



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

JAK2V617F MUTASYONU POZİTİF MİYELOPROLİFERATİF
HASTALIKLARDA GSTM1, GSTT1, GSTP1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Ali TOPAK

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2015



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

JAK2V617F MUTASYONU POZİTİF MİYELOPROLİFERATİF
HASTALIKLARDA GSTM1, GSTT1, GSTP1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Ali TOPAK

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Tahsin YAKUT

BURSA-2015

İÇİNDEKİLER

Özet	ii
İngilizce Özet	iii
Giriş	1
Gereç ve Yöntem	22
Bulgular	28
Tartışma ve Sonuç	45
Kaynaklar	51
Teşekkür	59
Özgeçmiş	60

ÖZET

Bazı kanser türlerine yatkınlık ile Faz II detoksifikasyon reaksiyonlarında yer alan Glutasyon-S-Transferaz (GST) enzimi genlerinin polimorfizmleri arasında ilişki gösterilmiştir. Bu çalışmada, Miyeloproliferatif hastalıklar ile GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Çalışmamıza, 57 Polisitemia Vera (PV), 61 Esansiyel Trombositoz (ET) tanılı hasta ve herhangi bir kanser öyküsü olmayan 108 kontrol dahil edildi. Hasta grubu ve kontrol grubunun arşiv DNA materyallerine bu hastalıkların gelişimi ile ilişkili olabilecek GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi için polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism=PCR-RFLP) yöntemi uygulandı. GSTT1 ve GSTM1 gen polimorfizmlerini belirlemede Multiplex PCR kullanıldı. İstatistiksel analizde $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Çalışmamızda JAK2V617F mutasyonu pozitif miyeloproliferatif hastalık ile GSTT1 delesyon polimorfizmi ve GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmleri arasında ilişki saptanmazken, GSTM1 delesyon polimorfizmi hasta grubunda anlamlı olarak yüksek saptandı. Miyeloproliferatif hasta grubunda vasküler olay geçirme oranının kronik hastalık birlikteliği ile arttığını tespit ettik.

Bulgularımız JAK2V617F mutasyonu pozitif miyeloproliferatif hastalık ile GSTM1 delesyon polimorfizmi arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Gelecekte daha fazla olgu ile yapılan çalışmalar miyeloproliferatif hastalık ve GST gen polimorfizmleri ilişkisinin desteklenmesine yardımcı olacaktır.

Anahtar kelimeler: Miyeloproliferatif hastalık, Glutasyon-S-Transferaz, GSTM1, GSTT1, GSTP1

SUMMARY

INVESTIGATION OF GSTM1, GSTT1, GSTP1 GENE POLYMORPHISMS IN JAK2 V617F MUTATION POSITIVE CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE DISORDERS

There is an established relationship between predisposition to several cancer types and polymorphisms of genes of Glutathione-S-Transferase (GST) enzyme that takes part in phase II detoxification reactions. The aim of this study is to investigate the relationship between GSTT1, GSTM1, and GSTP1 (Ile105Val) gene polymorphisms and myeloproliferative diseases.

In this study, 57 patients with polycythemia vera (PV), 61 patients with essential thrombocytosis (ET), and 108 control subjects without history of cancer were enrolled. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method was applied to archived DNA materials of patient and control groups in order to detect the GSTP1 (Ile105Val) gene polymorphism. Multiplex PCR was performed to research polymorphisms of GSTT1 and GSTM1 genes. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

We did not find a relationship between JAK2V617F mutant myeloproliferative disease and GSTT1 deletion polymorphism and GSTP1 (Ile105Val) gene polymorphisms. However, GSTM1 deletion polymorphism was significantly higher in the patient group. We detected that the rate to have a vascular incidence increased with coexistence of chronic diseases in myeloproliferative patients' group.

Our results suggest that there is a relationship between JAK2V617F mutant myeloproliferative disease and GSTM1 deletion polymorphism. Further studies with larger patient groups are required in order to substantiate the relationship between GST gene polymorphisms and myeloproliferative diseases.

Keywords: Myeloproliferative disease, Glutathione-S-Transferase, GSTM1, GSTT1, GSTP1

GİRİŞ

Kronik miyeloproliferatif hastalıklar multipotent kök hücrelerin bir veya birkaç kan hücre serisinde aşırı çoğalması ile karakterize hastalıklardır (1). İlk kez 1951'de miyeloproliferatif bozuklukları William Dameshek tanımlamıştır. Kronik miyelositik lösemi (KML), polisitemia vera (PV), esansiyal trombositoz (ET), agnojenik miyeloid metaplazi (AMM) (primer miyelofibrozis) (PMF) ve eritrolösemi (Di Guglielmo sendromu) bu gruptaki hastalıklar olarak değerlendirmiştir (2). Kronik miyeloid neoplazmların revize edilmiş 2008 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflandırmasında 'hastalık' terimi, 'neoplazm' tanımı ile yer değiştirmiştir (3). Bununla birlikte, Philadelphia (Ph) kromozomu ve bcr/abl translokasyon varlığı ve kendine özgü klinik özellikleri ile KML ayrı bir hastalık olarak görülmektedir (4). KML dışı miyeloproliferatif hastalıklar için 2008 DSÖ tanı kriterlerindeki değişikliklere Janus Kinaz 2 (JAK2) mutasyonlarının bulunması öncülük etmiştir (5). JAK2 mutasyonu miyeloid neoplazmlara spesifiktir ve polisiteminin diğer nedenlerinde bulunmamaktadır (6). JAK2 mutasyonu PV hastalarının %90-95' inde, ET hastalarının %50-70' inde, AMM hastaların %40-50' sinde gösterilmiştir (7,8).

Miyeloproliferatif hastalıklarda tromboembolik ve hemorajik olaylar morbidite ve mortaliteden sorumlu önemli ve sık görülen komplikasyonlardır. Arteriyel veya venöz tromboembolik olaylar görülebilir. En sık görülen arteriyel olaylar arasında, iskemik serebrovasküler olay, geçici iskemik atak, miyokard infarktüsü, anjina pectoris, periferel arteriyel hastalık ve eritromelalji sayılabilir. Sık görülen venöz tromboembolik olaylar arasında derin ven trombozu, pulmoner emboli, splenik ven trombozu, portal ven trombozu, budd-chiari sendromu ve yüzeysel tromboflebitler sayılabilir (9-11).

Tromboembolik ve hemorajik komplikasyonların dışında daha nadir olarak sekonder miyelofibrozis ve sekonder lösemik dönüşüm görülebilir. PV'de %10-12, ET'de %3-4 oranında sekonder miyelofibrozis görülür (8-10). ET'de %1'in altında, PV'de %6, AMM 'de %10 oranında da sekonder lösemik

dönüşüm görülür (12,13). 2008 DSÖ tanı kriterlerindeki değişikliklerle PV'nin de içinde yer aldığı miyeloproliferatif hastalıklar son halini almıştır (Tablo-1) (14).

Tablo-1: Kronik miyeloid neoplazmların 2008 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflandırma şeması

<p>1. Miyeloproliferatif neoplazmlar (MPN)</p> <p>a) Ph(+) Kronik miyelositik lösemi b) Kronik nötrofilik lösemi c) Polisitemi vera d) Primer miyelofibrozis e) Esansiyal trombositoz f) Kronik eozinofilik lösemi, başka şekilde sınıflandırılmamış g) Hipereozinofilik sendrom h) Mast hücre hastalığı ı) MPNs (sınıflandırılmayan)</p> <p>2. Eozinofili ve PDGFR-α, PDGFR-β veya FGFR1 anomalileri ile birliktelik gösteren miyeloid neoplazmlar</p> <p>3. Miyelodisplastik sendromlar/ Miyeloproliferatif neoplazmlar (MDS/MPN)</p> <p>a) Kronik miyelomonositik lösemi b) Juvenil miyelomonositik lösemi c) Atipik kronik miyeloid lösemi d) Refrakter anemi ile ilişkili ring sideroblastlı işaretlenmiş trombositoz</p> <p>4. Miyelodisplastik sendromlar (MDS)</p>

PDGFR: Platelet-derived growth factor receptor

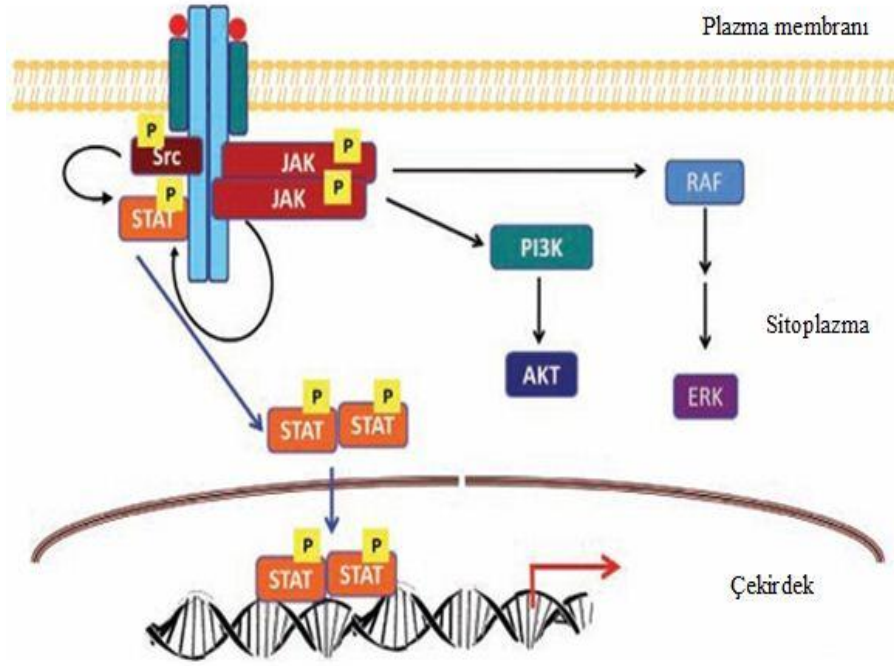
FGFR: Fibroblast growth factor receptor

JAK2V617F Mutasyonu

Hematopoietik hücrelerin; farklılaşma, büyüme ve devamlılığı, sitokin adı verilen, büyüme faktörlerinin bir grubu tarafından kontrol edilmektedir. Sitokinler kendi reseptörlerine bağlanarak, Janus Kinaz ailesinin reseptör ilişkili tirozin kinazlarının aktivasyonuna ve dolayısı ile hücre içi sinyal iletimine neden olurlar (15). Janus kinaz 2 çeşitli hematopoetik büyüme faktörü reseptörlerinden alınan uyarıların algılanmasında kilit rol oynayan bir sitoplazmik tirozin kinaz enzimidir (16).

Bu mutasyon, kinaz bölgesini negatif yönde düzenleyen psödokinaz bölgesinde veya JH2 bölgesindedir (17). JAK2, eritropoetin, trombopoetin, interlökin-3, "granülosit koloni-stimulan faktör" GCSF ve "granülosit- makrofaj koloni stimulan faktör" GM-CSF reseptörlerinden sinyalizasyonun başlamasında çok temel bir role sahiptir (18,19). JAK2 endoplazmik retikulumdaki eritropoetin reseptörüne bağlanır ve onun hücre- yüzeyi

ekspresyonu için gereklidir. Eritropoetin, reseptörüne bağlandığı zaman reseptörde JAK2'nin fosforilasyon ve aktivasyonu ile sonuçlanan yapısal bir değişikliği uyarır (20-22). Daha sonra, aktive JAK2, intrasellüler sinyalizasyon zincirini başlatması için reseptörün sitoplazmik kısmını fosforiller. JAK2V617F mutasyonu ise büyüme faktöründen bağımsız olarak anormal hematopoeze yol açan bir durumdur. JAK2 geninin 1849. nükleotid 14. eksonunda G-T değişimi, JAK2 proteininin 617. aminoasid pozisyonunda valinin fenilalaninle yer değiştirmesine (V617F) neden olur (23-25). Miyeloproliferatif hastalıklardaki JAK2V617F mutasyonu germ hücrelerinde olmamakla birlikte, kazanılmış somatik mutasyondur. Mutasyon PV hastalarının %95'inde, ET'li hastaların %50-60'ında gösterilmiştir (7,8). JAK2V617F mutasyonu miyeloproliferatif hastalık tanısında değerlidir ancak, PV, ET veya PMF arasında ayırım yapmada kullanılmamaktadır (3,26). Hastalarda JAK2V617F mutasyonu taşıyan allel hastalığın fenotipini ve kliniğini etkiler (16). Mutasyon aynı zamanda hipereozinofilik sendrom, kronik miyelomonositik lösemi, kronik nötrofilik lösemi, miyelodisplazi veya akut miyeloid lösemi hastalarının çok azında bulunmuştur. Ancak, lenfoid veya başka bir kanseri olan veya hematolojik bozukluğu olmayan hastalarda bulunmamıştır (27,28). Mutant JAK2 proteini, gen transkripsiyonu, apoptoz, hüce siklusu ve differansiyasyonu üzerinde etkili çok sayıda sinyalizasyon yolağını aktive eder (Şekil-1) (23,24,29).



Şekil-1: JAK/STAT aracılı sinyal iletimi (29)

Polistemia Vera

PV kemik iliğinde eritroid seride daha belirgin olmak üzere miyeloid ve megakaryositik serilerde artış, venöz ve arteryel trombozların izlendiği klonal miyeloproliferatif bir hastalıktır. İlk kez 1892 yılında Vaquez tarafından bildirilmiş olan PV 1951'de William Dameshek tarafından miyeloproliferatif bozukluklar içerisinde yeniden sınıflandırılmıştır. 2008 DSÖ tanı kriterlerindeki değişikliklerle PV'nin de içinde yer aldığı miyeloproliferatif hastalıklar son halini almıştır (14).

Genelde edinsel bir miyeloproliferatif hastalık olarak görülen ve klonal bir kemik iliği hastalığı olan PV'nin etiopatogenezinde çevresel ve genetik faktörlerin rol oynadığı bilinmektedir. Yakın zamana kadar moleküler genetik etiyojisi ve fizyopatolojisi açıklığa kavuşmamış olan PV'de, 2005 senesinde JAK2-V617F mutasyonunun bulunması, hem hastalığın patogenezinin anlaşılmasında ve tanımlanmasında yeniliklere yol açmış, hem de ileride moleküler hedefli yeni tedavi fırsatları ortaya çıkarmıştır (30-32). Olguların yaklaşık olarak %60'ı erkektir. Yapılan bir çalışmada PV insidansı 1,9 olgu/100.000 popülasyon/yıl olarak bildirilmiştir (33). Ortalama yaşam

beklentisi tedavi edilmeyen olgularda 6-18 ay, tedavi edilen olgularda ise ortalama 11-15 yıl olarak saptanmıştır (34).

Patofizyoloji

Multipotent hematopoetik öncül hücre hastalığı olması dolayısı ile PV'de her üç seride de hiperplazi gözlenir. Ancak eritrositoz en belirgin klinik bulgudur ve komplikasyonların başlıca sebebidir (35,36). Eritropoezin en önemli düzenleyicisi eritropoetin (EPO)'dir. PV'deki eritroid öncülleri, poliklonal eritroid öncüllerin aksine düşük EPO seviyelerinde dahi gelişimini tamamlayabilme özelliğine sahiptirler. PV'li hastalardan elde edilen erken eritroid öncü hücrelerinin kültür ortamlarında eritropoetin olmaksızın çoğalabildikleri gösterilmiştir (37). Hücre kültür çalışmaları PV'li hastalarda kök hücre faktörü (SCF), interlökin-3 (IL-3), granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) ve insüline benzer büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve trombopoetine (TPO) olan aşırı duyarlılığı ortaya koymuştur (38). PV'li hastalarda diğer miyeloproliferatif hastalıklara göre Bcl-x1 (B-hücre lenfoma gen) ekspresyonundaki artma sebebi ile apoptoz da azalma olduğu ve yüksek telomeraz aktivitesine sahip oldukları rapor edilmiştir. Bundan dolayı PV'li hastalarda eritroid progenitor hücreler normale göre daha hızlı bölünmez, ancak normal olarak ölmedikleri için birikirler (39,40).

Modern teknikler kullanılarak yapılan sitogenetik çalışmalarda PV'li hastaların %20-43'ünde sitogenetik anormallik bulunur ve en sık gözlenen sitogenetik anormallik 20. kromozomun uzun kolundaki delesyondur (%8,5). Trizomi 8 ve 9 (%6) görülebilmektedir. PV'daki diğer kromozom anormallikleri 7. veya 13. kromozomun kısa kolunda delesyon (%3); Y, 5q, 6q, 7q, 11q, 20q delesyonudur. Özellikle miyelosupressif tedavi altında olan hastalarda kromozom anormallikleri daha sıktır (%45). Bu durum tedavinin lökomojenik etkisi veya hastalığın progresyonu ile ilişkili olabilir. Hastalık başladıktan 10 yıl sonra kromozom anormallikleri hastaların %80'inden fazlasında gözlenmektedir (41,42).

2005 yılında yapılan çalışmalarda KML dışı miyeloproliferatif hastalıkların çoğunda JAK2 geninde edinilmiş noktasal mutasyon (617.

kodonda fenilalanin-valin yer değiştirmesi, V617F) olduğu gösterilmiştir. Bu durum JAK2 mutasyonu olarak tanımlanmıştır (5,30). Bir sitoplazmik tirozin kinaz olan JAK2 EPO, TPO, IL-3, GM-CSF reseptörleri üzerinden, intrasellüler sinyal iletiminde önemli rol oynar (18,19). Biyokimyasal alışmalar JAK2 V617F mutasyonunun hücre içi sinyal yollarında sitokinden bağımsız aktivasyonuna yol açtığını göstermiştir (24). JAK2 mutasyonu PV'li hastaların yaklaşık olarak %95'inde bulunur (7).

Klinik

Neoplastik hücrelerin kemik iliğinde ve periferde kontrolsüz olarak proliferasyonu ve kan vizkositesinin artması sonucunda klinik semptomlar ve bulgular ortaya çıkar. Semptomlar arasında genellikle baş ağrısı ve baş dönmesi, halsizlik, kilo kaybı, görme bozuklukları, paresteziler, artralji ve kaşıntı görülür. Bunun yanında bazı PV hastaları asemptomatik olup, herhangi bir nedenle tam kan sayımı yapıldığında rastlantısal olarak hematokrit yksekligi saptanması sonrasında tanı alır (43). Yüz görünümü kırmızıdır, hafif siyanoz mevcuttur. Özellikle sıcak ile ortaya çıkan ve soğukta azalan parmaklardaki yanma duygusu şeklinde olan eritromelalji olağandır. PV lserasyonla beraber veya ülserasyon olmaksızın parmaklarda iskemi oluşturan hastalıkların başında gelir. Hastaların %50'sinden fazlasında genellikle bir duş veya banyodan sonra kendini gösteren yaygın kaşıntı olmaktadır. Hemorajik komplikasyonlar %2-10 oranında görülür (42,44). Ekimoz, epistaksis, diş eti kanaması doğaldır. Deride kahverengi-siyah pigmentasyon gözlenebilir (45). Hastaların yarısında arteriyel ve venöz tromboembolik olaylar mevcuttur ve fatal seyredebilir (44). Fatal seyreden tromboembolilerin büyük kısmı arteriyel kaynaklıdır. Trombotik olaylar sıklık sırasına göre; inme, geçici iskemik atak, miyokard enfarktüsü, derin ven trombozu, pulmoner tromboemboli ve Budd-Chiari sendromudur (45,46). PV'li hastalardaki hipertansiyon artmış kan vizkositesinin bir sonucudur. Bu hastalarda peptik ülser, gastrointestinal sistem kanaması ve mezenterik damarlarda tromboz gelişme insidansı yüksektir. Hastaların 2/3' ünde splenomegali mevcuttur (44). Hastaların %60-80' inde sinir sistemi ile ilgili semptomlar mevcuttur. Baş ağrısı en sık semptomdur (47). Genellikle PV

teşhisi konulduktan 10 yıl sonra hastaların %5-50'sinde; splenomegalide artma, lökoeritroblastik kan tablosu, kemik iliği fibrozisi, periferik yaymada göz yaşı hücrelerinin varlığı, normal ya da azalmış eritrosit kitlesinin varlığı ile kendini gösteren postpolistemik myeloid metaplazi (PPMM) gelişmektedir (48). PV' da akut lösemiye transformasyon riski (lösemik faz) armıştır. Bu risk postpolistemik miyeloid metaplazi fazındaki olgularda çok daha yüksektir. Dönüşüm sıklıkla AML ve MDS, nadiren de KML şeklinde gerçekleşir. AML ye transforme olgular tedaviye dirençlidir (43).

Laboratuvar

Tam kan sayımında hastalarda hemoglobin, hematokrit ve eritrosit sayılarında belirgin artış gözlenir. Periferik yaymada eritrositlerin görünümü genellikle normaldir. Kanama yoksa retikülosit artışı gözlenmez. Gastrointestinal kan kaybı olan veya flebotomi tedavisi alan hastalarda eritrosit sayısı, hemoglobin ve hematokrit düzeyinden bağımsız olarak artabilir. Hastaların 2/3'ünde lökosit sayıları artmıştır. Trombosit sayısı genellikle $500-1.000 \times 10^3 / \text{mm}^3$ 'dür. Trombositler anormal çap ve görünümde olabilirler (41,49). Eritrosit kitlesi radyoaktif P32 veya Cr 51 ile işaretli eritrositlerin ölçülmesine dayanır. Eritrositozu olan hastaların ölçülen eritrosit kitlesi, o hasta için ortalama beklenen normal eritrosit kitlesinin %25'inden fazla artmıştır (44). PV'li hastalarda erkeklerde $>36 \text{ mL/kg}$, kadınlarda $>32 \text{ mL/kg}$ 'dır. Eritrosit kitlesi'nin ölçümü gerekli olan radyoizotopların yaygın olarak bulunamaması dolayısı ile her laboratuvarda yapılamamaktadır. Bu nedenden dolayı DSÖ'nün 2001 ve 2008 senesinde yayınlanan tanı kriterleri arasından eritrosit kitle ölçümü çıkartılarak hemoglobinin erkeklerde $>18,5 \text{ g/dL}$, kadınlarda $>16,5 \text{ g/dL}$ olması kriteri getirilmiştir (3). PV'de hematopoetik öncül hücrelerin proliferatif kapasiteleri in vitro hücre kültürlerinde ölçülebilir. PV'li hastaların periferik kan ya da kemik iliği hücrelerine kültür ortamında serum ilavesi ile EPO bulunmadan eritroid koloni oluşumu gözlemlenir. Buna endojen eritroid koloni (EEK) oluşumu denir. Bu durum sağlıklı bireylerde ya da sekonder eritrositozu olan bireylerde görülmez. Bu nedenle PV tanısı için iyi bir belirteçtir. Fakat buna rağmen kültür tekniklerinin pahalı ve zor olması

nedeni ile EEK oluşumu Dünya Sağlık Örgütü tanı kriterleri arasında minor kriterler içinde yer almaktadır (50).

Ayırıcı tanıda yardımcı bir diğer laboratuvar testi serum EPO seviyesinin ölçülmesidir. Serum EPO seviyesi PV'li hastaların %80'inde düşük bulunurken, sekonder ve ailesel polistemiyalı olgularda normal veya artmış bulunur (51). Kan viskozitesi 5-8 kat artmıştır. PV'li hastalarda viskozite 1.075-1.080 arasındadır. Eritrosit sedimentasyon oranı azalmıştır. Serum ürik asit ve laktat dehidrogenaz (LDH) seviyesi yüksek bulunabilir. Sekonder gut olasılığı %5'dir. Yalancı hiperkalemi gözlenebilir. Hastaların 2/3'ünde hiperhistaminemi gözlenir (44).

Tanı

2007 yılına kadar PV tanısı için Polisitemia Vera Çalışma Grubu (PVÇG)'nin veya DSÖ'nün önerdiği kriterler kullanılmaktaydı. 2005 yılında JAK2 mutasyonunu keşfedilmesiyle birlikte DSÖ tanı kriterleri yenilenmiştir. PVÇG'nun önerdiği tanı kriterlerinde tüm hastalarda eritrosit kitle ölçümü zorunlu olarak gerekmektedir. 2001 DSÖ kriterleri eritrosit kitle ölçümüne kısmen kolaylık getirmiş ve yüksek hemoglobin değerleri de kriter olarak kullanılmıştır. 2007'de kabul edilen DSÖ tanı kriterlerine göre JAK2 mutasyonu hemoglobin düzeyi ile beraber major kriterleri oluşturmaktadır (Tablo-2) (3). Polisitemili bir hastada JAK2 mutasyonunun gösterilmesi hastalığın klonal olduğunu gösterir ve yalancı ve sekonder polisitemi olasılığını dışlar (44).

Tablo-2: Dünya Sağlık Örgütü 2008 PV tanı kriterleri

Major kriterler
1-Hb>18,5 g/dL (erkeklerde), Hb>16,5 g/dL (kadınlarda) veya Hb veya Htc >99 percentil (yaş, cinsiyet ve bulunduğu yükseklik için referans oranına göre) veya Hb>17 g/dL (erkeklerde), Hb>15 g/dL (kadınlarda) temel değerinden ≥ 2 g/dL devamlı artış ile birliktelik gösteriyorsa ve bu durum demir eksikliğinin düzeltilmesine bağlı değilse veya yükselmiş kırmızı hücre kitlesi ortalama normal beklenen değer $> \% 25$
2-JAK2-V617F veya benzer mutasyon varlığı (exon 12 mutasyonu gibi)
Minor kriterler
1- Kemik iliği üçlü seri miyeloproliferasyonu
2- Serum EPO düzeyinin normalin altında olması
3- Endojen eritroid koloni büyümesi
Tanı: Her iki major ve bir minor kriter yada ilk major kriter ve 2 minor kriter bulunması ile tanı konur.

EPO: Eritropoetin

Tedavi

PV'de tedavi uygulanırken hastanın semptomlarının ortadan kaldırılması , uzun dönem komplikasyonların (trombotik olaylar, kanama, miyelofibroz, akut lösemi ve diğer maligniteler) önlenmesi amaçlanır (52). Uygulanacak miyelosüpresif tedavide ilk hedef, trombotik komplikasyonların önünü almak ve flebotomi ihtiyacının ortadan kaldırmak olmalıdır. Radyoaktif fosfor (^{32}P) ve busulfan gibi miyelosüpresif ilaç kullanımı uzun dönemde lösemik dönüşüm ve miyelofibroz gelişimi riskini artırmaktadır. Hidroksiürenin kullanıma girmesinden sonra, lökomojenik etkileri nedeni ile, başta busulfan olmak üzere diğer miyelosüpresiflerin kullanımı önerilmemektedir (43).

Flebotomi: PVÇG tedavi önerilerine göre hematokrit seviyesini erkekler için %45, kadınlar için ise %42 seviyelerinin altında tutacak şekilde flebotomi sıklığı ayarlanmalıdır (53). Miyelosüpresif tedavi aralıklı flebotomi ile kombine edilebilir. Flebotomi uygulamaları demir eksikliğini beraberinde getirir ancak demir desteği verilmemelidir (43).

Aspirin: Düşük doz aspirin (50-100 mg/gün) major gastrointestinal sistem kanaması veya entolerans olmayan tüm PV'li hastalarda trombotik komplikasyonlar önlemek için önerilmektedir (54).

Hidroksiüre: Günümüzde PV'nin standart tedavisi olarak trombotik olay açısından yüksek riskli gruptaki tüm hastalara (70 yaş ve üzeri, tromboz öyküsü olması, kardiyovasküler risk faktörlerinin bulunması ve trombosit sayısının 1,5 milyon/mikroL değerinin üzerinde olması) flebotomi uygulamalar ile birlikte 30 mg/kg/gün yükleme dozu (1 hafta) sonrasında 15-20 mg/kg/gün dozlarında hidroksiüre verilir (43).

Anagrelid: Anagrelid megakaryosit gelişiminin postmitotik safhalarını inhibe eden kinazolin türevi trombositopenik bir ilaçtır. 2 mg/gün (0,5 mg, 6 saatte bir) dozunda ET hastalar ve trombositopeninin kontrol edilemediği PV olgularında kullanılabilir. PV'de anagrelid tedavisi diğer tedavi yöntemlerine (flebotomi ve hidroksiüre desteği) yanıt vermeyen olgular için önerilmektedir. Özellikle yaşlı ve bilinen kardiyak hastalık öyküsü bulunanlarda dikkatli olunmalıdır (55).

İnterferon: PV'de interferon-alfa (IFN- α) (haftada 3 kez subkutan 3 milyon ünite) kullanımı ile eritrositözün başarılı bir şekilde kontrolü gösterilmiştir. Diğer yandan hidroksiüre, IFN- α ile kıyaslandığında fiyat ve yan etki profili açısından oldukça avantajlıdır. IFN- α ile tedavi edilen hastalarda yan etkiler nedeni ile tedavinin bırakılması sık rastlanılan bir durumdur. IFN- α refrakter kaşıntı yakınması olan hastalar ve yüksek riskli guruptaki doğum yapabilecek kadın hastalar için uygun tedavi seçeneğidir (56).

JAK2 İnhibitörleri: JAK2 V617F mutasyonunun keşfi ile beraber moleküler hedefli tedaviler gündeme gelmiştir. Daha az yan etki, daha iyi komplikasyonların kontrolü ve hastalığın kontrolü için JAK2 inhibitörleri umut vaat etmektedir. JAK2'ye yeterli potansi olan ilaçlar ile ilgili çalışmaları devam etmektedir (57).

Esansiyel trombositoz

Esansiyel trombositoz, megakaryositlerin proliferasyonu ve dolaşımdaki trombositlerin artışı ile karakterize kronik miyeloproliferatif bir hastalıktır. Periferik dolaşımdaki trombosit sayısı $600.000/\text{mm}^3$ üzerindedir. Kemik iliğinde megakaryositer seride hiperplazi saptanır. Fizik muayenede splenomegali dikkati çeker. Klinik tabloda hemorajik ve trombotik epizodlar görülür. Klinik tablo oldukça heterojendir ve hastaların 2/3'ünden daha fazlası tanı esnasında asemptomatiktir (58). Epidemiyolojik çalışmalarda ET nin yıllık insidansı 100.000 popülasyonda 2,5 yeni vaka olarak saptanmıştır. Ortalama tanı yaşı 60 olup kadın hastaların sayısı erkek olanlardan yaklaşık iki kat daha fazladır (59).

Patofizyoloji

Yapılan araştırmalar ET tanılı hastaların yaklaşık %50-70 kadarında JAK2 mutasyonunun varlığını ortaya koymuştur (7). JAK2 mutasyonunun ET patogenezindeki mekanizmaları araştırılmaktadır. JAK2 mutasyonu olmayan klonal hücrelerde, DNA hasarı olduğu zaman Bcl-xl proteininde deaminasyonla sonlanan bir modifikasyon meydana gelmektedir. Bunun sonucunda hasarlı hücrenin apoptozisle ölümü meydana gelmektedir. Mutant JAK2 olduğunda klonal hücrelerde DNA hasarı artmakta bununla birlikte normal Bcl-xl proteininde deaminasyon cevabı inhibe edilmektedir. Sonuçta apoptozis mekanizmasının çalışmaması ile klonal hücrede proliferasyon meydana gelmektedir (60). Trombositozu olan bir olguda bu mutasyonun gösterilmesi miyeloproliferatif bozukluk ilişkili trombositoz ile reaktif trombositozun ayırımı için oldukça değerli bir veri olmakla birlikte ET, PV ve AMM arasındaki bir ayırımı katkıda bulunamaz. JAK2 pozitif ET hastalarının PV'ye benzer fenotip; daha fazla hemoglobin ve lökosit seviyesi varken, daha düşük trombosit seviyesinin olması tipiktir. ET veya PV'nin gelişmesi JAK2 mutasyon tipine, yüküne, hastanın demir hemostazına ve kazanılmış veya herediter genetik düzenleyicilere göre değişmektedir (61). Kromozomal anormallik olguların %5,3'ünde görülmüştür. Kromozomal anormalliklerden 1q, 20q, 21q anormallikleri görülürken, ET'a özgül kromozomal anomali saptanmamıştır (62).

Klinik

Esansiyel trombositoz hemorajik ve trombotik epizodlar ile seyreden kronik bir hastalıktır. Trombotik komplikasyonlar sıklıkla yaşlı ve daha önce trombotik olay geçirmiş hastalarda, hemorajik komplikasyonlar ise trombosit sayısı $1,000.000/\text{mm}^3$ üzerinde olan hastalarda daha fazla görülür (63). ET de trombosit sayısı artışı ve buna eşlik eden kalitatif trombosit bozukluklar tromboz veya kanama komplikasyonlarının gelişmesine neden olur. Esansiyel trombositemili hastaların yaklaşık yarısında hastalık rutin kan sayımlar esnasında yüksek trombosit düzeyine rastlanması ile tanınır. Semptomatik hastalarda en sık yakınmalar küçük veya büyük damarlarda trombozlar veya minör kanamalarıdır. Trombotik olaylar öncelikle mikrovasküler sistemde gelişse de büyük damarlarda da tromboz görülebilir. En sık görülen nörolojik semptom baş ağrısıdır. Bunun yanında paresteziler, trans iskemik ataklar, görme bozuklukları ve konvülsiyonlar görülen diğer semptomlardır (45,64). Mikrovasküler oklüzyonlar genellikle el ve ayak parmaklarında görülür. Bunların sonucunda parmakta ağrı, ısı artışı, distal ekstremitelerde gangrenleri ve eritromelalji görülebilir. Eritromelalji, ekstremitelerde yanıcı tarzda ağrı ve kızarıklıkla seyreden bir sendromdur. Ağrının günde tek doz aspirin ile rahatlama eritromelalji için tanısaldır. ET de büyük ven ve arterlerde de tromboz oldukça sık görülür. Bacak arterleri, koroner arterler ve renal arterler sıklıkla tutulurken, karotik, mezenterik ve subklavian arterler ise nadir olarak tutulurlar. Splenik ven, hepatik venler (Budd-Chiari sendromu) veya bacak ve pelvis venleride trombozların görüldüğü bölgelerdir (64,65).

Laboratuvar

Tanım olarak trombosit sayısının $450 \times 10^3/\text{mm}^3$ den fazla olması gerekmektedir. Bazı vakalarda trombosit sayısı $1.000 \times 10^3/\text{mm}^3$ ün üzerindedir (3). Periferik kan yaymasında lökoeritroblastik tablo ve gözyaşı hücreleri gözlenmez. Hafif eozinofili ve bazofili hastaların üçte birinden daha fazlasında görülür. Hafif nötrofilik lökositoz görülür (66). Dev, garip görünüşlü trombositler, çekirdekli megakaryosit fragmanları gözlenebilir. Biyokimyasal inceleme de LDH ve ürik asit yüksekliği ve belirgin trombositozu olan olgularda yalancı hiperkalemi görülebilir (62). Kanama zamanı hastalarının

%10-20'sinde uzamıştır. Trombosit agregasyon çalışmaları sıklıkla anormaldir. Epinefrin, ADP ve kollajene agregasyon yanıtı bozulmuştur, fakat araşidonik asit ve ristosetin yanıtı normaldir. Kemik iliği hipersellülerdir. Hastaların üçte ikisinde belirgin megakaryosit hiperplazisi ile beraber morfolojik olarak nükleer pleomorfizm olan ve kümeleşme eğiliminde olan megakaryositler sıktır. Multilobüle büyümüş megakaryositler ve sinüsler boyunca uzanan küçük gruplar halinde kümeler oluşturma eğiliminde olan megakaryositler ET'nin temel bulgusudur. Kemik iliğinde retikülin lif artışı gözlenebilir, fakat belirgin fibrozis yoktur (67).

Tanı

ET bir dışlama tanısıdır; trombositozun diğer nedenlerinin ekarte edilmesi gerekir. Bilinen reaktif ve klonal trombositoz yokluğunda ve persistan trombositoz varlığında ET tanısı konabilir. Trombositozla seyreden ama farklı bir prognoz ve tedaviye sahip olan diğer miyeloproliferatif hastalıklardan ayırt etmek gereklidir. 2008 yılına kadar PVÇG'nun tanı kriterleri kullanılmıştır (67). JAK2 mutasyonun keşfi ile birlikte ET tanı kriterleri de 2008 yılında DSÖ tarafından yeniden tanımlanmıştır. Tanı için aranan en düşük trombosit değeri $600 \times 10^3/\text{mm}^3$ den $450 \times 10^3/\text{mm}^3$ e indirilmiştir. JAK2 mutasyonu tanı kriterleri arasına girmiştir (Tablo-3). ET dışlama tanısı olduğu için belirlenen 4 kriterin de karşılanması gereklidir (3).

Tablo-3: Dünya Sağlık Örgütü 2008 ET tanı kriterleri

1- Trombosit sayısının $450 \times 10^3/\text{mm}^3$ ve üzeri olması.
2- Büyük ve matür morfoloji ile birlikte megakaryosit proliferasyonu. Granulosit veya eritroid proliferasyon olmaması veya az olması.
3- KML, PV, AMM, MDS veya diğer miyeloid neoplazmlar için DSÖ kriterlerini karşılamaması.
4- JAK2 V617F veya diğer klonal markırların gösterilmesi veya reaktif trombositoz kanıtı olmaması
Tanı: 4 kriterin tümünün karşılanması gereklidir.

KML: Kronik myeloid lösemi

PV: Polisitemia vera

AMM: Agnojenik miyeloid metaplazi

MDS: Myelodisplastik sendrom

Tedavi

60 yaş altındaki asemptomatik hastalara tedavi önerilmemektedir. Semptomatik olanlar ve yüksek tromboz riski olanlar (60 yaş ve üzeri, eritromelalji, trans iskemik atak, büyük damar trombozu gibi geçirilmiş trombotik epizodu olan hasta grubu) tedavi edilmeyi hak eder (67).

Aspirin: Düşük doz aspirin (100 mg/gün) tekrarlayıcı trombotik komplikasyonlar, özellikle digital ve serabrovasküler iskemi geçiren hastalarda efektif tedavi şeklidir. Kanama riskini artırabileceğinden dikkatli kullanılmalıdır (67).

Hidroksiüre: Trombosit sayısını azaltmak için 60 yaş üstü hastalarda ilk seçilecek ilaç hidroksiüre olmalıdır (68). Trombosit sayısını kontrol altına almak için gerekli olan doz 10-30 mg/kg arasında değişir. Tedaviye başladıktan 2-6 hafta sonra trombosit sayısını düşürür. En önemli yan etkisi lökopenidir. İlacın kesilmesi ile geri döner. Kan sayımına göre idame dozu belirlenir (69).

Anagrelid: Anagrelid seçici olarak trombositleri baskılar. Trombosit sayısını kemik iliğinde megakaryositlerin olgunlaşmasını engelleyerek azaltır. Başlangıç dozu günde 2-4 kez alınan 0,5 mg Anagrelid şeklinde önerilmektedir. Trombosit sayısı kontrol altına alınana kadar doz 0,5 mg/hafta olacak şekilde artırılır. Anagrelid genellikle iyi tolere edilen, yan etkileri hafif ve kısa süreli olan bir ilaçtır. En sık karşılaşılan yan etki vazodilatasyona bağlı baş ağrısı, taşikardi, anjina ve baş dönmesidir. Karşılaşılabilecek diğer komplikasyonlar arasında karın ağrısı, diyare, bulantı - kusma ve deri döküntüsü sayılabilir (70).

İnterferon: Anagrelid ve hidroksiüre tedavisini tolere edemeyen hastalara 3.000.000 ünite üç kez/hafta subkutan interferon tedavisi başlanır. İnterferon anormal megakaryosit klon proliferasyonunu baskılar ve megakaryosit sayısını azaltır. Eğer gebe olan hastada trombotik komplikasyon gelişirse interferon alfa tedavisi tercih edilmelidir. İnterferon plasentadan geçmez ve teratojenik etki oluşturmaz (69).

Primer myelofibrozis

Primer myelofibrozis (PMF) kemik iliği fibrozisi, anormal sitokin salınımı, anemi, splenomegali, ekstramedullar hematopoez ile karakterize klonal bir myeloproliferatif hastalıktır. PMF ilk olarak Heuck G. tarafından 1879'da tanımlanmış, ancak "Myeloproliferatif hastalıklar" tanımı 1951 yılında Dameshek W. tarafından yapılmıştır. Hastalığın isimlendirilmesinde kronik idiopatik miyelofibrozis, agnojenik miyeloid metaplazi gibi farklı ülkelerde 20'den fazla tanım kullanılmış olsa da uluslararası myelofibroz araştırma ve tedavisi çalışma grubu tarafından "Primer Myelofibrozis" ismi kabul edilmiş ve DSÖ' nün 2008'de yayımlanan myeloid neoplazilerin sınıflamasında bu isimle yer almıştır (71,72).

PMF her yaşta görülmekle birlikte hastaların çoğunluğu 50 yaş üzerinde olup, ortalama görülme yaşı 65-70'dir. Kadın erkek oranı eşit ve hastalık insidansı 0,4-1,5/100.00 arasında değişmektedir. Çocukluk çağında nadir olmakla birlikte ailesel geçiş gösteren vakalar bildirilmiştir. Genç ve orta yaş erişkinlerde sessiz seyreden vakalar daha sık olarak izlenmektedir. Nadir olmakla birlikte benzen veya yüksek doz iyonize radyasyon gibi çevresel etkenlere maruz kalan kişilerde gelişebilmektedir (59,73).

Patofizyoloji

Anormal sitokin salınımı PMF patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Klonal megakaryositler, granülositler ve stromal hücrelerce anormal miktarlarda transforming büyüme faktörü beta (TGF- β), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve fibroblast büyüme faktörü beta (FGF- β) salınmaktadır. Bu sitokinler özellikle kemik iliği fibrozisi, angiogenez ve osteosklerozdan sorumludurlar. Diğer iki önemli sitokin ise IL-2 ve IL-6'dır. Bu sitokinler konstitüsyonel semptomlar, transfüzyon bağımlılığı, kemik iliğinde yeni damar oluşumu ve lösemik dönüşüm ile ilişkilidir. Sitokin salınımındaki dengesizlikler, CD34+ progenitör hücrelerin dolaşıma geçmesine ve dolayısı ile çeşitli ekstramedüller hematopoez odaklarının gelişmesine ve bununla birlikte dalakta yeni damar oluşumuna yol açarak hepatosplenomegaliye neden olmaktadır (74,75).

Klinik

PMF'li hastalar genellikle anemi ve splenomegaliye bağlı olarak gelişen halsizlik, nefes darlığı, çarpıntı, karında dolgunluk hissi gibi semptomların yanında, kilo kaybı, gece terlemesi, hafif ateş gibi konstitüsyonel şikayetlerde başvurabilirler. Ayrıca kaşıntı, osteoskleroza bağlı kemik ağrıları, kolay morarma, ödem ve lenfadenopati de daha nadir olarak izlenmektedir. Bununla birlikte hastaların dörtte biri tanı anında asemptomatik olabilmektedir. Trombositozla seyreden bazı vakalarda ise tromboz yada kanama ile ilgili bulgular saptanabilir. Bu bulguların dışında ekstrapredüller hematopoez odaklarına bağlı olarak semptomatik portal hipertansiyon ve asit, plevral effüzyon, spinal kord basısı, pulmoner hipertansiyon ve yaygın ekstremitte ağrıları gelişebilmektedir. Başvuru sırasında fizik muayenede hastaların %80'inde dalak palpe edilebilir, %30 hastada ise kot altında 10 cm'den daha büyük bir dalak saptanabilir. Hepatomegali hastaların yarısında mevcuttur (71,76).

Laboratuvar

Çevresel kan yaymasında miyeloid seri öncülleri ile eritroid öncüllerinin birlikte görüldüğü lökoeritroblastik kan tablosu ve eritrositlerin gözyaşı şeklinde görülmesi PMF'nin karakteristik laboratuvar bulgularıdır. Ancak prefibrotik aşamada bu bulgular belirgin olmayabilir. Anemi tanı anında hastaların 2/3'ünde saptanır ve hastaların yarısından fazlasında hemoglobin 10 g/dL'nin altındadır. Hastaların yaklaşık %40'ında transfüzyon gereksinimi mevcuttur. Hastalığın hipersellüler ya da fibrotik aşamada olmasına bağlı olarak, lökositoz, lökopeni, trombositoz veya trombositopeni görülebilir, laktat dehidrogenaz (LDH) ve alkalen fosfataz (ALP) yüksekliği saptanabilir (77,78).

Kemik iliği aspirasyonu genellikle fibrozis nedeni ile alınamayabilir (dry tap). Kemik iliği sellüler fazda hipersellüler iken, fibrotik aşamaya gelmiş hastalarda hiposellüler olarak izlenebilir. Myeloid ve megakaryositer seri hakimiyeti mevcuttur. Eritroid seri elemanları ise azalmıştır. Tipik olarak değişik büyüklüklerde dismorfik megakaryosit kümeleri izlenmektedir. Hastalığın sellüler fazında belirgin fibrozis izlenmeyebilir ancak genellikle tanı sırasında retikülin ya da kollajen fibrozis saptanır (71).

Tanı

PMF tanısında WHO tarafından belirlenmiş, klinik ve laboratuvar bulguları içeren tanı kriterleri kullanılmaktadır (Tablo-4) (77,78).

PMF ile diğer miyeloid neoplaziler ve MDS ayırımı yapılmalıdır. KML'den ayırımında BCR- ABL'nin moleküler ve sitogenetik olarak bulunmadığı gösterilmeli, kemik iliğinde fibrozis saptanan hastalarda PV tanı kriterleri değerlendirilmelidir. Prefibrotik aşamada PMF ile ET karışabileceğinden, kemik iliği örnekleri incelendiğinde ET'de matür megakaryositlerin artışı, PMF'de küçükten büyüğe değişen atipik displastik değişiklikler izlenen megakaryositlerin varlığı ayırıcı tanıda önemlidir. Tanı esnasında periferik kanda $1000/\text{mm}^3$ 'den fazla monosit varlığında kronik miyelomonositer lösemi düşünülmeli ve tanısal değerlendirme yapılmalıdır. PMF'nin ayrıca akut miyelofibrosis (miyelofibrosis ile birlikte akut panmiyelosis veya akut megakaryoblastik lösemi) tablosu ile ayırımı önemli olup, akut miyelofibrosis tablosunda şiddetli konstitüsyonel semptomlar, pansitopeni, periferik kanda artmış blastlara rağmen splenomegalinin belirgin olmamasına dikkat edilmelidir (77,79,80).

Tablo-4: Dünya Sağlık Örgütü PMF tanı kriterleri

Major Kriterler
1-Kemik iliği biyopsisinde retikülin ve/veya kollajen fibrozisin eşlik ettiği megakaryosit proliferasyonu ve atipi varlığı veya fibrozisin olmadığı durumda megakaryositlerdeki proliferasyon ve atipi ile birlikte kemik iliğinde selülarite artışı, granülositik proliferasyon ve azalmış eritropoez olması
2- Dünya Sağlık Örgütü tanı kriterlerine göre KML, PV, MDS veya başka myeloid neoplazi tanısını karşılamaması
3- JAK2 V617F veya başka bir klonal belirtecin (MPL W515K/L gibi), gösterilmesi veya reaktif kemik iliği fibrozisi kanıtının olmaması
Minor kriterler
1. Lökoeitroblastik kan tablosu
2. LDH düzeyinin artması
3. Anemi
4. Palpabl splenomegali

KML: Kronik myeloid lösemi

PV: Polisitemia vera

MDS: Myelodisplastik sendrom

MPL: Myeloproliferative leukemia virus oncogene

Tedavi

Androjenler ve kortikosteroidler: Anemi tedavisinde androjenler (fluoksimesteron 10 mg günde iki veya üç defa) ve kortikosteroidler (prednizolon 0,5 mg/kg) kullanılabilir. Hemoliz varlığında steroidler tek başına yeterli olabilir. Bazı hastalarda Danazol (600-800 mg/gün) ve Eritropoetin (EPO, 40.000 Ünite/hafta) anemi kontrolünde yardımcı olabilir (81).

Hidroksiüre: Lökositoz, trombositoz ve bazı hastalarda splenomegali kontrol altına alınabilir. Busulfan, Melfelan da kullanılabilir (81).

Splenektomi: Kemoterapotiklere cevap vermeyen masif splenomegali, transfüzyona bağımlı anemi, portal hipertansiyon ve ağır trombositemi varlığında splenektomi yapılabilir (81) .

Radyoterapi: Splenektomi için uygun olmayan hastalarda uygulanabilir. Karaciğer ve dalak dışındaki ekstramedüller hematopoezisin tedavisinde de kullanılabilir (81).

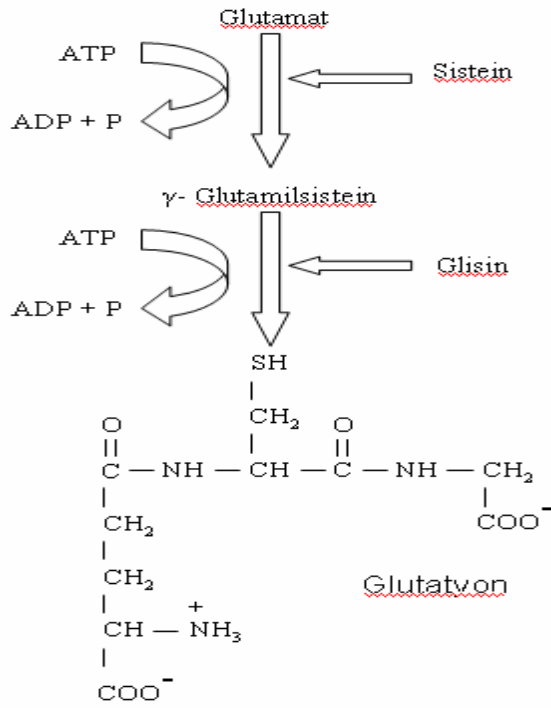
Talidomid: Talidomid, 200 mg/gün dozunda kullanıldığında hastaların önemli bir kısmında anemi ve splenomegalide düzelme sağlamıştır (81).

Kemik iliği nakli: Kemik iliği nakli tek küratif tedavi yöntemidir. Erken morbidite ve mortalite oranlarının yüksek olmasından dolayı 45 yaş altı, uygun vericisi olan, genel durumu elverişli az sayıda hastada yapılmaktadır (81).

Glutasyon ve Glutasyon S-Transferazlar

Ksenobiyotik, Yunanca xenos kelimesinden türemiş olup; vücuda yabancı olan anlamında kullanılmaktadır. Kimyasal karsinogenler, ilaçlar ve çeşitli toksik bileşikler bu grup altında incelenmektedir. Ksenobiyotik metabolizmasının amacı, ksenobiyotiklerin sudaki çözünürlüklerini arttırmak ve bu şekilde vücuttan atılımlarını kolaylaştırmaktır. Bunun için iki ayrı reaksiyon kullanılır. Faz I'de ksenobiyotiklerin sitokrom P- 450 enzimlerince katalizlenen hidroksilasyondur. Faz I'in diğer reaksiyonları redüksiyon ve hidrolizdir. Faz II'de ise Faz I reaksiyonları sonucunda oluşan hidroksile bileşikler çeşitli polar metabolitlere dönüştürülmektedir. Faz II glukuronidasyon, sulfasyon, metilasyon, asetilasyon ve glutasyon ile konjugasyon reaksiyonlarını içerir (82).

Şekil-2'de görüldüğü gibi glutasyon (y glutamil sisteinil glisin) glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptiddir. Glutasyon ile ksenobiyotiklerin reaksiyonunu katalizleyen enzimlere "glutasyon S-transferazlar" kısaca "GST" denir (83,84). Glutasyon S Transferaz genleri birçok çevresel karsinogenin de dahil olduğu elektrofillere karşı hücre korunmasında rol alan ve oksidatif stresin endojen ürünlerine karşı savunmada rol alan bir gen ailesidir (85). Bu genlerin kodladığı enzimler büyük oranda karaciğerde olmak üzere böbrekler, intestinal kanal, testisler, adrenal bezler ve akciğerde bulunurlar (86,87). İnsan dokularında sentezlenen sitozolik Glutasyon-S transferaz enzimleri, en az sekiz gen ailesi tarafından kodlanmaktadır. Bu enzimler; Alfa (GST α), Mu (GSTM, GST μ), Pi (GSTP, GST π), Teta (GSTT, GST θ), Sigma (GSTS), Kappa (GSTK), Omega (GSTO) ve Zeta (GSTZ)' dir (88).



Şekil-2: Glutatyon oluşumu (89)

GST								
	Alpha	Mu	Theta	Pi	Zeta	Sigma	Kappa	Omega
Kromozom	6p	1p	22q	11q	14q	4q	ND	10q
Genler	A1-A4	M1-M5	T1,T2	P1	Z1	S1	K1	O1

Şekil-3: GST gen ailesi (89)

Glutatyon-S Transferaz M1 (GSTM1) geni kromozom 1p13.3 loküsünde bulunmaktadır ve mu sınıfına ait 5 adet gen tanımlanmıştır (M1-M5) (Şekil-3) (89). GSTM1 karaciğerde yüksek düzeyde eksprese edilmektedir. Arenoksitlerin detoksifikasyonunda rol oynamaktadır. GSTM1 homozigot delesyonu taşıyan bireylerde akciğer, mesane, kolon ve meme kanseri gelişme riskinin arttığı gösterilmiştir. GSTM1 geninde null genotip sıklığı farklı etnik gruplarda farklılık göstermektedir. Buna göre Kafkaslarda ve Asyalılarda ortalama %50, Afrikalılarda %25 oranında GSTM1 geninde null genotip gözlenmektedir (87).

Glutasyon-S Transferaz T1 (GSTT1) geni kromozom 22q 11.2 lokusunda bulunmaktadır. GST Teta'nın GSTT1 ve GSTT2 olmak üzere 2 izoenzimi vardır. Her ikisi de 5 ekzondan oluşmuştur. %55 aminoasit benzerlikleri vardır. Gen delesyonu sonucu oluşan GSTT1 eksikliği çoğu popülasyonda sık olarak görülür (90). GSTT1 esas olarak insan gastrointestinal sisteminde salgılanmaktadır. GSTT1'in null alelinde enzim aktivitesi görülmez (91). Beyaz ırkta %20 olarak bulunan null alel frekansı diğer popülasyonlarda %16-64 arasında bulunmaktadır. GSTT1'in null aleli ile kolon kanseri arasındaki bağlantıyı araştıran 8 çalışmanın 4'ünde kanser riskinin arttığı bulunmuştur (92,93). GSTT1 delesyonunun GSTM1 ile etkileşimi birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır. Teorik olarak GSTT1 ve GSTM1 genlerinin null alelini taşıyan bireyler kimyasal karsinogenlere açık hale gelmektedirler (94).

Glutasyon-S Transferaz P1 (GSTP1) geni ksenobiyotik metabolizmasının faz II evresinde rol oynayan GST enzim ailesinin bir üyesidir. Sigara dumanında bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi bazı kanserojen maddelerin glutasyonla konjugasyon reaksiyonlarını katalizler. GSTP1 geni kromozom 11q13'de lokalizedir ve 7 ekzon içermektedir. Okuma çerçevesi (open reading frame) 1. ekzonun 3' ucundan başlar ve 630 bç uzunluğunda 209 aminoasitten oluşan protein sentezler. GSTP1'in yapısındaki, fonksiyonundaki veya ekspresyon seviyesindeki genetik değişiklikler sonucunda oluşan düşük enzimatik aktivite, karsinogenlerin detoksifiye edilebilmelerinde belirli kanser tiplerinin gelişmesinde risk faktörü taşımaktadır.

Bu genin promotor bölgesindeki hipermetilasyon GSTP1 proteinin ekspresyon kaybına ve dolayısı ile oksidatif DNA hasarında artışa neden olur. Meme kanserlerinin yaklaşık olarak %30-40'ında bu genin hipermetilasyonu gözlenmiştir. GSTP1'in hipermetilasyon sonucu inaktive olması, olguların karsinogenlere karşı hassasiyetini artırır ve böylece başka mutasyonlara ve DNA hasarına yatkınlık kazandırır (95).

GEREÇ VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışma 2009-2013 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı tarafından Miyeloproliferatif hastalık tanısı almış ve/veya takip edilmekte olan ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalına periferik kanları gelmiş JAK2V617F mutasyonu pozitif 118 hasta, herhangi bir kanser hikayesi olmayan 108 kontrol üzerinde, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu onayı (17 Aralık 2013, 2013-21/30) ile retrospektif olarak yapılmıştır. Çalışmaya alınan hastaların demografik özellikleri (yaş, cinsiyet), vasküler olay (derin ven trombozu, koroner arter hastalığı, serebro vasküler hastalık) öyküsü ve kronik hastalık (diabetes mellitus, hipertansiyon, hiperlipidemi) öyküsünden oluşan klinik özellikleri, splenomegali varlığı ve GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 geni analiz sonuçları kaydedilmiştir.

Yöntem

Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol gruplarının DNA izolasyonu için steril falkon tüpüne 2 cc EDTA'lı kan aktarıldı ve üzerine 1:3 oranında (6 cc) "lysis buffer" eklendi. Karışım +4°C'de 15 dakika bekletildi. Sonrasında 1500 devirde 10 dk santrifüj edildi ve oluşan süpernatant döküldü. Pellet yeniden süspansiyon edildi. Üzerine 6 ml "lysis buffer" eklendi ve 10 dk 1500 rpm'de santrifüj edildi, süpernatant atıldı ve pellet tamamen süspansiyon edildi. Devam eden basamaklarda 'Dr. Zeydanlı' DNA izolasyon kiti prosedürü uygulandı. Örnek 1,5 ml'lik nükleaz içermeyen tüp içine alınarak üzerine 500 µl solüsyon B ve 20 µl solüsyon A eklendi. Karışım vortekslenerek 42°C'de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üzerine 500 µl solüsyon C eklenip vortekslenerek 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Üstteki berrak faz alınarak 1,5 ml'lik

nükleaz içermeyen tüpe konuldu. Üzerine 500 µl solüsyon D eklendi. 10.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Oluşan süpernatant atılarak üzerine 500 µl solüsyon E eklendi. 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant atılarak tüpler kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra 100 µl distile su eklenerek -20°C'de saklandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) Protokolü

DNA'lar için GSTT1 ve M1 gen polimorfizmini belirlemede Multiplex PCR (Polymerase Chain Reaction), GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi PCR-RFLP (Restriction fragment length polymorphism) yöntemleri kullanıldı. Bunun için PCR reaksiyonu karışımı hazırlandı. 25 µl'lik PCR karışımı 0,2 ml'lik PCR tüpünde aşağıdaki sıra ile karıştırıldı (Tablo-5).

Tablo-5: PCR reaksiyonu karışımı için kullanılan malzemeler ve miktarları

Kullanılan malzeme	Miktar
10x PCR Buffer (Magnezyumlu)	3 µl
dNTP (10 mM)	0,4 µl
10 pmol/ml ilgili gene özgü primer forward	1 µl
10 pmol/ml ilgili gene özgü primer reverse	1 µl
Distile su	16 µl
Genomik (DNA)	0,1 µl
Taq polimeraz enzimi (5 ünite/µl)	4,0 µl

dNTP: dört deokribonükleozid trifosfat, **pmol:** pikomol

GSTP1 (Ile105Val), GSTM1 ve GSTT1 genlerin PCR reaksiyonu ile çoğaltılması için bu bölgelere spesifik forward ve reverse primer dizileri kullanıldı (Tablo-6) (96).

Tablo-6: GSTP1 (Ile105Val) , GSTM1 ve GSTT1 genleri için kullanılan primer dizileri ve “annealing” sıcaklıkları (96).

	Primer (forward) Primer (reverse)	Annealing Sıcaklıkları
GSTM1	5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC 3' 5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG 3'	58 ⁰ C
GSTT1	5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3' 5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3'	58 ⁰ C
GSTP1	5'-ACCCAGGGCTCTATGGGAA-3' 5'-TGAGGGCACAGAAGCCCCT -3'	58 ⁰ C
Albumin	5'-GCCCTCTGCTAACAAGTCCTAC-3' 5'-GCCCTAAAAGAAAATCCCCAATC-3'	53 ⁰ C

PCR tüplerine Tablo-5'de belirtilen malzemeler karşılardaki miktarlarda konularak PCR karışımı hazırlandı. Hazırlanan bu reaksiyon karışımları PCR cihazına yerleştirildi. GSTM1, GSTT1, GSTP1 (Ile105Val) gen bölgeleri için PCR döngü programı olarak Tablo-7'de belirtilen sıcaklık ve süreler kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirildi.

Tablo-7: PCR Döngü Programı

	Sıcaklık	Süre
1-Başlangıç denatürasyonu	94 °C	5 dakika
2-Denatürasyon	94 °C	1 dakika
3-Annealing (primere özgü sıcaklık)	58 °C	1 dakika
4-Extention	72 °C	1 dakika
5-Son extention	72 °C	10 dakika
Kapak sıcaklığı 103 °C 2,3 ve 4 işlemler sırası ile 38 siklus		

Jel Elektroferez Protokolü

PCR ile çoğaltılmış GSTT1 ve M1 gen ürünlerinin tanımlanması için %2'lik agaroz jel elektroferezi kullanıldı. %2'lik jel hazırlanması için 5 ml 10xTris-Borik Asit-EDTA (TBE) solüsyonu 45 ml distile su ile beher içerisine eklendi. Karışımın içine 1 g agaroz eklendi. Çözelti mikrodalga fırında agaroz çözününceye kadar ısıtıldı ve içine 5 µl etidyum bromid eklenerek karıştırıldı. Jel, elektroferez aparatına döküldü. Elektroferez tankı, 1xTBE ile doldurularak jel yürütme işlemine hazır hale getirildi. PCR ürünleri brom-fenol

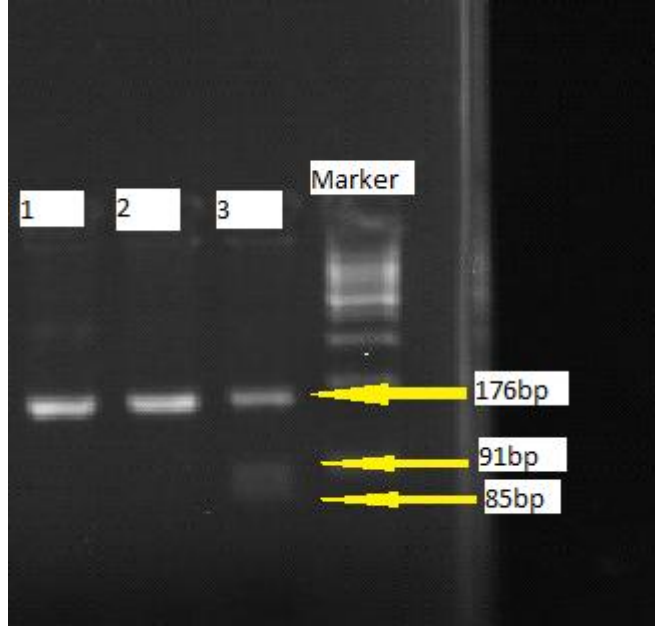
mavisi ile muamele edilerek agaroz jele yüklendi. 90-100 volt akımda 15 dk yürütüldü. Sonrasında ultraviyole ışın altında jel görüntüsüne bakıldı.

Restriksiyon Enzim Kesimine Bırakılması

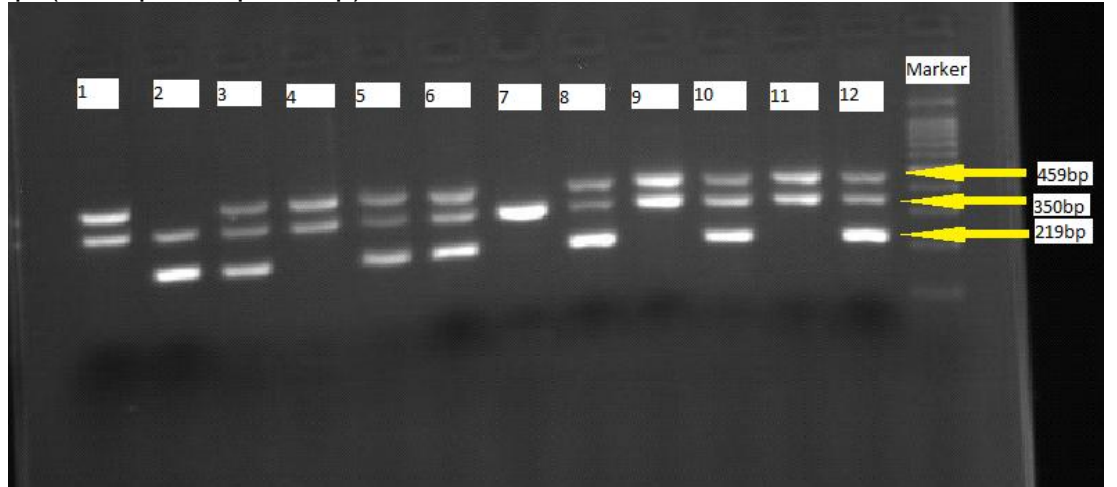
PCR reaksiyonu sonucu elde edilen GSTP1 gen ürünlerinin genotip tayini için BsmAI (New England Biolabs) kesim enzimi kullanıldı. 5'...GTCTC(N)1...3' /3'...CAGAG(N)5...5' dizileridir (N; Adenin veya Sitozin veya Guanin veya Timin). 0,2 ml'lik tüplere 10 µl hacimdeki PCR ürünü, 2 µl restriksiyon enzim bufferı, 8 µl distile su ve her birey için 5 ünite/µl BsmAI enzimi olacak şekilde karışım hazırlandı. Karışım 56°C'de 14–16 saat inkubasyona bırakıldı. % 4'lük agaroz jelde değerlendirildi. Bu jel için 2 g agaroz 1XTBE solüsyonu ile 50 ml hacme tamamlandı ve mikrodalga fırında kaynatıldı. İçerisine 5 µl etidyum bromid ilave edildi. Karıştırıldıktan sonra jel aparatına döküldü. BsmAI enzimi ile kesim yapılmış ürünlere bromfenol mavisi ile muamele edilerek jele yüklendi.

Genotiplerin Belirlenmesi

Yürütülen ürünler ultraviyole ışığında değerlendirildi. GSTP1 genine ait 176 bp'lik PCR ürünü 85 bp ve 91 bp iki ayrı ürün oluşursa Val/Val (GG) genotipini, 176 bp, 91 bp ve 85 bp üç ayrı ürün oluşursa Ile/Val (AG) genotipi ve 176 bp şeklinde olursa Ile/Ile (AA) genotipi göstermektedir (Şekil-4). GSTM1 ve GSTT1 enzimlerinin delesyon taşıyıp taşımadığının belirlenmesi için kontrol bant olarak albumin geni kullanılmıştır. GSTM1 ve GSTT1 genleri delesyon taşımadıklarında sırası ile 219bp ve 459bp'lik bantlar vermektedirler. Kontrol bandı olan albumin ise 350bp'lik bir bant büyüklüğüne sahiptir. GSTM1 ve GSTT1 genlerinde aynı anda delesyon bulunduran örneklerde jel yürütmesi sonucunda sadece albümin bandı görülmektedir. Sadece GSTM1 ya da sadece GSTT1 delesyonu taşıyan örneklerde albumin bandı ve delesyon içermeyen genin bandı görülmektedir (Şekil-5)



Şekil-4: GSTP1 polimorfizmlerinin PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ürünlerinin %4'lük agaroz jeldeki görüntüsü. Marker: 100 bp DNA marker. 1 ve 2 nolu kuyucuklar Ile / Ile genotipi (176 bp), 3 nolu kuyucuk Ile / Val genotipi (176 bp, 91 bp, 85 bp).



Şekil-5: GSTM1, GSTT1 polimorfizmlerinin PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. Marker: 100 bp DNA marker. Sırasıyla 3,5,6,8,10 ve 12 nolu kuyucuklar GSTT1+(459bp)/M1+(219bp), 1,4,9 ve 11 nolu kuyucuklar GSTT1+(459bp), 2 nolu kuyucuk GSTM1+(219bp), 7 nolu kuyucuk GSTT1-, GSTM1-. (null).

İstatistiksel Analiz

Verinin istatistiksel analizi SPSS21 istatistik paket programında yapılmıştır. Verinin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Normal dağılmayan veri için iki grup karşılaştırmasında Mann-

Whitney U testi kullanılmıştır. Kategorik verinin incelenmesinde Pearson Ki-kare testi, Fisher'in Kesin Ki-kare testi ve Fisher-Freeman-Halton testi kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı tarafından Miyeloproliferatif hastalık tanısı almış ve/veya takip edilmekte olan ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalına periferik kanları gelmiş JAK2V617F mutasyonu pozitif 118 hasta, bilinen herhangi bir kanser hikayesi olmayan 108 kontrol dahil edildi. Hastaların demografik bulguları (yaş ve cinsiyet), vasküler olay (derin ven trombozu, koroner arter hastalığı, serebro vasküler hastalık) öyküsü ve kronik hastalık (diabetes mellitus, hipertansiyon, hiperlipidemi) öyküsünden oluşan klinik özellikleri, splenomegali varlığı ve GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 geni analiz sonuçları kullanıldı. (Tablo-8a, 8b, 8c ve 8d).

Tablo-8a: Hastaların cinsiyet, yaş, vasküler olay, kronik hastalık, splenomegali ve GSTT1, GSTM1, GSTP1 genotip dağılımı

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Vasküler Olay	Kronik Hastalık	SM	GSTT1,M1 Genotip	GSTP1 Genotip
1	erkek	60	yok	var	Yok	M1	Ile/Ile
2	erkek	67	yok	yok	Yok	T1M1	Ile/Ile
3	erkek	34	yok	yok	Var	T1	Ile/Ile
4	erkek	67	yok	yok	Var	T1	IleI/Val
5	erkek	51	var	yok	Yok	T1	Ile/Ile
6	erkek	53	yok	yok	Yok	T1	Ile/Ile
7	erkek	53	yok	yok	Yok	Null	Ile/Ile
8	kadın	33	yok	yok	Yok	T1M1	Ile/Val
9	kadın	67	yok	yok	Var	T1	Ile/Ile
10	kadın	71	yok	var	yok	T1	Ile/Ile
11	kadın	50	yok	yok	yok	Null	Ile/Ile
12	kadın	96	yok	yok	yok	T1	Ile/Ile
13	kadın	66	var	var	yok	T1	Ile/Val
14	kadın	84	yok	var	var	T1	Ile/Val
15	erkek	51	var	var	yok	T1	Ile/Ile
16	erkek	57	yok	yok	yok	Null	Ile/Val
17	erkek	53	yok	yok	yok	Null	Ile/Ile

SM: splenomegali

Tablo-8b: Hastaların cinsiyet, yaş, vasküler olay, kronik hastalık, splenomegali ve GSTT1, GSTM1, GSTP1 genotip dağılımı

18	erkek	54	Var	yok	yok	T1M1	Ile/Ile
19	erkek	51	Yok	yok	yok	T1	Ile/Val
20	kadın	76	Yok	yok	yok	T1M1	Ile/Val
21	kadın	52	Yok	var	var	T1M1	Ile/Val
22	kadın	41	Yok	yok	yok	M1	Ile/Val
23	kadın	30	Yok	yok	var	T1	Ile/Ile
24	erkek	71	Yok	var	yok	T1	Val/Val
25	erkek	34	Yok	yok	yok	M1	Ile/Val
26	kadın	47	Yok	yok	var	T1M1	Ile/Ile
27	kadın	26	Yok	yok	yok	T1	Ile/Val
28	kadın	36	Var	yok	yok	T1M1	Ile/Ile
29	kadın	77	Yok	yok	yok	Null	Ile/Val
30	erkek	74	Var	yok	yok	T1	Ile/Ile
31	kadın	73	Var	var	yok	T1M1	Ile/Ile
32	kadın	74	yok	yok	yok	T1	Ile/Val
33	kadın	75	var	var	yok	T1	Ile/Ile
34	kadın	20	yok	yok	var	Null	Ile/Val
35	kadın	55	var	yok	var	T1	Ile/Ile
36	kadın	68	yok	yok	yok	T1	Val/Val
37	erkek	58	var	var	var	Null	Ile/Ile
38	erkek	51	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Ile
39	erkek	42	yok	yok	var	T1	Ile/Val
40	erkek	54	yok	yok	yok	T1	Ile/Ile
41	kadın	64	var	yok	yok	Null	Ile/Ile
42	kadın	58	yok	var	yok	T1M1	Ile/Ile
43	kadın	54	var	var	yok	T1M1	Ile/Val
44	erkek	56	yok	var	var	T1	Ile/Ile
45	kadın	43	yok	yok	yok	T1	Ile/Ile
46	erkek	63	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Val
47	erkek	38	yok	yok	yok	Null	Ile/Val
48	erkek	83	var	var	yok	T1	Ile/Val
49	kadın	37	yok	yok	var	T1	Ile/Ile
50	erkek	50	yok	yok	var	T1M1	Ile/Val
51	erkek	63	yok	yok	var	T1M1	Ile/Val
52	erkek	70	yok	yok	var	T1M1	Ile/Ile
53	erkek	74	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Val
54	kadın	75	yok	var	yok	T1M1	Val/Val
55	erkek	40	var	var	yok	T1M1	Ile/Ile
56	erkek	65	var	yok	var	T1	Ile/Ile

SM: splenomegali

Tablo-8c: Hastaların cinsiyet, yaş, vasküler olay, kronik hastalık, splenomegali ve GSTT1, GSTM1, GSTP1 genotip dağılımı

57	erkek	63	yok	yok	yok	T1	Val/Val
58	kadın	72	yok	yok	var	T1	Ile/Val
59	erkek	54	yok	var	yok	Null	Val/Val
60	erkek	74	yok	yok	yok	T1	Ile/Val
61	erkek	49	yok	yok	var	T1M1	Ile/Ile
62	erkek	69	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Val
63	erkek	51	yok	yok	yok	Null	Ile/Ile
64	erkek	81	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Ile
65	erkek	80	yok	yok	yok	T1	Ile/Ile
66	kadın	80	yok	var	yok	T1	Val/Val
67	erkek	71	var	yok	yok	M1	Ile/Val
68	kadın	60	yok	var	var	T1	Ile/Ile
69	erkek	51	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Val
70	erkek	64	yok	yok	yok	T1M1	Val/Val
71	erkek	69	var	var	yok	T1	Ile/Val
72	kadın	76	var	yok	yok	T1M1	Ile/Val
73	kadın	62	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Val
74	kadın	62	yok	var	yok	T1	Ile/Val
75	kadın	81	yok	yok	yok	T1	Ile/Ile
76	kadın	79	yok	var	yok	Null	Ile/Val
77	kadın	68	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Val
78	erkek	61	yok	yok	var	T1M1	Ile/Ile
79	erkek	64	yok	yok	var	T1	Ile/Ile
80	erkek	66	yok	yok	yok	Null	Ile/Ile
81	kadın	66	yok	yok	var	T1	Ile/Val
82	erkek	69	var	var	yok	T1M1	Ile/Val
83	kadın	47	yok	yok	var	T1M1	Ile/Ile
84	erkek	57	var	var	var	T1	Ile/Val
85	erkek	33	var	yok	yok	T1M1	Ile/Ile
86	erkek	78	var	yok	yok	T1	Ile/Val
87	kadın	28	yok	yok	yok	T1	Ile/Ile
88	erkek	55	yok	yok	var	T1	Ile/Ile
89	erkek	80	var	var	yok	M1	Ile/Ile
90	kadın	65	yok	var	yok	T1	Ile/Val
91	kadın	51	yok	var	yok	Null	Ile/Val
92	kadın	63	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Val
93	kadın	68	yok	yok	yok	T1	Ile/Ile
94	erkek	63	yok	yok	yok	T1	Ile/Val
95	kadın	51	var	yok	yok	T1	Ile/Ile

SM: splenomegali

Tablo-8d: Hastaların cinsiyet, yaş, vasküler olay, kronik hastalık, splenomegali ve GSTT1, GSTM1, GSTP1 genotip dağılımı

96	kadın	28	yok	yok	yok	Null	Ile/Val
97	kadın	55	yok	var	yok	T1M1	Ile/Val
98	kadın	47	yok	yok	yok	T1	Ile/Ile
99	erkek	79	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Ile
100	kadın	84	yok	var	yok	T1M1	Ile/Ile
101	kadın	63	var	var	yok	T1	Ile/Val
102	kadın	45	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Val
103	kadın	65	yok	var	yok	M1	Ile/Val
104	kadın	76	yok	var	yok	M1	Ile/Ile
105	kadın	64	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Ile
106	erkek	52	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Ile
107	kadın	76	yok	var	yok	T1M1	Ile/Val
108	erkek	68	yok	yok	yok	M1	Ile/Ile
109	erkek	71	yok	yok	yok	M1	Val/Val
110	kadın	74	yok	var	var	Null	Ile/Val
111	erkek	56	yok	yok	yok	T1M1	Ile/Val
112	kadın	44	yok	yok	var	T1	Ile/Val
113	erkek	58	var	yok	yok	Null	Ile/Ile
114	erkek	79	yok	yok	var	T1	Ile/Val
115	kadın	73	yok	yok	yok	T1	Ile/Ile
116	erkek	41	yok	yok	var	T1	Ile/Ile
117	kadın	58	yok	yok	var	T1	Ile/Ile
118	kadın	79	yok	yok	yok	Null	Ile/Val

SM: splenomegali

Çalışmamıza 118 hasta, 108 kontrol grubu dahil edilmiştir. Hastaların 59'u erkek (%50), 59'u kadın (%50) olup, erkek/kadın oranı 1 idi. Kontrol grubunun 55'i erkek (%50,9), 53'ü (49,1) kadın olup, kontrol grubu ve hasta grubu arasında cinsiyet ($p > 0,05$) açısından istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Hastaların medyan yaş değeri 63 (20-96) yıl olarak saptandı, kontrol grubunun medyan yaş değeri 56 (45-86) yıl olarak saptandı. Kontrol grubu ve hasta grubu arasında yaş ($p > 0,05$) açısından istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Hastaların 53'ü (%44,9) 60 yaş ve altında tanı almış iken, 65'i (%55,1) 60 yaş üstünde tanı almış idi. Hastaların 57 tanesi polisitemia vera (PV), 61 tanesi esansiyel trombositoz (ET) tanısına

sahipti. Hastaların 31 tanesinde (%26,3) splenomegali, 26 tanesinde (%22) vasküler olay,34 tanesinde (%28,8) kronik hastalık mevcuttu.

Tablo-9: Hastaların cinsiyet, yaş, splenomegali, vasküler olay, kronik hastalık bakımından dağılımları.

	Sayı (%)
Cinsiyet	
Erkek	59 (%50)
Kadın	59 (%50)
Yaş(Yıl) *	63 (20-96)
Tanı Yaşı	
60≥	53 (%44,9)
60<	65 (%55,1)
Splenomegali	31 (%26,3)
Vasküler olay	26 (%22)
Kronik hastalık	34 (%28,8)

*Median

Polisitemia vera tanısı almış hastaların 24 tanesi (%42,1) kadın, 33 tanesi (%57,9) erkekti. Esansiyel trombositoz tanısı almış hastaların 35 tanesi (%57,4) kadın, 26 tanesi (%42,6) erkekti. PV grubu ve ET grubu arasında cinsiyet ($p > 0,05$) açısından istatistiksel bir fark bulunmamıştır. PV grubunda medyan yaş değeri 61 (28-84) yaş olarak saptandı, ET grubunun medyan yaş değeri 63 (20-96) yaş olarak saptandı. PV hastalarının median hemoglobin (Hb) değeri 17,5 g/dL (7-21,3) g/dL ET hastalarının median Hb değeri 13,8 g/dL (5-16,7) g/dL idi. PV hastalarının median platlet değeri (PLT) 508 ($\times 10^9/L$) (173-1990) ET hastalarının median PLT değeri 803 ($\times 10^9/L$) (288-10580) idi. PV hastalarının median beyaz küre (WBC) değeri 12,1 ($\times 10^9/L$) (5,2-408) ET hastalarının median WBC değeri 12,4 ($\times 10^9/L$) (5-60) idi. PV grubu ve ET grubu arasında Hb ve PLT

değerleri açısından (p=0,000) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. PV grubunda Hb değerleri, ET grubunda PLT değerleri anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. PV grubu ve ET grubu arasında WBC değerleri (p>0,05) açısından istatistiksel bir fark bulunmamıştır. PV hastalarının 16 tanesinde (%51,6), ET hastalarının 15 tanesinde (%48,4) splenomegali mevcuttu. PV grubu ve ET grubu arasında splenomegali açısından (p>0,05) istatistiksel bir fark bulunmamıştır. PV hastalarının 8 tanesinde (%30,8), ET hastalarının 18 tanesinde (%69,2) vasküler olay mevcuttu. PV grubu ve ET grubu arasında vasküler olay açısından (p= 0,043) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Vasküler olay ET grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. PV hastalarının 15 tanesinde (%44,1), ET hastalarının 19 tanesinde (%55,9) kronik hastalık mevcuttu. PV grubu ve ET grubu arasında kronik hastalık açısından (p>0,05) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo-10: PV ve ET hasta grubunun klinik özellikleri

Klinik özellikler	PV (N=57)	ET (N=61)	p değeri
Yaş(yıl)	61 (28-84) *	63 (20-96) *	0,817
Cinsiyet(%erkek)	57,9	42,6	0,251
Cinsiyet(%kadın)	42,1	57,4	
Hb (g/dL)	17,5 (7-21,3) *	13,8 (5-16,7) *	0,000
PLT (X10 ⁹ /L)	508 (173-1990) *	803 (288-10580) *	0,000
WBC (10X10 ⁹ /L)	12,1 (5,2-408)*	12,4 (5-60)*	0,660
Splenomegali	16 (51,6)**	15 (48,4)**	0,668
Vasküler olay	8 (30,8) **	18 (69,2)**	0,043
Kronik hastalık	15 (44,1) **	19 (55,9) **	0,563

PV: Polisitemia vera, ET: esansiyel trombositoz PLT: platelet, Hb: hemoglobin, WBC: beyaz küre

*Median (minimum-maximum)

**n (%)

GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 genotipleri açısından miyeloproliferatif hasta grubu ile kontrol grubu istatistiksel olarak karşılaştırıldı. GSTM1 null genotipi taşıyan hasta sayısı 70 (%59,3), M1 pozitif genotipi taşıyan hasta sayısı 48 (%40,7) bulundu. GSTM1 null genotipi taşıyan kontrol sayısı 45 (%41,7), M1 pozitif genotipi taşıyan kontrol sayısı 63 (%58,3) bulundu.

GSTM1 genotip dağılımı açısından miyeloproliferatif hasta grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,008$). GSTM1 null genotipi miyeloproliferatif hasta grubunda anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. GSTT1 için 27 hasta (%22,9) null genotipi taşıırken, 91 hasta (%77,1) T1 pozitif bulundu. GSTT1 null genotipi taşıyan kontrol sayısı 24 (%22,2) T1 pozitif genotip taşıyan kontrol sayısı 84 (%77,8) bulundu. GSTT1 genotip dağılımı açısından miyeloproliferatif hasta grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). GSTP1 (Ile105Val) polimorfizmi için 58 hastada (%49,2) Ile/Ile genotipi, 52 hastada (%44,1) Ile/Val genotipi ve 8 hastada (%6,8) Val/Val genotipi bulundu. Kontrol grubunda ise GSTP1 polimorfizmi için 57 bireyde (%52,8) Ile/Ile genotipi, 48 bireyde (%44,4) Ile/Val genotipi ve 3 bireyde (%2,8) Val/Val genotipi bulundu. GSTP1 genotip dağılımı açısından miyeloproliferatif hasta grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Hasta ve kontrol grubu allel frekansı açısından değerlendirildiğinde hasta grubunda Ile allel frekans sıklığı %71,2, Val allel frekans sıklığı %28,8 iken kontrol grubunda Ile allel frekans sıklığı %75, Val allel frekans sıklığı %25 saptanmıştır. Allel frekansları açısından kontrol ve hasta grubu arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo-11).

Tablo-11:Miyeloproliferatif hastalık ve kontrol grubu arasında GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 genotip ve allel frekanslarının dağılımı açısından istatistiksel olarak karşılaştırılması

Genotip	Hasta (n=118) (%)	Kontrol (n=108) (%)	p Değeri
GSTM1			0,008
(+)	48 (%40,7)	63 (%58,3)	
(0)	70 (%59,3)	45 (%41,7)	
GSTT1			0,906
(+)	91 (%77,1)	84 (%77,8)	
(0)	27 (%22,9)	24 (%22,2)	
GSTP1Ile105Val			0,367
Ile/Ile	58 (%49,2)	57 (%52,8)	
Ile/Val	52 (%44,1)	48 (%44,4)	
Val/Val	8 (%6,8)	3 (%2,8)	
Allel			0,362
Ile*	71,2	75	
Val*	28,8	25	

*(%) allel sıklığı

GSTM1 ve GSTT1 ikili kombine genotip dağılımları değerlendirildiğinde hastaların 39'u (%33,1), kontrollerin 52'si (%48,1) GSTT1 pozitif, GSTM1 pozitif kombine genotipi taşımaktadır. GSTT1 pozitif GSTM1 null kombine genotipi hastaların 52'sinde (%44,1) kontrollerin 32'sinde (%29,6) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 pozitif kombine genotipi hastaların 9'unda (%7,6), kontrollerin 11'inde (%10,2) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 null kombine genotipi hastaların 18'inde (%15,3), kontrollerin 13'ünde (%12) saptanmıştır. GSTT1 GSTM1 ikili kombine genotipi açısından miyeloproliferatif hasta grubu ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0,05).

Tablo-12: Miyeloproliferatif hasta grubu ve kontrol grubu arasında GSTM1 ve GSTT1 ikili kombine genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak karşılaştırılması

Kombine Genotip		Hasta (n=118) n (%)	Kontrol (n=108) n (%)	p Değeri
GSTM1	GSTT1			0,066
(+)	(+)	39 (%33,1)	52 (%48,1)	
(+)	(0)	9 (%7,6)	11 (%10,2)	
(0)	(+)	52 (%44,1)	32 (%29,6)	
(0)	(0)	18 (%15,3)	13 (%12)	

GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 (Ile105Val) kombine genotip dağılımları değerlendirildiğinde hastaların 18'i (%15,3), kontrollerin 26'sı (%24,1) GSTT1 pozitif, GSTM1 pozitif ve GSTP1 Ile/Ile kombine genotipi taşımaktadır. GSTT1 pozitif, GSTM1 pozitif ve GSTP1 Val (Ile/Val,Val/Val) kombine genotipi hastaların 21'inde (%17,8), kontrollerin 26'sında (%24,1) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 pozitif, GSTP1 Ile/Ile kombine genotipi hastaların 4'ünde (%3,4), kontrollerin 6'sında (%5,6) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 pozitif, GSTP1 Val (Ile/Val,Val/Val) kombine genotipi hastaların 5'inde (%4,2), kontrollerin 5'inde (%4,6) saptanmıştır. GSTT1 pozitif, GSTM1 null, GSTP1 Ile/Ile kombine genotipi hastaların 28'sinde (%23,7), kontrollerin 19'unda (%17,6) saptanmıştır. GSTT1 pozitif, GSTM1 null, GSTP1 Val (Ile/Val,Val/Val) kombine genotipi hastaların 24'ünde (%20,3), kontrollerin 13'ünde (%12) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 null, GSTP1 Ile/Ile kombine genotipi hastaların 8'inde (%6,8), kontrollerin 6'sinde (%5,6) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 null, GSTP1 Val (Ile/Val,Val/Val) kombine genotipi hastaların 10'unda (%8,5), kontrollerin 7'sinde (%6,5) saptanmıştır. GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 (Ile105Val) kombine genotip dağılımları değerlendirildiğinde hasta grubu ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo-13).

Tablo-13: Miyeloproliferatif hasta grubu ve kontrol grubu arasında GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 üçlü kombine genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak karşılaştırılması

Kombine Genotip			Hasta (n=118) n (%)	Kontrol (n=108) n (%)	p Değeri
GSTT1	GSTM1	GSTP1			0,353
(+)	(+)	Ile/ Ile	18 (%15,3)	26 (%24,1)	
(+)	(+)	Val*	21 (%17,8)	26 (%24,1)	
(0)	(+)	Ile/ Ile	4 (%3,4)	6 (%5,6)	
(0)	(+)	Val*	5 (%4,2)	5 (%4,6)	
(+)	(0)	Ile/ Ile	28 (%23,7)	19 (%17,6)	
(+)	(0)	Val*	24 (%20,3)	13 (%12)	
(0)	(0)	Ile/ Ile	8 (%6,8)	6 (%5,6)	
(0)	(0)	Val*	10 (%8,5)	7 (%6,5)	

*Ile/Val veya Val/Val

GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 genotipleri açısından PV hasta grubu, ET hasta grubu ve kontrol grubu istatistiksel olarak karşılaştırıldı. GSTM1 null genotipi taşıyan PV hasta sayısı 32 (%56,1), GSTM1 pozitif genotipi taşıyan PV hasta sayısı 25 (%43,9)'dur. GSTM1 null genotipi taşıyan ET hasta sayısı 38 (%62,3) GSTM1 pozitif genotip taşıyan ET hasta sayısı 23(%37,7)'dir. GSTM1 null genotipi taşıyan kontrol sayısı 45 (%41,7), M1 pozitif genotipi taşıyan kontrol sayısı 63 (%58,3)'tür. GSTM1 genotip dağılımı açısından ET hasta grubu PV hasta grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,024). Sonrasında GSTM1 dağılımı açısından PV hasta grubu - ET hasta grubu ,PV hasta grubu - Kontrol grubu, ET hasta grubu - Kontrol grubu istatistiksel olarak ikili karşılaştırma yapıldı. GSTM1 genotip dağılımı açısından ET hasta grubu - Kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,008). GSTM1 null genotipi ET grubunda kontrol grubuna göre daha fazla oranda saptandı. GSTT1 için 13 PV hasta grubu (%22,8) null genotipi taşıırken, 44 PV hastası (%77,2) T1 pozitif bulundu. GSTT1 için 14 ET hasta grubu (%23) null genotipi taşıırken, 47 ET hastası (%77) T1 pozitif bulundu. GSTT1 null genotipi taşıyan kontrol sayısı 24 (%22,2) T1 pozitif genotip taşıyan kontrol sayısı 84 (%77,8)

bulundu. GSTT1 genotip dağılımı açısından ET hasta grubu PV hasta grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). GSTP1 (Ile105Val) polimorfizmi için 28 PV'lı hastada (%49,1) Ile/Ile genotipi, 23 PV'lı hastada (%40,4) Ile/Val genotipi ve 6 PV'lı hastada (%10,5) Val/Val genotipi bulundu. GSTP1 (Ile105Val) polimorfizmi için 30 ET'lu hastada (%49,2) Ile/Ile genotipi, 29 ET'lu hastada (%47,5) Ile/Val genotipi ve 2 ET'lu hastada (%3,3) Val/Val genotipi bulundu. Kontrol grubunda ise GSTP1 polimorfizmi için 57 bireyde (%52,8) Ile/Ile genotipi, 48 bireyde (%44,4) Ile/Val genotipi ve 3 bireyde (%2,8) Val/Val genotipi bulundu. GSTP1 genotip dağılımı açısından ET hasta grubu PV hasta grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). PV hasta grubu, ET hasta grubu ve kontrol grubu allel frekansı açısından değerlendirildiğinde PV hasta grubunda Ile allel frekans sıklığı %69,2, Val allel frekans sıklığı %30,8 ET hasta grubunda Ile allel frekans sıklığı %72,9, Val allel frekans sıklığı %27,1 kontrol grubunda Ile allel frekans sıklığı %75, Val allel frekans sıklığı %25 saptanmıştır. Allel frekansları açısından PV hasta grubu, ET hasta grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo-14).

Tablo14: PV hasta grubu, ET hasta grubu ve kontrol grubu arasında GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 genotip ve allel frekanslarının dağılımı açısından istatistiksel olarak karşılaştırılması

Genotip	PV (n=57) (%)	ET (n=61) (%)	Kontrol (n=108) (%)	p Değeri
GSTM1				0,024
(+)	25 (%43,9)	23 (%37,7)	63 (%58,3)	
(0)	32 (%56,1)	38 (%62,3)	45 (%41,7)	
GSTT1				0,993
(+)	44 (%77,2)	47 (%77)	84 (%77,8)	
(0)	13 (%22,8)	14 (%23)	24 (%22,2)	
GSTP1Ile105Val				0,314
Ile/Ile	28 (%49,1)	30 (%49,2)	57 (%52,8)	
Ile/Val	23 (%40,4)	29 (%47,5)	48 (%44,4)	
Val/Val	6 (%10,5)	2 (%3,3)	3 (%2,8)	
Allel				0,540
Ile*	69,2	72,9	75	
Val*	30,8	27,1	25	

*(%))allel sıklığı

GSTM1 ve GSTT1 ikili kombine genotip dağılımları değerlendirildiğinde PV hastaların 21'i (%36,8), ET hastalarının 18'i (29,5) kontrollerin 52'si (%48,1) GSTT1 pozitif, GSTM1 pozitif kombine genotipi taşımaktadır. GSTT1 pozitif GSTM1 null kombine genotipi PV hastaların 23'ünde (%40,4) ET hastalarının 29 (47,5) kontrollerin 32'sinde (%29,6) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 pozitif kombine genotipi PV hastaların 4'ünde (%7), ET hastalarının 5'i (8,2) kontrollerin 11'inde (%10,2) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 null kombine genotipi PV hastaların 9'unda (%15,8), ET hastalarının 9'u (14,8) kontrollerin 13'ünde (%12) saptanmıştır. GSTT1 GSTM1 ikili kombine genotipi açısından ET hasta grubu PV hasta grubu ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo-15).

Tablo-15: PV hasta grubu ET hasta grubu ve kontrol grubu arasında GSTM1 ve GSTT1 ikili kombine genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak karşılaştırılması

Kombine Genotip		PV Hasta (n=57) n(%)	ET Hasta (n=61) n(%)	Kontrol (n=108) n(%)	P Değeri
GSTM1	GSTT1				0,233
(+)	(+)	21 (%36,8)	18 (29,5)	52 (%48,1)	
(+)	(0)	4 (%7)	5 (8,2)	11 (%10,2)	
(0)	(+)	23 (%40,4)	29 (47,5)	32 (%29,6)	
(0)	(0)	9 (%15,8)	9 (14,8)	13 (%12)	

GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 (Ile105Val) kombine genotip dağılımları değerlendirildiğinde PV grubunun 11'i (%19,3), ET grubunun 7'si (%11,5) kontrollerin 26'sı (%24,1) GSTT1pozitif, GSTM1 pozitif ve GSTP1 Ile/Ile kombine genotipi taşımaktadır. GSTT1 pozitif, GSTM1 pozitif ve GSTP1 Val (Ile/Val,Val/Val) kombine genotipi PV grubunun 10'unda (%17,5), ET grubunun 11'inde (%18) kontrollerin 26'sında (%24,1) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1pozitif, GSTP1 Ile/Ile kombine genotipi PV grubunun 1'inde (%1,8), ET grubunun 3'ünde (%4,9), kontrollerin 6'sında (%5,6) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 pozitif, GSTP1 Val (Ile/Val,Val/Val) kombine genotipi PV grubunun 3'ünde (%5,3), ET grubunun 2'sinde (%3,3), kontrollerin 5'inde (%4,6) saptanmıştır. GSTT1 pozitif, GSTM1 null, GSTP1 Ile/Ile kombine genotipi PV grubunun 13'ünde (%22,8), ET grubunun 15'inde (%24,6) kontrollerin 19'unda (%17,6) saptanmıştır. GSTT1 pozitif, GSTM1 null, GSTP1 Val (Ile/Val,Val/Val) kombine genotipi PV grubunun 10'unda (%17,5), ET grubunun 14'ünde (%23), kontrollerin 13'ünde (%12) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 null, GSTP1 Ile/Ile kombine genotipi PV grubunun 3'ünde (%5,3), ET grubunun 5'sinde (%8,2), kontrollerin 6'sında (%5,6) saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 null, GSTP1 Val (Ile/Val,Val/Val) kombine genotipi PV grubunun 6'sında (%10,5), ET grubunun 4'ünde (%6,6), kontrollerin 7'sinde (%6,5) saptanmıştır. GSTM1, GSTT1 ve GSTP1

(Ile105Val) kombine genotip dağılımları değerlendirildiğinde hasta grubu ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Tablo-16).

Tablo-16: PV hasta grubu ET hasta grubu ve kontrol grubu arasında GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 üçlü kombine genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak karşılaştırılması

Kombine Genotip			PV (n=57) n (%)	ET (n=61) n (%)	Kontrol (n=108) n (%)	p Değeri
GSTT1	GSTM1	GSTP1				0,261
(+)	(+)	Ile/ Ile	11 (%19,3)	7 (%11,5)	26 (%24,1)	
(+)	(+)	Val*	10 (%17,5)	11 (%18)	26 (%24,1)	
(0)	(+)	Ile/ Ile	1 (%1,8)	3 (%4,9)	6 (%5,6)	
(0)	(+)	Val*	3 (%5,3)	2 (%3,3)	5 (%4,6)	
(+)	(0)	Ile/ Ile	13 (%22,8)	15 (%24,6)	19 (%17,6)	
(+)	(0)	Val*	10 (%17,5)	14 (%23)	13 (%12)	
(0)	(0)	Ile/Ile	3 (%5,3)	5 (%8,2)	6 (%5,6)	
(0)	(0)	Val*	6 (%10,5)	4 (%6,6)	7 (%6,5)	

*Ile/Val veya Val/Val

GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 genotipleri açısından vasküler olay geçiren hasta grubu ile vasküler olay geçirmeyen hasta grubu istatistiksel olarak karşılaştırıldı. GSTM1 null genotipi taşıyan vasküler olay geçiren hasta sayısı 16 (%61,5), M1 pozitif genotipi taşıyan vasküler olay geçiren hasta sayısı 10 (%38,5) bulundu. GSTM1 null genotipi taşıyan vasküler olay geçirmeyen hasta sayısı 54 (%58,7), M1 pozitif genotipi taşıyan vasküler olay geçirmeyen hasta sayısı 38 (%41,3) bulundu. GSTM1 genotip dağılımı açısından vasküler olay geçiren hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). GSTT1 null genotipi taşıyan vasküler olay geçiren hasta sayısı 5 (%19,2), T1 pozitif genotipi taşıyan vasküler olay geçiren hasta sayısı 16 (%80,8) bulundu. GSTT1 null genotipi taşıyan vasküler olay geçirmeyen hasta sayısı 22 (%23,9), T1 pozitif genotipi taşıyan vasküler olay geçirmeyen hasta sayısı 70 (%76,1) bulundu. GSTT1 genotip dağılımı açısından vasküler olay geçiren

hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). GSTP1 (Ile105Val) polimorfizmi için 16 vasküler olay geçiren hastada (%61,5) Ile/Ile genotipi, 10 hastada (%38,5) Ile/Val genotipi bulundu. Vasküler olay geçirmeyen hasta grubunda ise GSTP1 polimorfizmi için 42 bireyde (%45,7) Ile/Ile genotipi, 42 bireyde (%45,7) Ile/Val genotipi ve 8 bireyde (%8,7) Val/Val genotipi bulundu. GSTP1 genotip dağılımı açısından vasküler olay geçiren hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Vasküler olay geçiren hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen grubu allel frekansı açısından değerlendirildiğinde vasküler olay geçiren hasta grubunda Ile allel frekans sıklığı %80,7, Val allel frekans sıklığı %19,3 iken vasküler olay geçirmeyen hasta grubunda Ile allel frekans sıklığı %68,5 Val allel frekans sıklığı %31,5 saptanmıştır. Allel frekansları açısından kontrol ve hasta grubu arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo-17).

Tablo-17: Vasküler olay geçiren hasta grubu ile vasküler olay geçirmeyen hasta grubu arasında GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 genotip ve allel frekanslarının dağılımı açısından istatistiksel olarak karşılaştırılması

Genotip	Vasküler Olay Geçiren Hastalar	Vasküler Olay Geçirmeyen Hastalar	p Değeri
GSTM1			0,794
(+)	10 (%38,5)	38 (%41,3)	
(0)	16 (%61,5)	54 (%58,7)	
GSTT1			0,616
(+)	16 (%80,8)	70 (%76,1)	
(0)	5 (%19,2)	22 (%23,9)	
GSTP1Ile105Val			0,170
Ile/Ile	16 (%61,5)	42 (%45,7)	
Ile/Val	10 (%38,5)	42 (%45,7)	
Val/Val	0	8 (%8,7)	
Allel			0,362
Ile*	80,7	68,5	
Val*	19,3	31,5	

*Ile/Val veya Val/Val

Vasküler olay geçiren hastaların %38,5'i kadın, %61,5'i erkekti. Vasküler olay geçirmeyen hastaların %53,3'ü kadın, %46,7'si erkekti. Vasküler olay geçiren hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen hasta grubu arasında cinsiyet ($p>0,05$) açısından istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Vasküler olay geçiren hasta grubunda medyan yaş değeri 63,5 (33-83) yaş olarak saptandı, Vasküler olay geçirmeyen hasta grubunun medyan yaş değeri 62,5 (20-96) yaş olarak saptandı. Vasküler olay geçiren hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen hasta grubu arasında yaş ($p>0,05$) açısından istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Vasküler olay geçiren hastalarının median beyaz küre (WBC) değeri 11,25 ($\times 10^9/L$) (6,3-26,6) vasküler olay geçirmeyen hastalarının median WBC değeri 12,6 ($\times 10^9/L$) (5-408) idi. Vasküler olay geçiren ve geçirmeyen hasta grupları arasında WBC değerleri ($p>0,05$) açısından istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Vasküler olay geçiren hasta

grubunda 60 yaş ve altında 14 hasta (%53,8), 60 yaş üzerinde 12 hasta (%46,2) bulunmaktadır. Vasküler olay geçirmeyen hasta grubunda 60 yaş ve altında 51 hasta (%55,4), 60 yaş üzerinde 41 hasta (%44,6) bulunmaktadır. Vasküler olay geçiren hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen hasta grubu arasında 60 yaş altı ve 60 yaş üzeri olarak değerlendirildiğinde ($p>0,05$) istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Vasküler olay geçiren hastaların 13 tanesinde (%61,8), vasküler olay geçirmeyen hastaların 21 tanesinde (%38,2) kronik hastalık mevcuttu. Vasküler olay geçiren hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen hasta grubu arasında kronik hastalık açısından ($p=0,007$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Kronik hastalık, vasküler olay geçiren hasta grubunda istatistiksel olarak yüksek oranda bulunmaktadır.

Tablo-18: Vasküler olay geçiren hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen hasta grubu arasında cinsiyet, yaş, WBC değerleri ve kronik hastalık açısından istatistiksel olarak karşılaştırılması

Klinik özellikler	Vasküler Olay Geçiren Hastalar	Vasküler Olay Geçirmeyen Hastalar	p değeri
Yaş(yıl)	63,5 (33-83) *	62,5 (20-96) *	0,561
Cinsiyet(%erkek)	61,5	46,7	0,183
Cinsiyet(%kadın)	38,5	53,3	
Yaş			0,886
60≤	14 (53,8) **	51 (55,4) **	
60>	12 (46,2) **	41 (44,6) **	
WBC (10X10 ⁹ /L)	11,25 (6,3-26,6)*	12,6 (5-408)*	0,535
Kronik hastalık	13 (61,8) **	21 (38,2) **	0,007

WBC: beyaz küre

*Median (minimum-maximum) **n (%)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kronik miyeloproliferatif hastalıklar multipotent kök hücrelerin bir veya birkaç kan hücre serisinde aşırı çoğalması ile karakterize hastalıklardır (1). Kronik miyelositik lösemi, polisitemia vera, esansiyal trombositoz, agnojenik myeloid metaplazi (primer miyelofibrozis) ve eritrolösemi bu gruptaki hastalıklar olarak değerlendirilmiştir (2). KML dışı miyeloproliferatif hastalıklar için 2008 DSÖ tanı kriterlerindeki değişikliklere JAK2 mutasyonlarının bulunması öncülük etmiştir (5). JAK2 mutasyonu PV hastalarının %90-95'inde, ET hastalarının %50-70'inde, AMM hastaların %40-50'sinde gösterilmiştir (7,8). JAK2V617F mutasyonu büyüme faktöründen bağımsız olarak anormal hematopoeze yol açan bir durumdur.

Glutasyon S Transferaz genleri birçok çevresel karsinojenin de dahil olduğu elektrofollere karşı hücre korunmasında rol alan ve oksidadif stresin endojen ürünlerine karşı savunmada rol alan bir gen ailesidir (85). Bu genlerin kodladığı enzimler büyük oranda karaciğerde olmak üzere böbrekler, intestinal kanal, testisler, adrenal bezler ve akciğerde bulunurlar (86,87). İnsan genlerindeki üç bilinen fonksiyonel polimorfizimler GSTM1, T1 ve P1 olarak adlandırılır (82,97). GSTM1 ve GSTT1'in her ikisi için varyant allel, genin delesyonudur ve homozigot allel delesyonu olan bireyler null genotip olarak adlandırılır, enzim ekspresyonu görülmez. GSTP1 için iki genetik polimorfizim bilinmektedir ve Ile-105-Val, baz 1578'deki A>G yer değiştirmesinden kaynaklanır, Ala-114-Val, baz 2293'deki C>T yer değiştirmesinden kaynaklanır (97).

Toplumdaki bireylerin yaklaşık %20-50'si homozigot allel delesyonu gösterirler. Bu oran farklı popülasyonlarda değişiklik göstermektedir. Chen ve ark. (93) beyaz ırk ve Amerikan-Afrikan'larda yaptıkları çalışmalara göre GSTM1 geni null genotipi beyaz ırkta %53,5 iken Amerikan-Afrikan'larda %27,6'dır. Aynı çalışmada GSTT1 geni null genotipi ise Amerikan-Afrikan'larda %24,1 iken beyaz ırkta %15'tir. Ateş ve ark. (98) 2005 yılında Türkiye'de yaptıkları çalışmada kontrol grubunda GSTM1 ve T1 null genotiplerini sırası ile %42, %23 oranında, GSTP1 Ile allel frekansını %75,

Val allel frekansını %25 oranında saptamışlardır. Zhou ve ark. (99) 2013 yılında yaptıkları çalışmada kontrol grubunda GSTM1 null genotipini %47,6, GSTT1 null genotipini %28,8 oranında saptamışlardır. Çalışmamızda GSTM1 ve T1 null genotipini kontrol grubunda sırasıyla %41,7 ve %22,2 oranlarında, GSTP1 ile allel frekansını %75, Val allel frekansını %25 oranında saptadık. Bu sonuçlar ile literatürdeki çalışmaların sonuçlarının uyumlu olduğu görüldü.

Şimdiye kadar GST ailesine ait enzimleri kodlayan genlerdeki polimorfizmler, akciğer, meme, kolorektal, mide, larinks ve kemik iliği gibi birçok kanserde risk faktörü olarak araştırılmıştır. Kruger ve ark. (100) 2015 yılındaki yaptıkları çalışmada GSTM1 null genotipinin sigara içenlerdeki oral skuamöz hücreli kanserlerin gelişiminde risk faktörü olduğunu göstermişlerdir. Phukan ve ark. (101) Hindistanda yaptıkları çalışmada GSTM1 null genotipinin kadınlarda akciğer kanseri riskinde artışla ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Stosic ve ark. (102) 45 yaş üzeri kadınlardaki uterin servikal lezyonların gelişiminde GSTM1 null genotipinin ilişkili olabileceğini bulmuşlardır. Berber ve ark. (103) yaptıkları çalışmada kombine GSTM1 ve GSTT1 null genotipinin mesane kanserine yakınlıkta ilişkili olabileceğini göstermişlerdir. Chirila ve ark. (104) 420 kolorektal kanserli hastada yaptıkları çalışmada kolorektal kanserler için GSTM1 null genotipini bir risk faktörü olarak tanımlamışlardır. Bin ve ark. (105) lenfomalı hastalarda yaptıkları çalışmada GSTT1 null genotipinin non-Hodgkin lenfoma riskinde artışla ilişkili olabileceğini göstermişlerdir. Torre ve ark. (106) GSTM1 gen delesyonu ve mide kanseri arasındaki olası birlikteliği detaylandıran 17 çalışmayı incelemiş ve GSTM1 gen delesyonu ile mide kanseri riskinin istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca GSTM1 gen delesyonu ile sigara içimi ve mide kanseri arasındaki olası ilişkiyi detaylandıran 4 çalışmanın birleştirilmesinde riskin GSTM1 gen delesyonu olan sigara içicilerinde GSTM1 normal sigara içmeyenlere göre 2,93 kat arttığı sonucu elde edilmiştir.

Dunna ve ark.'nın (107) yaptığı çalışmada; 152 akut lenfostik lösemi(ALL), 142 akut miyeloid lösemi (AML)ve 251 kontrol örneğinde GSTM1 ve GSTT1 gen polimorfizmleri çalışılmıştır. Bu çalışmanın

sonucunda GSTM1 null, GSTT1 null ve kombine null genotip sıklığı kontrollerle kıyaslandığında ALL ve AML hastalarında istatistiksel olarak önemli bir şekilde arttığı tespit edilmiştir. GST enzim eksikliğinin oksidatif stres ve ardışık DNA hasarı sonrası genomik instabiliteye yol açabileceğini ortaya koyulmuştur.

Zhou ve ark. (99) 163 akut miyeloid lösemi (AML) ve 204 kontrol örneğinde GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 gen polimorfizmlerini çalışmışlardır. Çalışmanın neticesinde AML gelişim riski ile GSTM1 ve GSTP1 gen polimorfizmleri arasında ilişki olmadığını fakat GSTT1 null genotipi ve kombine null genotipi ile AML gelişim riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olabileceğini tespit etmişlerdir. AML gelişim riskini değerlendirmede GST gen polimorfizmlerinin aday biyomarker olabileceğini ifade etmişlerdir.

Mandegary ve ark. (108) 113 akut promiyelositik lösemili hasta (APML) ve 99 kontrol örneğinde GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 gen polimorfizmlerini çalışmışlardır. GSTT1 null genotipinin ve GSTM1 null, GSTT1 null, GSTP1 heterozigot/homozigot Val genotipi birlikteliğinin APML gelişim riskinde artışla ilişkili olabileceğini tespit etmişlerdir.

Al-Achkar ve ark. (109) Suriye popülasyonunda 126 kronik miyelositik lösemi (KML) hastası ve 172 kontrol örneğinde GSTM1, GSTT1 gen polimorfizmlerini çalışmışlar ve kombine GSTM1/ GSTT1 null genotipinin GSTM1/ GSTT1 present bireyler ile karşılaştırıldığında KML gelişiminde 5,47 kat tahmini artmış riske neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Literatürde kronik miyeloproliferatif hastalık grubu içerisinde olan polisitemia vera ve GST gen polimorfizmleri ile ilgili sadece bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada Ürdünde 61 PV'lı hasta ve 70 kontrol örneğinde GST gen polimorfizmleri incelenmiştir. PV hastaları ile kontrol grubu arasında GSTM1 null genotip açısından istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmiştir. GSTM1 null genotipi PV hasta grubunda anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Bu farklılık GSTT1 null genotipinde görülmemiştir (110).

He ve ark. (111) literatürdeki AML ve GST gen polimorfizmleri ile ilgili 29 makaleden elde ettikleri metaanaliz sonuçlarını yayınlamışlardır. Bu sonuçlara göre; Doğu Asyalılarda GSTM1 null genotipinin, Kafkasyalılarda

GSTT1 null genotipinin AML gelişimi için risk faktörü olduğu, kombine null genotipin her iki popülasyonda da AML gelişim riskini artırdığı tespit edilmiştir. Akut lösemi riski (ALL, AML) ve GST gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi konu alan başka bir meta analizde GSTM1 null genotipi ve GSTT1 null genotipinin Asyalılarda akut lösemi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Ancak, GSTP1 polimorfizminin ilişkili olduğu gösterilmemiştir. Şimdiye kadar çok sayıda çalışmada kemik iliği malignensileri ile GST gen polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Fakat bu çalışmalardaki bulgular arasında farklılıklar vardır. Bu durum etnik farklılıklar, çalışmalar arasındaki örnek büyüklükleri, yaş grupları arasındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (112).

Bizim çalışmamızda miyeloproliferatif hasta grubu ve kontrol grubu arasında GSTT1 delesyon polimorfizmi ve GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmazken, GSTM1 delesyon polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı. GSTM1 null genotipi miyeloproliferatif hasta grubunda anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 null ikili kombine, GSTT1 null, GSTM1 null, GSTP1 Val(Ile/Val, Val/Val) üçlü kombine genotipi açısından miyeloproliferatif hasta grubu ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

PV hasta grubu, ET hasta grubu ve kontrol grubu GSTT1 ve GSTP1 genotipleri dağılımları açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. PV hasta grubu, ET hasta grubu ve kontrol grubu GSTM1 genotipleri dağılımları açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. GSTM1 null genotipi ET hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda saptandı.

PV hasta grubu, ET hasta grubu ve kontrol grubu kombine GSTT1,GSTM1 ve GSTP1 genotipleri dağılımları açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Literatürdeki daha fazla olgu sayılı çalışmalarda kombine GSTT1,GSTM1 null genotipinin hematolojik malignensiler ile olabileceği istatistiksel olarak tespit edilmiştir.

Fakat bizim çalışmamızda kombine GSTT1,GSTM1 null genotipinin miyeloproliferatif hastalıkla bir ilişkisi bulunmadı. Bu durumun olgu sayımızın azlığından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Tek başına GSTM1 null genotipi literatürdeki birçok çalışmada olduğu gibi bizim çalışmamızda da anlamlı olarak hasta grupta yüksek oranda tespit edilmiştir.

Vasküler komplikasyonlar kronik miyeloproliferatif hastalarda ana bir sorundur. ET ve PV hastalarının %12-39'u ilk olarak vasküler olay ile başvurur. Bundan daha fazlası da tanıdan sonra bir vasküler bir komplikasyon geçirir. PV'li hastalara baktığımızda %38'inin PV tanısından önce vasküler olay öyküsü olduğunu görürüz (52). Bizim çalışmamızdaki hastaların %22 sinde vasküler olay mevcuttu. Eritrositoz ve kırmızı küre anomalileri PV'de yüksek beyaz küre değerlerinin protrombotik etkisi, kan viskozitesi ile paralellik gösteren oldukça yüksek vasküler olay riski ile ilişkilidir (48). Çalışmamızdaki vasküler olay geçiren hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen hasta grubunda beyaz küre değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Vasküler olay iyi tanımlanmış bir risk faktörü olan yaş, PV ve ET'de trombotik riskin majör bir belirleyicisidir (113). Çalışmamızdaki vasküler olay geçiren hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen hasta grubu 60 yaş altı ve üstü olarak değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Çalışmamızdaki vasküler olay geçiren hasta grubu ve vasküler olay geçirmeyen hasta grubu kronik hastalık açısından değerlendirildiğine istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı. Kronik hastalık, vasküler olay geçiren hasta grubunda daha fazla oranda gözlemlendi.

Sonuç olarak çalışmamızda kronik miyeloproliferatif hastalık ve GSTT1 delesyon polimorfizimi ve GSTP1 (Ile105Val) gen polimorfizimleri arasında ilişki saptamazken, GSTM1 delesyon polimorfizimini hasta grubunda önemli oranda yüksek saptadık. Kronik miyeloproliferatif hastalıklarda vasküler olay geçirme oranının kronik hastalık birlikteliği ile ilişkili olduğunu tespit ettik. Yaptığımız literatür taramasında miyeloproliferatif hastalık ve GST gen polimorfizmine ilişkin az sayıda olgu ile yapılan bir tane çalışma mevcut olup

ikisi arasındaki ilişkinin desteklenmesi için geniş olgu sayılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Lichtman MA, Liesveld JL. Chronic myelogenous leukemia and related disorders. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, (eds). Williams Hematology. 6th Edition. McGraw-Hill; 2001. 1085-123.
2. Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood* 1951;6:372-5.
3. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008;22:14-22.
4. Mughal TI, Goldman JM. Chronic myeloid leukaemia: A therapeutic challenge. *Ann oncol* 1995;6:637-44.
5. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365:1054-61.
6. Tefferi A, Sirhan S, Lasho TL, et al. Concomitant neutrophil JAK2 mutations screening and PRV-1 expression analysis in myeloproliferative disorders and secondary polycythaemia. *Br J Haematol* 2005;131:166-71.
7. Tefferi A. JAK2 mutations in myeloproliferative disorders. Molecular mechanisms and clinical applications. *N Engl J Med* 2007;356:444-5.
8. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, et al. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005;366:1945-53.
9. Colombi M, Radaelli F, Zocchi L, Maiolo AT. Thrombotic and hemorrhagic complications in essential thrombocythemia. A retrospective study of 103 patients. *Cancer* 1991;67:2926-30.
10. Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G, D'Emilio A, Rodeghiero F, Barbui T. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 1990;8:556-62.
11. Gruppo Italiano Studio Policitemia. Polycythemia vera: the natural history of 1213 patients followed for 20 years. *Ann Intern Med* 1995;123:656-64.
12. Schafer AI. Bleeding and thrombosis in myeloproliferative disorders. *Blood* 1984;64:1-12.
13. Gangat N, Strand J, Li CY. Leukocytosis in polycythemia vera predicts both inferior survival and leukaemic transformation. *Br J Haematol* 2007;138:354-8.
14. Wadleigh M, Tefferi A. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms according to the 2008 World Health Organization criteria. *Int J Hematol* 2010;91:174-9.

15. Dario CA. Survivin and IAP proteins in cell-death mechanisms. *Biochem J* 2010;430:199–205.
16. Xavier SG, Gadelha T, Pimenta G, et al. JAK2V617F Mutation in Patients with Splanchnic Vein Thrombosis. *Dig Dis Sci* 2010;5:487-94.
17. Saharinen P, Takaluoma K, Silvennoinen O. Regulation of the Jak2 tyrosine kinase by its pseudokinase domain. *Mol Cell Biol* 2000;20:3387-95.
18. Sandberg EM, Wallace TA, Godeny MD, VonDerLinden D, Sayeski PP. Jak2 tyrosine kinase: a true jak of all trades? *Cell Biochem Biophys* 2004;41:207-32.
19. Kisseleva T, Bhattacharya S, Braunstein J, Schindler CW. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene* 2002;285:1-24.
20. Huang LJ, Constantinescu SN, Lodish HF. The N-terminal domain of Janus kinase 2 is required for Golgi processing and cell surface expression of erythropoietin receptor. *Mol Cell* 2001;8:1327-38.
21. Lu X, Gross AW, Lodish HF. Active conformation of the erythropoietin receptor: random and cysteine-scanning mutagenesis of the extracellular juxtamembrane and transmembrane domains. *J Biol Chem* 2006;281:7002-11.
22. Seubert N, Royer Y, Staerk J, et al. Active and inactive orientations of the transmembrane and cytosolic domains of the erythropoietin receptor dimer. *Mol Cell* 2003;12:1239-50.
23. Ugo V, Marzac C, Teyssandier I, et al. Multiple signaling pathways are involved in erythropoietin-independent differentiation of erythroid progenitors in polycythemia vera. *Exp Hematol* 2004;32:179-87.
24. Witthuhn BA, Quelle FW, Silvennoinen O, et al. JAK2 associates with the erythropoietin receptor and is tyrosine phosphorylated and activated following stimulation with erythropoietin. *Cell* 1993;74:227-36.
25. Myklebust JH, Blomhoff HK, Rusten LS, Stokke T, Smeland EB. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase is important for erythropoietin-induced erythropoiesis from CD34(+) hematopoietic progenitor cells. *Exp Hematol* 2002;30:990-1000.
26. 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.
27. Jones AV, Kreil S, Zoi K, et al. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood* 2005;106:2162-8.
28. Steensma DP, Dewald GW, Lasho TL, et al. The JAK2 V617F activating tyrosine kinase mutation is an infrequent event in both "atypical" myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndromes. *Blood* 2005;106:1207-9.
29. Shashidhar SJ, Stacey JB, Lewis RS, Premkumar RE. JAK/STAT Pathways in Cytokine Signaling and Myeloproliferative Disorders:

- Approaches for Targeted Therapies. *Genes Cancer* 2011;1:979–93.
30. James C, Ugo V, Le Couedic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005;434:1144-8.
 31. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-90.
 32. Zhao R, Xing S, Li Z, et al. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem* 2005;280:22788-92.
 33. Ania BJ, Suman VJ, Sobell JL, Codd MB, Silverstein MN, Melton LJ 3rd. Trends in the incidence of polycythemia vera among Olmsted county, Minnesota residents, 1935-1989. *Am J Hematol* 1994;47:89-93.
 34. Berk PD, Goldberg JD, Donovan PB, et al. Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols. *Semin Hematol* 1986;23:132-43.
 35. Brubaker LH, Wasserman LR, Goldberg JD, et al. Increased prevalence of polycythemia vera in parents of patients in polycythemia vera study group protocols. *Am J Hematol* 1984;16:367-73.
 36. Adamson JW, Singer JW, Catalano P, et al. Polycythemia vera Further in vitro studies of hematopoietic regulation. *J Clin Invest* 1980;66:1363-8.
 37. Hoffman R, Baker K, Prchal J. The polycythemia. In: Hoffman R, Benz E, Shattil S (eds). *Hematology Basic Principles and Practice*. 4th Edition. Elsevier; 2005, 1029-245.
 38. Li Y, Hetet G, Maurer AM, Chait Y, Dhermy D, Briere J. Spontaneous megakaryocyte colony formation in myeloproliferative disorders is not neutralizable by antibodies against IL3, IL6 and GM-CSF. *Br Haematol* 1994;87:471-5.
 39. Silva M, Richard C, Benito A, Sanz Ci Benito A. Expression of Bcl-x in erythroid precursors from patients with polycythemia vera. *N Engl J Med* 1998;338:564-71.
 40. Ferraris AM, Mangerini R, Pujic N, et al. High telomerase activity in granulocytes from clonal polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood* 2005;105:2138-40.
 41. Hoffman R, Xu M, Finazzi G, Barbui T. Polycythemia Vera. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al (eds). *Hematology, Basic Principles and Practice*. Pennsylvania: Churchill-Livingstone; 2009. 1073-108.
 42. Pearson TC, Messinezy M, Westwood N, et al. A polycythemia vera updated: Diagnosis pathobiology, and treatment. *Hematology Am Soc Hematol educ program*. 2000:51-68.
 43. Prchal JT, Beutler E. Primary and Secondary Polycythemias (Erythrocytosis). In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligshon U, Kaushansky K, Prchal JT (eds). *Williams Hematology*. New York: McGraw-Hill; 2006. 779-802.
 44. Means RT. Polycythemia Vera. In: Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, et al (eds). *Wintrobe's Clinical Hematology*. Baltimore: Williams-

- Wilkins; 2009. 2031-44.
45. Michiels JJ, van Genderen PJ, Lindemans J, van Vliet HH. Erythromelalgic, thrombotic and hemorrhagic manifestations in 50 cases of thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* 1996;22:47-56.
 46. Acharya J, Westwood AJ, Sawyer BM, et al. Identification of latent myeloproliferative disease in patients with Budd-Chiari syndrome using X-chromosome inactivation patterns and in vitro erythroid colony formation. *Eur J Haematol* 1995;55:315-21.
 47. Koudstaal PJ. Atypical transient ischemic attacks in thrombocythemia of various myeloproliferative disorders. *Leuk Lymph* 1996;22:65-70.
 48. Messinezy M, Pearson TC. Incidence of myelofibrosis following treatment of primary polycythemia. *Br J Hematol* 1995;89:228-35.
 49. Ferrant A. What clinical and laboratory data are indicative of polycythemia and when are blood volume studies needed? *Nouv Rev Fr Hematol* 1994;36:151-4.
 50. Ming C, Randall JO, Youli Z. Polycythemia Vera, New Clinicopathologic Perspectives. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130:1126-32.
 51. Wu H, Liu X, Jaenisch R, Lodish HF. Generation of committed erythroid BFU-E and CFU-E progenitors does not require erythropoietin or the erythropoietin receptor. *Cell* 1995;83:59-64.
 52. Elliot MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2005; 128:275-90.
 53. Streiff MB, Smith B, Spivak JL. The diagnosis and management of polycythemia vera in the era since the Polycythemia Vera Study Group: a survey of American Society of Hematology members' practice patterns. *Blood* 2002;99:1144-9.
 54. Tartaglia AP, Goldberg JD, Berk PD, Wesserman LR. Adverse effects of antiaggregating platelet therapy in the treatment of polycythemia vera. *Semin Hematol* 1986;23:172-6.
 55. Anagrelide Study Group. Anagrelide, a therapy for thrombocytemic states: experience in 577 patients. *Am J Med* 1992;92:69-76.
 56. Elliott MA, Tefferi A. Interferon-alpha therapy in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost* 1997;23:463-72.
 57. Pardanani A. JAK2 inhibitor therapy in myeloproliferative disorders: rationale, preclinical studies and ongoing clinical trials. *Leukemia* 2008;22:23-30.
 58. Den Genderen PJJ, Michiel JJ. Primary thrombocythaemia, diagnosis, clinical manifestations and management. *Ann Hematol* 1993; 67:57-62.
 59. Mesa RA, Silverstein MN, Jacobsen SJ et al. Population-based incidence and survival figures in essential thrombocythemia and agnogenic myeloid metaplasia: an Olmsted County Study, 1976-1995. *Am J Hematol* 1999;61:10-5.
 60. Beer AP, Green AR. Pathogenesis and management of essential thrombocythemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009:621-8.

61. Levine RL, Belisle C, Wadleigh M, et al. X-inactivation-based clonality analysis and quantitative JAK2V617F assessment reveal a strong association between clonality and JAK2V617F in PV but not ET/MMM, and identifies a subset of JAK2V617F-negative ET and MMM patients with clonal hematopoiesis. *Blood* 2006;107:4139-41.
62. Finazzi G, Xu M, Barbui T, Hoffman R. Essential Thrombocythemia. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al (eds). *Hematology, Basic Principles and Practice*. Pennsylvania: Churchill-Livingstone; 2009. 1149-66.
63. Wehmeir A, Baudaun I, Jamin H, Schneidr W. Incidence and clinical risk factors for bleeding and thrombotic complications in myeloproliferative disorders. *Ann Hematol* 1991;63:101-4.
64. Long MW, Hoffman R. Thrombocytopoiesis. In: Hofman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ (eds). *Hematology Basic Principles and Practice*. New York: Churcill Livingstone; 2000. 245-59.
65. Rodgers GM, Bithell TC. The diagnostic approach to the bleeding disorders. In: Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN (eds). *Wintrobe's Clinical Hematology*. Egypt: Williams and Wilkins; 1999. 1563-4.
66. Iland HJ, Laszlo J, Peterson P, et al. Essential thrombocythaemia: Clinical and laboratory characteristics at presentation. *Trans Assoc Am Physicians* 1983;96:165-74.
67. Murphy S, Iland H, Rosenthal D, Laszlo J. Essential thrombocythaemia: An interim report from Polycythemia Vera Study Group. *Semin Hematol* 1986;23:177-82.
68. Van Genderen PJJ, Mulder PGH, Waleboer M et al. Prevention and treatment of thrombotic complications in essential thrombocythemia: efficacy and safety of aspirin. *Br J Haematol* 1997;97:179-84.
69. Schafer AI. Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood* 2006;107:4214-22.
70. Pettit RM, Silverstein MN, Petrone M. Anagrelide for control thrombocythemia in polycythemia and other myeloproliferative disorders. *Sem Hematol* 1997;34:51-4.
71. Tefferi A. Primary Myelofibrosis. In: Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, et al (eds). *Wintrobe's Clinical Hematology*. 12th edition. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2009. 2045-53.
72. Thiele J, Kvasnicka HM, Tefferi A. Primary myelofibrosis. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL (eds). *WHO Classification of Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC Press; 2008. 44-7.
73. Visani G, Finelli C, Castelli U, et al. Myelofibrosis with myeloid metaplasia: clinical and haematological parameters predicting survival in a series of 133 patients. *Br J Haematol* 1990;75:4-9.
74. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia* 2010;24:1128-38.
75. Tefferi A, Vaidya R, Caramazza D, et al. Circulating interleukin (IL)-8, IL-2R, IL-12, and IL-15 levels are independently prognostic in primary

- myelofibrosis: a comprehensive cytokine profiling study. *J Clin Oncol* 2011;29:1356-63.
76. Cervantes F, Pereira A. Advances in the understanding and management of primary myelofibrosis. *Curr Opin Oncol* 2011;23:665-71.
 77. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2013;88:141-50.
 78. Tefferi A. Myeloproliferative neoplasms 2012: the John M. Bennett 80th birthday anniversary lecture. *Leuk Res* 2012;36:1481-9.
 79. Gregory SA, Mesa RA, Hoffman R, Shampo JM. Clinical and laboratory features of myelofibrosis and limitations of current therapies. *Clin Adv Hematol Oncol* 2011;9:1-16.
 80. Orazi A, O'Malley DP, Jiang J, et al. Acute panmyelosis with myelofibrosis: an entity distinct from acute megakaryoblastic leukemia. *Mod Pathol* 2005;18:603-14.
 81. Dingli D, Mesa R, Tefferi A. Myelofibrosis with myeloid metaplasia: New developments in Pathogenesis and Treatment. *Internal medicine* 2004;43:540-7.
 82. Board P, Coggan M, Johnston P, et al. Genetic heterogeneity of the human GST: A complex of gene families. *Phar Ther* 1990;40:357-69.
 83. Commandeur JNM, Stijntjes GJ, Vermeulen NPE. Enzymes and transport systems involved in the formation and disposition of glutathione S-conjugates. *Phar Rev* 1995;47:271-330.
 84. Hayes JD, Pulford DJ. The Glutathione S-Transferase Supergene Family: Regulation of GST and the Contribution of the Isoenzymes to Cancer Chemoprotection and Drug Resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1995;30:445-600.
 85. Egan KM, Cai Q, Shu XO, et al. Genetic polymorphisms in GSTM1, GSTP1, and GSTT1 and the risk for breast cancer: results from the Shanghai Breast Cancer Study and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13:197-204.
 86. Strange R, Jones P, Fryer A. Glutathione S-transferase: Genetics and Role in Toxicology. *Toxicology Letters* 2000; 113: 357-363
 87. Geisler SA, Olshan AF. GSTM1, GSTT1, and the Risk of squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: a Mini- Huge Review. *Am J Epidemiol* 2001;154:95-105
 88. Mannervik B, Awasthi YC, Board PG, et al. Nomenclature for human glutathione transferases. *Biochemical Journal* 1992;15:305-6.
 89. Polat M. Akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı bireylerde gstm1 gen delesyonunun polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Isparta. Suleyman Demirel Üniversitesi; 2005.
 90. Coggan M, Whitbread L, Whittington A, Board P. Structure and organization of the human theta- class glutathione S – transferase and D- dopachrome tautomerase gene Complex. *Biochem* 1998;334: 617-23.
 91. Rebbeck TR. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997;6:733- 43.

92. Gertig DM, Stampfer M, Haiman C, Hennekens CH, Kelsey K, Hunter DJ. Glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and colorectal cancer risk: a prospective study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:1001–5.
93. Chenevix Trench G, Young J, Coggan M, Board P. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms: susceptibility to colon cancer and age of onset. *Carcinogenesis* 1995;16:1655–7.
94. Chen CL, Liu Q, Relling MV. Simultaneous characterization of glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms by polymerase chain reaction in American whites and blacks. *Pharmacogenetics* 1996;6:187–91.
95. Etseller M, Corn PG, Urena JM, Gabrielson E, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of glutathione S-transferase P1 gene by promoter hypermethylation in human neoplasia. *Cancer Research* 1998;58:4515–8.
96. Kiran B, Karkucak M, Ozan H, et al. GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) polymorphisms in the genetic susceptibility of Turkish patients to cervical cancer. *J Gynecol Oncol* 2010;21:169-73.
97. Katoh T, Nagata N, Kuroda Y, et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) genetic polymorphism and susceptibility to gastric and colorectal adenocarcinoma. *Carcinogenesis* 1996;17:1855–9.
98. Ates NA, Unal M, Tamer L, et al. Glutathione S-transferase gene polymorphisms in presbycusis. *Otol Neurotol* 2005;26:392-7.
99. Zhou L, Zhu YY, Zhang XD, Li Y, Liu ZG. Risk effects of GST gene polymorphisms in patients with acute myeloid leukemia: a prospective study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013;14:3861-4.
100. Krüger M, Pabst AM, Mahmoodi B, Becker B, Kämmerer PW, Koch FP. The impact of GSTM1/GSTT1 polymorphism for the risk of oral cancer. *Clin Oral Investig* 2015.
101. Phukan RK, Saikia BJ, Borah PK, Zomawia E, Sekhon GS, Mahanta J. Role of household exposure, dietary habits and glutathione S-Transferases M1, T1 polymorphisms in susceptibility to lung cancer among women in Mizoram India. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:3253-60.
102. Stosic I, Grujicic D, Arsenijevic S, Brkic M, Milosevic-Djordjevic O. Glutathione S-transferase T1 and M1 polymorphisms and risk of uterine cervical lesions in women from central Serbia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:3201-5.
103. Berber U, Yilmaz I, Yilmaz O, et al. CYP1A1 (Ile462Val), CYP1B1 (Ala119Ser and Val432Leu), GSTM1 (null), and GSTT1 (null) polymorphisms and bladder cancer risk in a Turkish population. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;14:3925-9.
104. Chirila DN, Popp RA, Balacescu O, et al. GST gene variants in synchronous colorectal cancers and synchronous association of colorectal cancers with other cancers. *Chirurgia (Bucur)* 2013;108:365-71.

105. Bin Q, Luo J. Role of polymorphisms of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 Ile105Val in Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma risk: a Human Genome Epidemiology (HuGE) review. *Leuk Lymphoma* 2013;54:14-20.
106. La Torre G, Boccia S, Ricciardi G. Glutathione S-transferase M1 status and gastric cancer risk: a meta-analysis *Cancer Letters* 2005;217 53-60.
107. Dunna NR, Vure S, Sailaja K, et al. Deletion of GSTM1 and T1 genes as a risk factor for development of acute leukemia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013;14:2221-4.
108. Mandegary A, Rostami S, Alimoghaddam K, Ghavamzadeh A, Ghahremani MH. Glutathione-S-transferase T1-null genotype predisposes adults to acute promyelocytic leukemia; a case-control study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011;12:1279-82.
109. Al-Achkar W, Azeiz G, Moassass F, Wafa A. Influence of CYP1A1, GST polymorphisms and susceptibility risk of chronic myeloid leukemia in Syrian population. *Med Oncol* 2014;31:889.
110. Naffa RG, Awidi AS, Yousef AM, Ismail SI. CYP1A1, glutathione S-transferase gene polymorphisms and risk of Polycythemia vera. *Cancer Epidemiol* 2012;36:68-72.
111. He HR, You HS, Sun JY, et al. Glutathione S-transferase gene polymorphisms and susceptibility to acute myeloid leukemia: meta-analyses. *Jpn J Clin Oncol* 2014;44:1070-81.
112. Tang ZH, Zhang C, Cheng P, et al. Glutathione-S-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTT1 and GSTP1) and acute leukemia risk in Asians: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:2075-81.
113. Rosendaal FR. Risk factors for venous thrombosis: prevalence, risk, and interaction. *Semin Hematol* 1997;34:171-87.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmama destek ve katkılarından dolayı tez danışmanım Sayın hocam Prof. Dr. Tahsin Yakut'a ve uzmanlık eğitimim süresince emeklerini esirgemeyen değerli hocam; Sayın Yrd. Doç. Dr. Tuna Gülten'e; tez çalışmasının yürütülmesinde desteklerinden dolayı tez sorumlu araştırmacısı Hematoloji Bilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Rıdvan Ali'ye, eğitimim süresince benden yardımlarını esirgemeyen değerli ablalarım Uzm. Dr. Özlem Görükmez ve Uzm. Dr. şebnem Özemri Sağ'a, Uzm. Dr. Mehmet Türe'ye, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşım Dr. Serdar şahintürk'e, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı personel ve çalışma arkadaşlarıma teőekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

AD,SOYAD: Ali TOPAK

ADRES: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,
Görükle, Bursa

DOĞUM TARİHİ: 24 Eylül 1986

DOĞUM YERİ: İskenderun

MEDENİ HALİ: Evli

TELEFON : +90224 2954398

E-mail: at204986@hotmail.com

DİPLOMA NO: 20102642

YABANCI DİLİ: İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU:

1992-1997 Dumlupınar İlkokulu, İskenderun. 1997-2001 Dört Yol
Anadolu İmam Hatip Lisesi, Hatay.

2001-2004 Nihal Turgut Anlar Anadolu Öğretmen Lisesi, Hatay

2004-2010 Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sivas

2011 Siirt Toplum Sağlığı Merkezi

2011-2013 Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik
Anabilim Dalı

Haziran 2013 - Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim
Dalı'nda uzmanlık eğitimine araştırma görevlisi olarak devam etmekteyim.