

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

MYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA TANI ANI
SERUM sEPCR VE TROMBODULİN DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Semiha ÇALKAYA

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Zeynep Arzu YEGİN

ANKARA
EYLÜL 2015

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

MYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA TANI ANI
SERUM sEPCR VE TROMBODULİN DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Semiha ÇALKAYA

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Zeynep Arzu YEGİN

ANKARA
EYLÜL 2015

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

İÇİNDEKİLER.....	i
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Myeloproliferatif Hastalıklar.....	6
2.1.1. Tanım.....	6
2.1.2. Sınıflama ve Etiyopatogenez.....	7
2.1.2.1. Polistemia Vera.....	9
2.1.2.2. Esansiyel Trombositemi.....	13
2.1.2.3. Primer Myelofibrozis.....	17
2.3. Myeloproliferatif Hastalıklar ve Tromboz.....	22
2.3.1. Myeloproliferatif Hastalıklarda Tromboz.....	22
2.3.2. Myeloproliferatif Hastalıklarda Tromboz Patogenezi.....	23
2.3.2.1. Trombositler ve Tromboz.....	24
2.3.2.2. Eritrositler.....	25
2.3.2.3. Lökositler.....	26
2.3.2.4. Endotel Disfonksiyonu.....	27
2.3.3. JAK2 Mutasyonu ve Tromboz.....	28
2.4. Endotelial Protein C Reseptörü ve Trombomodulin'in Myeloproliferatif Hastalıklarla ve Trombozla Olan ilişkisi.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Hastalar.....	32

3.2. Laboratuvar İncelemeleri	32
3.3. Serum EPCR ve Trombomodulin Düzeyi Ölçümü.....	33
3.4. İstatiksel Yöntemler.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Çalışma grubunun özellikleri	35
4.2. EPCR ve TM Ölçümleri.....	39
4.3. Korelasyonlar	41
5. TARTIŞMA.....	43
6. KAYNAKLAR	49
7. ÖZET	84

KISALTMALAR

ALP	:	Alkaleen fosfataz
ALT	:	Alanin amino transferaz
AML	:	Akut Myeloid Lösemi
aPC	:	Aktive protein C
BK	:	Beyaz Küre
CRP	:	c reaktif protein
DIPSS	:	Dinamik IPSS
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
ECLAP	:	Avrupa Birliği Polistemia Vera Düşük Doz Aspirin Çalışması
EGF	:	Epidermal büyüme faktörü
ELISA	:	Enzim ilişkili immün test
EPCR	:	Endotelyal protein C reseptörü
EPO	:	Eritropoetin
ET	:	Esansiyel Trombositemi
Hb	:	Hemoglobin
Hct	:	Hematokrit
HMGB-1	:	Yüksek Mobilite Grup Kutusu

IFN- α	:	İnterferon -alfa
IPSS	:	Uluslararası Prognostik Skorlama Sistemi
JAK-2	:	Janus Kinaz-2
JMML	:	Jüvenil myelomonositik lösemi
KAL	:	Kronik eozinofilik lösemi
KML	:	Kronik Myeloid Lösemi
KMML	:	Kronik myelomonositik lösemi
KNL	:	Kronik nötrofilik lösemi
LDH	:	Laktat Dehidrogenaz
MDS	:	Myelodisplastik Sendrom
MPH	:	Myeloproliferatif Hastalıklar
MPN-u	:	Myeloproliferatif neoplazmlar, sınıflandırılmayan
NF-κB	:	Nükleer faktör kapa B
PARs	:	Aktive-proteaz reseptörleri
Ph	:	Philadelphia
Plt	:	Trombosit
PMF	:	Primer Myelofibrozis
PT	:	Protombin zamanı
PTT	:	Parsiyel tromboplastin zamanı

PV	:	Polisitemia Vera
PVSG	:	Polisitemia Vera Çalışma Grubu
sEPCR	:	Çözünür endotelial protein C reseptörü
SPSS	:	Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi
STAT	:	Sinyal aktivatör transkripsiyonu
TAT	:	Trombin- Antitrombin
TM	:	Trombomodulin
TPO	:	Trombopoietin
TS	:	Transferrin saturasyonu
VEGF	:	Vasküler endotel büyüme faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

- Şekil 1.** Myeloproliferatif Hastalıklarda JAK2V617F Mutasyonu,
Koagülaasyon ve İnflamasyon İlişkisi27
- Şekil 2.** Trombomodulin ve Aktive Protein C'nin Yapısı ve Antikoagülan
İşlevleri.....30



TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1.	2008 DSÖ Myeloid Neoplazm Sınıflaması.....	8
Tablo 2.	Dünya Sağlık Örgütü Polistemia Vera Tanı Ölçütleri (2008)	11
Tablo 3.	Polistemia Vera Risk Sınıflaması.....	12
Tablo 4.	Polisitemia Vera Çalışma Grubu Esansiyel Trombositemi Tanı Ölçütleri.....	14
Tablo 5.	Dünya Sağlık Örgütü 2008 Esansiyel Trombositemi Tanı Ölçütleri.....	15
Tablo 6.	Esansiyel trombositemi Risk sınıflaması.....	16
Tablo 7.	Dünya Sağlık Örgütü Primer Myelofibrozis Tanı Ölçütleri (2008)	19
Tablo 8.	Uluslararası Prognostik Skorlama Sistemi (IPSS)	20
Tablo 9.	Grupların demografik özellikleri.....	35
Tablo 10.	Hastaların Kan Sayımı Bulguları.....	36
Tablo 11.	Hastaların biyokimyasal özellikleri.....	37
Tablo 12.	Hastaların kemik iliği ve JAK2V617F mutasyonu özellikleri	39
Tablo 13.	Hasta ve kontrol grubu EPCR ve TM ölçümleri	40
Tablo 14.	Hastalık alt gruplarına göre EPCR ve TM ölçümleri	41

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Myeloproliferatif hastalıklar (MPH) myeloid seri kaynaklı hematopoetik kök hücrelerin klonal çoğalmasıyla seyreden bir grup hastalıktır (1,2). Polistemia vera (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve primer myelofibrozis (PMF) BCR-ABL negatif myeloproliferatif hastalıklar olarak adlandırılır (1,3). Bu hastalıkların seyri sırasında tromboz, kanama, splenomegali ve lösemiye dönüşüm görülebilir (1,4).

Myeloproliferatif hastalıkların fizyopatolojisinde JAK2V617F mutasyonunun rol oynadığı bilinmektedir (5,6,7). JAK-2 sinyal iletiminde görev yapan intrasitoplazmik bir tirozin kinazdır (5,8). JAKV617F mutasyonu Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) MPH tanı ölçütleri arasında yer almaktadır (1,9). JAK2V617F mutasyonu PV'lı hastaların yaklaşık %95'inde, ET ve PMF'li olguların %50-60'ında tespit edilmiştir (1,10). Yapılan çalışmalar JAK2V617F mutasyonunun MPH'in sadece tanısında değil, aynı zamanda JAK-STAT yolu inhibitörleri aracılığıyla tedavisinin geliştirilmesinde de önemli role sahip olabileceğini göstermiştir (1,11).

Esansiyel trombositemi ve PV'da genellikle iyi bir klinik seyir görülmesine karşın, kanama ve tromboz yaşam süresini olumsuz etkilemektedir (12,13). Trombotik ve hemorajik olayların sıklığı hasta ve hastalık ilişkili risk faktörlerine bağlı olarak değişmektedir. Majör tromboz oranı ET'de % 8-29, PV

'da % 11-39 iken, ilk başvuru anındaki kanama sıklığı ET için % 3-18, PV için % 3-8'dir (12,14-16).

Polistemia vera, kemik iliğinde eritroid, granülositik ve/veya megakaryositik serilere ait öncül hücrelerin aşırı ve kontrolsüz çoğalmasıyla karakterize bir hastalıktır. Artmış kemik iliği hücreliliğinin yanısıra, hastalığın klinik seyri sırasında lökositoz, trombositoz ve kırmızı hücre kitlesinde artış görülebilir. JAK2V617F egzon 12 mutasyonu olan hastalarda lökositoz ve trombositozun eşlik etmediği izole eritrositoz görülebilir (17,18,19). Polistemia vera üç evreden oluşur;

- (1) Pre-polistemik evre: Trombositoz belirgindir ve trombotik olaylar görülebilir
- (2) Belirgin polistemik evre
- (3) Post-polistemik evre: Sitopeniler, kemik iliği fibrozisi ve ekstramedüller hematopoez ile karakterizedir (17,20).

Genellikle tüm hastalar polistemik evrede ve hastalık ilişkili ilk belirtiler görülmeye başladığı anda tanı alır. Bu belirtiler, mikrovasküler trombotik sürecin neden olduğu baş ağrısı, baş dönmesi, parestezi, akuajenik pruritus ve eritromelaljidir. Büyük damar trombozu ve hepatosplenomegali görülebilir. Yaşam beklentisi normal popülasyonla karşılaştırıldığında daha düşük olmasına karşın uygun tedaviyle sağkalım süresi uzayabilir (17,21). Tedavi edilmemiş PV hastalarında tanı anından itibaren ortalama sağkalım süresi 6-18 ay olarak

öngörülmektedir, tedavi edilen hastaların ise ortalama yaşam süresi yaklaşık 13 yıldır (22,23). Tromboz gelişiminin JAK2V617F allel yükü, lökositoz ve yüksek hematokrit değeri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (24,25).

Esansiyel trombositomide trombosit fonksiyon bozukluğu kanama ve tromboza neden olabilir (17,26). Primer myelofibrozis kemik iliği fibrozisi ve ekstramedüller hematopoezle karakterizedir (27,28). İlerleyici bir klinik seyire sahiptir ve sağkalım süresi kısadır (27,28). Primer myelofibrozis'te lösemik dönüşüm, enfeksiyon, portal hipertansiyon ve vasküler komplikasyonlar morbidite ve mortalitenin en önemli nedenleridir (27,29).

Protein C, koagülasyon sisteminde önemli rol oynayan ve büyük ölçüde karaciğer tarafından sentez edilen vitamin K bağımlı bir antikoagülandır (30,31). Protein C'nin aktivasyonu trombin ve trombomodulin (TAT) kompleksi tarafından düzenlenir (30,32). Aktive protein C (aPC), protein S ile birlikte faktör Va ve VIIIa 'yı inaktive eder (30,33). Endotelyal protein C reseptörü (EPCR), ilk kez 1994 yılında Fukudome ve Esmon tarafından endotelde protein C aktivasyonunda rol oynayan transmembran bir glikoprotein olarak tanımlanmıştır (30,34). Endotelyal protein C reseptörü, özellikle büyük damarların yüzeylerinde bulunur. Trombin ve inflamatuvar sitokinler bir metalloproteaz aracılığıyla hücre yüzeyinde çözünür EPCR'nin (sEPCR) oluşumunu sağlarlar. Çözünür EPCR ya da ligand-bağı EPCR plazmada tespit edilebilir (30,35).

Trombomodulin (TM), antikoagülan ve anti-inflamatuvar etkilere sahip transmembran yapıda bir trombin reseptörüdür (36,37-39). Trombin fibrinojeni

fibrine çevirir. Fibrinin monositlere bağlanması, proinflamatuvar sitokin üretiminin aktivasyonuna yol açan nükleer faktör kappa B (NF-κB) 'nin aktive olmasına neden olur (36,40,41). Trombin endotel ve lökositlerdeki adezyon moleküllerinin, IL-6 ve IL-8'in üretimini uyararak lökositlerin kemotaksis ve adezyonunu güçlendirir (36,42-43). Trombinin prokoagulan ve proinflamatuvar etkileri TM tarafından antagonize edilir (36,37-39).

Trombin-TM kompleksinin başlıca etkileri;

- (1) Protein C' nin aktif forma dönüşmesine yol açar. Aktive protein C faktör Va ve faktör VIIIa'yı inhibe ederek trombin oluşumunu baskılar
- (2) Trombin ve fibrin oluşumunu azaltır
- (3) C5a' yı ve fibrinoliz aktivatör inhibitörünü inaktive eder
- (4) HMGB-1 (high-mobility group box 1) inhibisyonu ile sepsiste geç dönemde aracı molekül olarak görev yapar (36,38,44).

Atalay ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada PV (n=12) ve ET (n=13) hastalarında serum sEPCR düzeyi kontrol grubuna (n=29) göre anlamlı yüksek bulunmuş ve bu durum PV ve ET'da görülen tromboza eğilimle ilişkilendirilmiştir. Aynı çalışmada tromboembolik atak öyküsü olan ve olmayan hastalarda sEPCR, D-dimer, TAT kompleksi, protrombin fragmanları ve hematokrit seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. sEPCR, D-dimer, TAT kompleksi, protrombin fragmanları ve

hematokrit seviyelerinin artmış olması koagülasyon aktivasyonuna ve tromboz gelişimine yol açmaktadır (30).

Bu çalışmada, MPH'datanı anı serum sEPCR ve TM düzeylerinin normal popülasyonla karşılaştırılmak suretiyle diğer klinik belirteçlerle ilişkisinin irdelenmesi ve klinik seyir üzerine olan olası etkilerinin öngörülmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Myeloproliferatif Hastalıklar

2.1.1. Tanım

Myeloproliferatif hastalıklar, klinik ve patolojik özellikleri birbiriyle örtüşen bir dizi klonal hematolojik hastalıktır. Sistematik kayıt çalışmalarına göre Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde MPH'ların yıllık insidansı 0.1-2.8/100.000/yıl olarak bulunmuştur (45).

Polistemia vera, ET ve PMF kemik iliğinde bir veya daha fazla hücre serisinin klonal çoğlaması ile karakterizedir (45,46). Tüm MPH'da farklı oranlarda lösemik dönüşüm görülebilirken, PV ve ET 'de hastalığın ileri evrelerinde myelofibroze dönüşüm gerçekleşebilir (45,47,48).

Myeloproliferatif hastalıklarda JAK2V617F mutasyonunun varlığı 2005 yılında gösterilmiştir (49). İnsan JAK2V617F geni, kromozom 9p24'te bulunur. Bu gen JH1 ve JH2 olmak üzere iki önemli parçadan oluşmaktadır. JH1, karboksil terminalin yakınındadır, aktive kinaz özelliğinde olup JAK2V617F geni aktive olduğunda fosforillenen tirozin artıklarından oluşur. JH2'nin kinaz aktivitesi yoktur, JH1 üzerine inhibitör etki gösterdiği düşünülmektedir. JAK2V617F'nin sahip olduğu kinaz aktivitesi, hücre serilerinin sitokinlerden ve eritropoetinden bağımsız büyümesine yol açmaktadır (7,50).

JAK2V617F mutasyonu homozigot ya da heterozigot formda olabilir. Polistemia vera'da JAK2V617F homozigot olan hastalarda hemoglobin değerlerinin ve fibrozis dönüşüm oranının JAK2V617F heterozigot olanlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (50,51).

2.1.2. Sınıflama ve Etyopatogenez

İlk kez 1951 senesinde William Damashek tarafından klinik ve laboratuvar benzerlikleri olan başlıca dört hiperproliferatif myeloid hastalık; kronik myeloid lösemi (KML), PV, ET ve PMF tanımlanmıştır (46,52). 1975 yılında Polistemia Vera Çalışma Grubu (PSVG), Philadelphia negatif MPH'ların sınıflama ve tanı ölçütlerini tanımladı. Bu ölçütler 1996 yılında Pearson tarafından güncellendi (52,53). 2001'de DSÖ tarafından laboratuvar bulguları, görüntüleme ve kemik iliği değerlendirmesiyle birlikte tanı ölçütleri yeniden düzenlendi (52,54).

2008'de sitogenetik ve moleküler biyolojideki ilerlemeler ışığında DSÖ tarafından yapılan yeni sınıflamada MPH terimi, myeloproliferatif neoplazmlar (MPN) olarak değiştirildi. Bu yeni ve güncel sınıflamada klinik davranış, morfolojik, sitogenetik ve moleküler özellikler dikkate alındı (52,55).

Dünya Sağlık Örgütü 2008 MPN sınıflamasında kemik iliği histolojisi esas alınarak yapılan değerlendirmede (1) Hematopoetik elemanların hücresellik ve olgunlaşma durumları (2) Morfoloji, megakaryositlerin yapısı ve dağılımı (3)Retikülin fibril, kollojen depozitleri ve hemosiderin içeriği (4) Anormal infiltrasyonlar (5) İmmünohistokimyasal ve morfolojik olarak hücre

histogenezi(6) İmmünohistokimyasal olarak CD34 ve/veya CD117 ifadenmesi
(7) In situ floresan ve kromojenik hibridizasyon yöntemiyle belirlenen kromozom anormallikleri dikkate alınmalıdır (52,56). 2008 DSÖ Myeloid Neoplazm Sınıflaması Tablo 1'de gösterilmiştir (57).

Tablo 1. 2008 DSÖ Myeloid Neoplazm Sınıflaması

1. Akut myeloid lösemi (AML) ve ilişkili prekürsör neoplazmlar
2. Myelodisplastik sendromlar (MDS)
3. Myeloproliferatif neoplazmlar
3.1. Kronik myeloid lösemi (KML), <i>BCR-ABL1</i> pozitif
3.2. Polistemia vera (PV)
3.3. Esansiyel trombositemi (ET)
3.4. Primer myelofibrozis (PMF)
3.5. Kronik nötrofilik lösemi (KNL)
3.6. Kronik eozinofilik lösemi (KEL)
3.7. Mastositozis
3.8. Myeloproliferatif neoplazmlar, sınıflandırılmayan (MPN-u)
4. Myelodisplastik/myeloproliferatif neoplazmlar (MDS/MPN)
4.1. Kronik myelomonositik lösemi (KMML)
4.2. Juvenil myelomonositik lösemi (JMML)
4.3. Atipik kronik myeloid lösemi, <i>BCR-ABL1</i> negatif
4.4. Myelodisplastik/myeloproliferatif neoplazm, sınıflandırılmayan
4.5. Belirgin trombositoz ile ilişkili ring sideroblastlı refrakter anemi
5. Eozonofili ile seyreden myeloid ve lenfoid neoplazmlar ve <i>PDGFRA</i>, <i>PDGFRB</i> veya <i>FGFR1</i> anormallikleri
5.1. <i>PDGFRA</i> ile ilişkili myeloid ve lenfoid neoplazmlar
5.2. <i>PDGFRB</i> ile ilişkili myeloid neoplazmlar
5.3. <i>FGFR1</i> anormallikleri ile birlikte myeloid ve lenfoid neoplazmlar

2.1.2.1. Polistemia Vera

Polistemia vera, kemik iliği kök hücrelerinin bağımsız ve klonal proliferasyonu sonucunda kırmızı kan hücrelerinde artış ile seyreden bir hastalıktır. İlk defa 1892'de Vaquez tarafından tanımlanmıştır (52,58,59). 2005 yılında JAK2V617F mutasyonunun tanımlanması ve yeni tanı ölçütlerinin geliştirilmesi risk sınıflamasının daha iyi yapılmasına ve yeni tedavi seçeneklerinin gelişmesine olanak tanımıştır (52).

Polistemia vera'da belirti ve bulgular genellikle artmış eritrosit yükü ve kan viskozitesi ile ilişkilidir. Kan basıncı yüksekliği PV'da sıklıkla gözlenir. Vazooklüzyon ilişkili belirtiler başağrısı, tinnitus, parestezi ve eritromelaljidir (52). Kaşıntı tipik olarak sıcak veya ılık duş sonrası gelişir (52,60). Belirtiler tedavi sonrası genellikle geriler. Splenomegali hastaların yaklaşık %70'inde görülür; tanı anında veya sonradan gelişebilir. Splenomegalisi olan hastalarda erken doyma, abdominal distansiyon, sol üst kadran ağrısı ve kabızlık eşlik edebilir (52).

Hastalar kanamaya eğilimli olup epistaksis ve ekimoz sık görülür. Myeloproliferatif hastalarda tromboz önemli bir komplikasyon olup, arteriel veya venöz yatakta görülebilir (6,52,61). Polistemia vera'da vasküler ve tromboembolik olaylar ve kanamalar sık görülür (62,63). Tromboz tanı anında hastaların yaklaşık %39'unda görülür (62,64). En sık görülen major trombotik olaylar inme, geçici iskemik atak, myokard enfarktüsü, periferik arter trombozu, derin ven trombozu, portal ven trombozu ve hepatik ven trombozuna neden olan Budd-Chiari

sendromudur (62,64,65). Makrovasküler komplikasyonlara ek olarak hastalarda baş ağrısı, görme bozuklukları, akrosiyanoz, parestezi ve baş dönmesi gibi mikrovasküler belirtiler de görülebilir. Eritromelalji ekstremitelerde ağrı, yanma ve kızarıklıkla seyreden tipik bir belirtidir (62,65). Çok yüksek trombosit değerleri ($>1500 \times 10^9/L$) hastalarda edinilmiş von Willebrand hastalığı için risk oluşturur ve kanama eğilimine neden olabilir (62,66). Kanama PV hastalarında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (62,66).

Polistemia vera'da yaklaşık %95 oranında görülen JAK2V617F mutasyonu hastalığın patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Bu mutasyon PV'ya özgün bir tanısal parametre değildir; ancak PV'da allel yükü ve homozigotluk oranı ET ve PMF'ye göre daha yüksektir (18, 52, 67).

Hastalığın doğal seyri kemik iliği fibrozisi ve ilik dışı hematopoez gözlenirken, düşük sıklıkta akut lösemi veya myelodisplaziye dönüşüm görülür (52). Hastaların %25-50' sinde lösemik dönüşüm bildirilmiştir (68). Dünya Sağlık Örgütü 2008 Polistemia Vera Tanı Ölçütleri Tablo 2 'de sunulmuştur (68).

Tablo 2.Dünya Sağlık Örgütü Polistemia Vera Tanı Ölçütleri (2008)

I. Major Ölçütler
1. Hemogloblin düzeyinin erkekler için >18.5 g/dL, kadınlar için >16.5 g/dL olması veya eritrosit kitle artışının olması (eritrosit kitlesinin normal öngörülen değerinden %25 fazla artması)
2. JAK2V617F veya JAK2 egzon 12 gibi fonksiyonel olarak benzer bir mutasyonun varlığı
II. Minör Ölçütler
1. Hiperselüler kemik iliği; eritroid, granülositik ve megakaryositikseride proliferasyon ile karakterize panmyelozis
2. Düşük serum EPO düzeyi
3. İn vitro endojen eritroid koloni formasyonu
* Tanı için 2 major ölçüt ve 1 minör ölçüt veya birinci major ölçütle birlikte 2 minör ölçüt varlığı gereklidir

Kemik iliğinde başlıca eritroid ve megakaryositik seriler olmak üzere tüm serilerde proliferasyon izlenir. Eritroid ve myeloid öncül hücreleri morfolojik olarak normal olmasına karşın, megakaryositler kemik trabeküllerine yakın yerlerde, serbest veyahiperlobüle gruplar halinde bulunurlar (52).

Risk değerlendirmesinde tromboz gelişimi önem taşımaktadır. İleri yaş (60 yaş üzeri) ve geçirilmiş tromboz öyküsü olan kişiler yüksek riskli gruba dahil edilmiştir. Kardiyovasküler risk faktörü ve lökositoz varlığında ise hastalar orta risk olarak değerlendirilir (52,69). Tablo 3'te PV olgularının risk sınıflaması detaylandırılmıştır (70).

Tablo 3. Polistemia Vera Risk Sınıflaması

Risk Sınıfı	Yaş>60 veya tromboz öyküsü	Kardiyovasküler risk faktörleri*
Düşük	Yok	Yok
Orta	Yok	Var
Yüksek	Var	Var veya yok

*Hipertansiyon, hiperkolesterolemi, diyabet, sigara içimi

Tedavinin amacı hematokrit seviyesini kontrol etmek ve morbidite riskini azaltmaktır. Güncel kılavuzlara göre hedef hematokrit düzeyi %45 olmalıdır (52,71). Tüm hastalar düşük doz aspirinden yarar görür; düşük riskli hastalara ek olarak flebotomi de yapılmalıdır. Sitoredüksiyon, yüksek riskli hastalarda veya flebotomiyi tolere edemeyen hastalar için endikedir. İlerleyici myeloproliferasyon, trombositoz, belirtili splenomegali, kaşıntı ve konstitusyonel belirtiler varlığında sitoredüksiyon gerekebilir (52).

Tedavide ilk seçenek hidroksiüredir (52,72). Başlangıç dozu 500-1000 mg/gün'dür, ancak her hasta için kan değerlerine göre doz ayarlaması yapılmalıdır. Genellikle iyi tolere edilmesine karşın sitopeni, gastrointestinal belirtiler, deri mukoza ülserleri, alopesi ve ateş gibi yan etkiler gözlenebilir. Sitopeni nedeniyle doz artımına gidilemediğinde tedavi flebotomi ile desteklenebilir (52). Hidroksiüre kemik iliğinde her üç seride baskılanmaya neden olmaktadır. Hidroksiüre tedavisi metabolik semptomlar, splenomegali, trombositoz, lökositoz ve hematokrit düzeyi üzerine etkilidir (73).

İnterferon- α , MPH'da hematopoetik öncül hücreler üzerinde antiproliferatif etki gösterir, sitogenetik remisyon oranını artırır ve JAK2V617F allel yükünü azaltır (62,74). Ancak grip benzeri sendrom, halsizlik, nöropsikiyatrik semptomlar ve tiroidit gibi otoimmün gibi yan etkileri ilacın kullanımını kısıtlar (62,72,74).

JAK2 inhibitörlerinin yararı özellikle PMF hastalarında gösterilmiştir. Polistemia vera hastalarında hidroksiüre ve/veya IFN- α tedavilerine intolerans ya da direnç geliştiğinde kullanılması önerilir, ayrıca inatçı kaşıntı ve splenomegalide de yararlı olduğu gösterilmiştir (62,75).

2. 1.2.2. Esansiyel Trombositemi

Esansiyel trombositemi kemik iliğinde megakaryositik proliferasyon ve periferik kanda trombosit artışı ile seyreden klonal bir MPH'tır. Myelofibrozis veya akut lösemiye dönüşüm görülebilir (52,76).

Yıllık insidansı 0,6-2,5/100.000 arasında değişir. Orta yaş hastalığıdır (52,77). Kadın erkek oranı 2/1'dir (52). Myelofibrozise dönüşüm oranı 10 yılda %4-8'dir. Lösemik dönüşüm nadirdir, ancak sitoredüktif tedavilerin uzun dönem yan etkileri arasında yer almaktadır (78,79,80,81,82).

Baş ağrısı, baş dönmesi, kulak çınlaması, senkop, görme değişiklikleri, el ve ayaklarda karıncalanma, akrosiyanoz ve eritromelalji gibi vazomotor belirtiler sık görülür (52). Hastaların %25-35'i asemptomatiktir ve trombositoz tesadüfen

tespit edilir. Hafif splenomegali %40 olguda bulunur. Trombosit sayısı $1000 \times 10^9/L$ 'yi aştığında kanama riski artar (52,83). Derin ven trombozu, pulmoner emboli veya Budd-Chiari sendromu gibi trombotik olaylar ve kanama morbidite ve mortaliteden sorumludur. Anjina, myokard infarktüsü, geçici iskemik atak, inme, pulmoner embolizm ve priapizm trombositozun ilk bulgusu olarak görülebilir (52). İleri yaş ve tromboz öyküsü tromboz gelişiminde risk faktörü olarak kabul edilmektedir (78,80,84,85). Eşlik eden kardiovasküler risk faktörleri (hipertansiyon, diabet, dislipidemi ve sigara) ve trombofili gibi hastaya ait faktörler de tromboz için risk oluşturur. Trombosit sayısı ile tromboz gelişim riski arasında korelasyon yoktur (78, 86).

Olguların %35-70 'inde JAK2V617F geninde kazanılmış somatik mutasyon meydana gelir (52). Trombopoetin reseptörü ve MPL mutasyonu %3-5 hastada görülür (78,87,88). Tablo 4 'te PVSG tanı ölçütleri, Tablo 5'te de DSÖ tanı ölçütleri verilmiştir (89).

Tablo 4. Polisitemia Vera Çalışma Grubu Esaniyel Trombositemi Tanı Ölçütleri

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">- Trombosit sayısının devamlı olarak $450\ 000/\mu L$'nin üzerinde olması; kemik iliğinde megakaryositik hiperplazi- Sitogenetik incelemede Philadelphia kromozomunun bulunmaması (Sitogenetik olarak saptanamayan KML olgularını dışlamak için moleküler inceleme ile BCR/ABL gen rearanjmanı çalışılması önerilir)- Reaktif trombositoz nedenlerinin dışlanması (diğer myeloproliferatif hastalıkların ve MDS'nin dışlanması), demir depolarının normal olması (Serum ferritin ve ortalama eritrosit hacmi normal olmalıdır. Eritrosit kitle ölçümü hematokrit değerinin %40'ın altında olduğu hastalarda gerekli değildir, ancak diğer tüm hastalarda yapılması önerilir) |
|---|

Tablo 5. Dünya Sağlık Örgütü 2008 Esansiyel Trombositemi Tanı Ölçütleri

- Trombosit sayısının devamlı olarak 450 000/ μ L'nin üzerinde olması
- Büyük, olgun megakaryositlerde artış ile karakterli megakaryositik proliferasyon gösteren kemik iliğ; Polistemia vera, PMF, KML, myelodisplastik sendromlar dışlanmalıdır
- JAK2V617F mutasyonu veya diğer klonal belirteçlerin bulunması; belirteç yokluğunda reaktif trombositoz belirtisi bulunmamalıdır

Esansiyel trombositeminin akut kanama, infeksiyonlar, inflamatuvar hastalıklar, doku hasarı, demir eksikliği, hemolitik anemi, post splenektomi, ilaçlar (steroidler, adrenalin, retinoik asit), malinite ve 5q sendromu gibi reaktif trombositoz yapan durumlar ve diğer MPH'lar ile ayrıcı tanısı yapılmalıdır (52).

Esansiyel trombositemi risk değerlendirmesi tromboz riski temel alınarak yapılır. Altmış yaş üzeri olmak ve geçirilmiş tromboz öyküsünün olması, vasküler komplikasyonlar için major risk faktörü olarak belirlenmiştir. Trombosit sayısının $1500 \times 10^9/L$ 'nin üzerinde olması kanama riski ve edinilmiş von Willebrand hastalığıyla ilişkilidir (52,76,84). Tablo 6'da ET risk sınıflaması verilmiştir (52,90).

Tablo 6. Esansiyel trombositemi Risk sınıflaması

Yüksek risk <ul style="list-style-type: none">- 60 yaşında olmak ve/veya- Kanama epizodu veya geçirilmiş tromboembolik olay ve/veya- Platelet sayısının = $1500 \times 10^9/L$ olması
Orta risk <ul style="list-style-type: none">- 40-60 yaş arası olmak- Kardiyovasküler risk faktörlerinin varlığı (sigara, hipertansiyon, dislipidemi,diabet)- Platelet sayısının $<1500 \times 10^9/L$ olması
Düşük risk <ul style="list-style-type: none">- <40 yaş- Tromboembolik olay öyküsü olmaması- Risk faktörü olmaması- Platelet sayısının $<1500 \times 10^9/L$ olması

Esansiyel trombositemi'de tedavi kanama ve tromboz riskini önlemek amacıyla uygulanmalıdır (52,91). Tedavi risk gruplarına göre şekillendirilir.

Düşük riskli asemptomatik hastalarda tedavisiz izlem önerilir. Bazı çalışmalar trombotik komplikasyonları önlemek ve eritromelalji, akrosiyanoz, baş ağrısı, baş dönmesi, görme bozuklukları ve parestezi gibi mikrovasküler bozuklukları azaltmak amacıyla aspirin kullanımını önermektedir (52,90).

Orta riskli hastalarda tedavi bireyselleştirilmelidir. Kardiyovasküler risk faktörleri ve hastanın belirtilerine göre tedaviye karar verilmelidir (52).

Yüksek Risk: Kardiyovasküler risk faktörleri olan hastalara tedavi verilmelidir. Trombosit sayısını düşürmek için ilk seçenek hidroksiüredir. Sitoredüktif tedavi endikasyonu hidroksiüreye karşı intolerans veya direnç nedeniyle kullanmayan hastalarda, ikinci sıra tedavide anagrelid ve interferon alfa önerilmektedir (52, 92).

Esansiyel trombositemi'de allojeneik kök hücre nakli <60 yaş, fibrozis veya lösemik dönüşüm gelişen hastalarda önerilir (52,93).

2. 1.2.3.Primer Myelofibrozis

Primer myelofibrozis, klonal hematopoetik kök hücrelerinin artışı ve sitokin salınımıyla tetiklenen kemik iliği fibrozisi, yeniden damarlanma ve osteoskleroz ile karakterize bir MPH'tır (94,95). Hastaların %30'u asemptomatiktir, ancak tanı anında fizik muayenede splenomegali veya anemi, lökositoz ve/veya trombositoz gözlenebilir. Primer myelofibrozis başlangıç fazında ET'ye klinik benzerlik gösterebilir, bu nedenle ilk bulgu sadece trombositoz olabilir. Ayrıca nefes darlığı, yorgunluk, kilo kaybı, gece terlemesi, ateş ve kanama gibi konstitusyonel belirtiler de eşlik edebilir. Bazı hastalarda hiperürisemiye bağlı gut artriti ve renal taş oluşabilir. Splenomegali %90 vakada gözlenir (52,96).

Hastalık sıklıkla yaşamın 6-7. dekadında görülür, her iki cinsiyeti de etkiler.İnsidans yılda 0,5-1,5/100.000'dir. Bazı olgularda etyolojide benzen veya iyonize radyasyon maruziyeti gösterilmiştir, nadir de olsa ailesel olgular bildirilmiştir (52,96).

Primer myelofibrozis tanısı alan hastalarda JAK2V617F, MPL, LNK, CBL, TET2, ASXL1, IDH, IKZF1 veya EZH2 mutasyonları görülmektedir (52,97). JAK2V617F mutasyonu olguların %50-65'inde bulunur. Primer myelofibrozis'te klonal proliferasyonun yanında kemik iliği stromal değişiklikleri ve anormal sitokin sekresyonuyla karakterize ikincil inflamatuvar yanıt ta eşlik eder. Proinflamatuvar sitokinlerin plazma seviyesi PMF'de yüksektir, bu durum kilo kaybı, kaşeksi, konstitusyonel belirtiler ve kısa sağkalımla ilişkili olabilir (52,98).

Primer myelofibrozis tanısı DSÖ tanı ölçütlerine göre fizik muayene, periferik kan ve kemik iliği morfolojisi, sitogenetik ve moleküler belirteçlerle diğer MPH'lar dışlanarak konur (Tablo 7) (99). Periferik kan yaymasında tipik olarak lökoeritroblastozis, anizopoikilositozis ve gözyaşı şeklinde eritrositler izlenir. Hastalar sıklıkla prefibrotik evrede (erken evre) tanı alırlar (52,100).

Tablo 7.Dünya Sağlık Örgütü Primer Myelofibrozis Tanı Ölçütleri (2008)

Major Ölçütler
Retikülin//kollajen varlığında megakaryosit proliferasyonu ve atipisi VEYA anlamlı retikülin lif artışı olmadığında granülositik proliferasyon ve azalan eritropoez ile birlikte artmış kemik iligi hücreliliği
DSÖ ölçütlerine göre polisitemi vera, kronik miyeloid lösemi, miyelodisplastik sendrom ve/veya diğer myeloid neoplazilerin tanı ölçütlerinin karşılanmaması
JAK2V617F mutasyonunun veya diğer klonal göstergelerin (MPLW515K/L) varlığı veya klonal gösterge olmadığında kemik iligi fibrozisi yapabilecek altta yatan inflamatuvar veya neoplastik başka bir hastalığın olmadığı gösterilmesi
Minor Ölçütler
Lökoeritroblastozis
LDH düzeyinde artış
Anemi
Palpabl splenomegali
*Tanı için DSÖ'nün belirlemiş olduğu major ölçütlerden üçünün ve minör ölçütlerden ikisinin olması gereklidir

Primer myelofibroziste risk değerlendirmesi Uluslararası Myelofibrozis Araştırma ve Tedavi Çalışma Grubu tarafından oluşturulan IPSS (Uluslararası Prognostik Skorlama Sistemi) ve dinamik IPSS skorlama sistemi kullanılarak yapılır (52,101). Dinamik IPSS ayrıca PMF'de lösemik dönüşüm riskini de öngörür. DIPSS plus skorlama sistemine eritrosit transfüzyon gereksinimi,

trombositopeni ve karyotipik özellikler de eklenmiştir (52,102,103). Tablo 8'de IPSS skorlama sistemi gösterilmiştir (99).

Tablo 8.Uluslararası Prognostik Skorlama Sistemi (IPSS)

Yaş>65		
Hb<10gr/dl		
Lökosit sayısı>25x10 ⁹ /l		
Periferik kanda dolasan blast yuzdesi > %1		
Konstitusyonel semptomlar		
	Risk Faktörü	Sağkalım
Düşük risk	0	11.3 yıl
Orta-1 risk	1	7.9 yıl
Orta-2 risk	2	4 yıl
Yüksek risk	3	2.3 yıl

Günümüzde PMF için allojeneik kök hücre nakli dışında dışında küratif tedavi seçeneği yoktur. Ancak kök hücre nakli tedavisi yüksek morbidite ve mortalite oranları nedeniyle sınırlı sayıda seçilmiş hastalara uygulanabilmektedir (52).

Düşük veya orta riskli hastalarda yaşam beklentisi ortalama 6-15 yıldır. Belirtileri olan hastalarda hidroksiüre veya interferon tedavi seçenekleridir (52,98).

Yüksek veya orta riskli hastalarda ilaç tedavisi, splenektomi, radyoterapi veya allojeneik kök hücre nakli tedavi seçenekleridir. Tedavinin temel amacı palyasyon ve anemi, splenomegali, konstitusyonel belirtiler ve ilik dışı hematopoezi kontrol altında tutmaktır (52).

Eritropoezi uyarıcı ajanlar $Hb < 10g/dl$, $EPO < 125U/L$ olduğunda kullanılabilir. Eritropoez uyarıcı ajanlardan fayda görmeyen hastalara steroid, androjen, danazol ve talidomid verilebilir (52,98). Lenalidomid ve talidomid kullanımı sırasında trombosit sayısı $500 \times 10^9/L$ ve üzeri olan hastalara tromboz gelişimini önlemek amacıyla aspirin verilmelidir (52).

Ağrılı, transfüzyon bağımlı ve ilaca dirençli splenomegalisi olan hastalarda splenektomi endikedir (52,104). Splenektomi %5-10 oranında perioperatif mortalite, %25 oranında abdominal ven trombozu, kanama ve enfeksiyon gibi risklere sahiptir. Splenektomi sonrası ortalama beklenen yaşam süresi 2 yıldır. Splenektomi sonrası %20 hastada hepatomegali gelişebilir, bu hastalarhidroksiüre, kladribin veya JAK2 inhibitörleriyle tedavi edilebilir. Düşük doz radyoterapi geçici olarak dalak boyutlarını küçültebilir, ancak ağır ve uzun süreli pansitopeni yapar (52,105).

Tedavide kullanılan JAK2 inhibitörleri JAK2V617F proteinine spesifik değildir. JAK2 sinyal iletimini ve STAT yolağını inhibe etmeleri nedeniyle JAK2V617F mutasyonu negatif olan hastalarda da kullanılabilir. Bu ajanlar splenomegali boyutunu ve hastalık ilişkili belirtileri azaltır. JAK2 inhibitörlerinin

uzun dönem kullanımda güvenilirliğini değerlendirmek için ileri çalışmalara gereksinim vardır (52,106,107).

2.3. Myeloproliferatif Hastalıklar ve Tromboz

2.3.1. Myeloproliferatif Hastalıklarda Tromboz

Myeloproliferatif hastalıklarda tromboz, artmış morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir (26,108,109,110). Nitelik PV'lı hastaların %12-39'u, ET'li hastaların %11-25'i tanı anında trombotik atakla prezente olabilirler (26,108,109,110). Yapılan çalışmalarda trombotik olayların latent ya da subklinik MPH'ın ön habercisi olabileceği gösterilmiştir (108,111,112). Olguların çoğunda tromboz major splenik venede görülürken, nadiren serebral ven trombozu da görülmektedir (108,111-116).

Myeloproliferatif hastalıklara bağlı arteriel trombotik olayların % 60-70'ini iskemik inme, akut myokard enfarktüsü ve periferik arter oklüzyonu oluşturur. Myeloproliferatif hastalıklarda kalp kapak lezyonlarının görülme sıklığı artmıştır, kardiyak kökenli embolilerin etyolojide rolü olabileceği düşünülmektedir. Venöz tromboz, alt ekstremitte venleri, pulmoner emboli, intraabdominal venler (hepatik, portal ve mezenterik) ve serebral ven trombozu şeklinde prezente olabilir. Polistemia vera'da venöz tromboz sık görülür. Bunların içinde iskemik inme PV'daki tüm trombotik olayların %30-40'ını oluşturur. Splanknik ve serebral ven trombozu MPN'li hastalarda yaygın görülür ve tromboz sıklıkla tanıdan önce ortaya çıkar (117, 118). Myeloproliferatif hastalıklar, splanknik ven trombozunun

en sık sebebidir. Myeloproliferatif hastalıklar Budd Chiari sendromunda %50, portal ven trombozunda %25 oranında tabloya eşlik edebilmektedir (117).

Esansiyel trombositemide eritromelalji, geçici iskemik atak, geçici görsel veya işitsel kayıplar, tekrarlayıcı baş ağrısı ve periferik parestezi gibi mikrovasküler belirtiler görülür. Dizartri, geçici monoküler körlük veya geçici monoparezi veya hemiparezi gibi fokal belirtiler daha az eşlik eder. Görsel disfonksiyon olarak geçici diplopi ve ani geri dönüşümlü bulanık görme gelişebilir (117).

Esansiyel trombositemi ve PV'da hastalığın yönetimi hastaların trombotik riski ile yakından ilişkilidir (117,119). Bu hastalarda sitoredüktif tedavi ile tromboz ve kanama oranı azaltılabilir. Ancak lösemik dönüşüm gibi ciddi yan etkileri olması nedeniyle dikkatle kullanılmalıdır (117). Son zamanlarda lökositoz ve JAK2V617F mutasyonel durumu/ veya mutasyon yükü gibi yeni risk faktörleri araştırılmaya başlanmıştır (117).

2.3.2. Myeloproliferatif Hastalıklarda Tromboz Patogenezi

Esansiyel trombositemi ve PV' da tromboz patogenezi çok yönlüdür. Başlıca iki mekanizma üzerinde durulmaktadır. Bunlar klonal hematopoetik kök hücrelerden köken alan anormal kan hücrelerinin protrombotik sürece katkıda bulunması ve malin hücrelerden salınan sitokinlerin neden olduğu inflamatuvar yanıt sendromudur (117).

Protrombotik özellikler prokoagulan ve proteolitik olayların kan hücreleri tarafından ifadenmesini, inflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu ve adezyon moleküllerinin ifadenmesini içerir. Protrombotik değişiklikler, inflamatuvar sitokin salınımına, hiperviskoziteye ve lökosit kökenli protezlara (elastaz, katepsin-G ve miyeloperoksidaz) yanıt olarak damar endotelinde meydana gelir. Endotelial adezyon reseptörlerinin artmış ifadenmesi; trombosit, eritrosit ve lökositlerin damar duvarına yapışmasını sağlar, pıhtılaşma kaskadını ve fibrin depolanmasını kolaylaştırır. Bu nedenle, MPH'da prokoagulan bir zemin bulunmaktadır. Myeloproliferatif hastalıklarda dolaşan protrombotik mikropartiküllerin seviyesi artmış ve kazanılmış aktif protein C direnci gelişmiştir (120).

2.3.2.1. Trombositler ve Tromboz

Trombotik olayların patogeneğinde trombositözün rolü tartışmalıdır. Polisitemia Vera Çalışma Grubu (PSVG) ve Avrupa Birliği Polisitemia Vera Düşük Doz Aspirin (ECLAP) çalışmalarında, trombosit sayısının tromboz için öngörücü bir belirteç olmadığı görülmüştür (117,121,122). Nitekim ET'li hastalarda trombosit sayısı $>1500 \times 10^9/L$ olduğunda kanamaya eğilim oluşmaktadır (117,123). Bu karşılığın nedeni edinilmiş von Willebrand hastalığıdır (117,124).

Hidroksiüre ile uygulanan sitoredüktif tedavi protrombotik süreci önemli ölçüde etkiler (117,125). Hidroksiüre, ET ve PV'da yüksek oranda bulunan

olgunlaşmamış reaktif trombositlerin sayısını düşürerek tromboza yatkınlığı azaltır (117,126). Polistemia vera ve PMF'te trombosit ve megakaryositlerin yüzeyinde bulunan c-MPL ifadenmesi azalmışken, bu durum ET'de görülmez (117). Trombopoietin, trombosit agregasyonunu ve sekresyonunu uyarmaktadır (117,127).

2.3.2.2. Eritrositler

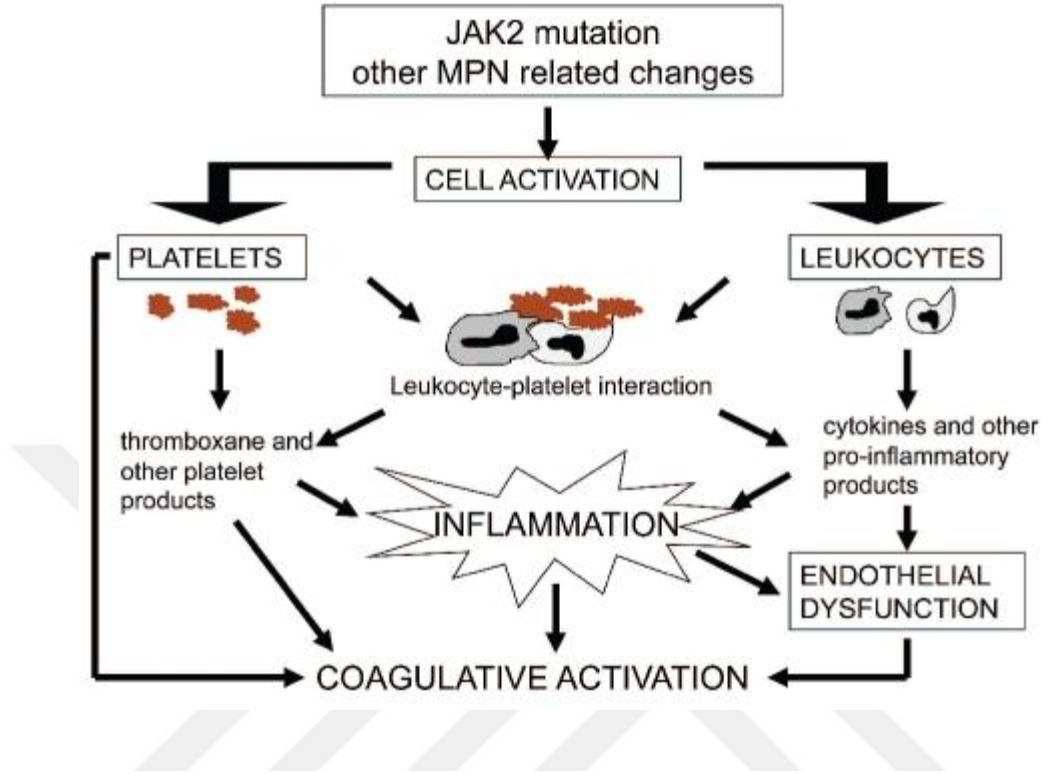
Artmış hematokrit seviyesinin PV'da tromboz riskini arttırdığı gözlenmiştir (117,128). Normalin üst sınırına yakın hematokrit seviyeleri özellikle serebral dolaşımında artmış kan viskozitesinin sonucu olarak vasküler okluziv hastalıkların önemli bir sebebi olabilir. Nitekim, serebral kan akımı hematokrit seviyesi arttığında yavaşlamaktadır. Tedavi edilmeyen PV'da trombotik olaylar artmış viskoziteye bağlı olarak sıklıkla serebral dolaşımında meydana gelmektedir. Kan viskozitesi arttığında trombositler damar duvarına doğru yer değiştirir, böylece trombosit aktivasyonu ve agregasyonu uyarılmış olur. Yavaşlayan kan akımı venöz yatakta göllenmeye neden olarak tromboz riskini artırır. Esansiyel trombositemi ve PV 'da artmış eritrosit sayısının yanısıra eritrositlerin hücre zarında ve hücre içinde meydana gelen biyokimyasal değişikliklerin de kan akımının yavaşlamasına neden olarak trombosit-lökosit etkileşimini kolaylaştırdığı görülmüştür (117,129).

2.3.2.3. Lökositler

Yapılan geriye dönük çalışmalarda ET ve PV hastalarında lökositozun arteriel ve venöz tromboz gelişimi için potansiyel bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (14,117,130,131). Lökositoz 60 yaşın altındaki PV ve ET hastalarında tekrarlayan arteriel tromboz için de bir risk faktörüdür (117,132). Lökositler trombosit, endotel ve koagülasyon sistemi arasındaki aktivasyon ve etkileşimde rol alarak tromboz gelişimine katkıda bulunur. Aterosklerotik plaklardaki inflamatuvar süreci etkileyerek trombotik süreci hızlandırabilirler (117).

Nötrofiller, inflamatuvar yanıtta, inflamasyon ve koagülasyon ilişkisinde rol oynamaktadırlar (117,133). Aktive olmuş nötrofillerden üretilen reaktif oksijen radikalleri ve azurofilik granüllerden salınan proteolitik enzimler aracılığıyla trombotik süreç uyarılabilir (117,134). Aspirin alan hastalarda nötrofil yüzeyinde CD11b ifadenmesi yüksektir ve nötrofil/trombosit agregatlarının oluşumu aspirin kullanmayan hastalara göre daha azdır (117,135).

Myeloproliferatif hastalıklarda inflamasyon ve koagülasyon sistemi içiçedir ve tromboz fizyopatolojisinin temelini oluşturmaktadır. Şekil 1'de MPH'da JAK2V617F mutasyonu ile inflamasyon ve koagülasyon ilişkisi özetlenmiştir (136).



Şekil 1. Myeloproliferatif Hastalıklarda JAK2V617F Mutasyonu, Koagülaasyon ve İnflamasyon İlişkisi

2.3.2.4. Endotel Disfonksiyonu

Endotel, fizyolojik olarak trombosit adezyon/agregasyonunu ve koagülasyonu inhibe eden antitrombotik bir yüzey oluşturarak kan akımını kolaylaştırır. Myeloproliferatif hastalıklarda endotel proadeziv ve prokoagülan bir yüzey haline dönüşür. Aktive olmuş nötrofiller tarafından salınan reaktif oksijen radikalleri ve hücreiçi proteazlar, endotel hücrelerin parçalanıp ayrılmasını kolaylaştırarak tromboz mekanizmasına etki ederler. Hasar görmüş endotel tarafından dolaşıma TM, selektinler ve vWF gibi proteinler salınır (117). Esansiyel trombositemi ve PV'lı hastalarda plazma selektin ve TM düzeyleri

yüksek bulunmuştur (117,137). Yüksek selektin düzeyleri endotel ve trombosit aktivasyonuna neden olarak tromboz gelişimine katkıda bulunabilirler (117,138).

Anjiyogenez MPH'lar da dahil olmak üzere hemen hemen tüm hematolojik malinitelerin biyolojisinde önemli rol oynamaktadır (117,139). Myeloproliferatif hastalıklarda anjiyogenetik aktivite belirteçleri olarak dolaşımdaki endotelial hücrelerle beraber vasküler endotelial büyüme faktörü ve diğer proanjiyogenik sitokin düzeyleri yüksek bulunmuştur (117,139-141).

2.3.3. JAK2 Mutasyonu ve Tromboz

JAK2V617F mutasyonunun MPH'ların fizyopatogenezindeki rolünün gösterilmesi tanı ve tedavi yaklaşımını önemli ölçüde değiştirmiştir (117). Ziakas ve arkadaşlarının yaptığı 2905 ET hastasının incelendiği bir çalışmada JAK2V617F mutasyonunun arteriel ve venöz tromboz riskini önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir. JAK2V617F mutasyonunun pozitif olduğu kişilerde tanı anında tromboz oranı daha yüksektir (117,142). Plazma çözünür TM seviyesi JAK2V617F pozitif ET hastalarında yüksek iken, çözünür P-selektin düzeyi de JAK2V617F pozitif ET, PV ve PMF hastalarında, JAK2V617F negatif olan hastalarla kıyaslandığında anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (117,136,143). Dahabreh ve arkadaşlarının yaptığı 2436 ET hastasından oluşan bir metaanalizde JAK2V617F pozitif hastalarda arteriel ve venöz tromboz riskinin önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (117,144). JAK2V617F mutasyonu pozitif ET hastalarında nötrofil ve trombosit aktivasyonunun arttığı görülmüştür (117).

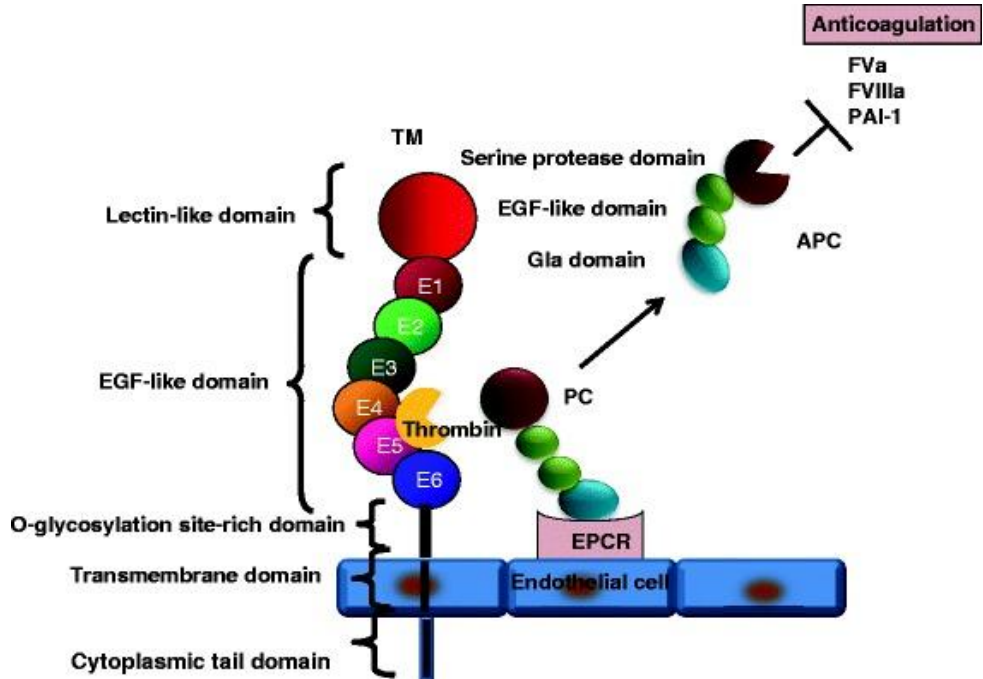
2.4. Endotelial Protein C Reseptörü ve Trombomodulin'in Myeloproliferatif Hastalıklarla ve Trombozla Olan ilişkisi

İnsanda fizyolojik bir antikoagulan olan protein C, endotelial bir reseptör olan TM'ne bağılı trombin tarafından aktive edilen bir serin proteazdır. Aktive protein C, kofaktörü olan protein S ile birlikte faktör V ve faktör VIII'i inaktive ederek koagülasyonu inhibe eder (117). Endotelial protein C reseptörü, protein C'nin aktivasyonunu sağılayan ve endotel yüzeyinde bulunan bir reseptördür (32,145). Protein C ve aktive protein C'ye benzer afiniteyle bağılanan bu reseptör, büyük damarların endotel hücrelerinde sentezlenir (145,146,147,148). Yapılan in vitro çalışmalarda, protein C reseptörüne bağılandığı zaman, membran trombin-TM kompleksinin etkisiyle, protein C'nin aktivasyon hızında 3-5 kat artış olduğu görülmüştür (145,149).

Çözünür EPCR aPC'ye bağılandığında, aPC'nin faktör Va'yı inhibe etmesini engelleyerek, antikoagulan etkiyi ortadan kaldırır (31,145).

Yapılan bir çalışmada, EPCR geninin A3 haplotipinin venöz trombozla ilişkili olduğu bulunmuştur. Çalışmada plazma sEPCR düzeyinin venöz trombozu olan hastalarda arttığı görülmüştür (145). Koagülasyon kaskadının başlangıç aşaması doku faktörü ile tetiklenir ve doku faktörü faktörVIIa ile kompleks oluşturup trombin üretir (150,151-154). Trombin, fibrinojeni fibrine dönüştürerek fibrin birikimine neden olur. Öte yandan faktör XIIIa 'yı aktive ederek fibrin monomerleri arasındaki çapraz bağıların oluşumunu ve fibrin stabilizasyonunu kolaylaştırır (150,155). Trombomodulin, birden fazla etki alanı bulunan 557

aminoasitten oluşan glikozile bir transmembran proteinidir (150). Her parçası farklı özelliklere sahiptir (150). Molekülün NH2 terminal kısmında lektin-benzeri parçası, izleyen kısımlarda sırasıyla EGF-benzeri parça, O-glikozile kısım, transmembranöz parça ve sitoplazmik kuyruk kısımları bulunur (150,156). Trombomodulin, yaygın olarak endotel hücrelerinde sentez edilir, antikoagulan sistemde rol alır (150,157). Ek olarak trombin-TM kompleksi, protein C'yi aktive eder (150,158,159). Aktive protein C, amino terminal gama-karboksiglutamik asit (Gla) kısmı, iki adet EGF-benzeri bölge ve serin proteaz kısmı olmak üzere dört parçadan oluşur (150,160). Endotelial protein C reseptörü, protein C'nin Gla kısmına bağlanır, onu trombin/TM kompleksine sunar ve böylece aPC oluşumunu kolaylaştırır (150,149). Şekil 2'de TM ve aPC'nin yapısı ve antikoagulan işlevleri görülmektedir (150,160).



Şekil 2. Trombomodulin ve Aktive Protein C'nin Yapısı ve Antikoagulan İşlevleri

Aktive protein C, anti-inflamatuar ve hücre koruyucu etkilere de sahiptir. Ayrıca TM'in hücre dışındaki bölümü de APC'den bağımsız benzer etki gösterir (150).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma ileriye dönük kesitsel bir çalışmadır. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (No:231 Gün: 28/04/2014).

3.1. Hastalar

Çalışmaya Mayıs 2014-Mayıs 2015 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı polikliniği'ne başvuran ve MPH tanısı alan 41 hasta ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı polikliniklerine başvurmuş 20 sağlıklı kontrol dahil edildi.

Hasta ve kontrol grubu araştırmayla ilgili olarak bilgilendirildi ve her birinden yazılı onam formu alındı. Hastalar gönüllülük esasına uygun olarak çalışmaya dahil edildi. 18 yaşından küçük ve 88 yaşından büyük olanlar çalışma dışı bırakıldı. Hastaların demografik ve klinik özellikleri kaydedildi. Eşlik eden hastalıkları, sigara kullanımı ve geçirilmiş tromboz öyküsü sorgulandı. Tüm hastaların ayrıntılı fizik muayenesi yapıldı.

3.2. Laboratuvar İncelemeleri

Çalışmaya alınan hastaların hemoglobin (hb), trombosit (plt), beyaz küre (bk), hematokrit (hct), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP),

kreatinin, laktat dehidrogenaz (LDH), ürik asit, sedimentasyon, c reaktif protein (CRP), demir profili, kobalamin, d-dimer, fibrinojen, protombin zamanı (PT), PTT (Parsiyel tromboplastin zamanı), protein S, protein C, EPO (eritropoetin) düzeyi, JAK2V617F mutasyon analizi, karaciğer ve dalak boyutları ve kemik iliği biyopsi sonuçları hastane arşiv sisteminden elde edildi.

3.3. Serum EPCR ve Trombomodulin Düzeyi Ölçümü

Serum sEPCR ölçümü için kan düz tüpe alındıktan sonra iki saat oda ısısında bekletildi. Ardından 20 dakika 1000 g'de santrifüj edildi. Serum ayrılarak -80 derecede saklandı. Serum TM ölçümü için kan düz tüpe alındıktan sonra 30 dakika oda ısısında bekletildi ve 1000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Serum ayrılarak -80 derecede saklandı.

Serum/plazma TM düzeyleri ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemi ile hazır kit (CUSABIO Human trombomodulin ELISA Kit) kullanılarak çalışılmıştır. Kitin sensitivitesi 7,8 pg/ml'dir. İntra assay prezisyonu (CV) <%8, interassay prezisyonu (CV)<%10 'dur. Numuneler 1/200 dilüe edildikten sonra kit prosedürüne göre çalışıldı. Sonuçlar standart eğrisinden hesaplanıp dilüsyon faktörü 200 ile çarpıldı. Birimi ng/ml olarak verildi. Serum/EPCR düzeyleri ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemi ile hazır kit (CUSABIO Human Soluble Endothelial Protein C Reseptör ELISA Kit) kullanılarak çalışıldı. Kitin sensitivitesi 1,95 ng/ml'dir. İntra assay prezisyonu (CV) <%8, interassay prezisyonu (CV) <%10'dur. Numuneler kit

prosedürüne göre çalışıldı. Sonuçlar standart eğrisine göre hesaplandı, sonuçlar ng/ml olarak verildi.

3.4. İstatiksel Yöntemler

Çalışmamızda istatistiksel analizler 'Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi' (SPSS) 16 programı kullanılarak yapıldı. Hasta karakteristikleri için tanımlayıcı istatistik uygulandı. Kategorik olmayan verilerde ikili gruplar arası karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanıldı. Parametreler arasındaki ilişimi değerlendirmek için Spearman korelasyon analizi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma grubunun özellikleri

Çalışmaya yeni tanı 41 MPH hastası alındı. Hastaların 9'ü (%22) PV, 28'i (%68.3) ET, 3'ü (%7.3) PMF, 1'i (%2.4) ise sınıflandırılmayan gruba dahil edildi. Kontrol grubu 20 sağlıklı gönüllüden oluşmakta idi. Hastaların ortalama yaşı 58 (31-87) yıl; kontrol grubunun ortalama yaşı 33 (19-52) yılı. Yaş hasta ile kontrol grubu arasında anlamlı farklı bulundu ($p<0.001$). Hastaların 19'u kadın (%46.3), 22'si erkek (%53.7) idi. Kontrol grubu ise 10 erkek (%50), 10 kadından (%50) oluşmakta idi. Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri Tablo 9'da sunulmuştur.

Tablo 9. Grupların demografik özellikleri

	Hasta (n=41)	Kontrol (n=20)
Yaş (yıl)	58 (31-87)	33 (19-52)
Erkek	22 (%53.7)	10 (%50)
Kadın	19 (%46.3)	10 (%50)

Hasta grubunun ortalama hemoglobin değeri 14.7 (7.7-18.9) gr/dl iken; PV grubunda 18.1 (14.7-18.9) gr/dl, ET grubunda 14.4 (9.6-16.4) gr/dl, PMF grubunda 12.2 (7.37-15.2) gr/dl idi.

Hasta grubunun ortanca lökosit değeri 9120 (5860-24710) /mm³ iken; PV grubunda 9920 (7390-19340) /mm³, ET grubunda 9060 (5960-17260) /mm³ ve PMF grubunda 12180 (6580-24710) /mm³ idi.

Hasta grubunun ortanca trombosit sayısı 584000 (102800-1369000) /mm³ iken; PV grubunda 419000 (252100-584000) /mm³, ET grubunda 758000 (431100-1369000) /mm³ ve PMF grubunda 148000 (102800-261500) /mm³ idi.

Hasta grubunda ortanca hematokrit değeri 44.9 (22.9-59.5) % iken; PV grubunda 56.2 (44.9-59.5) %, ET grubunda 43.9 (29.2-49.1) % ve PMF grubunda 36.6 (22.9-46.9) % idi. Hastaların kan sayımı bulguları Tablo 10'da sunulmuştur.

Tablo 10. Hastaların Kan Sayımı Bulguları

	Hasta (genel) (n=41)	PV (n=9)	ET (n=28)	PMF (n=3)
Hemoglobin (g/dl)	14.7 (7.7-18.9)	18.1 (14.7-18.9)	14.4 (9.6-16.4)	12.2 (7.37-15.2)
Beyaz küre (mm ³)	9120 (5860-24710)	9920 (7390-19340)	9060 (5960-17260)	12180 (6580-24710)
Platelet (/mm ³)	584000 (102800-1369000)	419000 (252100-584000)	758000 (431100-1369000)	148000 (102800-261500)
Hematokrit (%)	44.9 (22.9-59.5)	56.2 (44.9-59.5)	43.9 (29.2-49.1)	36.6 (22.9-46.9)

PV: Polistemia vera, **ET:**Esansiyel trombositemi, **PMF:** Primer myelofibrozis

Hasta grubunda ortanca LDH değeri 261,5 (165-931) U/L iken; PV grubunda 291 (185-931) U/L, ET grubunda 249 (192-485) U/L ve PMF grubunda

465 (347-637) U/L idi. Hasta grubunda ortalama ürik asit değeri 5.1 (2.6-11.9) mg/dl iken; PV grubunda 6.6 (3.9-11.9) mg/dl, ET grubunda 5 (2.6-8.6) mg/dl ve PMF grubunda 6.4 (5-7) mg/dl idi. Hasta grubunda ortalama ALT değeri 17 (4-98) U/L iken; PV grubunda 21 (5-39) U/L, ET grubunda 17 (4-98) U/L ve PMF grubunda 16.4 (14-19) U/L idi. Hasta grubunda ortalama kreatinin değeri 0.8 (0.5-1.2) mg/dl iken; PV grubunda 0.8 (0.6-1) mg/dl, ET grubunda 0.7 (0.5-1) mg/dl ve PMF grubunda 1.1 (1-1.2) mg/dl idi. Hastaların biyokimyasal özellikleri tablo 11'de sunulmuştur.

Tablo 11. Hastaların biyokimyasal özellikleri

	Hasta (n=41))	PV (n=9)	ET (n=28)	PMF (n=3)
LDH (U/L)	261,5 (165-931)	291 (185-931)	249 (192-485)	465 (347-637)
Ürik asit (mg/dl)	5.1 (2.6-11.9)	6.6 (3.9-11.9)	5 (2.6-8.6)	6.4 (5-7)
ALT (U/L)	17 (4-98)	21 (5-39)	17 (4-98)	16.4 (14-19)
Kreatinin (mg/dl)	0.8 (0.5-1.2)	0.8 (0.6-1)	0.7 (0.5-1)	1.1 (1-1.2)

PV:Polistemia vera, **ET:**Esansiyel trombositemi, **PMF:** Primer myelofibrozis, **ALT:** alanin amino transferaz, **LDH:** Laktat dehidrogenaz

Hasta grubunda ortalama sedimentasyon değeri 8 (1-80) mm/st iken; PV grubunda 1 (1-6) mm/st, ET grubunda 8.5 (1-80) mm/st ve PMF grubunda 9 (9-34) mm/st idi. Hasta grubunda ortalama CRP değeri 4.2 (1-41) mg/L iken; PV grubunda 5.1 (1.9-12.4) mg/L, ET grubunda 3.9 (1-41) mg/L ve PMF grubunda 11.5 (3.9-24.9) mg/L idi.

Splenomegali toplam 12 hastada (%29.3) mevcuttu. Bu gruptaki hastaların ortanca dalak büyüklüğü 17 (13-23) cm iken; PV grubunda 18,5 (13,5-23) cm, ET grubunda 13.6 (13-19) cm ve PMF grubunda 18.5 (17-20) cm idi. Hepatomegali hastaların 6'sında (%14.6) mevcuttu. Bu grupta ortanca karaciğer boyutu 17.5 (15.5-20) cm iken; PV grubunda 17.8 (15.6-20) cm, ET grubunda 15.7 (15.5-16) cm ve PMF grubunda 19,5 (19-20) cm idi.

Hasta grubunda ortanca PT değeri 11.4 (10- 17.7) sn ve ortanca aPTT değeri 26.3 (19.4-35.5) sn idi. Hasta grubunda ortanca D-dimer değeri 136 (85-824) ng/ml ve ortanca fibrinojen değeri 289.5 (212-392) mg/dl idi.

Hasta grubunda ortanca TS (transferrin saturasyonu) değeri % 17.4 (4.1-55.79), ferritin 55 (7.7-177.1) ng/ml ve kobalamin değeri 302.9 (40.44-1327) pg/ml idi.

Hastaların kemik iliği biyopsi sonuçları incelendi. Hasta grubunda ortanca kemik iliği hücresellik oranı %60 (40-90) iken; PV grubunda %75 (50-90), ET grubunda %50 (40-80) ve PMF grubunda %80 (50-90) idi. PMF hastaları analiz dışında tutulduğunda kemik iliği fibrozisi toplam 10 (%26.3) hastada mevcuttu; bunların 5 'i (%55,5) PV ve 5'i (%17.8) ET idi. Hastaların ortanca fibrozis derecesi 2 (1-3) olarak belirlendi.

Toplam 26 (%63.4) hastada JAK2V617F mutasyonu pozitif saptandı. Bu hastaların 9'u (%100) PV, 14'ü (%50) ET ve 3'ü (%100) PMF idi. Hastaların ortanca JAK2 yüzdesi %0.2 (0.0014-0.89) idi. Hastaların kemik iliği ve JAK2V617F mutasyonu özellikleri tablo 12 ' de verilmiştir.

Tablo 12. Hastaların kemik iliği ve JAK2V617F mutasyonu özellikleri

	Hastalar (n=41)	PV (n=9)	ET (n=28)	PMF (n=3)
K.iliği hücresellik oranı %	60 (40-90)	75 (50-90)	50 (40-80)	80 (50-90)
K.iliği fibrozis (PMF hariç)	10 (%26.3)	5 (%55.5)	5 (%17.8)	-
JAK2 mutasyonu	26 /61	9 /9	14 /28	3 /3

PV:Polistemia vera, **ET:**Esansiyel trombositemi, **PMF:** Primer myelofibrozis, **JAK2:** Janus Kinaz 2

4.2. EPCR ve TM Ölçümleri

Hasta grubunda ortalama EPCR değeri 43.09 (1.95-171.8) ng/ml kontrol grubunda 44.36 (14.86-157.11) olarak bulundu.Hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında, iki grup arasında EPCR düzeyi farksız bulundu ($p>0,05$). Hasta ve kontrol gruplarının EPCR ve TM ölçümleri Tablo 13'te sunulmuştur. Hastalık alt gruplarına göre incelendiğinde ortalama EPCR değeri PV grubunda 42.67 (6.25-110.05) ng/ml, ET grubunda 46.715 (1.95-171.8) ng/ml ve PMF grubunda 10.92 (2.41-113.92) ng/ml idi. Alt grup analizinde EPCR düzeyi PV ve ET hastaları arasında farksız bulundu ($p>0,05$). Primer myelofibrozis grubunda 3 hasta olması nedeniyle analiz dışı bırakılmıştır.

Hasta grubunda ortalama TM değeri 41.19 (3.28-140.3) ng/ml iken, kontrol grubunda 41.96 (19.15-145.39) ng/ml idi. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, iki grup arasında TM düzeyi farksız bulundu ($p>0,05$). Hastalık alt grupları ayrı ayrı incelendiğinde ortalama TM değeri PV grubunda 42.75 (6.92-119.14) ng/ml, ET grubunda 43.865 (5.67-140.3) ng/ml ve PMF grubunda 26.28 (3.28-41.19) ng/ml olarak bulundu. Alt grup analizinde TM düzeyi PV ve ET hastaları arasında farksız bulundu ($p>0,05$). Primer myelofibrozis grubunda 3 hasta olması nedeniyle analiz dışı bırakılmıştır. Hastalık alt gruplarına göre EPCR ve TM ölçümleri Tablo 14'te verilmiştir.

Tablo 13. Hasta ve kontrol grubu EPCR ve TM ölçümleri

	Hasta (n=41)	Kontrol (n=20)	P değeri
EPCR (ng/ml)	43.09 (1.95-171.8)	44.36 (14.86-157.11)	$p>0,05^*$
TM(ng/ml)	41.19 (3.28-140.3)	41.96 (19.15-145.39)	$p>0,05^*$

EPCR: Endotelial protein C reseptörü, **TM:** Trombomodulin

Tablo 14. Hastalık alt gruplarına göre EPCR ve TM ölçümleri

	PV (n=9)	ET (n=28)	Kontrol (n=20)	p değeri
EPCR (ng/ml)	42.67 (6.25-110.05)	46.715 (1.95-171.8)	44.36 (14.86-157.11)	p>0,05
TM (ng/ml)	42.75 (6.92-119.14)	43.865 (5.67-140.3)	41.96 (19.15-145.39)	p>0,05

Hasta grubunda ortalama PC değeri 91 (42-129) % iken; ortalama PS değeri 71.5 (37-130) % idi. Alt grup analizinde ortalama PC değeri PV'da 78.5 (42-112) %, ET'da 97.5 (46-129) % ve PMF'de 82 (68-96) % idi. Ortalama PS değeri PV'da 71 (43-103) %, ET'da 71.5 (37-130) % ve PMF'de 68 (62-74) % idi. Tablo 14'te hastaların PC ve PS değerleri ölçümleri verilmiştir.

Ortalama EPCR ve TM düzeyleri kadın ve erkekler arasında farksızdı ($p>0.05$, $p>0.05$). Ortalama EPCR ve TM düzeyleri JAK2 pozitif ve negatif hastalar arasında farksızdı ($p>0.05$, $p>0.05$). Tanı anında tromboz sadece bir ET hastasında mevcuttu. Bu nedenle tromboz ilişkili analiz yapılamadı.

4.3. Korelasyonlar

Endotelial protein C reseptörü düzeyi ile fibrinojen arasında ters yönde korelasyon olduğu ($r:-0.669$) ve anlamlı olduğu ($p=0.035$). Bakılan JAK2 yüzdesi

ile beyaz küre sayısı arasında doğrusal bir korelasyon olduğu (r:0.602) ve anlamlı olduğu (p:0.002); JAK2 yüzdesi ile ürik asit düzeyi arasında doğrusal bir korelasyon olduğu (r:0.611) ve anlamlı olduğu (p:0.003); LDH ve beyaz küre sayısı arasında doğrusal bir korelasyon olduğu (r:0.424) ve anlamlı olduğu (p:0.002); LDH ve ürik asit düzeyi arasında doğrusal bir korelasyon olduğu (r:0.311) ve anlamlı olduğu (p:0.028) görüldü.



5. TARTIŞMA

Kanama ve tromboz MPH'ların klinik seyrinde yaşam kalitesi ve prognozu önemli ölçüde etkiler. Trombotik olaylar PV ve ET'de daha sık görülür. Tanı sırasında major tromboz sıklığıPV'da %34-39, ET'de %10-29 ve PMF 'te %4-7oranında görülürken; izlem süresince major tromboz sıklığı PV için % 8-19, ET için %8-31 ve PMF için % 2-4'tür. Gerek tanı anında, gerekse klinik izlem sürecinde arteriel olaylar (akut koroner sendrom, inme/geçici iskemik atak, akut ekstremitte iskemisi) venöz trombotik olaylardan (splanknik tromboz, alt veya üst ekstremitte derin ven trombozu) daha sık görülür (161). Esansiyel trombositemi ve PV'da tromboz mortalitenin ikinci en sık nedenidir (30,162).

Avrupa Birliği Polistemia Vera Düşük Doz Asprin Çalışmasında (ECLAP) ve MRC-PT1'in yaptığı ileriye dönük çalışmada kardiyovasküler olay riski PV için % 2,5-5 ve ET için % 1,9-3 olarak bulunmuştur (30,117,163).Major arteriel olaylar PV hastalarında daha sık olarak görülürken, mikrovasküler bozukluklar ET hastalarında daha sık görülür. Alt ekstremitte derin ven trombozu ve pulmoner emboli gibi venöz sistemi ilgilendiren olaylar her iki hastalık grubunda da benzer sıklığa sahiptir (26,30).

Endotelial protein C reseptörü karaciğerde sentezlenir ve protein C'yi aktive ederek koagülasyonu inhibe eder (148,164). Yapılan bazı çalışmalarda EPCR'nin kanser öncül hücre belirteci olabileceği gösterilmiştir (164,165). Nitekim, bazı solid tümörlerde ve hematolojik hastalıklarda EPCR'nin

ifadelenmesinin arttığı görülmüştür (164,166) Bütün bu bulgular sEPCR'nin malinite ilişkili hiperkoagülabilité için bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir (164,167).

Bu araştırmanın amacı tromboza yatkınlığın arttığı MPH'larda tanı anındaki koagülasyon dengesinin ve tromboza eğilimin normal popülasyonla karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir. Tanı anındaki sEPCR ve TM düzeylerinin hasta ve kontrol grupları arasında benzer olması hasta sayısının sınırlı olması ile ilişkilendirilebilir. Atalayve arkadaşlarının yaptığı 25 hastadan oluşan bir çalışmada sEPCR düzeyi kontrol grubunda 524 ± 272 ng/ml, ET'li hastalarda $788,8 \pm 184$ ng/ml ve PV hastalarında $1039,5 \pm 403$ ng/ml olarak bulunmuştur. Sonuçlara göre PV ve ET hastalarında sEPCR seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (30). Aynı çalışmada trombozu olan ve olmayan hastalar arasında sEPCR düzeylerinin farklı olmadığı görülmüştür. Koagülasyon aktivasyon faktörleri, TAT kompleksi, D-dimer ve protrombin fragmanları 1+2 seviyelerinin ET ve PV hastalarında anlamlı yüksek olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda sEPCR düzeyi ile fibrinojen arasındaki negatif korelasyon sEPCR'nin antikoagülan etkilerini destekler niteliktedir.

Trombomodulin, hemostatik fonksiyonları yöneten, inflamasyon ve tümörgelişiminde rol oynayan birtip 1 transmembran glikoproteini ve antikoagülan faktördür (168,169,170,171-174). Trombomodulinin tümör hücrelerine antikoagülasyon, anti-inflamasyon, adezyon ve proliferasyon

yolaklarıyla etkidiği öne sürölmüştür (168). Bazı kanser türlerinde TM'in tümöral hücrelerin proliferasyonunu sınırladığı gösterilmiştir (168). Trombomodulin, üroepitelyal karsinomlarda %48-90 oranında sentez edilen hassas bir belirteçtir (168,175,176).Bunedenle TM'nin mesane kanseri gibi bazı tümörlerde prognostik değeri vardır (168,171,177-179).

Endotel disfonksiyonunun sepsis, iskemi-reperfüzyon hasarı ve akut karaciğer hasarı durumlarının patofizyolojisinde rolü olduğu bilinmektedir (180,181). Organ disfonksiyonuna sebep olan inflamasyon ve endotel disfonksiyonunda Protein C, sTM ve IL-6 biyobelirteç olarak kullanılabilir ve prognoza katkı sağlayabilir (180,182,183).Yođun bakım hastalarını ilgilendiren tek merkezli bir çalışmadaPC seviyeleri ile organ yetmezliği arasında ters korelasyon bulunmuştur (180,184). Bir diğer çalışmada ise travma sonrası hastalarda sTM düzeyinin arttığive bu durumunakut böbrek yetmezliği riskini arttırdığı gösterilmiştir (180,185).

Yapılan bir diğer çalışmada ise sinüs ven trombozu olan hastalarda EPCRve sTM düzeyleri ölçölmüştür (186). Serebral sinüs ven trombozu olan hastalarda sTM düzeyi anlamlı düşük olarak bulunurken, sEPCR düzeyleri kontrol grubuna göre farklı bulunmamıştır. Bir diğer çalışmada venöz trombozu olan hastalarda trombin bağlı TM düzeyi düşük olarak bulunmuştur (186,187).

Myeloproliferatif hastalıklarda JAK2V617F mutasyonu ve tromboz ilişkisini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Takata ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada çalışmaya alınan 140 hastanın 53'ünde (%37.9) JAK2V617F

mutasyonu saptanmıştır. Trombotik olaylar JAK2V617F mutasyonu pozitif olan hastalarda %30.2 sıklığında görülürken JAK2V617F negatif olan hastalarda %9.2 oranında görülmüştür. JAK2V617F mutasyonu pozitif olan MPH'da trombotik olayların sık olduğu ve JAK2V617F mutasyonunun tromboz gelişimi için olası bir risk faktörü olabileceği öne sürülmüştür. Bu çalışmada JAK2V617F mutasyonu pozitif olan hastaların yaş ortalaması 67 (20-86), JAK2V617F mutasyonu negatif hastaların yaş ortalaması 55.4 (12-80) olarak bulunmuştur. Ortanca lökosit sayısı JAK2V617F pozitif hastalarda 13,525/ml (433-44,500) olarak bulunurken, JAK2V617F negatif hastalarda 9,391/ml (1,920-31,900) olarak bulunmuştur. Bu çalışmayla lökosit sayısının JAK2V617F pozitif olan hastalarda daha yüksek olmaya eğilimli olduğu gösterilmiştir, fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p=0,131$). Hemoglobin düzeyi ve trombosit sayısının JAK2V617F pozitif ve negatif hastalar arasında farklı olmadığı görülmüştür. JAK2V617F mutasyonu olan hastalarda LDH düzeyi de negatif olanlara göre daha yüksek bulunmuştur (188). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde JAK2V617F yüzdesi ile lökosit sayısı arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Ancak sEPCR ve TM düzeylerinin JAK2V617F pozitif ve negatif olan hastalar arasında benzer olduğu görülmüştür. Esansiyel trombositemi ve PV hastalarında lökositözün trombozla ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Lökosit aktivasyonu ile uyarılan nötrofil ve trombosit agregasyonunun buna sebep olabileceği düşünülmüştür (30, 135).

Orhon ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada sağlıklı çocuk ve gençlerde sEPCR düzeyine bakılmış, çocuklarda %20, gençlerde %10 düzeyinde artmış

olduğu görülmüştür. Bu bimodal dağılımın fizyolojik temeli bilinmemektedir. Cinsiyet, genetik polimorfizmler, sigara ve diyet gibi çevresel faktörlerin sorumlu olabileceği düşünülmektedir (30,189). Paris Tromboz Çalışma Grubunun venöz trombozu kolaylaştırıcı genetik risk faktörlerini araştıran 338 hastadan oluşan bir çalışmada A3 haplotipi taşıyanlarda sEPCR seviyelerinin artmış olduğu ve artmış tromboz riski taşıdıkları görülmüştür (30,145). Yapılan bir diğer çalışmada A3 haplotipi taşıyan inmeli hastalarda plazma sEPCR seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak, A3 haplotipi taşıyanlarda plazma sEPCR seviyelerinin normalden yüksek olduğu ve bunun da artmış tromboz eğilimiyle ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (30,190). Bir başka çalışmada retinal ven oklüzyonu olan 82 hastada sEPCR düzeyi bakılmış ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında santral venöz oklüzyonu olan hastalarda sEPCR düzeyi istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada tromboz gelişimi ile sEPCR seviyesi arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (30,191). Avrupa Birliği Polistemia Vera Düşük Doz Aspirin Çalışması'nda, %39'unda tromboz öyküsü bulunan 1630 PV hastası incelenmiştir. 60 yaş üzeri ve önceden geçirilmiş tromboz öyküsü olan kişilerde tromboz riskinin belirgin arttığı, ancak sigara, hipertansiyon ve konjestif kalp yetmezliğinin tromboz riskinin artışıyla ilgili olabileceğini görülmüştür. Aynı çalışmada tromboz ve trombosit sayısı arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir (30,163). Diğer bir çalışmada MPH hastalarında kazanılmış aPC direnci ortaya çıktığı gösterilmiştir. Protein C ve protein S düzeylerinin azalmasının protrombotik durumla ilişkili olabileceği düşünülmüştür (30,192,193).

Tromboz patogenezinde endotel disfonksiyonunun rolü bilinmektedir. Bu bağlamda EPCR ve TM'nin pro/antikoagülan dengenin idamesinde rol oynadıkları aşikardır. Myeloproliferatif hastalıklardaki artmış tromboz riskinin sağkalım üzerine olumsuz etkisi bulunmaktadır. Myeloproliferatif hastalıklarda görülen tromboza eğilimin fizyopatogenezinde sEPCR ve TM'nin rolünün aydınlatılması için daha geniş hasta serilerini kapsayan ileri çalışmalara gereksinim vardır.



6. KAYNAKLAR

1. Ghotaslou A, Nadali F, Chahardouli B, Ghandforosh NA, Rostami SH, Alimoghaddam K, and Ghavamzadeh A. Low frequency of c-MPL gene mutations in Iranian patients with Philadelphia-negative myeloproliferative disorders. *Iran J Ped Hematol Oncol*. 2015; 5 (1): 43–49.
2. Campbell PJ, Green AR. The myeloproliferative disorders. *New England Journal of Medicine*, 2006; 355 (23): 2452–2466.
3. Michiels J, et al. Current diagnostic criteria for the chronic myeloproliferative disorders (MPD) essential thrombocythemia (ET), polycythemia vera (PV) and chronic idiopathic myelofibrosis (CIMF) *Pathologie Biologie*. 2007; 55 (2): 92–104.
4. Panani AD. Cytogenetic and molecular aspects of Philadelphia negative chronic myeloproliferative disorders: clinical implications. *Cancer letters*. 2007; 255 (1): 12–25.
5. Sarid N, Eshel R, Rahamim E, Carmiel M, Kirgner I, Shpringer M, Trestman S, Marilus R, Perry C, Polliack A, Naparstek E, and Herishanu Y et al. JAK2 Mutation: An Aid in the Diagnosis of Occult Myeloproliferative Neoplasms in Patients with Major Intraabdominal Vein Thrombosis and Normal Blood Counts. [IMAJ Home Page » Volume 15, Number 11, November 2013](#).

6. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005; 352 (17): 1779-90
7. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005; 365 (9464): 1054-61
8. Ihle JN. The Janus kinase family and signaling through members of the cytokine receptor superfamily. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994; 206 (3): 268-72
9. James C, et al. A JAK2 mutation in myeloproliferative disorders: pathogenesis and therapeutic and scientific prospects. *Trends in molecular medicine*. 2005;11 (12):546–554.
10. Kilpivaara O, R Levine. JAK2 and MPL mutations in myeloproliferative neoplasms: discovery and science. *Leukemia*. 2008;22 (10):1813–1817.
11. Panani AD. Janus kinase 2 mutations in Philadelphia negative chronic myeloproliferative disorders: Clinical implications. *Cancer letters*. 2009;284 (1):p. 7–14.

12. Etheridge SL, Roh ME, Cosgrove ME, Sangkhae V, Fox NE, Chen J, López JA, Kaushansky K, and Hitchcock IS. JAK2V617F-positive endothelial cells contribute to clotting abnormalities in myeloproliferative neoplasms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Feb 11; 111 (6): 2295–2300.
13. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2012;87 (3):285–293
14. Carobbio A, et al. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: Interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood*. 2007;109 (6):2310–2313
15. De Stefano V, et al. GIMEMA CMD-Working Party Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: Incidence, risk factors, and effect of treatments. *Haematologica*. 2008;93 (3):372–380.
16. Papadakis E, Hoffman R, Brenner B. Thrombohemorrhagic complications of myeloproliferative disorders. *Blood Rev*. 2010;24 (6):227–232.
17. Gäbler K, Behrmann I, and Haan C. JAK2 mutants (e.g., JAK2V617F) and their importance as drug targets in myeloproliferative neoplasms. *JAKSTAT*. 2013 Jul 1; 2 (3): e25025.

18. Scott LM, Tong W, Levine RL, Scott MA, Beer PA, Stratton MR, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med.* 2007;356:459–68. doi: 10.1056/NEJMoa065202.
19. Bernardi M, Ruggeri M, Albiero E, Madeo D, Rodeghiero F. Isolated erythrocytosis in V617F negative patients with JAK2 exon 12 mutations: report of a new mutation. *Am J Hematol.* 2009;84:258–60. doi: 10.1002/ajh.21357.
20. Bueso-Ramos CE, Vardiman JW. Diagnosis and Classification of the BCR-ABL1-Negative Myeloproliferative Neoplasms. In: Verstovsek S, Tefferi A, eds. *Myeloproliferative Neoplasms - Biology and Therapy.* New York: Humana Press, Springer Science+Business Media, LLC, 2011:1-37.
21. Cervantes F, Hernández-Boluda J-C. Prognostic Factors in Classic Myeloproliferative Neoplasms. In: Verstovsek S, Tefferi A, eds. *Myeloproliferative Neoplasms - Biology and Therapy.* New York: Humana Press, Springer Science+Business Media, LLC, 2011:85-96.
22. Chievitz E, Thiede T. Complications and causes of death in polycythaemia vera. *Acta Med Scand* 1962;172:513.

23. Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DRi et al. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood* 2014;124:2507.
24. Kroll MH, Michaelis LC, Verstovsek S. Mechanisms of thrombogenesis in polycythemia vera. *Blood Reviews* 29 (2015) 215–221.
25. Vannucchi, A.M., Antonioli, E., Guglielmelli, P., Longo, G., Pancrazzi, A., Ponziani, V. et al. Prospective identification of high-risk polycythemia vera patients based on JAK2 (V617F) allele burden. *Leukemia*. 2007; 21:1952–1959
26. Elliott MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol*. 2005;128:275–90. doi: 10.1111/j.1365-2141.2004.05277.x.
27. Zetterberg E, Verrucci M, Martelli F, Zingariello M, Sancillo L, D'Amore E, Rana RA, and Migliaccio AR. Abnormal P-selectin localization during megakaryocyte development determines thrombosis in the gata1low model of myelofibrosis. *Platelets*. Author manuscript; available in PMC 2014 Oct 22.
28. Tefferi A. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. *N Eng J Med*. 2000;342 (17):1255–1265.

29. Cervantes F, Alvarez-Larran A, Arellano-Rodrigo E, Granell M, Domingo A, Montserrat E. Frequency and risk factors for thrombosis in idiopathic myelofibrosis: Analysis in a series of 155 patients from a single institution. *Leukemia*. 2006;20 (1):55–60.
30. Atalay F, Toprak SK, Koca E, Karakuş S et al. sEPCR Levels in Chronic Myeloproliferative Diseases and Their Association with Thromboembolic Events:A Case-Control Study.DOI: 10.4274/tjh.2012.0150.
31. Liaw PC, Neuenchwander PF, Smirnov MD, Esmon CT. Mechanisms by which soluble endothelial cell protein C receptor modulates protein C and activated protein C function. *J Biol Chem*. 2000;275:5447–5452.
32. Fukudome K, Esmon CT. Identification, cloning and regulation of a novel endothelial cell protein C/activated protein C receptor. *J Biol Chem*. 1994;269:26486–26491.
33. Castellino FJ, Ploplis VA. The protein C pathway and pathological processes. *J Thromb Haemost*.2009;7 (Suppl 1):140–145. [PMC free article]
34. Montes R, Rosendaal FR, Hermida J. Autoantibodies against endothelial protein C receptor and the risk of a first deep vein thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2007;5:1449–1454.

35. Stearns-Kurosawa DJ, Swindle K, D'Angelo A, Della Valle P, Fattorini A, Caron N, Grimaux M, Woodhams B, Kurosawa S. Plasma levels of endothelial protein C receptor respond to anticoagulant treatment. *Blood*. 2002;99:526–530.
36. Iwashita Y, Zhang E, Maruyama J, Yokochi A, Yamada Y, Sawada H, Mitani Y, Imai H, Suzuki K, and Maruyama K. Thrombomodulin protects against lung damage created by high level of oxygen with large tidal volume mechanical ventilation in rats. *J Intensive Care*. 2014; 2 (1): 57.
37. Weiler H, Isermann BH. Thrombomodulin. *J Thromb Haemost*. 2003;1:1515–1524. doi: 10.1046/j.1538-7836.2003.00306.x
38. Van de Wouwer M, Conway EM. Novel functions of thrombomodulin in inflammation. *Crit Care Med*.2004;32 (5 Suppl):S254–S261. doi: 10.1097/01.CCM.0000128036.64448.9e.
39. Ito T, Maruyama I. Thrombomodulin: protectorate God of the vasculature in thrombosis and inflammation. *J Thromb Haemost*. 2011;9 (Suppl 1):168–173. doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04319.x.
40. Finigan JH, Boueiz A, Wilkinson E, Damico R, Skirball J, Pae HH, Damarla M, Hasan E, Pearse DB, Reddy SP, Grigoryev DN, Cheadle C, Esmon CT, Garcia JG, Hassoun PM. Activated protein C protects against

ventilator-induced pulmonary capillary leak. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*2009;296:L1002–L1011. doi: 10.1152/ajplung.90555.2008.

41. Sitrin RG, Pan PM, Srikanth S, Todd RF., 3rd Fibrinogen activates NF-kappa B transcription factors in mononuclear phagocytes. *J Immunol.* 1998;161:1462–1470.
42. Okamoto T, Tanigami H, Suzuki K, Shimaoka M: Thrombomodulin: a bifunctional modulator of inflammation and coagulation in sepsis.*Crit Care Res Pract* 2012, 2012:614545.
43. Johnson K, Choi Y, DeGroot E, Samuels I, Creasey A, Aarden L. Potential mechanisms for a proinflammatory vascular cytokine response to coagulation activation. *J Immunol.* 1998;160:5130–5135.
44. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. Novel strategies for the treatment of sepsis. *Nat Med.* 2003;9:517–524. doi: 10.1038/nm0503-517.
45. Agarwal MD, Malhotra H, Charkrabarti P, Varma N, Mathews V, Bhattacharyya J, Seth T, Gayathri K, Menon H, Subramanian PG, Sharma A, Bhattacharyya M, Mehta J, Vaid AK, Shah S, Aggarwal S, Gogoi PK, Nair R, Agarwal U, Varma S, Prasad SVSS, Manidapam MT, et al. Myeloproliferative neoplasms working group consensus recommendations for diagnosis and management of primary myelofibrosis, polycythemia vera, and essential thrombocythemia. *Indian J Med Paediatr Oncol.* 2015 Jan-Mar, 36 (1): 3-16.

46. Tefferi A, Vainchenker W. Myeloproliferative neoplasms: Molecular pathophysiology, essential clinical understanding, and treatment strategies. *J Clin Oncol.* 2011;29:573–82.
47. Cervantes F, Tassies D, Salgado C, Rovira M, Pereira A, Rozman C. Acute transformation in nonleukemic chronic myeloproliferative disorders: Actuarial probability and main characteristics in a series of 218 patients. *Acta Haematol.* 1991;85:124–7.
48. Mesa RA, Niblack J, Wadleigh M, Verstovsek S, Camoriano J, Barnes S, et al. The burden of fatigue and quality of life in myeloproliferative disorders (MPDs): An international Internet-based survey of 1179 MPD patients. *Cancer.* 2007;109:68–76.
49. Arcasoy O.M. Kronik Myeloproliferatif Hastalıkların Sınıflaması. 2012:2.1.
50. Kim HR, Choi HJ, Kim YK, Kim HJ, Shin JH, Suh SP, Ryang DW, Shin MG, et al. Allelic Expression Imbalance of JAK2 V617F Mutation in BCR-ABL Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Plos One.* 2013; 8 (1): e52518.
51. Kondo T, Okuno N, Naruse H, Kishimoto M, Tasaka T, et al. (2008) Validation of the revised 2008 WHO diagnostic criteria in 75 suspected cases of myeloproliferative neoplasm. *Leuk Lymphoma* 49: 1784–1791

52. Bittencourt RI, Vassallo J, Chauffaille MLLF, Xavier SG, Pagnano KB, Kneese Nascimento AC, De Souza CA, Chiattonne CS, et al. Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2012;34 (2): 140-149.
53. Laszlo J. Myeloproliferative disorders (MPD): myelofibrosis, myeloscrosis, extramedullary hematopoiesis, undifferentiated MPD, and hemorrhagic thrombocytopenia. *Semin Hematol.* 1975; 12 (4): 409-32.
54. Vardiman JW, Harris NL, Brunning R. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood.* 2002; 100 (7): 2292-302 Comment in: *Blood.* 2003;101 (7):2895-6.
55. 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 (1): 14-22 Comment in: *Leukemia.* 2008;22 (11):2118-9.
56. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood.* 2009; 114 (5): 937-51 Comment in: *Blood.* 2010;115 (3):748-9; author reply 749-50.

57. Vannucchi AM, Guglielmelli P, Tefferi A. Advances in Understanding and Management of Myeloproliferative Neoplasms. 2009;59 (3):171-191. doi:10.3322/caac.20009.
58. Vaquez H. Sur une forme spéciale de cyanose s'accompagnant d'hyperglobulie excessive et persistant. Comptes rendus de La Société de Biologie, Paris, 1892; 44: 384-88
59. Osler W. Chronic cyanosis with polycythemia and enlarged spleen: a new clinical entity. Am J Med Sci. 2008; 335 (6): 411-7 Comment in: Am J Med Sci. 2008;335 (6):418-9.
60. Landolfi R, Gennaro L. Prevention of thrombosis in polycythemia vera and essential thrombocythemia. Haematologica. 2008; 93 (3): 331-5 Comment on: Haematologica. 2008;93 (3):372-80.
61. Berlin NI. Diagnosis and classification of the polycythemias. Semin Hematol. 1975; 12 (4): 339-5.
62. Griesshammer M, Gisslinger H, Mesa R. Current and future treatment options for polycythemia vera. Ann Hematol. 2015; 94 (6): 901–910.
63. Vannucchi AM. Insights into the pathogenesis and management of thrombosis in polycythemia vera and essential thrombocythemia. Intern Emerg Med. 2010;5:177–184. doi: 10.1007/s11739-009-0319-3.

64. Tefferi A, Elliott M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and JAK2V617F. *Semin Thromb Hemost.* 2007;33:313–320. doi: 10.1055/s-2007-976165.
65. Barbui T, Finazzi MC, Finazzi G. Front-line therapy in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood Rev.* 2012;26:205–211. doi: 10.1016/j.blre.2012.06.002.
66. Chou YS, Gau JP, Yu YB, et al. Leukocytosis in polycythemia vera and splenomegaly in essential thrombocythemia are independent risk factors for hemorrhage. *Eur J Haematol.* 2013;90:228–236. doi: 10.1111/ejh.12064.
67. Passamonti F, Rumi E, Pietra D, Della Porta MG, Boveri E, Pascutto C, et al. Relation between JAK2 (V617F) mutation status, granulocyte activation and constitutive mobilization of CD34+ cells into peripheral blood in myeloproliferative disorders. *Blood.* 2006; 107 (9): 3676-82
68. Karakuş S. Polistemiya Vera. 2012:2.1
69. Barbui T, Carobbio A, Rambaldi A, Finazzi G. Perspectives on thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: is leukocytosis a causative factor? *Blood.* 2009; 114 (4): 759-63.
70. THD Klavuzlar

71. Barosi G, Birgegard G, Finazzi G, Griesshammer M, Harrison C, Hasselbalch HC, et al. Response criteria for essential thrombocythemia and polycythemia vera: result of a European LeukemiaNet consensus conference. *Blood*. 2009; 113 (20): 4829-33
72. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, Cervantes F, Finazzi G, Griesshammer M, Harrison C, Hasselbalch HC, Hehlmann R, Hoffman R, Kiladjian JJ, Kröger N, Mesa R, McMullin MF, Pardanani A, Passamonti F, Vannucchi AM, Reiter A, Silver RT, Verstovsek S, Tefferi A, European LeukemiaNet Philadelphia-Negative Classical Myeloproliferative Neoplasms: Critical Concepts and Management Recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol*. 2011; 29 (6): 761-70 Comment in: *J Clin Oncol*. 2011;29 (18):e564-5
73. Alvarez-Larran A, Pereira A, Cervantes F, et al. Assessment and prognostic value of the European LeukemiaNet criteria for clinicohematologic response, resistance, and intolerance to hydroxyurea in polycythemia vera. *Blood*. 2012;119:1363–1369. doi: 10.1182/blood-2011-10-387787.
74. Sever M, Newberry KJ, Verstovsek S. Therapeutic options for patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia refractory/resistant to hydroxyurea. *Leuk Lymphoma*. 2014;55:2685–2690. doi: 10.3109/10428194.2014.893310.

75. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2013;88:507–516. doi: 10.1002/ajh.23417.
76. 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 Comment in: *Blood*. 2008;111 (3):1741; author reply 1742
77. Johansson P. Epidemiology of the myeloproliferative disorders polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hematost* 2006; 32 (3): 171-3
78. Cervantes F. Management of essential thrombocythemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011;2011:215-21. doi: 10.1182/asheducation-2011.1.215. Review.
79. Cervantes F, Alvarez-Larrán A, Talarn C, Gómez M, and Montserrat E. (2002) Myelofibrosis with myeloid metaplasia following essential thrombocythaemia: actuarial probability, presenting characteristics and evolution in a series of 195 patients. *Br J Haematol* 118:786–790.

80. Passamonti F, Rumi E, Arcaini L, et al. (2008) Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients. *Haematologica* 93:1645–1651.
81. Murphy SM, Peterson P, Iland H, and Laszlo J. (1997) Experience of the Polycythemia Vera Study Group with essential thrombocythemia: a final report on diagnostic criteria, survival, and leukemic transition by treatment. *Semin Hematol* 34:29–39.
82. Kiladjian JJ, Rain JD, Bernard JF, Brière J, Chomienne C, and Fenaux P. (2006) Long-term incidence of hematological evolution in three French prospective studies of hydroxyurea and pipobroman in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost* 32:417–421.
83. Giuglielmelli P, Tefferi A. Advances in understanding and management of myeloproliferative neoplasms. *CA Cancer J Clin.* 2009; 59 (3): 171-91.
84. Girodon F, Bonicelli G, Schaeffer C, et al. (2009) Significant increase in the apparent incidence of essential thrombocythemia related to new WHO diagnostic criteria: a population-based study. *Haematologica* 94:865–869.
85. Besses C, Cervantes F, Pereira A, et al. (1999) Major vascular complications in essential thrombocythemia: a study of the predictive factors in a series of 148 patients. *Leukemia* 13:150–154.

86. Cervantes F, Passamonti F, and Barosi G (2008) Life expectancy and prognostic factors in the classic BCR/ABL-negative myeloproliferative disorders. *Leukemia* 22:905–914.
87. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, et al. (2006) MPL W515L is a novel somatic mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PloS Med* 3:e270.
88. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, et al. (2006) MPL mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 108:3472–3476.
89. Özkalemkaş F. *Esansiyel Trombositemi*. 2012:2.1
90. Lussana F, Caberlon S, Pagani C, Kamphuisen PW, Buller HR, Cattaneo M. Association of V617F Jak2 mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythaemia or idiopathic myelofibrosis: a systematic review. *Thromb Res*. 2009; 124 (4): 409-17
91. Biergegard G. Long-term management of thrombocytosis in essential thrombocythaemia. *Ann Hematol*. 2009; 88 (1): 1-10
92. Beer P, Erber W, Campbell P, Green A. How I treat essential thrombocythemia. *Blood*. 2011; 117 (5): 1472-82 Comment in: *Blood*. 2011; 118 (4): 1179-80; author reply 1180-1.

93. Kerbauy DM, Gooley TA, Sale GE, Flowers ME, Doney KC, Georges GE, et al. Hematopoietic cell transplantation as curative therapy for idiopathic myelofibrosis, advanced polycythemia vera, and essential thrombocythemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007; 13 (3): 355-65
94. Gupta V, Gotlib J, Radich JP, Kröger NM, Rondelli D, Verstovsek S, Deeg HJ. JAK Inhibitors and Allogeneic Stem Cell Transplantation for Myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014 Sep; 20 (9): 1274–1281.
95. Mehta J, Wang H, Iqbal SU, Mesa R. Epidemiology of myeloproliferative neoplasms in the United States. *Leuk Lymphoma.* 2013 Jul 29;
96. Swerdlow SH, International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. Louis A. Duhring Fund.: WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2008
97. Tefferi A, Lasho TL, Huang J, Finke C, Hanson CA, Mesa RA, et al. Low JAK2V617F allele burden in primary myelofibrosis, compared to either a higher allele burden or unmutated status, is associated with inferior overall and leukemia-free survival. *Leukemia.* 2008; 22 (4): 756-61

- 98.** Tefferi A, Vaidya R, Caramazza D, Finke C, Lasho T, Pardanani A. 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 (10): 1356-63
- 99.** Bozdağ SC, Özcan M. *Myelofibro.* 2012:2.1
- 100.** Barosi G, Mesa RA, Thiele J, Cervantes F, Campbell PJ, Verstovsek S, Dupriez B, Levine RL, Passamonti F, Gotlib J, Reilly JT, Vannucchi AM, Hanson CA, Solberg LA, Orazi A, Tefferi A, International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment (IWG-MRT) Proposed criteria for the diagnosis of post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis: a consensus statement from the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Leukemia.* 2008; 22 (2): 437-8
- 101.** Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, Morra E, Rumi E, Cazzola M, et al. Dynamic International Prognostic Scoring System (DIPSS) predicts progression to acute myeloid leukemia in primary myelofibrosis. *Blood.* 2010; 116 (15): 2857-8
- 102.** Tefferi A, Siragusa S, Hussein K, Schwager SM, Hanson CA, Pardanani A, et al. Transfusion-dependency at presentation and its acquisition in the first year of diagnosis are both equally detrimental for survival in primary myelofibrosis - prognostic relevance is independent of IPSS or karyotype. *Am J Hematol.* 2010; 85 (1): 14-7 Comment in: *Am J Hematol.* 2010;85 (1):4-5

- 103.** Caramazza D, Begna KH, Gangat N, Vaidya R, Siragusa S, Van Dyke DL, et al. Refined cytogenetic-risk categorization for overall and leukemia-free survival in primary myelofibrosis: a single center study of 433 patients *Leukemia*. 2011; 25 (1): 82-8
- 104.** Mesa RA, Nagorney DS, Schwager S, Allred J, Tefferi A. Palliative goals, patient selection, and perioperative platelet management: outcomes and lessons from 3 decades of splenectomy for myelofibrosis with myeloid metaplasia at the Mayo Clinic. *Cancer*. 2006; 107 (2): 361-70.
- 105.** Elliott MA, Tefferi A. Splenic irradiation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a review. *Blood Rev*. 1999; 13 (3): 163-70
- 106.** Verstovsek S, Kantarjian H, Mesa RA, Pardanani AD, Cortes-Franco J, Thomas DA, et al. Safety and efficacy of INCB018424, a JAK1 and JAK2 inhibitor, in myelofibrosis. *N Engl J Med*. 2010; 363 (12): 1117-27
Comment in: *N Engl J Med*. 2010;363 (12):1180-2; *N Engl J Med*.2010;363 (25):2464; author reply 2464-5; discussion 2465.
- 107.** Pardanani A, Gotlib JR, Jamieson C, Cortes JE, Talpaz M, Stone RM, et al. Safety and efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in myelofibrosis. *J Clin Oncol*. 2011; 29 (7): 789-96 *J Clin Oncol*. 2011; 29 (7): 781-3.

108. Kalala F, Mamara A, Ioannou M, Speletas M, et al. Transient ischemic attacks as the first presentation of *JAK2-V617F* positive chronic myeloproliferative neoplasm. *Hematol Rep.* 2012 May 10; 4 (2):e12.
109. Pearson TC. The risk of thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Semin Oncol.*2002;29:16–21.
110. Speletas M, Katodritou E, Daiou C, et al. Correlations of *JAK2-V617F* mutation with clinical and laboratory findings in patients with myeloproliferative disorders. *Leuk Res.* 2006;31:1053–62.
111. Michiels JJ, Commandeur S, Hoogenboom GJ, et al. *JAK2 (V617F)* positive early stage myeloproliferative disease (essential thrombocythemia) as the cause of portal vein thrombosis in two middle-aged women: therapeutic implications in view of the literature. *Ann Hematol.* 2007;86:793–800
112. Briere JB. Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis associated with myeloproliferative disorders: diagnosis and management. *Semin Thromb Hemost.* 2006;32:208–18.
113. Colaizzo D, Amitrano L, Tiscia GL, et al. The *JAK2 V617F* mutation frequently occurs in patients with portal and mesenteric venous thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2007;5:55–61.

- 114.** Kiladjian JJ, Cervantes F, Leebeek FW, et al. The impact of JAK2 and MPL mutations on diagnosis and prognosis of splanchnic vein thrombosis: a report on 241 cases. *Blood*. 2008;15:4922–9.
- 115.** Passamonti F, Rumi E, Pietra D, et al. JAK2 (V617F) mutation in healthy individuals. *British Journal of Haematology*. 2007;136:678–9.
- 116.** Thiele J, Kvasnicka HM, Orazi A, et al. Essential thrombocythemia. In: Swerdlow, Campo, Harris, et al., editors. *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. IARC; Lyon, France: 2008. pp. 48–50.
- 117.** Falanga A, Machetti M. Thrombotic disease in the myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:571-81
- 118.** Reikvam Hand Tiu RV Venous thromboembolism in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Leukemia* 26 (4)2012:563–571.
- 119.** Tefferi A. Annual Clinical Updates in Hematological Malignancies: a continuing medical education series: polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 86 (3)2011:292–301

- 120.** Barbui T, Finazzi G, Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood*:122 (13)2013:2176-2184
- 121.** Berk PD, Goldberg JD, Donovan PB, Fruchtman SM, Berlin NI, and Wasserman LR. Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols. *Semin Hematol*23 (2)1986:132–14
- 122.** Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med* 350 (2) 2004:114–124.
- 123.** Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M, et al. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med* 332 (17)1995:1132–1136.
- 124.** Landolfi R, Cipriani MC, and Novarese L Thrombosis and bleeding in polycythemia vera and essential thrombocythemia: pathogenetic mechanisms and prevention. *Best Pract Res Clin Haematol* 19 (3)2006:617–633.
- 125.** Panova-Noeva M, Marchetti M, Spronk HM, et al. Platelet-induced thrombin generation by the calibrated automated thrombogram assay is increased in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Am J Hematol* 86 (4)2011:337–342.

- 126.** Panova-Noeva M, Marchetti M, Buoro S, et al. JAK2V617F mutation and hydroxyurea treatment as determinants of immature platelet parameters in essential thrombocythemia and polycythemia vera patients. *Blood* 118 (9)2011:2599–2601
- 127.** Pecquet C, Diaconu CC, Staerk J, et al. Thrombopoietin receptor down-modulation by JAK2 V617F: restoration of receptor levels by inhibitors of pathologic JAK2 signaling and of proteasomes. *Blood* 119 (20)2012:4625–4635.
- 128.** Adams BD, Baker R, Lopez JA, and Spencer SM. Myeloproliferative disorders and the hyperviscosity syndrome. *Hematol Oncol Clin North Am* 24 (3)2010:585–602
- 129.** Turitto VT and Weiss HJ. Red blood cells: their dual role in thrombus formation. *Science* 207 (4430)1980:541–543.
- 130.** Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, et al. and European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP) (2007) Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood* 109 (6):2446–2452.
- 131.** Carobbio A, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. (2008) Leukocytosis and risk stratification assessment in essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 26 (16):2732–2736.

- 132.** Palandri F, Polverelli N, Catani L, Ottaviani E, Baccarani M, and Vianelli N et al. (2011) Impact of leukocytosis on thrombotic risk and survival in 532 patients with essential thrombocythemia: a retrospective study. *Ann Hematol* 90 (8):933–938.
- 133.** Falanga A, Marchetti M, Barbui T, and Smith CW et al. (2005) Pathogenesis of thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: the role of neutrophils. *Semin Hematol* 42 (4):239–247.
- 134.** Afshar-Kharghan V and Thiagarajan P. (2006) Leukocyte adhesion and thrombosis. *Curr Opin Hematol* 13 (1):34–39.
- 135.** Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, Balducci D, and Barbui T et al. (2005) Leukocyte-platelet interaction in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol* 33 (5):523–530.
- 136.** Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, et al. (2007) V617F JAK-2 mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules. *Exp Hematol* 35 (5):702–711.
- 137.** Karakantza M, Giannakoulas NC, Zikos P, et al. (2004) Markers of endothelial and in vivo platelet activation in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Int J Hematol* 79 (3):253–259.

- 138.** Di Raimondo F, Palumbo GA, Molica S, and Giustolisi R et al. (2001) Angiogenesis in chronic myeloproliferative diseases. *Acta Haematol* 106 (4):177–183.
- 139.** Treliński J, Wierzbowska A, Krawczyńska A, et al. (2010) Plasma levels of angiogenic factors and circulating endothelial cells in essential thrombocythemia: correlation with cytoreductive therapy and JAK2-V617F mutational status. *Leuk Lymphoma* 51 (9):1727–1733.46.49.
- 140.** Belotti A, Elli E, Speranza T, Lanzi E, Pioltelli P, and Pogliani E et al. (2012) Circulating endothelial cells and endothelial activation in essential thrombocythemia: results from CD146+ immunomagnetic enrichment-flow cytometry and soluble E-selectin detection. *Am J Hematol* 87 (3):319–320.
- 141.** Alonci A, Allegra A, Bellomo G, et al. (2008) Evaluation of circulating endothelial cells, VEGF and VEGFR2 serum levels in patients with chronic myeloproliferative diseases. *Hematol Oncol* 26 (4):235–239.
- 142.** Ziakas PD. (2008) Effect of JAK2 V617F on thrombotic risk in patients with essential thrombocythemia: measuring the uncertain. *Haematologica* 93 (9):1412–1414.
- 143.** Robertson B, Urquhart C, Ford I, et al. (2007) Platelet and coagulation activation markers in myeloproliferative diseases: relationships with JAK2

V617 F status, clonality, and antiphospholipid antibodies. *J Thromb Haemost* 5 (8):1679–1685.

144. Dahabreh IJ, Zoi K, Giannouli S, Zoi C, Loukopoulos D, and Voulgarelis Met al. (2009) Is JAK2 V617F mutation more than a diagnostic index? A meta-analysis of clinical outcomes in essential thrombocythemia. *Leuk Res* 33 (1):67–73.
145. Saposnik B, Reny JL, Gaussem P, Emmerich J, Aiach M, and Gandrille S. A haplotype of the *EPCR* gene is associated with increased plasma levels of sEPCR and is a candidate risk factor for thrombosis. February 15, 2004; *Blood*: 103 (4).
146. Laszik Z, Mitro A, Taylor FB Jr, Ferrell G, Esmon CT. Human protein C receptor is present primarily on endothelium of large blood vessels: implications for the control of the protein C pathway. *Circulation*. 1997;96: 3633-3640.
147. Ye X, Fukudome K, Tsuneyoshi N, et al. The endothelial cell protein C receptor (EPCR) functions as a primary receptor for protein C activation on endothelial cells in arteries, veins, and capillaries. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;259: 671-677.

148. Fukudome K, Ye X, Tsuneyoshi N, et al. Activation mechanism of anticoagulant protein C in large blood vessels involving the endothelial cell protein C receptor. *J Exp Med*. 1998;187: 1029-1035.
149. Stearns-Kurosawa DJ, Kurosawa S, Mollica JS, Ferrell GL, Esmon CT. The endothelial cell protein C receptor augments protein C activation by the thrombin-thrombomodulin complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93: 10212-10216.
150. Ikezoe T. Thrombomodulin/activated protein C system in septic disseminated intravascular coagulation. *J Intensive Care* 3 (1) 2015.
151. RufW, Edgington TS. Structural biology of tissue factor, the initiator of thrombogenesis in vivo. *FASEB J*. 1994;8:385–390.
152. Levi M, Keller TT, van Gorp E, ten Cate H. Infection and inflammation and the coagulation system. *Cardiovasc Res*. 2003;60:26–39. doi: 10.1016/S0008-6363 (02)00857-X.
153. Zeerleder S, Hack CE, Willemin WA. Disseminated intravascular coagulation in sepsis. *Chest*. 2005;128:2864–2875. doi: 10.1378/chest.128.4.2864.

- 154.** Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, Colucci M. Sepsis, thrombosis and organ dysfunction. *ThrombRes.* 2012;129:290–295. doi:10.1016/j.thromres.2011.10.013.
- 155.** Ichinose A. Factor XIII is a key molecule at the intersection of coagulation and fibrinolysis as well as inflammation and infection control. *Int J Hematol.* 2012;95:362–370. doi: 10.1007/s12185-012-1064-3.
- 156.** Suzuki K, Kusumoto H, Deyashiki Y, Nishioka J, Maruyama I, Zushi M, Kawahara S, Honda G, Yamamoto S, Horiguchi S. Structure and expression of human thrombomodulin, a thrombin receptor on endothelium acting as a cofactor for protein C activation. *EMBO J.* 1987;6:1891–1897.
- 157.** Dittman WA, Majerus PW. Structure and function of thrombomodulin: a natural anticoagulant. *Blood.*1990;75:329–336.
- 158.** Esmon CT, Esmon NL, Harris KW. Complex formation between thrombin and thrombomodulin inhibits both thrombin-catalyzed fibrin formation and factor V activation. *J Biol Chem.* 1982;257:7944–7947.
- 159.** Dahlback B, Villoutreix BO. The anticoagulation protein C pathway. *FEBS Lett.* 2005;579:3310–3316. doi: 10.1016/j.febslet.2005.03.001.

- 160.** Foster DC, Yoshitake S, Davie EW. The nucleotide sequence of the gene for human protein C. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985;82:4673–4677. doi: 10.1073/pnas.82.14.4673.
- 161.** Tevet M, Ionescu R, Dragan C. Influence of the JAK2 V617F Mutation and Inherited Thrombophilia on the Thrombotic Risk among Patients with Myeloproliferative Disorders. *Journal of Clinical Medicine*. 2015 Mar; 10 (1): 27–32.
- 162.** Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, Kutti J, Gisslinger H, Patrono C, Marilus R, Villegas A, Tognoni G, Barbui T. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J Clin Oncol*. 2005;23:2224–2232.
- 163.** Finazzi G. Low-Dose Aspirin in Polycythemia (ECLAP). A prospective analysis of thrombotic events in the European collaboration study on low-dose aspirin in polycythemia (ECLAP). *Pathol Biol (Paris)* 2004;52:285–288
- 164.** Althawadi H, Alfarsi H, Besbes S, Mirshahi S, Ducros E, Rafii A, Pocard M, Therwath A, Soria J, Mirshahi M. et al. Activated protein C upregulates ovarian cancer cell migration and promotes unclottability of the cancer cell microenvironment. *Oncol.Rep*. 2015 Aug; 34 (2): 603–609.

- 165.** Schaffner F, Yokota N, Carneiro-Lobo T, Kitano M, Schaffer M, Anderson GM, Mueller BM, Esmon CT, Ruf W. Endothelial protein C receptor function in murine and human breast cancer development. *PLoS One*. 2013;8:e61071. doi: 10.1371/journal.pone.0061071.
- 166.** Ducros E, Mirshahi S, Azzazene D, Camilleri-Broët S, Mery E, Al Farsi H, Althawadi H, Besbess S, Chidiac J, Pujade-Lauraine E, et al. Endothelial protein C receptor expressed by ovarian cancer cells as a possible biomarker of cancer onset. *Int J Oncol*. 2012;41:433–440.
- 167.** Ducros E, Mirshahi SS, Faussat AM, Mirshahi P, Dimicoli S, Tang R, Pardo J, Ibrahim J, Marie JP, Therwath A, et al. Soluble endothelial protein C receptor (sEPCR) is likely a biomarker of cancer-associated hypercoagulability in human hematologic malignancies. *Cancer Med*. 2012;1:261–267. doi: 10.1002/cam4.11.
- 168.** Wu CT, Chang YH, Lin PY, Chen WC, et al. Thrombomodulin expression regulates tumorigenesis in bladder cancer. *Bio Med CentralCancer*. 2014; 14: 375.
- 169.** Esmon CT. The regulation of natural anticoagulant pathways. *Science*. 1987;235:1348–1352. doi: 10.1126/science.3029867.

- 170.** Kao YC, Wu LW, Shi CS, Chu CH, Huang CW, Kuo CP, Sheu HM, Shi GY, Wu HL. Downregulation of thrombomodulin, a novel target of Snail, induces tumorigenesis through epithelial-mesenchymal transition. *Mol Cell Biol.* 2010;30:4767–4785. doi: 10.1128/MCB.01021-09.
- 171.** Ten Cate H, Falanga A. Overview of the postulated mechanisms linking cancer and thrombosis. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2008;36:122–130.
- 172.** Horowitz NA, Palumbo JS. Mechanisms coupling thrombomodulin to tumor dissemination. *Thromb Res.* 2012;129 (Suppl 1):S119–S121.
- 173.** Zhang Y, Weiler-Guettler H, Chen J, Wilhelm O, Deng Y, Qiu F, Nakagawa K, Klevesath M, Wilhelm S, Böhrer H, Nakagawa M, Graeff H, Martin E, Stern DM, Rosenberg RD, Ziegler R, Nawroth PP. Thrombomodulin modulates growth of tumor cells independent of its anticoagulant activity. *J Clin Invest.* 1998;101:1301–1309. doi: 10.1172/JCI925.
- 174.** Koutsi A, Papapanagiotou A, Papavassiliou AG. Thrombomodulin: from haemostasis to inflammation and tumourigenesis. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40:1669–1673. doi: 10.1016/j.biocel.2007.06.024.
- 175.** Ordonez NG. Thrombomodulin expression in transitional cell carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 1998;110:385–390.

- 176.** Ordonez NG. Value of thrombomodulin immunostaining in the diagnosis of transitional cell carcinoma: a comparative study with carcinoembryonic antigen. *Histopathology*. 1997;31:517–524. doi: 10.1046/j.1365-2559.1997.3040892.x.
- 177.** Ogawa H, Yonezawa S, Maruyama I, Matsushita Y, Tezuka Y, Toyoyama H, Yanagi M, Matsumoto H, Nishijima H, Shimotakahara T, Aikou T, Sato E. Expression of thrombomodulin in squamous cell carcinoma of the lung: its relationship to lymph node metastasis and prognosis of the patients. *Cancer Lett*. 2000;149:95–103. doi: 10.1016/S0304-3835(99)00348-1.
- 178.** Hanly AM, Redmond M, Winter DC, Brophy S, Deasy JM, Bouchier-Hayes DJ, Kay EW. Thrombomodulin expression in colorectal carcinoma is protective and correlates with survival. *Br J Cancer*. 2006;94:1320–1325. doi: 10.1038/sj.bjc.6603098.
- 179.** Hanly AM, Hayanga A, Winter DC, Bouchier-Hayes DJ. Thrombomodulin: tumour biology and prognostic implications. *Eur J Surg Oncol*. 2005;31:217–220. doi: 10.1016/j.ejso.2004.11.017.
- 180.** Bouchard J, Malhotra R, Shah S, Kao Y, Vaida F, Gupta A, Berg DT, Grinnell BW, Stofan B, Tolwani AJ, Mehta RL et al. Levels of Protein C and Soluble Thrombomodulin in Critically Ill Patients with Acute Kidney

Injury: A Multicenter Prospective Observational Study. *Plos One*. 2015; 10 (3): e010770.

181. Neyrinck AP, Liu KD, Howard JP, Matthay MA. Protective mechanisms of activated protein C in severe inflammatory disorders. *Br J Pharmacol* 2009; 158: 1034–1047.

182. Chawla LS, Seneff MG, Nelson DR, Williams M, Levy H, Kimmel PL et al. Elevated plasma concentrations of IL-6 and elevated APACHE II score predict acute kidney injury in patients with severe sepsis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 1: 22–30.

183. Liu KD, Glidden DV, Eisner MD, Parsons PE, Ware LB, Wheeler A, et al. Predictive and pathogenetic value of plasma biomarkers for acute kidney injury in patients with acute lung injury. *Crit Care Med* 2007;35: 2755–2761.

184. Brunkhorst F, Sakr Y, Hagel S, Reinhart K. Protein C concentrations correlate with organ dysfunction and predict outcome independent of the presence of sepsis. *Anesthesiology* 2007; 107: 15–23.

185. Brohi K, Cohen MJ, Ganter MT, Matthay MA, Mackersie RC, Pittet JF. Acute traumatic coagulopathy: initiated by hypoperfusion: modulated through the protein C pathway? *Ann Surg* 2007; 245: 812–818.

- 186.** Javanmard SH, Shahsavarzadeh T, Saadatnia M. Soluble Thrombomodulin and Endothelial Cell Protein C Receptor Levels in Patients with Cerebral Venous and Sinus Thrombosis. *European Neurology* 2013; 70: 156-158.
- 187.** Suehisa E, Kawasaki T, Toku M, Hidaka Y. Impaired binding of thrombin to thrombomodulin is associated with risk of deep vein thrombosis. *Thromb Res* 2008; 123: 85–92.
- 188.** Takata Y, Seki R, Kanajii T, Nohara M, Koteda S, Kawaguchi K, Nomura K, Nakamura T, Morishige S, Oku E, Osaki K, Hashiguchi E, Mouri F, Yoshimoto K, Nagafuji K, Okamura T et al. Association between thromboembolic events and the JAK2 V617F mutation in myeloproliferative neoplasms. *Kurume Medical Journal*. 60, 89-87, 2013.
- 189.** Orhon FS, Ergun H, Egin Y, Ulukol B, Baksan S, Akar N. Soluble endothelial protein C receptor levels in healthy population. *J Thromb Thrombolysis*. 2010;29:46–51.
- 190.** Ulu A, Gunal D, Tiras S, Egin Y, Deda G, Akar N. EPCR gene A3 haplotype and elevated soluble endothelial protein C receptor (sEPCR) levels in Turkish pediatric stroke patients. *Thromb Res*. 2007;120:47–52.
- 191.** Gumus K, Kadayifcilar S, Eldem B, Saracbasi O, Ozcebe O, Dundar S, Kirazli S. Is elevated level of soluble endothelial protein C receptor a new

risk factor for retinal vein occlusion? Clin Experiment Ophthalmol. 2006;34:305–311.

192. Bucalossi A, Marotta G, Bigazzi C, Galieni P, Dispensa E. Reduction of antithrombin III, protein C, and protein S levels and activated protein C resistance in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients with thrombosis. Am J Hematol. 1996;52:14–20.

193. Marchetti M, Castoldi E, Spronk HM, Oerle R, van, Balducci D, Barbui T, Rosing J, Ten Cate H, Falanga A. Thrombin generation and activated protein C resistance in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. Blood. 2008;112:4061–4068.

7. ÖZET

Myeloproliferatif hastalıklar (MPH), bir veya birden çok myeloid seriye ait öncül hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla karakterize klonal hematopoetik bir kök hücre hastalık grubudur. Polistemia vera (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve primer myelofibrozis (PMF) Philadelphia kromozomu bulundurmeyen myeloproliferatif hastalıklar olarak sınıflandırılır. Kanama, tromboz, lösemik dönüşüm ve ikincil myelofibrozis klinik seyir sırasında görülebilen önemli komplikasyonlardır. Trombotik komplikasyonlar MPH'ların morbidite ve mortalitesinde önemli rol oynamaktadır. Trombotik komplikasyonların fizyopatolojisinde endotel disfonksiyonu, lökositoz, trombositoz, hematokrit seviyeleri ve koagülasyon sistemi anormallikleri önemli yer tutmaktadır.

Bu ileriye dönük çalışmanın amacı myeloproliferatif hastalıkların tanı aşamasındaki koagülasyon kaskadının belirli parametreler üzerinden değerlendirilerek, bu hastalıklara eşlik eden trombotik sürecin normal popülasyonla karşılaştırmalı olarak irdelenmesidir.

Bu çalışmaya 41 hasta (PV: 9; ET: 28; PMF: 3; sınıflandırılmayan: 1) ve 20 sağlıklı kontrol dahil edildi. Hastaların tanı anında alınan serum örneklerinde çözünür endotelial protein C reseptör (EPCR) düzeyi ve trombomodulin (TM) düzeyi çalışıldı. Hasta grubunda ortanca EPCR değeri 43.09 (1.95-171.8) ng/ml iken kontrol grubunda 44.36 (14.86-157.11) ng/ml idi. Hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında, iki grup arasında EPCR düzeyi açısından anlamlı farklılık

izlenmedi ($p>0,05$). Alt grup analizinde EPCR düzeyi PV ve ET hastaları arasında farksızdı ($p>0,05$). Hasta grubunda ortanca TM değeri 41.19 (3.28-140.3) ng/ml iken, kontrol grubunda 41.96 (19.15-145.39) ng/ml idi. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, iki grup arasında TM düzeyi açısından farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Alt grup analizinde TM düzeyi PV ve ET hastaları arasında farksız bulundu ($p>0,05$). EPCR ve TM düzeyleri ile JAK2 mutasyon durumu ve diğer prognostik belirteçler arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Bu çalışmada MPH tanısı konmuş 41 hastada tanı anında bakılan EPCR ve TM düzeylerinin normal popülasyondan farklı olmaması, trombotik eğilimin hastalığın klinik seyri sırasında aşikar hale geldiğini düşündürülebilir. Karmaşık bir ağ oluşturulan farklı bileşenlerin etkileri de gözardı edilmemelidir. Öte yandan hasta sayısının az olmasının anlamlılık düzeyini olumsuz etkilemesi nedeniyle MPH'daki trombotik eğilimin fizyopatogenezinin aydınlatılması için ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Myeloproliferatif Hastalıklar, Trombomodulin, Endotelial Protein C Reseptörü, Tromboz

8. SUMMARY

Myeloproliferative neoplasms (MPN) is a group of clonal hematopoietic stem cell diseases which is characterized by the proliferation of progenitor myeloid cells in one or more series. Polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF) classified as Philadelphia negative MPN. Major complications including hemorrhage, thrombosis, leukemic transformation and secondary fibrosis can be seen during the clinical course. Thrombotic complications are considered as an essential cause of morbidity and mortality in MPD. Endothelial dysfunction, leukocytosis, thrombocytosis, hematocrit levels and coagulation abnormalities may have a role in the physiopathology of thrombosis.

The aim of this prospective study is to evaluate the coagulation cascade with certain parameters in newly diagnosed MPN patients and to compare the underlying thrombotic course with normal population.

A total of 41 patients (PV: 9; ET: 28; PMF: 3; unclassified: 1) and 20 healthy volunteers were included in the study. The levels of soluble endothelial protein C receptor (sEPCR) and thrombomodulin (TM) were measured in the sera which were collected at the time of diagnosis.

Median sEPCR level was 43.09 (1.95-171.8)ng/ml and 44.36 (14.86-157.11) ng/ml, in the patient and control groups, respectively. sEPCR levels were not statistically different between the patient and control groups ($p>0,05$). In the

subgroup analysis, sEPCR levels were not found to be different between PV and ET groups ($p>0,05$).

Median TM level was 41.19 (3.28-140.3) ng/ml and 41.96 (19.15-145.39) ng/ml in the patient and control groups, respectively. TM levels were not statistically different between the patient and control groups ($p>0,05$). In the subgroup analysis, TM levels were not found to be different between PV and ET groups ($p>0,05$).

There was no significant relationship between sEPCR and TM levels and JAK2 mutational status or the other prognostic parameters.

In this study, as sEPCR and TM levels were similar in patient and control groups, thrombotic tendency may be prominent not at the time of diagnosis, but in the further clinical course. Nevertheless, the role of various components of this complicated network should not be underestimated. On the other hand, considering the small sample size of the current study, further efforts are warranted to clarify the physiopathology of thrombophilia in MPN.

Key Words: Myeloproliferative Neoplasms, Thrombomodulin, Endotelial Protein C Receptor, Thrombosis