZET

Primer miyelofibrozis (PMF), anemi, periferik kan yaymasında 'tear drop' şeklinde eritrositler, lökoeritroblastozis, kemik iliği fibrozisi, osteosklerozis ve ekstramedüller hematopoez ile karakterize miyeloproliferatif neoplazilerden (MPN) biridir. JAK2V617F mutasyonu PMF olgularının yaklaşık %50'sinde ve MPL mutasyonları %10'unda görülmektedir. PMF'in hücre fazında kemik iliği biyopsisi atipik megakaryositler ve belirgin olmayan kemik iliği fibrozisi ile birlikte hiperselüler kemik iliğini ortaya çıkarır. PMF tanısı için diğer MPN'lerin dışlanması gerekmektedir. Birçok hasta PMF'in fibrotik fazında tanı alır. Bu fazdaki hastalarda fibrozis, tipik olarak yoğun retikülün lif artışı şeklinde ortaya çıkmakla beraber sonrasında sıklıkla kollagen fibrozisi gözlenir. Ortalama yaşam süresi yaklaşık 5 yıldır. PMF'in yaklaşık %20'sinde ortaya çıkan lösemik transformasyon, ölümün başlıca nedenidir. Diğer ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklar gibi komorbid hastalıklar yanında sitopeniye bağlı ortaya çıkan enfeksiyonlar ve kanama vardır. PMF için birkaç prognostik skorlama sistemi geliştirilmiştir (örneğin IPSS, DIPSS, DIPSS Plus). PMF'deki somatik mutasyonların prognostik önemi araştırılmıştır. ASXL1, SRSF2 ve EZH2 mutasyonlarının kısa yaşam süresi ile ilişkili bağımsız faktörler olduğu ve IDH1, IDH2, SRSF2 ve ASXL1 mutasyonlarının lösemi ilişkisiz sağkalımı (LFS) kısalttığı bildirilmiştir. Sonuç olarak PMF'de ASXL1, EZH2, SRSF2 ve IDH mutasyonlarının lösemik transformasyon veya ölüm riskini belirlemede yararlı olabileceği söylenebilir. Günümüzde bu moleküler belirteçler yoğun araştırma konusudur. PMF'de tek küratif tedavi yöntemi allogeneik hematopoetik kök hücre nakli (AHKHN) olmasına rağmen tedavi ile ilişkili mortalite oranı yüksektir. AHKHN dışındaki diğer tedavi şekilleri palyatif olup farklı etkinlik ve toksisiteye sahiptir. PMF'de tedavi yöntemlerini karşılaştıran az sayıda çalışma olduğundan, aralarından seçim yapılarak önerilmesi mümkün değildir. Bu derlemenin amacı, PMF tanılı olgularda patogenezi, tanı yöntemleri ve güncel tedaviyi özetlemektir.

Anahtar Sözcükler: JAK2V617F mutasyonu; Miyeloproliferatif neoplaziler; MPL mutasyonları; Primer miyelofibrozis

ABSTRACT

Primary myelofibrosis (PMF) is a chronic myeloproliferative neoplasm (MPN) characterized by anemia, teardrop-shaped red cells in blood, leukoerythroblastosis, bone marrow fibrosis, osteosclerosis and extramedullary hematopoiesis. Approximately 50% of PMF patients harbor JAK2V617F mutation and MPL mutations are present in a further 10%. Bone marrow examination reveals a hypercellular bone marrow with atypical megakaryocytes and slight marrow fibrosis in cellular phase of PMF. Diagnosis requires the exclusion of other MPN. Most patients are diagnosed in the fibrotic phase of PMF, when fibrosis is typically extensive with reticulin fibers and often subsequently accompanied by collagen fibrosis. Overall median survival is approximately 5 years. Death is mainly due to leukemic transformation, accounting for 20% of PMF patients. Others succumb to consequences of cytopenias such as infection or bleeding or to comorbid conditions including cardiovascular events. A number of prognostic scoring systems have been developed for PMF (eg. IPSS, DIPPS, DIPSS Plus). Analysis of a total of 879 patients included in a European and Mayo Clinic cohort showed that ASXL1, SRSF2 and EZH2 mutations independently predicted shortened survival. Leukemia-free survival (LFS) was negatively affected by IDH1/2, SRSF2, and ASXL1 mutations. Profiling for ASXL1, EZH2, SRSF2 and IDH mutations may identify PMF patients at risk for leukemic transformation or death. Currently, these molecular markers are mainly of research interest. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (AHCT) is the only curative treatment modality in PMF, yet it is associated with high treatment-related mortality. All other treatment modalities are palliative and show differences in efficacy and toxicity. There are few randomized trials comparing these modalities. Thus, it is not possible to make strong recommendations for selecting one treatment over another. This review aims to highlight the pathogenesis, diagnosis and current management in PMF.

Key Words: JAK2V617F mutation; MPL mutations; Myeloproliferative neoplasms; Primary myelofibrosis

Date received/Dergiye geldiği tarih: 28.11.2013 Dergiye kabul edildiği tarih: 31.12.2014

* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji BD, İstanbul, TÜRKİYE
(İletişim kurulacak yazar: ipekyonal@yahoo.com.tr)

İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi Cilt / Volume: 77 • Sayı / Number: 4 • Yıl/Year: 2014

GİRİŞ

Primer miyelofibrozis (PMF), klonal miyeloproliferasyon, ekstremitaller hematopoez, kemik iliğinin stromal bileşenlerinin proliferasyonu, splenomegali ve inefektif eritropoez ile karakterizedir. Yıllık insidansı 100.000'de 0.5 ile 1.3 arasında değişmekle beraber miyeloproliferatif neoplaziler (MPN) içindeki en nadir hastalıktır. Bunun yanında ortalama 5 yıllık yaşam süresi ile prognozu en kötü olanıdır. PMF, karakteristik olarak 50 yaşından sonra ortaya çıkmakla beraber ortalama tanı yaşı 65-70'dir (2).

PATOGENEZ

PMF'in klonal bir hastalık olduğu ve malign pluripotent kök hücrelerin proliferasyonu sonucunda ortaya çıktığı bilinmektedir. Bunu destekleyen ilk çalışma, G-6-PD geni heterozigot olan bireylerde G-6-PD'nin X-kromozomuna bağlı inaktivasyon patternlerinin ortaya çıkmasıdır (33). Fakat, genel popülasyonda G-6-PD heterozigot olguların düşük sıklıkta olması, X'e bağımlı genlerin, hipoksantin fosforibozil transferaz ve fosfogliserat kinazın analiz edilmesine neden olmuştur. Bu çalışmaların sonucunda erken hücre faz veya daha ileri miyelofibroz fazında olan tüm hastalarda monoklonal hematopoez gösterilmiştir (36, 65). Bir çalışmada, FISH analizi sonucunda hem B hem T hücrelerinin etkilendiği gösterilmekle beraber karyotip analizinde stromal proliferasyonun poliklonal veya reaktif olduğu ve altta yatan klonal hematopoezin bir parçası olmadığı gösterilmiştir. N-Ras geni mutasyon analizini kullanan bir çalışmada B ve T lenfositik dizinin etkilenmesi, hastalığın pluripotent kök hücre kaynağını desteklemektedir (10). Pluripotent öncül hücreler (CFU-GEMM) ve diğer öncül hücreleri (BFU-E, CFU-GM ve CFU-MK) içeren dolaşan hematopoetik öncüllerin artışı, PMF'in bir özelliğidir (13). Bu öncül hücrelerin kemik iliğindeki kök hücrelerin proteolitik salınımından kaynaklandığına inanılmaktadır. Dalak ve karaciğerin de dolaşan hücre havuzuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Çünkü splenektomi geçici olarak kan değerlerini normale getirmektedir. Dolaşan öncül hücrelerin seviyesinde yükselme, periferik kanda CD34 hücre sayısında artış olarak yansımaktadır. Periferik kandaki mutlak CD34 mutlak sayısının, PMF'i diğer Ph-negatif MPN'den ayırt etmek için ve blastik transformasyonu tahmin etmek için önemli olduğu ileri sürülmektedir (4). Saflaştırılmış CD34 hücreleri üzerine yapılan bir çalışmada PMF'de aberan olarak ekspres edilen 95 gen tanımlanmış ve kompleks patogeneze dikkat çekilmiştir (31). Eritroid öncüllerin eritropoetine (EPO) duyarlılığında artış bildirilmiştir. CFU-MK'nin otonom çoğaldığı ve/veya IL-3'e aşırı duyarlılığı olduğu bilinmektedir (54). Bu bulgular, otonom megakaryosit proliferasyonunun MPL mutasyonları veya MPL-ligandın otokrin stimülasyonu ile ilişkisi olmadığı bilgisi ile birleştirildiğinde, patogeneze reseptör-ligand bağlanması sonrasında gelişen olayların önemli olduğunu düşündürmektedir (54). Son 20 yılda üç büyük çalışmanın verileri, PMF'deki sitogenetik anormallikleri aydınlatmaya yardımcı olmuştur (20, 50, 61). Bu çalışmalar irdelendiğinde

toplam 157 kromozomal bozukluğun yer aldığı ve %80'den fazlasını 13q, 20q delesyonları, trizomi 8, 1.7.9. kromozomdaki anormalliklerin oluşturduğu anlaşılmaktadır (7). Anormal sitogenetik analizi olan hastaların %25'inde bulunan 13q delesyonu, en sık sitogenetik anormalliktir. 20q delesyonu ve birinci kromozomun uzun kolunda olan parsiyel duplikasyon diğer sık anormalliklerdendir. Der(6) t(1;6)(q23-25;p21-22), PMF'de olası bir belirteç olmasına rağmen olguların %3'ünden azında bulunmaktadır (21). PMF'li olguların üçte birinde tanıda anormal karyotip bulunmakla beraber akut lösemi transformasyonunu takiben sıklığı yaklaşık %90'a kadar yükselmektedir. Lösemik transformasyonda büyük oranda 5q ve 7q delesyonunu içeren yüksek riskli sitogenetik anormallikler bulunmaktadır. Aynı çalışmada trizomi 8 ve 12p delesyonu gibi klonal anormalliklerin kötü prognozla ilişkisi gösterilirken diğer anormalliklerin yaşama olumsuz etkisi gösterilmemiştir (43). Trizomi 13 erken blastik transformasyonla ilişkilidir (71). +der(1q9p) ve t(6;10) (q27;q11), kompleks karyotip varlığı ya da ya da trizomi 8, 7/7q, i(17q), inv(3), 5/5q, 12p veya 11q23 rearanjmanından herhangi birinin varlığı, PMF'de kötü prognozla ilişkilidir (12, 19, 49). Dört bağımsız grup tarafından 88 PMF hastasında yapılan çalışmada JAK2V617F mutasyonu sıklığı %49 olarak bildirilmiştir (5, 30, 34, 38). PMF'de megakaryositlerde FK506 bağlayıcı protein 51'in (FKBP₅₁) artmış ekspresyonu, JAK2/STAT₅ yolağının sürekli aktivasyonuna neden olmakla beraber antiapoptotik özelliği vardır (25). N-RAS'ın özellikle 12.kodonunu etkileyen RAS mutasyonları, kronik fazdaki PMF hastalarının yaklaşık %6'sında saptanmıştır (51). p53 ve p16'yı içeren mutasyonlar, hastalığın kronik fazında oldukça nadir görülmeyle beraber lösemik transformasyonda rol oynamaktadır (23, 67). Miyelofibrotik stromanın interstisyel ve bazal membran kollagenlerinde artış ile karakterize kompleks bir yapısı vardır. Buna ek olarak fibronektin, laminin, tenascin ve vitronektinin depolanmasında artış görülür. Sonuç olarak neovaskülarizasyonda belirginleşme ve endotelial hücre proliferasyonunda artış gözlenmektedir. Bu kompleks stromal özellikler ve stromal proteinlerin artışından, trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) ve TGF-beta'yı içeren büyüme faktörlerinin anormal salınımı sorumlu tutulmaktadır (14).

KLİNİK ÖZELLİKLER

PMF'de hastaların yaklaşık %25'i asemptomatiktir ve rutin kan tetkiklerini takiben tanı almaktadır. Başlıca semptomlar halsizlik, dispne ve taşikardidir. Splenomegali karakteristiktir ve masif olduğu zaman karında huzursuzluk ve erken doyma gibi bir takım şikayetlere neden olur. Dalağın büyümesine yetersiz kalan kan akımı nedeniyle dalak infarktı ortaya çıkar. Dalak enfarktı genellikle geçici rahatsızlığa neden olmakla beraber nadiren akut batını taklit eden ciddi karın ağrısına neden olabilir. Olguların yaklaşık %70'inde hepatomegali görülmektedir. Portal hipertansiyon karaciğer kan akımında artış veya intrahepatik obstrüksiyon sonucunda ortaya çıkar (68).

Primary myelofibrosis

PMF'de konstitüsyonel semptomların varlığı kötü prognoz ile ilişkilidir (16). PMF'de kanama sıklıkla hafif derecedir. Peteşi, ekimoz gibi belirti verebileceği gibi masif gastrointestinal kanama varlığında hayatı tehdit edebilir. Hemorajik diyatezin oluşumuna trombositopeni, edinsel trombosit fonksiyon bozukluğu ve yaygın damar içi pıhtılaşması katkıda bulunabilir. Tablo I'de PMF'de tanı sırasındaki semptom ve fizik muayene bulguları özetlenmiştir.

Ekstramedüller hematopoez veya myeloid metaplazi, etkilenen spesifik organa özgü semptomlara neden olmaktadır. Santral sinir sisteminin etkilenmesi sonucunda spinal kord kompresyonu, deliryum, diabetes insipidus, ciddi baş ağrıları ve meningeal infiltrasyona bağlı ekzoftalmi, papil ödemle beraber intrakranial basınç artışı ve koma ortaya çıkabilir (39). Lenf nodlarının tutulumuna bağlı olarak generalize ve belirgin lenfadenopati ortaya çıkabilir (69). Plevral infiltrasyon, hemotoraks ve plevral efüzyona neden olurken peritoneal ektopik implantlara veya mezenterik ekstramedüller hematopoeze bağlı masif asit ortaya çıkabilir (32, 70). Efüzyonlar sıklıkla megakaryositler, immatür myeloid hücreler ve eritroblastlar gibi birçok hematopoetik elemanları içermektedir. Cilt tutulumları nadirdir ve eritematöz plaklar, nodüller, diffüz veya papüller eritem, ülser ve büllöz lezyonlar şeklinde belirti verebilir (40). Ölümün majör nedenleri enfeksiyon, kanama, kalp yetersizliği ve akut lösemik transformasyondur. Olguların yaklaşık %15'inde akut lösemiye transformasyon olur. En sık myeloblastik veya myelomonoblastik transformasyon görülmektedir (27). PMF'de normositik anemi yanında periferik kan yaymasında anizositoz, poikilositoz ve 'tear-drop' şekilli hücreler görülmektedir. Hemen hemen tüm olgularda periferik yaymada çekirdekli eritrositler saptanır. Ortalama Hgb konsantrasyonu 9 ile 12 g/dl olarak bildirilmiştir (2). Aneminin başlıca sebebi inefektif eritropoez olmakla beraber diğer nedenleri arasında demir eksikliği anemisi, eritrosit sekestrasyonu ve splenomegali sonucunda gelişen plazma hacim artışına bağlı hemodilüsyon vardır. Direkt antiglobulin testi sıklıkla negatif olmakla beraber ciddi otoimmün hemoliz eşlik edebilir (8). PMF'de kemik iliğinde lenfoid nodüllerde artış görülebilmektedir (11). PMF'de total lökosit sayısı genellikle hafif olarak artmıştır (2). Farklı serilerde total lökosit sayısı 10.000 ile 14.000/mm³ arasında değişmektedir. Periferik kan yaymasında birçok hastada düşük oranlarda myelosit, promiyelosit ve blastik hücreler (%0.5-2) bulunabilmektedir. Tanı sırasında periferik kanda blast hücrelerinin oranı %0-20 arasında değişmektedir. Nötrofillerde hipersegmentasyon, hiposegmentasyon ve anormal granülasyon görülebilir. Tanıda hastaların %20'sinde nötropeni vardır. Tanıda ortalama trombosit sayısı 175.000/mm³ ile 580.000/mm³ arasında değişmektedir (2). Hastaların yaklaşık %40'unda trombosit sayısı artar; 1/3'ünde ise hafif ile orta dereceli trombositopeni vardır. Dev trombositler ve anormal trombosit granülasyonu, hastalığın karakteristik özellikleridir. Hastaların %10'unda hematopoezin ciddi bir şekilde etkilenmesine ve masif dalak büyüklüğüne

bağlı pansitopeni görülmektedir. Pansitopeni genellikle yoğun kemik iliği fibrozisi ile ilişkilidir.

Tablo I. PMF'de başyuru semptomları ve fizik muayene bulguları

Belirti veya bulgu	Sıklık (%)
Asemptomatik	16-30
Halsizlik	47-71
Ateş	5-15
Kilo kaybı	7-39
Gece terlemeleri	6-21
Dalaktaki büyümeye bağlı semptomlar	11-48
Kanama	5-20
Gut veya böbrek taşları	6-13
Solukluk	60
Peteşi veya ekimoz	15-20
Splenomegali	89-99
Hepatomegali	39-70
Periferik ödem	13
Portal hipertansiyon bulguları	2-6
Lenfadenopati	1-10
Sarılık	0-4

Ronald Hoffman, Edward J. Benz, Jr., Leslie E. Silberstein, Helen E. Heslop, Jeffrey I. Weitz, John Anastasi. Hematology Basic Principles and Practice. 6th Edition

TANI

Splenomegali ve anemi, lökositöz ve/veya trombositöz varlığında PMF'den şüphelenilmelidir. 2008 yılında revize edilmiş dünya sağlık örgütü (DSÖ) sınıflamasında PMF için tanımlanan majör kriterlerden biri: 'kemik iliği biyopsisinde megakaryositik proliferasyon ve atipinin varlığı, buna sıklıkla retikülin ve/veya kollagen fibrozisin eşlik etmesi veya önemli bir retikülin fibrozisi olmaksızın granülositik proliferasyon ve sıklıkla azalmış eritropoeze eşlik eden megakaryositik değişikliklerin varlığıdır' (Tablo II) (62). Kollagen lif artışı olmaksızın retikülin liflerinde orta dereceli artış olabilmektedir. Megakaryositlerdeki değişiklikler oldukça ayırt edicidir. Bu morfolojik değişiklikler arasında pleomorfizm, büyük, hiperkromatik nükleusa bağlı nükleus/sitoplazma oranında artış, nükleer lobulasyonda bozulma ve maturasyon duraklaması vardır. PMF, kemik iliği fibrozisine neden olan diğer hastalıklardan ayırt edilmelidir (Tablo III).

PMF'den sorumlu ilk mutasyon bilinmemektedir. Hastaların büyük bir kısmında JAK2V617F mutasyonu (%50-65) ve az bir kısmında MPL, LNK, CBL, TET2, ASXL1, IDH, IKZF1 veya EZH2 mutasyonları bulunmaktadır (58). PMF'de klonal miyeloproliferasyon yanında kemik iliğinde stromal değişiklikler ve anormal sitokin ekspresyonu ile karakterize sekonder inflamatuvar bir durum vardır. PMF'de plazmada artış gösteren proinflamatuvar sitokinlerin konstitüsyonel semptomlar ile ilişkili olduğuna ve tüm yaşam süresi (OS) ve lösemi ilişkisiz sağkalımı (LFS) olumsuz etkilediğine inanılmaktadır.

Primer miyelofibrozis

PMF’de tanı, fizik muayene, periferik kan bulguları, kemik iliği morfolojisi, sitogenetik inceleme, moleküler belirteçler ve diğer hastalıkların dışlanmasına dayalı olarak konulmaktadır (Tablo I) (62). Periferik kan yaymasında tipik olarak lökoeritroblastozis ve ‘tear drop’ şeklinde eritrositler görülür. Hastalık pre-fibrotik evre (%25) veya daha sık olarak fibrotik evrede tanı alır. Pre-fibrotik evre, retikülün lif artışı olmadan veya az miktarda retikülün lif artışı ile birlikte granülositik ve megakaryositik proliferasyon ile karakterizedir. Tanı,

kemik iliği incelemesinde yoğun kümelenmiş hipolobüle ve hiperkromatik nükleusu içeren morfolojik olarak atipik megakaryositlerin varlığı ile konur. Pre-fibrotik PMF, trombositemi, sınırdan anemi, hafif splenomegali varlığı ve lökoeritroblastozisin yokluğu nedeni ile yanlışlıkla esansiyel trombositemi (ET) tanısı alabilmektedir. Pre-fibrotik PMF’de belirgin hastalığa progresyonun, megakaryositik displazinin varlığına bağlı ortaya çıktığına inanılmaktadır (9).

Tablo II. DSÖ 2008 PMF sınıflandırma kriterleri

Major kriterler

- Kemik iliği biyopsisinde megakaryositik proliferasyon ve atipinin varlığı, buna sıklıkla retikülün ve/veya kollagen fibrozisin eşlik etmesi veya önemli bir retikülün fibrozisi olmaksızın granülositik proliferasyon ve sıklıkla azalmış eritropoeze eşlik eden megakaryositik değişikliklerin varlığı (örneğin pre-fibrotik PMF)
- DSÖ kriterlerine göre KML, PV, MDS veya başka bir myeloid neoplazinin dışlanması
- JAK2V617F veya diğer klonal belirteçlerin gösterilmesi veya reaktif kemik iliği fibrozu kanıtının olmaması

Minör kriterler

- Lökoeritroblastozis
- LDH düzeyinde artma
- Anemi
- Palpabl splenomegali

Tanı: Tanı konması için üç majör kriterle beraber iki minör kriter gereklidir.

Tablo III. Kemik iliği fibrozisi ile ilişkili hastalıklar

Malign

PMF
Diğer kronik miyeloproliferatif hastalıklar
(örn. PV, KML, ET)
Akut megakaryoblastik lösemi (akut miyelofibrozis)
MDS
AML
ALL
Tüylü hücreli lösemi
Hodgkin lenfoma
Multipl myelom
Sistemik mastositoz
Metastatik karsinom (örneğin meme, prostat, mide)

Malign olmayan

Enfeksiyonlar (örneğin tüberküloz, viseral layşmanyazis)
Renal osteodistrofi
Vitamin D eksikliği
Hipotiroidi
Hipertiroidi
Gri trombosit sendromu
Sistemik lupus eritematozus (SLE)
Skleroderma
Radyasyon maruziyeti
Benzen maruziyeti
Gaucher hastalığı
Osteopetrozis

TEDAVİ

PMF için güncel ilaç tedavisi küratif değildir ve yaşamı uzattığı gösterilememiştir. Allojeneik hematopoetik kök hücre nakli (AHKHN), küratif potansiyeli olan tek tedavi modalitesi olmasına rağmen hazırlama rejiminin yoğunluğundan bağımsız olarak hastaların yaklaşık yarısında transplantasyona bağlı ölüm veya ciddi morbidite gerçekleşmektedir (1). Sonuç olarak PMF’li daha fazla hasta yeni ilaçlarla tedaviye yönlendirilmektedir. Bunun yanında birçok hastanın tedavisiz izlenebildiği ve bazılarının konvansiyonel ilaç

tedavisiyle etkili olarak tedavi edilebildiği bilinmektedir.

Günümüzde, PMF’de tedavi algoritması, risk skorlama sistemlerine göre geliştirilmiştir. PMF’de prognostik model, 2009 yılında uluslararası prognostik skorlama sisteminin (IPSS) gelişimi ile ortaya çıkmıştır. ‘IPSS’, tanı sırasında uygulanabilmeye beraber beş bağımsız risk faktörü içermektedir (Tablo IV) (17). 0, 1, 2, ≥ 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 V) (47). 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 $100.000/mm^3$ ’den az olması vardır (12, 24). 2011 yılında ‘DIPSS’, trombosit değerinin $<100.000/mm^3$ olması, eritrosit transfüzyon ihtiyacı ve kötü karyotip anormalliğini içeren üç bağımsız risk faktörünün eklenmesi sonucunda modifiye edilmiştir. ‘DIPSS-plus’ kriterleri olarak adlandırılan bu kriterlere göre olgular düşük (hiç risk faktörü olmaması), orta-1 (1 risk faktörü), orta-2 (2 veya 3 risk faktörü) ve yüksek (≥ 4 risk faktörü) riskli olarak sınıflandırılmıştır (Tablo VI) (24).

Düşük veya orta-1 risk grubunda olan asemptomatik hastalarda spesifik tedavinin yararı kanıtlanmamıştır (24). Semptomatik anemi, splenomegali, karaciğer ve dalak dışındaki ekstramedüller hematopoez, kemik ağrısı, ekstramedüller hematopoez ilişkili pulmoner hipertansiyon veya konstitüsyonel semptomların (örneğin halsizlik, gece terlemesi ve pruritis) varlığında tedavi başlanması gerekmektedir. Ayrıca belirgin lökositoz veya trombositoz varlığında sitoredüktif tedavi başlanabilir. PMF ilişkili anemi, androjenler (örneğin haftada bir intramüsküler 400-600 mg testosteron, günde 3 kez 10 mg oral fluoksimesteron), prednizon (0.5 mg/kg/gün), danazol (600 mg/gün), talidomid (50 mg/gün) \pm prednizon veya lenalidomid (10 mg/gün) \pm prednizon ile tedavi edilmektedir (18, 56, 64). Bu ilaçlara yanıt oranı %15-25 arasında değişmekle beraber yanıt süresi yaklaşık olarak 1-2 yıldır. Lenalidomid en çok del(5q31) varlığında etkilidir (59). Androjenlerin en önemli yan etkileri hepatotoksisite ve virilizan etkiler, talidomidin başlıca yan etkisi periferik nöropati ve lenalidomidin yan etkisi miyelosüpresyondur. Anemisi olup splenomegalisi olmayan hastalarda eritropoetin tedavisi faydalı olabilir. Anemisi olan hastaların serum EPO düzeyinin 125 U/L’nin altında olması ve transfüzyon bağımlı olmaması durumunda eritropoetin tedavisinden fayda gördükleri saptanmıştır. Bir çalışmada hastaların %60’ının eritropoetin tedavisine cevap verdiği, 12 hafta içinde Hgb değerinin 2 gr/dl arttığı veya transfüzyon ihtiyacında %50 azalma sağlandığı gösterilmiştir (15). Başka bir çalışmada ise genel cevap oranı %20 olarak bulunurken, transfüzyon bağımlı olan hastaların hiçbirinde yanıt alınmadığı gözlenmiştir (29). Önerilen eritropoetin dozu haftada 3 kez 10.000 ünite, darbapoetin dozu ise haftada 150 ug’dır. Bir çalışmada eritropoetin tedavisi veya androjen kullanımının akut lösemiye progresyon riskini arttırdığı bildirilmiştir (28). PMF ile ilişkili splenomegalide ilk basamak tedavi hidroksiüredir. Hidroksiüre hastaların yaklaşık %40’ında dalak boyutunu yarı yarıya azaltmaktadır (41). Hidroksiürenin dalak üzerine etkisi ortalama bir yıl

sürmektedir. Yan etkileri arasında miyelosüpresyon ve mukokutanöz ülserler vardır. Talidomid ve lenalidomid, bazı hastalarda splenomegaliyi geriletir ve trombositopeniyi düzeltir (64). İnterferon-alfa’nın PMF ile ilişkili splenomegalide yararı sınırlıdır (57).

Yüksek veya orta-2 risk grubunda olan PMF’de deneysel ilaç tedavisi veya AHKHN önerilmektedir. İleri derece kötü prognozlu bireylerde (monozomal karyotip, inv(3)/i(17q) anormalliklerinin olması veya dolaşımdaki blast sayısının %9’un üzerinde olması, lökosit değerinin $\geq 40.000/mm^3$ olması veya diğer kötü prognozlu karyotip anormalliklerinin ikisinin varlığı) acil AHKHN planlanmalıdır (22). PMF’de HLA tam uyumlu akraba vericiden yapılan nakilde 5 yıllık hastalıksız sağkalım %33 ve tedavi ilişkili mortalite %35 iken akraba dışı nakillerde sırasıyla %27 ve %50 olarak bildirilmiştir (1). HLA tam uyumlu akraba vericiden yapılan nakilde kronik graft versus host hastalığı (GVHH) ve relaps oranlarının sırasıyla %40 ve %32 olduğu ve splenektomi öyküsünden etkilenmediği bildirilmiştir. Günümüzde PMF ve PV/ET dönüşümlü miyelofibroza birkaç deneysel ilaç araştırılmıştır. Bunlar arasında pomalidomid, JAK2 inhibitör ATP mimetikleri ve rapamisin protein kompleksinin memeli hedefinin inhibitörleri (mTOR inhibitörleri) umut vericidir (26, 46, 63, 66). Ayrıca JAK-STAT’ın panobinostat ve givinostat gibi histon deasetilaz inhibitörleri (HDAC) tarafından inhibe edildiği bilinmektedir (42, 48). PMF’de düşük doz panobinostatın uzun dönem kullanımının konstitüsyonel semptomları ve splenomegaliyi geriletmediği, anemiyi düzeltmediği, periferik kandaki lökoeritroblastozisi ortadan kaldırdığı, kemik iliğindeki retikülün ve kollagen fibrozisi azalttığı ve az sayıdaki hastada normal kemik iliği morfolojisini sağladığı gösterilmiştir. Panobinostatın doz kısıtlayıcı toksisitesi trombositopeni olarak bildirilmiştir. Günümüzde panobinostatın haftada üç kez oral 25 mg dozunda kullanımı ile ilişkili faz 2 çalışması sürmektedir.

Pomalidomid, ikinci kuşak immünomodulator bir ilaçtır. Faz 2 randomize bir çalışmada PMF’li anemisi olan hastaların %25’inin tek başına pomalidomid tedavisine (2 mg/gün) veya prednizonla (0.5 veya 2 mg/gün) olan kombinasyon tedavisine yanıt verdiği bildirilmiştir (63). Tek ajan pomalidomid (0.5 mg/gün) kullanımında sadece JAK2V617F mutasyonu varlığında anemide düzelme sağlanmıştır. Pomalidomid indüklenmiş bazofili varlığında veya belirgin splenomegalinin yokluğunda daha etkin bulunmuştur. Pomalidomid, hastaların %58’inde trombosit yanıtı elde etmesine rağmen dalak boyutunu azaltmakta sınırlı etkiye sahiptir (6). İlaç ilişkili nöropati veya miyelosüpresyon nadir yan etkilerdir.

Günümüzde klinik çalışmaları süren JAK2 inhibitör ATP mimetikleri arasında ruxolitinib (INCB018424), SAR302503, CYT387, lestauritinib (CEP-701), SB1518, AZD1480, BMS911543, LY2784544 ve XL019 vardır. Bu ilaçların toksisite ve etkinlik profillerinde belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Bu durumun diğer JAK ve JAK dışı kinaz hedeflerine karşı in vitro etkinliklerindeki farklılığa bağlı olduğu düşünülmektedir (55). Bir JAK1/JAK2 inhibitörü olan

Primer miyelofibrozis

ruxolitinib, bir faz 1/2 çalışmasında PMF veya PV/ET dönüşümlü miyelofibroz tanısı alan 153 hastada araştırılmıştır (66). Bu ilacın doz kısıtlayıcı toksisitesi trombositopenidir ve maksimum tolere edilen doz günde 2 kez 25 mg veya bir kez 100 mg'dır. Yan etkileri arasında trombositopeni, anemi ve ilacın kesilmesi sonucunda semptomların ve splenomegalinin akut relapsı ile karakterize 'rebound sitokin reaksiyonu' vardır (60). Başlangıçta transfüzyon bağımsız olan hastalarda ruxolitinib kullanıldığında (günde 2 kez, 10-25 mg) %39'unda grade 3/4 trombositopeni ve %43'ünde anemi geliştiği bilinmektedir. Hastaların %44'ünde dalak boyutunda %50'nin üzerinde azalma saptanmıştır. Hastaların büyük çoğunluğunda konstitüsyonel semptomlarda iyileşme (halsizlik, pruritis, karında huzursuzluk, erken doyma, gece terlemeleri ve egzersiz intoleransı) ve kilo artışı gözlenmiştir. %14 hastada transfüzyon bağımsızlığı gelişmiştir. İlacın JAK2V617F alleli üzerine veya kemik iliği patolojisi üzerine etkisi belirsizdir. Esas olarak proinflatuar sitokinlerde belirgin azalma ve konstitüsyonel semptomlarda gerileme saptanmıştır. Ruxolitinibin kesilmesi sonucunda ciddi çekilme semptomları ortaya çıkmıştır ve 'ruxolitinib çekilme sendromu' olarak adlandırılmıştır. Bu sendrom, hastalık semptomlarının akut relapsı, splenomegali, sitopenilerin derinleşmesi ve septik şok benzeri sendromu içeren nadir bir hemodinamik dekompanseasyonla karakterizedir (60).

Diğer bir selektif JAK2 inhibitörü olan TG101348, bir faz 1/2 çalışmasında PMF veya PV/ET dönüşümlü miyelofibroz tanısı alan 59 hastada araştırılmıştır (46). Bu ilacın doz kısıtlayıcı toksisitesi geriye dönüşümlü olan amilaz ve lipazdaki asemptomatik artıştır. İlacın maksimum tolere edilen dozu günde 680 mg'dır. Grade 3 veya 4 yan etkileri doza bağımlı ve geriye dönüşümlüdür. Bunlar arasında bulantı, kusma, diare, serum lipazda artış, transaminaz artışı, kreatinin yüksekliği, trombositopeni ve anemi vardır. Tedavinin 6. ayında hastaların %39'unda ve birinci yılında %47'sinde palpabl dalak boyutunda %50'den fazla azalma bildirilmiştir. Buna ek olarak çoğu hastada erken doyma, halsizlik, gece terlemesi, öksürük veya pruritis gibi semptomlarda gerileme saptanmıştır. Bazal JAK2V617F allel yükü %20'nin üzerinde olan hastaların %39'unda allel yükünde %50 ve üzerinde azalma saptanmıştır. Kemik iliği patolojisi üzerine etkisi kısıtlı bulunmuştur.

CEP-701, bir JAK2 ve FLT-3 inhibitörüdür. CEP-701, JAK2V617F pozitif PMF tanısı alan 22 hastada araştırılmıştır (53). İlacın oral olarak günde iki kez 80 mg kullanımı sonucunda 6'sında klinik iyileşme gözlenmiştir. Üç hastada dalak boyutu azalmış ve iki hastada eritrosit transfüzyon bağımsızlığı gelişmiştir. Hiçbir hastada kemik iliği fibrozisinde gerileme veya JAK2V617F allel yükünde azalma görülmemiştir. Yan etkileri arasında grade 1-2 bulantı, grade 1-2 kusma, grade 3-4 anemi, trombositopeni ve diare vardır. Sonuç olarak PMF'de JAK2 inhibitörlerinin yerini tartışmadan önce bu mekanizmayla etki eden daha çok ilaç araştırılmalıdır. Bu ilaçların yararlı etkilerinin anti-sitokin aktivitesinden kaynaklandığı söylenebilir.

Günümüzde ruxolitinibin panobinostat ile kombine kullanımını araştıran çalışmalar sürmektedir. Kromatin düzenleyici ilaçların PMF'deki tedavi edici potansiyeli umut verici olup iyi tasarlanmış klinik çalışmalarla değerlendirilmelidir.

JAK-STAT aktivasyonunun mTOR aktivasyonuna neden olduğu bilinmektedir. Bundan dolayı, PMF'de mTOR inhibitörlerinin terapötik aktivitesi araştırılmıştır. Bir faz 1/2 çalışmasında mTOR inhibitörü olan everolimus, 39 PMF'li hastanın %20'sinde dalak boyutunda %50'den fazla azalma, konstitüsyonel semptomlarda %69 ve pruristide %80 gerileme sağlamıştır (26). Anemi üzerine etki ise minimaldir ve JAK2V617F allel yükü üzerine etki gözlenmemiştir. En sık yan etkisi grade 1-2 stomatit olmakla beraber toplam sağkalım %23'dür.

Sonuç olarak etkili bir ilaç tedavisinin olmadığı bilinen, ortalama yaşam süresinin 5 yıldan kısa ve lösemik transformasyon riskinin %20'den fazla olduğu düşünülen PMF'li hastalarda nakil ilişkili komplikasyon riski göze alınmalıdır. Bu risk taşıyan grup, modifiye 'DIPSS' kriterlerine göre yüksek veya orta-2 risk grubunda olan hastalar, trombosit değeri <100.000/mm³ olan ve kötü karyotip anormallığı olan hastalardır.

Hidroksiüreye dirençli splenomegali sıklıkla splenektomi ile tedavi edilmektedir (45). Splenektominin diğer endikasyonları arasında semptomatik portal hipertansiyon, trombositopeni ve sık eritrosit transfüzyon ihtiyacı vardır. Bir çalışmada PMF hastalarının %75'inden fazlası splenektomiden fayda görmüştür ve ortalama yararı 1 yıl sürmüştür (44). Splenektominin yararları arasında transfüzyon bağımsızlığı ve trombositopeninin gerilemesi vardır. Komplikasyonlar arasında infeksiyonlar, abdominal ven trombozu ve kanama vardır. Perioperatif mortalite oranı %9'dur. Hastaların %14'ünde lösemik transformasyon saptanmıştır (3). Dalak ışınlaması (5-10 fraksiyon 100 cGy) dalak boyutunda geçici azalma sağlanmasına rağmen ciddi pansitopeniye neden olabilir. Dalak ve karaciğer dışında vertebra, lenf nodları, plevra ve peritonda ekstramedüller hematopoez görülebilir ve düşük doz radyoterapi ile etkili tedavi edilebilir (5-10 fraksiyon 100-1000 cGy). PMF ilişkili pulmoner hipertansiyonda tek fraksiyon (100 cGy) akciğer ışınlamasının etkili olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak ilaca dirençli splenomegali durumunda ilk basamak tedavide deneysel ilaçlar denenmelidir. Dirençli hastalarda splenektomi ve düşük doz radyoterapi akılcı alternatif tedavilerdendir (55). Splenektomi sonrasında tromboz gelişimi kısa süreli sistemik antikoagülan tedavisi ile önlenir.

Tablo IV. Primer Miyelofibrozis IPSS risk skorlaması

- Yaş > 65
- Hgb < 10 g/dl
- Lökosit sayısı > 25.000/mm³
- Dolaşan blast sayısı ≥ %1
- Konstitüsyonel semptomların varlığı

Skor: Her biri 1 puan olmak üzere; düşük risk 0 puan, orta-1 risk 1 puan, orta-2 risk 2 puan ve yüksek risk ≥ 3 puan

Primary myelofibrosis

Tablo V. Primer Miyelofibrozis DIPSS risk skorlaması

<ul style="list-style-type: none">Yaş > 65Hgb < 10 g/dlLökosit sayısı > 25.000/mm³Dolaşan blast sayısı ≥ %1Konstitüsyonel semptomların varlığı
--

Skor: Hgb < 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

Tablo VI. Primer Miyelofibrozis DIPSS-plus risk skorlaması

Yaş > 65
Hgb < 10 g/dl
Lökosit sayısı > 25.000/mm ³
Dolaşan blast sayısı ≥ %1
Konstitüsyonel semptomların varlığı
Eritrosit transfüzyon ihtiyacı
Trombositopeni (trombosit sayısı < 100.000/mm ³)
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)

Skor: 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

SEYİR VE PROGNOZ

PMF'de ortalama yaşam süresi seriden seriye değişmekle beraber ortalama 4 yıldır. Bunun yanında PMF'de bireysel yaşamın 1 yıl ile 30 yıl arasında değişebildiği bilinmektedir. Ölümün başlıca nedenleri enfeksiyon, lösemik transformasyon, kalp yetmezliği, kanama, karaciğerin ekstramedüller hematopoezine bağlı karaciğer yetmezliği, portal hipertansiyon, renal yetersizlik, pulmoner emboli ve nakil ilişkili komplikasyonlardır. Akut lösemi insidensi değişik serilerde %5 ile %22 arasında değişmektedir (50, 52). Akut lösemi gelişen hastaların yaklaşık yarısında alkilleyici ajan veya radyoterapi öyküsü olmamasından yola çıkarak akut lösemi dönüşümünün PMF'de doğal seyrin bir parçası olduğu düşünülmektedir. Tanıdan 1 yıl ve 5 yıl sonra akut lösemiden ölüm sıklığı %2 ve %16 olarak bildirilmiştir. Prognozla ilişkili faktörler arasında anemi, tanı yaşı, karyotip anormalliği, dolaşımdaki immatür granülositler ve miyeloblastların yüzdesi vardır (35, 61). Ayrıca kollagen fibrozis derecesinden farklı olarak anjiogenezisin derecesi OS için önemli ve bağımsız risk faktörüdür (52). Kromozom 5, 7 veya 17'yi içeren belirli klonal sitogenetik anormalliklerin kısa OS ile ilişkisi bilinmekle beraber 13q veya 20q'daki anormallikler PMF'de yaşam süresini etkilememektedir.

Tablo VII'de 'IPSS', 'DIPSS' ve 'DIPSS-plus' skorlamasına göre PMF'deki ortalama yaşam süreleri özetlenmiştir (17, 24, 47).

Tablo VII. 'IPSS', 'DIPSS' ve 'DIPSS-plus' skorlamasına göre PMF'deki ortalama yaşam süreleri

IPSS	Risk Faktörü	Sağkalım (yıl)
Düşük risk	0	11.3
Orta-1 risk	1	7.9
Orta-2 risk	2	4
Yüksek	≥3	2.3
DIPSS	Risk Faktörü	Sağkalım (yıl)
Düşük risk	0	-
Orta-1 risk	1-2	14.2
Orta-2 risk	3-4	4
Yüksek	5-6	1.5
DIPSS-plus	Risk Faktörü	Sağkalım (yıl)
Düşük risk	0	15.4
Orta-1 risk	1	6.5
Orta-2 risk	2-3	2.9
Yüksek	≥4	1.3

SON SÖZ

PMF'de kötü OS ile ilişkili faktörler arasında JAK2 46/1 haplotipi, düşük JAK2V617F allel yükü, IDH, EZH2, SRSF2 veya ASXL1 mutasyonları vardır. Bunun tersi olarak JAK2V617F, MPL veya TET2 mutasyonları yaşamı etkilemiyor gibi görünmektedir (55, 58). Lösemi transformasyonu için risk faktörleri arasında dolaşımda blast sayısının %3'ün üzerinde olması, trombosit sayısının 100.000/mm³'den az olması ve kötü karyotip anormalliğinin varlığı sayılmaktadır (28). Bir çalışmaya göre lösemi transformasyonu için en önemli iki faktör, trombosit sayısının 100.000/mm³'den az olması ve kötü karyotip anormalliğinin varlığıdır (24). Risk faktörlerinin yokluğunda 10 yıllık lösemik transformasyon riski %12 iken bir veya iki risk faktörünün varlığında lösemiye dönüşüm riski %31'dir. Ayrıca IDH ve SRSF2 mutasyonlarının LFS'ı etkilediği bildirilmiştir (37). Buna ek olarak eritropoetin tedavisi veya androjen kullanımının akut lösemiye progresyon riskini arttırdığı bilinmektedir (28).

PMF'de altta yatan hücrel ve moleküler biyolojik anormalliklerin daha iyi anlaşılması sonucunda daha akılcı tedaviler geliştirilebilir. Kazanılmış mutasyonların ve epigenetik olayların yanısıra kemik iliği ve dalak mikroçevresinin PMF gelişimi, hastalık progresyonu ve lösemik transformasyon sürecine etkisini araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır. PMF

hematopoetik kök hücre düzeyinden köken aldığı için malign kök hücreleri hedefleyecek yeni ajanların geliştirilebilmesi en önemli küratif tedavi seçeneği olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Ballen KK, Shrestha S, Sobocinski KA, Zhang MJ, Bashey A, Bolwell BJ, Cervantes F, Devine SM, Gale RP, Gupta V, Hahn TE, Hogan WJ, Kröger N, Litzow MR, Marks DI, Maziarz RT, McCarthy PL, Schiller G, Schouten HC, Roy V, Wiernik PH, Horowitz MM, Giralt SA, Arora M. Outcome of transplantation for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010;16(3):358-67.
2. Barosi G. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2003;17(5):1211-26.
3. Barosi G, Ambrosetti A, Centra A, Falcone A, Finelli C, Foa P, Grossi A, Guarnone R, Rupoli S, Luciano L, Petti MC, Pogliani E, Russo D, Ruggeri M, Quaglini S. Splenectomy and risk of blast transformation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. Italian Cooperative Study Group on Myeloid with Myeloid Metaplasia. *Blood.* 1998;91(10):3630-6.
4. 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;98(12):3249-55.
5. 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;365(9464):1054-61.
6. Begna KH, Mesa RA, Pardanani A, Hogan WJ, Litzow MR, McClure RF, Tefferi A. A phase-2 trial of low-dose pomalidomide in myelofibrosis. *Leukemia.* 2011 Feb;25(2):301-4. Epub 2010 Nov 5.
7. Bench AJ, Nacheva EP, Champion KM, Green AR. Molecular genetics and cytogenetics of myeloproliferative disorders. *Baillieres Clin Haematol.* 1998;11(4):819-48.
8. Bird GW, Wingham J, Richardson SG. Myelofibrosis, autoimmune haemolytic anaemia and Tn-polyagglutinability. *Haematologia (Budap).* 1985;18(2):99-103.
9. 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;119(1):152-8.
10. Buschle M, Janssen JW, Drexler H, Lyons J, Anger B, Bartram CR. Evidence for pluripotent stem cell origin of idiopathic myelofibrosis: clonal analysis of a case characterized by a N-ras gene mutation. *Leukemia.* 1988;2(10):658-60.
11. 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;49(1):17-21.

12. 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;25(1):82-8..
13. Carlo-Stella C, Cazzola M, Gasner A, Barosi G, Dezza L, Meloni F, Pedrazzoli P, Hoelzer D, Ascarì E. Effects of recombinant alpha and gamma interferons on the in vitro growth of circulating hematopoietic progenitor cells (CFU-GEMM, CFU-Mk, BFU-E, and CFU-GM) from patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood.* 1987;70(4):1014-9.
14. Castro-Malaspina H, Rabellino EM, Yen A, Nachman RL, Moore MA. Human megakaryocyte stimulation of proliferation of bone marrow fibroblasts. *Blood.* 1981;57(4):781-7.
15. 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;127(4):399-403. Review.
16. 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;102(3):684-90.
17. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood.* 2009;113:2895-2901.
18. Cervantes F, Mesa R, Barosi G. New and old treatment modalities in primary myelofibrosis. *Cancer J.* 2007;13(6):377-83.
19. Cox MC, Panetta P, Venditti A, Abruzzese E, Del Poeta G, Cantonetti M, Amadori S. New reciprocal translocation t(6;10) (q27;q11) associated with idiopathic myelofibrosis and eosinophilia. *Leuk Res.* 2001;25(4):349-51.
20. 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;72(3):855-9.
21. 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;130(2):229-32.
22. Eriksson KA, Sigvaldason A, Lindholm A, Safai-Kutti S, Kutti J. Platelet activation in response to phlebotomy. An experimental study of healthy blood donors. *Acta Med Scand.* 1982;212(3):121-3.
23. Gaidano G, Guerrasio A, Serra A, Carozzi F, Cambrin GR, Petroni D, Saglio G. Mutations in the

- P53 and RAS family genes are associated with tumor progression of BCR/ABL negative chronic myeloproliferative disorders. *Leukemia*. 1993;7(7):946-53.
24. 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;29(4):392-7.
 25. Giraudier S, Chagraoui H, Komura E, Barnache S, Blanchet B, LeCouedic JP, Smith DF, Larbret F, Taksin AL, Moreau-Gachelin F, Casadevall N, Tulliez M, Hulin A, Debili N, Vainchenker W. Overexpression of FKBP51 in idiopathic myelofibrosis regulates the growth factor independence of megakaryocyte progenitors. *Blood*. 2002;100(8):2932-40.
 26. Guglielmelli P, Barosi G, Rambaldi A, Marchioli R, Masciulli A, Tozzi L, Biamonte F, Bartalucci N, Gattoni E, Lupo ML, Finazzi G, Pancrazzi A, Antonioli E, Susini MC, Pieri L, Malevolti E, Usala E, Occhini U, Grossi A, Caglio S, Paratore S, Bosi A, Barbui T, Vannucchi AM; AIRC-Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative (AGIMM) investigators. Safety and efficacy of everolimus, a mTOR inhibitor, as single agent in a phase 1/2 study in patients with myelofibrosis. *Blood*. 2011;118(8):2069-76.
 27. Hernández JM, San Miguel JF, González M, Orfao A, Cañizo MC, Bascones C, Hernández J, López Borrasca A. Development of acute leukaemia after idiopathic myelofibrosis. *J Clin Pathol*. 1992;45(5):427-30.
 28. 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;112(12):2726-32.
 29. Huang J, Tefferi A. Erythropoiesis stimulating agents have limited therapeutic activity in transfusion-dependent patients with primary myelofibrosis regardless of serum erythropoietin level. *Eur J Haematol*. 2009 Aug;83(2):154-5. doi: 10.1111/j.1600-0609.2009.01266.x. Epub 2009 Apr 10.
 30. James C, Ugo V, Le Couedic 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;434(7037):1144-8.
 31. Jones LC, Tefferi A, Vuong PT, Desmond JC, Hofmann WK, Koeffler HP. Detection of aberrant gene expression in CD34+ hematopoietic stem cells from patients with agnogenic myeloid metaplasia using oligonucleotide microarrays. *Stem Cells*. 2005;23(5):631-7.
 32. Jowitt SN, Burke DK, Leggat HM, Lewis PS, Cryer RJ. Pleural effusion secondary to extramedullary haemopoiesis in a patient with idiopathic myelofibrosis responding to pleurodesis and hydroxyurea. *Clin Lab Haematol*. 1997;19(4):283-5.
 33. Kahn A, Bernard JF, Cottreau D, Marie J, Boivin P. Gd(-) Abrami: a deficient G-6PD variant with hemizygous expression in blood cells of a woman with primary myelofibrosis. *Humangenetik*. 1975;30(1):41-6.
 34. 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;352(17):1779-90.
 35. Kreft A, Weiss M, Wiese B, Choritz H, Buhr T, Büsche G, Georgii A. Chronic idiopathic myelofibrosis: prognostic impact of myelofibrosis and clinical parameters on event-free survival in 122 patients who presented in prefibrotic and fibrotic stages. A retrospective study identifying subgroups of different prognoses by using the RECPAM method. *Ann Hematol*. 2003;82(10):605-11.
 36. Kreipe H, Jaquet K, Felgner J, Radzun HJ, Parwaresch MR. Clonal granulocytes and bone marrow cells in the cellular phase of agnogenic myeloid metaplasia. *Blood*. 1991;78(7):1814-7.
 37. Lasho TL, Jimma T, Finke CM, Patnaik M, Hanson CA, Ketterling RP, Pardanani A, Tefferi A. SRSF2 mutations in primary myelofibrosis: significant clustering with IDH mutations and independent association with inferior overall and leukemia-free survival. *Blood*. 2012;120(20):4168-71.
 38. 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;7(4):387-97.
 39. Ligumski M, Polliack A, Benbassat J. Myeloid metaplasia of the central nervous system in patients with myelofibrosis and agnogenic myeloid metaplasia. Report of 3 cases and review of the literature. *Am J Med Sci*. 1978;275(1):99-103.
 40. Loewy G, Mathew A, Distenfeld A. Skin manifestation of agnogenic myeloid metaplasia. *Am J Hematol*. 1994;45(2):167-70.
 41. Martínez-Trillos A, Gaya A, Maffioli M, Arellano-Rodrigo E, Calvo X, Díaz-Beyá M, Cervantes F. Efficacy and tolerability of hydroxyurea in the treatment of the hyperproliferative manifestations of myelofibrosis: results in 40 patients. *Ann Hematol*. 2010;89(12):1233-7.
 42. Mascarenhas J, Lu M, Li T, Petersen B, Hochman T, Najfeld V, Goldberg JD, Hoffman R. A phase I study of panobinostat (LBH589) in patients with primary myelofibrosis (PMF) and post-polycythaemia vera/essential thrombocythaemia

- myelofibrosis (post-PV/ET MF). *Br J Haematol.* 2013;161(1):68-75.
43. Mesa RA, Li CY, Ketterling RP, Schroeder GS, Knudson RA, Tefferi A. Leukemic transformation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a single-institution experience with 91 cases. *Blood.* 2005;105(3):973-7.
 44. 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;107:361–370.
 45. Mishchenko E, Tefferi A. Treatment options for hydroxyurea-refractory disease complications in myeloproliferative neoplasms: JAK2 inhibitors, radiotherapy, splenectomy and transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Eur J Haematol.* 2010;85(3):192-9.
 46. Pardanani A, Gotlib JR, Jamieson C, Cortes JE, Talpaz M, Stone RM, Silverman MH, Gilliland DG, Shorr J, Tefferi A. Safety and efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in myelofibrosis. *J Clin Oncol.* 2011;29(7):789-96.
 47. 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;115(9):1703-8.
 48. 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.
 49. Rege-Cambrin G, Speleman F, Kerim S, Scaravaglio P, Carozzi F, Dal Cin P, Michaux JL, Offner F, Saglio G, Van den Berghe H. Extra translocation +der(1q9p) is a prognostic indicator in myeloproliferative disorders. *Leukemia.* 1991;5(12):1059-63.
 50. Reilly JT, Snowden JA, Spearing RL, Fitzgerald PM, Jones N, Watmore A, Potter A. Cytogenetic abnormalities and their prognostic significance in idiopathic myelofibrosis: a study of 106 cases. *Br J Haematol.* 1997;98(1):96-102.
 51. Reilly JT, Wilson G, Barnett D, Watmore A, Potter A. Karyotypic and ras gene mutational analysis in idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol.* 1994;88(3):575-81.
 52. Rupoli S, Da Lio L, Sisti S, Campanati G, Salvi A, Brianzoni MF, D'Amico S, Cinciripini A, Leoni P. Primary myelofibrosis: a detailed statistical analysis of the clinicopathological variables influencing survival. *Ann Hematol.* 1994;68(4):205-12.
 53. Santos FP, Kantarjian HM, Jain N, Manshouri T, Thomas DA, Garcia-Manero G, Kennedy D, Estrov Z, Cortes J, Verstovsek S. Phase 2 study of CEP-701, an orally available JAK2 inhibitor, in patients with primary or post-polycythemia vera/essential thrombocythemia myelofibrosis. *Blood.* 2010;115(6):1131-6..
 54. Taksin AL, Couedic JP, Dusanter-Fourt I, Massé A, Giraudier S, Katz A, Wendling F, Vainchenker W, Casadevall N, Debili N. Autonomous megakaryocyte growth in essential thrombocythemia and idiopathic myelofibrosis is not related to a c-mpl mutation or to an autocrine stimulation by Mpl-L. *Blood.* 1999;93(1):125-39.
 55. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol.* 2013;88(2):141-50.
 56. 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;108(4):1158-64. Epub 2006 Apr 11.
 57. Tefferi A, Elliot MA, Yoon SY, Li CY, Mesa RA, Call TG, Dispenzieri A. Clinical and bone marrow effects of interferon alfa therapy in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood.* 2001 Mar 15;97(6):1896.
 58. 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;22(4):756-61.
 59. 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;21(8):1827-8. Epub 2007 Apr 26.
 60. Tefferi A, Litzow MR, Pardanani A. Long-term outcome of treatment with ruxolitinib in myelofibrosis. *N Engl J Med.* 2011;365(15):1455-7.
 61. 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.
 62. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia.* 2008; 22(1):14-22. Comment in: *Leukemia.* 2008;22(11):2118-9.
 63. Tefferi A, Verstovsek S, Barosi G, Passamonti F, Roboz GJ, Gisslinger H, Paquette RL, Cervantes F, Rivera CE, Deeg HJ, Thiele J, Kvasnicka HM, Vardiman JW, Zhang Y, Bekele BN, Mesa RA, Gale RP, Kantarjian HM. Pomalidomide is active in the treatment of anemia associated with myelofibrosis. *J Clin Oncol.* 2009;27(27):4563-9.
 64. Thomas DA, Giles FJ, Albitar M, Cortes JE, Verstovsek S, Faderl S, O'Brien SM, Garcia-Manero G, Keating MJ, Pierce S, Zeldis J, Kantarjian HM.

- Thalidomide therapy for myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Cancer*. 2006;106(9):1974-84.
65. 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: demonstration of heterogeneity in lineage involvement. *Br J Haematol*. 1994;86(2):253-8.
66. Verstovsek S, Kantarjian H, Mesa RA, Pardanani AD, Cortes-Franco J, Thomas DA, 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;363(12):1117-27.
67. Wang JC, Chen C. P16 gene deletions and point mutations in patients with agnogenic myeloid metaplasia (AMM). *Leuk Res*. 1999;23(7):631-5.
68. Wanless IR, Peterson P, Das A, Boitnott JK, Moore GW, Bernier V. Hepatic vascular disease and portal hypertension in polycythemia vera and agnogenic myeloid metaplasia: a clinicopathological study of 145 patients examined at autopsy. *Hepatology*. 1990;12(5):1166-74.
69. Williams ME, Innes DJ, Hutchison WT, Hess CE. Extramedullary hematopoiesis. A cause of severe generalized lymphadenopathy in agnogenic myeloid metaplasia. *Arch Intern Med*. 1985;145(7):1308-9.
70. Yotsumoto M, Ishida F, Ito T, Ueno M, Kitano K, Kiyosawa K. Idiopathic myelofibrosis with refractory massive ascites. *Intern Med*. 2003;42(6):525-8.
71. Zojer N, Meran JG, Vesely M, Gruner H, Ackermann J, Dellinger C, Zimmer-Roth I, Heinz R, Drach J, Ludwig H. Trisomy 13 is associated with poor prognosis in idiopathic myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Leuk Lymphoma*. 1999;35(3-4):415-21.