

## POLİSİTEMİA VERA OLGULARINDA JAK2 V617F MUTASYON SIKLIĞI VE LABORATUVAR BULGULARI İLE İLİŞKİSİ

### JAK2 V617F MUTATION FREQUENCY IN POLYCYTHEMIA VERA CASES AND ITS RELATIONSHIP WITH LABORATORY FINDINGS

Kuyuş HEKİMLER ÖZTÜRK<sup>1</sup>, Muhammet Yusuf TEPEBAŞI<sup>1</sup>, Halil ÖZBAŞ<sup>1</sup>, Pınar ASLAN KOŞAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Isparta, TÜRKİYE.

<sup>2</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Isparta, TÜRKİYE.

**Cite this article as:** Hekimler Öztürk K, Tepebaşı Y, Özbaş H, Aslan Koşar P. Polisitemia Vera Olgularında JAK2 V617F Mutasyon Sıklığı ve Laboratuvar Bulguları ile ilişkisi. Med J SDU 2021; 28(4): 573-577.

#### Öz

#### Amaç

Polisitemia vera (PV) miyeloid hücrelerin klonal proliferasyonu ile karakterize klonal bir hastalıktır. Janus tirozin kinaz 2 (JAK2) geni V617F mutasyonunun hastalığın moleküler patogenezinin temelini oluşturduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada PV'lı hastalarda JAK2 V617F mutasyon sıklığı ve hematolojik parametreler ile arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

#### Gereç ve Yöntem

Bu retrospektif kohort çalışmasına BCR-ABL negatif PV tanılı 18'i kadın, 60'ı erkek olmak üzere toplam 78 hasta dahil edildi. Hastalara ait poliklinik dosyaları incelenerek demografik özellikler, laboratuvar bulguları ve JAK2 V617F mutasyon analiz sonuçları kaydedildi. JAK2 V617F mutasyon analizleri Real-Time PCR yöntemi ile yapıldı.

#### Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 78 PV hastasının 21'inde (%26,9) JAK2 V617F mutasyonu saptandı. Mutasyon varlığı ve cinsiyet arasında fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Mutasyon pozitifliğine göre yapılan gruplandırma JAK2 V617F mutasyonu taşıyan hastalarda yaş, RBC,

RDW ve PLT seviyeleri açısından anlamlı derecede yüksek saptanırken (sırasıyla,  $p=0,000$ ;  $p=0,030$ ;  $p=0,028$ ;  $p=0,029$ ), serum demir düzeyi açısından anlamlı derecede düşük saptandı ( $p=0,036$ ). WBC, HB ve HCT seviyeleri her iki grupta benzerdi ( $p>0,05$ ).

#### Sonuç

Mutasyonun prognostik değerini ve klinik ve laboratuvar değişkenleriyle ilişkisini göstermek için daha kapsamlı prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Miyeloproliferatif bozukluklar, Polisitemia vera, JAK2 V617F

#### Abstract

#### Objective

Polycythemia vera (PV) is a clonal disease characterized by clonal proliferation of myeloid cells. It has been shown that the Janus tyrosine kinase 2 (JAK2) gene V617F mutation forms the basis of the molecular pathogenesis of the disease. In this study, it was aimed to examine the relationship between JAK2 V617F mutation frequency and hematological parameters in patients with PV.

**Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Responsible author and contact address:** K.H.Ö. / kuyasozturk@sdu.edu.tr

**Müracaat tarihi/Application Date:** 04.08.2021 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 31.08.2021

**ORCID IDs of the authors:** K.H.Ö: 0000-0002-7075-8875; M.Y.T: 0000-0002-1087-4874;

H.Ö: 0000-0002-7561-1450; P.A.K: 0000-0003-2602-5145

## Material and Methods

A total of 78 patients, 18 female and 60 male, with PV were included in this retrospective cohort study. Demographic characteristics, laboratory findings and JAK2 V617F mutation analysis results were recorded by examining the outpatient clinic files of the patients. JAK2 V617F mutation analyzes were performed by Real-Time PCR method.

## Results

JAK2 V617F mutation was detected in 21 (26.9%) of 78 PV patients included in the study. There was no difference between the presence of mutation and gender ( $p>0.05$ ). In the grouping made according to mutation positivity, while age, RBC, RDW and PLT

levels were found to be significantly higher in patients with JAK2 V617F mutation (respectively,  $p=0.000$ ;  $p=0.030$ ;  $p=0.028$ ;  $p=0.029$ ), serum iron level was found to be significantly lower. ( $p=0.036$ ). WBC, HB and HCT levels were similar in both groups ( $p>0.05$ ).

## Conclusion

More comprehensive prospective studies are needed to demonstrate the prognostic value of the mutation and its relationship with clinical and laboratory variables.

**Keywords:** Myeloproliferative disorders, Polycythemia vera, JAK2 V617F

## Giriş

Kronik miyeloproliferatif hastalıklar (KMPH), kemik iliğinde bir veya daha fazla miyeloid hücre soyunun çoğalması ve periferik kanda artan sayıda olgun ve olgunlaşmamış hücre ile karakterize klonal hematopoietik kök hücre bozukluklarıdır (1). Philadelphia-negatif (BCR-ABL negatif) olan bu miyeloproliferatif bozukluklara dahil olan üç ana hastalık; polisitemia vera (PV), esansiyel trombositoz (ET) ve primer miyelofibrozdur (PMF). Bu hastalarda, Janus tirozin kinaz 2 (JAK2) geninin 14. ekzonunda, JH2 psödokinaz domaininde 617. pozisyonda (JAK2 V617F) valin ile fenilalanin aminoasitlerinin değişiminden oluşan tekrarlayan bir mutasyon bulunmaktadır (2). Bu mutasyon PV'lı hastaların yaklaşık %95'inde ve ET ve PMF'lu hastaların yaklaşık %50'sinde bulunmaktadır (3, 4).

Polisitemi vera (PV), eritrosit kitlesinde artış ile karakterize, trombosit ve granülositlerin aşırı üretimini eşlik ettiği malign bir kök hücre hastalığıdır (5, 6). Etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte bazı genetik bozukluklar üzerinde durulmaktadır. Yapılan çalışmalarda, JAK2 genindeki V617F mutasyonunun, hücre büyümesi ve farklılaşmasını düzenleyen janus kinaz sinyal verici ve transkripsiyon (JAK-STAT) yolağının kontrolsüz aktivasyonuna neden olduğu ortaya konulmuştur (7). Bu yolağın aktivasyonu, PV progenitör hücrelerinin aşırı duyarlılık gösterdiği sitokinlere maruz kalarak tirozin fosforilasyon aktivitesine yol açtığı gösterilmiştir (5, 8). JAK2 V617F mutasyonu PV ve eritroid progenitör hücreleri üzerindeki etkisi nedeniyle mükemmel bir hastalık belirticidir. Bu nedenle, hastalığın ilerlemesi, tedavisi ve yeni kemoterapötiklerin gelişimi, klonal granülositlerdeki mutant JAK2 alelinin oranındaki değişiklikler takip edilerek kolaylıkla değerlendirilebilmektedir (9).

Çalışmamızda BCR-ABL negatif PV'lı Türk hastalarda JAK2-V617F mutasyonunun sıklığını belirlemek ve bu hastaların JAK2-V617F mutasyonu ile hematolojik parametreleri arasındaki ilişkiyi analiz etmek amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

### Çalışma Grubu

Araştırma protokolü Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak oluşturulmuş bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (27.05.2021 tarihli ve 209 karar numaralı). Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğine Ocak 2017 ile Haziran 2021 tarihleri arasında, polisitemia vera endikasyonu ve JAK2 V617F mutasyonu test istemi ile başvuran 18'i kadın, 60'ı erkek olmak üzere toplam 78 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm hastalardan yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır. Hematoloji polikliniğinde klinik parametreler, laboratuvar bulguları ve genetik test sonuçları ile birlikte değerlendirilerek polisitemia vera tanısı alan bu hastaların dosyaları retrospektif olarak incelendi. Bu verilere göre; JAK2 V617F mutasyon sıklığı hesaplandı ve JAK2 V617F+ ve JAK2 V617F- PV'lı hastalar arasında yaş, cinsiyet, WBC, RBC, HB, HCT, RDW, PLT, demir, demir bağlama kapasitesi (DBK), ferritin değerleri karşılaştırıldı.

### DNA İzolasyonu ve Mutasyon Analizi

Hastalardan EDTA'lı tüplere 2 ml venöz kan alınarak spin kolon yöntemiyle (High pure PCR template preparation, Roche Diagnostic, USA) üretici talimatına uygun olarak DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA örnekleri mikrosantrifüj tüplere alınarak çalışma yapılana kadar  $-20^{\circ}\text{C}$  buzdolabında saklandı. Mutas-

yon tespiti için, DNA örnekleri buzdolabından alınarak çözdürüldü ve kısa spin atıldı. Mutasyona uğramış alelleri ayırt etmek için, alel spesifik oligonükleotid (ASO) RT-PCR tekniği kullanıldı. Primer probları, mutant (FAM), endojen (VIC) kontrole spesifik primer prob (TaqMan) setlerini içerir. PCR bileşeni olarak, 2X master miks, mutasyon primer prob miks, ddH<sub>2</sub>O, pozitif kontrol kullanıldı. Hazırlanan karışım eşit şekilde kuyucuklara paylaştırıldıktan sonra 3 µl hasta DNA'sı eklendi. RT-PCR analizi, Rotor-Gene Q (Qiagen, Hilden, Germany) ile üretici talimatına uygun olarak gerçekleştirildi. Real-time PCR basamakları; ilk denatürasyon (95°C'de 15 dk) ardından, 40 döngü amplifikasyon (95°C'de 15 dk, 60°C'de 40 dk) şeklinde uygulandı. Koşum sonucunda oluşan amplifikasyon profilleri değerlendirildi. Sadece endojen kontrolde amplifikasyon piki oluşmuş ise JAK2 V617F negatif, hem endojen kontrol hem hastada amplifikasyon piki oluşmuş ise JAK2 V617F pozitif olarak değerlendirildi.

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Laboratuvar bulgularının karşılaştırılmasında normal dağılılan sürekli değişkenler t-test ile, kategorik değişkenler ki-kare testi ile değerlendirildi.

### Bulgular

Çalışmamızda, 78 PV hastasında JAK2 V617F mutasyon sıklığı ve JAK2 V617F pozitifliği laboratuvar bulguları ile karşılaştırıldı. Hastalara ait demografik özellikler ve laboratuvar bulguları Tablo 1.'de verilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 78 hastanın 18'i (%23,1) kadın, 60'ı (%76,9) erkekti. Vakaların yaş ortalamaları 48,44±21,06 idi. Ortalama (±SS) WBC, RBC, HB, HCT, RDW, PLT, Demir, DBK, Ferritin değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. JAK2 V617F mutasyonu tüm hastaların 21'inde (%26,9) pozitif iken, 57'sinde (%73,1) negatif olarak saptanmıştır.

JAK2 V617F mutasyonu pozitif ve negatif olanlarda yaş, cinsiyet, WBC, RBC, HB, HCT, RDW, PLT, Demir, DBK ve Ferritin düzeyleri karşılaştırıldı (Tablo 2). JAK2 V617F mutasyonunu taşıyanlar 60 yaş üstünde daha fazlaydı (p<0.05). JAK2 V617F mutasyonunu taşıyanlarda cinsiyet açısından fark saptanmadı. İki grup arasında serum WBC, HB, HCT ve ferritin düzeyleri arasında fark yoktu. JAK2 V617F mutasyonu pozitif olanlarda, negatif olanlara kıyasla serum RBC, RDW ve PLT düzeyleri anlamlı derecede daha yüksekti (sırasıyla; p=0,030; p=0,028; p=0,029), serum demir düzeyi ise anlamlı derecede düşüktü (p=0,036).

Tablo 1

Polisitemia vera hastalarının demografik ve hematolojik özellikleri

Özellik	PV (N=78)
Yaş, ortalama (yıl)	48,44±21,06
Cinsiyet	
K	18(%23,1)
E	60 (%76,9)
WBC	10,16±11,35
RBC	5,1±1,57
HB	15,5±2,72
HCT	46,1±7,7
RDW	15,45±3,1
PLT	287,9±163,8
Demir	80,5±49,4
DBK	277,1±84,5
Ferritin	124,8±213,5
JAK2 V617F	
Pozitif	21 (%26,9)
Negatif	57 (%73,1)

E: Erkek; K: Kadın; WBC: Lökosit sayısı; RBC: Eritrosit sayısı; HB: Hemogloblin; HCT: Hematokrit; RDW: Eritrosit dağılım genişliği; PLT: Platelet sayısı; DBK: Demir bağlama kapasitesi. Ortalama değerler ±SS olarak verilmiştir.

Tablo 2

JAK2-V617F mutasyonuna göre hastaların demografik ve hematolojik özellikleri

Özellik	JAK2 V617F(+) N=21 (%26,9 )	JAK2 V617F (-) N=57 (%73,1)	P*
Yaş ≤60 >60	8(%38,1) 13(%61,9)	47(%82,5) 10 (%17,5)	0,000*
Cinsiyet K E	7(%33,3) 14(%66,7)	11(%19,3) 46(%80,7)	0,230
WBC (10 <sup>3</sup> /μL)	10,3±5,9	10,1±12,8	0,955
RBC (10 <sup>6</sup> /μL)	5,6±0,9	4,9±1,7	0,030*
HB (g/dL)	15,4±2,9	15,5±2,7	0,876
HCT (%)	46,8±8,2	45,8±7,6	0,648
RDW (%)	16,7±3,7	14,9±2,8	0,028*
PLT (10 <sup>3</sup> /μL)	354,04±246,9	263,5±113,5	0,029*
Demir (μg/dl)	59,9±38,4	88,5±51,2	0,036*
DBK (μg/dl)	309,9±74,6	265±85,4	0,060
Ferritin (ng/mL)	131,7±285,1	122,2±182,7	0,874

E: Erkek; K: Kadın; WBC: Lökosit sayısı; RBC: Eritrosit sayısı; HB: Hemogloblin; HCT: Hematokrit; RDW: Eritrosit dağılım genişliği; PLT: Platelet sayısı; DBK: Demir bağlama kapasitesi. Ortalama değerler ±SS olarak verilmiştir. \*p<0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

## Tartışma

Literatürde PV'lı hastaların yaklaşık %95'inin JAK2 geni V617F mutasyonu taşıdığı gösterilmiştir (3, 4). Bu nedenle JAK2 V617F mutasyonu BCR-ABL negatif PV için genetik bir tanı kriteri olarak kabul edilmektedir (10). Bu çalışmada BCR-ABL negatif PV hastalarının JAK2 V617F mutasyon sıklığı ve laboratuvar bulguları ile ilişkisi araştırılmıştır.

Çalışmamızda PV'lı hastaların %26,9'unda JAK2 V617F mutasyonu pozitif saptanırken, Zhang ve ark. (11) 28 PV hastasının 23'ünde (%82,1), Shen ve ark. (3) 35 PV hastasının 35'inde (%100), Kralovics ve ark. (12) 128 PV hastasının 83'ünde (%65), Karkucak ve ark. (12) 70 PV hastasının 56'sında (%80), Jones ve ark. (1) 72 PV hastasının 58'inde (%81), Jelinek ve ark. (29) 29 PV hastasının 25'inde (%86) pozitiflik saptanmıştır. Bildirilen oranlardaki farklılıklar örneklem büyüklüğü, hastalığın oluşmasındaki klinik varyasyonlar, toplumların çevresel ve genetik farklılıklarıyla açıklanabilir. Ayrıca çalışılan yöntemlerin farklılığı, tanısal kesinlik, tetkik duyarlılığındaki farklılıklardan da kaynaklanabilir.

Kadın ve erkek hastalarımız arasında JAK2 V617F mutasyon varlığı açısından fark bulunmamıştır. Literatürde cinsiyet ile JAK2 V617F mutasyonu arasında bir ilişki saptanmamıştır (13).

Yaptığımız çalışmada, JAK2 V617F mutasyonunun tam kan sayımı parametreleri ile ilişkisini de araştırdık. Mutasyon pozitifliğine göre yaptığımız grupta JAK2 V617F mutasyonu taşıyan hastalarda yaş, RBC, RDW ve PLT seviyeleri açısından anlamlı yükseklik saptadık. Ek olarak, WBC, HB ve HCT seviyeleri her iki grupta benzerdi. Yapılan çalışmalarda JAK2 V617F mutasyonunun özellikle ileri yaşlarda görüldüğü gösterilmiştir (12, 14). Ünal ve ark. (15) çalışmamızla uyumlu olarak JAK2 V617F mutasyonu pozitif çıkan grupta negatif olanlara kıyasla yaş, RDW ve platelet seviyelerini anlamlı yükseklik saptamışlardır. Poopak ve ark., (16) PV'lı hasta grubunda JAK2 V617F mutasyonu taşıyanlarda WBC sayısını anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. İlhan ve ark (14), idiopatik miyelofibrozis hastalarında JAK2 V617F mutasyonu taşıyanların platelet seviyelerini daha yüksek bulurken, bir başka çalışmada mutasyonu taşıyanlarda anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur (12). Singdong

ve ark. (17) JAK2 V617F mutasyonlu hastalarda HB, WBC seviyelerini yüksek, platelet seviyelerini düşük bulmuşlardır. PV'da eritrosit yapımının artmasına bağlı demirin transferi ile ferritin düzeylerinin düşmesi ve demir eksikliği oluşabilmektedir (18). Çalışmamızda, JAK2 V617F mutasyonu taşıyan hastalarda yüksek serum demir düzeyleri ve yüksek DBK düzeyleri saptamıştır. Ünal ve ark. (15) çalışmamızla uyumlu olarak mutasyon taşıyan grupta düşük demir, yüksek DBK seviyeleri bulmuşlardır. Bu sonuçlar, hastalık sınıflandırması ve prognozu için JAK2 mutasyonlarının tespitinin klinik önemini göstermiştir.

## Sonuç

Sonuç olarak, BCR-ABL negatif PV hastalarında JAK2 V617F mutasyonu pozitiflik oranı daha önce bildirilen oranlara göre daha düşük bulundu. Bu farklı sonucun, test yöntemlerinin ve duyarlılık oranlarının farklılığına bağlı olarak mutant alel yükü düşük olan hastaların gözden kaçabilmesine neden olması olabilir. Ayrıca örneklem büyüklüğü, hastalığın oluşmasındaki klinik varyasyonlar, popülasyon farklılıkları da söylenebilir. Gelecekte, tek bir tahlilde geniş multigen kapsamına izin veren hedeflenen yeni nesil dizileme yöntemiyle alel frekansına dayalı olarak mutant yükün saptanması sağlanabilecektir. Mutasyonun prognostik değerini ve klinik ve laboratuvar değişkenleriyle ilişkisini göstermek için daha kapsamlı prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

## Etik Kurul Onayı

Araştırma protokolü Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak oluşturulmuştur. Etik kurul onayı Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan alınmıştır (Tarih: 27.05.2021, Karar No: 209)

## Bilgilendirilmiş Onam

Çalışmada yer alan tüm bireylerden bilgilendirilmiş onam ve verilerin yayınlaması için yazılı izin alınmıştır.

## Finansman

Bu araştırma, kamu, ticari veya kar amacı gütmeyen sektörlerdeki finansman kuruluşlarından herhangi bir finansal destek almamıştır.

## Kaynaklar

1. 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;106(6):2162-8.

2. Zhang S, Qiu H, Fischer BS, Li W, Duan L, Sun X, et al. JAK2 V617F patients with essential thrombocythemia present with clinical features of polycythemia vera. *Leuk Lymphoma*. 2008 Apr;49(4):696-9.
3. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Pasweg JR, Tichelli A, Cazzola M, Skoda RC. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2005;352(17):1779-90.
4. Zhao S, Zhang X, Xu Y, Feng Y, Sheng W, Cen J, et al. Impact of JAK2 V617F Mutation Burden on Disease Phenotype in Chinese Patients with JAK2 V617F-positive Polycythemia Vera (PV) and Essential thrombocythemia (ET). *Int J Med Sci* 2016 ;13(1):85.
5. Geetha JP, Arathi CA, Shalini M, Srinivasa Murthy AG. JAK2 Negative Polycythemia Vera. *J Lab Physicians*. 2010;2(2):114-6.
6. Yönel İ, Sargın F. Polisitemia Vera: Patogenez, Teşhis Ve Tedavide Güncel Bilgiler. *İstanbul Tıp Fakültesi Derg* 2015;78(3):83-91.
7. Landolfi R, Nicolazzi MA, Porfida A, Di Gennaro L. Polycythemia vera. *Intern Emerg Med* 2010;5(5):375-84.
8. Kaushansky K. The chronic myeloproliferative disorders and mutation of JAK2: Dameshek's 54 year old speculation comes of age. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2007;20(1):5-12.
9. Nussenzweig RH, Swierczek SI, Jelinek J, Gaikwad A, Liu E, Verstovsek S, et al. Polycythemia vera is not initiated by JAK2V617F mutation. *Exp Hematol*. 2007 ;35(1):32.e1-32.e9.
10. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, Kvasnicka HM, Barbui T, Hanson CA, 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(4):1092-7.
11. Zhang S, Qiu H, Fischer BS, Li W, Duan L, Sun X, et al. JAK2 V617F patients with essential thrombocythemia present with clinical features of polycythemia vera. *Leuk Lymphoma*. 2008;49(4):696-9.
12. Karkucak M, Yakut T, Ozkocaman V, Ozkalemkas F, Ali R, Bayram M, et al. Evaluation of the JAK2-V617F gene mutation in Turkish patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Mol Biol Reports* 2012;39(9):8663-7.
13. Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM, Strand JS, Elliott M, Mesa R, et al. The clinical phenotype of wild-type, heterozygous, and homozygous JAK2V617F in polycythemia vera. *Cancer* 2006;106(3):631-5.
14. İlhan G, Karakuş S, Sahin IF. JAK 2V617F Mutation: Frequency and relation to clinical and laboratory features of BCR-ABL negative myeloproliferative diseases. *Uluslararası Hematol Derg* 2012;22(2):77-84.
15. Ünal K, Erdoğan S, Yılmaz FM. JAK 2 V617F gen mutasyon sıklığı ve tam kan sayımı parametreleri ile ilişkisi. *Türk Biyokim Derg* 2014;39(1):93-8.
16. Poopak B, Hagh MF, Saki N, Elahi F, Rezvani H, Khosravipour G, et al. JAK2 V617F mutation in Iranian patients with myeloproliferative neoplasms: clinical and laboratory findings. *Turkish J Med Sci* 2013;43(3):347-53.
17. Singdong R, Siriboonpiputtana T, Chareonsirisuthigul T, Kongruang A, Limsuwanachot N, Sirirat T, et al. Characterization and Prognosis Significance of JAK2 (V617F), MPL, and CALR Mutations in Philadelphia-Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016;17(10):4647.
18. Beutler E. *Willams Hematology*. 6th ed. New York: McGraw-Hill Medical Pub. Division; 2001. 1357-1408 p.