ارزیابی میزان جهش JAK2V617F در بیماران میلو پرولیفراتیو مزمن به روش AS-RT-PCR

دکتر حمیداله غفاری[۱*]، پریسا کریم زاده[۲]، بهرام چهاردولی[۳]، دکتر کامران علی مقدم[٤]، دکتر اردشیر قوام زاده[٥]، دکتر حسین درگاهی[٦]، دکتر بابک بهار[۷]، دکتر غلام رضا توگه[۸]، دکتر فاطمه نادعلی[۹]،

چکیده

زمینه و هدف: *جهش اکتسابی JAK2V617F درغالب نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن BCR-ABL منفی دیده می‌شود که شامل پلی سیتمی ورا، ترومبوسیتمی اولیه و میلوفیبروز اولیه می‌باشد.*

در سال ۲۰۰۵ ارتباط ما بین نئوپلاسم‌های Polycythemia vera, (PV)Essential Thrombocythemia (ET)PMF(Primary myelofibrosis)از طریق شناسایی یک جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2V617F بیشتر مشخص شد. در این جهش جانشینی گوانین با تیمیدین در نوکلئوتید موقعیت ۱۸٤۹ منجر به جایگزینی والین با فنیل آلانین در اسید آمینه ٦۱۷ می‌شود، که در دومن پسود و کیناز JH2(from JAK- Homology-2) در اگزون ۱۲ از ژن JAK2 بر روی کروموزم ۹ قرار گرفته است. این جهش در سلول‌های اجدادی خونساز سبب افزایش حساسیت به فاکتورهای رشد و سیتوکین‌ها شده و ایجاد ناهنجاری در پروتئین تیروزین کیناز و فسفاتاز می‌کند.

روش بررسی: *این مطالعه روی ۵۸ بیمار صورت گرفت که ۱۵ نفر ET ، ۱۳ نفر PMF و ۳۰ نفر مبتلا به PV بودند. گزارش جهش بوسیله روش اختصاصی- آلل AS-RT-PCR روی RNA استخراج شده از گلبول‌های سفید و تعیین توالی ژن صورت گرفت. داده‌های مربوط به ۵۸ بیمار وارد SPSS شد و مورد تجزیه و تحلیل آماری به روش Mann-Whitney Test قرار گرفت.*

یافته ها: *این مطالعه روی ۵۸ بیمار MPN(Myeloproliferative neoplasm) abl-bcr منفی صورت گرفت که نتایج حاصل از آن شامل ۸٦/٦٪ (۲٦/۳۰) بیمار پلی سیتمی ورا، ۵۳٪ (۸/۱۵) بیمار ترومبوسیتمی اولیه و ٦۱/۵٪ (۸/۱۳) بیمار میلوفیبروز اولیه می‌باشد.*

در این مطالعه بیماران پلی سیتمی ورا که دارای جهش JAK2 بودند. شمارش گلبول سفید بیشتری را نشان دادند و بعلاوه تعداد زنان JAK2 مثبت (P=0.03) در پلی سیتمی بیشتر از مردان بود که نشان دهنده ارتباط این جهش با جنس می‌باشد و در سایر گروه‌ها تفاوتی مشاهده نشد.

بحث و نتیجه گیری: *شناسایی این جهش در تشخیص افتراقی نئوپلاسم از میلوپرولیفراسیون واکنشی و همچنین تعیین پیش آگهی و پیش بینی پاسخ به درمان مفید بوده و یک هدف بالقوه برای درمان می‌باشد. بعلاوه طی مقایسه حساسیت چند روش برای تشخیص جهش JAK2، نشان داده شده است که روش AS-RT PCR در مقایسه با دیگر روش‌ها مثل RFLP، pyrosequencing و ARMS-PCR دارای حساسیت بیشتری است. در هر صورت این جهش راههای جدیدی برای تحقیقات بالینی وبنیادی باز کرده و در تشخیص و طبقه بندی MPN تاثیر داشته است.*

واژه‌های کلیدی: *AS-PCR، جهشJAK2، نئوپلاسم میلوپرولیفراتیو مزمن، پلی سیتمی ورا، ترومبوسیتمی اولیه، میلوفیبروز اولیه*

* نویسنده مسئول :
دکتر حمید اله غفاری ؛
مرکز تحقیقات خون انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی دانشگاه علوم پزشکی تهران
Email : shghaffari 2000 @ vahoo. com

- دریافت مقاله : دی ۸۷ - پذیرش مقاله : خرداد ۸۸

[۱] دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۳] کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون مرکز تحقیقات خون و انکولوژی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران
[٤] دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[٥] استاد دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[٦] دانشیار دانشکده پیرا پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۷] دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۸] دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۹] استادیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

مقدمه

نام بیماریهای میلوپرولیفراتیو مزمن برای اولین بار توسط ویلیام دامشک[۷٤] در ۱۹۵۱ بکار برده شد تا یک سری از بیماری‌ها با علائم کلینیکی و بیولوژیکی

[74] Domeshek William

یکسان را توضیح دهد. در اوایل دهه ۱۹۵۰ این گروه شامل چهار بیماری بودند؛ لوسمی میلوئید مزمن (CML)، پلی سیتمی ورا (PV) ، ترومبوسیتمی اولیه (ET) و میلوفیبروز اولیه (PMF) در واقع این بیماریها یک تصویر معمول از بیماریهای کلونال هماتوپوئتیک می‌باشد که در نتیجه تغییر شکل سلول‌های اجدادی خونساز چند استعداده بوجود می‌آید که منجر به افزایش تولید در یک یا چند رده سلول خونی می‌شود(۱).

سازمان بهداشت جهانی یک نقش مهم در تصحیح ویژگی‌های تشخیصی برای میلوپرولیفراتیو مزمن داشته و ویژگی‌های جدید WHO یک دیدگاه جدید را در تشخیص بوجود آورد و آن بوجود آمدن موج جدیدی از جهش‌ها (مثل جهش JAK2) است که در تشخیص دخالت دارد، این ویژگی‌ها امروزه بعنوان یک مارکر هدف محسوب می‌شود که سبب می‌شود بسیاری از ویژگی‌های قدیمی برای تشخیص حذف شود(۲). بعلاوه این جهش‌ها برای تشخیص MPN از فرم واکنشی، مخصوصا ترومبوسیتوز و اریتروسیتوز واکنشی، دارای اهمیت زیادی می‌باشد(۳) .

شناسایی جهش JAK2 V617F یک کشف جدید در زمینه نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن می‌باشد. این جهش اکتسابی بوسیله جابجایی G با T درنوکلئوتید ۱۸٤۹ در اگزون ۱۲ از ژن JAK2 ایجاد می‌شود که این جهش منجر به جایگزینی والین با فنیل آلانین در اسید آمینه ٦۱۷ از پروتین JAK2 می باشد. این جهش در دومن پسودوکیناز JH2 از JAK2 قرار گرفته، که وظیفه آن محدود کردن فعالیت کینازی می‌باشد و حاصل این تغییر فعال سازی JAK2 است که سبب افزایش حساسیت به EPO (Erythropoietin) و رشد مستقل از فاکتورهای رشد می شود بعلاوه این جهش سبب القاء اریتروسیتوز در موش پیوند شده گردیده است(٤).

این جهش به دیگر جهش‌هایی که بعنوان فعال کننده تیروزین کیناز ساختمانی شناخته شده‌اند و نقش مهمی در نئوپلاسم‌های میلویئد دارند اضافه شد، که این جهش‌ها شامل BCR-ABL در CML، PDGFRA-FIP1L1 برای لوسمی ائوزینوفیلی مزمن و جهش D816V در Kit برای ماستوسیتوزسیستمیک می‌باشد. در سالهای اخیر جهش‌های دیگری با مفاهیم پاتولوژیک دیگر شناخته شده‌اند مثل جهش W515L/K در MPL (گیرنده TPO، در ۵٪ از میلوفیبروز اولیه (PMF) و ۱٪ از ترومبوسیتمی اولیه ET)(۲).

تکنیک‌های بسیاری برای گزارش جهش بکاربرده می‌شود مثل تعیین توالی DNA-PCR ژنومیک، تعیین توالی RT-PCR، PCR-ARMS، Allele Specific-PCR، PCR-Restricted analysis، Real time-PCR، که این روشها دارای حساسیت‌های متفاوتی می‌باشد(٤). در این مطالعه از روش Allele Specific-PCR که حساس ترین روش می‌باشد برای بررسی جهش JAK2 در نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن استفاده شده است.

هدف از این مطالعه تعیین فراوانی جهش JAK2 V617F در بیماران مبتلا به نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن مراجعه کننده به بخش هماتولوژی بیمارستان شریعتی و امام خمینی جهت افتراق نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن از سایر حالت‌های واکنشی بود.

روش بررسی

در مطالعه حاضر ۵۸ بیمار مبتلا به نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیومزمنBcr-abl منفی شامل، پلی سیتمی ورا (PV) ، ترومبوسیتمی اولیه (ET) و میلوفیبروز اولیه (PMF)، مراجعه کننده به مرکز تحقیقات هماتولوژی، انکولوژی و پیوند مغز استخوان

بیمارستان شریعتی و بیمارستان امام خمینی بررسی شدند. بیان ژن JAK2 V617F توسط روش AS-PCR بررسی شد. نتایج آزمایشها از قبیل CBC و سیتوژنتیک، تشخیصهای مورفولوژیک، زمان تشخیص اولیه و غیره از پرونده پزشکی بیماران استخراج شد و معیار انتخاب بیماران تشخیص موجود در پرونده پزشکی بود. داده های مربوط به ۵۸ بیمار وارد SPSS شد و مورد تجزیه و تحلیل آماری به روش Mann-Whitney Test قرار گرفت. به علاوه ۵۰ نمونه سالم نیز به عنوان کنترل از نظر وجود جهش بررسی شدند. جهت تایید صحت جهش سه نمونه برای تعیین توالی به شرکت gen Mille فرستاده شد.

جمع آوری حدود ۱۰ میلی لیتر خون تازه با کسب رضایت نامه از بیماران و رعایت اصول اخلاقی، توسط سرنگ استریل و در لوله استریل و در پیچ دار که حاوی200µl ضد انعقاد EDTA ۰/۵ مولار باشد، صورت گرفت. جدا سازی و تخلیص RNA از کل گلبول‌های سفید خون با استفاده از TRIZOL (Sigma , USA) انجام شد.

ژنوتایپینگ JAK2 V617F از طریق Allele-specific RT-PCR (AS-RT PCR)

AS-PCR یک روش PCR معمول است که بطور گسترده برای شناسایی جهش شناخته شده، بر پایه تکثیر آلل جهش یافته با پرایمر اختصاصی بکار برده می‌شود. علت استفاده از این روش حساسیت زیاد آن در یافتن جهش مورد نظر بود. این روش برای اولین بار به عنوان روش تشخیصی برای گزارش جهش JAK2 V617F توسط Baxter et al. با حساسیت گزارش آلل جهش یافته ۳٪ انجام شد در حالیکه حساسیت برای روش RFLP، ۵٪ گزارش شده است.

در این روش قسمتی از cDNA ساخته شده که حاوی جهشJAK2 V617F می‌باشد بوسیله یک پرایمر که برای هر دو نوع آلل طبیعی (WT) و جهش یافته (M) مشترک است، تکثیر می‌یابد که عبارتند از:

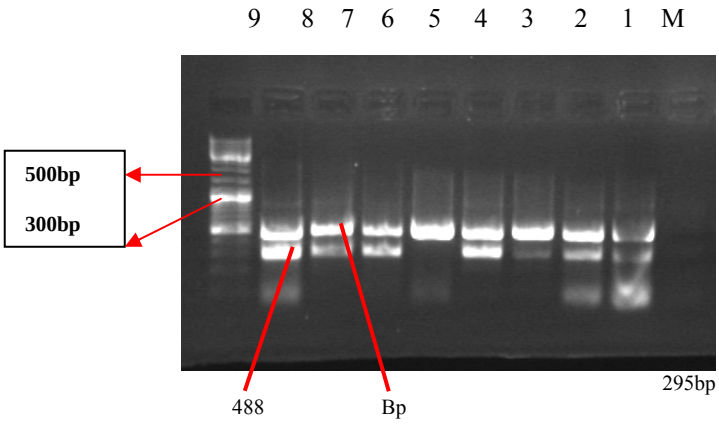
Forward- 5′-GAA GAT TTG ATA TTT AAT GAA AGC CTT-3′
Reverse-5′-GTA ATA CTA ATG CCA GGA TCA CTA AGT T-3′

و سومین پرایمر که توالی اختصاصی برای آلل جهش یافته (M) است :

Mutant-5′-AGC ATT TGG TTT TAA ATT ATG GAG TAT ATT-3

در این روش شرایط PCR شامل ، ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه ۱ سیکل ، denaturation در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه ، annealing در ٥٦ درجه سانتی گراد به مدت ٤٠ ثانیه و elongation در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ٤٥ ثانیه، یک سیکل در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، بود که حاصل این ۳٦ سیکل از آلل طبیعی (wt) یک باند ٤٨٨ bp ایجاد می شود، در حالیکه یک باند ۲۹۵ bp حاصل تکثیر آلل جهش یافته (M) است و نشان دهنده حضور جهش می‌باشد(۵).

البته باید خاطر نشان کرد که روش AS- PCR برای تشخیص زیگوسیتی طراحی نشده است، زیگوسسیتی به وسیله روش RFLP-PAGE(restriction fragment length polymorphism) بر پایه تفسیر نمونه تعیین می‌شود(٦).



شکل ۱: AS-PCR جهت غربالگری جهش JAK2V617F

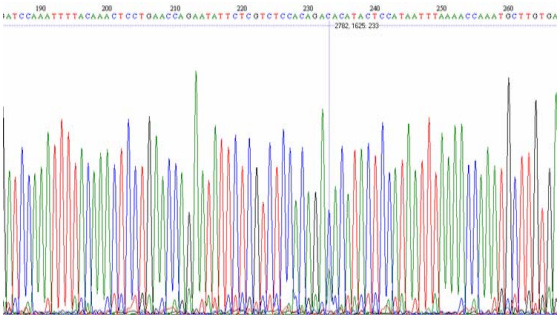
ستونهای ۱،۲،۳،۷،۵ و ۸ نمونه‌های بیماران JAK2 مثبت را نشان می‌دهد. ستونهای ٤ نمونه بیمار است که JAK2 آنها منفی است. ستون ۹ کنترل منفی و ستونM سایز مارکر را نشان می‌دهد.

یافته‌ها

از ۵۸ بیمارمورد مطالعه ۱۵ نفر ET، ۱۳ نفر PMF و ۳۰ نفر مبتلا به PV بودند. از ۳۰ بیمار پلی سیتمی ورا ۲٦ نفر دارای جهش بودند(۸٦٪) در ۸ بیمار از ۱۳ بیمار میلوفیبروز ایدیوپاتیک(٦۱٪) و در ۸ بیمار از ۱۵ بیمار ترومبوسیتمی اولیه (۵۳/۳ ٪) جهش یافت شد.

۱۸مورد از ۲۹ بیمار مرد(٦۲٪) و ۲۳ مورد از ۲۹ بیمار زن(۷۹٪) دارای جهش بودند.

در بیماران پلی سیتمی ورا (جدول۱) از ۳۰ بیمار مورد مطالعه ۲٦ بیمار(۸٦٪) دارای جهش بودند که این بیماران میانگین سنی بالاتری داشتند. به علاوه از ۲٦ بیمار جهش مثبت ۱٦ بیمار زن بودند که ارتباط جهش با جنس را نشان می‌دهد. به علاوه بیماران دارای جهش میزان گلبولهای سفید بالاتری نسبت به بیماران بدون جهش داشتند(p=0.03) اما در سایر داده‌ها تفاوت مهمی مشاهده نشد. از طرفی از ۲٦ بیمار JAK2 مثبت، ۱۷ بیمار اسپلنومگالی داشتند. از آنجا که پرونده بیشتر بیماران فاقد اطلاعات سیتوژنتیک بود نتوانستیم ارتباط شیوع جهش با ناهنجاریهای سیتوژنتیک را نشان دهیم. در بیماران ترومبوسیتمی اولیه (جدول۲) و میلوفیبروز اولیه (جدول۳) نیز بیماران JAK2 مثبت میانگین سنی بالاتری داشتند در سایر موارد تفاوت قابل توجهی یافت نشد.



شکل ۲ : JAK2V61 دارای جهش ET در بیمار JAK2 نتیجه تعیین توالی آن

جدول۱ : وضعیت جهش JAK2 در بیماران پلی سیتمی ورا

	جهش مثبت	جهش منفی	P
تعداد بیماران	۲٦	٤	
میانگین سنی	۵٤	۵۱	
مرد به زن	۱۰/۱٦	٤/۰	
شمارش گلبول های سفید (10^3 بر لیتر) میانگین ± انحراف معیار	۳۷/٦ ± ۲۲/۲٦	۵/۵۹±۱/٤۳	۰ /۰۳
هموگلوبین (گرم بر لیتر) میانگین ± انحراف معیار	۱٦/۹۸ ±۱/۸۰	۱۸/۳±۱/۱۵۱	۰ /۱
هماتوکریت (٪) میانگین ± انحراف معیار	۵۱/٦۳±۷/۹۳	۵۲/۳۲±٤/۱۰۱	۰/۷
اسپلنومگالی طبیعی به غیر طبیعی	۹ /۱۷	۳ /۱	

جدول۲: وضعیت جهش JAK2 در بیماران ترومبوسیتمی اولیه

	جهش مثبت	جهش منفی	P
تعداد بیماران	۸	۷	
میانگین سنی	۵۱	۵۳	
مرد به زن	٤/٤	٤/۳	
شمارش گلبول های سفید(10^3 بر لیتر) میانگین±انحراف معیار	۸/٤±۲/۳	۷/۰±۵/۳	۰/۰۷
هموگلوبین (گرم بر لیتر) میانگین ± انحراف معیار	۱۳/۰٦±۲/٤۹	۱۳/٦۲±۱/۱٦	۰/۵
هماتوکریت (٪) میانگین ± انحراف معیار	۳۸/۱±۷	٤۰/۱۸±۲ /٤۵	۰/۸
اسپلنومگالی طبیعی به غیر طبیعی	٦/۲	٦/۱	

جدول۳ : وضعیت جهش JAK2 در بیماران میلوفیبروز اولیه

	جهش مثبت	جهش منفی	P
تعداد بیماران	۸	۵	
میانگین سنی	۵۷	۵۱	
مرد به زن	۵/۳	۲/۳	
شمارش گلبول های سفید (10^3 بر لیتر) میانگین ± انحراف معیار	۱۲/٤±٦/۹۹	۵/۹۲±۲/۰۵	۰/۱
هموگلوبین (گرم بر لیتر) میانگین ± انحراف معیار	۹/۸۷±۳/۲۸	۷/۲۰±۲/۱٤	۰/۳
هماتوکریت (٪) میانگین ± انحراف معیار	۲۹/۸۷±۸/۲۸	۲۹/۲٤±۷/٤۷	۰/٦
اسپلنومگالی طبیعی به غیر طبیعی	۱/۷	۱/۵	

بحث

تشخیص کلاسیک بیماران MPN منفی از نظر BCR-ABL ، بر پایه معیارهای آزمایشگاهی و کلینیکال است که با پیشرفت تستهای جدیدتر متحمل تغییرات اساسی شده است. کشف اخیر این جهش فرصتی برای اصلاح معیارهای تشخیصی موجود و طبقه بندی بیماری فراهم نموده است(۷). مطالعه حاضر شیوع بالای جهش JAK2 V617F را در بیماران MPN تایید می‌کند. شناسایی موتاسیون امکان افتراق ما بین بیماران با یک MPN حقیقی و آنهایی که یک اریتروسیتوز یا ترومبوسیتوز ثانویه دارند را به وجود آورده است. کشف جهشJAK2 V617F نه تنها در طبقه بندی مجدد MPN ارزشمند بوده بلکه حضور

این جهش در نتیجه کلینیکال به ویژه در میزان عوارض ترومبوتیک و تغییر به سمت لوسمی در بین بیماران JAK2 مثبت و منفی تاثیرگذار بوده است(۳).

با بکار بردن یک تست مناسب و حساس، هم اکنون این مدارک بدست آمده که بیش از ۹۰٪ از بیماران PV که بطور سنتی شناخته شده بودند دارای جهش JAK2در گرانولوسیتهای خود هستند. اگر چه کشف این جهش دارای حساسیت زیادی است ولی اختصاصی نیست و این جهش در حدود ۵۰٪ از بیماران PMF و در ۳۰٪ از بیماران ET یافت شده است.

در این مطالعه بالاترین میزان شیوع جهش در بیماران پلی سیتمی ورا (۸۶٪) یافت شد. در بیماران ترومبوسیتمی اولیه و میلوفیبروز ایدیوپاتیک نیز به ترتیب مقادیر ۵۳ ٪ و ۶۲٪ به دست آمد. در مطالعه مشابهی که توسط باکستر[1] و همکارانش با روش AS-PCR در سال ۲۰۰۵ انجام گرفته و نتایج حاصل نشان داده که جهش JAK۲ در ۷۱ نفر از ۷۳ بیمار پلی سیتمی ورا(۹۷٪) و ۲۹ نفر از ۵۱ (۵۷٪) از بیماران ترومبوسیتمی اولیه و ۸ نفر از ۱۶ (۵۰٪) از بیماران میلوفیبروز ایدیوپاتیک دیده شده است. در مقایسه با یافته‌های به دست آمده تفاوت عمده این مطالعه حاضر مربوط به بیماران PMF است (۵۰ ٪ در مقابل ٪۶۱)(۳).

در مطالعه کمبل[2] و همکاران بر روی ۸۰۶ بیمار مبتلا به ET، ۴۱۴ نفر(۵۳/۴٪) مثبت و ۳۶۲ نفر (۴۶/۶٪) منفی بودند. این گروه گزارش کرد که بیماران JAK2 مثبت افزایش قابل توجه هموگلوبین ($p<0.0001$)، شمارش نوتروفیل ($p<0.0001$)، اریتروپوئز و گرانولوپوئز مغز استخوان، ترومبوز رگی بیشتر و یک نسبت بالاتر از تغییر شکل پلی سیتمیک نسبت به افراد بدون جهش دارند. در مطالعه حاضر آنالیز داده‌های بیماران ET هیچ تفاوت معنی داری در میزان RBC، WBC، PLT، HCT و Hb نشان نداد. در توجیه این مساله می‌توان این طور بیان کرد که در مقایسه با مطالعات Campbell تعداد نمونه‌های مورد بررسی بسیار کمتر(۱۵نمونه) است. لذا با همین اطلاعات موجود تحلیل آماری انجام شد و هر چند که میزان شیوع به دست آمده (۵۳٪) قابل مقایسه با مطالعات جیمز[3] (۴۳٪)، وولانسکی[4] (۴۹٪) و جونز[5] (۴۱٪) و باکستر(۵۷٪) است، اما هیچ تفاوت قابل توجهی در میان دو گروه جهش مثبت و منفی به دست نیامد (۱۱-۸ و ۳). در مطالعه لوین[6] و همکارانش ارتباط مهمی ما بین حضور آلل جهش یافته و جنس مونث در بیماران PV ثابت شده است که مطالعه حاضر نیز این یافته را تائید می‌کند. به این صورت که از ۲۶ بیمار پلی سیتمی دارای جهش ۱۶ بیمار(۵۵٪) زن بودند(۱۲).

در مطالعه حاضر جهش در بیش از نیمی از موارد میلوفیبروز اولیه یافت شد که مطابق با تخمین‌های قبلی از شیوع جهش در این اختلال است(۱۵-۱۳). بالاترین میزان شیوع گزارش شده از جهش در PMF مربوط به مطالعه ژلینک با روش pyrosequencing با شیوع ۹۵٪ است که از ۱۹ بیمار، ۱۸ مورد جهش را نشان دادند و کمترین میزان مربوط به مطالعه لوین با شیوع ۳۵٪ است که از ۴۶ بیمار، ۱۶ مورد مثبت بودند(۱۶و۱۲).

به علاوه در این مطالعه نتایج ۳ بیمار با sequencing مورد بررسی قرار گرفت و جهش با این روش مورد تائید قرار گرفت که مشابه یافته‌های باکستر، لوین، کرالوویکس[7] و جونز می‌باشد (۱۳و۸و۶و۴).

[1]. Baxter
[2]. Campbell
[3]. James
[4]. Wolanskyi
[5]. Jones
[6]. Levine
[7]. Kralovics

نتیجه گیری

برای تشخیص MPN از فرم واکنشی، مخصوصا ترومبوسیتوز و اریتروسیتوز واکنشی، که بسیار مشکل می‌باشد، شناسایی جهش JAK2 می‌تواند به عنوان یک تست تشخیصی استفاده گردد. نتایج حاصل از این مطالعه با روش AS-PCR در تمام بیماران بجز یک بیمار ET در مقایسه با روش ARMS-PCR یکسان بود که نشان دهنده حساسیت بیشتر در این روش می‌باشد.

در هر صورت این جهش راههای جدیدی برای تحقیقات کلینیکال و بنیادی باز کرده و در تشخیص و طبقه بندی MPN تاثیر داشته است.

تشکرو قدردانی

با تشکر از تمام کسانی که در مراحل پیشرفت طرح ما را همراهی کردند.

منابع

1. James C, Ugo V, Casadevall N, Constantinescu S, Vainchenker W. A JAK2 mutation in Myeloprolifrative disorders: pathogenesis and therapeutic and scientific prospects. TRENDS in Molecular Medicine 2005 Dec; 11(12): 546-552.

2. Ruben A. New insights into the pathogenesis and treatment of chronic myeloproliferative disorders. Current Opinion in Hematology 2008 June; 15(1065-6251): 121–126.

3. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. Lancet 2005; 19(365): 1054-1061.

4. Speletas M, Katodritou E, Daiou C, Mandala E, Papadakis E, Kioumi A. Correlations of JAK2V617F mutation with clinical and laboratory finding in patients with myeloproliferative disorders. Leukemia 2007 March; 31(42):1053-1062.

5.Heller G, Levp R, Salim JP, Kornblintt LI, Geotte NP, Chazareta CD, et al. Jak2V617F mutation in platelets from essential thrombocythemia patients: correlation with clinical features and analysis of STAT5 phosphorylation status. European Journal of Hematology 2006 Oct; 77(24): 210-216.

6.Frantz C, Sekara D, Donald C, Haung C, Pan Q, Quigley N, et al. Comparative Evaluation of three jak2V617F mutation detection methods. American journal of clinical pathology 2007 June; 128(81): 865-847.

7. Chung-che J. BCR/ABL-Negative chronic Myeloprolifrative disorders jak2 mutation and beyond. Arch Pathol lab 2006 Apr; 130(93): 1123-1124.

8. Jones AV, Kreil S, Zoi K, Waghorn K, Curtis C, Zhang L, et al. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. Blood 2005 Sep; 15(106): 2162-2168.

9. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, Wheatley K, East CL, Marsden JT, et al. Definition of subtypes of essential Thrombocythaemia and relation to Polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. Lancet 2005 Dec; 3(366): 1945-1953.

10. James C, Ugo V, Le Couedic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique Clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. Nature 2005 Apr; 434(7037): 1144-1148.

11. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, McClure RF, Wadleigh M, Lee SJ, et al. JAK2 mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. Br J Haematol 2005Oct; 131(2): 208–213.

12. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. Cancer Cell 2005Aug; 7(14): 387-397.

13. Vannucchi A, Pancrazzi A, Bogani C, Antonioli E, Guglielmelli P. A quantitative assay for JAK2V617F mutation in myeloproliferative disorders by ARMS-PCR and capillary electrophoresis. Leukemia 2006 Feb; 20(4): 1055-1060.

14. Bock O, Busche G, Koop C, Schroter S, Buhr T, Kreipe H. Detection of the single hotspot mutation in the JH2 pseudokinase domain of janus kinase 2 in bone marrow trephine biopsies derived from chronic myeloproliferative disorders. J Mol Diagn 2006 May; 8(2): 170-177.

15. Horn T, Kremer M, Dechow T, Pfeifer WM, Geist B, Perker M, et al. Detection of the activating JAK2 V617F mutation in paraffin-embedded trephine bone marrow biopsies of patients with chronic myeloproliferative diseases. J Mol Diagn 2006 Jul; 8(3): 299-304.

16. Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V, Bueso-Ramos C, Prchal JT, Verstovsek S, et al. JAK2 mutation 1849G>T is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Philadelphia chromosome-negative CML, and megakaryocytic leukemia. Blood 2005 Nov; 106(10): 3370-3373.