

# MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZMLARA MOLEKÜLER GENETİK YAKLAŞIM

**Gurbet Doğru, Mustafa Ertan Ay, Kenan Çevik, Özlem İzci Ay**  
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin

## ÖZET

Miyeloproliferatif Neoplazmlar (MPN) miyeloid serideki (eritroid, granülositik, megakaryositik, monositik/makrofaj ya da mast hücreleri) bir ya da birden fazla hücre tipinin, kontrolsüz çoğalımı ile karakterize, klonal hematopoyetik kök hücre hastalığıdır. Bu kontrolsüzlük, kök/atasal hücre düzeyinde meydana gelen, genetik anomalilerin bir sonucu olarak değerlendirilmektedir. Bu hastalıklar kesin olarak birbirlerinden ayrılmazlar, birbiriyle örtüşen farklı birçok kategoride görülebilmek ve birbirlerine dönüşebilme yeteneğindedirler. MPN'lerin moleküler patogenezi, JAK2V617F mutant allelinin belirlenmesine kadar tam olarak anlaşılammıştır. 2005 yılında miyeloproliferatif hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilen ve ilk genetik bulgu olan JAK2 geninin JH2 domaininde 617. pozisyonda oluşan ve

V617F olarak ifade edilen mutasyonun sitokinlere aşırı duyarlılığa yol açacak şekilde, tirozin fosforilasyon aktivitesine yol açtığı görülmüştür. Polisitemia Vera (PV)'li hastaların %95'inde ve Esansiyel Trombositoz (ET)'li hastaların %50-60'ında görüldüğü saptanan JAK2V617F mutasyon bulgusu Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından, MPN'lerde 2005 yılında ayırıcı tanı kriteri olarak kabul edilmiştir. MPN'lerin moleküler patogenezinde rol oynayan bu keşif, hastalıkların moleküler genetik ve biyolojik karakteristiklerinin klinik fenotiple ilintili olabileceğini bir kez daha göstermiş ve sorumlu olabilecek *TET2*, *ASXL1*, *MPL*, *LNK*, *EZH2*, *IDH1-2*, *CALR* ve başka aday genlerdeki mutasyonların da klinik tanı aracı olarak kullanılabileceği düşüncesine temel oluşturmuştur.

**Anahtar kelimeler:** MPN, genetik varyasyon, Janus kinaz 2. Nobel Med 2017; 13(2): 12-21

## MOLECULAR GENETIC APPROACH OF MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

### ABSTRACT

MPN (Myeloproliferative Neoplasms) is a clonal hematopoietic stem cell disorder which is characterized by uncontrolled proliferation of one or more than one cell type in myeloid cell lineages (erythroid, granulocytic, megakaryocytic, monocyte/macrophages and mast cells). This uncontrolled proliferation situation is considered as a result of genetic abnormalities which occurs at stem/ancestral cell level. These diseases can not dissociate and are capable to transforme each other. Molecular pathogenesis of MPN is not fully understood until the identification of JAK2 gene which was the first genetic evidence is associated with the pathogenesis of

myeloproliferative disease in 2005. The mutation in JH2 domain of JAK2 gene occurs at 617 position and causes hypersensitivity againts to cytokines by mediating tyrosine phosphorylation activity. JAK2V617F mutation which was detected in 95% of patients with PV and 50-60% of patients with ET was accepted as a definitive diagnosis for MPN in 2005 by World Health Organization (WHO). This finding which plays important role in pathogenesis of MPN has shown that the molecular genetic and biologic characteristics of the diseases can be associated with clinical phenotype and another candidate gene mutations such as TET2, ASXL1, MPL, LNK, EZH2, IDH1-2, CALR assert that there might be mutations in other candidate genes.

**Keywords:** MPN, genetic variation, Janus kinase 2. Nobel Med 2017; 13(2): 12-21

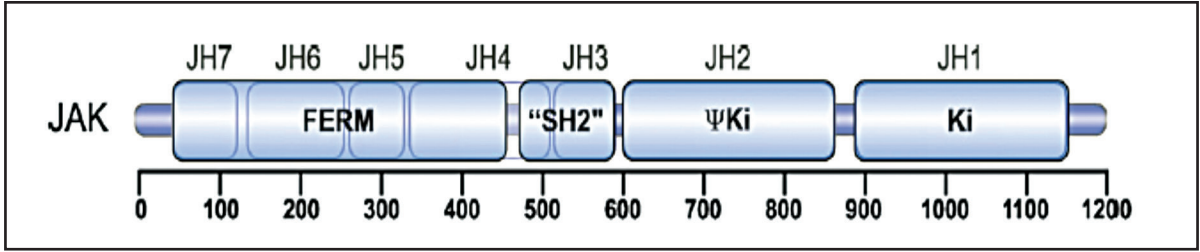
### GİRİŞ

Miyeloproliferatif neoplazmlar (MPN); miyeloid serideki (eritroid, granülositik, megakaryositik, monositik/makrofaj ya da mast hücreleri) bir ya da birden fazla hücre tipinin, kontrolsüz çoğalımı ile karakterize olan, klonal hematopietik kök hücre hastalığıdır. Bu kontrolsüzlük, kök/atasal hücre düzeyinde meydana gelen, genetik anomalilerin bir sonucu olarak değerlendirilmektedir. MPN; klinik olarak, farklı kategorideki hematolojik malignitelerle nadir olarak karıştırılabilir ama aynı zamanda lösemnin bir önceki basamağı (prelösemik) olarak da düşünülebilir. Hastaların küçük bir bölümünde Akut Miyeloid Lösemi'ye (AML) geçiş olabilmektedir. MPN, hematolojik maligniteler arasında, nispeten daha nadir gözlenip, yıllık insidansı bir milyon kişide 5-10 olgu şeklindedir. Bazı olgular tesadüfen tanı alırken, %25 kadarı ise tanı anında asemptomatiktir. Ortalama 40-50 yaş aralığındaki yetişkinlerde gözlenmekle birlikte, 60 yaş ve üzerinde görülme sıklığı da oldukça yüksektir.<sup>1,2</sup>

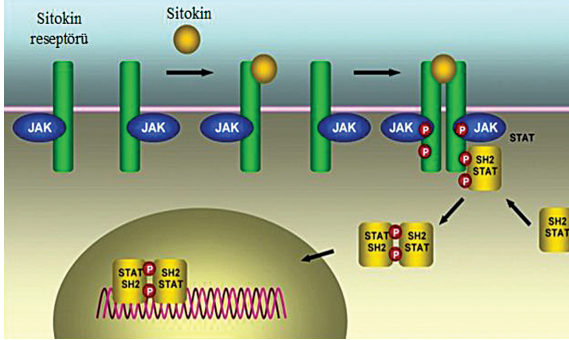
MPN'ler ilk defa 1951'de William Dameshek tarafından miyeloproliferatif hastalıklar (MPD) adı altında Polisitemia Vera (PV), Esansiyel Trombositoz (ET), Primer Miyelofibrozis (PMF) ve Kronik Miyeloid Lösemi (KML) olmak üzere dört ana sınıfa ayrılmıştır.<sup>3</sup> Dameshek, bu hastalıkların bir multipotent kök hücreden kaynaklandıklarını, olgun kan hücrelerinin aşırı üretimi ve birikimiyle, birbirlerine benzer klinik özellikler taşıdıklarını ve her birinin diğerine dönüşebilme yeteneğine sahip olmak üzere benzerlik gösterebildiklerini belirtmiştir.<sup>4</sup> 1960 yılında Novell ve Hungerford, KML'de Philedelphia

kromozomunu tanımlamış, böylece KML, sitogenetik belirteci olan ilk miyeloproliferatif hastalık olmuştur. 1980'li yıllarda moleküler tekniklerin gelişmesiyle, Philedelphia kromozomu üzerine yerleşmiş spesifik onkogenik mutasyon, Bcr-Abl (Breakpoint Cluster Region- Abelson proto-onkogeni) füzyon transkripti t(9;22)(q34;q11) tanımlanmış, bu bulgu daha sonra MPN'lerin Bcr-Abl (+), Bcr-Abl(-) miyeloproliferatif hastalıklar olmak üzere iki alt sınıfa ayrılmasına neden olmuştur.<sup>5-7</sup>

2001 yılında, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yaptığı ilk sistematik sınıflandırma; klinikopatolojik özelliklerine göre olup; Kronik Miyeloproliferatif Hastalıklar (KMPH), KMPH-benzeri hastalıklar ve sınıflandırılmayan hastalıklar olarak üç grupta toplanmıştır. KML, PV, ET, ve PMF kronik miyeloproliferatif hastalıklar (KMPH) grubunda olup, KMPH -benzeri gruba ise kronik nötrofilik lösemi (KNL), kronik eozinofilik lösemi/ hipereozinofilik sendrom (KEL/HES) dahil edilmiştir. Fakat Bcr-Abl(-) kronik miyeloproliferatif hastalıklarda, moleküler patogenezin anlaşılmasını sağlayan önemli gelişmelerden sonra, son yıllarda hastalıklarda spesifik moleküler anomalilerin keşfi ile WHO kriterleri yeniden düzenlenmiştir.<sup>8</sup> 2008'in Eylül ayında WHO, hematopietik ve lenfoid neoplazmları yeniden sınıflandırmıştır. Bu sistemde hastalık (disease) kelimesinin yerini neoplazm (neoplasm) kelimesi almıştır (MPH→MPN).<sup>9</sup> Miyeloproliferasyonun reaktif değil, neoplastik olduğu belirtilmiş Bcr-Abl(-) MPN'lerde, tanıya yönelik belirteç olarak moleküler genetik özellikler ve alt tiplerini belirlemek amacıyla da histolojik karakterizasyon kullanılmıştır.<sup>10</sup>



Şekil 1. JAK geninin yapısal organizasyonu



Şekil 2. JAK/STAT sinyal iletiminin genel şeması

## MPN'lerde Genetik Varyasyonlar

Yıllardır yapılan yoğun klinik ve laboratuvar çalışmalarına rağmen, Bcr-Abl(-) miyeloproliferatif hastalıkların etyolojisi tam olarak anlaşılammıştır. 2005 yılında miyeloproliferatif hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilen ilk moleküler genetik bulgu olan JAK2V617F mutasyonu keşfedilmiştir. Bu keşif araştırmacıların JAK2 (Janus kinaz) ekzon 12, trombopoietin reseptör MPL (Myeloproliferative leukemia virus oncogene), adaptör protein LNK (Lymphocyte-specific adapter protein) ve TET2 (Ten-Eleven-Translocation) gibi hematopoietik büyüme sinyal yolları ile ilişkili diğer genlerdeki mutasyonların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Miyeloproliferatif hastalıklar ile ilgili bu tür moleküler gelişmeler, moleküler destekli yeni hastalık sınıflandırmalarının yapılması, yeni tanısal yaklaşımların kullanımı ve hatta mutant moleküllere yönelik yeni tedavi seçeneklerinin gündeme gelmesine yardımcı olmuştur.<sup>11-13</sup> Bu bölümde literatürde MPN'lerin moleküler etiyopatogenezinde rol aldığı düşünülen genler hakkında bilgi verilecektir.

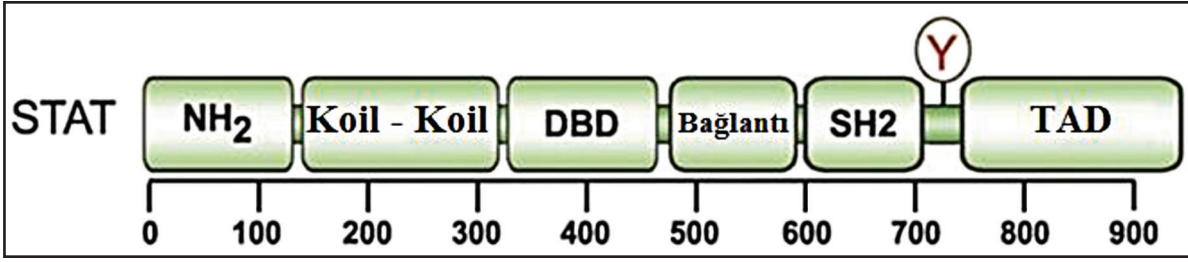
### 1. JAK (Janus Kinase) Geni

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 dolayısıyla hücre içi sinyal iletimine neden olurlar.<sup>14,15</sup>

JAK ailesi, sitokin aracılıklı sinyallerin iletiminde rol oynayan bir grup (hücre içi reseptör olmayan) tirozin kinaza verilen isimdir. Bu yolağa JAK-STAT yolağı adı verilir. Bu yolaktaki transkripsiyon faktörleri ise STAT'lar (Signal Transducers and Activators of Transcription) olarak bilinir. JAK-STAT yolağı hematopoez için önemli olup hematopoietik hücrelerin; bölünme, farklılaşma ve apoptozis düzeyinde düzenlenmesini sağlar. Ayrıca embriyonik gelişim ve inflamasyonda da görev alır.<sup>16-19</sup>

JAK ailesi; JAK1, JAK2, JAK3 ve Tirozin kinaz 2 (TYK2) olmak üzere dört üyeden oluşur. İlk defa 1989'da hematopoietik hücre hatlarında, bilinen tüm tirozin kinazların katalitik bölgelerindeki aminoasit dizilerinin benzer olduğu saptanmış ve bu şekilde tanımlanmışlardır.<sup>13,20</sup> JAK ailesi üyeleri farklı kromozomal yerleşime sahiptir. JAK1; 1p31.3, JAK2; 9p24, JAK3; 19p13.1 ve Tyk; 19p13.1'te bulunmaktadır. JAK'lar büyük proteinler olup, binden fazla aminoasit içerirler. JAK ailesi üyelerinin yapısal kısmını meydana getiren 7 farklı JAK homoloji bölgesi bulunmaktadır. Bunlardan, JH2; tirozin kinaza benzer yapıdaki psödokinaz bölgesi olup JH1'in aktivitesini düzenlemede görev alan, normal kinaz aktivitesi için gerekli olan, fakat enzimatik aktivitesi olmayan kısımdır. JAK'ların JH3-JH4 bölgesi; Src-homoloji-2 (SH2) bölgeleri ile benzerlik göstermektedir. Amino terminal uç (NH2) olan JH4-JH7 ise FERM domain olarak adlandırılır (band 4.1, ezrin, radixin, moesin) (Şekil 1).<sup>21-23</sup>

İnaktif JAK enzimleri, Tip I ve Tip II sitokin reseptörlerinin sitoplazmik uçlarına tutunmuştur. Sitokin molekülünün bağlanması ile iki sitokin reseptör molekülü bir araya gelerek dimer yapı oluşturur. Sitokin reseptör dimerizasyonu sonucunda; reseptör ilişkili JAK, fosforilasyon yoluyla aktive olur, sitokin reseptörlerinin sitoplazmik bölgelerindeki tirozin rezidülerini fosforile eder. Reseptörlerin bazı fosfotirozin bölgeleri ise, reseptörüne tutunan monomerik, sitozolik STAT proteinlerinin Src homolog 2 (SH2) uçları tarafından tanınır. STAT proteinleri reseptörle



Şekil 3. STAT molekülünün yapısal organizasyonu

uyarılan JAK kinazlar tarafından fosforile edilirler. Fosforilasyon ile aktif hale gelen STAT molekülleri STAT-STAT dimerlerini oluşturur ve bu dimerler nükleusa hareket eder, sitokine cevap veren ilgili genin promotör bölgesindeki özel DNA dizilerine bağlanarak gen transkripsiyonunu aktive ederler (Şekil 2).<sup>18,24</sup>

STAT molekülleri ise, 750-900 aminoasit içerir ve yedi tanedir. Bunlar *STAT1*, *STAT2*, *STAT3*, *STAT4*, *STAT5a*, *STAT5b* ve *STAT6* olarak isimlendirilir. STAT' lar yedi fonksiyonel bölge içerirler:

- 1)Amino uç bölgesi; oldukça korunumludur ve fosforile olmamış STAT'lar arasındaki homotipik dimer yapıların oluşumunu sağlar.
- 2)Koil-koil bölgesi; nükleer giriş çıkıştan sorumlu olan proteinlerle aktif olarak bağlanmayı sağlar.
- 3)DNA bağlayıcı bölge (DBD); oldukça iyi korunumlu aminoasit dizisine sahip olup, hedef DNA'daki palindromik dizilere bağlanmayı sağlar.
- 4)Bağlayıcı (Linker) bölge; yapısal olarak DNA bağlayıcı bölgenin aktivasyonunu sağlar.
- 5)SH2 bölgesi; en çok korunumlu olan bölgedir ve aktif olarak STAT-STAT dimerizasyonunu sağlar.
- 6)Tirozin aktivasyon bölgesi; SH2 bölgesine JAK fosforilasyonunu ileterek, STAT molekülünün aktif yapısal değişime uğramasını sağlar.
- 7)Transkripsiyon aktivasyon bölgesi (TAD ); karboksit ucunda, STAT ailesi üyeleri arasında STAT2 hariç, son derece değişkenlik gösteren bölgedir. STAT TAD bölgesi protein stabilitesinin düzenlenmesi açısından önemlidir (Şekil 3).<sup>18,23-25</sup>

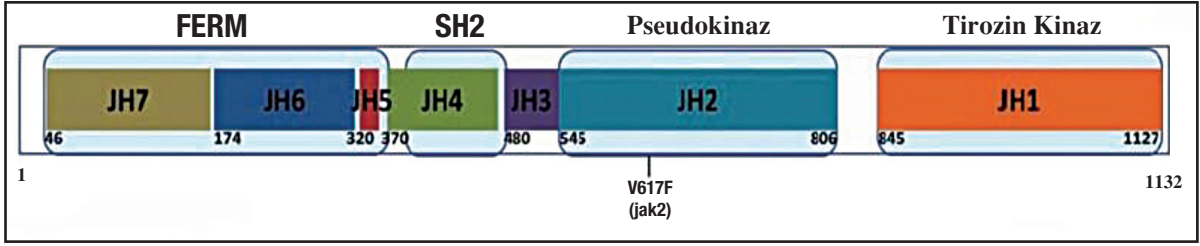
STAT ilişkili proteinlerin bazıları belirlenmiştir. *STAT1*; interferon gama, *STAT4* ve *STAT6*; interlökin 4 (IL-4) ve interlökin 12 (IL-12) ile aktive olurken, *STAT5*; prolaktin, büyüme hormonları, eritropoietin, granülosit-makrofaj stimüle edici faktör (GM-SCF)

trombopoietin, IL-2,3,5,6 ile aktive olur. Ayrıca *STAT5*'in büyüme sinyal iletimi ve farklılaşmada görev aldığı gösterilmiştir.<sup>14</sup> Herhangi bir büyüme faktörü ile uyarılmamış STAT'lar, hücrelerde inaktif durumdadır. Örneğin; sitokin gibi bir büyüme faktörü ile uyarımı sonucunda tirozin rezidüleri fosforile olur ve reseptörde SH2 bölgesi (fosfotirozin bağlanma bölgesi) bulduran STAT'lar birikir ve bunlar da JAK'lar tarafından tirozin-fosforilasyonuna uğrar. Farklı STAT'lar üzerine eklendikçe hetero ve homodimerler meydana gelir. Aktive olan dimerler ise nükleusta birikerek hedef genlerin transkripsiyonunu aktive ederler.<sup>15,26</sup>

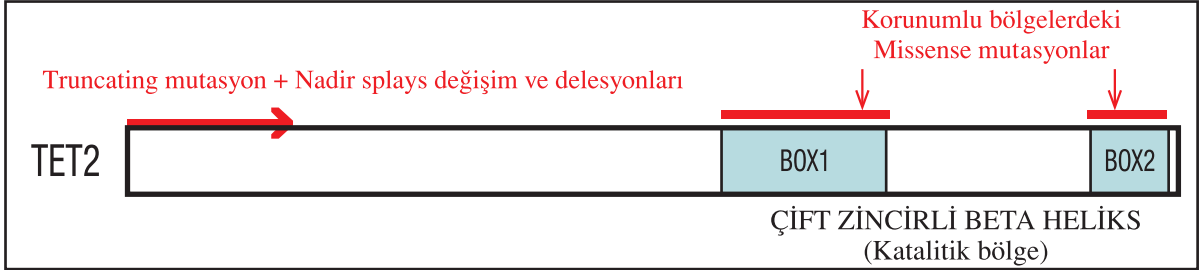
JAK'ların aktivasyonu uygun ligandın reseptöre bağlanmasıyla; STAT, PI3K/Akt/mTOR (Phosphatidyl Inositol3-kinase/Akt/Mammalian Target of Rapamycin) ve MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase)'ı içeren sinyal yollarının aktivasyonu ve hedef proteinlerin fosforilasyonu meydana gelir. Farklı JAK'lar farklı reseptörlerle ilişkilidir ve sitokin sinyal iletiminde farklı rollere sahiptir.<sup>22</sup>

JAK2 molekülü bir sitoplazmik fosfotirozin kinazdır. Yapısında birbirine benzer iki kinaz bölgesini (domaini) bulundurur: fonksiyonel olan JAK homoloji 1 (JH1) ve kinaz aktivitesi olmayan JAK homoloji 2 bölgesidir. Janus kinazlar bu iki bölge içeren yapıları nedeniyle eski Roma tanrısı olan, ikiyüzlü Janus'dan esinlenerek isimlendirilmiştir. JH1 domaini aktif bir tirozin kinaz bölgesi iken, hemen yakınında olan JH2 bölgesi, katalitik olarak inaktiftir ve bu nedenle psödokinaz adını alır.<sup>13,17</sup> JAK2; eritropoietin, prolaktin, leptin, trombopoietin, interlökin-3,-4,-5,-6,-7,-13 granülosit stimüle edici faktör (G-CSF) ve granülosit-makrofaj stimüle edici faktör (GM-CSF) gibi tip 1 ve interferon alfa, gama, beta gibi tip 2 reseptörler üzerinden, hücre içi sinyal iletiminde önemli rol oynar.<sup>24,27</sup>

JAK2 geninde meydana gelen somatik mutasyon (1849 G>T; GTC→TTC), JAK2'nin psödokinaz bölgesinin (JH2) 617. kodonundaki valin aminoasitinin fenilalanin ile yer değiştirmesine neden olmaktadır. Mutasyonun PV'li hastaların %96'sında,



Şekil 4. JAK2V617F Mutasyonunun JAK gen yapısındaki yerleşimi



Şekil 5. MPN'lerde görülen TET2 gen mutasyon çeşitleri<sup>30</sup>

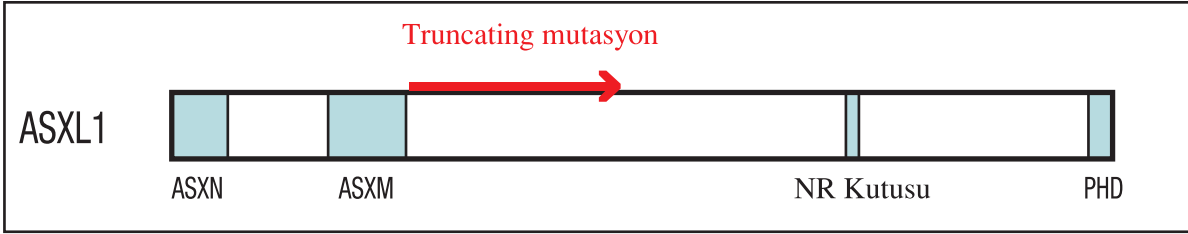
ET'li hastaların ise %55'inde görüldüğü saptanmıştır. Mutasyonun hastalıklarda yüksek oranda görülmesi nedeniyle, JAK2V617F mutasyonu WHO tarafından 2008 yılında yeniden düzenlenen tanı kriterlerinde önemli bir parametre olarak kabul edilmiştir.<sup>28,29</sup> Valin 617, JAK2'nin psödokinaz bölgesinde (JH2) bulunur. Bu kısım JAK2'nin kinaz parçası ile büyük benzerlik gösterir (JH1). Ancak katalitik aktiviteden yoksundur. JAK2 JH2 delesyonu, JAK2 kinaz aktivitesinin artmasına neden olur. Bu durum, JAK2'nin psödokinaz parçasının, tirozin kinaz aktivitesine sahip JH1 bölgesi üzerinde baskılama yönünde etkisi olduğunu düşündürür (Şekil 4). Dolayısı ile valinin fenilalanin ile yer değiştirmesi ile baskı ortadan kalkarak, sürekli kinaz aktivitesi oluşur.<sup>15,30</sup>

JAK2V617F mutasyonu; fonksiyonel olarak JAK2 aktivitesini artırmakta ve hücrelerde, Epo (eritropoietin) aşırı duyarlılığına neden olmaktadır. Deneysel olarak, *in vivo*, fare modellerinde JAK2V617F mutasyonu taşıyan kemik iliği hücreleri, farelere enjekte edildiğinde, PV fenotipinin geliştiği görülmüştür.<sup>31</sup> Eritropoietin reseptörü (EpoR) taşıyan Ba/F3 hücrelerinde (insan kemik iliğinden elde edilmiş hücreler) JAK2 V617F mutasyonu oluşturulduğunda ise; hücrelerin eritropoietinden bağımsız olarak bölündüğü ve hücrelerin eritropoietine karşı aşırı duyarlılığa sahip olduğu görülmüştür.<sup>13</sup> EpoR tıpkı JAK2 gibi, homodimerik tip 1 sitokin reseptörüdür. EpoR'ye benzer olarak JAK2V617F mutasyonunun hematopoietik hücrelerin sitokinden bağımsız olarak bölünmesine neden olduğu ve buna bağlı olarak JAK-STAT sinyal ileti yolağını aktive ettiği gözlenmiştir.<sup>30</sup> Bayram ve *ark.*'nin Esansiyel Trombositoz tanısıyla

izlenen olgularda JAK2 gen mutasyonu ve komplikasyonlarla ilişkisinin araştırıldığı çalışmada ise 90 ET'li hastanın hastanın 38'inde (%42,2) JAK2 gen mutasyonu pozitif olarak saptanmıştır ayrıca hastaların 29'unda (%32,2) kanama veya tromboz komplikasyonu gelişirken, bunların 21'inde (%72,4) JAK2 gen mutasyonu pozitif olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, ET'li hastalarda JAK2 gen mutasyonunun tanı için önemli bir veri olduğu ve komplikasyonlarla ilişkili olabileceği düşünülmüştür.<sup>32</sup> Kozan ve *ark.* tarafından Kronik miyeloproliferatif hastalık ve Miyelodisplastik Sendrom (MDS) olgularında JAK2V617F mutasyonunun araştırıldığı çalışmada ise, JAK2V617F mutasyonunun kronik miyeloproliferatif hastalık düşünülen olgularda özellikle Polistemia vera ile sekonder polisiteminin ayırıcı tanısında önemli bir belirteç olarak görüldüğü bildirilmiştir.<sup>33</sup>

## 2. TET2 (Ten-Eleven-Translocation 2) Geni

TET (Ten-Eleven-Translocation) proteinleri; üç gen ailesine (TET1, TET2, TET3) sahiptir. 5-metil sitozini (5mC), 5 hidroksimetilsitazine (hmC) dönüştürebilen 2-Oxoglutarat (2-OG) ve Fe (II) bağımlı, dioksijenaz ailesi üyesidir. TET1, akut miyeloid lösemilerde t(10;11) (q22;q23)füzyon proteini oluşturmasıyla karakterizedir. TET2 ise; böbrekler, beyin ve hematopoietik sistem olmak üzere çeşitli dokularda ifade edilir.<sup>34,35</sup> Bu aile üyeleri, 5-met ilsitozinin oksidasyonu, 5-hidroksimetilsitazine dönüşümünde rol oynadıkları için, DNA'nın epigenetik olarak düzenleniminde görev alırlar.<sup>36,37</sup> TET2'nin somatik fonksiyon kaybı; MPN, MDS ve KMML'yi içeren farklı miyeloid malignitelerde gözlenebilmektedir.



Şekil 6. MPN'lerde görülen ASXL1 gen mutasyonları<sup>30</sup>



Şekil 7. MPN'lerde görülen MPL gen mutasyonu

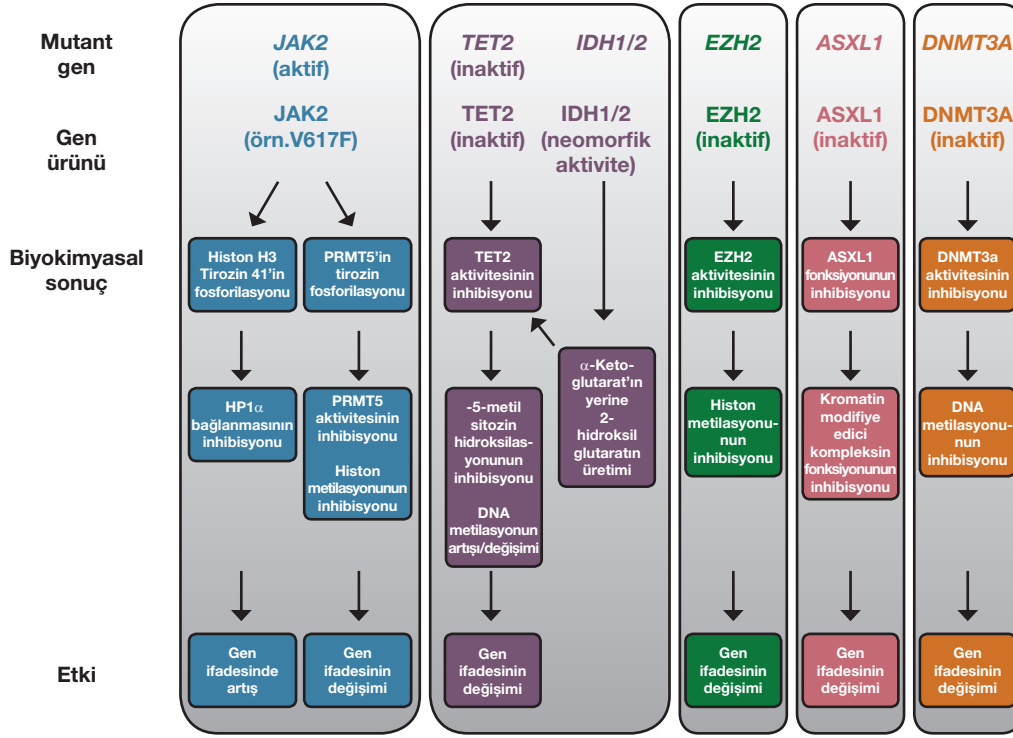
Kromozom 4q24 bölgesinde lokalize olan *TET2* geni bir tümör baskılayıcı gen olup, MPN hastalarında %7-13, Myelodisplastik Sendromlarda %19-26, Akut Myeloid Lösemi'de %12-24, Kronik Myelomonositik Lösemi'de %20-40 ve Sistemik Mastositozis'te ise %29 oranında görülmüştür.<sup>38</sup> *TET2* geninde nokta mutasyonları, delesyonlar ve çerçeve kayması (frame-shift) mutasyonlar olmak üzere farklı mutasyon tipleri görülür (Şekil 5). Fonksiyonel olarak; *TET2* genine ait iki allelden birinde meydana gelen mutasyon fenotipe yansır. *TET2* gen kopyalarının yalnızca bir tanesinin fonksiyonel olması birçok hastada hematopoietik hücre fonksiyonlarını değiştirebilmektedir.<sup>30</sup> Fare hematopoietik kök hücrelerinde yapılan araştırmalarda; *TET2* mutasyonu sonucunda, kan hücrelerinin sayısında artış, dalak büyümesi ve miyeloproliferatif fenotip gözlenmiştir.<sup>34</sup> Ayrıca fare kök hücrelerinde kısa saç tokası (short-hairpin) yapısındaki RNA'nın analizi kullanılarak yapılan bir çalışmada; *TET2* geninin işlevi ortadan kaldırıldığında, hematopoietik kök hücrelerin bir kısmında belirgin bir artış başlarken, özellikle granülosit ve monositlerin normal farklılaşmalarının baskılandığı görülmüştür. Granülositik farklılaşmayı uyaran (G-CSF veya GM-CSF) sitokin faktörlerin varlığında ve makrofaj farklılaşmasını uyaran (M-CSF) yokluğunda; granülosit/makrofaj hücrelerinde artış görülmüştür. Bu çalışmalar *TET2* proteininin, miyeloid farklılaşmanın farklı evrelerinde rol oynayabileceğini göstermiştir.<sup>35</sup> Gelecekte *TET2* mutasyonlarının, tıpkı *JAK2* mutasyonu gibi rutin tanı kriterleri arasında yer alması beklenmektedir.

### 3. ASXL1 (Additional SeX comb Like 1) Geni

20q11.1 kromozomal bölgede lokalize, 12-13 ekzonlu bir gen olan *ASXL1*, tritorax ve *Polycomb* gen ailesinin bir üyesi olup, retinoik asit reseptör-aracılı transkripsiyonun baskılanmasını içeren, transkripsiyonda aktivatör/baskılayıcı görevi olduğu düşünülmektedir.<sup>39</sup> *ASXL1*; yüksek korunumlu bir N-terminal ASX benzer bölge ile bir C-terminal bitkidekine benzer bölge PHD (Plant Homeo Domain)'den oluşur (Şekil 6). *ASXL1* mutasyonları temel olarak 12. ekzonda PHD bölgesindeki çerçeve kayması ya da anlamsız (nonsense) mutasyon şeklindedir. *ASXL1*'in hematopoietik fonksiyonları kesin olarak bilinmemektedir. Bu konudaki çalışmalar; MPN'lerde *ASXL1* mutasyonlarının, %10-15 oranlarında ve çoğunlukla heterozigot olarak gözlemlendiği yönündedir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, *ASXL1* geni tamamen baskılandığında; lenfoid ve miyeloid hücrelerin farklılaşma evrelerinde hata gözlenmiştir. Ayrıca MPN'lerin AML'ye geçiş sürecindeki kronik evrede *ASXL1* mutasyonunun yaygın gözlemlendiğine dair bulgular mevcuttur.<sup>30,34,40,41</sup> *ASXL1* mutasyonları, MDS, CMML ve primer myelofibrozis ve AML'yi içeren miyeloid neoplazilerde yaygın olarak görülmektedir. Mutasyonun görülme sıklığı; MDS'de %15-20, CMML'de %40-50, primer myelofibroziste %20-35 ve AML'de %5-10'dur.<sup>42</sup>

### 4. MPL (Myeloproliferative Leukemia Virus) Geni

*MPL*; 1p34 kromozomal bölgede lokalize, 635-680 aminoasit ve 12 ekzonluk bir gen olup, trombopoietin reseptörünü kodlar. *MPL*, megakaryositler için temel büyüme ve farklılaşma faktörüdür. *MPL* geninde farklı



**Şekil 8.** MPN'lerde tekrarlayan mutasyonların gen ekspresyonunun epigenetik mekanizmaları değiştirmesi. JAK2, TET2, IDH1/2, EZH2, ASXL1, and DNMT3A'yı içeren mutasyonların genlerin spesifik biyokimyasal fonksiyonlarını, gen ürünlerini ve epigenetik mekanizmalarını değiştirerek gen ekspresyonunun düzenlenmesinde bozukluklarla sonuçlanmaktadır.

ekzon 10 mutasyonları (MPLW515K, MPLW515S ve MPL505N gibi) tanımlanmıştır. Nedeni ise, sıklıkla JAK-STAT yolağındaki JAK2V617F mutasyonu ile birlikte gözlenmesidir. Mutasyon sıklıkla, 10. ekzonda 1544. nükleotitte (MPLW515L) G'nin T'ye dönüşümü sonucunda; 515. kodondaki triptofanın yerine lösin aminoasitinin sentezlenmesine neden olmaktadır (Şekil 7).<sup>30,43</sup>

MPLW515L, MPN'lerde görülen en sık mutasyondur. Nedeni ise, sıklıkla JAK-STAT yolağındaki JAK2V617F mutasyonu ile birlikte gözlenmesidir. Esansiyel trombositoz hastalarında sıklıkla görülen mutasyonel frekansı %3-5 arasında iken, PV'de nadir görülür. PMF hastalarının ise %5'inde gözlenmektedir.<sup>39,44</sup>

### 5.LNK (Lymphocyte-Specific Adapter Protein) Geni

LNK ( ayrıca Src homoloji 2 (SH2) B3 olarak da bilinir), APS (SH2B2 olarak da bilinen, PH ve SH domaini içeren adaptör protein) ve SH2-B (PMS=proline zengin Ph ve SH2 domaini içeren sinyal düzenleyici) olmak üzere 3 üyeden oluşan adaptör protein ailesinin üyelerinden biridir. Bu 3 protein de terminal ucunda proline zengin bölge ve dimerizasyon bölgesi, bunları takiben PH ve SH2 bölgeleri ve birçok tirozin fosforilasyon bölgeleri içermektedir.<sup>45</sup> LNK aynı zamanda Src

benzeri 2 (SH2) B3 olarak bilinen, SH2-B (SH2B1) ve SH2B2'den oluşan, aracılık görevi gören protein ailesinin bir üyesidir. Bu proteinler yaygın protein-protein etkileşim bölgesi ve motifleri (bir dimerizasyon bölgesi, N terminalde proline zengin motifler, bir plekstrin benzeri (PH), SH2 bölgesi ve C ucunda korunmuş tirozin bölgesi) içerirler.<sup>46</sup> LNK, 12q24.12 kromozom bölgesinde lokalize, yabancıl tip ve mutant JAK2 sinyal iletimini baskılama fonksiyonuna sahip bir plazma membran aracı proteindir. Ayrıca hematopoezin erken döneminde önemli role sahiptir. LNK trombopoietin üzerinden, JAK2 aktivasyonunun negatif düzenleyicisidir. Dolaylı olarak LNK, SH2 bölgesiyle MPL ve Epo reseptör sinyal iletimini JAK2 aktivasyonunu baskılayarak negatif olarak düzenlemektedir. Mutant farelerde yapılan çalışmalarda; ortaya çıkan bulgular, etkisinin MPN'lerin klinik ve biyolojik özelliklerine benzediğini göstermektedir. LNK mutant farelerde; sitokinlere aşırı duyarlılık, (CFU-GEMM; Colony forming unit-eritroid- Granülosit-Eritrosit-Monosit-Megakaryosit), eritroid (CFU-E; Colony forming unit-eritroid), megakaryositik (CFU-MK; Colony forming unit-eritroid-Megakaryosit) öncül kolonilerde farklılaşma, yüksek trombosit sayısı, olağandışı hematopoez ve fibrozisle birlikte dalak büyümesi görülmüştür. Eritrositoz hastalarında LNK geninin ikinci ekzonunda mutasyonların görüldüğü saptanmıştır.<sup>47-50</sup>

## 6.EZH2 (Enhancer of Zeste 2 Polycomb Repressive Complex 2 Subunit) Geni

*EZH2*, Histon 3'te 27. pozisyonundaki lizin aminoasitinin (H3K27) tri-metilasyonunu katalizleyen bir histon metiltransferazdır. *EZH2* proteini, polycomb represif grup 2 protein ailesine (PRC2) aittir. *EZH2* geni kromozom 7q36.1'de lokalizedir ve *EZH2* genindeki mutasyonlara malignitelerde rastlanılmıştır. *EZH2*'nin aşırı ekspresyonu, meme kanseri gibi çeşitli solid tümörlerde gözlenmiştir ve farklılaşmayı indükleyebilmektedir. *EZH2* geninde SET bölgesi içinde meydana gelen *EZH2* Y641 mutasyonu lenfoma hücrelerinde gözlenmiş ve H3K27me3 metilasyon düzeyini artırdığı belirlenmiştir.<sup>51</sup> *EZH*'ye ilaveten *PRC2* protein ailesi, *EED*, *RbAp46/48*, *SUZ12*, *AEBP2*, *JARID2* ve *PCL* proteinlerini de içermektedir. *PRC2* protein ailesi çoğalma, farklılaşma, hücre tipinin belirlenmesi, yaşlanma ve plastisite gibi çeşitli hücrel olaylarda ayrıca kromatin yapısının düzenlenmesinde görev almaktadır.<sup>52,53</sup> MDS hastalarında aktive edici *EZH2* mutasyonu gözlenmemiş olup, hastalarının %6'sında fonksiyon kaybına yol açan *EZH2* mutasyonları görülmüştür. *EZH2* mutasyonlarının protein kesimi veya aminoasit modifikasyonu sonucu oluştuğu öngörülmektedir. Bu mutasyonlar spesifik bir MPN veya MDS alt tipi ile ilişkilendirilmemekte fakat MPD/MPN'lerde daha sık gözlenebilmektedir ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. *EZH2* mutasyonları ET'de görülmemekle birlikte PV'de %3, MF'de ise %13 oranında görülmektedir.<sup>53</sup>

## 7.IDH1/2 (Isocitrate Dehydrogenase 1/2) Geni

İzositrat dehidrojenaz 1 ve 2 (*IDH1* ve *IDH2*) sırasıyla kromozom 2q33.3 ve 15q26.1'de kromozomal bölgelerinde lokalizedir. *IDH1* ve *IDH2*, NADP+ enzimleridir ve bu enzimler izositratın  $\alpha$ -Ketoglutarat'a dönüşümünü katalizlemektedir. *IDH1* ve *IDH2*'nin heterozigot mutasyonlarına AML hastalarında rastlanmıştır. Mutant *IDH1* ve *IDH2* enzimleri,  $\alpha$ -Ketoglutarat'ın 2-hidroksiglutarat (2-HG)'a redüksiyonunu katalizler. 2-hidroksiglutaratın aşırı üretimi *TET2* gibi  $\alpha$ -Ketoglutarat bağımlı enzimlerin fonksiyonunu etkilemektedir. 2-HG'nin tümör başlangıcı ve büyümesindeki rolü tam olarak anlaşılmasına karşın, bu metabolit MPN gelişiminde rol almaktadır. *IDH1* ve *IDH2* mutasyonlarının MPN hastalarındaki görülme sıklığı %5'in altındadır.<sup>54</sup>

## 8.CALR (Calreticulin) Geni

Kalretikulin (*CALR*) 46 kDa moleküler ağırlıkta çözünür bir protein olup, homoloğu transmembran bir protein olan kalneksinle birlikte temel olarak endoplazmik retikulumda (ER) lokalize lektin-benzeri moleküler şaperon ailesinin bir üyesidir.<sup>55</sup> Yapı olarak bir nötral N-terminal bölge (N-domain), internal tekrarlar ile bir prolince zengin bölge (P-domain), asidik C terminal bölge (C-domain) içermektedir. *CALR* moleküler bir şaperon olup kalneksinle birlikte glikoprotein katlanma mekanizması ve ER'de kalsiyum bağlanma mekanizmasında rol oynamaktadır.<sup>56</sup> Son zamanlarda tekrar eden *CALR* indel mutasyonları *MPL* ve *JAK2* negatif ET ve PMF hastalarında keşfedilmiştir. Tüm *CALR* mutasyonları ekzon dokuz bölgesinde lokalize olup, bu mutasyon genin C-terminal asidik bölge, çoklu kalsiyum bağlanma bölgesi ve KDEL (Lizin-Aspartik asit-Glutamik asit-Lösin) sekansının kaybına neden olmaktadır. Kalretikulinin hücre yüzeyindeki etkisi iki nedenden dolayı çok önemlidir: Birincisi; insanlarda birçok genetik kaynaklı hastalıklar, proteinlerin mutasyona uğrayarak, ER'de taşınma işlemini bozması ve bu kodlanan proteinlerin hücre yüzeyindeki trafiklerini etkilemesinden meydana gelir. ER'deki proteinlerin taşınma ve işleme fonksiyonlarındaki hatalar doğrudan hastalıklara neden olabilir iken mutasyonlar tek başına protein fonksiyonunu etkilemektedir. Kalretikulinin bu döngü içerisindeki rolü ve işlevi anlaşılırsa hastalıkların tedavisinin bulunmasına katkıda bulunabilir. İkinci neden; reseptör, kanal gibi hücre yüzey proteinlerinin fonksiyonel karakterizasyonu heterolog ekspresyon sistemlerine dayalıdır. Kalretikulin ile kontrol edilen bu hücre yüzey proteinleri de araştırılabilir.<sup>57</sup>

Sonuç olarak, miyeloproliferatif neoplazmlar; miyeloid hücre serisindeki artış ile karakterize, Polistemia Vera, Esansiyel Trombositoz'un da dahil olduğu hastalık grubudur. Bu hastalıkların nedeni tam olarak bilinmemektedir. Fakat yapılan moleküler genetik araştırmalar bu tip malignitelerin, büyük çoğunlukla olağandışı klonal, genetik anomaliler sonucu ortaya çıktıklarını göstermiştir. MPN'lerin moleküler patogenezi, *JAK2V617F* mutant allelinin belirlenmesine kadar tam olarak anlaşılammıştır.<sup>3,13,58,59</sup> (Şekil 8).

2005 yılında dört farklı çalışma grubu, birbirinden bağımsız olarak *JAK2* kinazında 617. pozisyonunda valinfenilalanin (*V617F*) somatik tek nokta mutasyonunu göstermişlerdir. *V617F* mutasyonunun



PV tanısı alan tüm olgularda, ET ve PMF tanısı alan olguların ise bazılarında bulunduğu bildirilmektedir. Bu mutasyon bu yönü ile kronik miyeloproliferatif hastalıklar için önemli bir tanı aracı olmakta ayrıca mutasyonun keşfi ile, hastalıkların moleküler ve biyolojik karakteristiklerinin klinik fenotiple ilintili olabileceğini göstermiş ve sorumlu olabilecek başka aday genlerdeki mutasyonlarında olabileceği düşüncesine temel oluşturmuştur.<sup>31,32</sup> Ayrıca yapılan

çalışmalarla bulunan genetik varyasyonların yanı sıra MPN'lerde düşük mutasyonel frekanslarda; *NF1* (Neurofibromatosis-1), *KIT* (KIT Proto-Oncogene Receptor Tyrosine Kinase), *CBL* (Casitas B-lineage lymphoma proto-oncogen), *IKZF1* (Ikaros Zinc Finger 1), *JAK2* 46/1 haplotip ve *JAK2* ekzon 12 mutasyonları da görülmektedir.<sup>34</sup>

\*Yazarlar herhangi bir çıkarılişkisi içinde bulunmadıklarını bildirmiştir.

<b>C</b>	<b>İLETİŞİM İÇİN:</b> Gurbet Doğru Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin grbtogr@gmail.com
<b>✓</b>	<b>GÖNDERİLDİĞİ TARİH:</b> 24 / 02 / 2016 • <b>KABUL TARİHİ:</b> 30 / 06 / 2016

#### KAYNAKLAR

- Anderson LA, Duncombe AS, Hughes M. Environmental, lifestyle, and familial/ethnic factors associated with myeloproliferative neoplasms. *Am J Hematol* 2012; 87:175-82.
- Bench AJ, Vassiliou GS, Huntly BJP, Green AR. Myeloproliferative disorders. *Molecular Haematology 2th Edition*. UK. Blackwell Publishing, Chapter 9 2005; 90-104.
- Rampal R, Levine RL. A primer on genomic and epigenomic alterations in the myeloproliferative neoplasms. *Best Pract Res Clin Haematol* 2014; 27: 83-93.
- Vannucchi AM, Guglielmelli P, Rambaldi A, Bogani C, Barbui T. Epigenetic therapy in myeloproliferative neoplasms: evidence and perspectives. *J Cell Mol Med* 2009; 13: 1437-1450.
- Tefferi A, Gilliland DG. Oncogenes in myeloproliferative disorders. *Cell Cycle* 2007; 1; 6: 550-566.
- Tefferi A. The history of myeloproliferative disorders: before and after Dameshek. *Leukemia* 2008; 22: 3-13.
- Levine RL, Gilliland DG. Myeloproliferative disorders. *Blood* 2008; 112: 2190-2198.
- Vannucchi AM, Guglielmelli P, Tefferi A. Advances in understanding and management of myeloproliferative neoplasms. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 171-191.
- Tefferi A, Thiele J, Vardiman JW. The 2008 World Health Organization classification system for myeloproliferative neoplasms: order out of chaos. *Cancer* 2009; 1; 115: 3842-3847.
- Wadleigh M, Tefferi A. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms according to the 2008 World Health Organization criteria. *Int J Hematol* 2010; 91: 174-179.
- Spivak JL. Polycythemia vera: myths, mechanisms, and management. *Blood* 2002; 100; 4272-4290.
- Vadikolia CM, Tsatalas C, Anagnostopoulos K. Proteolytic matrix metalloproteinases and inhibitors in BCR-ABL1-negative myeloproliferative neoplasms: correlation with JAK2 V617F Mutation Status. *Acta Haematol* 2011; 126: 54-62
- Santos FP, Verstovsek S. JAK2 inhibitors: are they the solution? *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2011; 11: 28-36.
- Bittorf T, Seiler J, Lütke B. Activation of STAT5 during EPO-directed suppression of apoptosis. *Cellular Signalling* 2000; 12: 23-30.
- Jatiani SS, Baker SJ, Silverman LR, Reddy EP. JAK/STAT Pathways in cytokine signaling and myeloproliferative disorders: approaches for targeted therapies. *Genes & Cancer* 2011; 1: 979-993.
- Thomas SJ, Snowden JA, Zeidler MP, Danson SJ. The role of JAK/STAT signalling in the pathogenesis, prognosis and treatment of solid tumours. *Br J Cancer* 2015; 113: 365-371.
- Irino T, Uemura M, Yamane H. JAK2 V617F-Dependent Upregulation of PU.1 Expression in the peripheral blood of myeloproliferative neoplasm patients. *Plos One* 2011; 6: 1-10.
- Vera J, Rateitschak K, Lange F. Systems biology of JAK-STAT signalling in human malignancies. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 2011; 106: 426-434.
- Nicolas CS, Peineau S, Amici M, et al. The JAK/STAT Pathway is involved in synaptic plasticity. *Neuron* 2012; 73: 374-390.
- Seavey MM, Dobrzanski P. The many faces of Janus kinase. *Biochemical Pharmacology* 2011; 1-10.
- Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ. Janus kinases in immune cell signaling. *Immunol Rev* 2009; 228: 273-287.
- Zou H, Yan D, Mohi G. Differential biological activity of disease-associated JAK2 mutants. *FEBS Letters* 2011; 585: 1007-1013.
- Schindler C, Plumlee C. Interferons pen the JAK-STAT pathway. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2008; 19: 311-318.
- Murray PJ. The JAK-STAT signaling pathway: input and output integration. *J Immunol* 2007; 178: 2623-2629.
- Slattery ML, Lundgreen A, Kadlubar SA, Bondurant KL, Wolff RK. JAK/STAT/SOCS-signaling pathway and colon and rectal cancer. *Molecular Carcinogenesis*. *Mol Carcinog* 2013; 52: 155-166.
- Zhao JB, Zhang Y, Li GZ, Su XF, Hang CH. Activation of JAK2/STAT pathway in cerebral cortex after experimental traumatic brain injury of rats. *Neuroscience Letters* 2011; 498: 147-152.
- Valentino L, Pierre J. JAK/STAT signal transduction: Regulators and implication in hematological malignancies. *Biochemical pharmacology* 2006; 71: 713-721.
- Cao HC, Lin J, Qian J. Detection of the JAK2 Mutation in Myeloproliferative Neoplasms by Asymmetric PCR With Unlabeled Probe and High Resolution Melt Analysis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2011; 25: 300-304.
- Levine RL, Gilliland DG. JAK-2 mutations and their relevance to myeloproliferative disease. *Current Opinion in Hematology* 2007; 14: 43-47.
- Delhommeau F, Jeziorowska D, Marzac C, Casadevall N. Molecular aspects of myeloproliferative neoplasms. *Int J Hematol* 2010; 91: 165-173.
- Ho CL, Wu YY, Hung HM. Rapid identification of heterozygous or homozygous JAK2V617F mutations in myeloproliferative neoplasms using melting curve analysis. *J Formos Med Assoc* 2012 J; 111: 34-40
- Bayram M, Özkocaman V, Özkalemkaş F, ve ark. Esansiyel trombositoz tanısıyla izlenen olgularda JAK-2 gen mutasyonu ve komplikasyonlarla ilişkisi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2011; 37: 13-16.
- Kozan S, Güran Ş, Bahçe M, ve ark. Kronik miyeloproliferatif hastalık ve miyelodisplastik sendrom olgularında Jak2 V617F mutasyonu. *Gülhane Tıp Dergisi* 2009; 51: 137-140.
- Vannucchi AM, Biamonte F. Epigenetics and mutations in chronic myeloproliferative neoplasms. *Haematologica* 2011; 96: 1-5.
- Pronier E, Quivoron C, Bernard OA, Villeval JL. JAK2V617F/TET2 mutations: does the order matter? *Haematologica* 2011; 96: 638-640.

36. Moran-Crusio K, Reavie L, Shih A, et al. Tet2 loss leads to increased hematopoietic stem cell self-renewal and myeloid transformation. *Cancer Cell* 2011; 20: 11-24.
37. Ko M, Bandukwala HS, An J. Eleven-Translocation 2 (TET2) negatively regulates homeostasis and differentiation of hematopoietic stem cells in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 14566-14571.
38. Patriarca A, Colaizzo D, Tiscia G. TET2 Mutations in Ph-negative myeloproliferative neoplasms: identification of three novel mutations and relationship with clinical and laboratory findings. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 929840.
39. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia* 2010; 24: 1128-1138.
40. Pratcorona M, Abbas S, Sanders MA. Acquired mutations in ASXL1 in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. *Haematologica* 2012; 97: 388-392.
41. Martínez-Avilés L, Besses C, Álvarez-Larrán A. TET2, ASXL1, IDH1, IDH2, and c-CBL genes in JAK2- and MPL-negative myeloproliferative neoplasms. *Ann Hematol* 2012; 9: 533-541.
42. Patnaik MM, Itzykson R, Lasho TL. ASXL1 and SETBP1 mutations and their prognostic contribution in chronic myelomonocytic leukemia: a two-center study of 466 patients. *Leukemia* 2014; 28: 2206-2212.
43. Srdan V, Tefferi A. *Myeloproliferative Disorder*. Humana Press USA 2011; P47
44. Oh ST, Gotlib J. JAK2 V617F and beyond: role of genetics and aberrant signaling in the pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Expert Rev Hematol* 2010; 3: 323-337.
45. Velazquez L. The Lnk Adaptor Protein: A key regulator of normal and pathological hematopoiesis. *Arch Immunol Ther Exp* 2012; 60: 415-429.
46. Baran-Marszak F, Magdoud H, Desterke C. Expression level and differential JAK2-V617F-binding of the adaptor protein Lnk regulates JAK2-mediated signals in myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2010; 116: 5961-5971.
47. Passamonti F, Maffioli M, Caramazza D, Cazzola M. Myeloproliferative neoplasms: From JAK2 mutations discovery to JAK2 inhibitor therapies. *Oncotarget* 2011; 2: 1-6.
48. Oh ST, Simonds EF, Jones C. Novel mutations in the inhibitory adaptor protein LNK drive JAK-STAT signaling in patients with myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2010; 116: 1-12.
49. Gueller S, Hehn S, Nowak V. Adaptor protein Lnk binds to PDGF receptor and inhibits PDGF-dependent signaling. *Exp Hematol* 2011; 39: 591-600.
50. Lasho TL, Pardanani A, Tefferi A. LNK mutations in JAK2 mutation-negative erythrocytosis. *N Engl J Med* 2010; 363: 1189-1190.
51. Nikoloski G, Reijden BA, Jansen JH. Mutations in epigenetic regulators in myelodysplastic syndromes. *Int J Hematol* 2012; 95: 8-16.
52. Mascarenhas J, Roper N, Chaurasia P, Hoffman R. Epigenetic abnormalities in myeloproliferative neoplasms: a target for novel therapeutic strategies. *Clin Epigenetics* 2011; 2: 197-212.
53. Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu SN, Bernard OA. New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2011; 118: 1723-1735.
54. Passamonti F, Maffioli M, Caramazza D, Cazzola M. Myeloproliferative neoplasms: from JAK2 mutations discovery to JAK2 inhibitor therapies. *Oncotarget* 2011; 2: 485-490.
55. Peterson JR, Helenius A. In vitro reconstitution of calreticulin-substrate interactions. *J Cell Sci* 1999; 112: 2775-2784.
56. Ní Fhlathartaigh M, McMahon J, Reynolds R. Calreticulin and other components of endoplasmic reticulum stress in rat and human inflammatory demyelination. *Acta Neuropathol Commun* 2013; 15: 1: 37.
57. Chao MP, Gotlib J. Two faces of ET: CALR and JAK2. *Blood* 2014; 123: 123.
58. Reuther GW. Recurring mutations in myeloproliferative neoplasms alter epigenetic regulation of gene expression. *Am J Cancer Res* 2011; 1: 752-762.
59. Ayalew T. Classification, Diagnosis and management of myeloproliferative disorders in the JAK2V617F Era. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006; 240-245.