

Myeloproliferatif Neoplasmlar

Sibel Berker Karaüzüm

Akdeniz Üniversitesi-Tıp Fakültesi

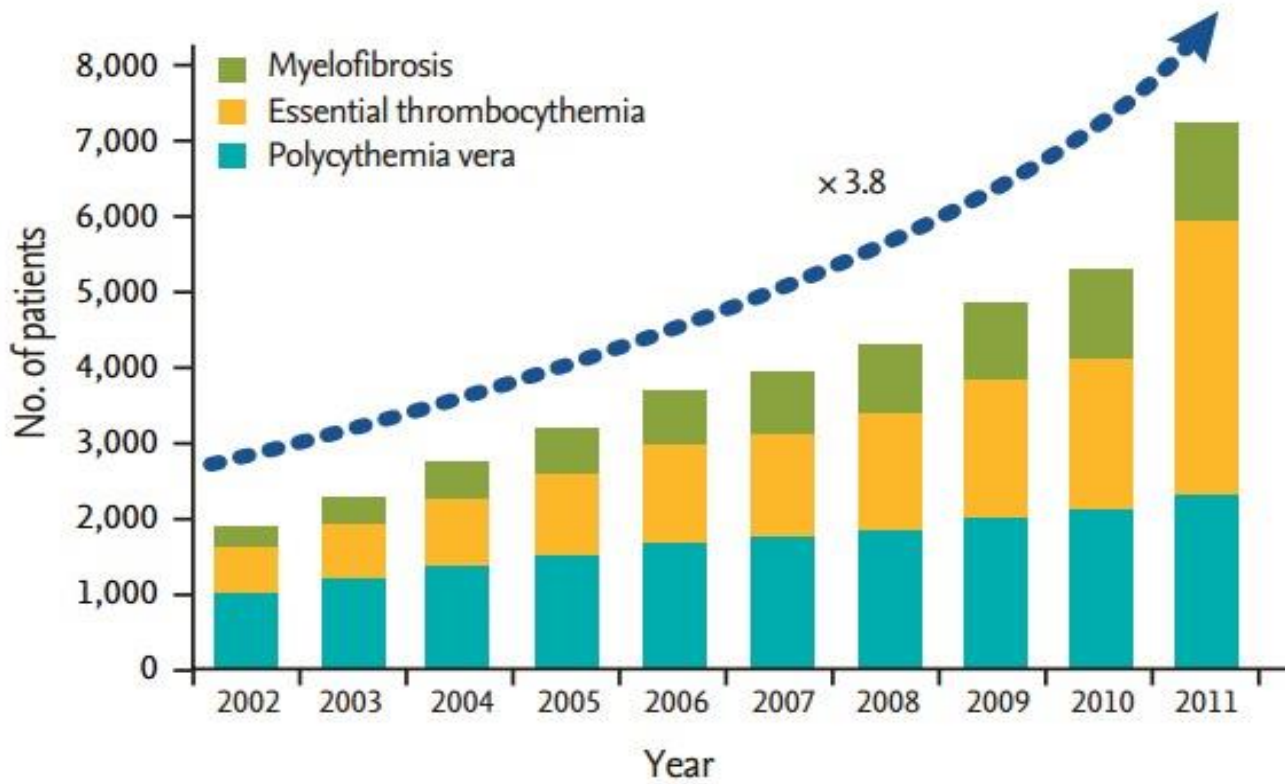
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tıbbi Genetikte Algoritmalar Sempozyumu

3-4.06.2017 /Point Otel /ANKARA

DSÖ 2016: Myeloproliferative Neoplasmlar(MPNs)

- Kronik Myeloid Lösemi (CML BCR-ABL1⁺)
- Kronik Nötrofilik Lösemi (CNL)
- Polisitemia vera (PV)
- Primer Myelofibrozis(PMF)
 - **prefibrotik**
 - **overt fibrotik**
- Esansiyel Trombozopeni (ET)
- Kronik Eozinofilik Lösemi (CEL, NOS)
- Sınıflandırılmayan Myeloproliferatif Neoplazmlar(MPN, unclassifiable)

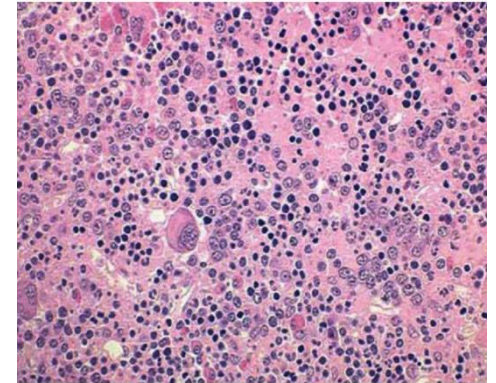


[Korean J Intern Med.](#) 2015 Nov; 30(6): 771–788.

Guidelines for the management of myeloproliferative neoplasms

Polisitemia Vera(PV)

- Olgun kırmızı kan hücrelerinin aşırı üretimiyle karakterize klonal bir hastalıktır. Myeloid hücre ve megakaryositler de sayıca artmıştır
- Görülme sıklığı 0.4-2.8/100.000
- Görülme yaşı 65 yaş

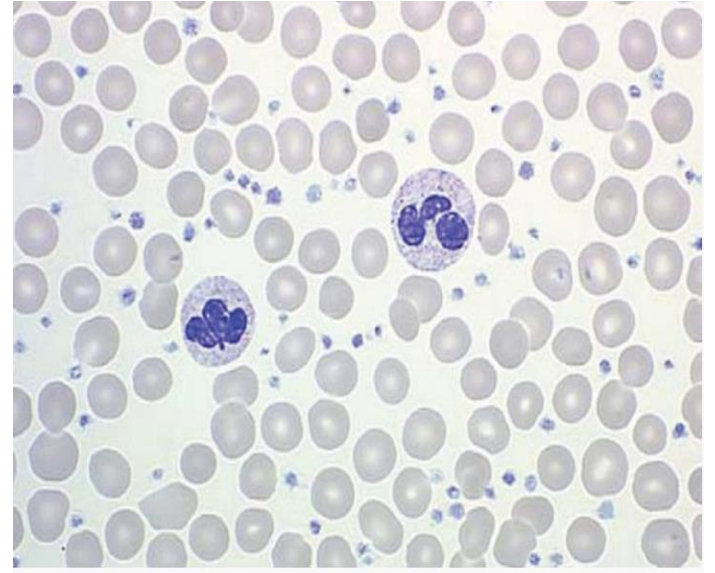


Esansiyel Trombositopeni(ET)

- Kemik iliğinde megakaryositlerin klonal proliferasyonu
- Periferel kanda trombosit sayısı $450- 600 \times 10^9/L$.
- $0.38 -1.7 /100.000$

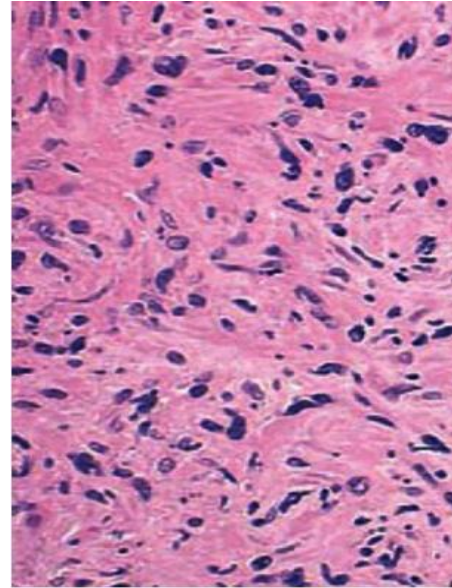
Genç kadınlarda prevalansı yüksek ,

- Ortalama tanı konulan yaş 68



Primer Myelofibrozis(PMF)

- kemik iliğinde fibrotik proliferasyon, pansitopeni
- görülme sıklığı: 0.1-1/100.000
- Görülme yaşı: 70 yaş



2016 Revised WHO Diagnostic Criteria for Myeloproliferative Neoplasms

Arber et al. Blood 2016;127:2391

	Polycythemia Vera (PV)	Essential Thrombocythemia (ET)	Primary Myelofibrosis (PMF) (overt)	Primary Myelofibrosis (prefibrotic) (prePMF)
Major criteria	1 Hemoglobin (Hgb) >16.5 g/dL (men) >16 g/dL (women) <u>or</u> Hematocrit >49% (men) >48% (women) <u>or</u> ↑ red cell mass >25% above mean	1 Platelet count ≥450 x 10 ⁹ /L	1 Megakaryocyte proliferation and atypia*** and ≥ grade 2 reticulin/collagen fibrosis ***megakaryocytes with aberrant nuclear/cytoplasmic ratio and hyperchromatic and irregularly folded nuclei and dense clustering	Megakaryocyte proliferation and atypia*** and ≤ grade 1 reticulin/collagen fibrosis, Increased cellularity, granulocytic proliferation and decreased erythropoiesis
	2 Bone marrow (BM) tri-lineage myeloproliferation with pleomorphic mature megakaryocytes*	2 BM megakaryocyte proliferation with large and mature morphology and hyper-lobulated nuclei. Reticulin fibrosis grade should be ≤1	2 Not meeting WHO criteria for other myeloid neoplasm	Not meeting WHO criteria for other myeloid neoplasm
	3 Presence of <i>JAK2</i> mutation	3 Not meeting WHO criteria for other myeloid neoplasms	3 Presence of <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> or <i>MPL</i> mutation <u>or</u> presence of another clonal marker <u>or</u> absence of evidence for reactive bone marrow fibrosis	Presence of <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> or <i>MPL</i> mutation <u>or</u> presence of another clonal marker <u>or</u> absence of evidence for reactive bone marrow fibrosis
		4 Presence of <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> or <i>MPL</i> mutation		
Minor criteria	1. Subnormal serum erythropoietin level	1. Presence of a clonal marker or absence of evidence for reactive thrombocytosis	1. Anemia not otherwise attributed 2. Leukocytosis ≥11 x 10 ⁹ /L 3. Palpable splenomegaly 4. Increased lactate dehydrogenase (LDH), above upper normal limit 5. Leukoerythroblastosis	1. Anemia not otherwise attributed 2. Leukocytosis ≥11 x 10 ⁹ /L 3. Palpable splenomegaly 4. Increased lactate dehydrogenase (LDH), above upper normal limit



PV diagnosis requires meeting all three major criteria or the first two major criteria and one minor criterion.
*BM biopsy may not be required if Hb >18.5 g/dL in men or 16.5 in women (Hct >55.5 in men and 49.5 in women)



ET diagnosis requires meeting all 4 major criteria or first three major criteria and one minor criterion



PMF diagnosis requires meeting all 3 major criteria and at least one minor criterion

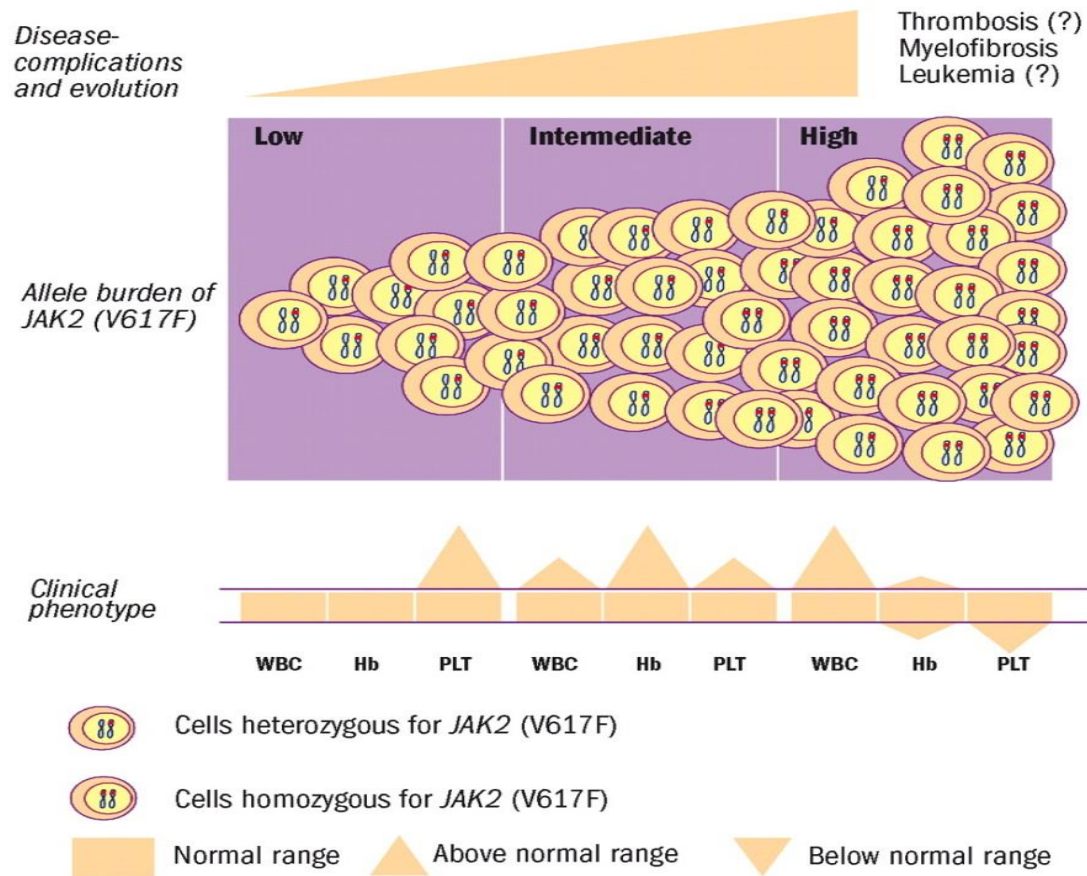


prePMF diagnosis requires meeting all 3 major criteria and at least one minor criterion

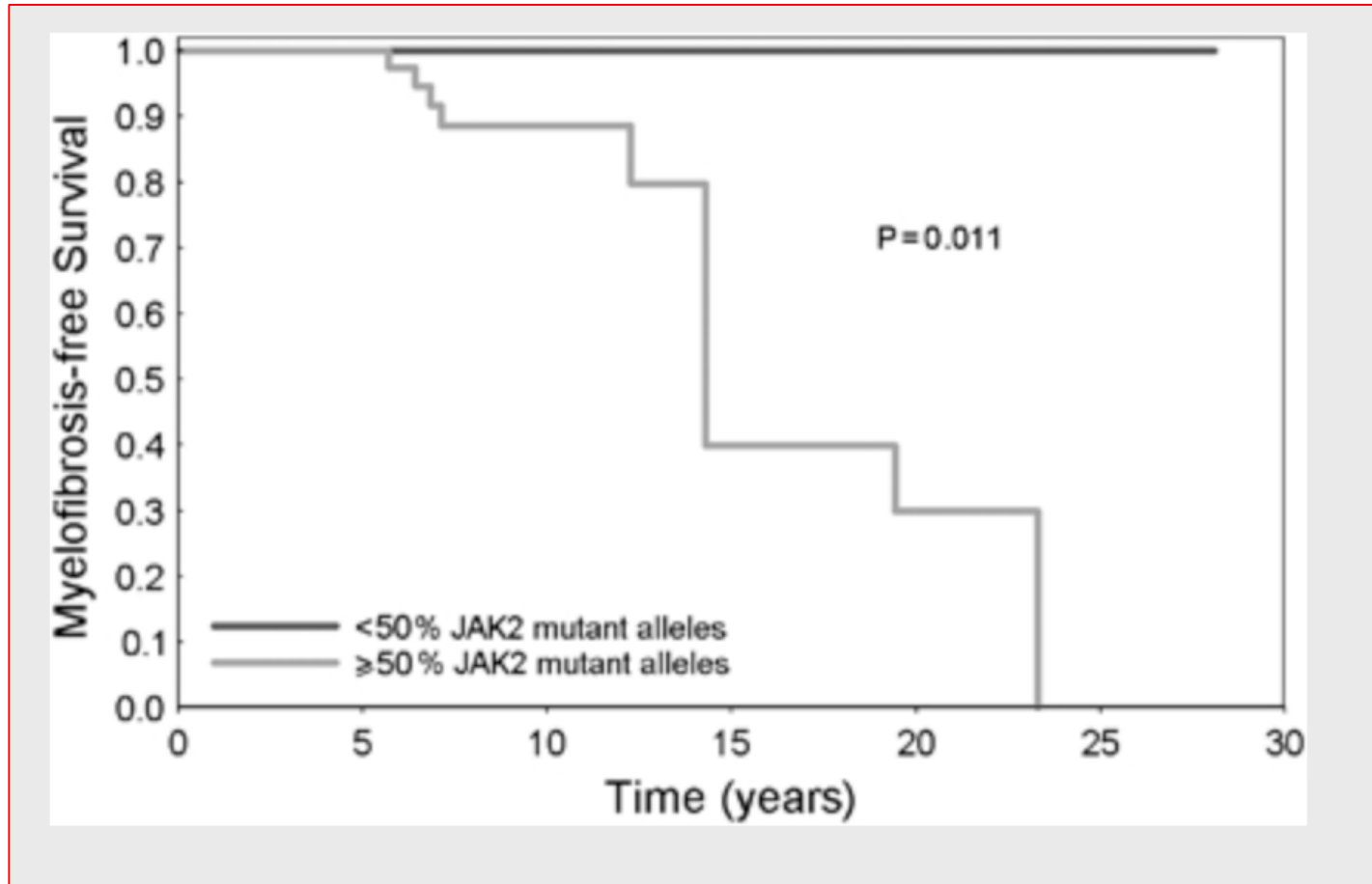
- **JAK2 lokalizasyonu: 9p24.2 :Tirozin kinaz enz.**
 - Tip I : Exon 14'de V617F mut
 - Tip II: Exon 12 (538-544;indel \ missense
- **MPL lokalizasyonu :1p34 :Trombopoetin ResP**
 - Exon 10'da M515L/K/A
- **CALR lokalizasyonu: 19p13.2 :Ca-bağ Pr.**
 - Tip I :Exon 9'da 52 bp delesyon(p.L367fs*46)
 - Tip II: Exon 9'da 5bp (TTGTC)insersiyon (p.K385fs*47)

	PV	ET	PMF
JAK2 <ul style="list-style-type: none"> • exon 14 • exon 12 	96% 3%	55% nadir	65% nadir
CALR	nadir	15%-24%	25%-35%
MPL	nadir	4%	8%

JAK2 (V617F) allele yükü klinik fenotiple ilişkisi ve hastalık komplikasyonları



JAK2 (V617F) allel oranı > 50% : PV'nin MF progresyonu için risk faktörü



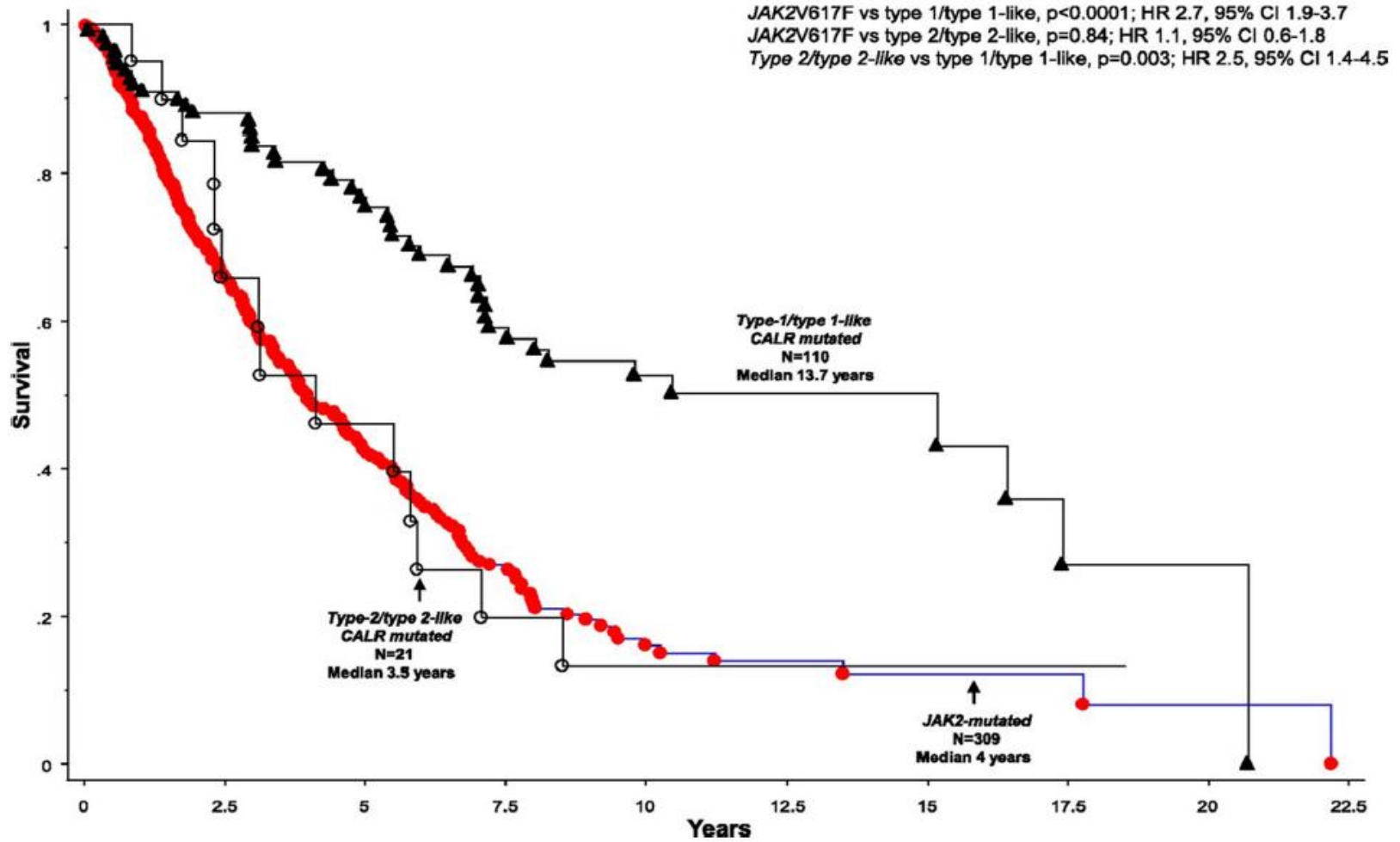
F Passamonti, *Leukemia* (2010) **24**, 1574–1579; A prospective study of 338 patients with polycythemia vera: the impact of *JAK2* (V617F) allele burden and leukocytosis on fibrotic or leukemic disease transformation and vascular complications

Hedefe yönelik Tedavi

Kasım 2011'de FDA onayı alan ilaç :
Ruxolitinib (Jakafi) JAK1/JAK2 inhibitörü

- orta ve yüksek riskli myelofibrozis tanısında kullanılmaktadır.

440 PMF'li olguda "CALR mutasyon" tipinin yaşam süresine etkisi



229 ET'li olguda mutasyon tipi ve ömür uzunluğu ilişkisi

Triple (-) ET'li olgular en uzun; MPL mutant ET'li olgular ise en kısa yaşam süresine sahiptir

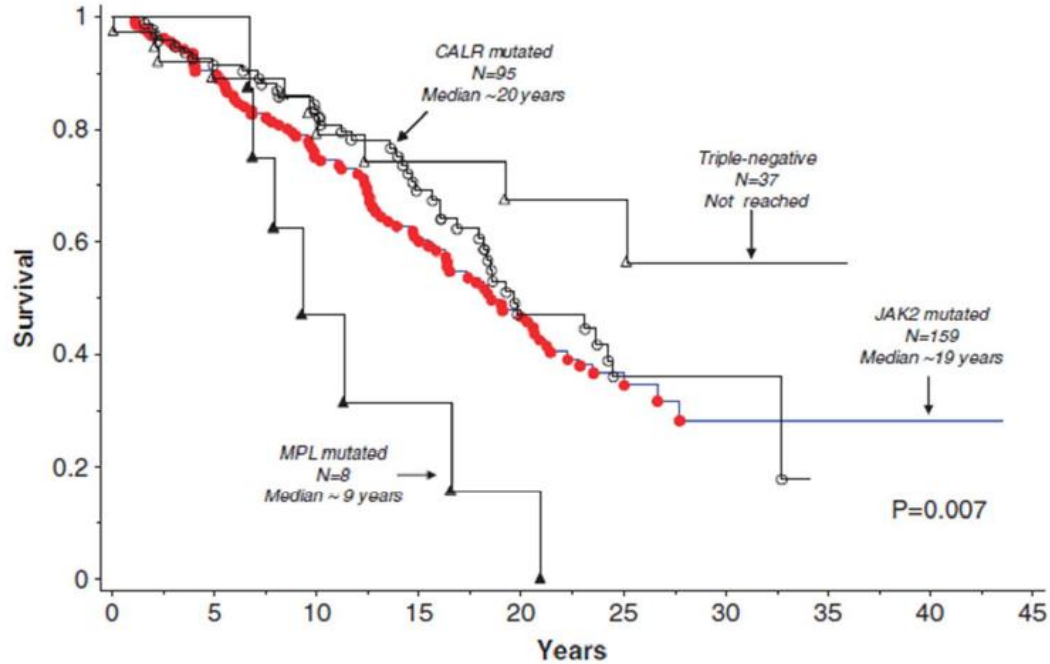


Figure 2. Kaplan-Meier estimates of overall survival in 299 patients with ET stratified by mutation type.

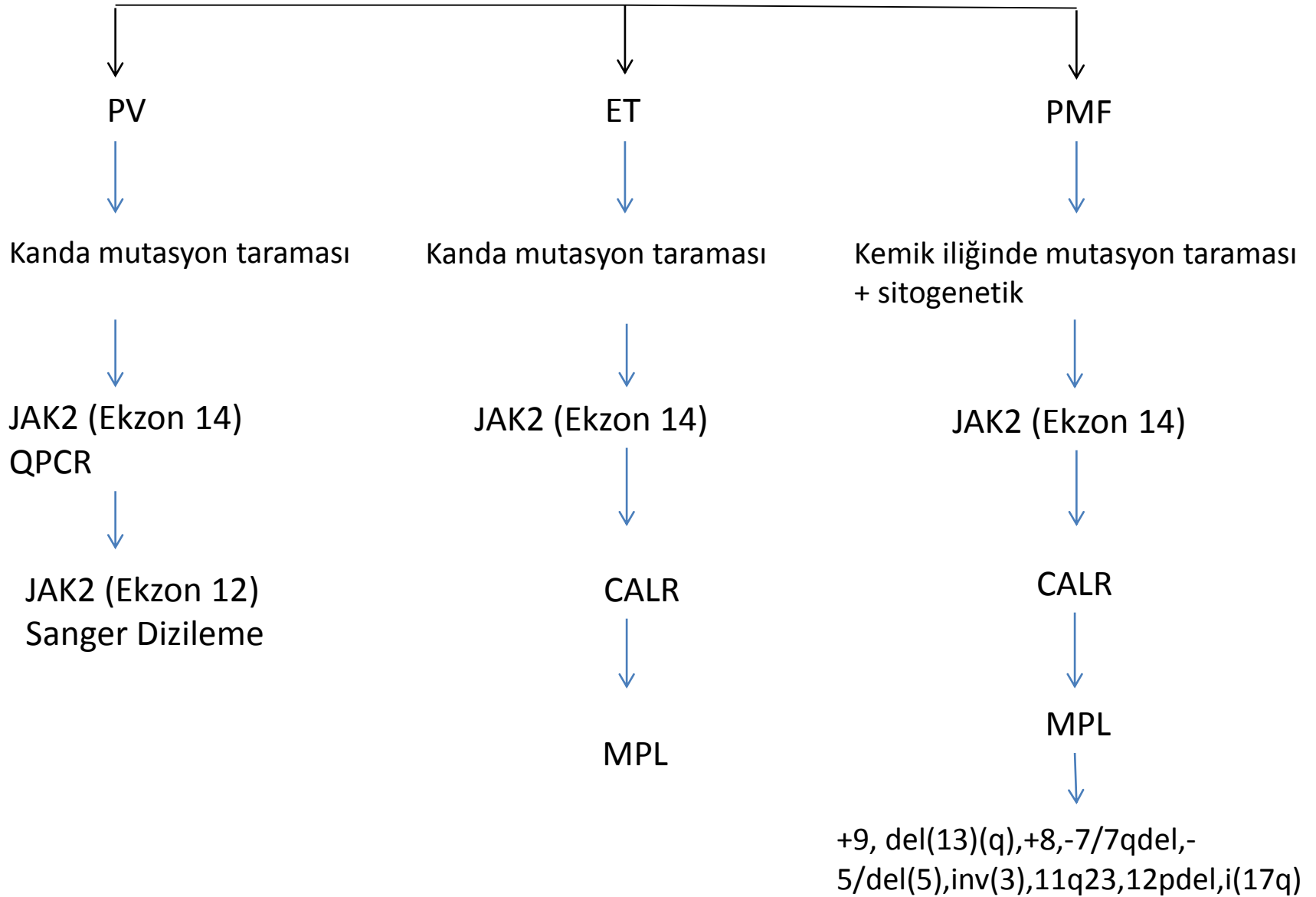
PMF'de risk belirteçleri ve skora

Variable	IPSS [18]		DIPSS [19]		DIPSS-plus [20]	
Age >65 years	✓		✓		✓	
Constitutional symptoms	✓		✓		✓	
Haemoglobin (Hb) <10 g/dl	✓		✓		✓	
Leukocyte count >25 × 10 ⁹ /l	✓		✓		✓	
Circulating blasts >1%	✓		✓		✓	
Platelet count <100 × 10 ⁹ /l					✓	
RBC transfusion need					✓	
Unfavourable karyotype ^a					✓	
	1 point each		1 point each but Hb = 2		Calculated by the DIPSS score (Int 1 = 1, Int 2 = 2, High = 3) plus one additional point for each of the three additional variables	
Risk group	Points	Median survival (years)	Points	Median survival (years)	Points	Median survival (years)
Low	0	11.3	0	n.r.	0	15.4
Intermediate-1	1	7.9	1-2	14.2	1	6.5
Intermediate-2	2	4.0	3-4	4	2-3	2.9
High	≥3	2.3	5-6	1.5	≥4	1.3

^aUnfavourable karyotype includes +8, -7/7q-, i(17q), inv(3), -5/5q-, 12p-, 11q23 rearrangements.

IPSS, International Prognostic Scoring System; DIPSS, dynamic International Prognostic Scoring System; RBC, red blood cell; Int, intermediate; n.r., not reached.

PV, ET, PMF'DE GENETİK TEST ALGORİTMASI



Rapor Örneđi

- **Kuantitatif olarak V617F Mutasyonunun Belirlenmesi**
- Hasta kimlik bilgileri
- Gelen örnek : Periferal kan
- Ön tanı: Eritrositoz
- Kuantifikasyon sonucu: V617F Mutasyonu saptanmıştır.
- Kuantifikasyon miktarı: **%72 Mutant Alel**

- Yorum :**JAK2 c. 1849G>T(p.V617F) mutasyonu pozitif olarak bulunmuştur.**
- Bu mutasyon yaklaşık olarak PV'lı olguların %95'inde; ET ve PMF'lı olguların %50'sinde ve ayrıca aynı mutasyon diğer hematolojik malignansilerde de görölmektedir.

- Method: Genomik DNA izole edildikten sonra, FAM-işaretli mutant alele spesifik prob ve VIC -işaretli wild tip alele spesifik proplar kullanılarak TaqMan Alel Diskriminasyon yöntemiyle mutant alel oranı belirlenmiştir.. Yöntem sensitivitesi ise wild tip alel temel alındığında %1'dir.

Önerilen :

WHO kriterlerini taşıyan ancak “*driver*” mutasyonu olmayan olgular

“*gene paneli*”

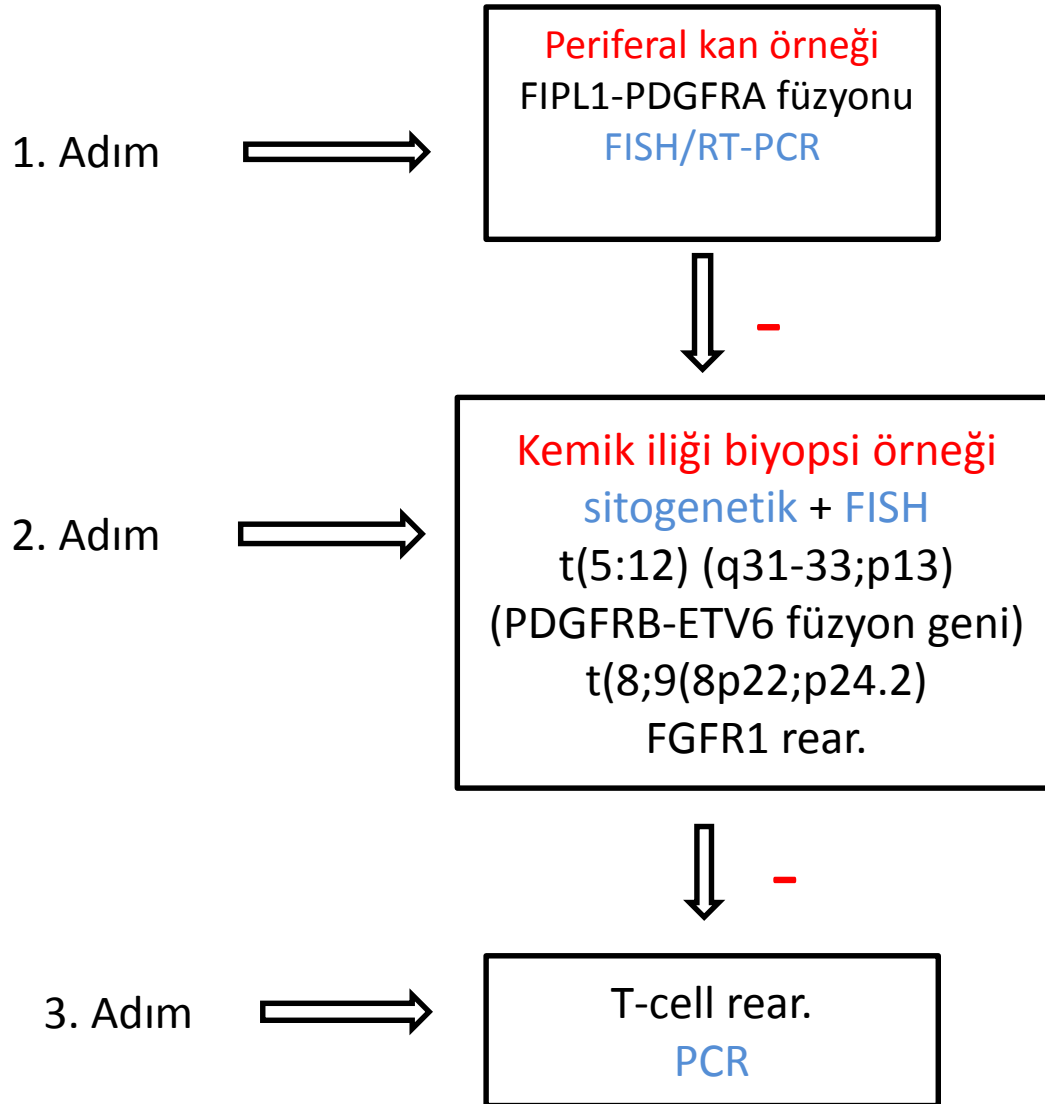
ASXL1
EZH2
TET2
IDH1/IDH2
SRSF2
SF3B1

Bir mutasyon : 7.0 yıl
İki ve daha fazla: 2.6 yıl

Kronik Eosinofilik Lösemi

- Artmış eosinofil ile seyreden kronik myeloproliferatif hastalıktır.
- **Belirlenen genetik anomaliler PDGFRA/ PDGFRB**
- Tüm hastaların «**imatinib**»den yarar gördüğü bildirilmektedir.

Kronik Eosinofilik Lösemide Genetik Test Algoritması



Kronik Nötrofilik Lösemi (CNL)

CNL diagnostic criteria

1. PB WBC $\geq 25 \times 10^9/L$

Segmented neutrophils plus band forms $\geq 80\%$ of WBCs

Neutrophil precursors (promyelocytes, myelocytes, and metamyelocytes) $< 10\%$ of WBC

Myeloblasts rarely observed

Monocyte count $< 1 \times 10^9/L$

No dysgranulopoiesis

2. Hypercellular BM

Neutrophil granulocytes increased in percentage and number

Neutrophil maturation appears normal

Myeloblasts $< 5\%$ of nucleated cells

3. Not meeting WHO criteria for *BCR ABL1*⁺ CML, PV, ET, or PMF

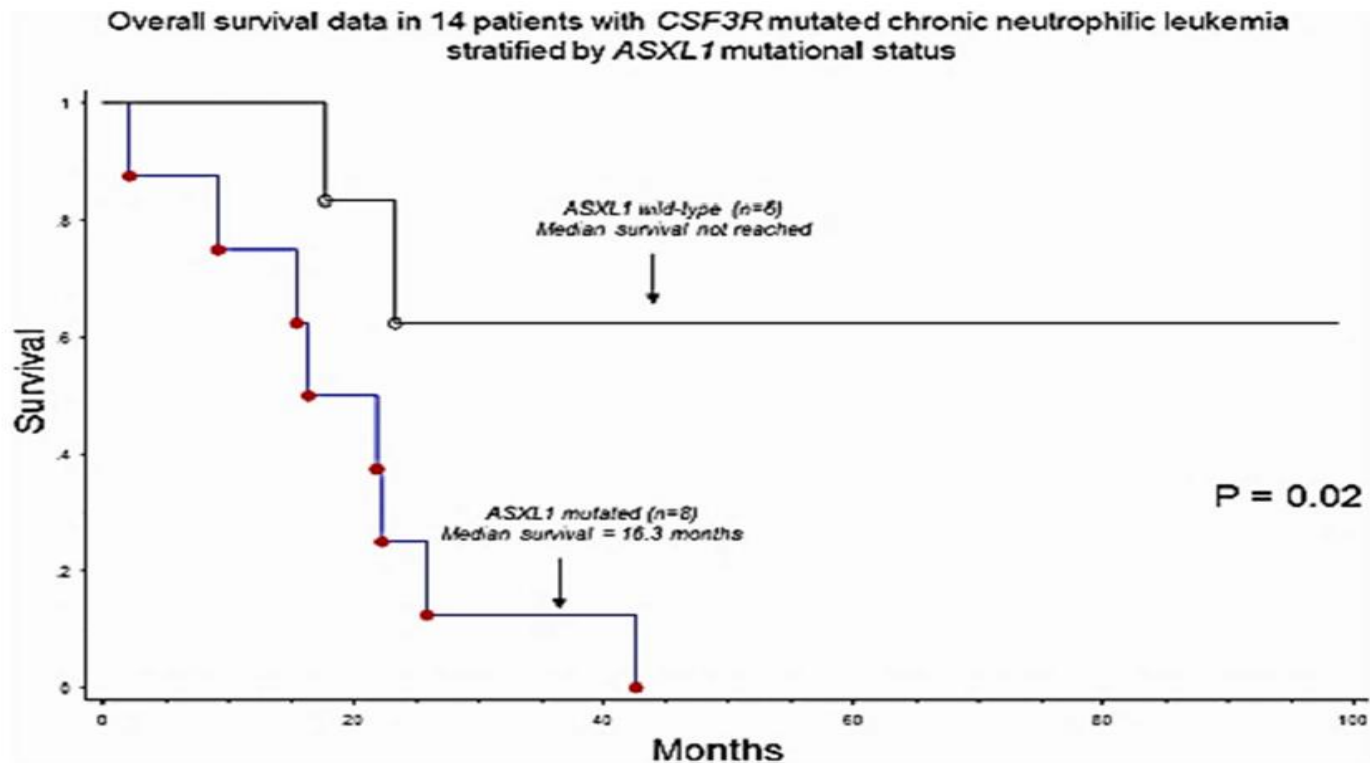
4. No rearrangement of *PDGFRA*, *PDGFRB*, or *FGFR1*, or *PCM1 JAK2*

5. Presence of *CSF3R* T618I or other activating *CSF3R* mutation

or

In the absence of a *CSFR3R* mutation, persistent neutrophilia (at least 3 mo), splenomegaly and no identifiable cause of reactive neutrophilia including absence of a plasma cell neoplasm or, if present, demonstration of clonality of myeloid cells by cytogenetic or molecular studies

***ASXL1* mutations are frequent and prognostically detrimental in *CSF3R*-mutated chronic neutrophilic leukemia**



Kronik Nötrofilik Lösemide Genetik Algoritma

CSF3R gen mutasyonlarına bakılmalı

T615A

T618I

Q741X

Y752X

D771fs

S783fs

W791X

CSF3R gen mutasyonu negatif ve nötrofilik devam ediyorsa **konvansiyonel sitogenetik** ile klonal bulgu aranmalı

Prognoz kötü ise de **ASXL** gen mutasyonuna bakılmalı

Myelodisplastik Sendrom (MDS)

MDS: İneftif hematopoez ve pansitopeni ile karakterize

MDS-WHO 2016

Tek dizide displazi ile birlikte MDS(MDS_SLD)

Ring sideroblastlarla birlikte MDS(MDS-RS)

Çoğul displazilerle birlikte MDS(MDS-MLD)

-Ring sideroblast olmayan (MDS-MLD)

-Ring sideroblastlı MDS-MLD

İzole del(5)(q) ile birlikte MDS

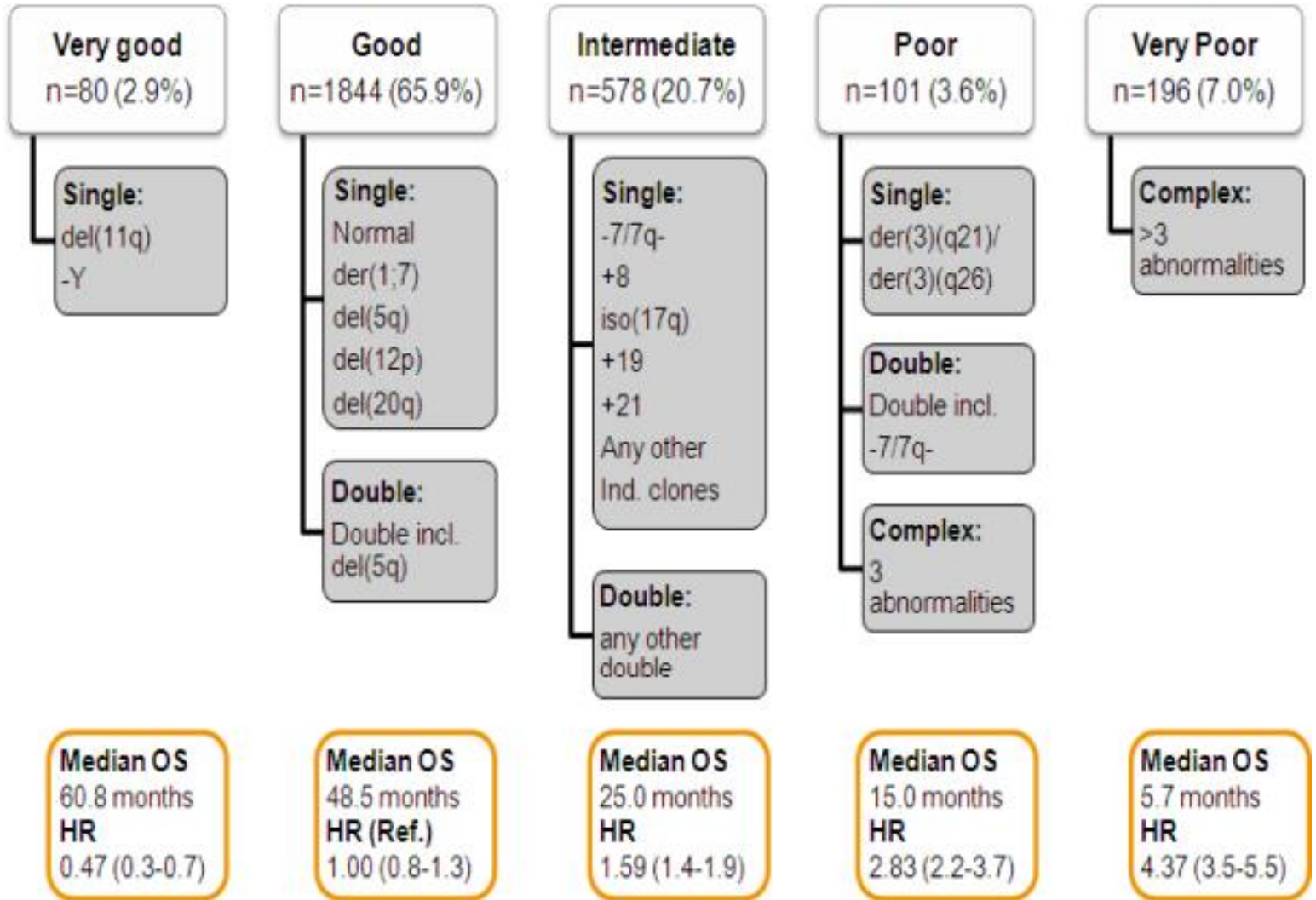
Blast artışlı MDS(MDS-EB)

-MDS-EB1

-MDS-EB2

Sınıflandırılmayan MDS(MDS-U)

IPSS-R; 2012



Displazi olmaksızın sadece sitopenik hastada MDS tanısı koydurur.

- Çok iyi risk grubu: del(11q)
- İyi risk grubu: del(5q), del(12p)
- Orta risk grubu: del(7), i(17q)
- Kötü risk grubu: del(3), inv(3), t(3q), -7(+ 1/2 anomali)
- [Nardi V, Hasserjian RP Surg Pathol Clin 2016 9\(1\):143-63](#)

Eğer anomali yakalama sıklığımızı artırmak istiyorsak;



Herhangi bir nedeni olmaksızın “inatçı sitopeni” de çok yaşlı hastada bile mutlaka kemik iliğinde karyotip belirlenmelidir

S. Meers, EJH,2014

MDS'de genetik test algoritması

- **“Primer test “**
- Konvansiyonel sitogenetik ile birlikte FISH panelinin uygulanması

Önerilen Test

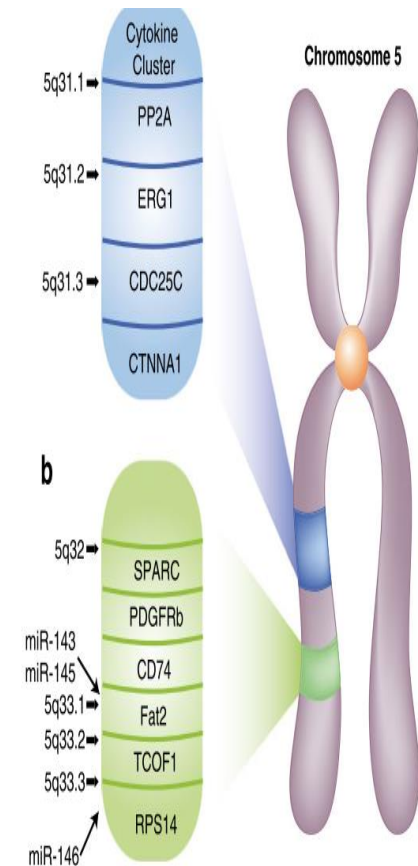
Konvansiyonel sitogenetikte ; normal yada üreme olmaması durumunda “genomik mikroarray testi”

Ring sideroplastlı MDS'de SF3B1 mutasyon testi(Sanger Dizileme)

- 12/2005 (FDA)
- II. Kuşak (ImiD)(Lenalidomide)
- **“5q delesyonu** “belirlenmiş, düşük risk grubu-transfüzyon bağımlı MDS olgularına kullanılmakta ve % 83 klinik ve sitogenetik yanıt alınmaktadır.
- AML'ye progresyon(-)
- **İlaca dirençlilik/p53 mutasyonu olan subklon!!**

MDS 'DE FISH PANELİ?

- (5)(q31)(EGR1) delesyonu
- (5)(q33-34) (RPS14) delesyonu
- (7)(q31) delesyonu/-7
- (17)(p13)(p53) delesyonu
- Cep(8) 8. kromozom trizomisi
- (20)(q12) (PTPRT) delesyonu
- *MLL* rearrangements (11q23)
- *EVI1* rearrangement [inv(3) / t(3;3)/del(3q)]
- t(12;21)(p13.2;q21.12)(ETV6/RUNX1)



Öneriler

- Mutlaka “kaliteli heparin” kullanılarak aspirasyon
- İlk 1ml’nin transport mediumuna aktarımı
- Laboratuvara hızlı transport

- Uygun besi ortamı **Chromosome synchro KİT-M (Euroclone)**
Örnekteki hücre miktarının mutlaka belirlenmesi
- Harverst için uygun ortamın sağlanması
- Doğru prob seçimi

- **Tecrübeli ekip**

Prof. Dr. Őükran Taçoy'u
saygı ve rahmet ile anıyorum

